

非表面活性剂溶胶凝胶法制备介孔干胶包埋活酵母*

翟文韬 曹莹泽 张 翔 陶 磊 吉 岩 冯 琳 危 岩**

(清华大学化学系 北京 100084)

摘 要 通过非表面活性剂溶胶凝胶法,采用海藻糖和甘油既作为保护剂又作为造孔剂,并使用羟乙基纤维素(HEC)作为添加剂以减轻凝胶过程中的收缩,成功地将酵母原位包埋在具有介孔结构的干胶中,维持了酵母的存活并探索了包埋酵母的代谢动力学与材料孔径参数改良的相关性.选择四乙氧基硅烷(TEOS)和甲基三乙氧基硅烷(MTES)共同作为前驱体,并将湿胶(含水量 60%)转变为干胶(含水量 10%)以增强材料,部分实现了游离酵母的抑制.通过单轴抗压强度测试说明干胶的单轴压缩强度整体上是湿胶的 13 倍,最低可达 7.13 MPa.由平板计数法算得溶胶中的酵母浓度为 $1.5 \times 10^8 \text{ mL}^{-1}$,折算成干胶粉末则为 $6.4 \times 10^8 \text{ g}^{-1}$.通过对材料进行比表面积及孔隙分析和代谢动力学表征,发现了包埋酵母的代谢动力学与材料孔径参数的相关性.通过非表面活性剂法制得的干胶的比表面积可达 $800 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$,孔体积可达 $0.44 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$,孔径可达 2.7 nm.在此条件下,采用独立取样的统计方法,对无游离酵母的样品点进行代谢动力学表征,包埋酵母 60 h 内可以代谢掉发酵液中 89% 的葡萄糖.

关键词 非表面活性剂溶胶凝胶法,介孔硅材料,活酵母,代谢动力学,干胶

通过溶胶凝胶方法将活细胞固化在无机氧化物载体中制备的材料在环境保护、生物催化、生物传感和细胞治疗等方面具有十分广阔的应用前景^[1,2].为了探索载体的固化性能,酵母和大肠杆菌是最常见的模型生物.目前大部分的研究仍停留在湿胶的阶段,即凝胶含水量在 60% 左右.若要使固化细胞适应更为严苛的环境,可以在脱离培养液的环境中运输保存并使得载体材料获得耐用性和机械性能上的进一步提升,则需采用可以制备成干胶(含水量在 10% 左右)的方法^[3].迄今为止,干胶固定细胞的研究很少,文献报道的实现干胶包埋细胞的只有两种方法,一种是通过短链磷脂的自组装,构建细胞与材料之间的三维界面并形成介孔结构^[4],另外一种是采用冷冻干燥法并添加海藻糖和甘油作为保护剂^[5].

为了使包埋有活细胞(通常以酵母或大肠杆菌为模型)的干胶获得最佳的性能,保持细胞活力并提高材料的物质扩散能力是十分关键的因素.对于细胞活力的保持,在制备溶胶的阶段,主要是移除制备溶胶体系过程中所产生的对细胞产生不良影响的副产物,特别是醇类^[6].在制成凝

胶以后,需要减轻材料收缩带来的细胞压力^[7],并且通过某些方法帮助固化细胞适应脱离了培养基的环境.这些方法包括采用适当的杂化体系,增加材料的强度并向细胞提供适当的保护性基团^[8-10];在溶胶体系内添加适当的保护剂以提高细胞的活力^[11-13].对于载体的物质扩散能力,在没有造孔的情况下,是非常弱的^[14].通过经典的表面活性剂法,以短链磷脂^[4]和聚乙二醇(PEG)^[15]做模板,可以构建从介孔到大孔级别的材料结构,通过这些孔道的构建,将极大改善物质的传输效率.然而在造孔的同时,载体的力学强度削弱,导致细胞的泄露,从而使包埋细胞代谢动力学的比较不能实现.对于材料的某些应用,比如作为生物传感器的情况,细胞外泄将导致数据测量不稳定以及污染样本等不良影响.特别是在湿胶的情况,由于其相较于干胶的力学性能很差,无法实现细胞的无泄漏包埋.

针对上述两点,本文首次采用非表面活性剂法^[16-22]予以兼顾,从而提出了在干胶内固定活酵母的一种新方法.1988 年,我们提出了非表面活性剂法来构造介孔材料.这种方法采用温和的生

* 庆祝王佛松院士 80 华诞专稿;2012-12-20 收稿,2013-01-08 修稿;国家重点基础研究发展计划(973 计划,项目号 2011CB935701)资助项目.

** 通讯联系人, E-mail: weiyen@tsinghua.edu.cn

物相容的有机小分子作为模板,只需用水浸取,这些模板就可以很容易地被移除.非表面活性剂法造孔的孔径是窄分布并且是可调节的(2~12 nm),这样的调节可以通过改变模板剂的种类和浓度来实现.结合包埋酵母细胞的实例,本文采用非表面活性剂海藻糖和甘油兼作模板和保护剂,将酵母原位包埋.为减轻硅胶载体收缩而带来细胞压力,借鉴了前人包埋葡萄糖氧化酶时采用的保护方法^[23],可以将凝胶体系的收缩减少36%;在材料制备的过程中,尽量避免酵母细胞对可同化性氮素的积累^[24-26],避免在洗液中使用无机铵盐的成分以免对包埋酵母的糖酵解过程形成抑制,从而尽可能地保持酵母的代谢活力.为了改善硅胶载体的力学性能,使用四乙氧基硅烷(TEOS)和甲基三乙氧基硅烷(MTES)共同作为前驱体以增强材料,从而部分实现了游离酵母的抑制.基于上述改良,可以在无泄露的酵母细胞的情况下对包埋酵母的动力学进行追踪,从而第一次验证了包埋酵母的代谢动力学与材料孔径参数改良的相关性.

1 实验部分

1.1 试剂

四乙氧基硅烷(TEOS)、硫酸铵($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$)、磷酸二氢钾(KH_2PO_4)、硫酸镁(MgSO_4)和氯化钙(CaCl_2),西陇化工股份有限公司;甲基三乙氧基硅烷(MTES)和羟乙基纤维素(HEC,800~1500 mPas),梯希爱(上海)化成工业发展有限公司;酵母浸膏,北京兰伯瑞生物技术有限责任公司;活性干酵母,安琪酵母股份有限公司;葡

萄糖、青霉素、链霉素和海藻糖,生工生物工程(上海)股份有限公司.

1.2 干胶粉末的制备

在室温下,向配有磁力搅拌装置的100 mL烧杯内加入MTES、TEOS和15 mL 0.17 mol/L HCl,搅拌至均相透明;向另一100 mL烧杯内加入海藻糖和甘油并加入50 mL去离子水搅拌至完全溶解.将两个烧杯内的溶液混合,置于真空装置中移除溶胶中所含的乙醇,直至质量亏损达到54 g,将移除了乙醇的溶胶通过0.22 μm 的真空式过滤器除菌备用.具体配方在表1中列出.

无菌洗液的配方为1 L去离子水中溶解1.500 g KH_2PO_4 , 0.268 g MgSO_4 和0.150 g CaCl_2 .将0.25 g干酵母溶于1 mL洗液中,于37 $^\circ\text{C}$ 下复水(使干酵母的含水量回到湿酵母的水平)15 min待用.在室温、无菌、均匀搅拌的条件下,向配有磁力搅拌装置的100 mL烧杯内依次加入无菌溶胶,3 mL 1.9%无菌HEC水溶液,3 mL无菌0.4 mol L^{-1} NaOH溶液,干酵母溶液和3 mL无菌0.4 mol L^{-1} NaOH溶液.由平板计数法,算得溶胶中的酵母浓度为 $1.5 \times 10^8 \text{ mL}^{-1}$,折算成干胶粉末则为 $6.4 \times 10^8 \text{ g}^{-1}$.由于采用的是溶胶凝胶法原位包埋,溶胶中的酵母将全部转化为凝胶中的酵母,可以认为包埋效率接近100%,仅在加工干凝胶成粉末时有少量酵母从二氧化硅颗粒表面脱落.此时将溶胶调节至中性,凝胶将在1 min内形成.将凝胶置于4 $^\circ\text{C}$ 无菌冰箱内一天进行陈化.随后将凝胶在无菌条件下掰碎成1 cm^3 左右的碎块,于室温下以变色硅胶干燥3天,即可得到含水量在10%左右的干胶.

Table 1 Recipes for the synthesis of xerogel powder

Sample ^a	MTES (g)	TEOS (g)	Trehalose·2H ₂ O ^b (g)	Glycerol (g)
TT15-0.2	10.948	51.166	3.587	0.108
TT35-0.2	10.948	51.166	10.966	0.331
TT35-0.25	13.729	47.916	10.966	0.331

^aTT means trehalose template, the following number indicates the mass percentage in dry gel, the next number means the mole percentage of MTES of precursors. For example, TT15-0.2 means the xerogel has 15% trehalose template in mass and 20% MTES of precursors in mole; ^bThe mass ratio of trehalose: glycerol is 30:1.

在无氧条件下将干胶用研钵研碎,控制粒径在60目至400目.称取20 g干胶粉末于250 mL烧杯中,加入200 mL无菌洗液洗涤5次,时间间隔依次为15,15,30,40和60 min,1000 r min^{-1} 离心2 min,以移除模板和游离酵母.在无氧条件下,将洗净的移除模板的干胶粉末铺展于400目

筛网上风干8 h,并进一步筛分,控制最终粒径在100目至400目.所得粉末贮存于-18 $^\circ\text{C}$ 无菌冰箱内待用.

1.3 代谢动力学的测量

培养液的配方为1 L去离子水中溶解0.628 g酵母浸膏,0.332 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 1.500 g KH_2PO_4

PO_4 , 0.268 g MgSO_4 , 0.150 g CaCl_2 , 1.000 g 葡萄糖和 100 单位的双抗. 在无菌条件下, 称取所得干胶粉末 0.100 g 于 1 mL 灭菌的离心管中, 加入 350 μL 培养液, 以封口膜密封后置于 37 $^\circ\text{C}$ 恒温培养箱内静置发酵. 山东省科学院生物研究所的 SBA-40C 型分析仪追踪发酵液中葡萄糖含量的变化以表征其代谢动力学特征, 以 Leica DMI 300B 型倒置显微镜追踪发酵液中游离酵母的变化.

1.4 材料性能表征

如前所述, 分别制备不含包埋酵母的对应样品的湿胶、干胶以及干胶粉末, 以 Micromeritics ASAP 2020 型表面分析仪进行比表面积及孔隙分析表征, 以 ZWICKZ005 型万能材料试验机测量进行单轴抗压强度测试.

2 结果与讨论

2.1 模板浓度和前驱体组成对材料成孔性能的影响

总结非表面活性剂法的成孔规律, 大致可以分为两类: 一类是随着模板浓度的增加, 材料的孔径也逐步增加, 如二苯甲酰酒石酸 (DBTA)、尿素等; 另一类则是存在一个临界浓度, 当模板浓度低于临界值时成孔现象不明显, 而当模板浓度超过临界值时, 孔径的变化亦不大, 如葡萄糖、蔗糖等. 对海藻糖而言, 与其它可以成孔的糖类一样, 其成孔行为符合第二类规律.

图 1 是不同样品的 N_2 吸附-脱附等温线, 它们都属于 IV 型吸附-脱附等温线并带有 E 类回滞环, 说明这些样品都具有一定的“墨水瓶式” (英文 ink bottle-shaped 的译名, 指开口窄小而内部较大的孔道结构) 介孔结构. 表 2 展示了不同样品的孔结构性质数据. 图 2 为不同样品的孔径分布比较.

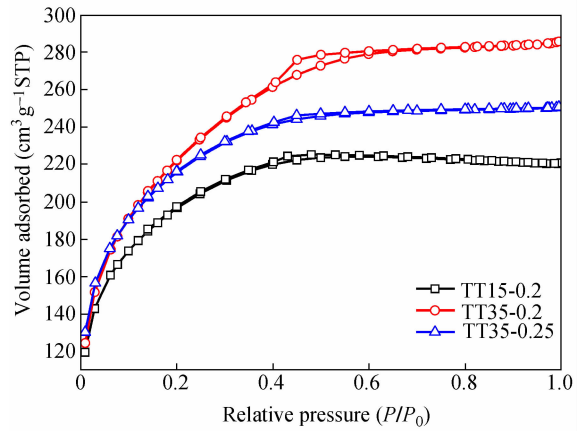


Fig. 1 N_2 adsorption-desorption isotherms of different samples

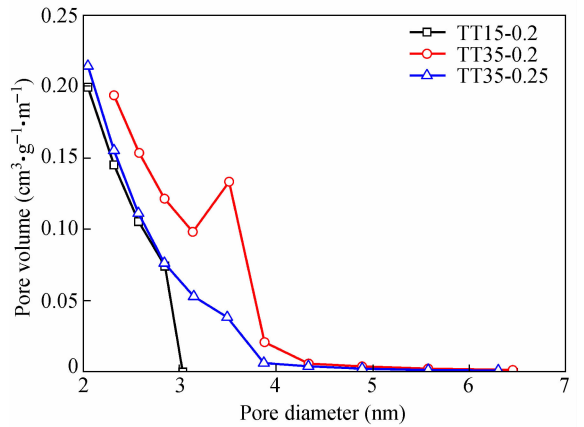


Fig. 2 Pore diameter distribution of different samples

比较 TT15-0.2 和 TT35-0.2, 可以说明模板浓度对材料成孔行为的影响. TT15-0.2 的吸附量和孔体积均较 TT35-0.2 低下, 且存在着较高比例的微孔体积分布, 回滞环不明显而且孔径分布集中在 2 nm 一侧, 说明 TT15-0.2 处在由微孔材料向介孔材料过度的阶段. TT35-0.2 在 3.5 nm 附近出现明显的集中的孔径分布并有明显的回滞环, 说明其模板浓度已经超过临界值, 呈现出良好的

Table 2 Pore structure of different samples

Sample	BET ^a surface area ($\text{m}^2 \text{g}^{-1}$)	Total pore volume ($\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$) STP	<i>t</i> -Plot micropore volume ($\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$) STP	BJH ^b pore size (nm)
TT15-0.2	697	0.36	0.10	2.7
TT35-0.2	800	0.44	0.06	2.7
TT35-0.25	767	0.39	0.10	2.5

^aBET means the surface area calculation based on the BET theory which includes multilayer adsorption with the following hypotheses: gas molecules physically adsorb on a solid in layers infinitely, there is no interaction between each adsorption layer and the Langmuir theory can be applied to each layer; ^bBJH means the pore size calculation based on the BJH equation which is the classical pore size model of the mesopore based on the Kelvin equation and corrected for multilayer adsorption.

成孔性能.

比较 TT35-0.25 和 TT35-0.2, 可以说明前驱体组成对材料成孔行为的影响. 虽然二者的模板浓度相同, 吸附量、孔体积和微孔体积分布均相近, 但 TT35-0.25 的回滞环不明显而且孔径分布集中在 2 nm 一侧. 说明由于前驱体组成的不同, TT35-0.25 尚未达到临界值. 由于前驱体中 MTES 的含量增高, 导致凝胶中残余的甲基含量增加, 材料疏水性增加, 有可能导致了成孔临界值的变化.

2.2 代谢动力学分析

为了验证包埋于材料中的酵母的代谢动力学差异与材料孔径参数改良的相关性, 必须避免发酵过程中泄露的游离酵母对代谢动力学的干扰. 图 3 是跟踪发酵过程中游离酵母产生的显微照相图片. 图 3(a) 是理想状态, 即发酵体系中只存在包埋在介孔硅材料中的酵母, 这样获得的代谢动力学数据完全由介孔硅材料中的酵母产生, 可以完全体现材料孔径参数对酵母代谢动力学的影响. 图 3(b) 是失效的样本的状态, 由于泄露的游离酵母在物质传输上的巨大优势和在自由培养液环境中的指数增殖, 游离酵母将在代谢动力学上占据绝对主导地位. 一旦样本检出有游离酵母, 则培养液的葡萄糖将在 8 h 内耗净, 完全不能体现由于材料差异导致的代谢动力学差异.

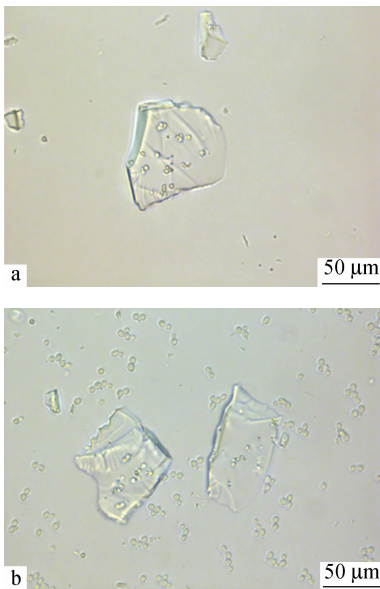


Fig. 3 Microscope images of the leak-free sample (a) and leaked sample (b) of TT35-0.2

表 3 展示了不同样品在湿胶状态和干胶状态下的单轴压缩强度. 从表中可以看出干胶的单轴压缩强度整体上是湿胶的 13 倍, 说明干胶强度

远远超过湿胶. 干胶状态下不同样品的单轴压缩强度随着 MTES 含量增加而增加, 随着模板含量增加而减少. 说明 MTES 的掺杂可以提高材料的强度, 而造孔的过程则会使得材料的强度下降.

Table 3 The uniaxial compressive strength of hydrogel and xerogel samples

Sample	Hydrogel σ_{DM} (MPa)	Xerogel σ_{DM} (MPa)
TT15-0.2	0.71	9.10
TT35-0.2	0.42	7.13
TT35-0.25	0.77	8.58

从发酵过程中的现象看, 在湿胶的条件下包埋的酵母将完全破坏凝胶体系, 经过一定时间的发酵将无法观察到固化酵母的存在. 将湿胶转化为干胶并引入二元组分前驱体 MTES 作为增强的组分加入, 凝胶的强度提升. 可以观察到在发酵过程中凝胶的形态大部分仍保持完整, 但发酵液中代谢现象的发生往往伴随着酵母的泄露, 只有在特定配方的部分的样品点上才能观察到不伴随游离酵母产生的代谢现象. 通过在每个时间点取样 15 个独立的样品点做统计分析, 可以得到图 4, 即对发酵过程中游离酵母产生的统计. 对 TT15-0.2, 从 24 h 开始出现酵母泄露的现象, 至 72 h 为止, 无游离酵母的样本点占总样本数的 75% ~ 50%. 对 TT35-0.2, 从 24 h 开始出现酵母泄露的现象, 至 72 h 为止, 无游离酵母的样本点占总样本数的从 75% 下降至 11%, 说明随着模板含量的增加, 材料的成孔性能改善但力学性能下降. 对 TT35-0.25, 72 h 内未出现酵母泄露的现象, 说明随着前驱体中 MTES 组分的增加, 材料的力学性能得到增强.

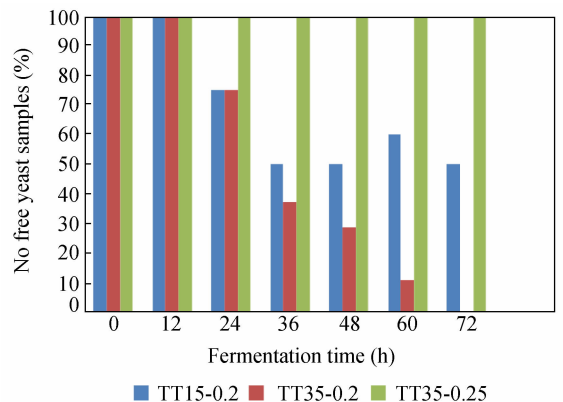


Fig. 4 Statistics of the leakage of different samples

结合图 4, 本文的于代谢动力学数据是来自

每个时间点内无游离酵母的样品点. 对于存在游离酵母的样品点的代谢动力学数据, 由于游离酵母的代谢速率远远超过包埋酵母的代谢速率, 存在游离酵母的样品点自产生游离酵母开始 8 h 内即可将发酵液中的葡萄糖代谢完全. 对 72 h 内无泄漏的样本点进行代谢动力学追踪, 可以得到图 5, 即包埋于不同材料中的酵母的代谢动力学差异. 对比游离酵母情况, 控制游离酵母的浓度与对照的材料组一致 ($1.5 \times 10^8 \text{ mL}^{-1}$), 可见游离酵母组在 6h 时即将培养液中的葡萄糖完全代谢. 对

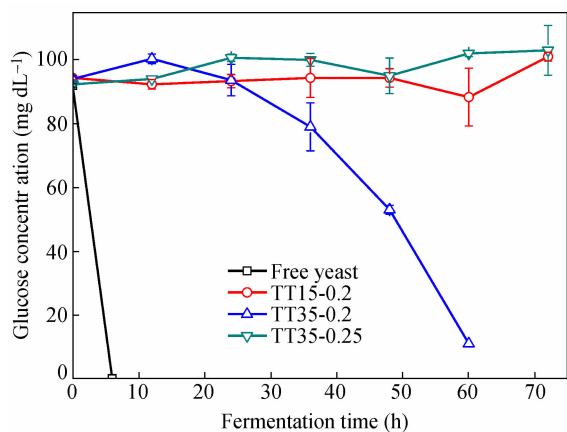


Fig. 5 Metabolic kinetics of different samples

TT15-0.2 和 TT35-0.25, 72 h 内只有小幅的葡萄糖浓度的波动, 没有明显的代谢现象发生, 说明 TT15-0.2 和 TT35-0.25 的成孔性能对于传质造成了巨大阻碍, 从而使得代谢动力学被极大地减缓. 对 TT35-0.2, 从 36 h 时起可以观察到明显的葡萄糖含量的下降, 到 60 h 时残糖量仅为 11 mg dL^{-1} , 这充分说明了代谢动力学与材料孔径参数改良的相关性.

3 结论

本文综合前人的改良方案, 以非表面活性剂海藻糖和甘油兼作保护剂和模板剂, 使用羟乙基纤维素 (HEC) 减少硅胶材料的收缩并在材料制备过程中避免可同化性氮素的积累, 使得包埋酵母细胞的代谢活力得以保持; 使用四乙氧基硅烷 (TEOS) 和甲基三乙氧基硅烷 (MTES) 共同作为前驱体增强材料的力学性能, 部分实现了游离酵母的抑制. 在综合前人改良的基础上, 本文通过非表面活性剂溶胶凝胶法制备了包埋有活酵母的介孔干胶粉末并探索了包埋酵母的代谢动力学差异与材料孔径参数改良的相关性.

致谢 感谢黎书樾在溶胶凝胶实验各方面给予的帮助.

REFERENCES

- Meunier F C, Dandoy P, Su B. *J Colloid Interface Sci*, 2010, 342(2): 115 ~ 121
- Gavlasova P, Kuncova G, Kochankova L, Mackova M. *Int Biodeterior Biodegrad*, 2008, 62(3): 304 ~ 312
- Depagne C, Roux C, Coradin T. *Anal Bioanal Chem*, 2011, 400: 965 ~ 976
- Baca K H, Ashley C, Carnes E, Lopez D, Flemming J, Dunphy D, Singh S, Chen Z, Liu N, Fan H, Lopez P G, Brozik M S, Werner-Washburne M, Brinker J C. *Science*, 2006, 313: 337 ~ 341
- Tessema A D, Rosen R, Pedazur R, Belkin S, Gun J, Ekeltchik I, Lev O. *Sens Actuators B*, 2006, 113(2): 768 ~ 773
- Ferrer L M, del Monte F, Levy D. *Chem Mater*, 2002, 14(9): 3619 ~ 3621
- Meunier F C, Cutsem V P, Kwon Y, Su B. *J Mater Chem*, 2009, 19: 1535 ~ 1542
- Inama L, Diré S, Carturan G, Cavazza A. *J Biotechnol*, 1993, 30(2): 197 ~ 210
- Meunier F C, Rooke C J, Hajdu K, Cutsem P V, Cambier P, Léonard A, Su B. *Langmuir*, 2010, 26(9): 6568 ~ 6575
- Ferrer L M, Yuste L, Rojo F, del Monte F. *Chem Mater*, 2003, 15(19): 3614 ~ 3618
- Nassif N, Bouvet O, Rager M N, Roux C, Coradin T, Livage J. *Nat Mater*, 2002, 1: 42 ~ 44
- Nassif N, Roux C, Coradin T, Rager M, Bouvet M M O, Livage J. *J Mater Chem*, 2003, 13: 203 ~ 208
- Perullini M, Amoura M, Roux C, Coradin T, Livage J, Japas L M, Jobbágy M, Bilmes A S. *J Mater Chem*, 2011, 21: 4546 ~ 4552
- Hosticka B, Norris P M, Brenizer J S, Daitch C E. *J Non-Cryst Solids*, 1998, 225: 293 ~ 297
- Conroy J F T, Power M E, Martin J, Earp B, Hosticka B, Daitch C E, Norris P M. *J Sol-Gel Sci Technol*, 2000, 18(3): 269 ~ 283
- Wei Y, Jin D, Ding T, Shih W, Liu X, Cheng D Z S, Fu Q. *Adv Mater*, 1998, 10(4): 313 ~ 316
- Wei Y, Xu J, Dong H, Dong J, Qiu K, Jansen-Varnum A S. *Chem Mater*, 1999, 11(8): 2023 ~ 2029
- Pang J, Qiu K, Wei Y, Lei X, Liu Z. *Chem Comm*, 2000, 6: 477 ~ 478
- Pang J, Qiu K, Wei Y. *J Non-Cryst Solids*, 2001, 283(1-3): 101 ~ 108
- Zheng J, Pang J, Qiu K, Wei Y. *J Inorg Organomet Polym*, 2000, 10(3): 103 ~ 113

- 21 Zheng J, Pang J, Qiu K, Wei Y. *Microporous Mesoporous Mater*, 2001, 49(1-3): 189 ~ 195
- 22 Zheng J, Pang J, Qiu K, Wei Y. *J Sol-Gel Sci Technol*, 2002, 18: 296 ~ 283
- 23 Wu X, Choi F M M. *Anal Chim Acta*, 2004, 514(2): 219 ~ 226
- 24 Alvarez S G, Foglia L M, Copello J G, Desimone F M, Diaz E L. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2009, 82: 639 ~ 646
- 25 Thevelein J M, Hohmann S. *Trends Biochem Sci*, 1995, 20(1): 3 ~ 10
- 26 Trevelyan W E, Harrison J S. *Biochem J*, 1956, 62(2): 177 ~ 183

ENCAPSULATION OF LIVING YEASTS IN MESOPOROUS XEROGEL VIA NON-SURFACTANT TEMPLATING SOL-GEL PROCESS

Wen-tao Zhai, Ying-ze Cao, Xiang Zhang, Lei Tao, Yan Ji, Lin Feng, Yen Wei

(Department of Chemistry, Tsinghua University, Beijing 100084)

Abstract Mesoporous xerogel has been prepared by a non-surfactant sol-gel process to encapsulate living yeasts. Trehalose and glycerol are chosen as both the protective agents and pore-forming agents. Hydroxyethylcellulose (HEC), an additive, is utilized to reduce the shrinkage of gel during drying process. The encapsulated yeasts survived in the xerogel and maintained the capability to assimilate glucose. The relationship between the yeast metabolic kinetics and the xerogel pore parameters was investigated. With tetraethoxysilane (TEOS) and methyl triethoxysilane (MTES) as precursors for reinforcing the material and transforming the hydrogel (60% moisture content) to xerogel (10% moisture content), the leakage of the yeasts is partially prevented. Through the uniaxial compressive strength test, the strength of xerogel can reach 7.13 MPa at least, which is twelve times more than that of the hydrogels. According to plate count method, the concentration of yeasts was about $1.5 \times 10^8 \text{ mL}^{-1}$ in sol and $6.4 \times 10^8 \text{ g}^{-1}$ in xerogel. Through the characterization of the specific surface area, pore structure and the yeast metabolic kinetics, we found that the metabolic dynamics of entrapped yeast was related to the pore parameters of silica matrix. The xerogel obtained by non-surfactant process could have the specific surface area of $800 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, the pore volume of $0.44 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ and the pore diameter of 2.7 nm. Under such conditions, calculated from independent samples without free yeasts, statistically, the encapsulated yeasts can metabolize 89% glucose of the culture medium in 60 h.

Keywords Non-surfactant sol-gel process, Mesoporous silica, Living yeasts, Metabolic dynamics, Xerogel