Informatics in Biology, Health, and Food

Interdisciplinary Explorations in Life Science

Volume 2. Number 1. Jun. 2025 DOI: 10.22034/ibhf.2025.523952.1031

Original Article

Comparative Review of Chitin Deacetylase-Based Biological Methods Versus Traditional Chemical Methods

Azam Aliasghari Veshareh[1,2]

[1]Department of Microbiology, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran
[2]Research Center for Applied Microbiology and Microbial Biotechnology, Alzahra University, Tehran, Iran

Received: 2025/05/16 **Accepted:** 2025/06/16 **Online Published:** 2025/06/16

Abstract

Chitosan is a natural, biocompatible, and non-toxic biopolymer derived from the partial deacetylation of chitin. Due to its unique properties, this polymer has broad applications in the food industry (as a food preservative coating), pharmaceuticals (drug carrier, wound dressing), medicine (tissue engineering), and chemical industries (heavy metal adsorbent). The industrial production of chitosan predominantly relies on chemical methods, which involve the use of concentrated sodium hydroxide solutions under high-temperature conditions to remove acetyl groups from chitin. However, these methods face significant challenges, including high energy consumption, generation of pollutant wastewater containing sodium hydroxide, and a lack of precise control over the degree of deacetylation (resulting in inconsistent product quality). In contrast, the biological production of chitosan using the chitin deacetylase enzyme produced by certain insects, fungi, and bacteria—has emerged as an environmentally friendly alternative. This approach offers notable advantages, such as reduced energy consumption, elimination of chemical pollutants, and the production of chitosan with a controlled degree of deacetylation.This review study was conducted to examine chitosan production methods (chemical and biological), analyze the advantages and disadvantages of each approach, and evaluate optimization strategies for the production process, particularly on an industrial scale. Through a systematic review of articles published in Scopus, PubMed, and ScienceDirect databases, relevant data on chitosan production methods, the efficacy of the chitin deacetylase enzyme, and emerging technologies in this field were analyzed. The findings of this study revealed that although the chemical method remains the dominant industrial approach due to its high speed and low initial cost, its environmental consequences (e.g., annual generation of thousands of tons of alkaline wastewater) and inconsistent product quality are identified as its primary limitations. In contrast, the chitin deacetylase-based biological method, despite challenges such as prolonged processing time and high enzyme production costs, exhibits significant potential for producing chitosan with tunable purity and physicochemical properties.

Keywords: Chitosan, Chitin, Deacetylation, Chitin Deacetylase, Biological Production.

Cite this article: Aliasghari Veshareh A. Comparative Review of Chitin Deacetylase-Based Biological Methods Versus Traditional Chemical Methods. *Informatics in Biology, Health, and Food*. 2025;2(1):78-86.
Copyright©: The Authors. Published by Shandiz Institute of Higher Education
Corresponding author: Azam Aliasghari Veshareh **Email**: a.aliasghary@alzahra.ac.ir

انفورماتیک در زیست‌شناسی، بهداشت و غذا
کاوش‌های بین رشته‌ای در علوم زیستی

دوره ۲. شماره ۱. خرداد ۱۴۰۴ DOI: 10.22034/ibhf.2025.523952.1031

مقاله پژوهشی

ارزیابی مروری روش‌های زیستی مبتنی بر کیتین داستیلاز در مقایسه با روش‌های شیمیایی سنتی

اعظم علی اصغری وشاره

[۱] گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا (س)، تهران، ایران.
[۲] مرکز تحقیقات میکروبیولوژی کاربردی و بیوتکنولوژی میکروبی، دانشگاه الزهرا (س)، تهران، ایران.

دریافت: ۱۴۰۴/۲/۲۶ **پذیرش:** ۱۴۰۴ /۳/۲۶ **انتشار آنلاین:** ۱۴۰۴/۳/۲۶

چکیده

کیتوسان یک بیوپلیمر طبیعی، زیست سازگار و غیرسمی است که از دِاستیلاسیون جزئی کیتین به دست می‌آید. این پلیمر به دلیل خواص منحصربه فردش، کاربردهای گسترده‌ای در صنایع غذایی (به‌عنوان پوشش نگهدارنده مواد غذایی)، داروسازی (حامل دارو، زخم پوش)، پزشکی (مهندسی بافت) و شیمیایی (جاذب فلزات سنگین) دارد. فرآیند صنعتی تولید کیتوسان عمدتاً مبتنی بر روش‌های شیمیایی است که در آن از محلول غلیظ هیدروکسید سدیم تحت شرایط دمایی بالا برای حذف گروه‌های استیل از کیتین استفاده می‌شود. با این حال، این روش با چالش‌های جدی از جمله مصرف انرژی بالا، تولید پساب‌های آلاینده حاوی هیدروکسید سدیم و عدم کنترل دقیق درجه دِاستیلاسیون (منجر به کیفیت ناپایدار محصول) همراه است. در مقابل، تولید کیتوسان به روش زیستی با استفاده از آنزیم کیتین دِاستیلاز (تولیدشده توسط برخی حشرات، قارچها و باکتری‌ها) به عنوان جایگزینی سازگار با محیط زیست مطرح شده است. این روش از مزایای قابل توجهی مانند کاهش مصرف انرژی، حذف آلاینده‌های شیمیایی و تولید کیتوسان با درجه دِاستیلاسیون کنترل شده برخوردار است. این مطالعه مروری با هدف بررسی روش‌های تولید کیتوسان (شیمیایی و زیستی)، تحلیل مزایا و معایب هر روش، و ارزیابی راه‌کارهای بهینه‌سازی فرآیند تولید به‌ویژه در مقیاس صنعتی انجام شد. با استفاده از مقالات منتشرشده در پایگاه‌های داده، Scopus، PubMed و ScienceDirect داده‌های مرتبط با روش‌های تولید کیتوسان، کارایی آنزیم کیتین دِاستیلاز و فناوری‌های نوین در این حوزه بررسی شدند. نتایج این مطالعه نشان داد، اگرچه روش شیمیایی به دلیل سرعت بالا و هزینه‌ی اولیه‌ی پایین، روش غالب صنعتی است، اما پیامدهای زیست‌محیطی (مانند تولید سالانه هزاران تن پساب قلیایی) و کیفیت ناپایدار محصول، محدودیت‌های اصلی آن محسوب می‌شوند. در مقابل، روش زیستی مبتنی بر کیتین داستیلاز با وجود مشکلاتی نظیر زمان طولانی فرآیند و هزینه‌ی بالای تولید آنزیم، پتانسیل بالایی برای تولید کیتوسان با خلوص و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی قابل تنظیم دارد.

کلمات کلیدی: کیتوسان، کیتین، داستیلاسیون، کیتین داستیلاز، تولید زیستی

Cite this article: Aliasghari Veshareh A. Comparative Review of Chitin Deacetylase-Based Biological Methods Versus Traditional Chemical Methods. *Informatics in Biology, Health, and Food*. 2025;2(1): 78-86.
Copyright©: The Authors. Published by Shandiz Institute of Higher Education
Corresponding authors: Azam Aliasghari Veshareh **Email**: a.aliasghary@alzahra.ac.ir

مقدمه

کیتوسان[1] یک پلیمر طبیعی و محصول داستیله شده از کیتین[2] است که کاربردهای زیادی در زیست فن‌آوری، پزشکی و صنعت داروسازی دارد. تولید تجاری کیتوسان عموماً از طریق فرآیند ترموشیمیایی انجام می‌شود که معایب روش‌های شیمیایی چندمرحله‌ای را دارد. این روش از نظر زیست محیطی ایمن نیست، به راحتی کنترل نمی‌شود، منجر به تولید طیف گسترده و ناهمگونی از محصولات می‌گردد. توسعه‌ی روش‌های مکمل و جایگزین برای داستیلاسیون آنزیمی کیتین ضروری است تا در شرایطی که فرآیند به خوبی کنترل و تعریف شده باشد، به صورت بالقوه مورد استفاده قرار گیرد (۱). کیتین داستیلاز (CDA)[3] آنزیمی است که تبدیل کیتین به کیتوسان را توسط داستیلاسیون ان استیل گلوکز امین کاتالیز می‌کند (۲). کیتین داستیلاز در چند میکروارگانیسم مانند قارچ‌ها، مخمرها ، باکتری‌ها و برخی از گونه‌های حشرات گزارش شده است (۳).

کیتین یک پلیمر خطی از واحدهای N- استیل گلوکزآمین است که توسط باندهای بتا (۱-۴) به هم متصل شده‌اند. این ماده ترکیب ساختاری اولیه پوسته‌ی سخت‌پوستان، بندپایان، و دیواره‌ی سلولی قارچ‌ها است و به عنوان محصول جانبی صنعت ماهیگیری می‌باشد. بعد از سلولز فراوان‌ترین پلی‌ساکارید در طبیعت است و تولید آن از 10^9 تا 10^{11} تن در هر سال تخمین زده می‌شود (۴). کیتین به راحتی قابل حل نیست و از این‌رو کاربردهای صنعتی کیتین را محدود می‌کند (۱). با داستیلاسیون جزئی کیتین، کیتوسان تولید می‌شود، که یک پلی ساکارید خطی است و از واحدهای گلوکزآمین و استیل گلوکزآمین تشکیل شده که با اتصال بتا (۱-۴) به هم متصل شده‌اند (۵). نام شیمیایی کیتوسان، گلوگز ۲- آمینو۲- دی اکسی دی گلوکوپیرانوز است و فرمول آن $(C_6H_{11}O_4N)n$. می‌باشد (۴). سنتز طبیعی کیتوسان به عنوان یک ترکیب فراوان در دیواره سلولی قارچ‌های زایگومایست[4] انجام می‌شود (۱). کیتوسان تنها پلی ساکارید طبیعی است که به علت وجود گروه‌های آمینه، ویژگی کاتیونی دارد. در pH پایین پروتونه می‌شود و می‌تواند با ترکیبات شارژ منفی مانند پروتئین‌ها، پلی ساکاریدهای آنیونیک، اسیدهای چرب، اسیدهای صفراوی و فسفولیپیدها واکنش دهد (۵). به طور سنتی، تولید کیتوسان در مقیاس صنعتی با تیمار کیتین توسط بازهای قوی (۳۰ تا ۵۰ درصد هیدروکسید سدیم) و اسیدها (استیک اسید ۱ نرمال) در دماهای بالا (۶۰ تا ۱۴۰ درجه سانتی‌گراد) و در بازه‌های زمانی طولانی (۲۴ تا ۴۸ ساعت) انجام می‌شود. کیتوسان تولیدشده از این روش دارای حلالیت پایین، وزن مولکولی بالا و درجه استیل‌زدایی نامتعادل است. افزون بر این، این محصول به فلزات سنگین و سایر مواد معدنی موجود در ساختار کیتین آلوده می‌شود. بنابراین، اگرچه کیتوسان حاصل از روش قلیایی حرارتی برای مصارف کشاورزی قابل پذیرش است، اما برای کاربردهای پزشکی که نیازمند درجه خلوص بالاتر، درجه استیل زدایی پایین تر و یکنواختی ساختاری است، نامناسب تلقی می‌شود (۶).

خواص ویژه کیتوسان موجب کاربرد گسترده این ماده در محصولات تجاری شده است. این پلیمر ویژگی‌هایی مانند زیست سازگاری، عدم سمیت برای انسان و حیوانات ، فعالیت زیستی بالا، زیست تخریب پذیری، قابلیت جذب انتخابی، فعالیت ضد میکروبی، توانایی تشکیل فیلم و ژل، توانایی کلاته کنندگی و ظرفیت جذب را نشان می‌دهد (۷). کیتوسان می‌تواند یون‌های فلزات سنگین را کلاته کند و بنابراین گزینه‌ای مناسب برای استفاده در فرایند حذف فلزات سنگین می‌باشد (۸). در پزشکی برای پوشش زخم و سوختگی، بعنوان آنتی اکسیدانت (۳)، کنترل کلسترول و درمان سرطان (۹)، در صنایع غذایی به‌عنوان افزودنی، در مواد آرایشی برای درمان پوست و مو، در داروسازی به منظور کپسوله کردن و رهایش دارو و در کشاورزی به‌عنوان عامل ضدقارچ و بیوسپتیک استفاده می‌شود (۳).

کیتوسان به دلیل حلالیت پایین در pH بالاتر از ۶,۵، خاصیت ضدباکتریایی خود را عمدتاً در محیط‌های اسیدی نشان می‌دهد. فعالیت ضدباکتریایی کیتوسان تحت تأثیر عوامل متعددی از جمله نوع کیتوسان، درجه پلیمریزاسیون، وزن مولکولی، نوع حلال و سایر ویژگیهای فیزیکوشیمیایی قرار می‌گیرد. همچنین، کیتوسان بر باکتری‌های گرم‌مثبت تأثیر بیشتری نسبت به باکتری‌های گرم‌منفی دارد (۱۰). مطالعات تأیید کرده‌اند که کیتوسان و مشتقات آن (مانند نانوذرات کیتوسان) دارای خواص ضد باکتریایی، ضد پلاک و مهارکننده اتصال باکتری‌ها به سطح دندان علیه *استرپتوکوکوس موتانس*[5] و سایر استرپتوکوک‌های مرتبط با پوسیدگی دندان هستند (۱۱).

[1] Chitosan
[2] Chitin
[3] Chitin deacetylase
[4] Zygomycete
[5] *Streptococcus mutans*

روش‌های تولید کیتوسان

کیتوسان به طور معمول با استفاده از داستیلاسیون شیمیایی کیتین توسط محلول غلیظ شده NaOH تولید می‌شود. این روش بیشتر برای تولید صنعتی کیتوسان استفاده می‌شود (۱۲). این رویکرد شیمیایی دارای برخی از مشکلات، مانند آلودگی محیط زیست، مصرف انرژی بالا و فرایند واکنش کنترل نشده،که منجر به کیفیت ضعیف کیتوزان با ویژگی ناپایدار (درجه داستیلاسیون و وزن مولکولی متفاوت) می‌شود (۲).

کیتوسان می‌تواند توسط داستیلاسیون آنزیمی کیتین با استفاده از کیتین داستیلاز تولید شود که در حال حاضر تنها آنزیم شناخته شده است که می‌تواند واحدهای N-استیلD-گلوکزآمین کیتین یا کیتوسان را به واحدهایD-گلوکزآمین، داستیله کند (۱۲).

کیتوسانی که توسط داستیلاسیون کیتین بدست می‌آید، زیست تخریب پذیر، غیرسمی برای حیوانات، قابل حل در محلول‌های اسیدی، قابل دسترس در شکل‌های مختلف فیزیکی و نرم‌تر از کیتین است (۱۳). این روش از اواخر دهه ۱۹۹۰ که تصور می‌شد امکان دارد کیتوسان به طور مستقیم از کیتین بدون استفاده از عوامل مضر زیست محیطی مانند هیدروکسید شدیم غلیظ شده تولید شود. امکان تولید کیتوسان با روش آنزیمی داستیلاسیون کیتین موضوع تحقیقات متعدد در بیش از ۲۰ سال اخیر بوده است. اما هنوز راه حل موفقیت آمیزی برای آن وجود ندارد (۱۲).

منابع تولید کیتین داستیلاز

کیتین داستیلاز اولین‌بار از عصاره قارچ موکور روکسی[1] کشف شد (۱۴،۹). بعدها دانشمندان متوجه شدند که این آنزیم با تبدیل کیتین به کیتوسان در سنتز دیواره سلولی نقش دارد. از آن پس، چندین کیتین داستیلاز قارچی متفاوت خالص‌سازی و شناسایی شدند (۱۴). کیتین داستیلاز از قارچ های *Mucor rouxii*، *Colletotrichum lindemuthianum*، *Absidia coerulea*، *Aspergillus nidulans*، *Metarhizium anisopliae*، *Scopulariopsis brevicaulis* و *Rhizopus nigricans* جدا شده است (۱۳).

آنزیم‌های کیتین داستیلاز در ارگانیسم‌های مختلفی از جمله باکتری‌ها، قارچ‌ها و حشرات شناسایی شده‌اند که نقش حیاتی در فرآیند پوست‌اندازی و رشد حشرات ایفا می‌کنند. کیتین داستیلاز در سیستم ایمنی برخی سخت‌پوستان نقش دارند. به نظر می‌رسد زمانی که سخت‌پوستان آلوده می‌شوند، مقدار قابل‌توجهی کیتوسان تولیدشده از کیتین توسط کیتین داستیلاز درون‌زیستی می‌تواند با زنجیره‌های جانبی منفی ماکرومولکول‌های زیستی روی سطح سلول‌های باکتری‌های بیماری‌زا برهمکنش داشته و پلیمرهایی تشکیل دهد یا وارد هسته آن‌ها شده، به DNA متصل شود و سنتز mRNA و پروتئین را تحت تأثیر قرار دهد تا رشد باکتری‌های بیماری‌زا را مهار کند. در سال‌های اخیر، ویژگی‌های تعداد زیادی کیتین داستیلاز از قارچ‌ها و باکتری‌های دریایی مانند *Nitratireductor aquimarinus*، *Spiroplasma melliferum* و *Vibrio* sp. شناسایی شده است (۱۵).

کیتین داستیلاز توسط قارچ در فضای پری‌پلاسمی یا به صورت خارج سلولی وابسته به عملکردشان تولید می‌شود. کیتین داستیلاز *M. rouxii*, *A. coerulea* *A. nidulans* , *C. bertholletiae* به فضای پری‌پلاسم ترشح می‌شود که به طور معمول در ارتباط با اصلاحات دیواره سلولی است. کیتین داستیلاز منشأ گرفته از پری‌پلاسم، معمولاً توسط استات مهار می‌شود؛ اما کیتین داستیلازهای خارج سلولی تغییری در فعالیت خود در حضور استات نشان نمی‌دهند. با این حال، کیتین داستیلاز در *A. nidulans* در حضور استات فعال است. همچنین، کیتین داستیلاز در *M. anisopliae* مشاهده شده که در حضور مهارکننده‌هایی مانند استات و ملانین فعال هستند. ملانین، فعالیت کیتیناز *M. anisopliae* را مهار می‌کند، اما بر فعالیت کیتین داستیلاز تأثیری ندارد (۱). تولید آنزیم کیتین داستیلاز به عنوان یک آنزیم خارج سلولی در سال‌های اخیر مورد توجه فراوانی قرار گرفته است، زیرا نقش کلیدی در تولید کیتوسان از کیتین دارد و کاربردهای گسترده‌ای در صنایع مختلف مانند پزشکی، کشاورزی، صنایع غذایی و تصفیه آب دارد (۲).

ویژگی‌های آنزیم کیتین داستیلاز

کیتین داستیلازها آنزیم کلیدی در تبدیل کیتین به کیتوسان هستند (۱۶). کیتین داستیلاز آنزیمی است که هیدرولیز گروه استامید و استیل گلوکوزآمین را در کیتین کاتالیز می‌کند. داستیلاسیون کیتین توسط کیتین داستیلاز یک فرایند آنزیمی ایمن از نظر محیط زیست است که تبدیل کیتین موجود در سخت پوستان و قارچ ها به کیتوسان را فراهم می‌کند (۱).

وزن مولکولی این آنزیم ها ۲۵-۸۰ کیلودالتون است، گرچه در *C. lindemuthianum*، ۱۵۰ کیلودالتون است. مطالعات نشان دادند این آنزیم‌ها گلیکوپروتئین هستند و به شکل N-گلیکوزیله (۲۰-۷۰ درصد) دیده می‌شوند. pH بهینه برای کیتین داستیلاز خارج سلولی خنثی یا در محدوده بازی ۷-۱۲ است اما در مورد

[1] *Mucor rouxii*

کیتین داستیلاز داخل سلولی در محدوده ۴/۵ تا ۶ می باشد. دمای بهینه نیز تقریباً برای همه آنزیم‌ها ۵۰ تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد است (۱۴). یون‌های فلزی به عنوان فعال کننده یا مهارکننده فعالیت آنزیم عمل می‌کنند. یون های فلزی مانند Co^{2+}, Mn^{2+}, Na یا EDTA[1] هم به عنوان فعال کننده و هم مهار کننده وابسته به غلظتشان عمل می‌کنند (۱).

در مطالعه‌ای توسط Caufrier و همکاران، فعالیت آنزیم‌های کیتین داستیلاز *M. rouxii* و استیل گزیلان استراز *استرپتومیسس لیویدانس*[2] بر روی سوبستراهای استیل گزیلان، پپتیدوگلیکان و کیتین محلول بررسی شد. نتایج نشان داد که هر دو آنزیم بر روی استیل گزیلان و کیتین فعال هستند، اما فعالیتی بر روی پپتیدوگلیکان ندارند. این مشاهده ممکن است نشان‌دهنده شباهت در دامنه‌های کاتالیتیکی کیتین داستیلاز و استیل گزیلان استراز باشد که در پپتیدوگلیکان داستیلازها متفاوت است. آنالیزهای ساختاری نیز پیشنهاد می‌کنند که پیوندهای دی‌سولفید در نواحی انتهایی C و N کیتین داستیلازهای *M. rouxii* و *C. lindemuthianum* و همچنین استیل گزیلان استراز *S. lividans* وجود دارند، در حالی که این پیوندها در پپتیدوگلیکان داستیلازهای همولوگ باکتریایی مانند استرپتوکوک پنومونیه[3] و *باسیلوس سوبتیلیس*[4] یافت نمی‌شوند (۱۷).

کیتین داستیلاز از منابع مختلف، فعالیت کاتالیتیکی متفاوتی را روی سوبسترای کیتین نشان می‌دهد. نوع خارج سلولی این آنزیم، گروه‌های استیل را از سوبستراهای پلیمری کیتوسان یا الیگومری کیتین حذف می‌کند. این فرآیند از طریق یک مکانیسم چندگانه صورت می‌گیرد که در آن آنزیم ابتدا به یک زنجیره کیتین متصل می‌شود و پس از کاتالیز کردن تعدادی داستیلاسیون متوالی، از آن جدا شده و به زنجیره دیگری متصل می‌گردد (۱۴).

نقش‌های بیولوژیک کیتین داستیلاز

در قارچ‌های زیگومیست، کیتین داستیلاز نقش مهمی در رشد قارچ ایفا می‌کند؛ زیرا این آنزیم به‌طور متناوب با کیتین سنتتاز در بیوسنتز کیتوسان دیواره سلولی مشارکت دارد. همچنین، کیتین داستیلاز در داستیلاسیون الیگوساکاریدهای کیتین طی اتولیز (پس از فعالیت اندوکیتینازها بر دیواره سلولی) و نیز در تشکیل آسکوسپور در *ساکارومیسس سرویزیه*[5] دخیل است. در پاتوژن گیاهی *Colletotrichum lindemuthianum*، این آنزیم به‌صورت خارج سلولی ترشح شده و بر الیگومرهای کیتین فعال است. کیتین داستیلاز و کیتوساناز ورود قارچ پاتوژن حشره *Metarhizium anisopliae* را به بدن میزبان تسهیل می‌کنند. در پاتوژن‌های گیاهی نظیر *Uromyces viciae-fabae* و پاتوژن حشره‌ای *M. anisopliae*، کیتین داستیلاز به‌عنوان عامل دفاعی در برابر کیتینازهای میزبان شناخته شده است؛ به این صورت که با تغییر ترکیب دیواره سلولی از کیتین به کیتوسان، قارچ را از تخریب توسط آنزیم‌های میزبان محافظت می‌کند (۱). داستیلاسیون کیتین در دیواره سلولی قارچ‌های پاتوژن گیاهی ممکن است اثر ویرولانسی داشته باشد، زیرا این فرآیند حساسیت کیتین قارچی را به تجزیه توسط کیتینازها (که بخشی از پاسخ دفاعی میزبان هستند) کاهش می‌دهد. علاوه‌براین، داستیلاسیون قطعات کیتین آزاد شده از دیواره سلولی قارچ، توانایی این قطعات را در تحریک پاسخ دفاعی میزبان کاهش می‌دهد (۱۸).

کیتین داستیلازها در گونه‌های مختلف قارچی ممکن است طی دوره‌های متفاوتی ترشح شوند. به‌عنوان مثال، *C. lindemuthianum* یک کیتین‌داستیلاز خارج‌سلولی را به‌طور انحصاری در طول فرآیند نفوذ هیف‌های خود به بافت گیاهی ترشح می‌کند. این آنزیم احتمالاً کیتین را تغییر می‌دهد تا توسط سیستم تشخیص دفاعی گیاه شناسایی نشود. در مقابل، قارچ *M. rouxii* یک کیتین‌داستیلاز درون‌سلولی را در طی سنتز دیواره سلولی خود تولید می‌کند. همچنین بیان این آنزیم‌ها به‌طور انحصاری در مرحله اسپورزایی *ساکارومیسس سرویزیه* و در طول رشد رویشی *کریپتوکوکوس نئوفورمنس*[6] گزارش شده است . (۱۴).

در قارچ‌های زیگومیست، کیتین‌داستیلازها نقش حیاتی در رشد قارچ ایفا می‌کنند. این آنزیم‌ها به‌صورت هماهنگ با کیتین سنتتاز در بیوسنتز دیواره سلولی مشارکت دارند. علاوه بر این، آن‌ها در داستیلاسیون الیگوساکاریدهای کیتین طی فرآیند اتولیز (پس از هیدرولیز اولیه توسط اندوکیتینازها روی دیواره سلولی) عمل می‌کنند. شواهدی نیز از مشارکت کیتین‌داستیلازها در تشکیل آسکوسپور در *ساکارومیسس سرویزیه* وجود دارد (۱).

در حشرات، بیشتر کیتین‌داستیلازها در غشای پریتروفیک ناحیه میانی دستگاه گوارش قرار دارند و به‌طور یکنواخت در سرتاسر این بخش توزیع شده‌اند. نکته قابل توجه این است که وجود این

[1] Ethylenediaminetetraacetic acid
[2] *Streptomyces lividans*
[3] *Streptococcus pneumoniae*
[4] *Bacillus subtilis*
[5] *Saccharomyces cerevisiae*
[6] *Cryptococcus neoformans*

آنزیم‌ها فقط در طول دوره تغذیه فعال در بافت میان‌روده لاروها شناسایی شده است. با توقف تغذیه لارو در مراحل بعدی رشد، این پروتئین‌ها در میان‌روده ناپدید می‌شوند. این الگوی بیان، نقش بیولوژیکی ضروری کیتین‌داستیلاز را در فرآیند گوارش حشرات تأیید می‌کند (۱۹).

موانع تولید صنعتی کیتین داستیلاز

با وجود اهمیت صنعتی و تقاضای فزاینده برای کیتوسان در کاربردهای تجاری متنوع، هزینه‌های بالای تولید آنزیم کیتین داستیلاز، استفاده صنعتی از فرآیند تبدیل زیستی کیتین به کیتوسان را محدود کرده است (۳). ساختار کریستالی و عدم حلالیت کیتین دو مانع اصلی در پیشرفت روشهای تولید آنزیمی داستیلاسیون محسوب می‌شوند. هر دو این ویژگی‌ها، دسترسی سوبسترای کیتین به آنزیم را کاهش داده و از فعالیت آنزیم بر گروه‌های استیل داخلی جلوگیری می‌کنند؛ در نتیجه بر تولید کیتوسان با درجه داستیلاسیون بالا تأثیر منفی می‌گذارند. پیش تیمار مواد کیتینی پیش از افزودن آنزیم می‌تواند ساختار پلیمری منبع را تغییر دهد و تعامل آنزیم-سوبسترا و در نتیجه، راندمان داستیلاسیون را افزایش دهد. هر دو روش فیزیکی (مانند حرارت، آسیاب کردن و سونیکاسیون) و شیمیایی برای تیمار کیتین قابل استفاده‌اند، اما روشهای فیزیکی معمولاً کارایی کافی ندارند. در مقابل، تیمارهای شیمیایی به‌طور قابل توجهی باعث کاهش کریستالینیته و تولید سوبسترای بیشکل (آمورف) بیشتری میشوند که برای تبدیل آنزیمی مناسبتر است. مطالعات اخیر بر روی پروتئین‌های اتصالی کیتین [1] بینش‌های جدیدی برای افزایش دسترسی سوبسترا و دستیابی به درجات داستیلاسیون بالاتر ارائه کرده‌اند (۲۰).

ذرات کیتین دارای ساختارهای بلوری هستند که زنجیره‌های پلیمری در آنها بسته به منبع، به صورت موازی (β-کیتین) یا غیرموازی (α-کیتین) آرایش یافته‌اند. این ساختارهای بلوری توسط پیوندهای هیدروژنی درون و بین زنجیره‌ای تثبیت شده‌اند که تورم ذرات در آب را محدود می‌کنند. در نتیجه، بخش کمی از سوبسترا برای آنزیم کیتین داستیلاز قابل دسترس است و تنها تعداد معدودی از واحدهای ان-استیل گلوکزآمین (GlcNAc) واقع در سطح خارجی ذرات قابلیت داستیلاسیون دارند. اکثر واحدهای GlcNAc درون ساختار کریستالی پنهان مانده و برای آنزیم غیرقابل دسترس هستند. شکل زنجیره‌ها و دسترسی گروههای GlcNAc در α-کیتین و β-کیتین به شدت تحت تأثیر درجه بلوری شدن ذرات قرار دارد (۱۲).

همانطور که پژوهش Jaworska (2016) نشان داد، کریستالینیته بالا مانع اصلی در مسیر داستیلاسیون آنزیمی کیتین برای تولید کیتوسان است (۱۲). بیشتر آزمایشات انجام شده با این آنزیم، از الیگومرهای محلول کیتین یا کیتوسان در بافر آبی استفاده می‌کنند. در این شرایط، واکنش به صورت همگن پیش می‌رود و تمام واحدهای GlcNAc سوبسترا برای آنزیم قابل دسترس هستند. اما زمانی که سوبسترا شامل ذرات نامحلول کیتین باشد، فرآیند داستیلاسیون آنزیمی به صورت ناهمگن انجام می‌شود و پیچیدگی وضعیت به‌طور قابل توجهی افزایش می‌یابد (۱۲).

بهینه‌سازی فرآیند تولید کیتین داستیلاز

بهینه‌سازی پارامترهای تولید برای کاهش هزینه‌ها و افزایش بازدهی آنزیم کیتین داستیلاز امری حیاتی است (۹). برای کاربرد صنعتی، کشف سویه‌های میکروبی تولیدکننده‌ی کیتین داستیلاز با قابلیت ترشح ذاتی آنزیم به محیط کشت، همراه با بهینه‌سازی بیشتر فرآیند تولید، ضروری می‌باشد. بسیاری از مطالعات پیشین بر خالص‌سازی و مشخصه‌یابی کیتین داستیلاز متمرکز بوده‌اند. ترکیبات محیط کشت و شرایط فرآیند تخمیر تأثیر قابل توجهی بر تولید آنزیم‌های برون‌سلولی دارند و این پارامترها برای هر میکروارگانیسم متفاوت است. بهینه‌سازی پارامترهای فرآیند زیستی نقش کلیدی در توسعه‌ی هر فرآیند تخمیری ایفا می‌کند، چرا که تأثیر بسزایی بر صرفه‌ی اقتصادی و بازدهی فرآیند دارد (۳). دما عامل مهمی است که نقش تعیین‌کننده‌ای در فرآیندهای بیولوژیکی مختلف، از جمله رشد میکروارگانیسم‌ها و تولید آنزیم، ایفا می‌کند (۹).

کیتین داستیلاز عمدتاً در مقیاس آزمایشگاهی برای داستیلاسیون کیتین یا کاهش درجه استیلاسیون کیتوسان تولید شده و می‌تواند به‌عنوان روشی غیرشیمیایی برای داستیلاسیون بیشتر کیتوسان و تولید محصولی با میزان استیل باقیمانده‌ی بسیار کم یا صفر، نقش صنعتی مهمی ایفا کند. در صورت اجرای چنین فرآیندی در مقیاس صنعتی، استفاده از آنزیم تثبیت‌شده به‌جای آنزیم بومی به دلیل امکان استفاده‌ی مکرر، گزینه‌ی مناسب‌تری خواهد بود (۲۱). در اولین گزارش در این زمینه، آنزیم کیتین داستیلاز استخراج شده از آسپرژیلوس کوئرولا [2] بر روی حامل DEAE-Granocel فعال‌شده با دی‌وینیل سولفون [3] از

[1] - Chitin binding proteins

[2] *Aspergillus coerulea*

[3] Divinyl Sulfone, DVS

طریق پیوند کووالانسی تثبیت شد که بالاترین فعالیت و پایداری را نشان داد. ویژگی‌های این آماده‌سازی تثبیت‌شده در مقایسه با آنزیم بومی حاکی از آن بود که pH بهینه‌ی فعالیت برای هر دو آنزیم ۴ است، اما دمای بهینه به ترتیب ۵۰ درجه‌سانتی‌گراد برای فرم تثبیت‌شده و ۵۵ درجه‌سانتی‌گراد برای فرم بومی به‌دست آمد (۲۱).

کیتین داستیلاز، GlcNAc را داستیله می‌کند و محصولات واکنش، گلوکزآمین (GlcN) و اسید استیک هستند. علاوه بر این، سوبسترای مورد استفاده برای تثبیت آنزیم ممکن است خود فرآیند داستیلاسیون را آغاز کند. اسید استیک تولیدی نیز به‌عنوان یک مهارکننده‌ی واکنش گزارش شده است (۲۱).

در مطالعه‌ای، برای نخستین بار تولید کیتین داستیلاز از دو سویه‌ی بومی *پنیسیلیوم مونوورتیسیلیوم*[1] CFR 2 و *فوزاریوم اکسی اسپوروم*[2] CFR 8 در تخمیر حالت جامد[3] با استفاده از سبوس گندم تجاری[4] و محصولات جانبی فرآوری میگو به عنوان سوبسترای جامد گزارش شد. این روش از نظر اقتصادی مقرون به‌صرفه است زیرا از مواد ارزان‌قیمت مانند ضایعات صنایع فرآوری غذاهای دریایی به عنوان سوبسترا استفاده می‌کند. همچنین، به دلیل ارتباط با مدیریت پسماندهای زیست‌محیطی ناشی از دفع این محصولات جانبی، حائز اهمیت است (۲).

در مطالعه‌ای دیگر، قارچ مزوفیل *آسپرژیلوس فلاووس*[5] به‌عنوان تولیدکننده‌ی کیتین داستیلاز از نمونه‌های محیطی مناطق ساحلی کرالای جنوبی (هند) جداسازی شد. الزامات تغذیه‌ای برای تولید حداکثر کیتین داستیلاز تحت شرایط کشت غوطه‌وری، با استفاده از روش‌های آماری شامل طراحی غربالگری پلاکت‌برمن طراحی مرکب مرکزی و روش سطح پاسخ[6] بهینه‌سازی شد (۳).

در پژوهش اخیر، یک سویه‌ی باکتریایی جدید از گونه‌ی *Aneurinibacillus aneurinilyticus* از آب شستشوی پوسته‌ی خرچنگ دریایی جداسازی شد که توانایی تولید کیتین داستیلاز با فعالیت ویژه‌ی بالا (۵۶۹/۷۳ U/mg) را دارا بود. آنزیم استخراج شده دارای دو ایزوفرم با وزن مولکولی ۲۷ و ۴۵ کیلودالتون بود و در pH معادل ۷/۴ و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد بهینه فعالیت نشان داد. بررسی سینتیک آنزیم برای سوبستراهای کیتینی و غیرکیتینی، مقادیر Km و Vmax متفاوتی را آشکار ساخت که نشان‌دهنده‌ی تطبیق‌پذیری آنزیم با سوبستراهای گوناگون است. همچنین، تأثیر مثبت یون‌های Mn^{2+} و Mg^{2+} و بازدارندگی شدید توسط Cd^{2+} و Co^{2+} بر فعالیت آنزیم مشاهده شد. این پژوهش، نخستین گزارش از تولید CDA توسط باکتری *A. aneurinilyticus* است و پتانسیل صنعتی این آنزیم را برای تولید کنترل‌شده‌ی کیتوسان با درجه دِاستیلاسیون یکنواخت برجسته می‌کند (۲۲).

به کمک تکنیک‌های مهندسی ژنتیک و بیولوژی مولکولی می‌توان آنزیم کیتین داستیلاز را دستکاری کرد تا آنزیم‌هایی با ویژگی‌های بهبودیافته برای تولید پلیمرها و الیگومرهای کیتوسان اختصاصی به‌دست آید (۱). در مطالعه‌ای، ژن کیتین داستیلاز *آسپرژیلوس نیدولانس*[7] در *اشرشیا کلی*[8] کلون و بیان شد. این نتایج نشان داد که بیان هترولوگ در *اشرشیا کلی* مسیری برای تولید مقیاس‌بالای این آنزیم جهت کاربردهای صنعتی است. با این حال، پروتئین‌های هترولوگ بیان شده در *اشرشیا کلی* غالباً به شکل اجسام انکلوزیونی غیرفعال تجمع می‌یابند (۱۳)، که این امر برای تولید صنعتی چالش‌برانگیز است. کلونینگ و بیان بیش‌ازحد ژن کیتین داستیلاز، کاربرد بالقوه‌ای در تولید مقیاس‌بالای آنزیم برای مصارف تجاری دارد. استفاده از سیستم‌های بیان یوکاریوتی مانند مخمر *پیچیا پاستوریس*[9] ممکن است برای بیان فعال کیتین داستیلاز مناسب‌تر باشد. به‌عنوان مثال، کیتین داستیلاز نوترکیب *Colletotrichum lindemuthianum* که در *پیچیا پاستوریس* بیان شد، به‌طور قابل‌توجهی توسط یون‌های Co^{2+} فعال گردید (۱).

در مطالعه‌ای دیگر، یک کیتین دِاستیلاز از سویه‌ی *Bacillus aryabhattai* TCI-16 جداسازی شده از خاک جنگل‌های حرّا شناسایی شد. این آنزیم پس از کلونینگ ژن و بیان در *اشرشیا کلی* ، با وزن مولکولی ۲۸ کیلودالتون خالص سازی گردید. این آنزیم توانست درجه دِاستیلاسیون کیتین کلوئیدی را از ۲۵/۶۹٪ به ۶۹/۲۳٪ افزایش دهد و تغییرات ساختاری قابل توجهی مانند ایجاد سطح زبر و حفره دار را در کیتین القا کند. بررسی‌های طیف سنجی جرمی، فعالیت کامل دِاستیلاسیون آنزیم بر تترامر GlcNAc را تأیید کرد، در حالی که شبیه سازی‌های داکینگ مولکولی، وجود جایگاه فعال باز و تعاملات اختصاصی با سوبسترا

[1] *Penicillium monoverticillium*
[2] *Fusarium oxysporum*
[3] Solid state fermentation (SSF)
[4] Commercial wheat bran (CWB)
[5] *Aspergillus flavus*
[6] Response Surface Methodology, RSM
[7] *Aspergillus nidulans*
[8] *Escherichia coli*
[9] *Pichia pastoris*

را نشان دادند. این پژوهش گامی مهم در جهت بهره برداری صنعتی از کیتین داستیلازهای باکتریایی برای تولید کنترل شده‌ی کیتوسان با کیفیت بالا و درک مکانیسم‌های کاتالیز آنزیمی است (۲۳).

همچنین در مطالعه‌ای که اخیرا انجام شده است، یک کیتین دِاستیلاز سرمادوست از *شیوانلا سایکروفیلا*[1] WP2 با موفقیت در *اشرشیا کلی* بیان شد و برای تولید کیتوسان از کیتین به‌کار گرفته شد. آنزیم نوترکیب با وزن مولکولی ۶۰ کیلودالتون و فعالیت ویژه ۹۲ U/mg، در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد و pH معادل ۸ بهینه فعالیت داشت و حضور NaCl عملکرد آن را تقویت کرد. تبدیل کیتین به کیتوسان با بازده ۶۹/۲ درصد و درجه استیل زدایی ۷۸/۱ درصد پس از ۷۲ ساعت انجام شد. کیتوسان تولیدشده با وزن مولکولی ۲۲۴/۷ کیلودالتون و حلالیت ۷۳/۴ از طریق روش‌های FTIR و XRD تأیید ساختاری شد و فعالیت ضدقارچی قوی علیه *F. Oxysporum* در MIC معادل ۱/۵۶ mg/mL از طریق مکانیسم‌های تخریب غشا، نشت محتویات سلولی و القای استرس اکسیداتیو نشان داد. این پژوهش، پتانسیل این آنزیم را به عنوان گزینه‌ای امیدوارکننده برای تولید پایدار کیتوسان با کیفیت بالا برجسته می‌کند (۲۴).

بحث و نتیجه‌گیری

کیتین دِاستیلاز آنزیمی کلیدی است که با کاتالیز هیدرولیز گروه‌های استامیدو در واحدهای N- استیل-گلوکزآمین موجود در ساختار کیتین، تبدیل این پلیمر به کیتوسان (پلیمری مبتنی بر گلوکزآمین) را تسهیل می‌کند. دِاستیلاسیون آنزیمی کیتین توسط کیتین دِاستیلاز به عنوان یک فرآیند سازگار با محیط زیست و کنترل پذیر، جایگزینی امیدوارکننده برای روش‌های شیمیایی متداول است که امکان تولید کیتوسان با درجه دِاستیلاسیون یکنواخت، توزیع مولکولی محدود و همگنی ساختاری بالا را فراهم می‌سازد. این ویژگی‌ها، کیتوسان تولیدشده به روش آنزیمی را برای کاربردهای حساس در حوزه‌های پزشکی (مانند سیستم‌های رهایش هدفمند دارو) و نانوفناوری (سنتز نانوذرات کیتوسانی) ایده‌آل می‌کند.

مطالعات نشان می‌دهد که کیتین داستیلاز از منابع متنوعی نظیر قارچ‌های زیگومیست مانندگونه‌های *موکور*[2] و *ریزوپوس*[3] و غیرزیگومیست مانند *آسپرژیلوس نایجر*[4] و کلنی‌های باکتریایی جداسازی و خالص‌سازی شده است. تلاشهای اخیر در حوزه زیست فناوری مولکولی با تمرکز بر کلونینگ ژن‌های کدکننده کیتین داستیلاز در میزبان‌های بیانگر مانند *اشرشیا کلی* و *پیچیا پاستوریس* منجر به تولید نوترکیب این آنزیم با بازدهی بالا و پایداری حرارتی بهبودیافته شده است. همچنین، فناوری‌های تثبیت آنزیم روی نانوحامل‌های مغناطیسی و پلیمری، امکان استفاده مجدد از کیتین داستیلاز در چرخه‌های متعدد واکنش را فراهم کرده است. با این وجود، چالش‌هایی نظیر پایدارسازی فعالیت آنزیم در شرایط عملیاتی پیچیده مانند حضور بازدارنده‌ها و طراحی بیوراکتورهای مقرون به صرفه برای تولید پیوسته کیتوسان، نیازمند همکاری‌های بین رشته‌ای بین مهندسی پروتئین، علوم مواد و مهندسی فرآیند است. با توجه به الزامات جهانی برای کاهش ردپای کربن در صنایع شیمیایی، گذار به سمت تولید آنزیمی کیتوسان نه تنها همسو با اهداف اقتصاد چرخشی است، بلکه افق‌های جدیدی را برای توسعه‌ی فرآورده‌های زیست پزشکی نسل آینده با کیفیت استاندارد و تکرارپذیر می‌گشاید.

Refrances

1.Ghormade V, Kulkarni S, Doiphode N, Rajamohanan P, Deshpande M. Chitin deacetylase: a comprehensive account on its role in nature and its biotechnological applications. Current research, technology and education topics in applied microbiology and microbial biotechnology. 2010:1054-66. 10.3390/polym10040352.

2.Suresh P, Sakhare P, Sachindra N, Halami P. Extracellular chitin deacetylase production in solid state fermentation by native soil isolates of Penicillium monoverticillium and Fusarium oxysporum. Journal of food science and technology. 2014;51:1594-9.doi: 10.1007/s13197-012-0676-1

3.Narayanan K, Parameswaran B, Pandey A. Production of chitin deacetylase by Aspergillus flavus in submerged conditions. Preparative Biochemistry and Biotechnology. 2016;46(5):501-8. doi: 10.1080/10826068.2015.1084517

4.Gavhane Y, Gurav A, Yadav A. Chitosan and its applications: a review of literature. Int J Res Pharm Biomed Sci. 2013;4(1):312-31.

5.Costa E, Silva S, Madureira A, Cardelle-Cobas A, Tavaria F, Pintado M. A comprehensive study into the impact of a chitosan mouthwash upon oral microorganism's biofilm formation in vitro. Carbohydrate

[1] *Shewanella psychrophila*

[2] *Mucor* spp

[3] *Rhizopus*

[4] *Aspergillus niger*

polymers.014;101:10816. doi:10.1016/j.carbpol.2013.09.041
6.Raghavan N, Pathan EK. A comprehensive account of fungal chitin deacetylases: Aspects and prospects. International Journal of Biological Macromolecules. 2025:142705.doi: 10.1016/j.ijbiomac.2025.142705.
7.De Carvalho M, Stamford TCM, Dos Santos E, Tenorio P, Sampaio F. Chitosan as an oral antimicrobial agent. Formatex. 2011;2012(1):13.
8.Heidari A, Younesi H, Mehraban Z, Heikkinen H. Selective adsorption of Pb (II), Cd (II), and Ni (II) ions from aqueous solution using chitosan–MAA nanoparticles. International journal of biological macromolecules. 2013;61:251-63. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2013.06.032.
9. Ravikumar M, Perinbam K. Production, optimization and characterization of chitin deacetylase from marine bacteria Bacillus cereus TK19. J Acad Indus Res. 2016;5:72-6..
10.Qi L, Xu Z, Jiang X, Hu C, Zou X. Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles. Carbohydrate research. 2004;339(16):2693-700. doi:10.1016/j.carres.2004.09.007
11.Aliasghari A, Khorasgani MR, Vaezifar S, Rahimi F, Younesi H, Khoroushi M. Evaluation of antibacterial efficiency of chitosan and chitosan nanoparticles on cariogenic streptococci: An in vitro study. Iranian journal of microbiology. 2016;8(2):93. PMCID: PMC4906725.
12.Jaworska MM, Roberts GA. The influence of chitin structure on its enzymatic deacetylation. Chemical and Process Engineering. 2016:261-7--7.
13.Wang Y, Song J-Z, Yang Q, Liu Z-H, Huang X-M, Chen Y. Cloning of a heat-stable chitin deacetylase gene from Aspergillus nidulans and its functional expression in Escherichia coli. Applied biochemistry and biotechnology. 2010;162:843-54. doi: 10.1007/s12010-009-8772-z.
14.Zhao Y, Park R-D, Muzzarelli RA. Chitin deacetylases: properties and applications. Marine drugs. 2010;8(1):24-46. doi: 10.3390/md8010024.
15.Liang B, Song W, Xing R, Liu S, Yu H, Li P. The source, activity influencing factors and biological activities for future development of chitin deacetylase. Carbohydrate Polymers. 2023;321:121335. doi: 10.1016/j.carbpol.2023.121335
16.Tokuyasu K, Kaneko S, Hayashi K, Mori Y. Production of a recombinant chitin deacetylase in the culture medium of Escherichia coli cells. FEBS letters. 16-23:(1)458;999. doi: 10.1016/s0014-5793(99)01113-8.
17.Caufrier F, Martinou A, Dupont C, Bouriotis V. Carbohydrate esterase family 4 enzymes: substrate specificity. Carbohydrate research. 2003;338(7):687-92. doi: 10.1016/s0008-6215(03)00002-8.
18.Liu Z, Gay LM, Tuveng TR, Agger JW, Westereng B, Mathiesen G, et al. Structure and function of a broad-specificity chitin deacetylase from Aspergillus nidulans FGSC A4. Scientific reports. 2017;7(1):1746. doi: 10.1038/s41598-017-02043-1
19.Kashyap SR, Garg N. Isolation, Production, Quantitative assay and Optimization of Chitin deacetylase from Yeast. Schol Acad J Biosc. 2011;2(1):43-7.
20.Pareek N, Vivekanand V, Agarwal P, Saroj S, Singh RP. Bioconversion to chitosan: A two stage process employing chitin deacetylase from Penicillium oxalicum SAEM-51. Carbohydrate polymers. 2013;96(2):417-25. doi: 10.1016/j.carbpol.2013.04.005.
21.Jaworska MM, Bryjak J, Liesiene J. A search of an optimal carrier for immobilization of chitin deacetylase. Cellulose. 2009;16:261-70.
22.Das P, Das M, Sahoo SK, Dandapat J, Pradhan J. Characterization of extracellular chitin deacetylase from Aneurinibacillus aneurinilyticus isolated from marine crustacean shell. Current Research in Microbial Sciences. 2025;8:100325. doi: 10.1016/j.crmicr.2024.100325.
23.Li K, Liang Y, Fang J, Peng J, Tan M. Chitin deacetylase from bacillus aryabhattai TCI-16: heterologous expression, characterization, and deacetylation performance. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2024;72(16):9268-78. doi:10.1021/acs.jafc.4c00321
24.Abd El-Ghany MN, Hamdi SA, Zahran AK, Abou-Taleb MA, Heikel AM, Abou El-Kheir MT, et al. Characterization of novel cold-active chitin deacetylase for green production of bioactive chitosan. AMB Express. 2025;15(1):5. doi: 10.1186/s13568-024-01804-2.