EXTENDED ABSTRACT

Introduction

The growing demand for renewable energy and the environmental consequences of fossil fuel consumption have intensified interest in sustainable bioethanol production. Sugarcane and sugar beet molasses, together with vinasse generated during ethanol production, are important industrial streams with potential value as sources of fermentable sugars and adapted microorganisms. However, high sugar and salt concentrations, ethanol accumulation, and elevated temperatures can impose substantial stress on yeast cells. This review critically evaluated studies published between 2015 and 2026 on the isolation, identification, physiological characterization, and fermentation performance of yeasts obtained from molasses, vinasse, and related sugar-industry substrates. Particular attention was given to the relationship between stress tolerance and ethanol production, as well as methodological limitations and priorities for future research.

Method

A literature review was conducted using ScienceDirect, SpringerLink, Wiley Online Library, and Google Scholar to identify relevant English primary research articles published from 2015 through 2026. Eligible studies investigated the isolation, identification, screening, or fermentation performance of yeasts from sugarcane molasses, sugar beet molasses, vinasse, or related sugar-industry substrates. Studies lacking extractable primary data or sufficient information on yeast characteristics or fermentation performance were excluded. The selected studies were compared in terms of isolation source, identification methods, physiological characteristics, stress responses, and fermentation outcomes. Identification approaches included morphological and biochemical characterization, mass spectrometry, and molecular techniques, as reported in the studies reviewed. The review considered thermal stress, osmotic stress associated with high sugar concentrations, ethanol stress, and salinity. Fermentation performance was assessed using reported indicators such as final ethanol concentration, yield, volumetric productivity, and sugar consumption. Because experimental conditions and reporting practices varied, findings were compared qualitatively rather than used to rank strains numerically across different experimental systems.

Results

The reviewed studies identified molasses and vinasse as sources of yeasts with diverse physiological and fermentative characteristics. Although *Saccharomyces cerevisiae* remained prominent, non-*Saccharomyces* yeasts, including *Meyerozyma caribbica*, *Kluyveromyces marxianus*, *Kluyveromyces lodderae*, *Wickerhamomyces anomalus*, and *Pichia* species, also exhibited potentially useful traits. Substantial variation was observed both between species and among isolates of the same species. of the same species, indicating that taxonomic identity alone is insufficient for selecting industrial strains.

Some isolates demonstrated notable resistance to fermentation-associated stresses. *M. caribbica* MJTm3 tolerated ethanol concentrations of up to 20% (v/v) and produced approximately 14% (v/v) ethanol after process optimization. Thermotolerant *K. marxianus* isolates MSS6.3 and MSS6.6 grew at temperatures up to 50°C and showed potential for ethanol production during simultaneous saccharification and fermentation of rice straw. *Candida famata* and *Candida guilliermondii* isolates grew in media with soluble solids contents of up to 34 °Brix. Studies of vinasse-derived yeasts reported ethanol concentrations ranging from 2% to 29% (v/v), highlighting substantial differences in the reported ethanol-producing capacity of isolates identified as *S. cerevisiae*.

Importantly, tolerance to an individual stress did not necessarily indicate superior fermentation performance. Survival at high temperatures, ethanol concentrations, salinity, or sugar levels did not by itself demonstrate sustained sugar consumption or high ethanol productivity. High substrate concentrations could enhance ethanol production initially but eventually inhibit fermentation through osmotic stress. Salinity could also reduce growth and glucose consumption without completely preventing ethanol production. Adjusting substrate concentration, temperature, pH, nutrient supplementation, and inoculum size frequently improved fermentation outcomes. Thus, physiological survival should be distinguished from sustained metabolic activity and productive fermentation.

Conclusion

Molasses and vinasse are promising resources for yeast bioprospecting and industrial by-product valorization. Selecting suitable strains requires an integrated assessment of taxonomic identity, tolerance to multiple stresses, sugar utilization, ethanol yield, volumetric productivity, and performance stability. Future research should prioritize standardized screening protocols, consistent reporting of fermentation indicators, investigation of stress-response mechanisms, and validation of promising isolates in controlled bioreactors and larger-scale processes. Distinguishing maximum stress tolerance from optimal fermentation conditions is critical to accurately evaluating industrial potential. Combining robust strain selection with process optimization could support more efficient and reliable bioethanol production and more sustainable use of sugar-industry resources.

Author Contributions

All authors contributed equally to the conceptualization of the article and writing of the original and revised drafts.

Data Availability Statement

Data available on request from the authors.

Acknowledgements

The authors would like to thank all researchers and institutions whose studies contributed to this review.

Ethical Considerations
The authors adhered to ethical principles including avoidance of plagiarism, data fabrication and scientific misconduct.

Conflict of Interest
The authors declare no conflict of interest.

ویراستاری شده

مروری بر مطالعات جداسازی و شناسایی سویه‌های مخمری از ملاس و ویناس با هدف تولید بهینه بیواتانول

چکیده:

ملاس نیشکر، ملاس چغندرقند و ویناس از مهم‌ترین محصولات جانبی صنایع قند و اتانول هستند که علاوه بر دارا بودن قندهای قابل‌تخمیر، می‌توانند منبع مناسبی برای جداسازی مخمرهای بومی با قابلیت تولید بیواتانول باشند. شناسایی سویه‌های مقاوم به تنش و دارای عملکرد مطلوب، یکی از چالش‌های اصلی فرایندهای تولید بیواتانول محسوب می‌شود.

این مطالعه با هدف مرور و مقایسه پژوهش‌های مرتبط با جداسازی و شناسایی مخمرهای استخراج‌شده از ملاس و ویناس و بررسی نقش ویژگی‌های فیزیولوژیک آن‌ها در تولید بیواتانول انجام شد.

این پژوهش به‌صورت مطالعه مروری انجام شد. مقالات منتشرشده طی سال‌های ۲۰۱۵ تا ۲۰۲۶ از پایگاه‌هایScienceDirect ، SpringerLink، Wiley Online Libraryو Google Scholar جمع‌آوری و بر اساس معیارهای از پیش تعیین‌شده غربالگری شدند. نتایج نشان دادند گونه‌های مختلفی از جمله *Saccharomyces cerevisiae*، *Meyerozyma caribbica*، *Kluyveromyces marxianus*، *Kluyveromyces lodderae*، *Wickerhamomyces anomalus* و *Pichia* spp. از ملاس و ویناس جداسازی شده‌اند. این سویه‌ها مقاومت متفاوتی در برابر تنش‌های حرارتی، اسمزی، اتانولی و شوری نشان دادند. بررسی مطالعات حاکی از آن بود که تحمل تنش به‌تنهایی شاخص مناسبی برای انتخاب سویه صنعتی نیست و باید همراه با بازده تخمیر، بهره‌وری اتانول، مصرف قند و پایداری عملکرد ارزیابی شود. در نتیجه ملاس و ویناس منابع ارزشمندی برای جداسازی مخمرهای تولیدکننده بیواتانول هستند. انتخاب سویه مناسب نیازمند ارزیابی همزمان ویژگی‌های فیزیولوژیک، مقاومت به تنش و عملکرد تخمیری است. به‌کارگیری رویکردهای غربالگری چندمعیاره و بررسی سازوکارهای مولکولی مقاومت می‌تواند به توسعه سویه‌های کارآمدتر برای تولید پایدار بیواتانول کمک کند.

کلمات کلیدی: *بیواتانول، ملاس، ویناس، مخمرهای مقاوم به تنش، جداسازی مخمر*

مروری شده

A Review of Studies on the Isolation and Identification of Yeast Strains from Molasses and Vinasse for Optimized Bioethanol Production

Abstract:

Sugarcane molasses, sugar beet molasses and vinasse are important by-products of the sugar and ethanol industries. In addition to containing fermentable sugars, these substrates may serve as valuable sources for isolating indigenous yeasts with bioethanol-producing potential. Identifying yeast strains that combine stress tolerance with high fermentation performance remains a major challenge in bioethanol production.

This review aimed to synthesize and compare studies on the isolation and identification of yeasts recovered from molasses and vinasse, with particular emphasis on the contribution of their physiological characteristics to bioethanol production.

Relevant articles published between 2015 and 2026 were retrieved from ScienceDirect, SpringerLink, Wiley Online Library and Google Scholar and screened according to predefined eligibility criteria. The reviewed studies reported the isolation of several yeast species from molasses and vinasse, including *Saccharomyces cerevisiae*, *Meyerozyma caribbica*, *Kluyveromyces marxianus*, *Kluyveromyces lodderae*, *Wickerhamomyces anomalus*, and *Pichia* spp. These yeasts exhibited varying degrees of tolerance to thermal, osmotic, ethanol and Salinity stress. Evidence from the reviewed literature indicated that stress tolerance alone is insufficient as a criterion for selecting industrially promising strains. Instead, it should be evaluated alongside fermentation yield, ethanol productivity, sugar consumption, and performance stability. Overall, molasses and vinasse represent valuable resources for isolating yeasts with bioethanol-producing potential. Selecting suitable strains requires an integrated assessment of physiological characteristics, stress tolerance and fermentative performance. The implementation of multi-criteria screening strategies, combined with investigations into the molecular mechanisms underlying stress resistance, could facilitate the development of more efficient yeast strains for sustainable bioethanol production.

Keywords: *Bioethanol, Molasses, Vinasse, Stress-tolerant yeasts, Yeast isolation*

پذیرفته شده

مقدمه

افزایش دمای جهانی و انتشار گازهای گلخانه‌ای ناشی از مصرف سوخت‌های فسیلی، نگرانی‌های زیست‌محیطی قابل توجهی را ایجاد کرده است. علاوه بر این، تقاضای جهانی انرژی در سال‌های اخیر به‌طور مداوم رشد کرده است. پیش‌بینی می‌شود تا سال ۲۰۴۰، این تقاضا به بیش از ۳۷٪ افزایش یابد (Mishra et al., 2016).

نوسانات قیمت نفت خام تأثیر قابل توجهی بر اقتصاد جهانی، به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه، گذاشته است (Choudhary et al., 2017). از سوی دیگر، افزایش تقاضای انرژی و کاهش سریع منابع سوخت‌های فسیلی، جستجو برای سوخت‌های جایگزین کم‌کربن، تجدیدپذیر و پایدار را ضروری ساخته است (Pandey et al., 2019). در این راستا، بیواتانول به‌عنوان یک سوخت زیستی تجدیدپذیر، سازگار با محیط زیست و با قابلیت حفظ پایداری اقتصادی شناخته شده است (Chohan et al., 2020).

سوخت‌های زیستی از جمله گزینه‌های مطلوبی هستند که از منابع زیستی و زیست‌توده‌های تجدیدپذیر تولید می‌شوند و جایگزین‌های مطلوبی برای سوخت‌های فسیلی به شمار می‌روند (Roukas & Kotzekidou, 2022). انرژی تجدیدپذیر حاصل از زیست‌توده، نقش مهمی در تأمین نیازهای انرژی کشورهای در حال توسعه ایفا می‌کند. زیست‌توده تجدیدپذیر با داشتن محتوای گوگرد پایین و عدم انتشار دی‌اکسید کربن، به توسعه پایدار و حفاظت از محیط زیست کمک شایانی می‌کند. این منابع علاوه بر تولید سوخت‌های مایع برای حمل‌ونقل و تولید انرژی، حاوی مواد شیمیایی ارزشمندی برای کاربردهای صنعتی نیز هستند (Kasavi et al., 2012). بیواتانول با ویژگی‌هایی مانند محدوده اشتعال وسیع، قابلیت ترکیب بالا، عدد اکتان بالا و سمیت پایین به‌عنوان یک جایگزین خوب برای سوخت‌های فسیلی مانند بنزین و دیزل شناخته می‌شود. همچنین، اتانول در صنایع مختلفی از جمله تولید محصولات آرایشی و بهداشتی، داروسازی، شیمیایی و کشاورزی نیز کاربرد دارد (Palekar & Khandeparker, 2025).

برزیل به‌عنوان نخستین کشور به اجرا درآورنده طرح جایگزینی بخشی از بنزین با اتانول محسوب می‌شود. این طرح، که به "برنامه ملی الکل" (PROALCOOL) شهرت دارد، به ترویج تولید و مصرف اتانول می‌پردازد. در آرژانتین نیز با تصویب قانون "اقدامات برای ترویج تولید بیواتانول" در سال ۲۰۰۸، تولید بیواتانول از نیشکر توسعه یافت.

این اقدامات با هدف دستیابی به فناوری‌های جایگزین، کاهش وابستگی به سوخت‌های فسیلی و پیش‌برد توسعه پایدار انجام شدند (Strachman & Milan Pupin, 2011). مواد اولیه تولید بیواتانول بر اساس نوع منبع و سطح فناوری به چهار نسل تقسیم می‌شوند. نسل اول زیست‌اتانول از مواد اولیه خوراکی و غنی از قند یا نشاسته، مانند نیشکر، ملاس، ذرت و گندم، تولید می‌شود؛ بااین‌حال، استفاده از این منابع به دلیل ایجاد رقابت با نیازهای غذایی با محدودیت‌هایی همراه است. در نسل دوم، استفاده از زیست‌توده‌های غیرخوراکی و لیگنوسلولزی مانند کاه و باگاس مورد توجه قرار گرفته است تا وابستگی به منابع غذایی و رقابت میان غذا و سوخت کاهش یابد. نسل سوم بیشتر بر استفاده از زیست‌توده‌های جلبکی و میکروارگانیسم‌های فتوسنتزی، از جمله ریزجلبک‌ها و سیانوباکتری‌ها، تمرکز دارد. در نسل چهارم نیز استفاده از سامانه‌های زیستی و میکروارگانیسم‌هایی با ویژگی‌های ژنتیکی و متابولیکی مهندسی‌شده مورد توجه قرار گرفته است. در این میان، ملاس و ویناس، به‌عنوان جریان‌های جانبی صنایع قند و تولید اتانول، به دلیل داشتن ترکیبات قابل‌تخمیر و امکان استفاده مجدد از این منابع، گزینه‌های مناسبی برای توسعه تولید پایدار بیواتانول به شمار می‌روند(Shokravi et al., 2022).

ملاس و ویناس، سرشار از قندهای قابل تخمیر مانند ساکارز، گلوکز و فروکتوز هستند که طی فرآیند تخمیر به اتانول تبدیل می‌شوند. در برزیل از ملاس نیشکر برای تولید بیواتانول در مقیاس بزرگ استفاده می‌شود. علاوه بر این، تولید صنعتی اتانول از ملاس ویناس، به‌ویژه در پالایشگاه‌های زیستی، به‌عنوان یک راهکارم مناسب برای بهبود پایداری در تولیدات کشاورزی شناخته شده است (Kabeyi & Olanrewaju, 2022; Kechkar et al., 2019).

بر اساس گزارش وزارت کشاورزی ایالات متحده(USDA) ، تولید جهانی شکر در سال زراعی ۲۰۲۵–۲۰۲۶ حدود ۱۸۹/۳ میلیون تن بوده است؛ در حالی که این مقدار برای سال زراعی۲۰۲۶–۲۰۲۷ نزدیک به ۱۸۴/۹ میلیون تن پیش‌بینی شده است (USDA-FAS, 2026).

از میان بزرگترین تولیدکنندگان شکر می‌توان به برزیل، هند، اتحادیه اروپا، چین و تایلند اشاره کرد. در فرآیند تولید شکر، کارخانه‌ها، ملاس را به‌عنوان یک محصول جانبی تولید می‌کنند. ملاس نیشکر و چغندر قند، نوعی شیره غلیظ به رنگ قهوه‌ای یا سیاه با pH حدود ۵ است که طی فرآیند تبلور ساکارز به دست می‌آید.

این ماده حاوی مواد مغذی ضروری برای رشد میکروارگانیسم‌ها، مانند نیتروژن، کربن، سدیم، پتاسیم و فسفر است و همچنین کلسیم و عناصر کمیابی مانند مس، روی و آهن را نیز در خود دارد. به دلیل فراوانی، کیفیت مناسب و قیمت پایین، ملاس یکی از مواد اولیه برتر برای تولید اتانول در مقیاس صنعتی به شمار می‌آید. علاوه بر این، ملاس در تولید محصولاتی مانند نوشیدنی‌های ارگانیک، گلیسرول، اسید استیک، مخمر نانوایی، کودهای ارگانیک و خوراک دام نیز به طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد. ملاس ترکیب پیچیده و ناهمگنی دارد که تاثیر زیادی بر رشد میکروبی و تخمیر آن دارد. ترکیب شیمیایی ملاس، تحت تأثیر عواملی مانند: نوع نیشکر و چغندر قند، نحوه رشد، شرایط آب و هوایی، خاک، دوره کشت و فرآیندهای تولید، قرار می‌گیرد (Kabeyi & Olanrewaju, 2022).

مقادیر کل قند ملاس نیشکر و چغندر قند به‌ترتیب حدود ۲۹۲/۸۲ و ۱۸۹/۶۳ گرم در لیتر و میزان خاکستر به ترتیب حدود ۱۱٪ و ۸/۵٪ است. در ملاس نیشکر ، بیشترین میزان قند مربوط به ساکارز (۲۰۸/۵۲ گرم در لیتر) است و پس از آن گلوکز (۴۸ گرم در لیتر)، فروکتوز، گزیلوز و مالتوز قرار دارند. در ملاس چغندر قند ، میزان قند اصلی یعنی ساکارز ۱۷۰/۴۸ گرم در لیتر و گلوکز و گزیلوز و فروکتوز کمتر از ملاس نیشکر است. همچنین، مقدار کل قندهای احیاءکننده در ملاس نیشکر بیشتر از ملاس چغندرقند است. ملاس نیشکر در مقایسه با ملاس چغندرقند، نیتروژن و سدیم کمتری دارد. ملاس نیشکر غنی از کلسیم است در حالیکه میزان این عنصر در ملاس چغندر قند بسیار کمتر است (Hamouda et al., 2016).

ویناس، محصول جانبی حاصل از صنایع شکر و تقطیر الکل است. این مایع تیره رنگ با pH اسیدی (بین ۳/۹ تا ۵/۱)، هدایت الکتریکی بالایی دارد و حاوی مواد آلی، جامدات معلق و فرّار زیادی است. گاهی نیز ممکن است فلزات سنگین در آن وجود داشته باشد. هرچند ویناس به‌عنوان یک زباله خطرناک شناخته نمی‌شود، اما به‌عنوان فاضلاب پیچیده در نظر گرفته می‌شود. معمولاً به‌دلیل محتوای بالای کلسیم، پتاسیم و مواد آلی از ویناس به‌عنوان کود استفاده می‌شود. دفع نادرست ویناس، می‌تواند به آلودگی خاک و منابع آب زیرزمینی منجر شود. در فرآیند تولید اتانول از نیشکر، به ازای هر لیتر اتانول تولیدی، بین ۱۰ تا ۱۵ لیتر ویناس تولید می‌شود. منبع دیگر ویناس، چغندر قند است که در اروپا، آمریکای شمالی و آسیا کشت می‌شود و برای تولید ساکارز و اتانول به‌کار می‌رود. میزان تولید ویناس در کارخانه‌های اتانول چغندری بین ۹ تا ۱۴ لیتر به ازای هر لیتر اتانول متغیر است (Moran-Salazar et al., 2016). ویناس دارای پتانسیل بالایی برای تولید بیوگاز از طریق فرآیند هضم بی‌هوازی است که می‌تواند مزایای اقتصادی و زیست‌محیطی چشمگیری به همراه داشته باشد. این فرآیند علاوه بر کمک به کاهش ضایعات، یک منبع پایدار برای تولید انرژی تجدیدپذیر فراهم می‌آورد (Picón Lescano et al., 2024).

فرآیند تولید بیواتانول شامل چهار مرحله است: (۱) تیمار مواد اولیه برای استخراج قندهای قابل تخمیر؛ (۲) تبدیل زیستی قندها به اتانول و CO_2 توسط میکروارگانیسم‌ها؛ (۳) تقطیر اتانول حاصل از تخمیر؛ (۴) خشک کردن اتانول برای دستیابی به خلوص مورد نظر (Kechkar et al., 2019).

بازده تولید اتانول از طریق تخمیر میکروبی به انتخاب سویه میکروبی مناسب، استفاده از سوبسترای مناسب برای تخمیر و بهره‌گیری از فناوری فرآیند مناسب وابسته است (Madi et al., 2024). میکروارگانیسم‌های متعددی توانایی تولید بیواتانول از پلی‌ساکاریدها را دارند، اما یک میکروارگانیسم ایده‌آل برای این فرآیند باید دارای ویژگی‌هایی مانند سرعت تخمیر بالا، قابلیت لخته‌سازی قوی، تحمل اسمزی بالا، مقاومت مطلوب در برابر اتانول و توانایی تحمل دماهای بالا باشد (Kechkar et al., 2019). مخمرها در طبیعت به طور فراوان وجود دارند و می‌توان آن‌ها را از منابع مختلف زمینی و دریایی استخراج کرد. این میکروارگانیسم‌ها ممکن است در محیط‌های مختلف پراکنده باشند یا تنها در زیستگاه‌های خاص یافت شوند. بیش از ۹۵٪ تولید جهانی اتانول از طریق تخمیر با استفاده از ساکارومایسس سرویزیه و گونه‌های مرتبط آن صورت می‌گیرد. یکی از ویژگی‌های اصلی که موجب انتخاب این مخمر برای تخمیر الکلی می‌شود، تحمل آن نسبت به اتانول است (Bitew et al., 2023). منشأ سویه *S. cerevisiae*

برای تولید اتانول بسیار مهم است. بنابراین، انتخاب سویه مخمری و منبع جداسازی آن، تأثیر زیادی بر بهره‌وری تولید اتانول و دوام طولانی‌مدت آن دارد (Konti et al., 2020). میکروارگانیسم‌های مختلفی از سویه‌های بومی قادر به تولید اتانول، از منابع محلی متنوعی مانند خرما، میوه‌ها، آب پنیر و ملاس نیشکر و چغندر قند استخراج شده‌اند.

با این حال، سویه‌های ایزوله‌شده از بسترهای طبیعی معمولاً عملکرد بهتری نسبت به سویه‌های تجاری دارند. برای شناسایی این سویه‌ها، روش‌های مختلفی وجود دارد. یکی از روش‌های رایج، طیف‌سنجی جرمی است که به‌عنوان ابزاری سریع، مؤثر و مقرون‌به‌صرفه برای شناسایی میکروارگانیسم‌ها شناخته می‌شود. برای تأیید یا بهبود شناسایی، می‌توان از روش‌های مولکولی متداول نیز استفاده کرد (Kechkar et al., 2019).

روش انجام تحقیق

Commented [ul]: روش شناسی مطابق با نظر دارو محترم در متن مقاله درج شد.

پژوهش حاضر به‌صورت یک مرور با هدف جمع‌بندی و مقایسه مطالعات مرتبط با جداسازی، شناسایی و ارزیابی سویه‌های مخمری حاصل از ملاس نیشکر، ملاس چغندرقند و ویناس با قابلیت بالقوه تولید بیواتانول انجام شد. تمرکز اصلی این مرور بر بررسی تنوع مخمرهای جداسازی شده، روش‌های شناسایی آن‌ها، ویژگی‌های فیزیولوژیک و مقاومت در برابر تنش‌های مرتبط با تخمیر و عملکرد تخمیری سویه‌ها در تولید بیواتانول بود. همچنین، نقش شرایط عملیاتی فرایند، از جمله دما، غلظت اولیه قند، pH و میزان تلقیح، در تغییر عملکرد سویه‌های منتخب مورد توجه قرار گرفت.

به‌منظور تعیین دامنه بررسی و افزایش شفافیت فرایند انتخاب منابع، معیارهای شمول و خروج پیش از بررسی تفصیلی مطالعات تعریف شدند.

معیارهای شمول شامل موارد زیر بودند:

۱- مطالعات پژوهشی اولیه منتشرشده در فاصله زمانی ۲۰۱۵ تا پایان سال ۲۰۲۶ که به زبان انگلیسی نگارش شده بودند.

۲- مطالعاتی که جداسازی مخمرها را از ملاس نیشکر، ملاس چغندرقند یا ویناس گزارش کرده بودند. پژوهش‌های مرتبط با سایر محصولات جانبی صنایع قند و منابع مشابه نیز در صورتی بررسی شدند که مستقیماً با موضوع انتخاب مخمرهای صنعتی و تولید بیواتانول ارتباط داشتند.

۳- مطالعاتی که دست‌کم یکی از مراحل جداسازی، غربالگری، شناسایی مورفولوژیک، بیوشیمیایی یا مولکولی مخمرها را گزارش کرده بودند.

۴- پژوهش‌هایی که یک یا چند ویژگی عملکردی مخمرها، از جمله تحمل دمای بالا، تحمل فشار اسمزی و غلظت زیاد قند، مقاومت در برابر اتانول یا شوری، توانایی مصرف قندهای مختلف و قابلیت رشد در شرایط تنش‌زا را بررسی کرده بودند.

۵- مطالعاتی که ارتباط میان ویژگی‌های سویه مخمری و تولید بیواتانول را بررسی کرده و دست‌کم اطلاعاتی درباره عملکرد تخمیری، غلظت اتانول تولیدشده، بازده تولید یا سایر شاخص‌های مرتبط ارائه کرده بودند.

معیارهای خروج عبارت بودند از: مطالعات فاقد ارتباط مستقیم با جداسازی یا شناسایی مخمرها؛ پژوهش‌هایی که مخمرهای مورد بررسی از منابع نامرتبط با دامنه تعیین‌شده تهیه شده بودند؛ مطالعاتی که فاقد اطلاعات قابل استخراج درباره ویژگی‌های مخمر یا ارتباط آن با تولید بیواتانول بودند؛ و مقالات مروری، سرمقاله‌ها، دیدگاه‌ها، چکیده‌های فاقد اطلاعات کافی و سایر منابع غیرپژوهشی که داده‌های اولیه قابل ارزیابی ارائه نمی‌کردند. همچنین، رکوردهای تکراری شناسایی‌شده در پایگاه‌های مختلف تنها یک بار در فرایند ارزیابی لحاظ شدند.

جست‌وجوی منابع علمی با هدف شناسایی مطالعات منتشرشده بین سال‌های ۲۰۱۵ تا ۲۰۲۶ در پایگاه‌های ScienceDirect، SpringerLink، Wiley Online Library و Google Scholar انجام شد. انتخاب این منابع با توجه به پوشش مطالعات مرتبط با

ویرایش شده

میکروبیولوژی صنعتی، زیست‌فناوری، تخمیر و تولید سوخت‌های زیستی صورت گرفت. جست‌وجو بر اساس ترکیبی از واژگان مرتبط با منابع جداسازی مخمر، روش‌های شناسایی میکروبی، ویژگی‌های مقاومتی و تولید بیواتانول طراحی شد.

کلیدواژه‌های اصلی مورد استفاده شامل موارد زیر بودند:

- «Yeast isolation»و«Yeast identification»
- «Molasses»و«Sugarcane molasses»
- «Sugar beet molasses»
- «Vinasse»و«Sugarcane vinasse»
- «Bioethanol production»و«Ethanol fermentation»
- «Stress-tolerant yeast»و«Stress tolerance»
- «Thermotolerance»و«Osmotolerance»
- «Ethanol tolerance»و«Salt tolerance»

انتخاب مطالعات در چند مرحله انجام شد. در مرحله نخست، نتایج حاصل از جست‌وجوی پایگاه‌های اطلاعاتی گردآوری و رکوردهای تکراری شناسایی و حذف شدند. در مرحله دوم، عنوان و چکیده مقالات باقی‌مانده از نظر ارتباط با اهداف مرور بررسی شدند. مطالعاتی که با موضوع جداسازی و شناسایی مخمر از ملاس یا ویناس، ارزیابی ویژگی‌های مقاومتی و عملکرد تخمیری در تولید بیواتانول ارتباط کافی نداشتند، از بررسی بیشتر کنار گذاشته شدند.

در مرحله سوم، متن کامل مقالات واجد شرایط بررسی شد تا انطباق آن‌ها با معیارهای شمول و خروج تأیید شود. در این مرحله، به‌ویژه به منشأ جداسازی مخمر، روش شناسایی سویه، شاخص‌های تحمل تنش و داده‌های مربوط به تخمیر و تولید اتانول توجه شد. همچنین، در مواردی که یک مقاله چندین سویه مخمری را بررسی کرده بود، اطلاعات هر سویه تا حد امکان به‌صورت مجزا استخراج شد تا تفاوت‌های عملکردی میان ایزوله‌ها قابل ارزیابی باشد.

روش‌های شناسایی مخمرها، شامل بررسی ویژگی‌های مورفولوژیک و بیوشیمیایی، طیف‌سنجی جرمی و روش‌های مولکولی، بر اساس گزارش هر مطالعه طبقه‌بندی شدند. ویژگی‌های مقاومتی سویه‌ها نیز در چهار محور اصلی شامل تحمل حرارتی، تحمل اسمزی و غلظت بالای قند، تحمل اتانول و تحمل شوری بررسی شدند. در ادامه، عملکرد تخمیری سویه‌ها با توجه به شاخص‌های گزارش‌شده، از جمله غلظت نهایی اتانول، بازده تولید، بهره‌وری حجمی و میزان مصرف قند مورد مقایسه قرار گرفت.

در نهایت، شواهد موجود با هدف شناسایی ویژگی‌های مؤثر بر انتخاب مخمرهای مقاوم و کارآمد و تعیین محدودیت‌های مقایسه نتایج میان مطالعات تلفیق شدند.

مخمرهای استخراج شده از ملاس

ملاس نیشکر و چغندرقند از جمله محصولات جانبی صنایع شکر هستند که غنی از قند می‌باشند. این مواد، علاوه بر کاربرد به‌عنوان بستر تخمیر، می‌توانند به‌عنوان منبع مناسبی برای جداسازی مخمرهای بومی با قابلیت تولید اتانول مورد استفاده قرار گیرند. مطالعات انجام‌شده نشان داده‌اند که تنوع مخمرهای قابل استخراج از ملاس نسبتاً بالا بوده و عملکرد تخمیری آن‌ها به گونه، سویه، ترکیب بستر تخمیر و شرایط اعمال‌شده در فرآیند تخمیر وابسته است.

در این میان، اگرچه *Saccharomyces cerevisiae* همچنان یکی از مهم‌ترین مخمرهای جداسازی‌شده از ملاس محسوب می‌شود، شناسایی گونه‌های غیر از *Saccharomyces cerevisiae* نیز نشان‌دهنده ظرفیت بالقوه تنوع میکروبی ملاس برای انتخاب سویه‌های مقاوم و مناسب فرآیندهای صنعتی است.

Muruaga و همکاران (۲۰۱۶) با جداسازی ۱۷ سویه مخمری از ملاس نیشکر، سه سویه A2، A10 و A11 به ترتیب را به‌عنوان تولیدکنندگان برتر اتانول انتخاب کردند. تحلیل و مقایسه توالی DNA این سه ایزوله با داده‌های NCBI (مرکز ملی اطلاعات

ویرایش شده

زیست‌فناوری) نشان داد که سویه A2 مشابه با *S. cerevisiae 810 GDB*، سویه A10 مشابه با *S. cerevisiae CBS 1907* و سویه A11مشابه با سویه‌های *S. cerevisiae 810 GDB* و *CBS 1907* هستند.

پس از رشد این سه سویه منتخب بر روی محیط YPS (Yeast Extract, Peptone, Sucrose)، کلنی‌هایی به رنگ سفید–کرم مشاهده شد. در بررسی‌های میکروسکوپی، تمام ایزوله‌ها بیضی‌شکل بودند (شکل۱) و تقسیم سلولی از طریق جوانه‌زنی صورت می‌گرفت. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نشان داد که هیچ تغییر معنی‌داری ($p>0/05$) در ویژگی‌های سطحی سویه‌ها، قبل و بعد از تخمیر مشاهده نشد، اما سلول‌های مخمری پس از تخمیر کمی زبرتر به نظر می‌رسیدند.

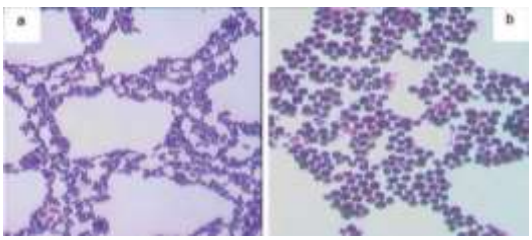


شکل ۱. شکل میکروسکوپ نوری (با بزرگنمایی ۱۰۰۰×) مخمرهای جدا شده: الف) A2، ب) A10 و ج)A11 (Muruaga et al., 2016)

سه سویه جداسازی شده در دمای بهینه ۳۰ درجه سلسیوس و در غلظت‌های بالای قند عملکرد مناسبی نشان دادند. این سویه ها توانستند تا حدود ۳۰۰ g/L قند را تحمل کنند، هرچند افزایش غلظت قند اولیه تا ۳۵۰ g/L موجب کاهش تولید اتانول، به‌ویژه در سویهA2، شد.

نکته قابل توجه در این مطالعه، رشد فلوکولانت در سویه‌های A10 و A11 بود، این ویژگی ممکن است با تغییر رفتار سلولی و افزایش تجمع سلول‌ها در شرایط پرتنش مرتبط باشد، هرچند برای نسبت دادن مستقیم نقش حفاظتی به فلوکولاسیون، شواهد بیشتری مورد نیاز است. بنابراین، ویژگی‌های فیزیولوژیک سویه، علاوه بر ظرفیت ذاتی تولید اتانول، می‌تواند عامل تعیین‌کننده‌ای در عملکرد مخمر در سوبسترای پرقند باشد. عملکرد این سویه‌ها در مقیاس ۱۰ لیتری نیز حفظ شد و در شرایط ۳۰ درجه سلسیوس و تلقیح ۲٪ ماده خشک، غلظت اتانول حدود ۱۲٪ بود. نتایج نشان می‌دهند که سویه *S. cerevisiae A2* می‌تواند به عنوان یک سویه نوآورانه و مناسب برای تولید بیواتانول در نظر گرفته شود (Muruaga et al., 2016).

در بررسی دیگر، Hamouda و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که ظرفیت تخمیری ملاس محدود به *S. cerevisiae* نیست. در این مطالعه، از میان ایزوله‌های به‌دست‌آمده از ملاس نیشکر، سویه‌های HSC-22 و HSC-24 به‌ترتیب به‌عنوان *Pichia veronae* و *Candida tropicalis* شناسایی شدند. مطابق با تصویر(a) ۲، ایزوله مخمر HSC-22 زیر میکروسکوپ به شکل بیضی کوتاه و برجسته مشاهده شد، در حالی که ایزوله HSC-24 به صورت بلاستوسپورهای بزرگ بیضی‌شکل ظاهر شد(شکل ۲ (b)).



شکل۲. سویه‌های مخمر HSC-22 (a) و HSC-24 (b) زیر میکروسکوپ (Hamouda et al., 2016)

P. veronae .حدود g/L ۹/۶ اتانول با بازده g/g ۰/۴۸ تولید کرد، در حالی که *C. tropicalis* حدود g/L ۸/۲ اتانول با بازده g/g ۰/۴۱ داشت. این یافته‌ها از جهت نشان دهنده قابلیت جداسازی گونه هایی متنوع دیگری غیر از*Saccharomyces cerevisiae* جهت تولید اتانول است و از جهت دیگر، بر اهمیت غربالگری تنوع میکروبی بومی برای شناسایی سویه‌های دارای ویژگی‌های عملکردی متفاوت تأکید می‌کند (Hamouda et al., 2016).

با این حال، مقایسه مستقیم مقادیر اتانول گزارش‌شده توسط Hamouda و همگاران(۲۰۱۶) با مقادیر حاصل از مطالعه Muruaga و همکاران(۲۰۱۶) نمی‌تواند مبنای مناسبی برای تعیین سویه برتر باشد ؛ زیرا شاخص عملکردی دو مطالعه به شکل یکسانی گزارش نشده و تفاوت در غلظت اولیه قند، ترکیب ملاس، شرایط تخمیر، زمان فرآیند و مقیاس کشت می‌تواند به‌طور قابل توجهی بر غلظت و بازده اتانول اثر بگذارد.

مقایسه این مطالعات نشان می دهد که انتخاب سویه برای تولید اتانول از ملاس را نمی‌توان صرفاً بر اساس بیشترین غلظت نهایی اتانول انجام داد. در مطالعه Muruaga و همکاران، تمرکز اصلی بر عملکرد سویه‌های *S. cerevisiae* در سوبسترای پرقند و امکان مقیاس‌سازی فرآیند در بیوراکتور ۱۰ لیتری بود، در حالی که Hamouda و همکاران، تولید اتانول زیستی توسط گونه های مخمری متفاوت را نشان دادند.

همچنین Hawaz و همکاران (۲۰۲۲) در مطالعه ای، علاوه بر تولید اتانول، بر ویژگی‌هایی فیزیولوژیک و مقاومتی مخمر مانند تحمل اتانول، تحمل قند و مقاومت حرارتی تأکید داشتند. از این منظر، یک سویه با تولید اتانول با غلظت بالاتر لزوماً گزینه مناسب‌تری برای کاربرد صنعتی نیست؛ زیرا تحمل دما و اتانول، توانایی رشد در محیط پرقند، نیاز غذایی، پایداری سلولی و قابلیت حفظ عملکرد در مقیاس بزرگ نیز از شاخص‌های مهم ارزیابی سویه محسوب می‌شوند (Hawaz et al., 2022).

ویژگی‌های فیزیولوژیک و تحمل تنش در مخمرهای جداسازی‌شده از ملاس نیشکر

مقایسه مطالعات انجام‌شده بر روی مخمرهای جداسازی‌شده از ملاس نشان می‌دهد که قابلیت تولید اتانول تنها به هویت گونه‌ای مخمر وابسته نیست، بلکه حاصل برهم‌کنش میان ویژگی‌های فیزیولوژیک سویه و شرایط محیط تخمیر است. ملاس به‌عنوان محیطی غنی از قند، نمک‌ها، مواد معدنی و ترکیبات مختلف، می‌تواند هم‌زمان چندین تنش شامل فشار اسمزی، تنش اتانولی، تنش حرارتی و محدودیت‌های تغذیه‌ای را به سلول مخمر تحمیل کند.

از این رو، ارزیابی یک سویه صرفاً بر اساس میزان اتانول تولیدی، بدون در نظر گرفتن ظرفیت تحمل تنش آن، نمی‌تواند معیار کاملی برای تعیین قابلیت صنعتی آن باشد. مطالعات بررسی‌شده را می‌توان بر اساس مهم‌ترین ویژگی‌های فیزیولوژیک مؤثر بر عملکرد تخمیر در چهار محور اصلی شامل تحمل حرارتی، تحمل اسمزی و قند بالا، تحمل اتانول و تحمل شوری مقایسه کرد.

تحمل حرارتی

افزایش تقاضا برای بیواتانول، استفاده از زیست‌توده‌های لیگنوسلولزی مانند کاه برنج، گندم و جو را افزایش داده است. تبدیل این منابع به اتانول به مخمرهایی نیاز دارد که علاوه بر توانایی تولید اتانول، تحمل حرارتی، قابلیت استفاده از انواع قندها و مقاومت در برابر ترکیبات بازدارنده را داشته باشند. از این نظر، ملاس و محصولات جانبی صنایع قند می‌توانند منابع مناسبی برای جداسازی و غربالگری چنین مخمرهایی باشند.

Avchar و همکاران (۲۰۲۲)، از ملاس کارخانه‌های قند، هفت سویه از گونه‌های مختلف مخمری جداسازی کردند. همه سویه‌ها در ۴۲ درجه سلسیوس رشد مناسبی داشتند، اما تنها چهار سویه در ۵۰ درجه سلسیوس نیز قادر به رشد بودند. همچنین، برخی

سویه‌ها دامنه گسترده‌تری از قندها، از جمله گلوکز، گالاکتوز، ساکارز، زایلوز و آرابینوز را مصرف کردند. در میان آن‌ها، جدایه *K. marxianus* MSS6.3 و *K. marxianus* MSS6.6 عملکرد مناسبی در دماهای بالا و تولید اتانول نشان دادند. این نتایج نشان می‌دهد که افزایش دما می‌تواند به‌عنوان یک معیار مؤثر برای غربالگری مخمرهای مقاوم به حرارت مورد استفاده قرار گیرد، اما تحمل حرارتی به‌تنهایی برای انتخاب سویه مناسب کافی نیست و توانایی مصرف قندهای مختلف و مقاومت در برابر بازدارنده‌ها نیز باید در نظر گرفته شود (Avchar et al., 2022).

نتایج Hawaz و همکاران (۲۰۲۲)، نیز اهمیت انتخاب چندمعیاره را تأیید کرد. از میان ایزوله‌های به‌دست‌آمده از محصولات جانبی کارخانه‌های قند، چند سویه از *Meyerozyma caribbica*، *Saccharomyces cerevisiae* و *Wickerhamomyces anomalus* به دلیل مقاومت در برابر دمای بالا، غلظت زیاد قند، اتانول و pH پایین انتخاب شدند. در میان آن‌ها، *M. caribbica* MJTm3 عملکرد مطلوبی داشت و پس از بهینه‌سازی شرایط تخمیر، تولید اتانول آن به ۱۴٪ حجمی رسید (Hawaz et al., 2022).

در مجموع، این مطالعات نشان می‌دهند که ملاس می‌تواند منبع ارزشمندی برای شناسایی مخمرهای مقاوم و مناسب تولید بیواتانول باشد. با این حال، انتخاب سویه نباید تنها بر اساس بیشترین تحمل دما یا بیشترین تولید اتانول انجام شود؛ بلکه ترکیبی از تحمل حرارتی، مقاومت در برابر تنش‌های تخمیری، توانایی مصرف طیف متنوعی از قندها و بازده تبدیل سوبسترا به اتانول باید در نظر گرفته شود.

تحمل اسمزی و غلظت بالای قند

فشار اسمزی ناشی از غلظت بالای قند یکی از مهم‌ترین محدودیت‌های تخمیر ملاس است. افزایش غلظت مواد محلول می‌تواند فعالیت آبی محیط را کاهش داده و رشد و متابولیسم مخمر را محدود کند. غلظت قند در سوبسترای ملاس معمولاً در محدوده ۱۶ تا ۱۸ درجه بریکس تنظیم می‌شود، زیرا اگر این مقدار از ۱۸ درجه بریکس بیشتر شود، فشار اسمزی ایجاد شده ممکن است عملکرد فرآیند تخمیر را کاهش دهد. بنابراین، سویه‌های اسموتولرانت (مقاوم به فشار اسمزی) از نظر امکان تخمیر سوبستراهای غلیظ اهمیت ویژه‌ای دارند. به همین دلیل، یکی از اهداف اصلی در تحقیقات تولید بیواتانول، شناسایی سویه‌های مخمری است که قادر به تحمل فشار اسمزی بالا و مقاوم به محیط‌هایی با غلظت قند بالا باشند. این گونه مخمرها که به مخمرهای اسموفیلیک معروف‌اند، در تولید بیواتانول نسل دوم کاربرد دارند. ملاس نیشکر با درجه بریکس ۱۴، یکی از منابع اصلی تولید بیواتانول است. در این زمینه، مخمرهای اسموفیلیک می‌توانند از منابع حاوی قند بالا مانند عسل، آبمیوه یا محصولات جانبی همچون ملاس استخراج شوند.

در تحقیقات مختلف، مخمرهایی مانند *Candida metapsilosis*، *C. etchelsii*، *C. parapsilosis*، *C. orthopsilosis* و *Sterigmatomyces halophilus* از عسل، شیر و مرباهای میوه‌ای جدا شده‌اند (Puriyatuppa-Path et al., 2022).

در مطالعه Nurhayati و همکاران (۲۰۱۸)، دو ایزوله اسموفیل از ملاس نیشکر جداسازی شدند که به‌ترتیب *Candida famata* و *Candida guilliermondii* شناسایی شدند. هر دو ایزوله در محیط‌های ملاس با ۱۴، ۲۴ و ۳۴ درجه بریکس قادر به رشد بودند و بهترین رشد در ۳۰ درجه سلسیوس مشاهده شد؛ همچنین، تولید اتانول در محیط با ۳۴ درجه بریکس گزارش شد. پروفایل تخمیر این مخمرها نشان داد که هر دو ایزوله قادر به تخمیر انواع مختلف قندها از جمله گلوکز، گلیسرول، آرابینوز، آدونیتول، گالاکتوز، سوربیتول، و متیل-αD-گلوکوپیرانوزید هستند (Nurhayati et al., 2018).

همچنین، آن‌ها توانایی تخمیر سایر قندها مانند N-استیل–گلوکوزامین، سلوبیوز، مالتوز، ساکارز، ترهالوز و رافینوز را نیز دارند. ایزوله A توانایی تخمیر اینوزیتول و ملیزیتوز را داشت، در حالی که ایزوله B قادر به تخمیر زایلوز و گزیلیتول بود.

این یافته نشان می‌دهد که جداسازی مخمر از محیط‌های غنی از قند می‌تواند به انتخاب سویه‌هایی منجر شود که از نظر فیزیولوژیک با فشار اسمزی سازگار شده‌اند.

شواهد قوی‌تری از تحمل اسمزی در مطالعه Hawaz و همکاران، مشاهده شد؛ به‌طوری‌که هفت سویه منتخب قادر به رشد در غلظت گلوکز ۵۰٪ بودند. با این حال، پاسخ سویه‌ها کاملاً مشابه نبود و *M. caribbica* MJTm3 بالاترین تراکم سلولی را در این شرایط نشان داد. نکته مهم آن است که افزایش غلظت قند تا یک محدوده مشخص می‌تواند برای رشد مطلوب باشد، اما عبور از سطح بهینه موجب کاهش جمعیت سلولی می‌شود. بنابراین، «تحمل قند» یک ویژگی آستانه‌ای است و نباید با «عملکرد مطلوب تخمیر در غلظت بالای قند» یکسان تلقی شود.

از نظر فیزیولوژیک، این تفاوت را می‌توان با تخصیص منابع سلولی برای سازگاری اسمزی توضیح داد. در شرایط قند بالا، سلول بخشی از ظرفیت متابولیکی خود را برای حفظ تعادل اسمزی و یکپارچگی غشای سلولی مصرف می‌کند؛ در نتیجه، افزایش مقاومت اسمزی الزاماً به افزایش متناسب تولید اتانول منجر نمی‌شود. بنابراین، برای ارزیابی یک سویه اسموتلورانت، غلظت قند قابل تحمل باید هم‌زمان با نرخ مصرف قند، بهره‌وری اتانول و بازده تخمیر بررسی شود.

این موضوع در مطالعه Hawaz و همکاران، نیز قابل مشاهده است. سویه *M. caribbica* MJTm3 در شرایط آزمایشگاهی از ملاس ۳۰ درجه بریکس مقدار ۱۲/۷٪ حجمی اتانول تولید کرد، در حالی که پس از بهینه‌سازی شرایط تخمیر در ۳۵ درجه بریکس، دمای ۳۰ درجه سلسیوس و تلقیح ۱۵٪ تولید اتانول به ۱۴٪ حجمی افزایش یافت. بنابراین، تحمل سوبسترای غلیظ تنها یکی از پیش‌نیازهای عملکرد است و بهینه‌سازی هم‌زمان شرایط فرآیند برای تبدیل تحمل فیزیولوژیک به عملکرد تخمیری ضروری است (Hawaz et al., 2022).

تحمل اتانول

اتانول هم محصول نهایی تخمیر و هم یکی از مهم‌ترین عوامل مهاری برای مخمر است؛ ازاین‌رو، با پیشرفت تخمیر، افزایش غلظت اتانول می‌تواند رشد و زنده‌مانی سلول را محدود کرده و در نهایت سرعت تولید اتانول را کاهش دهد. در نتیجه، تحمل اتانول باید به‌عنوان یک ویژگی مستقل از توانایی اولیه تولید اتانول در نظر گرفته شود.

در مطالعه Kechkar و همکاران، سویه S1 جداشده از ملاس نیشکر توانست تا ۱۴٪ حجمی اتانول را تحمل کند. در همان مطالعه، سویه‌های جداشده از خرما و انجیر تحمل بالاتری، تا ۲۰٪ حجمی اتانول، نشان دادند. این مقایسه نشان می‌دهد که حتی در یک مطالعه و تحت شرایط آزمایشی مشابه، منشأ اکولوژیک سویه می‌تواند با سطح تحمل اتانول ارتباط داشته باشد. با این حال، تحمل اتانول به‌تنهایی به معنی تولید بیشتر اتانول نیست؛ برای مثال، سویه‌های مختلف در شرایط شوری نیز عملکرد متفاوتی از نظر بازده اتانول نشان دادند.

در میان سویه‌های جداسازی‌شده از محیط‌های کارخانه‌های قند، *M. caribbica* MJTm3 عملکرد قابل‌توجهی از خود نشان داد و توانست تا ۲۰٪ حجمی اتانول را تحمل کند، در حالی که سایر سویه‌های منتخب عمدتاً تا ۱۸٪ تحمل نشان دادند. اهمیت این ویژگی زمانی بیشتر مشخص می‌شود که تحمل اتانول با عملکرد واقعی تخمیر مقایسه شود. سویه MJTm3 نه‌تنها از نظر تحمل اتانول در سطح بالایی قرار داشت، بلکه در تخمیر ملاس ۳۰ درجه بریکس نیز ۱۲٫۷٪ حجمی اتانول تولید کرد و پس از بهینه‌سازی فرآیند، تولید آن به ۱۴٪ حجمی رسید (Kechkar et al., 2019).

با وجود این، مقایسه مقادیر تحمل اتانول میان مطالعات مختلف باید با احتیاط انجام شود؛ زیرا غلظت گزارش‌شده به‌عنوان «حد تحمل» می‌تواند بر اساس مدت مواجهه، محیط کشت، دما، وضعیت سلول، روش سنجش رشد و معیار تعریف تحمل متفاوت باشد. بنابراین، گزارش «تحمل ۲۰٪ اتانول» به‌تنهایی برای رتبه‌بندی سویه‌ها کافی نیست و بهتر است در کنار آن بقای سلولی، سرعت مصرف قند، بهره‌وری اتانول و بازده تخمیر نیز گزارش شود.

تحمل شوری

شوری یکی از تنش‌های مهمی است که می‌تواند عملکرد مخمرهای مورد استفاده در تولید بیواتانول را محدود کند، زیرا افزایش غلظت نمک با ایجاد فشار اسمزی، رشد سلولی و فعالیت‌های متابولیکی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. از این منظر، شناسایی سویه‌هایی که علاوه بر توانایی تخمیر، قادر به حفظ زنده‌مانی و فعالیت خود در شرایط شور باشند، از اهمیت فرآیندی برخوردار است. در مطالعه Kechkar و همکاران، این ویژگی در یک سویه مخمری جداشده از ملاس نیشکر بررسی شد. سویه S1 پس از جداسازی در محیط YMA، به‌عنوان *Saccharomyces cerevisiae* شناسایی شد و از نظر مورفولوژیک نیز به‌صورت کلنی‌های سفید و صاف با سطح براق و سلول‌های بیضوی دارای جوانه‌زنی مشاهده شد.

ارزیابی فیزیولوژیک S1 نشان داد که این سویه از نظر دامنه استفاده از منابع کربنی نیز قابلیت تخمیری نسبتاً گسترده‌ای دارد. سویه مورد نظر قادر به تخمیر گلوکز، گالاکتوز، ساکارز، مالتوز و فروکتوز در غلظت (w/v) ۲٪ بود، در حالی که لاکتوز، زایلوز و آرابینوز را تخمیر نکرد. بنابراین، قابلیت تخمیر این سویه را نمی‌توان صرفاً بر اساس توانایی استفاده از گلوکز ارزیابی کرد، بلکه دامنه قندهای قابل تخمیر آن نیز بخشی از ظرفیت متابولیکی آن برای استفاده از سوبستراهای پیچیده محسوب می‌شود.

با این حال، ویژگی ممتاز S1 در این مطالعه، تحمل شوری بود. تحمل سویه در محیط مایع YM حاوی غلظت‌های مختلفNaCl ، از ۰/۵ تا ۱/۵ مولار، بررسی شد و S1 توانست تا غلظت ۱/۵ مولار NaCl زنده بماند. این نتیجه نشان می‌دهد که مقاومت سویه در برابر شوری صرفاً به شرایط کم‌نمک محدود نبود. با وجود این، بررسی رشد نشان داد که افزایش شوری با کاهش شدید رشد همراه بود؛ به‌طوری‌که در شرایط شوری، رشد سویه تا ۸۵/۷٪ کاهش یافت. بنابراین، مشاهده رشد یا بقای سلول در یک غلظت بالای نمک به‌تنهایی نمی‌تواند به‌عنوان شاخصی از عملکرد مطلوب تخمیری در نظر گرفته شود. در واقع، داده‌های این مطالعه نشان می‌دهند که تحمل شوری و حفظ رشد در شرایط شور دو ویژگی یکسان نیستند.

از دیدگاه فیزیولوژیک، کاهش رشد در شرایط شور نشان می‌دهد که بخشی از ظرفیت سلولی در مواجهه با فشار اسمزی به سازگاری با تنش اختصاص می‌یابد و در نتیجه، ظرفیت رشد و فعالیت متابولیکی تحت تأثیر قرار می‌گیرد. پیامد این وضعیت در فرآیند تخمیر می‌تواند به شکل کاهش سرعت مصرف سوبسترا و تغییر در عملکرد نهایی تخمیر ظاهر شود. بنابراین، برای ارزیابی یک سویه مقاوم به شوری، تنها تعیین بیشترین غلظت نمکی که در آن سلول قادر به زنده ماندن است کافی نیست؛ بلکه باید مشخص شود که سویه در همان شرایط تا چه اندازه قادر به حفظ فعالیت تخمیری خود است.

این تمایز در مرحله تخمیر در محیط شبیه‌سازی‌شده هیدرولیزات جلبکی نیز قابل مشاهده بود. در این بخش، NaCl به محیط اضافه شد تا شرایط شوری مشابه محیط‌های حاصل از هیدرولیز زیست‌توده جلبکی ایجاد شود. نتایج نشان داد که پس از ۴۶ ساعت تخمیر، تقریباً تمام گلوکز مصرف شد، اما افزایش شوری سرعت مصرف گلوکز را کاهش داد. بنابراین، حضور نمک الزاماً موجب توقف کامل تخمیر نشد، بلکه اثر اصلی آن در کاهش سرعت فرآیند مشاهده شد. این یافته اهمیت تفکیک میان توانایی ادامه تخمیر و سرعت تخمیر را نشان می‌دهد؛ زیرا سویه S1 حتی در شرایط شور قادر به ادامه مصرف قند و تولید اتانول بود، اما تنش نمکی کارایی فرآیند را از نظر سرعت مصرف گلوکز محدود کرد.

از نظر شاخص‌های کمی عملکرد، بازده اتانول حدود ۰/۳۸ گرم بر گرم و بهره‌وری حدود ۰/۵۸ گرم بر لیتر گزارش شد. این نتایج نشان می‌دهد که مقاومت S1 در برابر شوری تنها به بقای سلول محدود نبود و این سویه در محیط شور شبیه‌سازی‌شده همچنان توانایی تولید اتانول داشت. با این حال، تفسیر این مقادیر باید در چارچوب شرایط آزمایشی مطالعه انجام شود و نمی‌توان آنها را بدون در نظر گرفتن تفاوت در نوع سوبسترا، ترکیب محیط و شرایط تخمیر مستقیماً با مقادیر گزارش‌شده برای سایر سویه‌ها مقایسه کرد. ازاین‌رو، ارزش اصلی این نتایج در نشان دادن حفظ ظرفیت تخمیری یک سویه مقاوم به شوری در یک محیط تنش‌زا است، نه صرفاً در مقایسه عددی بازده اتانول با مطالعات دیگر.

یکی دیگر از شاخص‌های مهم فیزیولوژیکS1، تحمل آن نسبت به اتانول بود. سویه در غلظت‌های ۵٪، ۷٪، ۹٪، ۱۰٪ و ۱۲٪ اتانول قادر به رشد بود، در ۱۴٪ اتانول تحمل ضعیفی نشان داد و در غلظت‌های ۱۶٪ و ۲۰٪ رشد مشاهده نشد. بنابراین، اگرچه

افزایش غلظت اتانول دامنه رشد سویه را محدود کرد، S1 توانست تا غلظت ۱۴٪ اتانول را تحمل کند. در کنار تحمل شوری، این ویژگی نشان می‌دهد که سویه جداشده از ملاس قادر است با دو تنش مهم مرتبط با تخمیر بیواتانول، یعنی تنش اسمزی ناشی از نمک و تنش اتانولی، مواجه شود.

در مجموع، الگوی به‌دست‌آمده از S1 نشان می‌دهد که ارزیابی یک مخمر برای کاربرد در تولید بیواتانول نباید صرفاً بر اساس یک شاخص منفرد مانند بیشترین غلظت NaCl قابل تحمل انجام شود. این سویه در غلظت ۱/۵ مولار NaCl قادر به تحمل شوری بود، اما افزایش شوری رشد آن را تا ۸۵/۷٪ کاهش داد و سرعت مصرف گلوکز نیز در محیط شور کاهش یافت. در مقابل، تخمیر به‌طور کامل متوقف نشد و همچنان تولید اتانول با بازده حدود ۰/۳۸ گرم بر گرم و بهره‌وری حدود ۰/۵۸ گرم بر لیتر مشاهده شد رسید (Kechkar et al., 2019). بنابراین، داده‌های این مطالعه بیشتر از آنکه صرفاً «مقاومت بالای یک مخمر به شوری» را نشان دهند، بیانگر تفاوت میان بقا، رشد و حفظ عملکرد تخمیری تحت تنش هستند. از این منظر، سویه S1 را می‌توان نمونه‌ای از مخمری دانست که در شرایط شوری توانایی حفظ بخشی از فعالیت تخمیری خود را دارد، هرچند افزایش تنش موجب افت رشد و کاهش سرعت مصرف قند می‌شود.

جداسازی مخمرهای مقاوم به تنش با بازده بالای تولید بیواتانول از ملاس

ملاس نیشکر یکی از منابع مهم برای تولید بیواتانول است، اما بازده تولید اتانول از آن در برخی فرآیندها پایین گزارش شده است. این موضوع نشان می‌دهد که عملکرد تخمیر تنها به میزان قند قابل‌تخمیر وابسته نیست و انتخاب میکروارگانیسم مناسب و سازگار با شرایط تخمیر نیز می‌تواند نقش مهمی در افزایش بازده تولید اتانول داشته باشد.

بر همین اساس، Hawaz و همکاران (۲۰۲۲) با هدف شناسایی مخمرهای بومی با ویژگی‌های تخمیری و مقاومت به تنش مناسب، محصولات جانبی کارخانه‌های قند شامل ضایعات زیستی، آب‌نیشکر، ملاس و باگاس نیشکر را به‌عنوان منابع جداسازی مورد بررسی قرار دادند.

از میان ۱۷۶ نمونه، ۱۲۰ ایزوله مخمر وحشی جداسازی شد و ۹۰ ایزوله بر اساس ویژگی‌های مورفولوژیکی در گروه گونه‌های مرتبط با *Saccharomyces* قرار گرفتند. با این حال، غربالگری اولیه صرفاً بر اساس هویت مورفولوژیکی انجام نشد و در ادامه، مقاومت سویه‌ها در برابر مجموعه‌ای از تنش‌های مرتبط با فرآیند تخمیر بررسی شد. در نهایت، هفت سویه شامل *Meyerozyma caribbica* SHJF، *M. caribbica* MJTm3، *M. caribbica* MJTpm4، *Saccharomyces cerevisiae* TA2، *Wickerhamomyces anomalus* MJTPm2، *W. anomalus* 4m10 و *W. anomalus* HCJ2F به‌عنوان سویه‌های مقاوم به تنش انتخاب شدند. این روند غربالگری نشان می‌دهد که در انتخاب مخمر برای تولید بیواتانول از ملاس، تعداد بالای ایزوله‌های اولیه الزاماً به معنای عملکرد بهتر نیست؛ بلکه عبور از مراحل متوالی انتخاب بر اساس تحمل تنش و عملکرد تخمیری، برای شناسایی سویه مناسب اهمیت دارد.

از نظر فیزیولوژیکی، سویه‌های منتخب دامنه قابل‌توجهی از تحمل تنش را نشان دادند. این سویه‌ها توانستند در حضور اتانول تا ۱۸٪ حجمی، گلوکز تا ۵۰٪، pH تا ۲ و دمای ۴۵ درجه سلسیوس مقاومت نشان دهند. بنابراین، ویژگی متمایز این ایزوله‌ها فقط تحمل حرارتی نبود، بلکه مقاومت همزمان در برابر چند عامل تنش‌زا بود که می‌توانند در محیط تخمیر وجود داشته باشند. در میان سویه‌ها، *M. caribbica* MJTm3 رشد مناسبی در دماهای ۳۷، ۴۰، ۴۲ و ۴۵ درجه سلسیوس نشان داد و در برابر اتانول ۲۰٪ حجمی نیز تحمل قابل‌توجهی داشت. در نتیجه، این سویه از نظر ترکیب تحمل حرارتی و تحمل اتانول، نسبت به یک سویه‌ای که تنها در دمای بالا قادر به رشد است، ویژگی مناسب‌تری برای ادامه ارزیابی تخمیری نشان داد.

اهمیت این مقاومت چندگانه زمانی بیشتر آشکار می‌شود که عملکرد سویه در فرآیند تولید اتانول بررسی شود *M. caribbica* . MJTm3 در شرایط غیر بهینه توانست ۱۲/۷٪ حجمی اتانول تولید کند، در حالی که تنظیم همزمان پارامترهای فرآیند شامل غلظت ملاس ۳۵٪ بریکس، دمای ۳۰ درجه سلسیوس، pH برابر ۵/۵، سرعت هم‌زدن ۱۵۰ دور در دقیقه و اندازه تلقیح ۱۵٪

حجمی در بیوراکتور ۵ لیتری، تولید اتانول را به ۱۴٪ حجمی افزایش داد. بنابراین، افزایش عملکرد از ۱۲/۷ به ۱۴٪ حجمی را نمی‌توان تنها به ویژگی ذاتی سویه نسبت داد، بلکه نشان می‌دهد که ظرفیت تخمیری سویه در تعامل با شرایط عملیاتی فرآیند آشکار می‌شود.

از منظر فرآیندی، این نتایج نکته مهمی را درباره ارتباط میان «تحمل تنش» و «عملکرد واقعی تخمیر» نشان می‌دهد. اگرچه سویه MJTm3 توانایی رشد در ۴۵ درجه سلسیوس و تحمل اتانول ۲۰٪ حجمی را داشت، بیشترین تولید گزارش‌شده در شرایط بهینه در دمای ۳۰ درجه سلسیوس به دست آمد. بنابراین، مقاومت در برابر دمای بالا لزوماً به این معنا نیست که بالاترین تولید اتانول نیز در همان دمای بالا رخ می‌دهد؛ بلکه تحمل یک تنش، ظرفیت بقا و رشد سویه را در آن شرایط نشان می‌دهد، در حالی که تولید نهایی اتانول به مجموعه شرایط تخمیر وابسته است. این تمایز میان «تحمل فیزیولوژیکی» و «عملکرد فرآیندی» در انتخاب سویه‌های مناسب برای تولید بیواتانول از ملاس اهمیت دارد.

همچنین، تحمل همزمان غلظت بالای قند و اتانول در این سویه‌ها از نظر فرآیند تولید بیواتانول اهمیت دارد. توانایی تحمل گلوکز تا ۵۰٪ و اتانول تا ۱۸٪ تا ۲۰٪ حجمی نشان می‌دهد که سویه‌های منتخب در برابر دو عامل مرتبط با محیط تخمیر مقاومت دارند؛ از یک سو غلظت بالای قند و از سوی دیگر تجمع اتانول حاصل از فعالیت تخمیری. در این میان، *M. caribbica* MJTm3 با ترکیب تحمل حرارتی، مقاومت در برابر اتانول و توانایی تولید ۱۴٪ حجمی اتانول پس از بهینه‌سازی، به‌عنوان مناسب‌ترین سویه این مطالعه معرفی شد.

از سوی دیگر، کیفیت محصول تخمیر نیز در ارزیابی این سویه مورد توجه قرار گرفت. تولید مقادیر کم متانول، استون و استالدهید در کنار تولید اتانول، ویژگی دیگری بود که برای کاربرد فرآیندی سویه گزارش شد. بنابراین، ارزیابی عملکرد مخمر تنها بر اساس مقدار اتانول تولیدشده انجام نشده و تولید محصولات جانبی نیز در کنار بازده تخمیر مورد توجه قرار گرفته است. در مجموع، نتایج نشان می‌دهد که جداسازی مخمر از محیط‌های مرتبط با کارخانه‌های قند می‌تواند به شناسایی سویه‌هایی منجر شود که مجموعه‌ای از ویژگی‌های مطلوب شامل مقاومت حرارتی، تحمل غلظت بالای قند و اتانول و ظرفیت مناسب تولید اتانول را به‌طور همزمان دارا هستند. با این حال، تفاوت عملکرد سویه در شرایط غیر بهینه و پس از تنظیم پارامترهای فرآیند نشان می‌دهد که برای بهره‌برداری صنعتی، انتخاب سویه باید همراه با بهینه‌سازی شرایط تخمیر انجام شود (Hawaz et al., 2022).

همچنین در این زمینه، Degu و همکاران (۲۰۲۶) با هدف جداسازی و غربالگری مخمرهای وحشی دارای قابلیت تولید بیواتانول، ۳۵ نمونه از بسترهای قندی موجود در کارخانه‌های قند جمع‌آوری کردند. نمونه‌ها از منابع مختلف، شامل مخازن ملاس و شربت قندی، نقاط نشت و زهکشی مواد، محل‌های انباشت باگاس نیشکر و خاک اطراف تانکرهای حمل ملاس، به دست آمدند. در مجموع، ۳۰۵ جدایه مخمری جداسازی شد که از نظر ویژگی‌های ریخت‌شناختی کلنی، از جمله رنگ سفید تا کرم، بافت صاف تا زبر و شکل مسطح تا برجسته، تنوع قابل‌توجهی نشان دادند. بررسی میکروسکوپی نیز نشان داد که سلول‌های بیشتر جدایه‌های منتخب عمدتاً بیضوی‌شکل بودند. از میان ۳۰۵ جدایه، ۲۰ جدایه توانایی تحمل غلظت ۱۸٪حجمی اتانول را نشان دادند و ۷ جدایه نیز در غلظت ۲۰٪ اتانول زنده ماندند. از میان جدایه‌های مقاوم به اتانول، ۱۷ جدایه قادر بودند در دمای ۴۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت زنده بمانند. این نتایج نشان می‌دهد که تنها بخشی از جمعیت مخمری اولیه، ترکیب مناسبی از مقاومت در برابر اتانول و تحمل حرارتی را نشان داده است. بااین‌حال، زنده‌مانی در غلظت بالای اتانول یا دمای بالا الزاماً به معنای حفظ سرعت رشد و فعالیت تخمیری در همان شرایط نیست؛ بنابراین، این ویژگی‌ها باید در کنار شاخص‌های عملکرد واقعی تخمیر ارزیابی شوند.

بررسی‌های فیزیولوژیک تکمیلی نشان داد که جدایه‌های منتخب توانایی تحمل چندین عامل تنش‌زا را داشتند. برخی از آن‌ها در غلظت‌های بالای گلوکز تا ۳۵٪، شرایط اسیدی تا pH برابر با ۲ و محیط حاوی ۷٪ کلرید سدیم رشد یا زنده‌مانی نشان دادند. همچنین، آزمون‌های تخمیر کربوهیدرات، توانایی استفاده از منابع قندی مختلف و تولید گاز را در جدایه‌های منتخب مشخص کرد. در آزمون شوری، افزایش غلظت NaCl تا ۷٪ با تأخیر در رشد همراه بود، درحالی‌که در غلظت ۱۰٪، رشد بیشتر جدایه‌ها بسیار محدود بود. این یافته‌ها نشان می‌دهد که تحمل تنش یک ویژگی مطلق نیست و پاسخ مخمر به نوع و شدت تنش وابسته است.

Commented [uT]: با سلام و احترام، رفرنس ۲۰۲۶ افزوده شد.

ویرایش نشده

همچنین، تحمل غلظت بالای گلوکز نباید معادل تخمیر مؤثر آن در نظر گرفته شود؛ زیرا مقاومت اسمزی، توانایی مصرف قند و بازده تولید اتانول شاخص‌هایی مرتبط، اما متمایز هستند.

بر اساس نتایج، پنج جدایه منتخب به‌ترتیب شامل *Kluyveromyces lodderae* 4M1، *Saccharomyces cerevisiae* TA21، *Saccharomyces boulardii* TA3، *Zygosaccharomyces rouxii* TA37 و *Torulaspora globosa* MBBT1 شناسایی شدند. بر اساس نتایج غلظت اتانول تولیدی در تخمیر ملاس پس از ۴۸ ساعت در دو جدایه *K. lodderae* 4M1 و *S. cerevisiae* TA21 به ترتیب ۱۲/۶۲٪ و ۱۱/۶۱ ٪ حجمی و بازده تخمیر متناظر نیز به ترتیب ۹۸٪ و ۹۷/۸٪ گزارش شد که نشان‌دهنده عملکرد برجسته‌تر این دو جدایه نسبت به سایر جدایه‌های منتخب است. در همین مطالعه، جدایه 4M1 همچنین بیشترین تراکم سلولی نهایی را نشان داد و از نظر مصرف قند نیز عملکرد مطلوبی داشت.

بااین‌حال، انتخاب نهایی سویه برای کاربرد صنعتی مستلزم بررسی هم‌زمان بازده و بهره‌وری اتانول، پایداری عملکرد در شرایط تنش‌زا و تکرارپذیری نتایج در مقیاس‌های بزرگ‌تر است (Degu et al., 2026).

جداسازی مخمرهای تولیدکننده بیواتانول از ویناس

ویناس به‌عنوان یکی از محیط‌های مرتبط با فرآیندهای تولید اتانول، می‌تواند منبعی برای جداسازی میکروارگانیسم‌های دارای قابلیت تخمیر باشد. در مطالعهMostafa و همکاران (۲۰۲۴)، با هدف شناسایی و ارزیابی میکروارگانیسم‌های موجود در ویناس، پس از کشت نمونه‌ها در محیط لوریا براث، ۷۶ ایزوله شامل ۶۴ ایزوله باکتریایی و ۱۲ ایزوله مخمری جداسازی شد. تمامی ایزوله‌های مخمری بر اساس آزمون‌های مولکولی به‌عنوان *Saccharomyces cerevisiae* شناسایی شدند و سپس قابلیت آن‌ها برای تولید بیواتانول تحت شرایط مختلف کشت و تخمیر مورد بررسی قرار گرفت. این روند نشان می‌دهد که در کنار جداسازی میکروارگانیسم‌ها از یک محیط تخمیری، ارزیابی عملکردی آن‌ها برای تعیین سویه مناسب اهمیت اساسی دارد.

مقایسه عملکرد ایزوله‌های مخمری نشان داد که تولید اتانول در میان سویه‌ها از ۲٪ تا ۲۹٪ متغیر بود و *S. cerevisiae* F1 با تولید ۲۹٪ اتانول، بالاترین مقدار گزارش‌شده را در میان ایزوله‌های مخمری نشان داد. این دامنه عملکردی نشان می‌دهد که حتی در میان ایزوله‌های متعلق به یک گونه، ظرفیت تولید اتانول یکسان نیست و انتخاب سویه می‌تواند بر عملکرد نهایی تخمیر اثرگذار باشد. بنابراین، شناسایی گونه به‌تنهایی برای انتخاب مخمر مناسب کافی نیست و ارزیابی مستقیم توانایی تخمیری سویه‌ها نیز ضرورت دارد.

از نظر فرآیندی، غلظت سوبسترا یکی از عوامل مؤثر بر عملکرد سویه F1 بود. افزایش غلظت ملاس تا ۲۰٪ باعث افزایش تولید اتانول شد، اما در غلظت‌های بالاتر، عملکرد تخمیر کاهش یافت. این رفتار نشان می‌دهد که افزایش مقدار سوبسترا الزاماً به افزایش متناسب تولید اتانول منجر نمی‌شود. در غلظت‌های بالاتر ملاس، فشار اسمزی ناشی از افزایش قند با رشد و فعالیت متابولیکی میکروارگانیسم‌ها تداخل داشت و در نتیجه عملکرد تخمیر کاهش یافت. بنابراین، غلظت ملاس باید به‌عنوان یک متغیر فرآیندی دارای دامنه بهینه در نظر گرفته شود و نه صرفاً به‌عنوان عاملی که افزایش آن همیشه مطلوب است.

در شرایط بهینه گزارش‌شده، استفاده از ۲۰٪ ملاس همراه با ۴٪ اوره و ۴٪ سولفات آمونیوم، شرایط مناسبی برای تولید اتانول فراهم کرد. این نتیجه نشان می‌دهد که عملکرد مخمر تنها به غلظت سوبسترای کربنی وابسته نیست و ترکیب محیط تخمیر نیز در دستیابی به تولید مطلوب اهمیت دارد. در واقع، افزایش غلظت ملاس تا سطح ۲۰٪ در شرایط مناسب باعث افزایش تولید اتانول شد، در حالی که عبور از این محدوده موجب کاهش عملکرد شد؛ بنابراین، رابطه میان غلظت سوبسترا و تولید اتانول در این مطالعه خطی نبوده است.

در مجموع، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که ویناس می‌تواند منبعی برای جداسازی مخمرهای دارای توان تولید اتانول باشد و در میان ایزوله‌های *S. cerevisiae* نیز تفاوت قابل‌توجهی در ظرفیت تخمیری وجود دارد. عملکرد سویه F1 همچنین نشان داد که افزایش غلظت ملاس تا یک سطح مشخص می‌تواند تولید اتانول را افزایش دهد، اما عبور از این محدوده به دلیل فشار اسمزی

و اثر آن بر رشد و فعالیت متابولیکی، موجب افت عملکرد می‌شود. بنابراین، انتخاب سویه و تعیین غلظت مناسب سوبسترا باید به‌صورت همزمان در ارزیابی فرآیند مورد توجه قرار گیرد. از سوی دیگر، حضور ایزوله‌های باکتریایی تولیدکننده اتانول در همین محیط، ظرفیت ویناس را به‌عنوان منبع میکروبی گسترده‌تر نشان می‌دهد، اما مقایسه میان مخمر و باکتری باید تنها بر مبنای شاخص‌های عملکردی هم‌ارز و شرایط تخمیر قابل مقایسه انجام شود (Mostafa et al., 2024).

نتیجه گیری کلی

مرور مطالعات انجام‌شده نشان می‌دهد که انتخاب مخمر مناسب برای تولید بیواتانول از ملاس و سایر جریان‌های جانبی صنایع قند، فرایندی چند بعدی است که باید بر اساس تعامل میان ویژگی‌های ژنتیکی و فیزیولوژیک سویه، ترکیب بستر تخمیر و شرایط عملیاتی فرایند انجام شود. اگرچه *Saccharomyces cerevisiae* همچنان یکی از مهم‌ترین مخمرهای مورد استفاده در تخمیر صنعتی اتانول به حساب می‌آید، نتایج مطالعات بررسی‌شده نشان داد که گونه‌های دیگری مانند *Meyerozyma caribbica*، *Kluyveromyces marxianus*، *Kluyveromyces lodderae*، *Pichia kudriavzevii* و *Wickerhamomyces anomalus* نیز می‌توانند ویژگی‌های فیزیولوژیک و تخمیری ارزشمندی داشته باشند. این یافته‌ها بر اهمیت گسترش دامنه غربالگری فراتر از مخمرهای متداول صنعتی و بررسی تنوع میکروبی موجود در محیط‌های مرتبط با صنایع قند تأکید می‌کند. بااین‌حال، شناسایی یک گونه یا سویه در یک منبع خاص، به‌تنهایی نشان‌دهنده برتری آن برای کاربرد صنعتی نیست؛ بلکه ارزش هر ایزوله باید بر اساس عملکرد تخمیری، پایداری در شرایط تنش‌زا و قابلیت حفظ عملکرد در مقیاس‌های بزرگ‌تر تعیین شود.

یکی از مهم‌ترین یافته‌های این مرور، تفاوت قابل‌توجه عملکرد میان سویه‌های مخمری، حتی در میان ایزوله‌های متعلق به یک گونه، است. برای مثال، در مطالعه Muruaga و همکاران (۲۰۱۶)، سویه‌های *S. cerevisiae* جداشده از ملاس نیشکر از نظر تولید اتانول و عملکرد در شرایط پرقند ارزیابی شدند و سویه A2 به‌عنوان یکی از ایزوله‌های برتر معرفی شد. در مطالعه Hamouda و همکاران (۲۰۱۶) نیز تولید اتانول توسط گونه‌های غیر از *S. cerevisiae*، از جمله *Pichia veronae* و *Candida tropicalis*، گزارش شد. همچنین، در مطالعه Mostafa و همکاران (۲۰۲۴)، تفاوت عملکرد میان ایزوله‌های *S. cerevisiae* جداشده از ویناس مشاهده شد. مجموع این شواهد نشان می‌دهد که هویت گونه‌ای، اگرچه برای شناسایی و طبقه‌بندی میکروارگانیسم ضروری است، نمی‌تواند به‌تنهایی مبنای پیش‌بینی ظرفیت تخمیری باشد. تفاوت‌های درون‌گونه‌ای در تنظیم مسیرهای متابولیکی، سازگاری با شرایط محیطی، توانایی مصرف قندها و پاسخ به تنش‌های فرایندی می‌توانند در ایجاد تفاوت عملکرد میان سویه‌ها نقش داشته باشند. ازاین‌رو، انتخاب سویه‌های صنعتی باید بر غربالگری عملکردی ایزوله‌ها، در کنار شناسایی دقیق تاکسونومیک، استوار باشد.

از منظر فیزیولوژیک، مقاومت به تنش یکی از عوامل مهم تعیین‌کننده عملکرد مخمر در محیط‌های تخمیری مبتنی بر ملاس است. این بستر، به‌ویژه در غلظت‌های بالای مواد محلول، می‌تواند فشار اسمزی قابل‌توجهی ایجاد کند؛ درحالی‌که تجمع اتانول در طول تخمیر، تغییرات دما، محدودیت مواد مغذی و ویژگی‌های شیمیایی محیط نیز بر فعالیت سلولی اثر می‌گذارند. در پاسخ به فشار اسمزی، مخمرها از سازوکارهایی مانند فعال‌سازی مسیر پیام‌رسانی HOG (High Osmolarity Glycerol pathway)، تنظیم انتقال آب و یون‌ها و تجمع مواد محلول سازگار، به‌ویژه گلیسرول، برای حفظ تعادل اسمزی و یکپارچگی سلولی استفاده می‌کنند(Hohmann, 2002; Saini et al., 2018). در شرایط تنش اتانولی، افزایش بیان پروتئین‌های شوک حرارتی (HSPs) و سایر چاپرون‌های مولکولی با جلوگیری از دناتوره‌شدن و تجمع پروتئین‌ها، به حفظ پایداری آنزیم‌های سلولی و تداوم فعالیت‌های متابولیکی کمک می‌کند(Ding et al., 2009; Stanley et al., 2010). تحمل حرارتی نیز با پاسخ‌های سلولی متعددی، از جمله حفاظت از پروتئین‌ها، تنظیم ترکیب غشایی و کنترل آسیب اکسیداتیو، ارتباط دارد؛ سازوکارهایی که در مخمرهای ترموتولرانت نظیر *K. marxianus* اهمیت ویژه‌ای دارند(Fonseca et al., 2008; Abdel-Banat et al., 2010).

نتایج مطالعات نشان می‌دهد که تحمل تنش‌های محیطی الزاماً به معنای عملکرد برتر تخمیری نیست. در مورد تحمل اسمزی، سویه‌هایی مانند *M. caribbica* MJTm3 توانایی رشد در غلظت‌های بالای قند را نشان دادند، اما تولید اتانول آن‌ها به شرایط عملیاتی تخمیر نیز وابسته بود؛ زیرا بخشی از منابع سلولی در محیط‌های پرقند صرف حفظ تعادل اسمزی می‌شود. به همین ترتیب، تحمل حرارتی در سویه‌هایی مانند *Kluyveromyces marxianus* امکان بقا و رشد در دماهای بالا را فراهم می‌کند، اما لزوماً بیشترین بازده اتانول در همان دما حاصل نمی‌شود. همچنین، تحمل اتانول بیانگر توانایی سلول در مقابله با اثرات سمی این ترکیب بر غشا و سامانه‌های متابولیکی است، اما به‌تنهایی نشان‌دهنده حفظ نرخ تولید اتانول در طول فرایند تخمیر نیست. بنابراین، ارزیابی سویه‌های مناسب برای تولید بیواتانول باید بر اساس مجموعه‌ای از شاخص‌ها شامل تحمل تنش، مصرف قند، بازده و بهره‌وری اتانول و پایداری سلولی انجام شود، نه بر پایه یک ویژگی منفرد. مقایسه نتایج مطالعات نشان می‌دهد که تفسیر عملکرد سویه‌ها باید بر اساس نوع شاخص گزارش‌شده انجام شود. غلظت نهایی اتانول، بازده تخمیر، بهره‌وری حجمی و مصرف قند هر یک جنبه متفاوتی از عملکرد فرایند را توصیف می‌کنند و قابل جایگزینی با یکدیگر نیستند. افزون بر این، اگرچه استفاده از ویناس و سایر جریان‌های جانبی صنایع قند می‌تواند با هدف بهره‌برداری مجدد از منابع میکروبی و کاهش پسماند بررسی شود، امکان استفاده مستقیم از هر جریان جانبی باید بر اساس ترکیب شیمیایی، محتوای قند قابل‌تخمیر و وجود ترکیبات بازدارنده ارزیابی شود.

با وجود نتایج امیدوارکننده، چند محدودیت در مطالعات موجود مشاهده می‌شود. بسیاری از پژوهش‌ها بر آزمون‌های رشد و تحمل تنش در مقیاس آزمایشگاهی تمرکز داشته‌اند و اطلاعات مربوط به عملکرد تخمیری در شرایط چندتنشی یا مقیاس صنعتی محدود است. همچنین، تفاوت در ترکیب ملاس، شرایط تخمیر و نحوه گزارش نتایج، مقایسه مستقیم سویه‌ها را دشوار می‌کند. از سوی دیگر، در اغلب مطالعات، مقاومت به تنش بر پایه شاخص‌های فنوتیپی ارزیابی شده و سازوکارهای فیزیولوژیک و مولکولی کمتر مورد بررسی قرار گرفته‌اند. علاوه بر این، ارتباط میان مقاومت به تنش و شاخص‌های اقتصادی فرایند هنوز به‌طور کامل روشن نیست. بنابراین، مطالعات آینده باید با استفاده از غربالگری چندمعیاره، شناسایی مولکولی دقیق، بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیک و مولکولی و ارزیابی عملکرد در شرایط نیمه‌صنعتی و چندتنشی، به انتخاب سویه‌های کارآمدتر برای تولید بیواتانول کمک کنند.

در مجموع، نتایج این مرور نشان داد که ملاس نیشکر، ملاس چغندرقند و محیط‌های مرتبط با صنایع قند و اتانول، منابع ارزشمندی برای جداسازی مخمرهای بومی تولیدکننده بیواتانول هستند. بااین‌حال، انتخاب سویه مناسب تنها به شناسایی گونه محدود نمی‌شود و نیازمند ارزیابی هم‌زمان تحمل تنش، توانایی مصرف قند، بازده و بهره‌وری تولید اتانول و پایداری عملکرد است. اگرچه *Saccharomyces cerevisiae* همچنان مهم‌ترین مخمر صنعتی محسوب می‌شود، گونه‌هایی مانند *Meyerozyma caribbica* و *Kluyveromyces marxianus* نیز به دلیل مقاومت مطلوب در برابر تنش‌های محیطی، ظرفیت بالایی برای کاربردهای زیست‌فناورانه نشان داده‌اند. در نهایت، تلفیق غربالگری سویه‌ها، شناخت مکانیسم‌های مقاومت سلولی، استانداردسازی شاخص‌های تخمیر و بهینه‌سازی شرایط فرایند، می‌تواند به توسعه سامانه‌های کارآمدتر و پایدارتر تولید بیواتانول از محصولات جانبی صنایع قند منجر شود.

جدول ۱. مقایسه عملکرد سویه‌های مخمری در تولید اتانول تحت بسترها و شرایط مختلف تخمیر

سویه	منبع جداسازی	بستر تخمیر	شرایط اصلی تخمیر	غلظت اتانول نهایی (g/L)	راندمان تخمیر (%)	مطالعه
Saccharomyces cerevisiae A2	ملاس	محیط YPS حاوی ساکارز	۱۲۰h, ۳۰°C	۱۲۸/۷	-	Muruaga et al. (2016)
Saccharomyces cerevisiae A10	ملاس	محیط YPS حاوی ساکارز	۱۲۰h, ۳۰°C	۱۳۲	-	
Saccharomyces cerevisiae A11	ملاس	محیط YPS حاوی ساکارز	۱۲۰h, ۳۰°C	۱۳۲	-	
Pichia veronae HSC-22	ملاس	ملاس	۴۸h, ۳۰°C	۹/۶	-	Hamouda et al. (2016)
Candida tropicalis HSC-24	ملاس	ملاس	۴۸h, ۳۰°C	۸/۲	-	
Saccharomyces cerevisiae S1	ملاس	محیط مدل هیدرولیزات جلبکی (۱۵g/L گلوکز و ۱/۳۷M NaCl)	۴۶h, ۲۸°C	۲/۲	۳۲	Kechkar et al. (2019)
Saccharomyces cerevisiae S2	خرما	محیط مدل هیدرولیزات جلبکی (۱۵g/L گلوکز و ۱/۳۷M NaCl)	۴۶h, ۲۸°C	۳/۸	۵۲	
Saccharomyces cerevisiae S3	انجیر	محیط مدل هیدرولیزات جلبکی (۱۵g/L گلوکز و ۱/۳۷M NaCl)	۴۶h, ۲۸°C	۳/۹	۵۸	
Pichia kudriavzevii DSA3.2	ملاس و ویناس	۵٪ گلوکز	۴۰°C	۲۴/۵	۹۵/۷	Avchar et al. (2022)
Pichia kudriavzevii DSA3.2	ملاس و ویناس	۵٪ گلوکز	۴۵°C	۲۲/۳	۸۷/۴	
Kluyveromyces marxianus MSS6.3	ملاس و ویناس	۵٪ گلوکز	۴۵°C	۲۳	۹۰	
Kluyveromyces marxianus MSS6.3	ملاس و ویناس	کاه برنج قلیایی‌شده	۴۵°C	۱۰/۵	۸۴/۵	
Kluyveromyces marxianus MSS6.3	ملاس و ویناس	کاه برنج قلیایی‌شده	۴۵°C	۱۰/۹	۸۵	
Meyerozyma caribbica MJTm3	ملاس	ملاس ، ۳۰ درجه بریکس	۴۸h, ۳۰°C	۲۶	۴۷	Hawaz et al. (2022)

Commented [u۳]: جدول طبق نظر داور محترم اصلاح شد.

ویرایش اولیه شده

Degu et al. (2026)	۶۹	۴۲	۴۸h, ۳۰°C	ملاس ، ۳۵ درجه بریکس	ملاس	*Meyerozyma Caribbica* MJTm3
	۹۸	۹۹/۵۲	۴۸h	ملاس	ملاس و سایر بسترهای قندی کارخانه قند	*Kluyveromyces lodderae* 4M1
	۹۷/۸	۹۱/۶۱	۴۸h	ملاس	ملاس و سایر بسترهای قندی کارخانه قند	*Saccharomyces cerevisiae* TA21
	۹۳/۱	۸۳/۴۸	۴۸h	ملاس	ملاس و سایر بسترهای قندی کارخانه قند	*Saccharomyces boulardii* TA3
	۹۰/۸	۸۵/۳۷	۴۸h	ملاس	ملاس و سایر بسترهای قندی کارخانه قند	*Zygosaccharomyces rouxii* TA37
	۸۸/۱	۸۲/۳۸	۴۸h	ملاس	ملاس و سایر بسترهای قندی کارخانه قند	*Torulaspora globosa* MBBT1
Mostafa et al. (2024)	۲۹	–	ملاس + اوره + سولفات آمونیوم	ملاس	ویناس	*Saccharomyces cerevisiae* F1

ویراستاری نشده

منابع

Abdel-Banat, B. M. A., Hoshida, H., Ano, A., Nonklang, S., & Akada, R. (2010). High-temperature fermentation: How can processes for ethanol production at high temperatures become superior to the traditional process using mesophilic yeast? *Applied Microbiology and Biotechnology, 85*(4), 861–867. https://doi.org/10.1007/s00253-009-2248-5.

Avchar, R., Lanjekar, V., & Baghela, A. (2022). Bioprospecting thermotolerant yeasts from distillery effluent and molasses for high-temperature ethanol production. *Journal of Applied Microbiology*, *132*(2), 1134-1151. https://doi.org/10.1111/jam.15288.

Bitew, D., Tesfaye, A., & Andualem, B. (2023). Isolation, screening and identification of ethanol producing yeasts from Ethiopian fermented beverages. *Biotechnology Reports, 40*, e00815. https://doi.org/10.1016/j.btre.2023.e00815.

Chohan, N. A., Aruwajoye, G., Sewsynker-Sukai, Y., & Kana, E. G. (2020). Valorisation of potato peel wastes for bioethanol production using simultaneous saccharification and fermentation: Process optimization and kinetic assessment. *Renewable Energy, 146*, 1031–1040. https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.07.042.

Choudhary, J., Singh, S., & Nain, L. (2016). Thermotolerant fermenting yeasts for simultaneous saccharification fermentation of lignocellulosic biomass. *Electronic Journal of Biotechnology, 21*, 82–92. https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2016.02.007.

Choudhary, J., Singh, S., & Nain, L. (2017). Bioprospecting thermotolerant ethanologenic yeasts for simultaneous saccharification and fermentation from diverse environments. *Journal of Bioscience and Bioengineering, 123*(3), 342–346. https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2016.10.007.

Degu, S., Hawaz, E., Tafese, M., Kebede, G., Kiros, S., Beyene, D., Degefe, A., Hunde, B., Tesfaye, A., & Muleta, D. (2026). Isolation and Screening of Wild Indigenous Yeasts from Molasses and Sugary Substrates in Bioethanol Production. *Research Square*. https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-8503519/v1.

Ding, J., Huang, X., Zhang, L., Zhao, N., Yang, D., & Zhang, K. (2009). Tolerance and stress response to ethanol in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Microbiology and Biotechnology, 85*(2), 253–263. https://doi.org/10.1007/s00253-009-2223-1.

Fonseca, G. G., Heinzle, E., Wittmann, C., & Gombert, A. K. (2008). The yeast *Kluyveromyces marxianus* and its biotechnological potential. *Applied Microbiology and Biotechnology, 79*(3), 339–354. https://doi.org/10.1007/s00253-008-1458-6.

Hamouda, H., Nassar, H., Madian, H., El-Sayed, M. H., El-Ghamry, A., & El-Gendy, N. S. (2016). Isolation of fermentative microbial isolates from sugar cane and beet molasses and evaluation for enhanced production of bioethanol. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*, *38*(15), 2170-2180 . https://doi.org/10.1080/15567036.2015.1030050.

Hawaz, E., Tafesse, M., Tesfaye, A., Beyene, D., Kiros, S., Kebede, G., Boekhout, T., Theelen, B., Groenewald, M., Degefe, A., Degu, S., Admas, A., & Muleta, D. (2022). Isolation and characterization of bioethanol producing wild yeasts from bio-wastes and co-products of sugar factories. *Annals of Microbiology, 72*(1), 39. https://doi.org/10.1186/s13213-022-01695-3.

Hohmann, S. (2002). Osmotic stress signaling and osmoadaptation in yeasts. *Microbiology and Molecular Biology Reviews, 66*(2), 300–372. https://doi.org/10.1128/MMBR.66.2.300-372.2002

Holzinger, A., Herburger, K., Kaplan, F., & Lewis, L. A. (2015). Desiccation tolerance in the chlorophyte green alga *Ulva compressa*: Does cell wall architecture contribute to ecological success? *Planta, 242*(2), 477–492. https://doi.org/10.1007/s00425-015-2292-6.

Kabeyi, M. J. B., & Olanrewaju, O. A. (2022). Performance analysis and evaluation of ethanol potential of Nzoia Sugar Company Ltd. *Energy Reports, 8*, 787–799. https://doi.org/10.1016/j.egyr.2022.11.006.

Kasavi, C., Finore, I., Lama, L., Nicolaus, B., Oliver, S. G., Oner, E. T., & Kirdar, B. (2012). Evaluation of industrial *Saccharomyces cerevisiae* strains for ethanol production from biomass. *Biomass and Bioenergy, 45*, 230–238. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.06.013.

Kechkar, M., Sayed, W., Cabrol, A., Aziza, M., Ahmed Zaid, T., Amrane, A., & Djelal, H. (2019). Isolation and identification of yeast strains from sugarcane molasses, dates and figs for ethanol production under conditions simulating algal hydrolysate. *Brazilian Journal of Chemical Engineering, 36*(1), 157–169. https://doi.org/10.1590/0104-6632.20190361s20180114.

Konti, A., Kekos, D., & Mamma, D. (2020). Life cycle analysis of the bioethanol production from food waste—a review. *Energies, 13*(19), 5206. https://doi.org/10.3390/en13195206.

Madi, F., Hachicha, R., Gamero, J. E. R., Gupte, A. P., Gronchi, N., Haddad, M., Favaro, L., Casella, S., & Basaglia, M. (2024). Exploitation of spoilage dates as biomass for the production of bioethanol and polyhydroxyalkanoates. *Renewable Energy, 220*, 119655. https://doi.org/10.1016/j.renene.2023.119655.

Mishra, A., Sharma, A. K., Sharma, S., Mathur, A., Gupta, R., & Tuli, D. (2016). Lignocellulosic bioethanol production employing newly isolated inhibitor and thermotolerant *Saccharomyces cerevisiae* DBTIOC S24 strain in SSF and SHF. *RSC Advances, 6*(29), 24381–24390. https://doi.org/10.1039/C6RA00007J.

Moran-Salazar, R., Sanchez-Lizarraga, A., Rodriguez-Campos, J., Davila-Vazquez, G., Marino-Marmolejo, E., Dendooven, L., & Contreras-Ramos, S. (2016). Utilization of vinasses as soil amendment: consequences and perspectives. *SpringerPlus*, *5*(1), 1007 . https://doi.org/10.1186/s40064-016-2410-3.

Mostafa, A. F., Abdel-Fattah, B. E. D. E. S., El-Rawy, M. A. E. S., & Elfarash, A. E. (2024). Enhancement of sustainable bioethanol production from microorganisms isolated from molasses and venasses. *Egyptian Sugar Journal, 21*, 54–62. https://doi.org/10.21608/esugj.2024.270451.1052.

Muruaga, M. L., Carvalho, K. G., Domínguez, J. M., de Souza Oliveira, R. P., & Perotti, N. (2016). Isolation and characterization of *Saccharomyces* species for bioethanol production from sugarcane molasses: Studies of scale up in bioreactor. *Renewable Energy, 85*, 649–656. https://doi.org/10.1016/j.renene.2015.07.008.

Nurhayati, N., Sugiharto, B., Fitriyah, I., & Jayus, J. (2018). Isolation and identification of osmophilic yeasts isolated from molasses sugarcane as bioethanol starter. In *Proceedings of the International Conference on Food, Agriculture and Natural Resources (FANRes 2018)* (pp. 222–227). Atlantis Press. https://doi.org/10.2991/fanres-18.2018.46.

Pandey, A. K., Kumar, M., Kumari, S., Kumari, P., Yusuf, F., Jakeer, S., Naz, S., Chandna, P., Bhatnagar, I., & Gaur, N. A. (2019). Evaluation of divergent yeast genera for fermentation-associated stresses and identification of a robust sugarcane distillery waste isolate *Saccharomyces cerevisiae* NGY10 for lignocellulosic ethanol production in SHF and SSF. *Biotechnology for Biofuels, 12*, Article 40. https://doi.org/10.1186/s13068-019-1379-4.

Palekar, K., & Khandeparker, R. D. S. (2025). Saccharification of lignocellulosic biomass using an enzymatic cocktail from marine bacteria. *Biofuels*, *16*(2), 155–166. https://doi.org/10.1080/17597269.2024.2395166.

Picón Lescano, G. D., Silva Paulino, R. F., de Assis Wendling Júnior, J. M., Tuna, C. E., & Silveira, J. L. (2024). Technical and Economic Analyses for the Implementation of a Biohydrogen Production System Using Bioelectricity from Vinasse Biogas of the Sugarcane and Alcohol Industry. *Fermentation*, *10*(11), 564 . https://doi.org/10.3390/fermentation10110564.

Punyauppa-Path, S., Kiatprasert, P., Sawaengkaew, J., Mahakhan, P., Phumkhachorn, P., Rattanachaikunsopon, P., Khunnamwong, P., & Srisuk, N. (2022). Diversity of fermentative yeasts with probiotic potential isolated from Thai fermented food products. *AIMS Microbiology, 8*(4), 575–594. https://doi.org/10.3934/microbiol.2022037.

Roukas, T., & Kotzekidou, P. (2022). From food industry wastes to second generation bioethanol: a review. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, *21*(1), 299-329. https://doi.org/10.1007/s11157-021-09606-9.

Saini, P., Beniwal, A., Kokkiligadda, A., & Vij, S. (2018). Response and tolerance of yeast to changing environmental stress during ethanol fermentation. *Process Biochemistry, 72*, 1–12. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.07.001.

Shokravi, H., Heidarrezaei, M., Shokravi, Z., Ong, H. C., Lau, W. J., Din, M. F. M., & Ismail, A. F. (2022). Fourth generation biofuel from genetically modified algal biomass for bioeconomic development. *Journal of Biotechnology*, *360*, 23-36. https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2022.10.010.

Stanley, D., Fraser, S., Chambers, P. J., Rogers, P., & Stanley, G. A. (2010). Generation and characterisation of stable ethanol-tolerant mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 37*(2), 139–149. https://doi.org/10.1007/s10295-009-0655-3

Strachman, E., & Pupin, G. M. (2011). El sector brasileño del azúcar y el alcohol: evolución, cadena productiva e innovaciones. *Revista de la CEPAL*, *2011*(103), 179-198. https://doi.org/10.18356/bcd8bdaf-es.

United States Department of Agriculture, Foreign Agricultural Service. (2026). *Sugar: World Markets and Trade*. Washington, DC. https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/sugar.pdf.