

# بررسی ایزومری شدن آنزیمی گلوکز به فروکتوز در یک جت راکتور با جریان گردش پایین رونده

زینب صالحی<sup>i</sup>؛ مرتضی سهرابی<sup>ii</sup>؛ طاهره کاغذچی<sup>iii</sup>؛ بابک بنکدارپور<sup>iv</sup>

## چکیده

واکنش ایزومری شدن (همپارش) گلوکز به فروکتوز به وسیله آنزیم تثبیت یافته گلوکز ایزومراز در یک جت راکتور با جریان پایین رونده (DJR) مطالعه شده است. درصد تبدیل گلوکز به فروکتوز در این راکتور اندازه گیری شده و با میزان تبدیل در راکتور نا پیوسته مقایسه شده است. در صنعت، این واکنش در راکتورهای بستر ثابت و با زمان ماند حدود ۲ ساعت به ۴۰ درصد تبدیل می رسد حال آنکه همین واکنش در جت راکتور پس از ۳۰ دقیقه به همان میزان تبدیل رسید. در عین حال، به کمک یک راکتور ناپیوسته پس از زمان ۳۰ دقیقه تبدیلی برابر با ۲۵٪ به دست آمد. با استفاده از روش طراحی آزمایش تاگوچی شرایط بهینه سیستم تعیین شد. اثرات وزن آنزیم، قطر لوله مکش فاصله شیپورک از لبه بالایی لوله مکش شدت جریان مایع و شدت جریان گاز بر روی میزان تبدیل گلوکز بررسی شد. 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 میزان تبدیل گلوکز دارد. در وهله اول، یک مدل سینتیکی ساده بر اساس الگوی میکائیلیس منتن برای توضیح ایزومری شدن گلوکز انتخاب شد و با استفاده از روش حداقل سازی غیر خطی مربعات خطا پارامترهای مدل مذکور تعیین شد. در گام بعد، یک مکانیسم دقیق تر برای این واکنش ارائه شده و پارامترهای سینتیکی مدل مذکور نیز تعیین شد. از مقایسه داده های تجربی با نتایج حاصل از دو مدل مورد بحث مشخص شد که مدل سینتیکی بهبود یافته از دقت بیشتری برخوردار است.

## واژه های کلیدی :

گلوکز ایزومراز، ایزومری شدن، گلوکز، جت راکتور با جریان پایین رونده گردش، آنزیم تثبیت یافته

## *A Study on Isomerization of Glucose to Fructose in A Down Flow Jet Loop Reactor*

Zeinab Salehi, Morteza Sohrabi, Tahereh Kaghazchi, Babak Bonakdarpoor

### ABSTRACT

Glucose isomerization to fructose by immobilized glucose isomerase as an example of solid-liquid enzyme reaction has been studied in a down flow jet loop reactor (DJR). Conversion of glucose to fructose has been measured and compared with that formed in a batch reactor. The performance capability of the DJR was observed to be higher than that of the conventional reactors. The optimum operating conditions of the reaction system have been also determined using the Taguchi experimental design method. The effects of enzyme loading, draft tube diameter, position of nozzle inside the draft tube, and gas and liquid flow rates on glucose conversion have been considered. Analysis of the results revealed that the draft tube diameter has the highest and the ratio of the liquid circulation rate to the gas flow rate has the least effects on the conversion

<sup>i</sup> دانشجوی دکترا، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، دانشکده مهندسی شیمی

<sup>ii</sup> استاد دانشگاه صنعتی امیرکبیر، دانشکده مهندسی شیمی [sohrabi@aut.ac.ir](mailto:sohrabi@aut.ac.ir)

<sup>iii</sup> استاد دانشگاه صنعتی امیرکبیر، دانشکده مهندسی شیمی

<sup>iv</sup> دانشیار دانشگاه صنعتی امیرکبیر، دانشکده مهندسی شیمی

of glucose. It was found that the experimental data could be correlated favorably with a modified structure of the Michalis-Menten model consisting of two transition complexes.

#### KEY WORDS:

Glucose isomerase, Fructose, Enzyme reactions, Down flow jet loop reactor, Immobilized enzyme

#### مقدمه

ایزومری شدن گلوکز به فروکتوز برگشت پذیر است و درصد تبدیل تعادلی گلوکز به فروکتوز در شرایط صنعتی؛ یعنی دمای ۵۵ درجه سلسیوس حدود ۵۰٪ است. واکنش گرماگیر و گرمای آن برابر  $5 \text{ kJ/mol}$  است. ایزومری شدن گلوکز معمولاً در راکتورهای لوله ای پر شده با آنزیم تثبیت یافته گلوکز ایزومراز با سرعت حجمی  $0.2-2 \text{ dm}^3/\text{h}$  صورت می گیرد.

هدف اصلی پژوهش حاضر اجرای واکنش ایزومری شدن گلوکز در یک جت راکتور با جریان پایین رونده و مقایسه آن با درصد تبدیل گلوکز در راکتورهای صنعتی نا پیوسته همزن دار است.

#### دستگاهها و روشهای آزمایشگاهی

در شکل شماره (۱) مجموعه تحقیقاتی نشان داده شده است. شیپورک و لوله مکش هر دو روی محور بدنه استوانه‌ای شکل مستقر هستند. موقعیت شیپورک در لوله مکش را می توان از بالا تا پایین این لوله تغییر داد. سایر اطلاعات مربوط به بیوراکتور در جدول (۱) ارائه شده است. شیپورک اهمیت بسیاری در نحوه پراکنده شدن گاز در فاز مایع و میزان مومنتوم جت جریان و اختلاط دو فاز دارد. در شکل (۲) تصویر شیپورک ارائه شده است. در داخل شیپورک هیچ گونه تماسی بین دو فاز به وجود نمی آید. جریان گاز و مایع بعد از خروج از شیپورک با شدت وارد لوله مکش شده و به دلیل مومنتوم زیاد مسیر لوله مکش را از بالا تا انتهای آن به سرعت طی کرده و با شدت به صفحه برخوردی (impact plate) اصابت می کند و در فضای بین لوله مکش و بدنه راکتور جریان می یابد. صفحه برخوردی سه وظیفه مهم دارد 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 حباب های گاز و جریان مایع به سمت بدنه راکتور و انتقال آن به ناحیه حلقوی برای صعود به قسمت فوقانی راکتور؛ ۳- ایجاد اختلاط شدید بین دو فاز و تولید حباب های ریزتر پس از برخورد دو جریان به صفحه. به منظور جلوگیری از خروج دانه های آنزیم یک توری فولادی در قسمت خروجی راکتور نصب شده است

از مزیت های جت راکتورها با جریان گردش (jet loop reactor = JLR) می توان به ویژگی های خاصی نظیر شدت پراکندگی زیاد گاز در مایع و در نتیجه ضریب انتقال جرم بالا و نیز مصرف انرژی نسبتاً کم اشاره کرد. اساس کار این راکتورها بر فراهم ساختن انرژی جنبشی زیاد به وسیله جریان جت مایع است؛ به این ترتیب که مایع با سرعت بالا به راکتور تزریق می شود تا باعث اختلاط شدید دو فاز گاز - مایع و ایجاد پراکندگی مناسب دو فاز شود [۱]. به طور کلی پارامترهای مهم سیستم های چند فاز عبارتند از سطح مشترک بین فازها که مقدار آن به طور مستقیم به میزان ماند گاز در سیستم بستگی دارد. زمان ماند نیز به میزان زیادی به خواص فیزیکی مایع، رژیم جریان و راندمان راکتور وابسته است. در تحقیق حاضر کاربرد یکی از انواع سیستم های JLR موسوم به جت راکتورهای با جریان پایین رونده بررسی شده است. در این نوع راکتور، جریان مایع و گاز به صورت هم جهت از قسمت فوقانی به پایین راکتور تزریق می شود. گاز به کمک جت مایع و برخلاف نیروی ارشمیدس به سمت پایین راکتور و به عمق مایع رانده می شود [۲]. این پدیده باعث افزایش مسیر حرکت و ازدیاد زمان ماند گاز و در نتیجه افزایش موجودی گاز خواهد شد [۳]. نحوه طراحی و محل استقرار شیپورک در لوله مکش در میزان پراکنده سازی گاز در مایع بسیار موثر است [۴]. استقرار شیپورک در قسمت های فوقانی لوله مکش امکان استفاده از راکتورهای مذکور را در فرایندهایی که با ذرات جامد معلق سر و کار دارند به آسانی فراهم می سازد [۵]. به عنوان مثال، برای هوادهی در واکنش های تصفیه پساب با لجن فعال که حاوی رسوبات معلق است می توان از DJR ها استفاده کرد [۶]. در این مقاله ایزومری شدن گلوکز به فروکتوز با استفاده از آنزیم تثبیت یافته گلوکز ایزومراز (به عنوان یک واکنش زیستی جامد - مایع) در یک جت راکتور با جریان پایین رونده بررسی شده است. این واکنش در صنعت از اهمیت ویژه ای برخوردار است؛ زیرا معمولاً گلوکز به صورت مستقیم به جای ساکارز یا قند معمولی به کار نمی رود و همچنین نسبت به ساکارز از شیرینی کمتری برخوردار است و کریستالی شدن آن در محلولها انجام فرایند را با مشکل مواجه می سازد. واکنش

۰.۰/۱۱۵		
۰/۰۴۵	$H_p$	فاصله بین لبه پایینی لوله مکش از صفحه برخوردی (m)
۰/۰۰۱	$D_d$	قطر منفذ گاز در نازل (m)
۰/۰۰۶	$D_i$	قطر داخلی منفذ حلقوی مایع در نازن (m)
۰/۰۰۸	$D_o$	قطر خارجی منفذ حلقوی مایع در نازن (m)
۰/۳۵	$H_i$	ارتفاع سطح مایع در راکتور (m)
۰/۳۵-۰/۳۵	$H_{lg}$	ارتفاع سطح پخش دو فاز در راکتور (m)

## نتایج و بحث

### ۱- ایزومری شدن گلوکز به فروکتوز در جت راکتور

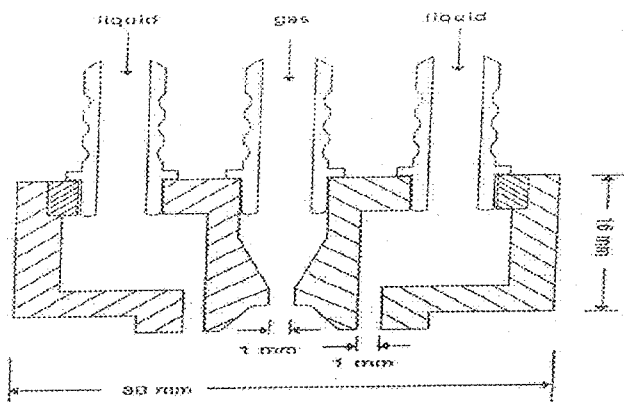
واکنش ایزومری شدن گلوکز با مقادیر مختلف آنزیم بررسی شد. در این آزمایش‌ها شدت جریان مایع و گاز به ترتیب  $450 \text{ dm}^3/\text{hr}$  و  $3 \text{ dm}^3/\text{min}$  بود. در شکل (۳) تغییرات میزان تبدیل گلوکز بر حسب زمان درجت راکتور و در شرایط عملیاتی مختلف رسم شده است. در شکل (۴) تغییرات میزان تبدیل گلوکز نسبت به زمان در یک راکتور ناپیوسته مشاهده می‌شود. مشخصات راکتور ناپیوسته به قرار زیر است:

حجم راکتور: ۵۰۰ میلی لیتر و مجهز به همزن مغناطیسی

خوراک: ۲۰۰ میلی لیتر از محلول گلوکز ۰/۱ مولار

آنزیم گلوکز ایزومراز تثبیت شده: ۲۰ گرم

دمای واکنش: ۶۰ درجه سلسیوس



شکل (۲): تصویر برش طولی از شیپورک

کلیه مواد شیمیایی استفاده شده در این تحقیق به صورت کاملاً خالص و از شرکت Merck تهیه شده است. آنزیم تثبیت یافته گلوکز ایزومراز (Ec.5.3.1.5 D- Xylose Ketol- Isomerase) که به وسیله شرکت novo با نام تجاری Sweetzyme T به بازار عرضه می‌شود از میکروارگانیزم *Streptomyces murinus* به دست می‌آید. این آنزیم بصورت دانه‌های استوانه‌ای شکل و به رنگ قهوه‌ای بوده و اندازه ذرات آن بین ۰/۳ تا ۱ میلی‌متر است. فعالیت اولیه این آنزیم معادل با  $350 \text{ IGIU/g}$  ( $\text{micromole/min/g enzyme}$ ) است.

### روش‌های سنجش

اندازه‌گیری غلظت گلوکز با روش glucose oxidase peroxidase و تعیین غلظت فروکتوز به کمک روش-Cystin Carbasol صورت گرفت [۸،۷]. دقت این روش‌ها با سنجش غلظت‌های معلومی از این دو منو ساکارید آزمایش شد و حداکثر خطای حاصل حدود ۴٪ مشخص شد.

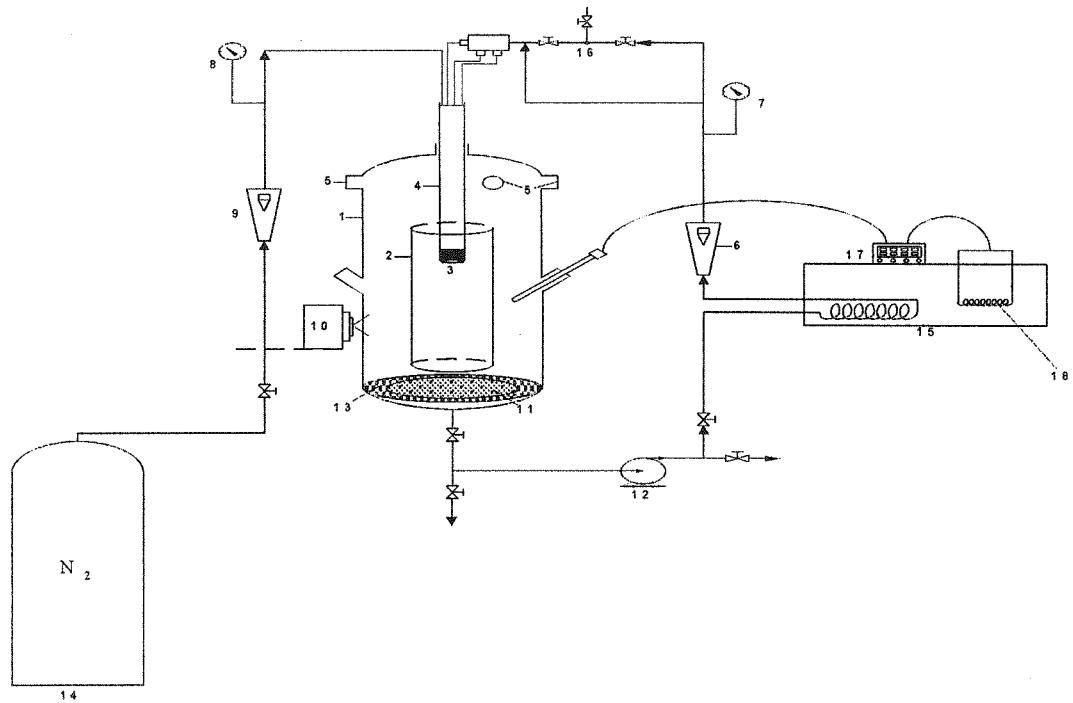
### اجرای آزمایش‌ها

خوراک شامل ۶ لیتر از محلول ۰/۱ مولار گلوکز و ۰/۱ مولار سولفات منیزیم به عنوان پایدارکننده در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و pH ۷/۵ بود. برای شروع آزمایش دمای محلول به ۶۰ درجه سلسیوس افزایش می‌یافت و برای هوازادایی از آن، از گاز نیتروژن استفاده می‌گردید که از طریق شیپورک به درون راکتور دمیده می‌شد.

پس از رسیدن به دمای مطلوب، آنزیم به داخل راکتور افزوده شده و در زمان‌های مختلف از محصول نمونه برداری می‌شد. برای جلوگیری از پیشرفت واکنش در نمونه‌ها تا هنگام تجزیه، هر نمونه ابتدا و به مدت ۱۵ دقیقه جوشانده شده و سپس آزمایش می‌شد.

جدول (۱): پارامترها و ابعاد مربوط به جت راکتور مورد استفاده

طول راکتور (m)	$H_r$	۰/۵
قطر راکتور (m)	$D_r$	۰/۱۲۷
قطر لوله مکش (m)	$D_d$	۰/۰۵۱
نسبت قطر لوله مکش به قطر راکتور	$D_d/D_r$	۰/۳۷۲
طول لوله مکش (m)	$L_d$	۰/۲۵
ارتفاع قرار گرفتن نازل (m)	$H_n$	۰/۲۵



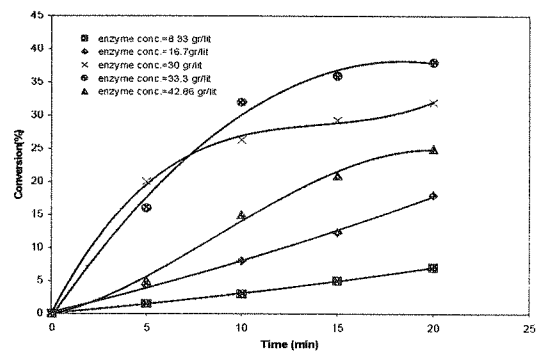
شکل (۱): مجموعه آزمایشگاهی

- ۱- راکتور، ۲- لوله مکش، ۳- شیبورک، ۴- نگهدارنده شیبورک، ۵- خروجی گاز، ۶- جریان سنج مایع، ۷- فشار سنج مایع، ۸- فشارسنج گاز، ۹- جریان سنج گاز، ۱۰- دوربین، ۱۱- صفحه برخوردی، ۱۲- پمپ، ۱۳- توری، ۱۴- کپسول گاز ازت، ۱۵- حمام آب، ۱۶- سیستم تزریق ضربه‌ای، ۱۷- کنترل کننده دما، ۱۸- گرمکن

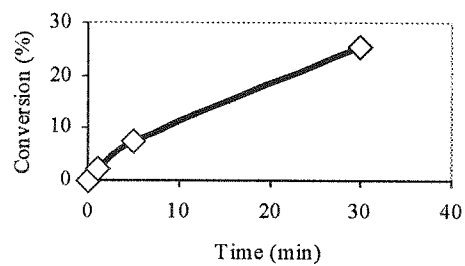
جدول (۲): نحوه قرار گرفتن فاکتورهای مورد بررسی در آرایه

L9

شماره آزمایش	۱	۲	۳	۴
۱	۱	۱	۱	۱
۲	۱	۲	۱	۲
۳	۱	۳	۱	۳
۴	۱	۴	۱	۴
۵	۲	۱	۲	۱
۶	۲	۲	۲	۱
۷	۲	۳	۲	۱
۸	۲	۴	۲	۱
۹	۳	۱	۳	۱



شکل (۳): تغییرات درصد تبدیل گلوکز نسبت به زمان در شرایط مختلف



شکل (۴): تغییرات درصد تبدیل گلوکز در راکتور ناپیوسته

## ۲- بهینه سازی سیستم

برای بهینه سازی فرایند از طراحی آزمایش‌ها به روش تاگوچی استفاده شد [۹]. فاکتورهایی که در ایزومری شدن موثر و مهم هستند به صورت زیر انتخاب شدند:

قطر لوله مکش: فاکتور A

فاصله شیپورک از لبه بالایی لوله مکش: فاکتور B

مقدار آنزیم: فاکتور C

نسبت شدت جریان مایع به گاز: فاکتور D.

آرایه متعامد مناسب برای این حالت L9 است که درجه آزادی آن نیز برابر ۸ است. نحوه چیدمان فاکتورها و سطوح مورد بررسی به صورت جدول (۲) تنظیم شده است.

پس از انجام ۹ آزمایش مطابق ترکیب فوق، شرایط بهینه تعیین و آزمون بهینه انجام شد.

در این آزمایش‌ها درصد تبدیل گلوکز پس از مدت 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 میله‌ای این سطوح رسم شده است. با توجه به نتایج حاصل شرایط بهینه به صورت A1B2C3D تعیین شد. به عبارت دیگر، شرایط بهینه به قرار زیر می‌باشد:

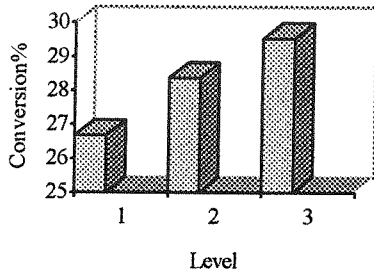
قطر لوله مکش ۰/۰۵۱ متر

فاصله شیپورک از لبه بالایی لوله مکش: ۱۱/۵ سانتیمتر

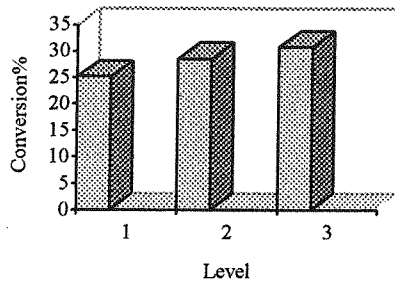
وزن آنزیم: ۲۰۰ گرم

نسبت مایع به گاز: ۱۵۰

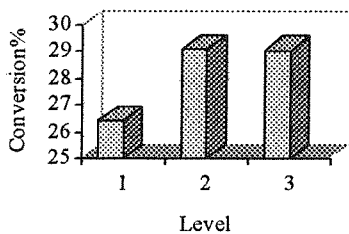
پس از تعیین شرایط بهینه و تجزیه و تحلیل نتایج مندرج در جدول (۲) (جدول ANOVA) و بر اساس داده‌های موجود در شکل (۱۰) می‌توان نتیجه گرفت که قطر لوله مکش در پیشرفت واکنش بیشترین اثر را دارد و نسبت شدت جریان مایع به گاز دارای کمترین اثر است.



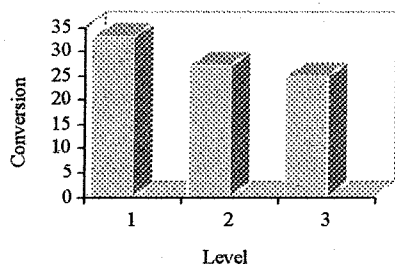
شکل (۶): میزان متوسط پاسخ در سطوح مختلف نسبت دبی مایع به گاز



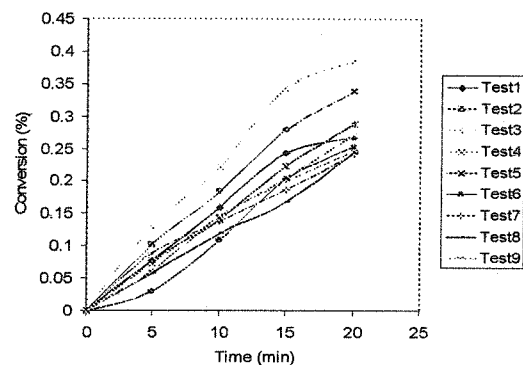
شکل (۷): میزان متوسط پاسخ در سطوح مختلف فاصله شیپورک از لبه بالایی لوله مکش



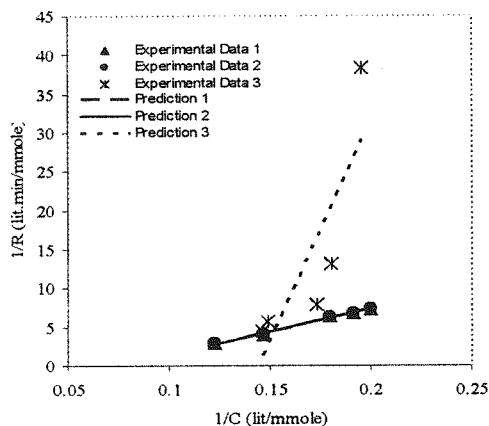
شکل (۸): میزان متوسط پاسخ در سطوح مختلف مقدار آنزیم



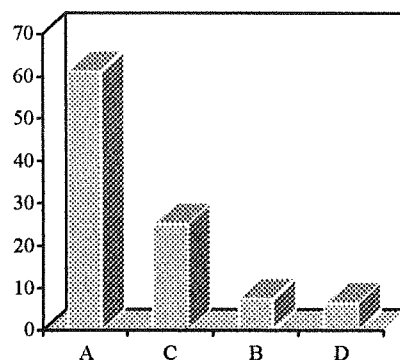
شکل (۹): میزان متوسط پاسخ در سطوح مختلف قطر لوله مکش



شکل (۵): تغییرات در صد تبدیل گلوکز بر حسب زمان



شکل (۱۱): مقایسه داده های تجربی با نتایج حاصل از مدل میکائلیس-منتن



شکل ۱۰- سهم هر یک از فاکتورها در پاسخ

جدول (۳): جدول ANOVA

فاکتور	درجه آزادی	جمع مربعات	واریانس	نسبت F	جمع خالص	درصد %
قطر لوله مکش	۲	۱۱۹/۳۸۸	۵۹/۶۹۴	۰	۱۱۹/۳۸۸	۶۱/۲۰۲
فاصله نازل از لوله مکش	۲	۱۴/۴۰۲	۷/۲۰۱	۰	۱۴/۴۰۲	۷/۲۸۲
مقدار آنزیم	۲	۴۸/۸۰۸	۲۴/۴۰۴	۰	۴۸/۸۰۸	۲۵/۰۲۱
دبی گاز/دبی مایع	۲	۱۲/۴۶۹	۶/۲۳۴	۰	۱۲/۴۶۹	۶/۳۹۲
خطا	۰	۰	۰	۰	۰	۰
جمع	۸	۱۹۵/۰۶۸			۱۰۰	۱۰۰

است.

می توان معادله فوق را بر اساس سرعت تبدیل گلوکز نیز

بیان کرد:

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

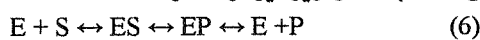
با روش حداقل سازی غیر خطی مربعات خطا پارامترهای

سینتیکی  $V_m$   $K_m$  معین شدند (جدول (۴)).

### الگوی بهبود یافته با دو ماده واسطه

مکانیسم واکنش ایزومری شدن گلوکز به فروکتوز را

ممکن است به شکل زیر نیز ارائه کرد:



که شامل مراحل بازگشت پذیر تشکیل کمپلکس {آنزیم -

سوبسترا} (ES) و تبدیل به کمپلکس {آنزیم- محصول

{ (EP) و در نهایت دفع محصول است [۱۰].

بر اساس مکانیسم فوق معادله سرعت به صورت زیر به

دست می آید:

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

که  $v$  سرعت واکنش،  $V$  پارامترهای سینتیکی واکنش و  $(S)^{\#}$

### مدل سینتیکی واکنش ایزومری شدن گلوکز به

#### فروکتوز

دو مکانیسم مختلف برای توصیف ایزومریزاسیون

گلوکز به فروکتوز به شرح زیر بررسی شد:

۱- الگوی میکائلیس-منتن

۲- الگوی بهبود یافته با دو ماده واسطه

### الگوی میکائلیس-منتن

در این مدل، یک مکانیسم ساده دو مرحله ای در نظر

گرفته می شود:



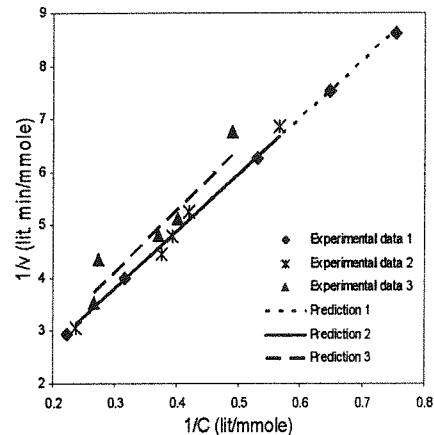
که به معادله نهایی زیر منجر می شود:

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

در معادله اخیر،  $R$  سرعت واکنش،  $V_m$  حداکثر سرعت

واکنش آنزیمی،  $G$  غلظت گلوکز و  $K_m$  ثابت میکائلیس-منتن

تفاضل غلظت‌های لحظه‌ای و تعادلی سوپسترا ست. مقادیر عددی پارامترهای سینتیکی این مدل در جدول (۵) ارائه شده است. در شکل (۱۱) و (۱۲) داده‌های تجربی با نتایج محاسباتی مقایسه شده‌اند.



شکل (۱۲): مقایسه داده‌های تجربی با نتایج حاصل از مدل بهبودیافته

جدول (۴): مقادیر پارامترهای معادله میکائلیس-منتن

شماره آزمایش	$V_m$	$K_m$
آزمایش اول	-۰/۲۳	-۱۳/۴۷
آزمایش دوم	-۰/۲۳	-۱۳/۴۶
آزمایش سوم	-۰/۰۱۲	-۶/۹۳

جدول (۵): مقادیر پارامترهای مدل بهبود یافته

شماره آزمایش	$V$	$K$
آزمایش اول	۱/۷۵	۱۸/۸۹
آزمایش دوم	۱/۷	۱۸/۸
آزمایش سوم	۱/۴	۱۶/۴۹۸

## نتیجه‌گیری

در این مطالعه، واکنش ایزومری شدن گلوکز به فروکتوزبکمک آنزیم تثبیت شده گلوکزایزومراز برای نخستین بار در یک جت راکتور با جریان پایین رونده گردش (Down flow jet loop reactor) انجام شده است. مهم‌ترین نتایج حاصل به قرار زیر است:

- ۱- واکنش مذکور که در صنعت در راکتورهای بستر ثابت و بامیانگین زمان ماند حدود ۲ ساعت به تبدیل ۴۰٪ می‌رسد در جت راکتور پس از ۲۰ دقیقه به ۲۸٪ تبدیل رسید. حال آنکه میزان تبدیل در راکتور ناپیوسته پس از طی زمان ۲۰ دقیقه برابر با ۲۵٪ شد.
- ۲- با استفاده از طراحی آزمایش به روش تاگوچی شرایط بهینه عملیاتی فرایند سیستم تعیین شد و پس از

تجزیه و تحلیل نتایج مشخص گردید که قطر لوله مکش و نسبت شدت جریان مایع به گاز به ترتیب بالاترین و کمترین اثر را بر روی درصد تبدیل گلوکز دارد.

۳- بررسی واکنش نشان داد هنگامی که سینتیک واکنش با معادله سرعت بهبود یافته شامل دو ماده واسطه بیان شود توافق مطلوبی با داده‌های تجربی حاصل می‌شود.

## منابع

- [۱] Dirix C.A.M.C. and Van der wiele K.; Chem. Eng. Sci., Vol. 45, No. 8, 2333-2340 (1990).
- [۲] Velan M. and Ramanujam T. K.; Chem. Eng. Sci., Vol. 47, No. 9-12, 2871-22876 (1992).
- [۳] Velan M. and Ramanujam T. K., The Canadian Journal of Chemical Engineering, Vol. 69, 1257-1261, Dec. 1991.
- [۴] Rabiger N. and Vogelwohl A., Chem. Eng. Tech. Vol. 55, No. 6, 486-487 (1993).
- [۵] Kari Schuger I, "Bioreaction Engineering", Vol. 2, John Wiley & Sons (1999).
- [۶] Kulkarni K., Shah Y. and Schumpe A.; Chem. Eng. Commun., 24, 307-337 (1983).
- [۷] Coburn H.J and Carrol J.J; "Improved Manual and Automated Colorimetric Determination of Serum Glucose"; Clin. Chem.; 19, 127 (1973).
- [۸] Verhoff F.H; " Diffusion Resistance and Enzyme Activity Decay in a Pellet "; Biotech. Bioeng.; 24, 703, (1982).
- [۹] Taguchi, G., "Orthogonal Arrays and Linear Graphs", American Supplier Institute Press, Dearborn, MI, 1987.
- [۱۰] <http://www.Rose-net.co.ir>, South Bank University, School of Applied Science, Martin Chaplin, 17 January 2002.