

УДК 544.478.3

**ОКИСЛЕНИЕ 4-ХЛОРФЕНОЛА ИММОБИЛИЗОВАННОЙ  
НА МОДИФИЦИРОВАННОМ ДИОКСИДЕ ТИТАНА ПЕРОКСИДАЗОЙ ХРЕНА****OXIDATION 4-CHLOROPHENOL IMMOBILIZED ON THE MODIFIED DIOXIDE  
OF THE TITANIUM HORSE-RADISH PEROXIDASE**©**Тихонов Б. Б.***канд. хим. наук, Тверской государственный технический университет  
г. Тверь, Россия, tiberis@yandex.ru*©**Tikhonov B.***Ph.D., Tver State Technical University  
Tver, Russia, tiberis@yandex.ru*©**Стадольникова П. Ю.***Тверской государственный технический университет  
г. Тверь, Россия, science@science.tver.ru*©**Stadolnikova P.***Tver State Technical University  
Tver, Russia, science@science.tver.ru*©**Сидоров А. И.***канд. хим. наук, Тверской государственный технический университет  
г. Тверь, Россия, science@science.tver.ru*©**Sidorov A.***Ph.D., Tver State Technical University  
Tver, Russia, science@science.tver.ru*©**Сулман Э. М.***д-р хим. наук, Тверской государственный технический университет  
г. Тверь, Россия, sulman@online.ru*©**Sulman E.***Dr. habil., Tver State Technical University  
Tver, Russia, sulman@online.ru*©**Логачева А. И.***канд. хим. наук, Композит  
г. Королев, Россия, ailogacheva@yandex.ru*©**Logacheva A.***Ph.D., Kompozit**Korolev, Russia, ailogacheva@yandex.ru*

*Аннотация.* В работе проведен синтез и исследование каталитических свойств многокомпонентного биокатализатора на основе пероксидазы хрена, иммобилизованной на модифицированном диоксиде титана (TiO<sub>2</sub>). Для модификации диоксида титана использовались соляная кислота, хитозан, аминопропилтриэтоксисилан и глутаровый диальдегид. Пероксидаза хрена получена экстракцией из корня хрена (*Armoracia rusticana*) с последующим центрифугированием и отделением фильтрата. Иммобилизация фермента проводилась методом последовательного нанесения с промежуточной промывкой дистиллированной водой от неспецифически связанных реагентов. Была исследована активность ферментативного экстракта и синтезированного биокатализатора в реакции окисления 4-хлорфенола в присутствии перекиси водорода. Наблюдение за ходом реакции велось по изменению оптической плотности реакционной смеси, содержащей 4-аминоантипирин, при длине волны 506 нм. На основании результатов экспериментов по

варьированию условий проведения процесса и количества компонентов реакционной смеси оптимизирован компонентный состав биокатализатора, определены основные кинетические параметры синтезированного биокатализатора. В статье впервые экспериментально подтверждена целесообразность физико-химической модификации диоксида титана хитозаном и аминопропилтриэтоксисиланом для увеличения прочности ковалентной связи фермента с носителем, получен новый эффективный иммобилизованный биокатализатор на основе диоксида титана, пригодный для многократного использования в жидкофазном окислении хлорфенолов. Полученные результаты свидетельствуют о высокой перспективности использования синтезированного биокатализатора в процессах удаления из воды хлорфенольных загрязнений. Все гипотезы и выводы, изложенные в статье, основаны на данных научно-технической литературы, посвященных методам иммобилизации ферментов, методам модификации неорганических носителей, расчету кинетических параметров ферментативных реакций и основным закономерностям спектрофотометрических методов анализа.

*Abstract.* In this work synthesis and investigation of the catalytic properties of the multicomponent biocatalyst based on the horseradish peroxidase immobilized on the modified titanium dioxide ( $\text{TiO}_2$ ) were carried out. Hydrochloric acid, chitosan, aminopropyltriethoxysilane and glutaric dialdehyde were used to modify the titanium dioxide. The horseradish peroxidase was obtained by extraction of the horseradish root (*Armoracia rusticana*), followed by centrifugation and separation of the filtrate. Immobilization of enzyme was performed by sequential application method with intermediate washing with distilled water from the non-specifically bounded reagents. Enzymatic activity of the enzymatic extract and of the synthesized biocatalyst in the reaction of oxidation of 4-chlorophenol in the presence of hydrogen peroxide was investigated. Monitoring the reaction was carried out by changing of the optical density of the reaction mixture containing 4-aminoantipyrine, at a wavelength of 506 nm. Biocatalyst component composition was optimized, and the basic kinetic parameters of the synthesized biocatalyst was determined based on the results of experiments on variation of the process conditions and of the number of components of the reaction mixture. The article expediency of physic-chemical modification of titanium dioxide with chitosan, and aminopropyltriethoxysilane to increase the strength of covalent bonding of the enzyme with the carrier was first experimentally confirmed received. Also, new effective immobilized biocatalyst based on the titanium dioxide which is suitable for repeated use in the liquid phase oxidation of chlorophenols was obtained. The results show high prospects of synthesized biocatalyst using in the process of chlorophenol pollutants removing from the water. All hypotheses and conclusions expressed in this article are based on scientific and technical literature on methods of immobilization of enzymes, methods of inorganic carriers modifying, the calculation of the kinetic parameters of enzymatic reactions and the basic laws of spectrophotometric analysis.

*Ключевые слова:* 4-хлорфенол, пероксидаза хрена, иммобилизация, диоксид титана.

*Keywords:* 4-chlorophenol, horseradish peroxidase, immobilization, titania dioxide.

В настоящее время очень остро стоит проблема удаления из водных ресурсов токсичных органических контаминантов. Хлорфенолы, которые могут образовываться как в производственных процессах, так и при хлорировании воды, относятся к наиболее распространенным и экологически опасным загрязнителям водных ресурсов, оказывающим вредное воздействие на человека и животных из-за высокой токсичности и канцерогенности [1, с. 74]. Для очистки воды от хлорфенолов чаще всего используются методы химического окисления до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  или нерастворимых в воде полимеров, легко удаляемые фильтрованием, однако ни один из известных методов не приводит к полному удалению

хлорфенолов из воды. Описан способ удаления хлорфенолов путем каталитического окисления пероксидом водорода в присутствии пероксидазы хрена в нерастворимые полимерные соединения, отделяемые центрифугированием [2, с. 415]. При этом использование пероксидазы хрена, высокоэффективного фермента класса оксидоредуктаз, ограничено целым рядом недостатков, основные из которых — невозможность многократного использования фермента и неустойчивая его работа из-за отравления каталитических центров пероксидазы продуктами окисления [3, с. 15]. Перспективным путем решения данной проблемы является иммобилизация фермента на твердом носителе, что позволяет одновременно повысить стабильность фермента и обеспечить возможность его многократного использования. В частности, в работах [4, с. 46] и [5, с. 149] показана возможность использования иммобилизованной на твердых носителях пероксидазы хрена для окисления фенолов и хлорфенолов.

В последние годы в качестве носителей для иммобилизации ферментов все большее внимание исследователей привлекают нанокристаллические оксидные материалы, обладающие рядом уникальных свойств. Одним из таких материалов является диоксид титана ( $\text{TiO}_2$ ), высокодисперсные порошки которого широко применяются в различных сферах: в качестве фотокатализатора, химических, газовых сенсоров, диэлектрического материала в конденсаторах [6, с. 4], при обработке воды для разложения органических загрязняющих примесей [7, с. 13693; 8, с. 2], в качестве самоочищающихся покрытий окон и антибактериальных агентов [9, с. 1], цветосенсебилизованных солнечных батарей [10, с. 316], пигмента в лакокрасочной промышленности [11, с. 3], косметике, пищевой промышленности и фармацевтике [12, с. 6]. Перспективным направлением исследований является модификация носителей на основе диоксида титана с целью стабилизации частиц и придания им новых функциональных свойств [12, с. 6]. Одним из наиболее широко применяемых материалов для модификации является хитозан — природный гидрофильный полисахарид, получаемый деацетилированием хитина (основного компонента экзоскелета ракообразных и насекомых) [13, с. 61]. Модификация диоксида титана хитозаном позволяет совместить сразу несколько эффектов: стабилизировать частицы диоксида титана, предотвращая их слипание; повысить адсорбционную емкость носителя; обеспечить наличие на поверхности носителя функциональных аминогрупп [14, с. 76]. Еще одной перспективной возможностью модификации поверхности диоксида титана является ее силанизация специальными реагентами (например, аминопропилтриэтоксисиланом), что также делает носитель более доступным для ковалентной сшивки с ферментом [15, с. 37]. В связи с этим, предполагается, что совмещение двух способов модификации поверхности диоксида титана существенно повысит эффективность сшивки и, соответственно, повысит активность и операционную стабильность иммобилизованного фермента. Поэтому исследование закономерностей иммобилизации пероксидазы хрена на поверхности модифицированного хитозаном и аминопропилтриэтоксисиланом диоксида титана является актуальной задачей. Цель данной работы состояла в синтезе и исследовании каталитических свойств эффективного многокомпонентного биокатализатора на основе пероксидазы хрена, иммобилизованной на модифицированном диоксиде титана.

#### *Материалы и методики*

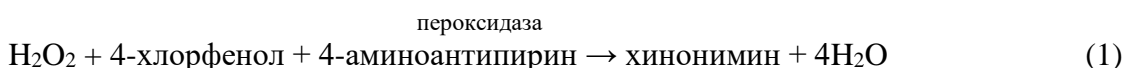
В работе использовали следующие реактивы и материалы: диоксид титана ( $\text{TiO}_2$ , ООО «ЛДХим»); соляная кислота ( $\text{HCl}$ , ЗАО «Купавнареактив»); хитозан низкой вязкости (Fluka); аминопропилтриэтоксисилан (АПТЭС, Sigma–Aldrich); этанол ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ , ЗАО «Купавнареактив»); глутаровый диальдегид (25%, Acros Organics); калий фосфорнокислый 1-замещенный ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , «Невареактив»); гидроксид натрия ( $\text{NaOH}$ , «Реахим»); сердцевина корня хрена обыкновенного (*Armoracia rusticana*); 4-хлорфенол (Sigma–Aldrich); 4-аминоантипирин (Sigma–Aldrich); перекись водорода ( $\text{H}_2\text{O}_2$ , 50%, ЗАО «Купавнареактив»); дистиллированная вода ( $\text{H}_2\text{O}$ ).

Для приготовления фосфатного буферного раствора с  $\text{pH}=7,0$  в мерную колбу вместимостью 1 л вносили 500 мл 0,1 М раствора  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (13,6 г/л) и 291 мл 0,1 н. раствора гидроксида натрия и доводили до метки дистиллированной водой. Раствор хранился в течение месяца. Для приготовления 0,2%-ного раствора хитозана 0,2 г хитозана вносили в химический стакан и растворяли в 5 мл 0,1 н. раствора  $\text{HCl}$  при легком нагревании и постоянном перемешивании, после чего полученный гель переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводили до метки дистиллированной водой. Для приготовления 5% раствора АПТЭС 5 мл АПТЭС вносили в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводили до метки 96%-ным этанолом. Для приготовления 2% раствора глутарового диальдегида 8 мл 25%-ного глутарового диальдегида вносили в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводили до метки дистиллированной водой.

Для выделения пероксидазы из сердцевин корня хрена (*Armoracia rusticana*) свежую сердцевину корня хрена измельчали, после чего экстрагировали навеску дезинтегрированного корня хрена фосфатном буфере с  $\text{pH} = 7,0$  (4 г на 30 мл буферного раствора) в течение 1 часа при непрерывном перемешивании. Затем полученную смесь центрифугировали при 5000 об/мин в течение 20 минут, после чего центрифугат фильтровали на микропористом фильтре. Полученный экстракт обладал пероксидазной активностью. До проведения экспериментов экстракт хранился в холодильнике при температуре  $3\pm 1^\circ\text{C}$ .

Иммобилизацию пероксидазы хрена проводили следующим образом. Навеску диоксида титана последовательно выдерживали при постоянном перемешивании в 0,1 н. растворе соляной кислоты (1 час), растворе хитозана (1 час), растворе АПТЭС (1 час), глутаровом диальдегиде (24 часа) и ферментативном экстракте (1 час) с промежуточной промывкой дистиллированной водой и фильтрованием на фильтре Шотта. После иммобилизации биокатализатор высушивали на воздухе до постоянной массы и хранили в холодильнике при температуре  $3\pm 1^\circ\text{C}$  до использования.

Определение активности экстракта и синтезированного биокатализатора проводилось в реакции окисления 4-хлорфенола в присутствии перекиси водорода и 4-аминоантипирин. Наблюдение за ходом реакции велось при помощи спектрофотометра СФ–2000 по изменению оптической плотности реакционной смеси, при длине волны 506 нм за счет образования окрашенного продукта реакции — хинонимина (1):



Как показали ранее проведенные исследования, в качестве альтернативного источника перекиси водорода могут использоваться следующие процессы:

– окисление органических субстратов (муравьиной кислоты, пропилового и бутилового спиртов) в присутствии металлов (Au, Pd, Pt, Ag, Ru), нанесенных на оксид алюминия или сверхсшитый полистирол [16, с. 165];

– окисление  $\beta\text{-D}$ -глюкозы до  $\delta$ -глюконо–1,5-лактона в присутствии глюкозооксидазы [17, с. 85].

Для исследования активности экстракта в кювету спектрофотометра последовательно вносили 2,5 мл фосфатного буферного раствора ( $\text{pH} = 7,0$ ), 0,2 мл экстракта, 0,2 мл раствора 4-аминоантипирин, 0,2 мл 4-хлорфенола и 0,2 мл раствора перекиси водорода и измеряли оптическую плотность раствора при 506 нм (раствор сравнения — дистиллированная вода). Для исследования активности биокатализатора в термостатируемую стеклянную ячейку с возвратно–поступательным качанием ( $300 \text{ мин}^{-1}$ ) вносили биокатализатор, 25 мл фосфатного буферного раствора ( $\text{pH} = 7,0$ ), 2 мл раствора 4-аминоантипирин, 2 мл раствора 4-хлорфенола и 2 мл раствора перекиси водорода, через определенные промежутки времени отбирали пробы и измеряли оптическую плотность раствора при 506 нм (раствор сравнения

— дистиллированная вода). При варьировании концентраций субстратов растворы 4-аминоантипирина и перекиси водорода использовали в 10%-ном избытке по отношению к концентрации 4-хлорфенола во избежание лимитирования скорости процесса. Оптическая плотность реакционной смеси была пересчитана в концентрации реагентов и конверсию по заранее определенным молярным коэффициентам поглощения. Кинетические параметры экстракта и биокатализатора (константу Михаэлиса ( $K_m$ ) и предельную скорость реакции ( $V_m$ )) определяли методом двойных обратных координат по начальной скорости реакции при варьировании начальных концентраций 4-хлорфенола.

#### *Результаты и их обсуждение*

Изначально была проведена серия экспериментов по варьированию концентрации 4-хлорфенола с ферментативным экстрактом. Результаты исследований представлены на Рисунке 1.

Далее был проведен выбор состава биокатализатора, для чего проведены эксперименты со следующими системами:

- диоксида титана — пероксидаза хрена (система 1);
- диоксид титана — АПТЭС — глутаровый диальдегид — пероксидаза хрена (система 2);
- диоксид титана — хитозан — АПТЭС — глутаровый диальдегид — пероксидаза хрена (система 3).

Исходя из результатов экспериментов была выбрана система 3, так как именно она проявляет наибольшую активность в реакции окисления 4-хлорфенола. Данный факт может быть связан с тем, что системы 1 и 2 не стабилизированы хитозаном, что приводит к смыванию фермента с поверхности носителя и прилипанию частиц катализатора как друг к другу, так и к стенкам реакционных сосудов (что существенно увеличивает потери катализатора при использовании). Поэтому все дальнейшие эксперименты были проведены с оптимальной системой 3.

Были проведены эксперименты по определению оптимального соотношения компонентов биокатализатора на носителе. По результатам экспериментов было определено оптимальное соотношение компонентов биокатализатора:

- 0,5 г диоксида титана;
- 25 мл 0,1 н. раствора соляной кислоты;
- 50 мл 0,2%-ного раствора хитозана;
- 4 мл 5%-ного раствора аминопропилтриэтоксисилана;
- 50 мл 2%-ного раствора глутарового диальдегида;
- 15 мл ферментативного экстракта.

С оптимальным биокатализатором были проведены исследования по варьированию концентрации 4-хлорфенола (Рисунок 2а) и содержания биокатализатора в реакционной смеси (Рисунок 2б).

Из результатов, представленных на Рисунках 1 и 3а были рассчитаны кинетические параметры ферментативного экстракта и иммобилизованного биокатализатора, представленные в Таблице.

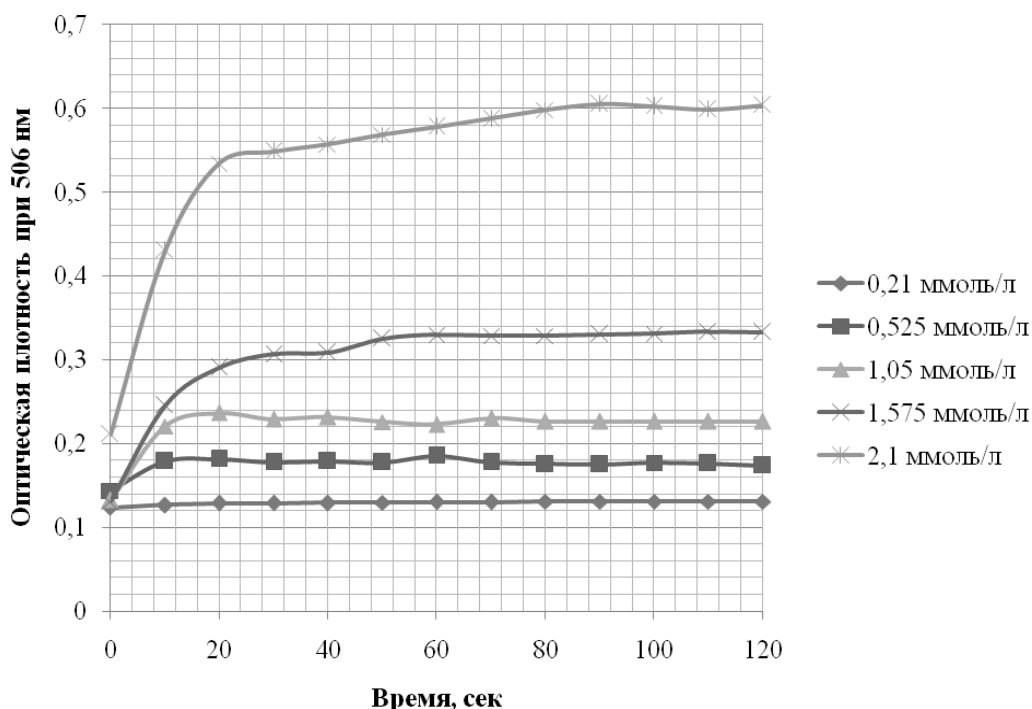


Рисунок 1. Окисление 4-хлорфенола в экспериментах по варьированию концентрации 4-хлорфенола с ферментативным экстрактом.

Таблица.

КИНЕТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ЭКСТРАКТА И ИММОБИЛИЗОВАННОГО БИОКАТАЛИЗАТОРА

Объект	$V_m$ , ммоль/лхс)	$K_m$ , ммоль/л
Ферментативный экстракт	0,096	1,85
Иммобилизованный биокатализатор	0,004	4,23

Из Таблицы видно, что все кинетические параметры иммобилизованного биокатализатора несколько ниже, чем у ферментативного экстракта. Наблюдаемое снижение активности иммобилизованного фермента связано прежде всего с гетерогенизацией системы и ограниченным доступом молекул субстратов к активным центрам фермента. Однако необходимо отметить, что иммобилизация позволяет многократно использовать фермент, в отличие от ферментативного экстракта. Кроме того, эксперименты показали, что иммобилизованный биокатализатор достаточно стабилен и практически не снижает своей активности в 10 последовательных экспериментах, а также сохраняет свою активность в течение 3 месяцев при хранении в закрытом сосуде в холодильнике при 2 °С. Также из приведенных данных видно, что иммобилизация не привела к существенному повышению константы Михаэлиса, и, соответственно, ухудшению сродства фермента к 4-хлорфенолу.

В связи с этим можно сделать вывод об эффективности данного биокатализатора в реакции окисления 4-хлорфенола. Таким образом, что совмещение двух способов модификации поверхности диоксида титана (хитозаном и аминопропилтриэтоксисиланом) существенно повышает эффективность шивки, а также активность и операционную стабильность иммобилизованного фермента. Полученные результаты могут быть использованы для разработки эффективного биокатализатора для удаления из воды хлорфенольных загрязнений.

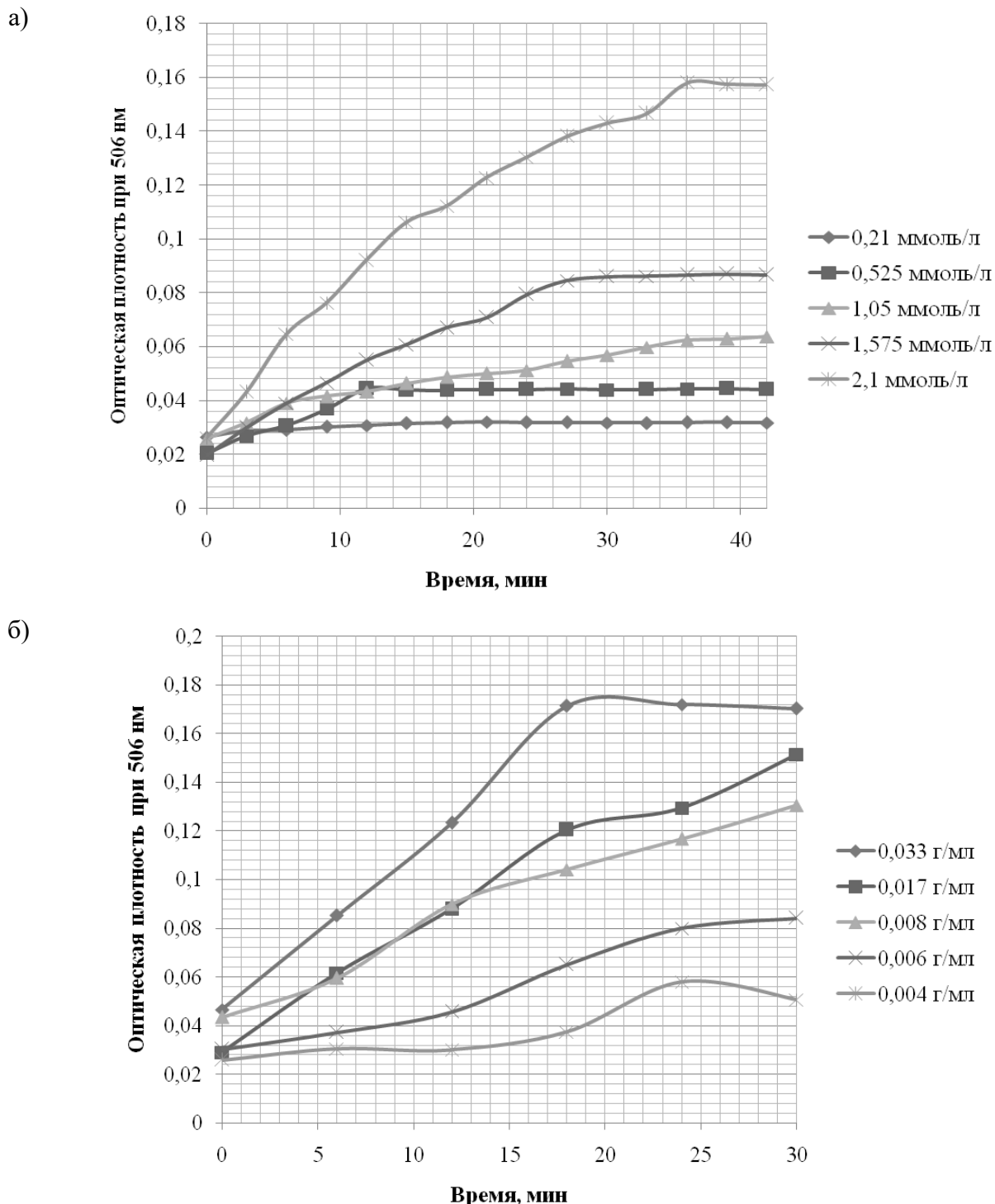


Рисунок 2. Ход реакции окисления 4-хлорфенола в экспериментах с биокатализатором по варьированию: а) концентрации 4-хлорфенола; б) содержания биокатализатора относительно объема реакционной смеси.

### Выводы

Был проведен синтез и исследование каталитических свойств многокомпонентного биокатализатора на основе пероксидазы хрена (*Armoracia rusticana*), иммобилизованной на модифицированном соляной кислотой, хитозаном, аминопропилтриэтоксисиланом и глутаровым диальдегидом диоксиде титана (TiO<sub>2</sub>). Была исследована активность ферментативного экстракта и синтезированного биокатализатора в реакции окисления 4-хлорфенола в присутствии перекиси водорода. На основании результатов экспериментов

по варьированию условий проведения процесса и количества компонентов реакционной смеси оптимизирован компонентный состав биокатализатора, определены основные кинетические параметры синтезированного биокатализатора.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты 15–08–00534 и 14–08–01218).*

*Список литературы:*

1. Тихонов Б. Б., Сидоров А. И., Лакина Н. В., Сульман Э. М., Ожимкова Е. В., Манаенков О. В. Очистка сточных вод от фенолов с использованием иммобилизованных оксидоредуктаз растений и грибов // Вестник ТвГУ. Серия «Биология и экология». 2011. Вып. 21. №2. С. 74–82.
2. Klibanov A. M., Alberti V. N., Morris E. D., Felshin L. M. Journal of Applied Biochemistry, 1980, no. 2, pp. 414–421.
3. Тихонов Б. Б. Разработка и исследование свойств новых каталитических систем окисления фенолов на основе иммобилизованных оксидоредуктаз: дис. ... канд. хим. наук Москва, 2007. 139 с.
4. Матвеева О. В. Магнитоотделяемый катализатор окисления 2,3,6-триметилфенола на основе иммобилизованной пероксидазы: дис. ... канд. хим. наук. Москва, 2015. 130 с.
5. Bayramoglu G., Arica M. Y. Enzymatic removal of phenol and p-chlorophenol in enzyme reactor: Horseradish peroxidase immobilized on magnetic beads. Journal of Hazardous Materials. 2008, no. 156, pp.148–155.
6. Морозов А. Н. Синтез и каталитические свойства наноструктурированных покрытий диоксида титана: дис. ... канд. хим. наук. Москва, 2014. 160 с.
7. Feng G., Liu S., Xiu Z., Zhang Y., Yu J., Chen Y., Wang P., Yu X. Visible light Photocatalytic activities of TiO<sub>2</sub> nanocrystals doped with upconversion luminescence agent. J. Phys. Chem. C., 2008, v. 112, no. 35, pp. 13692–13699.
8. Gaya U. I., Abdullah A. H. Heterogeneous photocatalytic degradation of organic contaminations over titanium dioxide: A review of fundamentals, progress and problems. J. Photochem. Photobiol. C: Photochem. Rev., 2008, v. 9., no. 1, pp. 1–12.
9. Пат. 20080187457 А 1 US, C08F/46, A61L2/10, B05D3/06. Antibacterial Titanium Dioxide Compositions / J. R. Mangiardi; заявитель и патентообладатель. №US 11/937,102; заявл. 08.11.2007; опублик. 07.08.2008. 4 с.
10. Gratzel M. Mesoporous oxide junctions and nanostructured solar cells. Curr. Opin. Colloid Interface Sci., 1999, v. 4, no. 4, pp. 314–321.
11. Коленько Ю. В. Синтез нанокристаллических материалов на основе диоксида титана с использованием гидротермальных и сверхкритических растворов: автореф. дис. ... канд. хим. наук. Москва, 2004. 26 с.
12. Бессуднова Е. В. Синтез и исследование наноразмерных частиц диоксида титана для применения в катализе и нанобиотехнологиях: дис. ... канд. хим. наук Новосибирск, 2014. 145 с.
13. Tharanathan R. N., Kittur F. S. Chitin — the undisputed biomolecule of great potential. Crit. Rev. Food. Sci. Nutr., 2003, v. 43, pp. 61–87.
14. Озерин А. Н., Перов Н. С., Зеленецкий А. Н., Аكوпова Т. А., Озерина Л. А., Кечекьян А. С., Сурин Н. М., Владимиров Л. В., Юловская В. Д. Гибридные наноконпозиты на основе привитого сополимера хитозана с поливиниловым спиртом и оксида титана. Российские нанотехнологии. 2009. Т. 4, №5–6. С. 76–79.
15. Mishra S. K., Ferreirab J. M. F., Kannana S. Mechanically stable antimicrobial chitosan–PVA–silver nanocomposite coatings deposited on titanium implants. Carbohydrate Polymers, 2015, v. 121, pp. 37–48.



16. Sidorov A. I., Tikhonov B. B., Molchanov V. P., Sulman E. M. Metalloperoxidase binary system of hydrogen peroxide generation and utilization. 11<sup>th</sup> International Conference on Materials Chemistry (MC11): book of abstracts. Warwick, 2013, P. 165.

17. Тихонов Б. Б., Сидоров А. И., Стадольникова П. Ю., Матвеева О. В., Лакина Н. В., Исследование свойств мультиферментных систем на основе пероксидазы хрена и глюкозооксидазы // Научно–технический вестник Поволжья. 2015. №5. С. 85–87.

#### References:

1. Tikhonov B. B., Sidorov A. I., Lakina N. V., Sulman E. M., Ozhimkova E. V., Manaenkov O. V. Oчистка сточных вод от фенолов с использованием иммобилизованных оксидоредуктаз растений и грибов. Vestnik TvGU. Seriya “Biologiya i ekologiya”, 2011, issue 21, no. 2, pp. 74–82.

2. Klibanov A. M., Alberti B. N., Morris E. D., Felshin L. M. Journal of Applied Biochemistry, 1980, no. 2, pp. 414–421.

3. Tikhonov B. B. Razrabotka i issledovanie svoystv novykh kataliticheskikh sistem okisleniya fenolov na osnove immobilizovannykh oksidoreduktaz: diss. ... kand. khim. Nauk, Moscow, 2007, 139 p.

4. Matveeva O. V. Magnitootdelyaemyi katalizator okisleniya 2,3,6-trimetilfenola na osnove immobilizovannoi peroksidazy: diss. ... kand. khim. nauk. Moscow, 2015. 130 p.

5. Bayramoglu G., Arica M. Y. Enzymatic removal of phenol and p-chlorophenol in enzyme reactor: Horseradish peroxidase immobilized on magnetic beads. Journal of Hazardous Materials. 2008, no. 156, pp.148–155.

6. Morozov A. N. Sintez i kataliticheskie svoystva nanostrukturirovannykh pokrytii dioksida titana: diss. ... kand. khim. nauk. Moscow, 2014. 160 p.

7. Feng G., Liu S., Xiu Z., Zhang Y., Yu J., Chen Y., Wang P., Yu X. Visible light Photocatalytic activities of TiO<sub>2</sub> nanocrystals doped with upconversion luminescence agent. J. Phys. Chem. C., 2008, v. 112, no. 35, pp. 13692–13699.

8. Gaya U. I., Abdullah A. H. Heterogeneous photocatalytic degradation of organic contaminations over titanium dioxide: A review of fundamentals, progress and problems. J. Photochem. Photobiol. C: Photochem. Rev., 2008, v. 9., no. 1, pp. 1–12.

9. Pat. 20080187457 A 1 US, C08F/46, A61L2/10, B05D3/06. Antibacterial Titanium Dioxide Compositions. J.R. Mangiardi; заявитель и патентообладатель, no. US 11/937,102; заявл. 08.11.2007; опублик. 07.08.2008. 4 p.

10. Gratzel M. Mesoporous oxide junctions and nanostructured solar cells. Curr. Opin. Colloid Interface Sci., 1999, v. 4, no. 4, pp. 314–321.

11. Kolenko Yu. V. Sintez nanokristallicheskikh materialov na osnove dioksida titana s ispol'zovaniem gidrotermal'nykh i sverkhkriticheskikh rastvorov: avtoref. diss. ... kand. khim nauk. Moscow, 2004. 26 p.

12. Bessudnova E. V. Sintez i issledovanie nanorazmernykh chastits dioksida titana dlya primeneniya v katalize i nanobiotekhnologiyakh: diss. ... kand. khim. nauk Novosibirsk, 2014, 145 p.

13. Tharanathan R. N., Kittur F. S. Chitin — the undisputed biomolecule of great potential. Crit. Rev. Food. Sci. Nutr., 2003, v. 43, pp. 61–87.

14. Ozerin A. N., Perov N. S., Zelenetskii A. N., Akopova T. A., Ozerina L. A., Kechek'yan A.S., Surin N.M., Vladimirov L.V., Yulovskaya V.D. Gibrnidnye nanokompozity na osnove privitogo sopolimera khitozana s polivinilovym spirtom i oksida titana. Rossiiskie nanotekhnologii, 2009, v. 4, no. 5–6, pp. 76–79.

15. Mishraa S. K., Ferreirab J. M. F., Kannana S. Mechanically stable antimicrobial chitosan–PVA–silver nanocomposite coatings deposited on titanium implants. Carbohydrate Polymers, 2015, v. 121, pp. 37–48.

16. Sidorov A. I., Tikhonov B. B., Molchanov V. P., Sulman E. M. Metalloperoxidase binary system of hydrogen peroxide generation and utilization. 11<sup>th</sup> International Conference on Materials Chemistry (MC11): book of abstracts. Warwick, 2013, P. 165.

17. Tikhonov B. B., Sidorov A. I., Stadolnikova P. Yu., Matveeva O. V., Lakina N. V., Issledovanie svoistv multifermentnykh sistem na osnove peroksidazy khrena i glyukoooksidazy. Nauchno–tekhnicheskii vestnik Povolzh'ya, 2015, no. 5, pp. 85–87.

*Работа поступила  
в редакцию 19.10.2016 г.*

*Принята к публикации  
21.10.2016 г.*