

# 固定化大肠杆菌连续生产天门冬氨酸的过程模拟和分析

张元兴 陈因良 丁健椿

(华东化工学院生化工程系, 上海)

用卡拉胶包埋大肠杆菌细胞, 得到了强度高、活性高的固定化细胞。实验研究了固定化细胞的催化反应速度, 扩散-反应模型的计算机分析结果与全混釜反应器实验数据具有相同的规律。

列管换热式固定床反应器中的浓度分布可用拟均相一维数学模型描述。从浓度分布和放热量考虑, 宜采用串联的填充等量固定化细胞的两只反应器, 前者是列管换热式, 后者是绝热式。

固定化细胞的宏观失活规律可分为三个阶段。开始近似于一级失活, 后来保持活力不变, 最后失活较快。

**关键词** 天门冬氨酸; 大肠杆菌; 固定化细胞; 卡拉胶

近几十年来, 随着固定化技术的发展, 酶应用工业朝着连续化、大型化、自动化的方向发展。1973年秋, 聚丙烯酰胺固定化大肠杆菌 ATCC11303 连续生产天门冬氨酸的装置首次成功地投入工业运行, 为固定化细胞的工业应用开辟了广阔的前景<sup>[1-3]</sup>。之后, 干畑一郎等人又改用卡拉胶(K-carrageenan)包埋大肠杆菌获得成功, 并于1978年投入工业生产。卡拉胶是从海藻中提取的一种多糖类天然聚合物, 可作为食品添加剂, 适用于天门冬氨酸生产过程。固定化细胞经交联剂己二胺和戊二醛处理, 强度更高, 酶稳定性也大为改善<sup>[4-6]</sup>。

本文在前人工作的基础上, 探索了卡拉胶包埋大肠杆菌 AS1.881 连续生产天门冬氨酸的工程开发中的一些问题。

## 材料及分析方法

### (一) 菌体

1. 菌株: 本实验过程中使用大肠杆菌 AS1.881 菌株, 由上海天厨味精厂提供。

2. 培养基组成(%): 反丁烯二酸 1.0, 七水硫酸镁 0.02, 磷酸二氢钾 0.1, 硫酸铵 0.5, 蛋白胨 0.7, 玉米浆 1.0, 氨水调 pH 至 7.2—7.5<sup>[7]</sup>。

### (二) 底物

反丁烯二酸: 苏州合成化工厂产, 工业一级品; 氨水: 化学纯。反应液配制: 反丁烯二酸加氨水溶解。过滤, 用氨水调 pH 至 8.5, 加硫酸镁至 1 mM。

### (三) 固定化材料

卡拉胶: 日本产, 灰白色粉末, 己二胺: 化学纯; 戊二醛: 进口分装。

### (四) 大肠杆菌的固定化

取 1.8g 卡拉胶溶于 45ml 80°C 的生理盐水, 置冷至 45°C。取 8g 湿菌体在 8m 生理盐水中调好, 预热至 40°C, 再与卡拉胶溶液混和均匀, 用注射针头注入约 15°C 的 0.3M 氯化钾溶液中, 形成 3mm 直径的

本文于 1985 年 2 月 24 日收到。

实验工作中, 得到上海天厨味精厂的大力协助, 特此致谢。

圆颗粒。颗粒在氯化钾溶液中浸泡 30min 后, 移入 85mM 己二胺溶液。此溶液含 0.3M 氯化钾和 0.5M 磷酸二氢钾 (pH7.0), 每 10ml 溶液放 9g 固定化细胞, 保持温度在 5℃ 左右。缓慢摇动 10min 后, 加入 4ml 0.3M 戊二醛溶液, 再在 5℃ 下摇动 30min。最后用 0.3M 氯化钾溶液充分洗涤后, 放入 1M 反丁烯二酸铵溶液 (pH8.5, 1mM  $Mg^{2+}$ ) 于 37℃ 活化 60h。

固定化细胞经硬化处理后, 结构均匀, 强度很好。将颗粒在生理盐水中煮沸, 内部软化, 但外层球壳仍不溶于水。

### (五) 分析方法

采用标准曲线法在酸性条件下直接用高锰酸钾滴定底物反丁烯二酸<sup>[7]</sup>。

## 固定化细胞催化反应动力学及粒内传质

### (一) 固定化细胞催化反应动力学

在卡拉胶固定大肠杆菌过程中, 虽然条件温和, 无放热反应, 但仍存在着酶的热失活, 交联失活, 以及微环境的改变等引起的酶活力降低, 致使催化反应动力学成为一个复杂的问题。为了既能说明问题, 又使描述简便, 假定在无传质阻力时, 固定化细胞催化反应历程中的各种平衡关系不变, 只是酶的有效浓度发生变化。即游离细胞催化反应动力学模型<sup>[8]</sup>

$$v = \frac{V_m(S_1 S_2 - P/K_e)}{K_m + S_1} \quad (1)$$

仍然可以适用于描述固定化细胞内各点的反应速度, 其中的  $K_m$  不变, 仍为 0.012M, 只是  $V_m$  发生变化。为估计这时的  $V_m$ , 将经过活化的固定化细胞在研钵中捣碎, 成泥浆状, 然后在与测定游离细胞催化反应动力学相同的条件下, 测定  $t-S_1$  曲线, 并通过计算机线性拟合, 得到相应的  $V_m$  值 (图 1)。对实验所取的一批固定化细

胞, 每升含固定化细胞 75g 时, 拟合  $V_m$  值为 0.0145 ( $\text{min}^{-1}$ ), 相应的游离细胞的  $V_m$  值为 0.0226 ( $\text{min}^{-1}$ )。固定化过程活力回收 64.2%。

### (二) 固定化大肠杆菌的粒内传质

对一只球形粒子, 假定 (1) 底物和产物在颗粒内的扩散可以认为是液相扩散, 扩散能力用有效扩散系数  $D_{eff}$  表示, 且产物和底物的扩散能力相同。用经验公式估计  $D_{eff}$  为  $5.4 \times 10^{10}$  ( $\text{m}^2/\text{s}$ )。

(2) 颗粒中活性分布不均匀。由于硬化处理使酶失活, 则越靠近表面, 酶活性越低。为数学描述方便起见, 模型简化为: 靠近表面的当量厚度为  $\delta$  的球壳内, 无酶活性, 不发生反应, 活力集中在中心的直径为  $(2R - 2\delta)$  的球内, 且在这个球内活性分布均匀, 对颗粒内任一厚为  $dr$  的

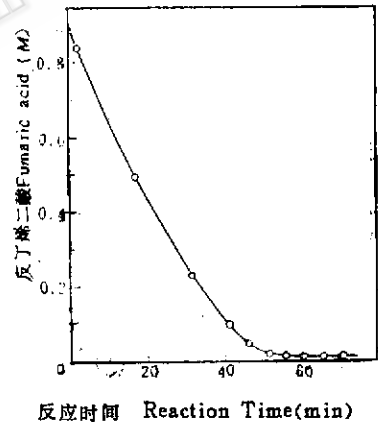


图 1 均相化的大肠杆菌固定化细胞的催化反应动力学  
Fig.1 Kinetics of the reaction catalyzed by homogenized immobilized *E. coli* cells

• 实验值 Experimental values

— 拟合值 Fitted values

球壳作物料衡算, 得颗粒传质-反应微分方程:

$$\begin{cases} \frac{d^2 S_1}{dr^2} + \frac{2}{r} \left( \frac{dS_1}{dr} \right) = 0 & (r > R - \delta) \\ D_{eff} \left\{ \frac{d^2 S_1}{dr^2} + \frac{2}{r} \left( \frac{dS_1}{dr} \right) \right\} = \frac{V_m(S_1 S_2 - P/K_e)}{60(K_m + S_1)}, & (r \leq R - \delta) \end{cases} \quad (2)$$

边界条件为：

$$\begin{cases} r = R \text{ 时, } S_1 = S_{11} \\ r = 0 \text{ 时, } dS_1/dr = 0 \\ r = R - \delta \text{ 时, } S_1 \text{ 连续} \\ R^2 (dS_1/dr)|_{r=R} \\ = (R - \delta)^2 (dS_1/dr)|_{r=R - \delta} \end{cases} \quad (3)$$

其中  $S_{11}$  为颗粒表面底物浓度。这组方程不能求得解析解。在粒子直径为 3.1mm, 无活性球壳厚度  $\delta$  分别为 0 和 0.1mm 时, 对均相化后  $V_m = 0.0145(\text{min}^{-1})$  的一批固定化颗粒, 用计算机作龙格-库塔积分拟合解得颗粒催化反应速度如图 2 中曲线所示。

对上述分析做出实验证明, 用小型连续流动式搅拌槽反应器 (CSTR) 测定了受内扩散影响的固定化颗粒宏观的反应速度规律。实验反应器体积 50ml, 由夹套内的循环水恒温, 装!配螺旋桨以 400 (rpm) 的转速搅动, 通过一恒流装置不断向反应器投料, 并收集反应器溢出液, 测定其浓度。

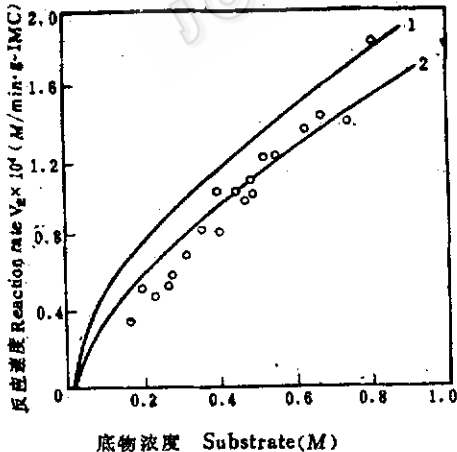


图 2 固定化大肠杆菌 AS1.881 颗粒宏观反应动力学  
Fig. 2 Apparent kinetics of the reaction catalyzed by immobilized *E. coli* AS1.881 cells  
· 实验值 Experimental values in CSTR  
— 数学模型计算值 Calculated values with mathematical model

1,  $\delta = 0$ ; 2,  $\delta = 0.1\text{mm}$

在 1—5 (ml/min) 的流速范围内, 测定了不同菌体活性的颗粒的反应动力学规律, 对  $V_m = 0.0145(\text{min}^{-1})$  的一批颗粒的实验结果标绘于图 2。由图可见, 实验数据与整个颗粒活性均匀的模型 (即无活性球壳厚度为 0) 有系统偏差, 而与无活性球壳厚度为 0.1mm 的模型计算值有较好的一致性。

## 固定床反应器的数学模型及实验结果的讨论

由反丁烯二酸铵反应生成天门冬氨酸是一个放热反应, 反应热为  $25(\text{kJ/mol})$ 。若进料底物浓度为 1M, 温度为  $37^\circ\text{C}$ , 则全部转化的绝热温升约  $6^\circ\text{C}$ , 温度可达  $43^\circ\text{C}$ 。大肠杆菌 AS1.881 在  $37^\circ\text{C}$  下, 酶较稳定。温度升高, 虽然反应速度相应提高, 但失活加快。及时从反应器中移去热量, 是反应器开发中不容忽视的问题。固定化颗粒的催化反应速度接近于一级反应, 返混会降低反应速度。基于上述要求, 既有较好的传热特性, 又有很好活塞流特性的反应器, 应首推列管换热式固定床反应器。

对列管式固定床反应器, 假定为活塞流流动, 即无返混现象, 管内任一横截面上浓度处处均匀, 反应器内温度处处相同, 视反应液与颗粒为均相, 则反应器的拟均相一维数学模型为

$$\begin{cases} u(dS_1/dL) = -\rho v_{\text{宏}} \\ L = 0 \text{ 时, } S_1 = S_{10} \end{cases} \quad (4)$$

其中  $\rho$ ——固定化细胞的堆密度, (g/l);  
 $u$ ——反应器内空塔流速, (m/min);  
 $L$ ——反应器长度, (m);  
 $v_{\text{宏}}$ ——颗粒宏观反应速度, (M/min · g-IMC)。为了表达颗粒反应速度,

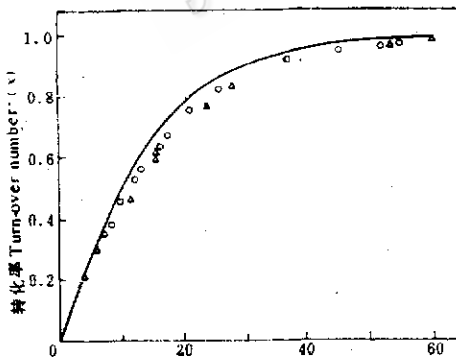
将游离细胞反应动力学表达式(式(1))应用于固定化细胞, 其中的 $V_m$ 和 $K_m$ 以表观参数代之。菌体活性不同, 固定化过程的条件不同, 这两个表观参数也不同。 $S_2$ 在反应中的相对变化量较小, 在一定初始浓度下, 近似作为常数并入表观参数, 以 $a$ 表示。天门冬氨酸浓度 $P$ 的相对变化虽然较大, 但 $P/K_m S_2$ 值很小, 只在反应末期才能影响反应速度。这时 $P/K_m S_2$ 值近似于平衡底物浓度 $S_e$ 。这样, 反应速度有可逆米氏方程的形式:

$$v_{\text{宏}} = \frac{a(S_1 - S_e)}{b + S_1} \quad (5)$$

表 1 实验反应器规格

Table 1 Experimental reactor condition

反应器编号 Reactor No.	反应器直径 Diameter (mm)	填充高度 Packed height (mm)	高径比 Ratio of height to diameter	塔径与粒径比 Diameter ratio of column to particles	填充体积 Packed volume (ml)	空塔率 Void Rate	填充量 Packed Weight (g)	堆密度 Packed density (g/l)
I	40	145	3.6	12.9	182	0.38	118	647
II	20	355	17.6	6.5	112	0.40	71	634



空塔停留时间 Empty column residence time  $\tau$  (min)

图 3 固定化反应器的空塔停留时间与转化率的关系  
Fig. 3 The relation of empty column residence time and turn-over number in fixed bed reactor

△反应器 I 数据 Data obtained in reactor I

○反应器 II 数据 Data obtained in reactor II

— 式(6)计算值 Calculated values with equation(6)

其中 $a$ 、 $b$ 为实验确定的参数。代入式(4)积分, 并写成转化率的形式:

$$\tau = (1/a\rho) \cdot \{S_{10}X - b \cdot \ln\{1 - [S_{10}/(S_{10} - S_e)]\}\} \quad (6)$$

其中 $\tau$ 为空塔停留时间, 转化率 $X = (S_{10} - S_1)/S_{10}$ 。

实验证实这个分析结果时, 采用了两种不同规格的反应器。反应器规格如表 1, 实验结果标绘于图 3 中。底物初始浓度 $S_{10} = 1.00M$ 时, 可能达到的平衡底物浓度 $S_e = 0.011M$ 。实验所用固定化细胞,  $a = 2.9 \times 10^{-4} [M/\text{min} \cdot \text{g-IMC}]$ ,  $b = 1.9M$ , 代入式(6)得 $37^\circ\text{C}$ 下转化率与

空塔停留时间的关系, 计算值如图 3 中的实线。

图 3 可见, 在同一停留时间下, 计算出的转化率要比实验测得的转化率高, 反应器 II 的值又比反应器 I 的值高。这是由于颗粒周围流动边界层传质阻力的影响。停留时间相同时, 由于反应器 II 比反应器 I 长, 故反应器 II 中液体流动快, 传质效率高, 转化率也就更大些。

定义颗粒周围的外部传质效率因子 $\eta_{\text{外}}$ 为实际反应速度与无外部传质阻力时的反应速度之比, 则反应器的数学模型为:

$$\begin{cases} u(dS_1/dL) = -\rho\eta_{\text{外}}v_{\text{宏}} \\ L = 0 \text{ 时, } S_1 = S_{10} \end{cases} \quad (7)$$

温度、浓度和流速等都会影响外部传质效

率。本实验中影响比较大的是流速。为讨论问题的简便，效率因子取整个反应器中传质效率的均值，式中的 $\eta_{外}$ 是 $u$ 的函数，这样就可从式(7)和式(5)推得

$$\eta_{外} = (1/abt) \cdot \{S_{10}X - b \cdot \ln\{1 - [S_{10}/(S_{10} - S_e)]X\}\} \quad (8)$$

对于直径不同的两只反应器的实验结果，计算得效率与填充层空隙中底物流动线速度的关系如图4所示。由图可见，在低流速下，流速对传质效率的影响比较大。

对于固定床中颗粒外部传质作用，有很多经验关联式可供计算。根据水力学直径关联式<sup>[9]</sup>和液膜传质系数关联式<sup>[10]</sup>，考虑到质量平衡，经过适当的简化和推导，可计算外部传质效率，其计算值如图4中实线所示。

根据流速对外部传质效率影响的规律，当填充层空隙中液体流速超过10 [cm/min]时，再提高流速，外部传质效率不再明显增加。因此，反应器设计中，空隙流速应以10 [cm/min] (空塔流速4 [cm/min])为低限。若反应器空时为1 [h<sup>-1</sup>]，则反应器有效高度应在2.4[m]以上。

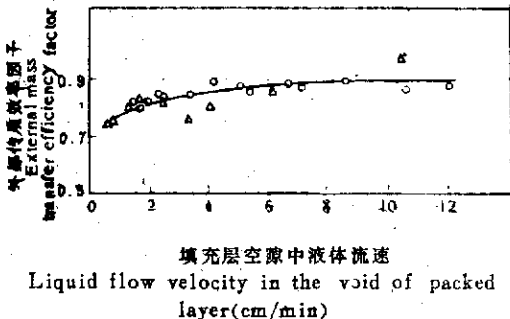


图4 固定床反应器中外部传质效率与流速的关系  
Fig. 4 The relation of external mass transfer efficiency in fixed bed reactor

△反应器 I 数据 Data obtained in reactor I  
○反应器 II 数据 Data obtained in reactor II  
— 经验式估计值 Estimated values with empirical equations

实验(图3)说明，新鲜的1M底物进入反应器后，在整个固定化细胞填充体积的二分之一的区域(空塔停留时间27min)内，底物浓度高，反应速度快，放热量大。在这一段内，转化率达0.8左右，无壁传热时，温度升高近5℃。这就要求采用列管式固定床反应器，以便及时移去反应热，且列管管径宜细些，以减小径向温度不均现象。在接近反应器出口的另一半固定化细胞填充体积中，底物浓度低，接近于平衡浓度，反应速度缓慢，转化率变化只有0.15左右，无壁传热时，温升也不超过1℃。因此，在这个区域中，传热问题并不突出，对反应器的要求主要是保证足够的固定化细胞填充量和流体分布的均匀性。反应器的结构应该是绝热式填充床。

简言之，根据热负荷的不同，应当设置串联的两只反应器，填充等量的固定化细胞，前一只采用列管换热式，后一只采用绝热式。

## 固定化细胞的失活

酶作为催化剂的最大缺点是它的不稳定性。天门冬氨酸酶也是一种不稳定的酶。含高活力天门冬氨酸酶的大肠杆菌细胞一经固定化，酶的稳定性大大提高，且酶失活速度与底物浓度无关<sup>[3,4]</sup>。

为考察卡拉胶固定大肠杆菌AS1.881天门冬氨酸酶的活力稳定性，实验测定了固定化细胞的失活规律。测定方法是用1M反丁烯二酸铵溶液(工业一级纯，pH8.5, 1mM Mg<sup>2+</sup>)浸泡反应器I中的固定化细胞，保存于37℃的恒温箱中，第三天更换一次新底物，每周一次以不同的流速测定三个转化率数据。假定固定化细胞颗粒宏观动力学方程(式(5))中的 $b$

值不变,推算 $a$ 值。实验结果如图5。由图可见,固定化细胞的活性与时间的关系,大致可分为三段。前50天,活性随时间指数降低,即固定化细胞反应速度(式(5))随时间一级降低;

$$-\left(\frac{dv_{\text{定}}}{dt}\right)_{S_1 = \text{常数}} \sim -\frac{da}{dt}$$

$$= k_0 a \quad (9)$$

积分上式,有

$$a = a_0 e^{-k_0 t} \quad (10)$$

其中 $a_0$ 为初始 $a$ 值。对实验用固定化细胞, $a_0 = 2.9[M/\text{min} \cdot \text{g-IMC}]$ ,实验数据的参数拟合得失活常数 $k_0 = 6.55 \times 10^{-3} [\text{day}^{-1}]$ 。在后来的40天中,固定化细胞

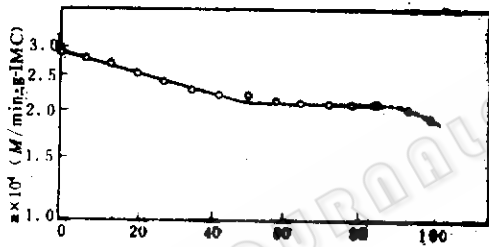


图5 固定化大肠杆菌AS1.881的失活规律

Fig. 5 The deactivation kinetics of immobilized *E. coli* AS1.881 cells

的活性不再继续降低,维持一个不变的数值。这时 $a$ 值为 $2.1 \times 10^{-4} [M/\text{min} \cdot \text{g-IMC}]$ 。固定化细胞操作90天后,活性很快下降。

作为对照,也考察了大肠杆菌AS1.881游离细胞的失活过程,数据标绘于图6(这些数据由上海天厨味精厂提供,从与固定化实验中所用的同一批菌种中取样,于 $4^\circ\text{C}$ 底物中保存)。图中可见,游离细胞先有一个自溶活化过程,然后活性迅速下降,活性半衰期约20天。

对实验所用一批固定化细胞,在进料

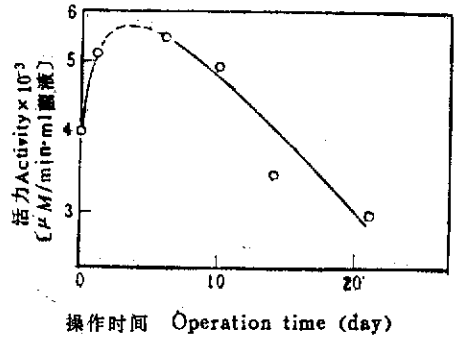


图6 大肠杆菌AS1.881游离细胞酶活力变化( $4^\circ\text{C}$ 保存,  $37^\circ\text{C}$ 测定)

Fig. 6 The activity change of aspartase in *E. coli* AS1.881 cells (stored at  $4^\circ\text{C}$  and measured at  $37^\circ\text{C}$ )

浓度 $1.0M$ ,出口转化率 $x = 0.96$ 时,若反应器连续操作100天,理论上,每升反应器填充体积可生产300kg天门冬氨酸。

## 结 论

用卡拉胶包埋大肠杆菌AS1.881,制得高活力球形固定化细胞。扩散-反应模型的计算机数值分析和全混釜反应器实验数据都说明,实验范围内,包括内部传质阻力的颗粒宏观动力学规律在一定初始底物浓度下,具有可逆米氏方程的形式。

反丁烯二酸铵转化为天门冬氨酸的反应是放热反应,颗粒宏观催化反应速度接近一级。为防止返混,并移去反应热,选用列管式固定床反应器较合适。小型等温活塞流反应器的实验结果说明,底物流速影响颗粒表面上的边界层厚度,从而影响颗粒外部传质速度。当填充层空隙流速大于 $10[\text{cm}/\text{min}]$ 时,管式反应器可用拟均相一维数学模型描述。

$$u(dS_1/dL) = \rho v_{\text{定}}$$

$$L = 0 \text{ 时, } S_1 = S_{10} \quad (4)$$

若底物总转化率为 $0.96$ ,则在固定化细胞填充体积的一半处,底物转化率可达

0.8, 并释放出大部分反应热。因此, 宜采用串联的两只反应器, 填充等量的固定化细胞。前者是列管换热式, 后者是绝热式。

大肠杆菌细胞一经固定化, 酶的稳定性得到很大提高。实验说明, 固定化细胞颗粒的宏观失活规律大致可分为三个阶段。开始近似于一级动力学, 后来活性保持不变, 最后较快失活。

### 符号说明

- a 固定化颗粒宏观动力学式中的参数,  $M/\text{min}\cdot\text{g}\cdot\text{IMC}$   
 $a_0$  初始 $a$ 值,  $M/\text{min}\cdot\text{g}\cdot\text{IMC}$   
 b 固定化颗粒宏观动力学式中的参数,  $M$   
 $D_{e, f}$  固定化细胞颗粒中的有效扩散系数,  $\text{m}^2/\text{s}$   
 d 反应器直径,  $\text{m}$   
 $K_e$  反应平衡常数,  $1/M$   
 $K_m$  动力学模型参数,  $M$   
 $k_0$  酶失活常数,  $\text{day}^{-1}$

- L 反应器长度,  $\text{m}$   
 P 天门冬氨酸浓度,  $M$   
 R 固定化细胞颗粒半径,  $\text{m}$   
 r 固定化细胞颗粒中任一点至球心距离,  $\text{m}$   
 $S_1$  反丁烯二酸浓度,  $M$   
 $S_2$  铵离子浓度,  $M$   
 $S_{1, s}$  固定化细胞颗粒表面反丁烯二酸浓度,  $M$   
 $S_e$  反应平衡时反丁烯二酸浓度,  $M$   
 t 时间,  $\text{min}$   
 $t_i$  反应器操作时间,  $\text{day}$   
 u 固定床反应器中液体空塔流速,  $\text{m}/\text{min}$   
 $V_m$  动力学方程参数,  $1/\text{min}$   
 v 反应速度,  $M/\text{min}$   
 $v_{\text{宏}}$  固定化细胞颗粒宏观反应速度,  $M/\text{min}\cdot\text{g}\cdot\text{IMC}$   
 X 底物反丁烯二酸转化率  
 $\delta$  固定化细胞颗粒表面无活性球壳厚度,  $\text{m}$   
 $\eta_{\text{外}}$  固定化细胞颗粒外部传质效率因子  
 $\rho$  固定化细胞颗粒在固定床中的堆密度,  $\text{g}/\text{l}$   
 $\tau$  反应器中空塔停留时间,  $\text{min}$

### 参 考 文 献

- [1] Chibata, I. et al., *Appl. Microbiol.*, 27: 878-885, 1974.  
 [2] Tosa, T. et al., *Appl. Microbiol.*, 27: 886-889, 1974.  
 [3] Sato, T. et al.: *Biotechnol. Bioeng.*, 17: 1797-1804, 1975.  
 [4] Tosa, T. et al.: *Biotechnol. Bioeng.*, 21: 1697-1709, 1979.  
 [5] Sato, T. et al.: *Biophys. Acta*, 570: 179-186, 1979.  
 [6] Nishida, Y. et al.: *Enzyme Microb. Technol.*, 1: 95-99, 1979.  
 [7] 管正洁、冯容保: 天津微生物, 1980年, 第4期, pp. 24-31.  
 [8] 张元兴等: 工业微生物, 1985年, 第1期, pp. 14-17.  
 [9] Cairns, E. J. and J. M. Prausnitz: *Chem. Eng. Sci.*, 12: 20-34, 1960.  
 [10] 宫内照胜: 化学工学, 36: 633-440, 1972.

## A PROCESS SIMULATION AND ANALYSIS FOR CONTINUOUS PRODUCTION OF L-ASPARTIC ACID WITH IMMOBILIZED *E. COLI*

Zhang Yuanxing Chen Yinliang Ding Jianchun

(Department of Biochemical Engineering, East China Institute of Chemical Technology, Shanghai)

Spherical particles with high aspartase activity are made by entrapping *E. coli* cells into  $k$ -carrageenan. A diffusion-reaction model is proposed by

which the experimental values obtained from CSTR can be predicted.

Experiments show that the substrate flow rate through a fixed bed reactor affects the mass transfer efficiency and as the rate is above a certain value, 10 cm/min, a pseudohomogeneous one-dimensional model can be used to describe the concentration distribution in the reactor. Since the reaction heat is related to the concentration profile during the reaction period, a fixed bed reactor system has been developed for the continuous production of L-aspartic acid.

The deactivation kinetics of immobilized *E. coli* AS1,881 cells is described by dividing it into three stages, that is, first order kinetics, constant activity, and faster deactivation.

#### Key words

Aspartic acid, *E. coli* immobilized cells, carrageenan