مقالهٔ کوتاه

تعیین مقادیر عددی متغیرهای سینتیکی ایزومریزاسیون گلوکز به فروکتوز توسط آنزیم تثبیت یافتهٔ گلوکز ایزومراز در محیط آبی - الکلی

فرزانه وهاب زاده* و علی عیوضی**

دانشکدهٔ مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر

(دریافت مقاله: ۱۳۷۶/۷/۷ - دریافت نسخهٔ نهایی: ۱۳۷۷/۲/۱۳)

چکیده - کاتالیز ایزومریزاسیون گلوکز به فروکتوز توسط آنزیم تثبت یافتهٔ گلوکز ایزومراز در محیط آبی - الکلی مورد مطالعه قرار گرفته است. با استفاده از رابطهٔ میکلیس - منتن و نیز رابطهٔ هلدین متغیرهای اصلی سینتیکی در این واکنش اندازه‌گیری و تعیین شده‌اند: V_{mr}، K_{mr}، V_{mf}، K_{mf}، مقادیر K_{mr} و K_{mf} برای آنزیم مزبور در محیط الکلی نسبت به این مقادیر در محیط آبی افزایش داشته است اگر چه مقادیر حداکثر سرعت در این رابطه نشانگر کاهش است. این مطلب با استناد به ثابتهای سرعت منتسبه در این واکنش ایزومریزاسیون، مورد تفسیر قرار گرفته است. در بیان پیش بینی‌ای از این واکنش ایزومریزاسیون، معادلهٔ انتگرالگیری شدهٔ میکلیس - منتن در موافقت نسبتاً خوبی با نتایج تجربی قرار گرفته است.

Determination of Kinetic Parameters for Catalytic Isomerization of Glucose to Fructose by Immobilized Glucose Isomerase in an Aqueous-Ethanol Medium

F. Vahabzadeh and A. Aiwazi

Department of Chemical Engineering, Amirkabir University of Technology

ABSTRACT- Catalytic isomerization of glucose to fructose by immobilized glucose isomerase in an aqueous-ethanol medium was studied. Using Michaelis-Menten equation and Haldane relationship , the main kinetic parameteres were determined: K_{mf} , V_{mf} , K_{mr}, V_{mr}. By comparing the aqueous-ethanol medium with an aqueous solution, the measured values of K_{mr} and K_{mf} were increased in the aqueous-ethanol solution, while the values for maximal velocities (V_{mf} and V_{mr}) were decreased in this medium. The results from these comparisons were discussed with refernce to the rate constants in this isomerization reaction. The integrated form of the Michaelis-Menten equation was used with good approximation to predict the course of the isomerization reaction in the aqueous-ethanol solution.

---

* استادیار ** فارغ التحصیل کارشناسی ارشد - مهندسی شیمی

[DOR: 20.1001.1.2251600.1377.17.2.15.1]

فهرست علائم

E	علامت آنزیم و غلظت آن در یک دانه از کاتالیست ($m^3_{g.i.}/m^3_{cat.}$)	G_e	غلظت تعادلی گلوکز (mol/m^3)	R	سرعت واکنش ($mol/m^3.sec$)
$E_\circ$	غلظت کل آنزیم در یک دانه از کاتالیست ($m^3_{g.i.}/m^3_{cat.}$)	$\overline{G}$	غلظت کاهش یافته گلوکز(mol/m^3)	$R_{\circ f}$	سرعت اولیه واکنش مستقیم ($mol/m^3.sec$)
F	علامت و غلظت فروکتوز (mol/m^3)	GI	علامت گلوکز ایزومراز	$R_{\circ r}$	سرعت اولیه واکنش معکوس ($mol/m^3.sec$)
$F_\circ$	غلظت اولیه فروکتوز (mol/m^3)	K	ثابت تعادل واکنش	V_{mf} و V_{mr}	حداکثر سرعت واکنشهای مستقیم و معکوس ($mol/m^3.sec$)
Fe	غلظت تعادلی فروکتوز (mol/m^3)	k_1 و k_2	ثابتهای سرعت در معادلهٔ واکنش (1/sec)، معادلهٔ (۱)	V'_m	حداکثر سرعت واکنش ($mol/m^3.sec$)، معادلهٔ (۱۱)
G	علامت و غلظت گلوکز (mol/m^3)	k_1 و k_2	ثابتهای سرعت در معادلهٔ واکنش، معادلهٔ (۱)	X	میزان تبدیل نسبی
$G_\circ$	غلظت اولیه گلوکز (mol/m^3)	K_{mf} و K_{mr}	ثابتهای میکلیس برای واکنشهای مستقیم و معکوس (mol/m^3)	XE	واسطه‌گذاری واکنش و غلظت آن (m^3g.i.-substrate/m^3cat.)
		K'_m	ثابت میکلیس (mol/m^3)، معادلهٔ (۱۱)		

۱- مقدمه

استفاده از شربت ذرت غنی شده از فروکتوز[1] (HFCS) به عنوان جایگزینی مناسب برای سوکرز در شاخه‌های مختلف صنایع غذایی و به خصوص در نوشابه‌سازی از اهمیت صنعتی و تجارتی بالایی برخوردار است [۱]. تبدیل گلوکز به فروکتوز توسط آنزیم گلوکزایزومراز[2] نکتهٔ اصلی و تعیین کننده در فرایند تولید HFCS به شمار می‌آید. در واقع شربت گلوکز در طی یک فرایند آنزیمی از نشاستهٔ ذرت حاصل می‌شود، تحت عملکرد آنزیم GI به شربتی حاوی مخلوط تقریباً هم مولار از گلوکز و فروکتوز تبدیل می‌شود [۲]. میزان تبدیل تعادلی در این واکنش، اندکی پایینتر از حد مطلوب و مورد نظر (برای تهیه و تولید شربتی برخوردار از شیرینی یکسان با سوکرز) بوده است و به منظور بررسی امکان تغییر ثابت تعادل در راستای تولید و تشکیل بیشتر فروکتوز، تغییر محیط واکنش (حلال) مدنظر قرار گرفته است و با توجه به خوراکی بودن شربت مزبور و نیز به دلایل میزان محلول بودن واکنشگرها و امتزاج پذیری با آب و مسائل هزینه‌ای، در حال حاضر عمدتاً توجه به استفاده از اتانل معطوف شده است [۳]. از سوی دیگر مطالعه و بررسی عملکرد کاتالیتیکی آنزیمها در محیطهایی نه کاملاً آبی و یا به عبارتی در حلالهای آلی با سطح قطبیت[3] متفاوت، در سالهای اخیر مورد توجه بسیار است [۴]. در رابطه با تأثیر عوامل مختلف بر واکنش ایزومریزاسیون آنزیمی گلوکز به فروکتوز اگر چه مطالعات تقریباً زیادی انجام گرفته، ولی بررسیهای مبتنی بر مدلهای سینتیکی در حد نسبتاً محدودی است [۵ و ۶]. جزئیات رفتار سینتیکی آنزیم گلوکزایزومراز تثبیت یافته (نوع تجارتی) در محیط واکنش "آبی- الکلی" در محل دیگری شرح داده شده است [۷]. در این کار پژوهشی با استفاده از معادلهٔ هلدین[4]، مقادیر عددی ثابتهای سینتیکی میکلیس - منتن برای آنزیم تثبیت یافتهٔ گلوکز ایزومراز به منظور کاتالیز ایزومریزاسیون گلوکز به فروکتوز در محیط آبی - الکلی تعیین و گزارش شده است.

۲- مواد و روش تحقیق

در این تحقیق از آنزیم گلوکز ایزومراز تهیه شده از منبع میکروبی استرپتومایسس میورینس[5] استفاده شد. در توده‌ای از سلولهای شکست یافته و حاوی مولکولهای آنزیم، تثبیت آنزیم به روش ایجاد پیوندهای عرضی توسط گلوتارآلدهاید به انجام رسیده است. این آنزیم تثبیت یافته محصولی تجارتی از شرکت تولیدی فراورده‌های آنزیمی نوو[6] بوده و به صورت دانه‌های قهوه‌ای رنگ

[DOR: 20.1001.1.2251600.1377.17.2.15.1]

استوانه‌ای شکل با توزیع اندازه ذرات بین ۰/۳ تا ۱ میلیمتر است. فعالیت اولیه آنزیم در حد ۳۵۰ IGIU/g بیان شده است [۸]. کلیه مواد به کار برده شده از قبیل گلوکز، فروکتوز، $7H_2O$ و $MgSO_4$ $6H_2O$ و $CoCl_2$ ، اتانل و سایر نمکها و اسیدها و بازها از حد خلوص بالایی برخوردار بوده‌اند. محیطهای واکنش حاوی نسبت مشخصی از آب و اتانل (به عنوان حلال) ، گلوکز یا فروکتوز (به عنوان سوبسترا) و یونهای کبالت و منیزیم (فعالسازی آنزیم) بوده و برای انجام واکنش ایزومریزاسیون از یک راکتور شیشه‌ای سه دهانهٔ مجهز به همزن دقیق و سیستم کنترل و تنظیم دما و pH استفاده شد. واکنش به صورت ناپیوسته مورد مطالعه قرار گرفت. به نمونه‌های گرفته شده از محیط واکنش، برای اطمینان از توقف کامل واکنش ایزومریزاسیون آنزیمی، ۲ میلی‌لیتر پرکلریک اسید ۱٪ اضافه شد و اندازه‌گیری غلظت فروکتوز موجود در نمونه (ها) با استفاده از روش طیف سنجی نوری در طول موج مرئی ۵۶۲mm صورت گرفت [۹]. این روش در برگیرندهٔ ترکیبات سیستئین هیدروکلراید و کاربازول بوده و بر مبنای واکنش کتوهکزوزها، کتوپنتوزها، تری‌اُزها و گلیکولیک آلدئیدها با کاربازول در سولفوریک اسید قرار دارد. چنانچه غلظت گلوکز در نمونه‌های کمتر از ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر باشد، در سنجش صحیح غلظت فروکتوز تأثیر و تداخلی حاصل نخواهد شد.

با استفاده از مدل سینتیکی میکلیس - منتن و نیز معادلهٔ هلدین و به کمک ترسیم معکوس دو جهتی لاین ویور-بارک[7] متغیرهای اصلی سینتیکی در این واکنش ایزومریزاسیون آنزیمی اندازه‌گیری و تعیین شده است.

۳- نتایج و تفسیر

متغیرهای سینتیکی K_m و V_m در معادلهٔ معمول و متداول میکلیس - منتن بر مبنای تعدادی از ثابتهای شدت بیان و تعریف شده است و از آنجا که در تعیین ثابت تعادل نیز از همان ثابتها استفاده می‌شود لذا میان ثابت تعادل و متغیرهای سینتیکی K_m و V_m می‌توان ارتباطی برقرار کرد [۱۰ و ۱۱]. این ارتباط تحت عنوان معادلهٔ هلدین نام گرفته است. در این ارتباط واکنش سادهٔ دو مرحله‌ای برگشت پذیر زیر در نظر گرفته می‌شود:

$$G+E \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} XE \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftharpoons}} F+E \qquad (۱)$$

با توجه به فرض برقراری روش حالت پایا، سرعت واکنش ایزومریزاسیون گلوکز به فروکتوز (واکنش مستقیم) را می‌توان به صورت زیر ارائه کرد:

$$R=\frac{(k_1k_2G-k_{-1}k_{-2}F)E_0}{k_{-1}+k_2+k_1G+k_{-2}F} \qquad (۲)$$

حداکثر سرعت و نیز ثابت میکلیس برای واکنش گلوکز به فروکتوز (واکنش مستقیم) به ترتیب با K_{mf} و V_{mf} مشخص می‌شوند و حداکثر سرعت و نیز متغیر K_m برای واکنش برگشتی (واکنش معکوس) به ترتیب با K_{mr} و V_{mr} مشخص شده‌اند. مجدداً اینکه با در نظر گرفتن فرضیات اصلی در ارائهٔ مدل آنزیمی میکلیس می‌توان متغیرهای سینتیکی را به شرح زیر تعریف کرد:

$$V_{mf}=k_2E_0 \qquad (۳)$$

$$V_{mr}=k_{-1}E_0 \qquad (۴)$$

$$K_{mf}=\frac{k_{-1}+k_2}{k_1} \qquad (۵)$$

$$K_{mr}=\frac{k_{-1}+k_2}{k_{-2}} \qquad (۶)$$

ثابت تعادل بر مبنای ثابتهای شدت به صورت زیر ارائه می‌شود:

$$K=\frac{k_1k_2}{k_{-1}k_{-2}} \qquad (۷)$$

پس از جابه‌جاییهای لازم می‌توان معادلهٔ هلدین را به صورت زیر ارائه کرد:

$$K=\frac{Fe}{Ge}=\frac{k_1k_2}{k_{-1}k_{-2}}=\frac{V_{mf}K_{mr}}{V_{mr}K_{mf}} \qquad (۸)$$

با در نظر گرفتن دو معادلهٔ زیر:

[DOR: 20.1001.1.2251600.1377.17.2.15.1]

جدول ۱- ثابتهای میکلیس - منتن و حداکثر سرعتهای واکنش برای واکنش ایزومریزاسیون

کمیت	محیط واکنش آبی	محیط واکنش حاوی ۵۰٪ اتانل
K_{mf} (mol/m^3)	۲۵۰	۳۷۰
V_{mf} (mol/m^3.sec)	۰/۰۴۹	۰/۰۳۱
K_{mr} (mol/m^3)	۴۴۰	۶۴۰
V_{mr} (mol/m^3.sec)	۰/۰۸۷	۰/۰۴۴

$$G+F=G_{\circ}+F_{\circ}=(K+1)G_e \qquad (۹)$$

$$\overline{G}=G-G_e \qquad (۱۰)$$

و اینکه $\overline{G}$ عبارت از غلظتی از سوبسترای گلوکز است که با نزدیک شدن واکنش به موقعیت تعادلی، به سمت صفر میل می‌کند. با به کارگرفتن معادله‌های (۸) و (۹) و (۱۰) و جایگذاری آنها در معادلهٔ (۲) می‌توان معادلهٔ زیر را که در واقع شباهت کاملی با معادلهٔ معمول میکلیس - منتن دارد به دست آورد:

$$R=-\frac{d\overline{G}}{dt}=\frac{V'_m\,\overline{G}}{K'_m+\overline{G}} \qquad (۱۱)$$

با توجه به معادلهٔ بالا، دو متغیر K'_m، V'_m به صورت زیر تعریف می‌شوند[۱۱].

$$V'_m=\left(\frac{K+1}{K}\right)\left(\frac{K_{mr}}{K_{mr}-K_{mf}}\right)V_{mf} \qquad (۱۲)$$

$$K'_m=\left(\frac{1}{K_{mr}-K_{mf}}\right)[(K_{mr}+K_{mf}\,K)\,Ge+K_{mr}K_{mf}] \qquad (۱۳)$$

با در نظرگرفتن فرضیات معمول در کسب معادلهٔ میکلیس - منتن، می‌توان معادلهٔ زیر را برای واکنش ایزومریزاسیون گلوکز به فروکتوز ارائه کرد.

$$R_{\circ f}=\frac{V_{mf}\,G_{\circ}}{G_{\circ}+K_{mf}} \qquad (۱۴)$$

البته برای واکنش معکوس ایزومریزاسیون بالا (فروکتوز به گلوکز) نیز می‌توان معادلهٔ مشابهی تعریف و ارائه کرد. با استفاده از معادلهٔ خطی معکوس دو جهتی لاین - ویوربارک :

$$\frac{1}{R_{\circ f}}=\frac{K_{mf}}{V_{mf}}\cdot\frac{1}{G_{\circ}}+\frac{1}{V_{mf}} \qquad (۱۵)$$

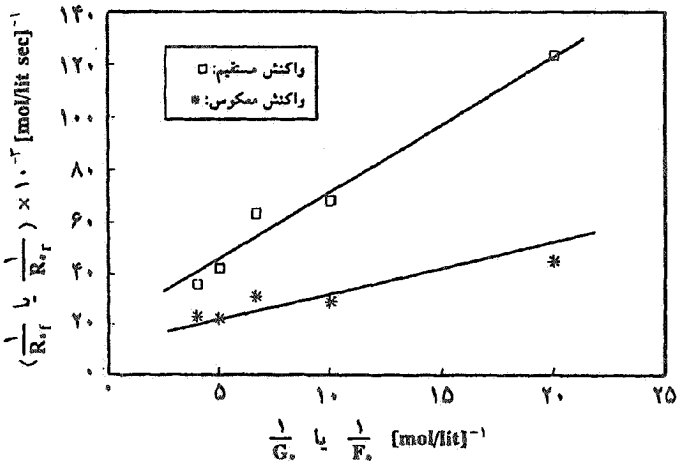
و نیز ترسیم نتایج می‌توان مقادیر K_{mr}، V_{mr}، K_{mf}، V_{mf} را تعیین کرد. در واکنش ایزومریزاسیون گلوکز به فروکتوز غلظتهای اولیه گلوکز برابر ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ mol/m^3 بوده و در واکنش معکوس نیز از همین غلظتهای فروکتوز استفاده شده است. دمای واکنش ۵۰°C و pH (تنظیم شده با بافر $NaOH-KH_2PO_4$) برابر ۷/۵ در نظر گرفته شد. غلظت یونهای منیزیم و کبالت به ترتیب برابر ۰/۵mol/m^3 و ۰/۱mol/m^3 ، مقدار آنزیم ۵۰ kg/m^3 و حجم کل محلول در محیط واکنش برابر 2×10^{-4}m^{-3} بوده است. دور همزن ۳۰۰rpm و زمان واکنش نیز ۶۰۰ ثانیه منظور شده است. در ادامهٔ مطلب به جدول (۱) و نیز شکلهای (۱) و (۲) توجه کنید. با در نظرگرفتن مقادیر موجود در جدول (۱) و به کمک معادله‌های (۳) تا (۶)، تک تک ثوابت سرعت واکنش ایزومریزاسیون قابل محاسبه‌اند، جدول (۲). به علاوه با استفاده از معادلهٔ (۷) مقدار ثابت تعادل واکنش در دمای ۵۰°C در محیط آبی برابر ۰/۹۹ و در محیط حاوی ۵۰٪ اتانل برابر ۱/۲۳ محاسبه می‌شود. آزمایشاتی که مستقیماً برای تعیین موقعیت تعادلی واکنش انجام گرفته است. مقدار K را در محیط آبی برابر ۱/۰۴ و در محیط ۵۰٪ الکلی برابر ۱/۱۶ معرفی می‌کند. با توجه به مراجع دیگر مقدار عددی ثابت تعادل در محیط آبی و در دمای ۵۰°C برابر ۱/۰۳، ۰/۹۳ و ۱/۰ [۱۲و۱۳] تعیین و گزارش شده است.

در آزمایشات تعیین مسیر پیشرفت واکنش با زمان، میزان تبدیل حاصله برای واکنشهای مستقیم و معکوس در محیطهای آبی و ۵۰٪ الکلی تا نزدیک نقطهٔ تعادل دنبال شد. نتایج ارائه شده در

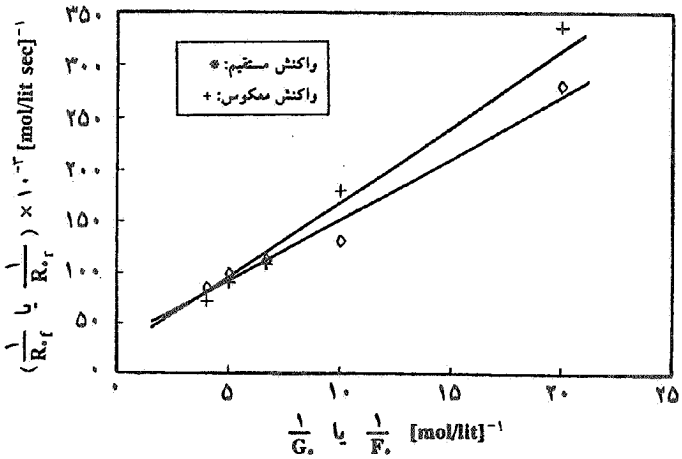
[DOR: 20.1001.1.2251600.1377.17.2.15.1]

جدول ۲- ثابتهای سرعت واکنش ایزومریزاسیون (در دمای ۵۰°C)

	k_1E_0 (1/sec)	$k_{-2}E_0$ (1/sec)	$k_{-1}E_0$ (mol/m³.sec)	k_2E_0 (mol/m³.sec)
محیط واکنش کاملاً آبی	$5/44 \times 10^{-4}$	$3/1 \times 10^{-4}$	۰/۰۸۷	۰/۰۴۹
محیط حاوی ۵۰٪ وزنی اتانل	$2/03 \times 10^{-4}$	$1/17 \times 10^{-4}$	۰/۰۴۴	۰/۰۳۱



شکل ۱- ترسیمهای «لاین ویور - بارک» برای واکنشهای مستقیم و معکوس در محیط آبی



شکل ۲- ترسیمهای «لاین ویور - بارک» برای واکنشهای مستقیم و معکوس در محیط ۵۰٪ الکلی

جدول (۱) حاکی ازکاهش حداکثر سرعت واکنش (V_{mf} و V_{mr}) و افزایش ثابت میکلیس - منتن (K_{mf} و K_{mr}) در محیط الکلی نسبت به محیط آبی است. آزمایشات انجام شده نشان می‌دهند که فعالیت آنزیم گلوکز ایزومراز در محیط واکنش حاوی اتانل کمتر از محیط کاملاً آبی بوده و میزان کاهش فعالیت به غلظت الکل موجود بستگی دارد [۷]. با تکیه بر این مطلب، کاهش حداکثر سرعت واکنشهای مستقیم و معکوس که طبق تعریف به کار برده شده متناسب با k_1 و k_2 هستند به عنوان نمود دیگری از این پدیده توجیه می‌شود. در این آزمایشات، غلظت اولیه سوبسترا برابر ۱۵۰ mol/m³ بوده است. به علت تجزیه فروکتوز و گلوکز در pHهای بالا، مقدار pH محیط واکنش اندکی پایینتر از مرحلهٔ قبل و برابر ۷/۳ در نظر گرفته شده است. مقدار آنزیم نیز ۷۰ kg/m³ و دور همزن برابر ۲۵۰rpm بوده است. از فعالسازهای آنزیم GI نیز در همان غلظتهای مورد اشاره در قبل استفاده شد. لازم به ذکر است که به علت پایین بودن میزان حل شدن این مواد در محیط واکنش حاوی اتانل غلظت سوبسترا و یونهای فعالساز آنزیم کمتر از مقادیر معمول و متعارف خود است[۱۴].

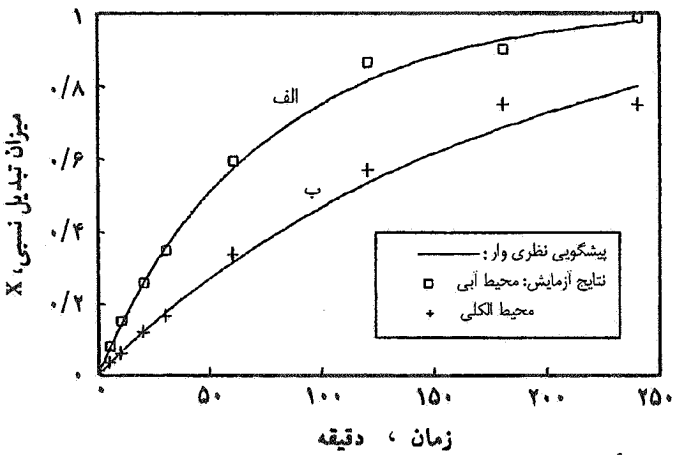
با انتگرالگیری از معادلهٔ (۱۱) می‌توان از میزان تبدیل نسبی و نیز زمان در این واکنش، تخمینی را به دست آورد:

$$t = \frac{\overline{G}_0}{V'_m} X - \frac{K'_m}{V'_m} \operatorname{Ln}(1-X) \qquad (16)$$

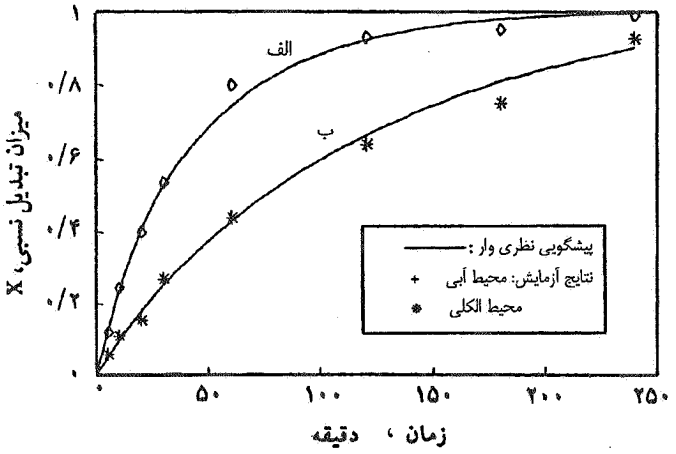
$$X = \frac{G_0 - G}{G_0 - G_e}$$

با استفاده از نتایج تجربی و نیز با به کارگیری معادلهٔ بالا در امر ارائه پیش‌بینی‌ای بر زمان تبدیل ، شکلهای (۳) و (۴) تهیه شده‌اند. نتایج حاصل از مطالعهٔ پیشرفت واکنش با زمان نشانگر آن است که داده‌های تجربی به دست آمده برای میزان تبدیل در این واکنش

[DOR: 20.1001.1.2251600.1377.17.2.15.1]



شکل ۳- میزان تبدیل نسبی برحسب زمان برای واکنش مستقیم در دمای °۵۰ (الف) محیط واکنش آبی، (ب) محیط واکنش حاوی ۵۰٪ وزنی اتانل



شکل ۴- میزان تبدیل نسبی برحسب زمان برای واکنش معکوس در دمای °۵۰ (الف) محیط واکنش آبی، (ب)محیط واکنش حاوی ۵۰٪ وزنی اتانل

ایزومریزاسیون آنزیمی بر مسیر پیش بینی شده توسط معادلهٔ میکلیس به شکل انتگرالگیری شدهٔ آن، به صورت مناسبی منطبق است و در محیط واکنشی آبی و نیز آبی - الکلی میزان این انطباق از موقعیت تقریباً مشابهی برخوردار است.

۴- نتیجه گیری

در بیان رفتار سینتیکی آنزیم تثبیت یافتهٔ گلوکز ایزومراز در ایزومریزاسیون گلوکز به فروکتوز در محیط آبی - الکلی می‌توان از مدل پیشنهادی و معادلهٔ میکلیس و نیز معادلهٔ هلدین استفاده کرد وبه این ترتیب تعیین مقادیر عددی متغیرهای سینتیکی اصلی در واکنشهای مستقیم و معکوس امکانپذیر خواهد بود. در تعیین مسیر پیشرفت واکنش با زمان، نتایج تجربی حاصل به امکان به کارگیری شکل انتگرالگیری شدهٔ معادلهٔ میکلیس اشاره دارد.

واژه نامه

1. high-fructose corn syrup
2. glucose isomerase
3. polarity
4. Haldane equation
5. streptomyces murinus
6. Novo
7. Lineweaver-Burk plots

مراجع

1. Pszczola, D.E., "American Fructose Unveils new Technologies in HFCS Plant, "*Food Technology,* 41(10): 50, 1987.
2. Hagen, H. A., and Pedersen, S., *Enzymes,* pp. 341-350 (Vol. A9), in Yamamoto, Y.S., Kaudy, L., Rounsaville, F., amd Schulz, G. (eds), Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, VCH, Gemany, 1989.
3. Visuri, K., Klibanov, A. M., "Enzymatic Production of High Fructose Corn Syrup (HFCS) Contianing 55% Fructose in Aqeous Ethanol, "*Biotechnol. Bioeng.,* 30:917, 1987.
4. Zaks, A., and Klibanov, A. M., "Enzymatic Catalysis in Nonaqueous Solvenrs," *J. Biol. Chem.*, 263: 3194, 1988.
5. Brown, S. H., Sjoholm, C., and Kelly, R. M., "Purification and Characterization of a Highly Thermostable Glucose Isomerase Produced by the Extremely Thermophilic Eubacterium, Thermotoga Maritima," *Biotechnol. Bioeng.*, 41:878, 1993.

[DOR: 20.1001.1.2251600.1377.17.2.15.1]

6. Volking, D. B., and Klibanov, A. M., "Mechanism of Thermoinactivation of Immobilized Glucose Isomerase,"*Biotechnol Bioeng.*, 33: 1104, 1989.

۷- عیوضی، ع.، "بررسی رفتار سنتیکی آنزیم گلوکز در محیط آبی - الکلی در راکتور ناپیوسته"، پایان نامه کارشناسی ارشد در مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی امیر کبیر (پلی تکنیک تهران)، اسفند ۱۳۷۵

8. Sweetzyme T (B395c-GB 3000, Feb. 1991), Novo Nordisk A/S Denmark.

9. Ryu, D. Y., Chung, S. H., and Katoh, K., "Performance of the Continuos Glucose Isomerase Reactor System for the Production of Fructose Syrup," *Biotechnol. Bioeng.,* 19: 159, 1977.

10. Sproull, R. D., Lim, H. C., and Schneider, D. R., "A Model for Enzymatic Isomerization of D-Glucose to D-Fructose in a Batch Reactor, "*Biotechnol. Bioeng.,* 18: 633, 1976.

11. Dixon M., and Webb, E. C., *Enzymes,* 3rd. ed., Academic Press, 1979.

12. Kikkert, A., Vellenga, K., De Wilt, H. G. J., and Joosten, G. E. H., "The Isomerization of D-Glucose into D-Fructose Catalyzed by Whole-Cell Immobilized Glucose Isomerase. The Dependece of the Intrinsic Rate of Reaction on Substrate Concentration, pH and Temperature, "*Biotechnol. Bioeng.*, 23: 1087, 1981.

13. Lee, Y. Y., Fratzke, A. R., Wun, K., and Tsao, G. T., Glucose Isomerase Immobilized on porous Glass," *Biotechnol. Bioege.*, 18: 389, 1976.

14. Zaks. A., and Klibanov, A. M., The Effect of Water on Enzyme Action in Organic Media," J. *Biol. Chem.*, 263: 8017, 1988.

[DOR: 20.1001.1.2251600.1377.17.2.15.1]