



نهمین کنگره ملی مهندسی شیمی ایران

دانشگاه علم و صنعت ایران
۳-۵ آذر ماه ۱۳۸۳

تحلیل ریاضی و تجربی بیوراکتور بستر ثابت گلوکز ایزومراز تثبیت شده

رجب خلیل پور*^۱، رضا روستا آزاد^۱

۱. دانشکده مهندسی شیمی و نفت، دانشگاه صنعتی شریف

Roosta@sharif.edu

Kavehkhaliipour@yahoo.com

چکیده

عملکرد بیوراکتور گلوکز ایزومراز تثبیت شده استوانه‌ای در ایزومریزاسیون گلوکز به فروکتوز بررسی گردید. در مطالعات تجربی تاثیر pH، دما و غلظت خوراک بر درصد تبدیل مورد مطالعه قرار گرفت. علاوه بر این با استفاده از روابط ریاضی عملکرد بیوراکتور شبیه‌سازی گردید. در این شبیه‌سازی، برگشت پذیری واکنش، تغییرات غلظت و ضریب نفوذ سوبسترا و محصول در دانه کاتالیست و در طول بستر، چگالی جریان، pH، ویسکوزیته و سرعت جریان و نحوه تاثیر آنها بر عملکرد بیوراکتور ملحوظ گردید. مقایسه بین غلظت تئوری و اندازه‌گیری شده سوبسترای خروجی در غلظت‌های مختلف خوراک میزان اختلاف را کمتر از ۵٪ و تطابق مقبولی را بین این داده‌ها نشان می‌دهد.

کلمات کلیدی: گلوکز، فروکتوز، آنزیم تثبیت شده، گلوکز ایزومراز، مدلسازی، راکتور بستر ثابت (پرشده)،

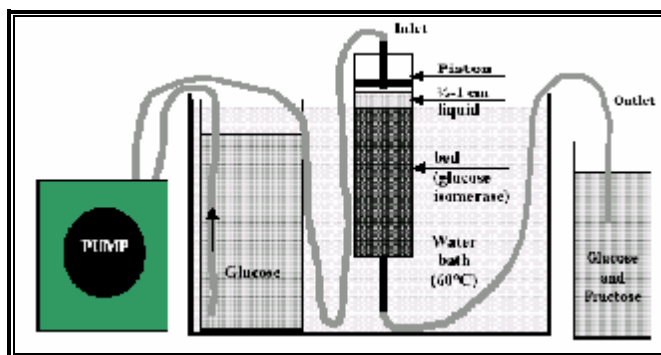
بیوراکتور، HFS

مقدمه

از اواخر دهه ۷۰ میلادی، تبدیل دکستروز به فروکتور در بیوراکتور منقطع آغاز گشت و همگام با رشد روزافزون این صنعت، فرآیند تولید نیز متحول گردید. در این تبدیل از آنزیم محلول با نام گلوکز ایزومراز و نام علمی دی-زایلوز-کتول-ایزومراز (EC 5.3.1.5) استفاده گردید. با ارائه فناوری آنزیم تثبیت شده در سال ۱۹۷۴ تحولی اساسی در این فرایند صورت گرفت. از آن زمان تا کنون کاربرد انواع راکتورهای پرشده، بستر سیال و غیره در این فرآیند تحقیق گردیده‌اند و امروزه ترجیح نسبی بیوراکتور بستر ثابت محرز گردیده است. به دنبال این دستاورد تحقیقاتی، تلاش‌ها عمدتاً بر بهینه‌سازی کاربرد این نوع بیوراکتورها با تکیه بر شبیه‌سازی آنها متمرکز گردیده است. ذکر این نکته لازم است که یک بیوراکتور ممکن است در یک شرایط عملیاتی خاص عملکرد مطلوبی داشته باشد اما این عملکرد مدت زمان طولانی تداوم نداشته باشد. به عنوان مثال، با افزایش دما سینتیک فرآیند تقویت شده و سرعت واکنش افزایش می‌یابد. اما برای آنزیم که ماده‌ای آلی است پایداری موضوع مهمی است و در دمای بالاتر عمر کوتاه‌تری دارد. همین ملاحظه در مورد pH و نیز غلظت بعضی از اجزاء حاضر در محیط صادق است. به همین خاطر هدف اصلی همه تلاش‌های شبیه‌سازی، تعیین شرایطی است که در دراز مدت بهترین نتیجه از منابع به کار رفته در فرآیند حاصل گردد. در این راستا، ذرات حاوی آنزیم و نیز بیوراکتور بستر ثابت فرآیند ایزومریزاسیون گلوکز به فروکتوز شبیه‌سازی شده و صحت آن با استفاده از داده‌های تجربی اندازه‌گیری شده تحقیق گردید. از ویژگی‌های شبیه‌سازی صورت گرفته توجه به پارامترهایی همچون دما، غلظت و ضریب نفوذ سوبسترا و محصول در دانه کاتالیست و در طول بستر، چگالی جریان، pH، ویسکوزیته و سرعت جریان و نحوه تاثیر آنها بر عملکرد بیوراکتور می‌باشد. با توجه به تغییرات عارض شده در طول بستر، تغییرات شاخص فعالیت دانه کاتالیستی (Effectiveness Factor) نیز مورد توجه قرار گرفته و به عنوان تابعی از طول بستر محاسبه گردیده است. در بعد تجربی نیز از یک نمونه آنزیم تجاری جدید عرضه شده به بازار استفاده شده و پارامترهای سینتیکی آن با نمونه قبلی مورد مقایسه قرار گرفته‌اند. در نهایت با استفاده از مدل توسعه یافته اثر pH و دما بر تبدیل آنزیمی بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

شکل ۱ نمایی از مجموعه آزمایشگاهی مورد استفاده را ارائه می‌نماید. بیوراکتور لوله ای دو جداره از جنس پیرکس به قطر ۱۲ و طول ۱۵۰ میلیمتر حاوی آنزیم تثبیت شده می‌باشد. درجه حرارت بیوراکتور با گردش آب در ژاکت کنترل می‌گردد. سوبسترا از یک بورت با دبی کنترل شده به بالای بیوراکتور وارد و از پایین آن خارج می‌گردد. زمان ماند سوبسترا در بیوراکتور توسط شیرری که در خروجی قرار دارد تنظیم می‌گردد. آنزیم تثبیت شده گلوکز ایزومراز استوانه‌ای شکل با نام تجاری Sweetzyme بود و از شرکت نوو (NOVO) تهیه گردید. سوبسترای مورد مصرف گلوکز خالص بود که بصورت پودر دکستروز حاوی ۸٪ رطوبت از شرکت دکستروز ایران تهیه گردید. برای آنالیز محصول از دستگاه HPLC (Waters Co.) با ستون Sugar-Pak استفاده شد.



شکل ۱- نمایی از مجموعه آزمایشگاهی.

توسعه مدل ریاضی

سینتیک آنزیم آزاد

رایج‌ترین مدل سینتیک آنزیمی در تلاش‌های شبیه‌سازی، مدل ساده و غیر ساختاری (non structured) میکائیل-منتن (Michaelis-Menten) مطابق رابطه ۱ است.

$$n = \frac{V_m S}{K_m + S} \quad (1)$$

یک فرض مهم در توسعه این مدل برگشت‌ناپذیری واکنش آنزیمی است. عموماً در ابتدای واکنش‌های برگشت‌پذیر هنگامی که غلظت سوبسترا زیاد و غلظت محصولات پایین است، شرایط واکنش‌های برگشت‌ناپذیر صادق می‌باشد. رابطه سینتیکی واکنش‌های برگشت‌پذیر پیچیده‌تر است و در یک حالت عمومی به صورت رابطه بنیادی ۲ می‌باشد:

$$n = \frac{dP}{dt} = \frac{(k_1 k_2 S - k_{-1} k_{-2} P) E_t}{k_{-1} + k_2 + k_1 S + k_{-2} P} \quad (2)$$

در شرایطی که در محیط واکنش فقط سوبسترا و یا فقط محصول حضور داشته باشد، رابطه ۲ به صورت دو رابطه برگشت‌ناپذیر ۳ و ۴ در می‌آید:

$$n_r = \frac{V_{mr} S}{K_{mr} + S} \quad (3)$$

$$n_f = \frac{V_{mf} S}{K_{mf} + S} \quad (4)$$

در این روابط:

$$V_{mf} = k_2 E_t \quad (5)$$

$$V_{mf} = \frac{k_{-1} + k_2}{k_{-2}} \quad (6)$$

$$V_{mr} = k_{-1} E_t \quad (7)$$

$$K_{mr} = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \quad (8)$$

با جایگزینی روابط ۵-۸ در رابطه ۲، رابطه ۹ به شکل زیر به دست می‌آید:

$$n = \frac{V_m \bar{S}}{K_m + \bar{S}} \quad (9)$$

در این رابطه:

$$K_m = \frac{K_{mf} K_{mr}}{K_{mr} - K_{mf}} \left(1 + \left(\frac{K_{mr} + K_e K_{mf}}{K_{mf} K_{mr}} \right) \frac{S_e}{1 + K_e} \right) \quad (10)$$

$$V_m = \frac{K_{mf} K_{mr}}{K_{mr} - K_{mf}} \left(\frac{1 + K_e}{K_e} \right) \quad (11)$$

$$\bar{S} = S - S_e \quad (12)$$

علیرغم شکل ظاهری مشابه با رابطه میکائیل-منتن، رابطه ۹ با آن تفاوت دارد. علاوه بر این غیرفعال شدن تدریجی آنزیم معمولاً با در نظر گرفتن یک ضریب متغیر با زمان در معادله سرعت واکنش لحاظ می‌گردد. بنابراین خواهیم داشت:

$$n = y(t) \frac{V_m \bar{S}}{K_m + \bar{S}} \quad (13)$$

در این مطالعه این رابطه به عنوان مدل سینتیکی واکنش آنزیم آزاد مورد استفاده قرار گرفت.

سینتیک آنزیم تثبیت‌شده

بر اساس ادعای بسیاری از محققین، بواسطه تثبیت آنزیم رفتار سینتیکی آن تغییر می‌کند [۲]. علاوه بر این در تثبیت آنزیم، مقاومت‌های مبتنی بر پدیده‌های انتقال به مقاومت سینتیکی واکنش آنزیمی اضافه می‌گردند. همه این تفاوت‌ها معمولاً با جایگزینی پارامترهای سینتیکی ظاهری در مدل سینتیکی بنیادی (Intrinsic) لحاظ می‌گردند. لذا اگر سرعت واکنش آنزیم فعال ($y(t)=1$) محلول با n_{ideal} نشان داده شود سرعت واکنش آنزیم تثبیت‌شده بدین‌گونه خواهد بود:

$$n = y(t) \frac{V_m \bar{S}}{K_m + \bar{S}} = h y(t) \frac{V_m \bar{S}_b}{K_m + \bar{S}_b} = y(t) h n_{ideal} \quad (14)$$

در این رابطه η ضریب فعالیت (Effectiveness Factor) نشان دهنده مقاومت‌های مربوط به انتقال جرم می‌باشد.

مدلسازی دانه کاتالیست و تعیین ضریب فعالیت (h)

از موازنه جرم برای یک دانه کاتالیست استوانه‌ای به دست می‌آید:

$$(2prLN_{sr})_{r+\Delta r} - (2prLN_{sr})_r - (2prLdr_r n) = 2prLe_p \frac{\Delta S}{\Delta t} \quad (15)$$

در این رابطه N_{sr} فلاکس نفوذی جرم، L طول کاتالیست، r شعاع المان، \bar{n}_{pw} دانسیته کاتالیست خیس، ε_p تخلخل دانه کاتالیست، S غلظت سوپسترا و n سرعت واکنش می‌باشد که از رابطه ۱۳ محاسبه می‌شود. با اعمال عملیات جبری، روابط زیر حاصل می‌گردد:

$$\frac{d^2C}{dx^2} - \frac{1}{r} \frac{dC}{dx} = M_T^2 \frac{C}{1+b_b C} \quad (16)$$

$$B.C. \begin{cases} x=0 & C = \text{finite} \ \& \ \frac{dC}{dx} = 0 \\ x=1 & \frac{dC}{dx} = Bi(1-C|_{x=1}) \end{cases}$$

که در آن:

$$C = \frac{\bar{S}}{\bar{S}_b}, \quad x = \frac{r}{R}, \quad b_b = \frac{\bar{S}_b}{K_m} \quad (17)$$

$$M_T = R \sqrt{\frac{V_m \cdot r_p}{K_m \cdot D_e}} \quad (\text{Thiele Modulus}) \quad (18)$$

$$Bi = \frac{Rk_f}{D_e} \quad (\text{Biot Number}) \quad (19)$$

بنابراین با استفاده از تعریف η رابطه ۲۰ به دست می آید:

$$h = g(1+b_b) \int_0^R \frac{C}{1+b_b C} x^{g-1} dx \quad (20)$$

ثوابت سینتیکی آنزیم در جدول ۱ آمده است.

مدلسازی راکتور

برای مدلسازی بستر کاتالیست فرضیات فوق اعمال شده است:

- ۱- در جریان خوراک فقط یک ماده واکنش دهنده وجود دارد،
- ۲- دبی جرمی خوراک ثابت است،
- ۳- در طول فرایند، تخلخل بستر عدد ثابتی می باشد،
- ۴- دمای داخل راکتور ثابت می باشد،
- ۵- واکنش فقط در داخل کاتالیست صورت می گیرد،
- ۶- رژیم جریان آرام می باشد،

با اعمال این فرضیات معادله عمومی فوق برای راکتور بستر ثابت بدست می آید:

$$u_z \frac{\partial S}{\partial z} + u_r \frac{\partial S}{\partial r} - D_z \frac{\partial^2 S}{\partial z^2} - D_r \frac{\partial^2 S}{\partial r^2} + \left(\frac{1-e_b}{e_b} \right) r_p r(S) + \frac{\partial S}{\partial t} = 0 \quad (21)$$

در جریان آرام نمودار تابعیت عدد Bodenstein و نسبت طول به قطر (L/d) به عنوان شاخص هندسی راکتور برای مشخص نمودن نوع انتشار ($dispersion$) حاکم بر جریان ارائه داده شده است [۳]. در شرایط عملکردی راکتور در این مطالعه، عدد رینولدز بسیار کوچک ($Re \sim 1$) و عدد Bodenstein بزرگ ($Bo > 10000$) می باشد. در نتیجه هماهنگ با نظر بسیاری از محققین رژیم جریان کاملاً بصورت جابجایی ($Pure Convection$) بوده و اثر $dispersion$ قابل چشم پوشی می باشد [۲۷]. علاوه بر این زمان نیمه عمر آنزیم حدود ۲۰۰-۳۵۰ روز می باشد و لذا می توان آن را نسبتاً پایدار تلقی نموده و ضریب اکتیواسیون برای این شرایط $\psi=1$ در نظر گرفته شود.

با اعمال این دو ساده سازی در معادله (۲۱)، معادله (۲۲) بدست می آید.

$$u \frac{d\bar{S}_b}{dz} + \left(\frac{1-e_b}{e_b} \right) r_p h \frac{V_m \bar{S}_b}{K_m + \bar{S}_b} = 0 \quad (22)$$

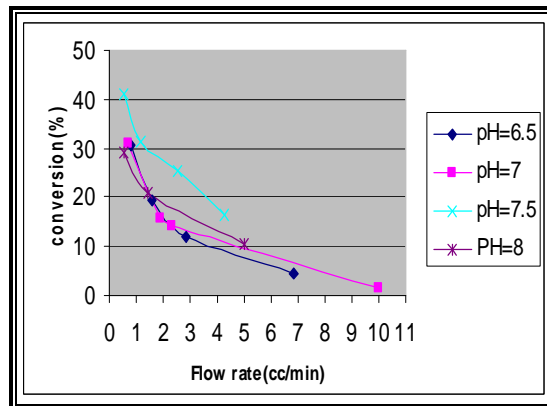
از حل عددی معادله ۲۲ نحوه تغییر پارامترهای مورد نظر در طول و قطر بستر نسبت به زمان به دست می‌آید. η در این معادله عدد ثابت نبوده و برای هر گام در حل عددی معادلات از رابطه (۲۰) بدست می‌آید.

نتایج و بحث

تحقیق تجربی عملکرد بیوراکتور تثبیت‌شده

بررسی اثر pH

فعالیت آنزیمی عموماً در مقدار pH خاصی در حداکثر میزان خود قرار می‌گیرد. در مقادیر بالاتر و یا پایین‌تر pH معمولاً فعالیت آنزیم کاهش یافته و در نتیجه منحنی تابعیت فعالیت آنزیم به pH بصورت زنگوله‌ای شکل می‌باشد. این مقدار، pH بهینه ($pH_{optimum}$) نامیده شده و در خصوص آنزیم مورد استفاده در این تحقیق مقدار آن ۷/۵-۷/۸ گزارش شده است. با توجه به این مطلب تاثیر این پارامتر بر عملکرد بیوراکتور آنزیمی مورد مطالعه قرار گرفت. شکل ۲ عملکرد بیوراکتور آنزیم تثبیت‌شده را در چهار pH مختلف نشان می‌دهد.

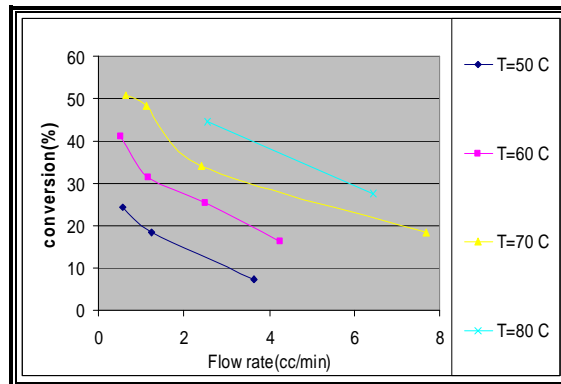


شکل ۲- بررسی اثر pH بر روی عملکرد بیوراکتور آنزیم تثبیت‌شده.

همان‌گونه که ملاحظه می‌شود. در $pH=7/5$ درصد تبدیل حدود ۱۵٪ بیشتر از بقیه مقادیر pH است. هماهنگ با شکل زنگوله‌ای تابعیت فعالیت آنزیم به pH، عملکرد بیوراکتور در مقادیر بالاتر و یا پایین‌تر با درصد تبدیل پایین‌تری همراه است.

بررسی اثر دما

برای بررسی اثر دما بر روی عملکرد بیوراکتور، فرایند در چهار دمای $50^{\circ}C$ ، $60^{\circ}C$ ، $70^{\circ}C$ و $80^{\circ}C$ در دبی‌های مختلف انجام گردید. شکل ۳ نتایج حاصل از این آزمایشات را نشان می‌دهد.

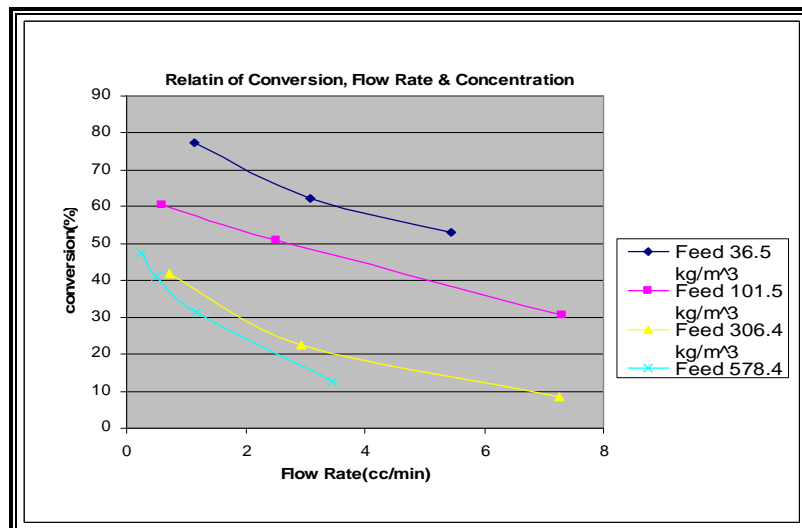


شکل ۳- بررسی اثر دما بر روی درصد تبدیل.

همان‌گونه که انتظار می‌رود با افزایش دما درصد تبدیل افزایش یافته و حداکثر تبدیل در همه دبی‌ها در درجه حرارت ۸۰ صورت گرفته است. این در حالی است که درجه حرارت توصیه شده جهت آنزیم ۶۰-۵۵ می‌باشد. بدیهی است توصیه درجه حرارت پایین‌تر به علت تاثیر منفی حرارت بر روی ساختار آنزیم و در نتیجه فعالیت آن است. در دمای پائین درصد تبدیل کم و در عین حال خطر ایجاد آلودگی میکروبی بالا و در دمای بالا سرعت غیر فعال شدن آنزیم بیشتر می‌باشد. لذا انجام فرایند در دمای بهینه ۶۰-۵۵ باعث افزایش طول عمر کاتالیست و در آن واحد درصد تبدیل قابل قبول می‌گردد.

اثر غلظت خوراک

شکل ۴ تاثیر غلظت سوبسترا در خوراک ورودی را در دبی‌های مختلف بر عملکرد بیوراکتور نشان می‌دهد. در دبی ۲ میلی لیتر بر دقیقه به عنوان دبی مبنا، مقدار مطلق سوبسترای تبدیل یافته در غلظتهای ۳۶/۵، ۱۰۱/۵، ۳۰۶/۴ و ۵۷۸/۴ به ترتیب ۷۰، ۵۴، ۲۹ و ۲۵ می‌باشد. در عین حال مشاهده می‌شود که درصد تبدیل به تدریج با افزایش غلظت سوبسترا کاهش می‌یابد. علت این پدیده آن است که در یک بستر ثابت میزان آنزیم و در نتیجه جایگاه فعال آنزیم مقدار ثابتی است. با افزایش غلظت سوبسترا و در نهایت اشباع جایگاه فعال آنزیمی، درصد تبدیل با افزایش غلظت افزایش می‌یابد. پس از این مرحله مقدار مطلق تبدیل ثابت مانده و لذا درصد تبدیل کاهش می‌یابد.



شکل ۴- بررسی اثر غلظت بر روی درصد تبدیل.

حل عددی معادلات ریاضی

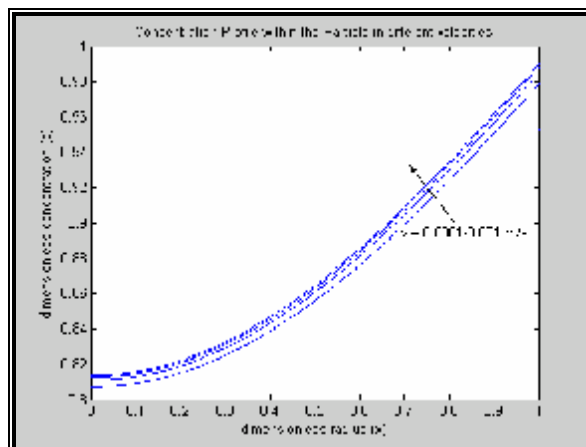
معادلات مربوط به ذره بیوکاتالیست

روابط ۱۶ و ۲۰ به صورت عددی با استفاده از روش Gauss-Seidel و با نرم‌افزار MATLAB 6.5 حل شدند. جدول ۱ مقدار عددی ثوابت سینتیکی موجود در معادلات را ارائه می‌نماید.

جدول ۱- مقدار عددی ثوابت سینتیکی آنزیم [۱۷].

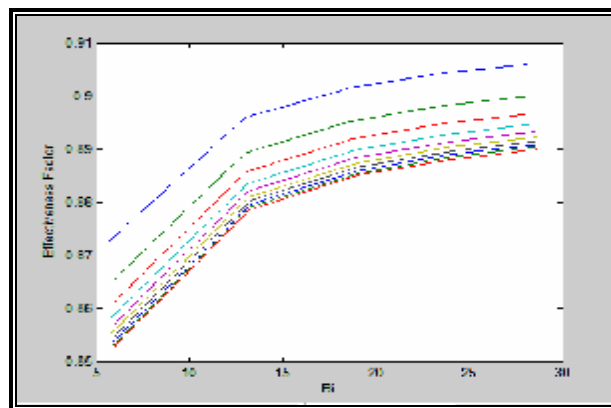
پارامتر	مقدار
V_{mf}	$8.768e-4 \text{ kg/m}^3 \cdot \text{kg catalyst}$
K_{mf}	126.112 kg/m^3
V_{mr}	$5.636e-4 \text{ kg/m}^3 \cdot \text{kg catalyst}$
K_{mr}	81.072 kg/m^3
K_{eq} (at 60°C)	1

شکل ۵ پروفایل غلظت در طول شعاع دانه کاتالیستی را نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، غلظت سوبسترا از مقدار 0.99 غلظت توده جریان در سطح، به حدود 0.8 این مقدار در مرکز دانه سقوط نموده است که حاکی از مقاومت قابل توجه انتقال جرم در داخل ذره بیوکاتالیست می‌باشد. علاوه بر این، افزایش سرعت جریان از 0.0001 به ده برابر آن یعنی 0.001 متر بر ثانیه تاثیر فاحشی بر توزیع غلظت بر جای نگذاشته است. این مطلب دلیلی بر آن است که مقاومت انتقال جرم فیلمی خارج نسبت به مقاومت انتقال جرم داخلی نسبتاً ناچیز می‌باشد. ضریب 0.99 در نسبت غلظت سوبسترا در سطح به مقدار آن در توده جریان نیز مبین مقاومت ناچیز لایه مرزی در این شرایط می‌باشد. در این صورت به نظر می‌رسد بعضی فعالیت‌های تحقیقاتی صورت گرفته جهت کاهش مقاومت انتقال جرم خارجی با استفاده از افزایش سرعت نسبی جریان و بیوکاتالیست تثبیت شده توجیه قابل قبولی ندارد [۲۰].



شکل ۵- پروفایل غلظت در امتداد شعاع کاتالیست.

در شکل ۶ اثر سرعت جریان (عدد بایوت) و نیز اثر غلظت سوپسترا بر روی ضریب فعالیت (η) نشان داده شده است. با توجه به تاثیر ضعیف سرعت بر توزیع غلظت درونی انتظار می رود که تاثیر آن بر ضریب فعالیت نیز تاچیز باشد. شکل ۶ نشان می دهد که در محدوده سرعت 0.0001 تا 0.001 متر بر ثانیه (عدد بایوت بین ۵ تا ۳۰) ضریب فعالیت در محدوده 0.85 تا 0.9 متغیر بوده است. در همین حوزه، تاثیر غلظت سوپسترا ضعیف تر از تاثیر سرعت به نظر می رسد.

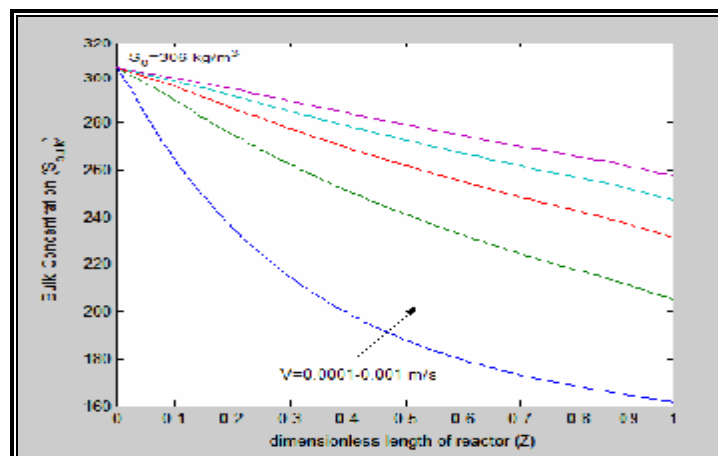


شکل ۶- تغییرات η با سرعت و غلظت سوپسترا.

معادلات مربوط به بیوراکتور

در حل معادله ۲۲، از تابع ode45 برنامه MATLAB 6.5 و برای تعیین مقدار η از برنامه قسمت قبل به عنوان یک زیر برنامه استفاده شد.

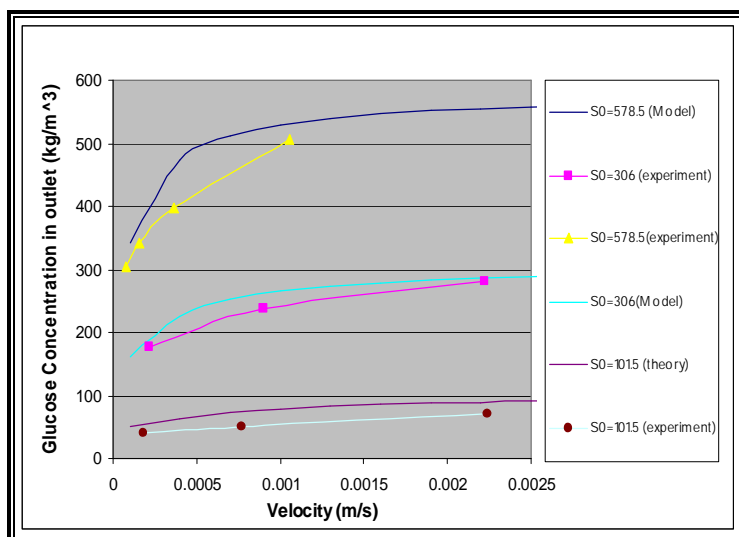
شکل ۷ نحوه کاهش غلظت سوپسترا در طول راکتور را در سرعت‌های مختلف نشان می‌دهد. همان‌طور که انتظار می‌رود با افزایش سرعت و در نتیجه کاهش زمان اقامت، درصد تبدیل کاهش و غلظت گلوکز در خروجی راکتور افزایش می‌یابد. با توجه به ثابت تعادل واکنش ایزومریزاسیون که ۱ می‌باشد، در سرعت $v=0.0001$ در خروجی راکتور شرایط ناعادل برقرار شده و غلظت گلوکز به نصف مقدار آن در خوراک ورودی یعنی به حدود ۱۶۰ کیلوگرم در متر مکعب کاهش یافته است. بدیهی است کاهش بیشتر سرعت و لذا افزایش بیشتر زمان اقامت پس از این مرحله تاثیری در افزایش درصد تبدیل نخواهد داشت.



شکل ۷- نحوه تغییرات غلظت در طول راکتور در سرعت‌های مختلف.

مقایسه نتایج حاصل از مدلسازی و آزمایشات تجربی

میزان مطابقت مدل بدست آمده با نتایج کارهای آزمایشی بررسی گردید. به این منظور غلظت تئوری و اندازه گیری شده سوبسترای خروجی در غلظت‌های مختلف خوراک مقایسه گردید. شکل ۸ نتایج حاصل از این مقایسه را نشان می‌دهد.



شکل ۸- مقایسه نتایج تجربی با پیش بینی مدل ریاضی.

در این نمودار میزان اختلاف کمتر از ۵٪ و تطابق مقبولی بین نتایج مدل و آزمایش دیده می‌شود. غلظت گلوکز خروجی در هر سه غلظت خوراک در تئوری بیشتر از مقدار تجربی آن است. این بدان معنی است که فعالیت سینتیکی آنزیم عملاً بیش از مقدار فرض شده برای آن می‌باشد. لازم به ذکر است که در غیاب کمیت‌های سینتیکی مربوط به آنزیم Sweetzyme IT که در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت، در عملیات عددی از مقادیر منتشر شده جهت آنزیم گلوکز ایزومراز Sweetzyme T استفاده شد. در هر صورت، همانطور که ذکر گردید خطای ظاهری مشاهده شده کم و قابل قبول می‌باشد.

تقدیر و تشکر

از نمایندگی شرکت نوو در تهران بعلت مساعدت در انجام این تحقیق تشکر می‌گردد.

منابع و مراجع

1. Elnashaie, S.S.E.H., Elshishini, S.S. Modelling, Simulation and Optimization of Industrial Fixed Bed Catalytic Reactors.
2. Chaplin, M., Bucke, C., 2003. Enzyme Technology.
3. Levenspiel, O., 1999. Chemical Reaction Engineering. Chapters 15&21.
4. Laskin, I.L., Enzymes and Immobilized Cells in Biotechnology. Chapter 5.
5. Lam, S., Malikin, G., 1974. Analytical applications of immobilized enzyme reactors.
6. Ullman series, 1985. vol A-12, pp. 47-51 and 457-475.
7. Bucke, C., Enzymes in fructose manufacture. Chapter 3 of Enzyme and Food processing.
8. Banerjee, M., Debnath, S., Majumdar S.K., 1993. Production of fructose syrup by immobilized glucose Isomerase of streptomyces kanamyceticus in batch and continuous process. Microb. Biotechnology, 8(1) pp. 44-50.
9. Bales, V., Rajniak, P., 1986. Mathematical simulation of fixed bed reactor using immobilized enzyme. Chem. Papers 40(3), pp. 329-338.
10. Havewala, N. B., & Pitcher, W. H. (1974). Immobilized glucose isomerase for the production of high fructose syrups. In E. K. Pye, & L. B. Wingard Jr. (Eds.), Enzyme engineering, vol. 2 (p. 315). New York: Plenum.
11. Hemmingsen, S.H., 1979. Development of an immobilized glucose Isomerase for Industrial application. Applied Biochemistry and Bioengineering (vol 2), pp. 157-183.
12. Pedersen, S., Rugh, S., 1988. Properties and application of sweetzyme T- a new immobilized glucose Isomerase produced by a strain of Streptomyces murinus. Biotechnology and Food Industry Proc. Int. Symp., pp. 267-283, Budapest.
13. Jorgensen, O.B., Karlsen, L.G., Nielsen, N.B., Pedersen, S. and Rugh, S., 1988. A new immobilized glucose isomerase with high productivity produced by a strain of Streptomyces murinus. Starch/Stärke 40, pp. 307-313.
14. Palazzi, E. and Converti, A., 2001. Evaluation of diffusional resistances in process of glucose isomerization to fructose by immobilized glucose isomerase. Enzyme and Microbial Technology 28, pp. 246-252.
15. Vasic-Racki, D., Pavlovic, N., Cizmek, S., Drazic, M., Husadzic, B., 1991. Development of reactor model for glucose isomerization catalyzed by whole-cell immobilized glucose Isomerase. Bioprocess Engineering 7, pp. 183-187.
16. Camacho-Rubio, F., Jurado-Alameda, E., Gonzalez-Tello, P. and Luzon-Gonzalez, G., 1996. A Comparative study of the activity of free and immobilized enzymes and its application to glucose Isomerase. Chemical Engineering Science, vol. 51, No. 17, pp. 4159-4165.

17. Dadvar, M., Sohrabia, M., Sahimi, M., 2003. Pore network model of deactivation of immobilized glucose isomerase in packed-bed reactors, I: Two-dimensional simulations at the particle level. *Chemical Engineering Science* 57, pp. 939-952.
18. Zeikus, J.G., Savchenko, A., Sriprapundh, D., Vieille, C. Bioengineering of amylase and Xylose Isomerase thermozymes. *Recent analyses in carbohydrate bioengineering*.
19. Vlaev, S.D., Elenkov, D., Tsenova, M., Stoychev, M., Djejeva, G., 1991. D-glucose isomerization using an immobilized glucose Isomerase preparation from streptomyces thermovulgaris strain 127, *Acta Biotechnology* 11, pp. 49-55.
20. Sohrabi, M., Fallah, N., Karimi, A., 2002. Use of continuous countercurrent reactors in solid-liquid enzyme reactions. 7th Iran chemical engineering conference, vol 3, pp. 92-96.
21. Beck, M., Kissler, T., Perrier, M. and Bauer, W., 1986. Modeling glucose/fructose isomerization with immobilized glucose isomerase in fixed and fluidized-bed reactors. *Canadian Journal of Chemical Engineering* 64, p. 553.
22. Chen, K.-C., Suga, K.-I. and Taguchi, H., 1980. Effects of pore and film diffusion resistances and deactivation of enzyme on the overall reaction rate of immobilized enzyme. *Fermentation Technology* 58, p. 439.
23. Converti, A. and Del Borghi, M., 1997. Simultaneous effects of immobilization and substrate protection on the thermodynamics of glucose isomerase activity and inactivation. *Enzyme Microbial Technology* 21, p. 511.
24. Volkin, D.B. and Klivanov, A.M., 1989. Mechanism of thermodeactivation of immobilized glucose isomerase. *Biotechnology and Bioengineering* 33, p. 1104.
25. Verhoff, F.H. and Goldstein, W.E., 1982. Diffusion resistance and enzyme activity decay in a pellet. *Biotechnology and Bioengineering* 24, p. 703.
26. Takasaki, Y., 1967. Kinetic and equilibrium studies on -glucose--fructose isomerization catalyzed by glucose isomerase from *Streptomyces* sp. *Agricultural and Biological Chemistry* 31, p. 309.
27. Gramkow, J., Knudsen, B.R., Snabe, T., 1999. Modelling of continuous high fructose syrup production. Thesis, Aalborg University.
28. Palmer, T., 1991. *Understanding Enzymes*. Chapter seven.
29. Bergmeyer, H.U., 1983. *Methods of Enzymatic Analysis*, vol 1. Chapter two.
30. Holman, J.P., 1997. *Heat Transfer*. Chapter five.
31. McCabe, L.W., Smith, J.C., Harriott, P., 1985. *Unit Operations of Chemical Engineering*. Chapter five.
32. Ozdural, A.R., Tanyolac, D., Boyaci, I.H., Mutlu, M. Webb, C., 2003. Determination of apparent kinetic parameters for competitive product inhibition in packed-bed immobilized enzyme reactors. *Biochemical Engineering* 14, pp.27-36.
33. Vafajoo, L., Sohrabi, M., 2002. A dynamic mathematical model for the direct conversion of methane to methanol in a fixed bed catalytic reactor. *Amir Kabir* 50, pp.195-205.