



بررسی ایزومری شدن آنزیمی گلوکز به فروکتوز در یک جت راکتور با جریان پائین رونده

نهمین کنگره ملی مهندسی شیمی ایران

زینب صالحی*، مرتضی سهرابی، طاهره کاغذچی، بابک بنکدارپور

تهران، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، دانشکده مهندسی شیمی

zsalehi@ut.ac.ir

دانشگاه علم و صنعت ایران
۳-۵ آذر ماه ۱۳۸۳

چکیده

واکنش ایزومریزاسیون گلوکز به فروکتوز توسط آنزیم تثبیت یافته گلوکز ایزومراز در یک جت راکتور با جریان پائین رونده (DJR) مورد مطالعه قرار گرفته است. در صد تبدیل گلوکز به فروکتوز اندازه گیری شد و با راکتور نا پیوسته مقایسه گردید. این واکنش که در صنعت و در راکتورهای بستر ثابت در زمانی حدود ۲ ساعت به ۴ درصد تبدیل می رسد در جت راکتور پس از ۳۰ دقیقه به همان درصد رسید. حال آنکه در راکتورهای نا پیوسته پس از طی زمان ۳۰ دقیقه تبدیلی برابر با ۲۵٪ بدست آمد. با استفاده از روش طراحی آزمایشگاهی تاگوچی شرایط بهینه سیستم تعیین گردید. اثرات مقدار آنزیم قطر لوله مکش، فاصله نازل از لبه بالائی لوله مکش، شدت جریان مایع و شدت جریان گاز بر روی میزان تبدیل گلوکز بررسی گردید. پس از تجزیه و تحلیل نتایج مشخص گردید که قطر لوله مکش و نسبت دبی مایع به گاز به ترتیب بیشترین و کمترین اثر را بر روی درصد تبدیل گلوکز دارد. مدل سینتیکی واکنش ایزومریزاسیون گلوکز مطالعه شد. در ابتدا با استفاده از یک رگرسیون غیر خطی پارامترهای مدل میکائیلیس منتن تعیین گردید. در ادامه یک مکانیسم توسعه یافته برای واکنش ایزومریزاسیون ارائه شد. پارامترهای سینتیکی مدل توسعه یافته بدست آمد. از مقایسه داده های تجربی با مقادیر تئوری حاصل از دو مدل میکائیلیس منتن و توسعه یافته مشخص شد که مدل سینتیکی توسعه یافته از دقت بیشتری برخوردار است.

کلمات کلیدی: گلوکز ایزومراز، ایزومریزاسیون، گلوکز، جت راکتور با جریان پائین رونده، آنزیم تثبیت یافته

مقدمه

درجت لوپ راکتورها^۱ می توان به ویژگی های خاصی نظیر شدت پراکندگی زیاد گاز در مایع و در نتیجه ضریب انتقال جرم بالا و نیز مصرف انرژی نسبتا کم اشاره کرد. اساس کار این راکتورها بر فراهم ساختن انرژی جنبشی زیاد توسط جریان جت مایع است به این ترتیب که مایع با سرعت بالا به راکتور تزریق می شود تا بدین ترتیب باعث اختلاط شدید دو فاز گاز - مایع و ایجاد پراکندگی بسیار ریز^۲ ازدو فاز شود [۱].

بطور کلی پارامترهای مهم در سیستم های چند فازی عبارتند از سطح ویژه تماس فازها که مقدار آن مستقیما به میزان ماند گاز در سیستم بستگی دارد. ماند نیز به میزان زیادی وابسته به خواص فیزیکی مایع رژیم جریان و راندمان راکتور می باشد.

در این تحقیق یکی از انواع سیستم های JLR موسوم به جت راکتورهای با جریان پائین رونده^۳ مورد بررسی قرار گرفت. در این نوع راکتور جریان مایع و گاز بصورت هم جهت از قسمت فوقانی به پائین تزریق می شود. گاز به کمک جت مایع و بر خلاف نیروی ارشمیدس به سمت پائین و به عمق مایع رانده میشود [۲]. این موضوع باعث افزایش مسیر حرکت و افزایش زمان اقامت گاز و در نتیجه افزایش موجودی گاز خواهد شد [۳]. همچنین نحوه طراحی و محل استقرار شیپورک در لوله مکش درمیزان پراکنده سازی گاز در مایع بسیار موثر است [۴]. استقرار شیپورک در قسمتهای فوقانی باعث می شود تا در فرایندهایی با ذرات جامد معلق سروکار دارند براحتی بتوان از DJR ها استفاده نمود. به عنوان مثال در واکنش های تصفیه پساب با لجن فعال که حاوی رسوبات معلق است برای هوادهی میتوان از DJR ها استفاده نمود [۵، ۶].

در این تحقیق ایزومریزه شدن D- گلوکز به فروکتوز با استفاده از آنزیم تثبیت یافته گلوکز ایزومراز (به عنوان یک واکنش زیستی جامد - مایع در جت راکتور با جریان پائین رونده مورد بررسی قرار می گیرد. این واکنش در صنعت از اهمیت ویژه ای برخوردار است زیرا D- گلوکز بصورت مستقیم نمی تواند بجای ساکارز یا قند معمولی بکار رود و همچنین نسبت به ساکارز از شیرینی کمتری برخوردار است و کریستال شدن آن در محلولها انجام فرایند را با مشکل مواجه می سازد. واکنش ایزومریزه شدن گلوکز به فروکتوز برگشت پذیر می باشد و درصد تبدیل تعادلی گلوکز به فروکتوز در شرایط صنعتی یعنی دمای ۵۵ درجه سانتیگراد حدود ۵۰٪ است. واکنش گرماگیر و گرمای واکنش برابر 5 KJ/MOL می باشد. ایزومریزه شدن گلوکز معمولاً در راکتورهای لوله ای پر شده با آنزیم تثبیت یافته با سرعت حجمی 0.2-2 L/h صورت می گیرد.

یکی از اهداف این تحقیق اجرای واکنش ایزومریزه شدن در جت راکتور با جریان پائین رونده و مقایسه در صد تبدیل گلوکز در راکتورهای ناپیوسته همزن دار می باشد.

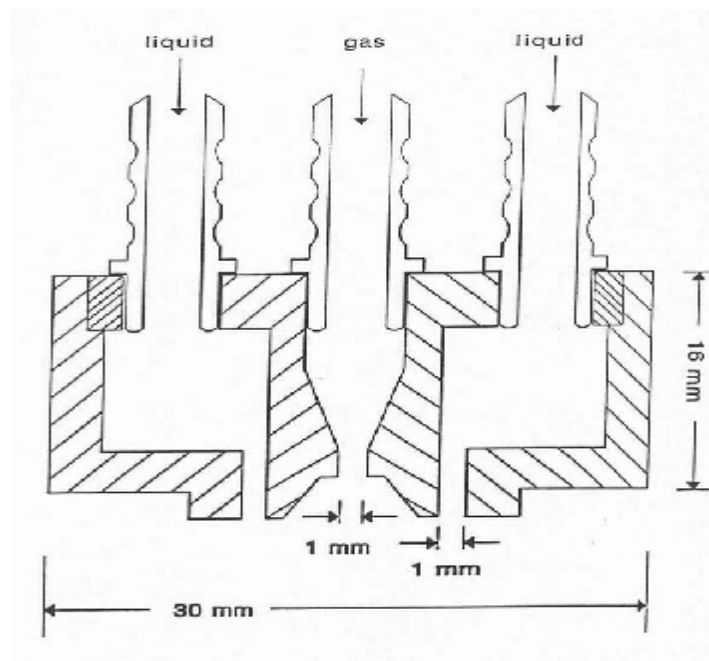
¹ - Jet Loop Reactor = JLR

² - Fine Dispersion

³ - Down Flow Jet Loop Reactor (DJR)

مجموعه تحقیقاتی

در شکل شماره ۱ مجموعه تحقیقاتی نشان داده شده است. نازل و لوله مکش هر دو روی محور بدنه استوانه ای شکل مستقر هستند موقعیت نازل در لوله مکش را می توان از بالاترین تا پایین ترین نقطه در این لوله تغییر داد. سایر اطلاعات ابعادی بیوراکتور در جدول ۱ ارائه شده است. نازل اهمیت بسیاری در نحوه پراکنده شدن گاز در فاز مایع و میزان مومنتوم جت جریان و اختلاط دو فاز دارد. در شکل ۲ تصویر نازل ارائه شده است. در داخل نازل هیچ گونه تماسی بین دو فاز بوجود نمی آید. جریان مایع در دو حلقه دوران می کند حلقه داخل راکتور و حلقه خارج آن. جریان گاز و مایع بعد از خروج از نازل با شدت وارد لوله مکش شده و بدلیل مومنتوم زیاد مسیر لوله مکش را از بالا تا انتهای آن طی می کند در انتها با شدت به صفحه برخوردی^۱ کوبیده می شود. این صفحه سه وظیفه مهم را انجام می دهد که عبارتند از: ۱- جلوگیری از خروج گاز به همراه مایع از مجرای تحتانی راکتور و انتقال آن به پمپ ۲- تغییر جهت جریان گاز و مایع و هدایت حبابهای گاز و جریان مایع به سمت بدنه راکتور و انتقال آن به ناحیه حلقوی برای صعود به سمت بالا ۳- برخورد شدید دو جریان به این صفحه و ایجاد اختلاط زیاد بین دو فاز و تولید حبابهای ریزتر.



شکل ۲- تصویر برش طولی نازل

جدول ۱- ابعاد جت راکتور با جریان پائین رونده

^۱ - Impact Plate

Reactor height (m):	Hr	0.5
Reactor diameter (m) :	Dr	0.1
Draft tube diameter (m) :	Dd	0.051
Ratio of draft tube diameter to reactor diameter :	Dd / Dr	0.372
Draft tube length (m) :	Ld	0.26
Nozzle immersion height (m) :	Hn	0 , 0.115 , 0.25
Distance between in lower edge of the draft tube and the impact plate (m) :	Hp	0.045
Air hole diameter in nozzle (m) :	DG	0.001
Liquid annular hole inside diameter in nozzle (m) :	Di	0.006
Liquid annular hole outside diameter in nozzle (m) :	Do	0.008
Clean liquid level height in reactor (m) :	HL	0.35
Two phase dispersion level height in the reactor (m)	HLG	0.35 - 0.45

مواد

تمام مواد شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق از جمله گلوکز بصورت بسیار خالص و متعلق به شرکت Merck بوده است. آنزیم تثبیت یافته گلوکز ایزومراز (Ec.5.3.1.5 D- Xylose Ketol- Isomerase) با نام تجاری Sweetzyme t توسط شرکت Novo به بازار عرضه می شود و از میکروارگانیزم *Streptomyces murinus* بدست می آید. این آنزیم بصورت گرانول های استوانه ای شکل و به رنگ قهوه ای می باشد که اندازه ذرات آن بین ۰/۳ تا ۱ میلیمتر و دارای فعالیتی معادل با 350 IGIU/gr می باشد.

روشهای سنجش

اندازه گیری غلظت گلوکز به کمک روش glucose oxidase /peroxidase و تعیین غلظت فروکتوز توسط روش Cystin –Carbasol صورت می گیرد [۷،۸]. دقت این روش با سنجش غلظت مشخصی از این دو منو ساکارید آزمایش شده است و حداکثر خطای مشاهده شده حدود ۰/۴٪ می باشد.

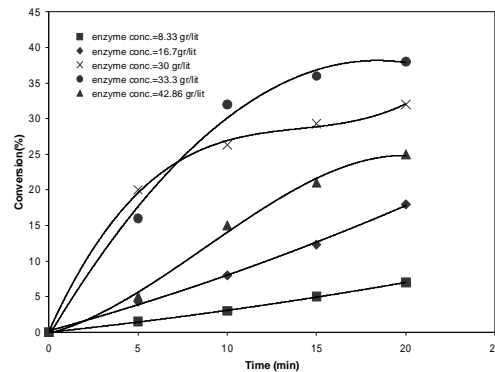
اجرای آزمایش ها

خوراک شامل ۶ لیتر از محلول ۰/۱ مولار گلوکز و ۰/۰۱ مولار سولفات منیزیم بعنوان پایدارکننده در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و pH ۷/۵ بود. سپس دمای محلول به ۶۰ درجه سانتیگراد افزایش می یافت و جهت هوازدائی از آن از گاز نیتروژن استفاده بعمل می آمد که از طریق نازل درون راکتور پخش می شد. پس از رسیدن به دمای مطلوب آنزیم به داخل راکتور افزوده شده و در زمانهای مختلف از محصول نمونه برداری و برای اطمینان از عدم پیشرفت واکنش تا زمان آنالیز به مدت ۱۵ دقیقه جوشانده می شد و سپس مورد تجزیه قرار می گرفت.

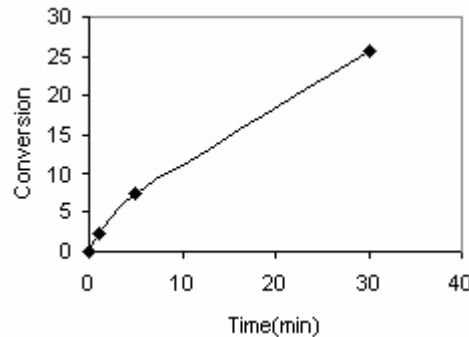
نتایج و بحث

۱. ایزومریزاسیون گلوکز به فروکتوز در جت راکتور

واکنش ایزومریزاسیون گلوکز با مقادیر مختلف آنزیم انجام شد. در این آزمایشات دبی مایع 450 lit/hr و دبی گاز 3 lit/min بوده است. در شکل ۳ تغییرات درصد تبدیل گلوکز نسبت به زمان در شرایط مختلف رسم شده است. در شکل ۴ تغییرات درصد تبدیل گلوکز نسبت به زمان در راکتور ناپیوسته مشاهده می شود.



شکل ۳- تغییرات درصد تبدیل گلوکز بر حسب زمان



شکل ۴- تغییرات درصد تبدیل گلوکز بر حسب زمان در راکتور ناپیوسته

۲. بهینه سازی سیستم

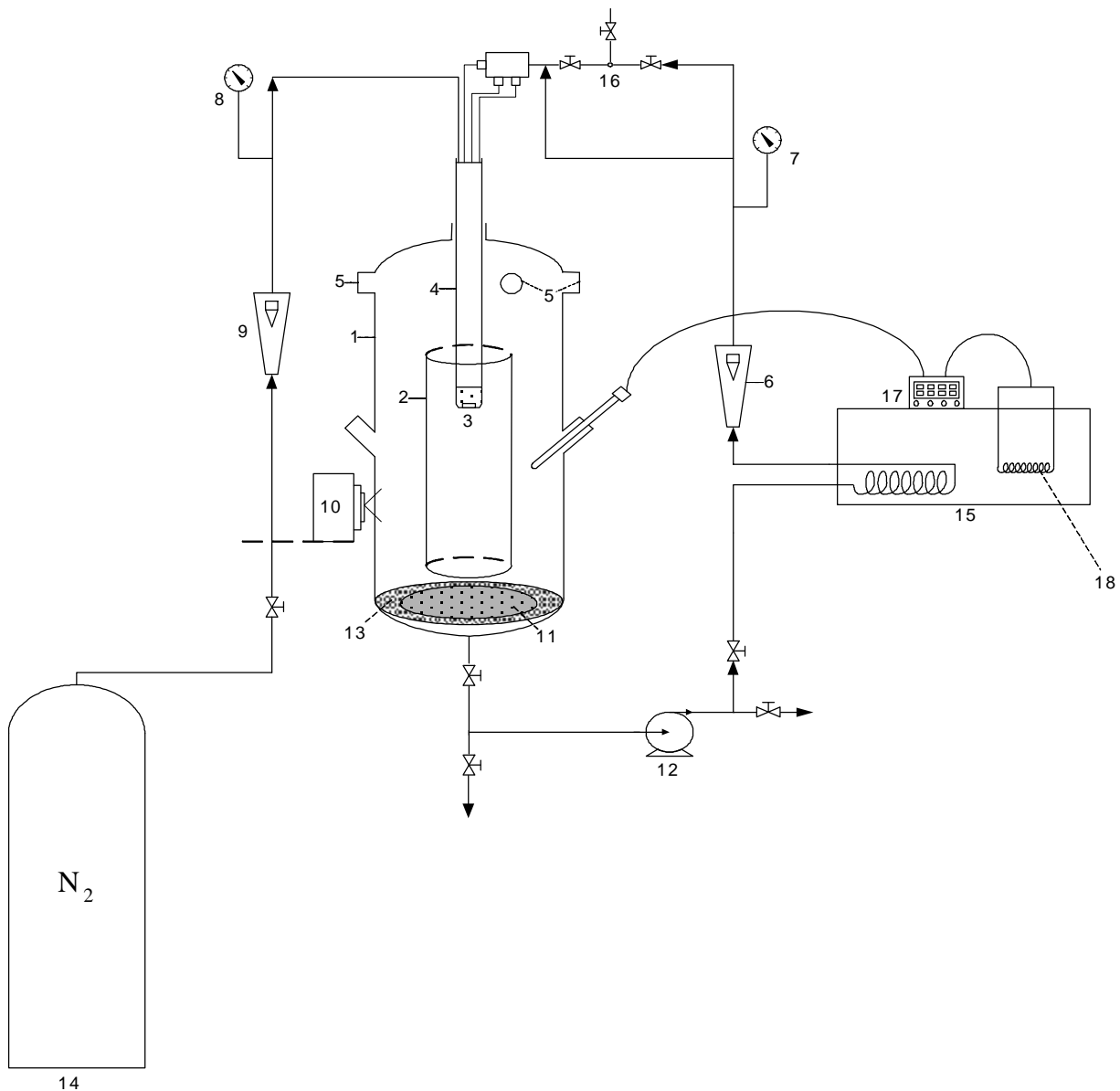
برای بهینه سازی فرایند از طراحی آزمایش ها به روش تاگوچی استفاده گردید. فاکتورهایی که در ایزومریزاسیون موثر و مهم می باشند به صورت زیر انتخاب شدند:

فاکتور A: قطر لوله مکش

فاکتور B: فاصله نازل از لبه بالائی لوله مکش

فاکتور C: مقدار آنزیم

فاکتور D: نسبت دبی مایع به گاز



Experimental set-up : 1- Reactor , 2- Draft tube , 3- Spray nozzle , 4 - Nozzle support , 5- Gas outlet , 6- Liquid flow meter , 7- Liquid pressure gage , 8- Gas pressure gage , 9- Gas flow meter , 10- Camera , 11- Impact plate , 12- Pumpe , 13- Screen ,14 - Nitrogen gas , 15-Water bath , 16- Pulse injection system , 17- Temprature controller , 18-Heater

شکل ۱- مجموعه تحقیقاتی راکتور DJR برای واکنش ایزومریزاسیون گلوکز به فروکتوز

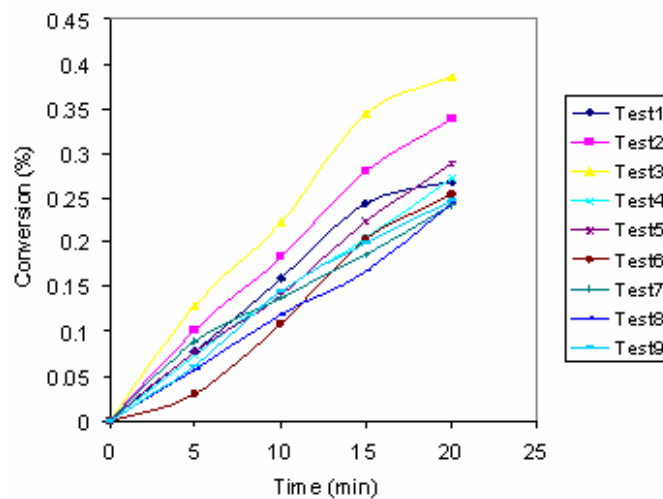
آرایه متعامد مناسب برای این حالت آرایه L9 می باشد. نحوه چیدن فاکتورها و سطوح مورد بررسی به صورت جدول ۲ ارائه شده است. پس از انجام ۹ آزمایش مطابق ترکیب فوق شرایط بهینه تعیین شده و تست بهینه انجام گردید.

در این آزمایش ها درصد تبدیل گلوکز پس از زمان ۲۰ دقیقه به عنوان پاسخ سیستم در نظر گرفته شد. نتایج ۹ آزمایش در شکل ۵ ارائه شده است. در شکل های ۶ تا ۹ نمودار میله ای این سطوح رسم شده است .

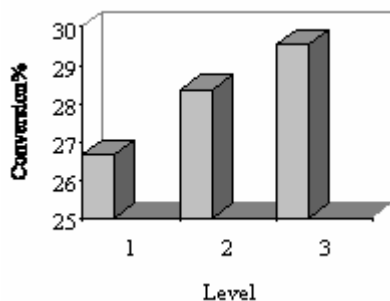
توجه به نتایج شرایط بهینه A1B2C3D می باشد. به عبارت دیگر شرایط بهینه مربوط به لوله مکش با قطر ۰/۰۵۱ متر و فاصله نازل از لبه بالائی لوله مکش ۱۱/۵ سانتیمتر میزان ۲۰۰ گرم آنزیم و نسبت دبی مایع به گاز ۱۵۰ می باشد. پس از تعیین شرایط بهینه و تجزیه و تحلیل نتایج (جدول ANOVA) مطابق داده های موجود در شکل ۱۰ می توان نتیجه گرفت که قطر لوله مکش بیشترین اثر را در پاسخ سیستم و نسبت دبی مایع به گاز کمترین اثر را دارد.

جدول ۲- نحوه چین فاکتورهای مورد بررسی در آرایه L9

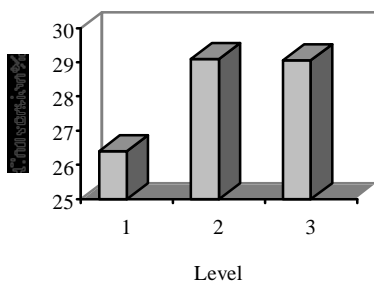
شماره آزمایش	ستون ۱	ستون ۲	ستون ۳	ستون ۴
۱	۱	۱	۱	۱
۲	۱	۲	۲	۲
۳	۱	۳	۳	۳
۴	۲	۱	۲	۳
۵	۲	۲	۳	۱
۷	۲	۳	۱	۲
۸	۳	۱	۳	۲
۹	۳	۲	۱	۳
۱۰	۳	۳	۲	۱



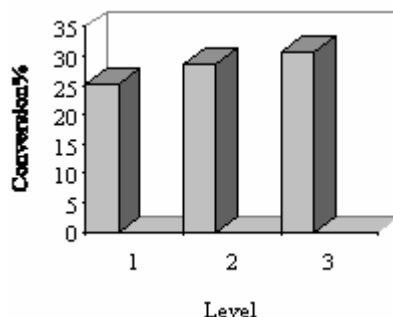
شکل ۵- تغییرات در صد تبدیل گلوکز بر حسب زمان



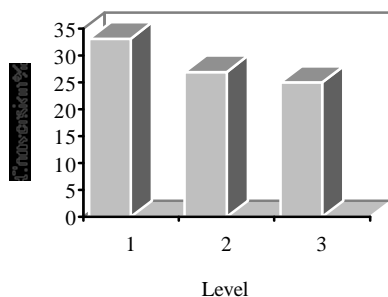
شکل ۶- میزان متوسط پاسخ در سطوح مختلف نسبت دبی مایع به گاز



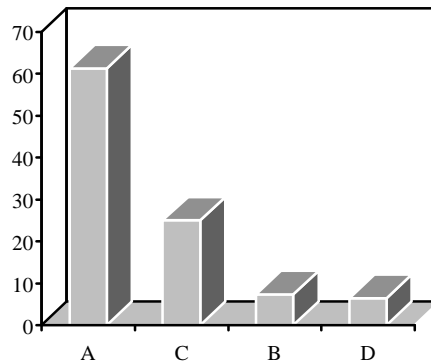
شکل ۷- میزان متوسط پاسخ در سطوح مختلف فاصله نازل از لبه بالائی لوله مکش



شکل ۸- میزان متوسط پاسخ در سطوح مختلف مقدارآزیم



شکل ۹- میزان متوسط پاسخ در سطوح مختلف قطر لوله مکش



شکل ۱۰- سهم هریک از فاکتورها در پاسخ

مدل سینتیکی واکنش ایزومریزاسیون گلوکز به فروکتوز

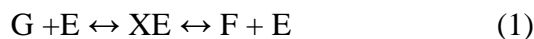
دو مکانیسم برای توصیف ایزومریزاسیون گلوکز به فروکتوز به شرح زیر مورد بررسی قرار گرفت:

۱- الگوی میکائلیس-منتن

۲- الگوی توسعه یافته با دو ماده واسطه

الگوی میکائلیس - منتن

در این مدل مکانیسم ساده دو مرحله ای زیر در نظر گرفته می شود:



که منجر به معادله نهائی زیر خواهد گردید:

$$R = V_m G / (G + K_m) \quad (2)$$

R: سرعت واکنش بر حسب (mmol/dm³.min)

V_m: حداکثر سرعت واکنش آنزیمی

$$(mmol/dm^3 \cdot min)$$

G: غلظت گلوکز (mmol/min)

K_m: ثابت میکائلیس-منتن (mmol/dm³)

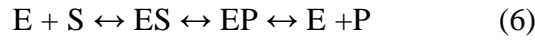
می توان معادله فوق را بر اساس سرعت تبدیل گلوکز نوشت:

$$R = dg/dt = V_m / (1 + (K_m/G)) \quad (3)$$

با روش حداقل سازی غیر خطی مربعات خطا پارامترهای سینتیکی V_m, K_m معین می شوند.

الگوی توسعه یافته با دو ماده واسطه

ایزومریزاسیون گلوکز به فروکتوز را می توان با مکانیسم زیر نیز ارائه کرد :



که شامل مراحل بازگشت پذیر تشکیل کمپلکس آنزیم - سوپسترا (ES) و تبدیل به کمپلکس آنزیم - محصول (EP) و در نهایت دفع محصول می باشد (۹).

بر اساس مکانیسم فوق معادله سرعت مربوطه بصورت زیر بدست می آید:

$$v = V (S)^{\#} / (K + (S)^{\#}) \quad (7)$$

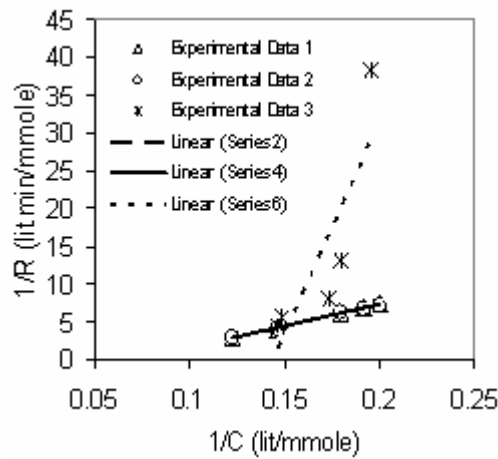
v : سرعت واکنش

K, V : مقادیر ثابت آنزیم

$(S)^{\#}$: تفاضل دو غلظت لحظه ای و تعادلی سوپسترا

پارامترهای سینتیکی این دو مدل در جداول ۴ و ۵ ارائه شده است .

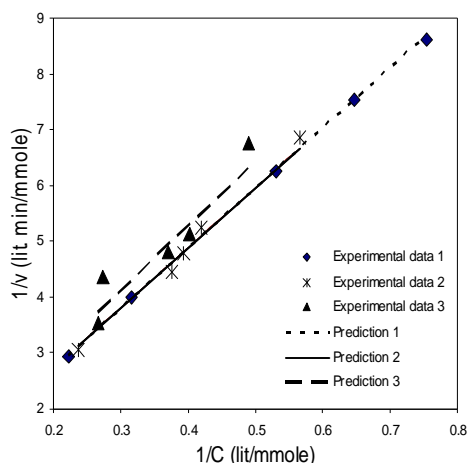
در شکل ۱۱ و ۱۲ داده های تجربی با نتایج محاسباتی مقایسه شده اند.



شکل ۱۱- مقایسه داده های تجربی با نتایج حاصل از مدل میکائیلیس - منتن

جدول ۴ - مقادیر ثابت های معادله میکائیلیس - منتن

Test number	V_m (mmol/dm ³ .min)	K_m (mmol/dm ³)
۱	-۰/۲۳	-۱۳/۴۷
۲	-۰/۲۳	-۱۳/۴۶
۳	-۰/۰۱۲	-۶/۹۳



شکل ۱۲ - مقایسه داده های تجربی با نتایج حاصل از مدل توسعه یافته

جدول ۵- مقادیر ثابت های مدل توسعه یافته

Test number	V_m^* (mmol/dm ³ .min)	K_m^{**} (mmol/dm ³)
۱	۱/۷۵	۱۸/۸۹
۲	۱/۷۰	۱۸/۸۰
۳	۱/۶۷	۱۷/۴۹

نتیجه گیری

در این مطالعه برای نخستین بار ایزومریزاسیون گلوکز به فروکتوزبوسیله آنزیم گلوکزایزومراز در یک راکتور Down flow jet loop reactor انجام شده است. مهمترین نتایج حاصل به قرار زیر می باشند:

۱- این واکنش که در صنعت و در راکتورهای بستر ثابت در زمانی حدود ۲ ساعت به تبدیل ۴۰٪ می رسد در جت راکتور پس از ۲۰ دقیقه به ۳۸٪ تبدیل رسید حال آنکه در راکتور ناپیوسته پس از طی زمان ۳۰ دقیقه تبدیل ۲۵٪ بدست آمد.

۲- با استفاده از طراحی آزمایش به روش تاگوچی شرایط بهینه سیستم تعیین گردید و پس از تجزیه و تحلیل نتایج مشخص شد که قطر لوله مکش و نسبت دبی مایع به گاز به ترتیب بیشترین و کمترین اثر را بر روی درصد تبدیل گلوکز دارد.

۳- بررسی سرعت واکنش نشان داد هنگامی که سینتیک واکنش بامعادله سرعت توسعه یافته با دو ماده واسطه بیان شود توافق بسیار خوبی با داده های تجربی حاصل می گردد.

منابع و مراجع

1. Dirix C.A.M.C. and Van der wiele K., " Mass Transfer in Jet Loop Reactors " , Chem. Eng. Sci. , Vol. 45, No. 8, 2333 -2340 ,1990.
2. Velan M. and Ramanujam T. K , " Gas –Liquid mass Transfer in a Down Flow Jet Loop Reactor " , Chem. Eng. Sci. , Vol. 47 , No. 9 -12 , 2871 -22876, 1992 .
3. Velan M..and Ramanujam T. K. ;" Hydrodynamics in Down Flow Jet Loop Reactor " , The Canadian Journal of Chemical Engineering , Vol. 69 , 1257 - 1261 , Dec.1991.
4. Rabiger N. and Vogelpohl A. , Chem. Eng. Tech. Vol. 55 , No. 6 , 486 -487,1993 .
5. Kari Schuger I, "Bioreaction Engineering " , Vol. 2 , John Wiley & Sons, 991.
6. Kulkarni K. , Shah Y. and Schumpe A.; Chem. Eng. Commun. , 24, 307 -337, 1983.
7. Coburn H.J and Carrol J.J ; "Improved Manual and Automated Colorimetric Determination of Serum Glucose " ; Clin. Chem. ; 19, 127,1973.
8. Verhoff F.H ; " Diffusion Resistance and Enzyme Activity Decay in a Pellet " ; Biotech. Bioeng. ; 24, 703, 1982.
9. [http://www. Rose-net.co.ir](http://www.Rose-net.co.ir) ,South Bank University , School of Applied Science , Martin Chaplin , 17, January 2002 .