Review article

THAI BULLETIN OF PHARMACEUTICAL SCIENCES
ISSN 2985-2358 (online)

คาร์บอนดอตสำหรับการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยกลไกการบำบัดด้วยแสง

กรณัฐ เดชศรี[1], ผดุงขวัญ จิตโรภาส[2], ประเสริฐ อัครมงคลพร[1], สุภัสสร เพ็งนาม[3], ปราณีต โอปณะโสภิต[1,*]

[1] สาขาเภสัชกรรมอุตสาหการ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ นครปฐม

[2] สาขาวิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น

[3] สาขาชีวการแพทย์และสารสนเทศศาสตร์ทางสุขภาพ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ นครปฐม

[*] ติดต่อผู้นิพนธ์: opanasopit_p@su.ac.th

บทคัดย่อ

โรคติดเชื้อเป็นปัญหาสำคัญต่อระบบสาธารณสุขของประเทศไทยและทั่วโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งปัญหาการดื้อยาปฏิชีวนะสำหรับการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ปัจจุบันมีการนำอนุภาคนาโนเข้ามาประยุกต์ใช้สำหรับการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย รวมทั้งสามารถเพิ่มฤทธิ์ผ่านการกระตุ้นด้วยแสง เนื่องจากเป็นอนุภาคที่ไม่ทำให้เซลล์หรือเนื้อเยื่อปกติได้รับความเสียหาย มีความเป็นพิษต่ำ อีกทั้งยังไม่ก่อให้เกิดการดื้อยาหรือช่วยลดผลข้างเคียงจากการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะแบบดั้งเดิม บทความนี้กล่าวถึงคาร์บอนดอต ซึ่งเป็นหนึ่งในอนุภาคระดับนาโนหรือนาโนพาร์ทิเคิลที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และมีข้อดีเหนือกว่านาโนพาร์ทิเคิลชนิดอื่น คือ มีสมบัติเชิงแสงที่โดดเด่น สามารถเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์และสามารถดูดกลืนแสงในช่วงอัลตราไวโอเลตและช่วงวิสิเบิลได้ ซึ่งเป็นสมบัติสำคัญสำหรับการบำบัดด้วยแสง อีกทั้งยังสามารถเข้ากับเซลล์สิ่งมีชีวิตได้ดี มีความเป็นพิษต่ำ กระจายตัวได้ดีในน้ำ สังเคราะห์ง่าย รวดเร็ว มีเสถียรภาพสูง และสามารถเติมหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวได้ บทความนี้ได้รวบรวมข้อมูลทั่วไป วิธีการสังเคราะห์ กลไกการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และหลักการเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเมื่อกระตุ้นด้วยแสงของคาร์บอนดอต

คำสำคัญ: การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย, คาร์บอนดอต, นาโนพาร์ทิเคิล, การบำบัดด้วยแสง

รับต้นฉบับ: 30 ตุลาคม 2567; แก้ไข: 28 พฤศจิกายน 2567; ตอบรับตีพิมพ์: 29 พฤศจิกายน 2567

CARBON DOTS FOR ANTIBACTERIAL PHOTOTHERAPY

Koranat Dechsri[1], Padungkwan Chitropas[2], Prasert Akkaramongkolporn[1], Supusson Pengnam[3], Praneet Opanasopit[1,*]

[1] Department of Industrial Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Sanamchandra Palace Campus, Nakorn Pathom

[2] Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmaceutical Science, Khon Kaen University, Khon Kaen

[3] Department of Biomedicine and Health Informatics, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Sanamchandra Palace Campus, Nakhon Pathom

[*] Corresponding author: opanasopit_p@su.ac.th

ABSTRACT

Infectious diseases are a significant concern for public health systems in Thailand and worldwide, especially the issue of antibiotic resistance in inhibiting bacterial growth. At present, nanoparticles are being applied as antibacterial agents because they can enhance efficacy through photo-stimulation, are non-damaging to normal cells or tissues, have low toxicity, and do not contribute to drug resistance. Additionally, they help reduce side effects compared to traditional antibiotic treatment methods. Carbon dots are one of the nanoparticles that can be applied as antibacterial agents. They have advantages over other types of nanoparticles, including their unique optical properties, fluorescence characteristics, absorption of light in both ultraviolet and visible ranges, and crucial characteristics for phototherapy. Moreover, they show biocompatibility, low toxicity, water dispersion, ease of synthesis, rapid stability, and capability of functionalization on the surface. This article compiles general information, synthesis methods, mechanisms of bacterial inhibition, and principles of antibacterial activity enhancement by antimicrobial phototherapy of carbon dots.

Keywords: antibacterial activity, carbon dots, nanoparticles, phototherapy

Received: 30 October 2024; Revised: 28 November 2024; Accepted: 29 November 2024

บทนำ

โรคติดเชื้อเป็นปัญหาสำคัญต่อระบบสาธารณสุขของประเทศไทยและทั่วโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งปัญหาการดื้อยาปฏิชีวนะ ความหลากหลายของเชื้อแบคทีเรียสามารถทำให้เกิดโรคและการกลายพันธุ์อย่างรวดเร็ว ปัญหาดังกล่าวจึงนำไปสู่ความท้าทายเป็นอย่างมากสำหรับสายงานทางด้านการวิจัยและพัฒนาเพื่อแก้ไขปัญหาของระบบสาธารณสุขด้านการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรีย ในช่วงหลายปีที่ผ่านมาแม้ว่ายังคงมีการพัฒนายาปฏิชีวนะชนิดใหม่ แต่ความเร็วของการพัฒนาจะช้ากว่าความเร็วของการกลายพันธุ์ในเชื้อแบคทีเรียที่อาจทำให้เกิดโรคได้ จึงมีความจำเป็นอย่างเร่งด่วนที่จะต้องค้นคว้าและวิจัยเพื่อพัฒนาการรักษารูปแบบใหม่ ดังนั้น ความจำเป็นในการค้นคว้าและพัฒนาวิธีการรักษาใหม่ จึงมีความเร่งด่วน เพื่อรับมือกับการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรีย อย่างไรก็ตาม การวิจัยทางการแพทย์ การส่งเสริมการใช้ยาอย่างเหมาะสม และการสร้างความตระหนักรู้ในชุมชน จะช่วยลดผลกระทบของโรคติดเชื้อและป้องกันการเกิดวิกฤติทางสุขภาพในอนาคต

การรักษาการติดเชื้อแบคทีเรียมีหลายวิธีที่ใช้ในการจัดการและควบคุมการติดเชื้อ ยกตัวอย่างเช่น 1) การใช้ยาปฏิชีวนะ โดยยาปฏิชีวนะเป็นการรักษาหลักสำหรับโรคติดเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งยาดังกล่าวมีหลายประเภทที่สามารถใช้ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ เช่น เพนิซิลลิน เซฟาโลสปอริน และแมคโครไลด์ เป็นต้น 2) การให้สารน้ำและการสนับสนุนทางโภชนาการในกรณีที่มีอาการรุนแรง เช่น การติดเชื้อในกระแสเลือด อาจต้องให้สารน้ำและสารอาหารเพื่อช่วยฟื้นฟูร่างกาย 3) การผ่าตัดในบางกรณี เช่น เมื่อมีการเกิดหนองหรือเนื้อตาย การผ่าตัดอาจจำเป็นเพื่อนำเอาเนื้อที่ติดเชื้อออก และ 4) การรักษาเชิงพิเศษ เช่นการใช้เซลล์ภูมิคุ้มกันจากผู้บริจาคหรือการใช้เซลล์ต้นกำเนิดเพื่อช่วยต่อสู้กับการติดเชื้อ ปัจจุบันนาโนเทคโนโลยีเข้ามามีบทบาทสำคัญในการรักษาการติดเชื้อแบคทีเรียในหลายด้าน เช่น นาโนพาร์ทิเคิลสามารถใช้เป็นพาหะในการส่งยาปฏิชีวนะไปยังตำแหน่งที่ติดเชื้ออย่างมีประสิทธิภาพ ช่วยลดผลข้างเคียงที่เกิดจากยาและเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษา อีกทั้งยังมีคุณสมบัติยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ จึงสามารถช่วยลดการติดเชื้อในแผลหรือพื้นผิวต่าง ๆ ได้ ดังนั้น การนำเสนอแนวทางการรักษาใหม่ ผ่านการประยุกต์ใช้นาโนเทคโนโลยีจึงเป็นการเพิ่มความหวังในการพัฒนาการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียในยุคที่มีปัญหาการดื้อยาได้เป็นอย่างดี

ในช่วงหลายทศวรรษที่ผ่านมา นาโนเทคโนโลยี (nanotechnology) เป็นศาสตร์ที่ได้รับความนิยม ทำให้มีการมุ่งเน้นศึกษาและพัฒนากันอย่างแพร่หลาย หน่วยงานด้านนาโนเทคโนโลยีในสหรัฐอเมริกาหรือสถาบันนาโนเทคโนโลยี (national nanotechnology initiative หรือ NNI) ได้กำหนดนิยามของนาโนเทคโนโลยีไว้ 3 ประการ “1) นาโนเทคโนโลยีเป็นการพัฒนาการวิจัยทางเทคโนโลยีในระดับอะตอมหรือโมเลกุลที่มีขนาด 1-100 นาโนเมตร 2) นาโนเทคโนโลยีเป็นการสร้างและการใช้โครงสร้างอุปกรณ์และระบบที่มีคุณสมบัติใหม่และมีหน้าที่แบบใหม่เพราะมีขนาดเล็ก 3) นาโนเทคโนโลยีมีความสามารถในการควบคุมสสารในระดับอะตอมหรือโมเลกุล” จากนั้นสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) ได้กำหนดนิยามของนาโนเทคโนโลยีไว้ว่า “นาโนเทคโนโลยี เป็นเทคโนโลยีประยุกต์ซึ่งเกี่ยวข้องกับการจัดการ การสร้าง การสังเคราะห์วัสดุหรืออุปกรณ์ในระดับของอะตอม โมเลกุลหรือชิ้นส่วนที่มีขนาดเล็กในช่วง 1 ถึง 100 นาโนเมตร ซึ่งส่งผลให้วัสดุหรืออุปกรณ์ต่าง ๆ มีหน้าที่ใหม่ ๆ และมีสมบัติที่พิเศษขึ้นทั้งทางด้านกายภาพ เคมี และชีวภาพ ทำให้มีประโยชน์ต่อผู้ใช้และเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจได้” นาโนเทคโนโลยีจึงกลายเป็นวิทยาศาสตร์สาขาหนึ่งที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดทั้งทางด้านการแพทย์ เทคโนโลยี และนวัตกรรมในแขนงต่าง ๆ

ปัจจุบันงานทางด้านเภสัชศาสตร์เป็นศาสตร์หนึ่งที่ได้นำระบบนาโนเทคโนโลยีมาประยุกต์ใช้เพื่อแก้ไขปัญหา

ทางการแพทย์หรือที่เรียกว่าการแพทย์นาโน (nanomedicine) โดยเริ่มต้นจากการพัฒนาวัสดุนาโน (nanomaterials) ช่วงหลายปีที่ผ่านมาวัสดุนาโนหลายชนิดได้รับความนิยมและพัฒนาขึ้นอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งการพัฒนาอนุภาคระดับนาโน หรือนาโนพาร์ทิเคิล (nanoparticles หรือ NPs) ปัจจุบันมีการรายงานอย่างแพร่หลายถึงประโยชน์ของนาโนพาร์ทิเคิลสามารถนำนาโนพาร์ทิเคิลมาประยุกต์ใช้เพื่อเป็นตัวพาสำหรับนำส่งยา นอกจากนี้นาโนพาร์ทิเคิลเองมีสมบัติที่สามารถใช้เป็นตัวยับยั้งหรือฆ่าเซลล์มะเร็ง มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและสามารถเพิ่มฤทธิ์ให้ดียิ่งขึ้นได้โดยผ่านการฉายแสงหรือกระตุ้นด้วยแสง ยกตัวอย่างเช่น อนุภาคนาโนโลหะเงิน (silver nanoparticles หรือ AgNPs) อนุภาคนาโนทองคำ (gold nanoparticles หรือ AuNPs) ไทเทเนียมไดออกไซด์ (titanium dioxide หรือ TiO_2) ไบโอพอลิเมอร์อนุภาคนาโนแมกนีไทต์ (magnetite nanoparticles หรือ Fe_3O_4 NPs) ซิงค์ออกไซด์นาโน (ZnO NPs) และคาร์บอนดอต (carbon dots หรือ CDs) เป็นต้น[1]

คาร์บอนดอต ชื่ออื่น ๆ เช่น คาร์บอนควอนตัมดอต (carbon quantum dots หรือ CQDs) คาร์บอนนาโนดอต (carbon nanodot) เป็นวัสดุนาโนคาร์บอนที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคอยู่ในช่วง 1-10 นาโนเมตร อย่างไรก็ตาม หากเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคที่สังเคราะห์ได้มีขนาดใหญ่กว่า 10 นาโนเมตร แต่ยังอยู่ในช่วง 10-100 นาโนเมตร ยังคงคุณสมบัติเช่นเดียวกับคาร์บอนดอต และสามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้ ให้ถือว่ายังเป็นขนาดของอนุภาคคาร์บอนดอตที่ยอมรับได้[2] ค้นพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 2004 โดย Xu และคณะ เกิดขึ้นจากผลิตภัณฑ์ข้างเคียงระหว่างกระบวนการสังเคราะห์ท่อนาโนคาร์บอน และเมื่อนำผลิตภัณฑ์ข้างเคียงดังกล่าวไปถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่ามีลักษณะเป็นอนุภาคขนาด 0.6-1.4 นาโนเมตร[3] ปัจจุบันคาร์บอนดอตมีความสำคัญและได้รับความสนใจเป็นอย่างมากทางด้านการแพทย์และชีวภาพ เนื่องจากเป็นคาร์บอนนาโนพาร์ทิเคิลที่มีความเป็นพิษต่ำ สามารถเข้ากับเซลล์ของสิ่งมีชีวิตได้ สามารถกระจายตัวได้ดีในน้ำ สามารถสังเคราะห์ได้สะดวก รวดเร็ว และมีเสถียรภาพสูง[4] คาร์บอนดอตจัดเป็นหนึ่งในคาร์บอนนาโนพาร์ทิเคิล มีลักษณะที่โดดเด่นเมื่อเทียบกับคาร์บอนนาโนพาร์ทิเคิลชนิดอื่น ๆ คือสามารถวาวแสงหรือฟลูออเรสเซนต์ได้ แต่คาร์บอนนาโนพาร์ทิเคิลอาจจะมีคุณสมบัติการวาวแสงหรือไม่ก็ได้ เนื่องจากมีคาร์บอนนาโนพาร์ทิเคิลกลุ่มอื่นที่นอกเหนือจากคาร์บอนดอต เพียงแต่จัดเป็นอนุภาคนาโนที่สังเคราะห์โดยการใช้สารประกอบคาร์บอนเป็นสารตั้งต้นเหมือนกัน[5] จากข้อดีที่กล่าวมานี้ส่งผลให้คาร์บอนดอตเป็นวัสดุนาโนที่ได้รับความสนใจ และนำมาประยุกต์ใช้ทางด้านการแพทย์อย่างแพร่หลายในช่วงหลายปีที่ผ่านมา เช่น นำมาประยุกต์ใช้ในการถ่ายภาพทางชีวภาพ ใช้เป็นเซ็นเซอร์ตรวจวัดสารทางชีวภาพ ประยุกต์ใช้ในการพัฒนาระบบนำส่งยาหรือสารพันธุกรรม รวมทั้งสามารถใช้เป็นตัวกลางสำหรับการออกฤทธิ์เพื่อยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ นอกจากนี้คาร์บอนดอตยังมีข้อดี คือ สามารถดูดกลืนแสงในช่วงอัลตราไวโอเลตและช่วงวิสิเบิล (180–800 นาโนเมตร) อย่างไรก็ตามหากคาร์บอนดอตที่สังเคราะห์ขึ้นสามารถดูดกลืนแสงได้ในช่วงเนียร์อินฟาเรด (near-infrared หรือ NIR) จะส่งผลให้คาร์บอนดอตสามารถเพิ่มการออกฤทธิ์เพื่อยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้มากขึ้นผ่านการบำบัดด้วยแสง[6] จากข้อดีที่กล่าวมานี้ส่งผลให้คาร์บอนดอตเป็นวัสดุนาโนที่ได้รับความสนใจ จึงถือเป็นแนวโน้มที่ดีในการนำมาพัฒนาเพื่อใช้เป็นสารออกฤทธิ์สำหรับยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้[7]

การสังเคราะห์คาร์บอนดอต

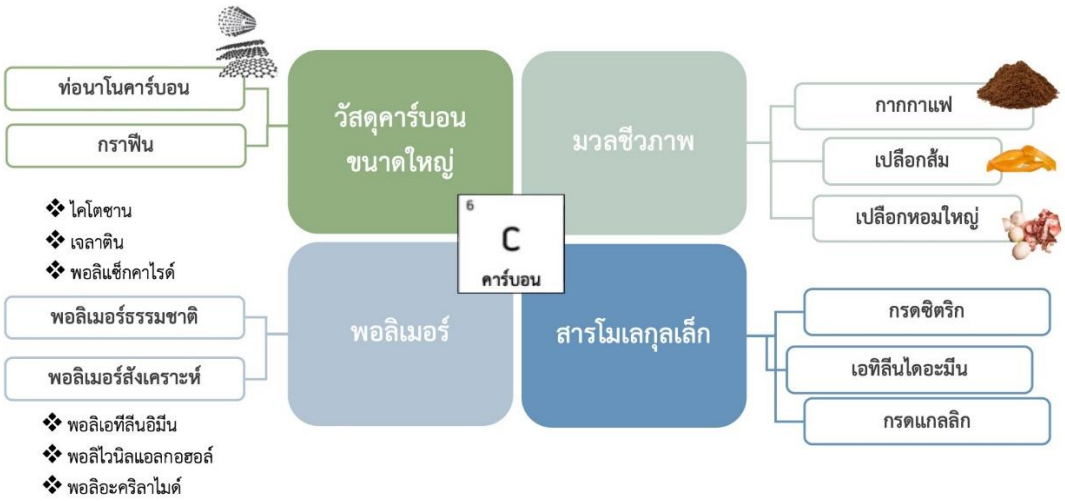
คาร์บอนดอตสามารถสังเคราะห์ได้จากสารตั้งต้นที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบ โดยสามารถจำแนกออกเป็น 4 ประเภท ดังนี้ 1) วัสดุคาร์บอนขนาดใหญ่ (bulk carbon materials) 2) พอลิเมอร์ (polymers) 3) มวลชีวภาพหรือชีวมวล (biomass) และ 4) สารโมเลกุลเล็ก (small molecules) แสดงดังรูปที่ 1 คาร์บอนดอตที่สังเคราะห์จากแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันจะส่งผลให้คุณสมบัติของ

คาร์บอนดอตแตกต่างกันออกไป นอกจากสารตั้งต้นแล้วยังมีปัจจัยอื่นที่ส่งผลต่อคุณสมบัติของคาร์บอนดอต ยกตัวอย่างเช่น กระบวนการสังเคราะห์ซึ่งสามารถจำแนกได้ตามเทคโนโลยี ความเข้มข้นของสารตั้งต้น อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ รวมถึงสารละลายที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์เป็นต้น[8-11] ดังนั้นการทำความเข้าใจถึงกระบวนการและปัจจัยต่าง ๆ ที่ส่งผลต่อกระบวนการสังเคราะห์ ถือเป็นสิ่งสำคัญเพื่อให้ได้คาร์บอนดอตที่มีคุณลักษณะตรงตามวัตถุประสงค์กับการใช้งานมากที่สุดและเมื่อกระบวนการสังเคราะห์คาร์บอนดอตเสร็จสิ้น โครงสร้างและสมบัติเชิงทัศนศาสตร์ของคาร์บอนดอตจะตรวจสอบโดยอาศัยเทคนิคต่าง ๆ ตั้งแต่ การตรวจสอบขนาดของอนุภาค (particle size) ความต่างศักย์ไฟฟ้าบนผิวของคาร์บอนดอต (zeta potential) อัลตราไวโอเลต-วิสิเบิลสเปกโทรสโคปี (ultraviolet-visible spectroscopy หรือ UV- Vis) โฟโตลูมิเนสเซนต์สเปกโทรสโคปี (photoluminescence spectroscopy หรือ PL) ฟูเรียร์ทรานสฟอร์ม-อินฟราเรด (fourier transform infrared spectroscopy หรือ FTIR) เอกซเรย์ดิฟแฟรกชัน (x-ray powder diffraction หรือ XPD) รามานสเปกโทรสโคปี (raman spectroscopy) นอกจากนี้ยังมีการวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์ควอนตัมยิลด์ (fluorescence quantum yield) ของคาร์บอนดอตด้วย[12]

กระบวนการสังเคราะห์คาร์บอนดอตถือเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อคุณสมบัติของคาร์บอนดอต โดยสามารถจำแนกตามเทคโนโลยีที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ได้ 2 เทคโนโลยี คือ เทคโนโลยีแบบบนลงล่าง (top-down technology) และเทคโนโลยีจากล่างสู่บน (bottom-up technology)

เทคโนโลยีจากบนลงล่าง

การสังเคราะห์คาร์บอนดอตโดยอาศัยเทคโนโลยีจากบนลงล่าง จะอาศัยการย่อยวัสดุคาร์บอนที่มีขนาดใหญ่ให้เล็กลงด้วยกระบวนการที่สามารถทำลายพันธะระหว่างคาร์บอนได้ โดยวัสดุคาร์บอนที่นิยมใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์คาร์บอนดอตด้วยเทคโนโลยีจากบนลงล่าง คือ วัสดุคาร์บอนขนาดใหญ่ ได้แก่ ฟูลเลอรีน (fullerene) ท่อนาโนคาร์บอน (carbon nanotubes หรือ CNTs) กราฟีน (graphene) หรือเส้นใยนาโนคาร์บอน (carbon nanofibers หรือ CNFs) โดยจะอาศัยกระบวนการต่าง ๆ เช่น อาร์คดิสชาร์จ (arc discharge method) เลเซอร์ แอบเลชัน (laser ablation method) หรือ กระบวนการไฟฟ้าเคมี/การเกิดออกซิเดชันทางเคมี (electrochemical/chemical oxidation method) เป็นต้น ซึ่งแต่ละวิธีที่ใช้ในการสังเคราะห์คาร์บอนดอตมีข้อดีและข้อจำกัดที่แตกต่างกัน



รูปที่ 1 การจำแนกประเภทของสารตั้งต้นที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบ

เทคโนโลยีจากล่างสู่บน

การสังเคราะห์คาร์บอนดอตโดยอาศัยเทคโนโลยีจากล่างสู่บน เป็นการสังเคราะห์จากสารตั้งต้นที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก โดยคาดว่าเกิดผ่านกระบวนการคาร์บอไนเซชัน (carbonization) จนโมเลกุลรวมตัวกันเป็นคาร์บอนดอต งานวิจัยส่วนใหญ่รายงานว่าการสังเคราะห์คาร์บอนดอตด้วยเทคโนโลยีจากล่างสู่บนมีข้อได้เปรียบมากกว่าเทคโนโลยีจากบนลงล่าง เนื่องจากเป็นเทคโนโลยีที่ทำได้ง่าย รวดเร็ว เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และคาร์บอนดอตที่สังเคราะห์ได้ สามารถนำไปดัดแปลงและพัฒนาพื้นผิวก่อนจะนำไปประยุกต์ใช้ได้ง่ายกว่า นอกจากนี้ เมื่อทำการเปรียบเทียบคาร์บอนดอตที่สังเคราะห์จากสารตั้งต้นชนิดเดียวกัน แต่ใช้กระบวนการสังเคราะห์แตกต่างกัน พบว่าให้คาร์บอนดอตที่มีขนาดของอนุภาคและการวาวแสงที่แตกต่างกัน และคาร์บอนดอตที่สังเคราะห์จากเทคโนโลยีแบบล่างสู่บนให้การวาวแสงมากที่สุดเมื่อกระตุ้นด้วยความยาวคลื่นที่แตกต่างกัน อีกทั้งวัสดุคาร์บอนที่ใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์คาร์บอนดอตด้วยเทคโนโลยีจากล่างสู่บนจะหาได้ง่าย ยกตัวอย่างเช่น สารโมเลกุลเล็ก วัสดุธรรมชาติ วัสดุเหลือทิ้ง หรืออาจจะใช้พอลิเมอร์สังเคราะห์เป็นต้น ทั้งนี้ สิ่งสำคัญคือสารตั้งต้นควรมีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบหลัก โดยจะอาศัยกระบวนการต่าง ๆ เช่น วิธีการสลายตัวด้วยความร้อน (thermal decomposition) วิธีการใช้ความร้อนชื้น (hydrothermal treatment) วิธีไพโรลิซิส (pyrolysis) วิธีโซลโวเธอร์มอล (solvothermal) รวมทั้งวิธีการสังเคราะห์ด้วยไมโครเวฟ (microwave synthesis) เป็นต้น ซึ่งแต่ละวิธีที่ใช้ในการสังเคราะห์คาร์บอนดอตมีข้อดีและข้อจำกัดที่แตกต่างกัน[13]

สารตั้งต้นในการสังเคราะห์คาร์บอนดอต

สารตั้งต้นที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบสามารถจำแนกออกได้หลายประเภท ดังแสดงรูปที่ 1 การเลือกใช้สารตั้งต้นจะขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์การประยุกต์ใช้งานของคาร์บอนดอต เนื่องจากสารตั้งต้นแต่ละชนิดจะมีหมู่ฟังก์ชันที่แตกต่างกันออกไป ซึ่งจะส่งผลต่อคุณสมบัติของคาร์บอนดอต

ประเภทที่ 1 คาร์บอนดอตที่สังเคราะห์จากวัสดุคาร์บอนขนาดใหญ่

โดยทั่วไปสารตั้งต้นประเภทนี้จะเหมาะกับการสังเคราะห์โดยอาศัยเทคโนโลยีจากบนลงล่าง จึงจำเป็นต้องนำวัสดุคาร์บอนที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่กว่าคาร์บอนดอตมาเป็นสารตั้งต้น โดยทำการย่อยให้มีขนาดเล็กลงจนกลายเป็นคาร์บอนดอตด้วยวิธีที่กล่าวไปแล้วในข้างต้น โดยทั่วไปสารตั้งต้นประเภทนี้จะมีแค่ธาตุคาร์บอนเป็นองค์ประกอบหลัก ไม่มีธาตุหรือหมู่ฟังก์ชันอื่นเป็นองค์ประกอบ จึงไม่ค่อยนิยมนำไปใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์เนื่องจากประยุกต์ใช้หรือปรับหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวได้ยาก อีกทั้งเทคโนโลยีจากบนลงล่างมักให้ผลผลิตและควอนตัมยิลด์ต่ำ ไม่สามารถผลิตได้ในปริมาณมาก ทำให้ไม่เป็นที่นิยมเหมือนเทคโนโลยีจากล่างสู่บน[14]

ประเภทที่ 2 คาร์บอนดอตที่สังเคราะห์จากมวลชีวภาพ

โดยทั่วไปสารตั้งต้นประเภทนี้จะทำนายหมู่ฟังก์ชันหรือประจุบนพื้นผิวได้ค่อนข้างน้อย เนื่องจากไม่สามารถทำนายองค์ประกอบหลักของมวลชีวภาพได้เหมือนกับการใช้สารเคมีที่มีสูตรโครงสร้างที่แน่นอน แต่อย่างไรก็ตาม มีการนำมวลชีวภาพมาประยุกต์ใช้เป็นสารตั้งต้นอย่างแพร่หลาย โดยส่วนใหญ่แล้วจะนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์จากการวาวแสงของคาร์บอนดอต ด้านการถ่ายภาพทางชีวภาพ ด้านการตรวจวัดโลหะหนัก รวมทั้งด้านการตรวจวัดสารปฏิชีวนะได้ อีกทั้งหากต้องการนำไปประยุกต์ใช้ทางการแพทย์ด้านอื่น ๆ อาจมีความจำเป็นที่จะต้องตรวจสอบคุณสมบัติของคาร์บอนดอตเพิ่มเติมก่อน จากงานวิจัยของ Zhou และคณะ (2012) นำเปลือกแตงโมมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์คาร์บอนดอตด้วยวิธีไพโรลิซิส จากนั้นถูกนำมาประยุกต์ใช้เพื่อการ

ถ่ายภาพทางชีวภาพโดยอาศัยสมบัติการวาวแสงของอนุภาคคาร์บอนดอต[15] งานวิจัยของ Tan และคณะ (2014) นำเศษแป้งสาคูมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์คาร์บอนดอตด้วยวิธีไพโรลิซิส จากนั้นถูกนำมาประยุกต์ใช้เพื่อการตรวจสอบโลหะหนัก โดยคาร์บอนดอตจะวาวแสงลดลงเมื่อสัมผัสกับโลหะหนัก[16] เช่นเดียวงานวิจัยของ Akhgari และ คณะ (2017) ได้นำทับทิมมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์คาร์บอนดอตด้วยวิธีการใช้ความร้อนชื้น จากนั้นถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดสารปฏิชีวนะเซฟาเลกซิน (cephalexin) ในน้ำปัสสาวะของมนุษย์ ในน้ำนมโคหรือนมสด โดยคาร์บอนดอตจะวาวแสงลดลงเมื่อสัมผัสกับสารปฏิชีวนะเซฟาเลกซิน[17]

ประเภทที่ 3 คาร์บอนดอตที่สังเคราะห์จากพอลิเมอร์

โดยทั่วไปพอลิเมอร์ที่นำมาประยุกต์ใช้เป็นสารตั้งต้นของคาร์บอนดอต จะนิยมใช้ทั้งพอลิเมอร์แบบธรรมชาติและพอลิเมอร์สังเคราะห์ นอกจากการประยุกต์ใช้เป็นสารตั้งต้นแล้วพอลิเมอร์ยังถูกนำมาประยุกต์ ใช้เพื่อการปรับเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิว (surface modification) ของคาร์บอนดอตได้อีกด้วย สำหรับพอลิเมอร์สังเคราะห์ จากงานวิจัยของ Pierrat และคณะ (2015) ได้นำพอลิเอทิลเลนิมีนมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์คาร์บอนดอตด้วยวิธีไมโครเวฟ และนำมาประยุกต์ใช้ในการนำส่งสารพันธุกรรม[18] และจากงานวิจัยของ Chen และคณะ (2016) ได้นำลิกนินซึ่งเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์คาร์บอนดอตด้วยวิธีการใช้ความร้อนชื้น จากนั้นถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการถ่ายภาพทางชีวภาพ[19] และจากงานวิจัยของ Sun และคณะ (2021) ได้นำไคโตซานมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์คาร์บอนดอตด้วยวิธีการใช้ความร้อนชื้น จากนั้นถูกนำมาประยุกต์ใช้เพื่อตรวจวัดปริมาณไนไตรต์ไอออน (NO_2^-) และประยุกต์ใช้เพื่อการถ่ายภาพเชื้อเอสเชอริเชีย โคไล (*Escherichia coli* หรือ *E. Coli*)[20]

ประเภทที่ 4 คาร์บอนดอตที่สังเคราะห์จากสารโมเลกุลเล็ก

สำหรับสารโมเลกุลเล็ก เป็นที่นิยมเป็นอย่างมากสำหรับการนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นเพื่อสังเคราะห์คาร์บอนดอต เนื่องจากเป็นโมเลกุลที่มีสูตรโครงสร้างแน่นอน ทำให้สามารถทำนายหมู่ฟังก์ชันที่จะเกิดขึ้นบนพื้นผิวของคาร์บอนดอตได้ อีกทั้งยังสามารถวางแผนเพื่อทำการปรับเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวของคาร์บอนดอตได้อีกด้วย ทำให้ง่ายต่อการนำมาประยุกต์ใช้ในอนาคต จากงานวิจัยของ Duan และคณะ (2019) ได้นำกรดซิตริก (citric acid) และยูเรีย (urea) มาใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์คาร์บอนดอตด้วยวิธีการใช้ความร้อนจากไมโครเวฟ และนำประยุกต์ใช้เพื่อการนำส่งยาโดยอาศัยประจุบนพื้นผิวของคาร์บอนดอต[21] จากงานวิจัยของ Chahal และคณะ (2020) ได้นำกรดซิตริกและฟีนิลอะลานีน (phenylalanine) มาใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์คาร์บอนดอตด้วยวิธีการใช้ความร้อนชื้น จากนั้นนำคาร์บอนดอตที่สังเคราะห์ได้มาประยุกต์ใช้เพื่อตรวจสอบโลหะหนักโดยอาศัยการเรืองแสงของคาร์บอนดอต[22] และจากงานวิจัยของ Qu และคณะ (2023) ได้นำพาราฟินิลีนไดอะมีน (*p*-phenylenediamine) มาใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์คาร์บอนดอตด้วยวิธีการใช้ความร้อนชื้นโดยอาศัยตัวทำละลายที่ไม่ใช่น้ำ จากนั้นนำคาร์บอนดอตที่สังเคราะห์ได้มาประยุกต์ใช้เป็นตัวกลางเพื่อออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยอาศัยการบำบัดด้วยแสงโดยการเหนี่ยวนำให้เกิดสารอนุมูลอิสระ[23]

ดังนั้น การทำความเข้าใจเกี่ยวกับกระบวนการสังเคราะห์และการเลือกใช้สารตั้งต้นถือเป็นสิ่งสำคัญเพื่อให้ได้คาร์บอนดอตที่มีคุณลักษณะตรงตามวัตถุประสงค์กับการใช้งาน รวมทั้งเพื่อพัฒนาให้คาร์บอนดอตมีประสิทธิภาพสำหรับการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียหรือสามารถเพิ่มฤทธิ์ได้ผ่านกลไกการบำบัดด้วยแสง

การออกแบบคาร์บอนดอตเพื่อใช้สำหรับการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

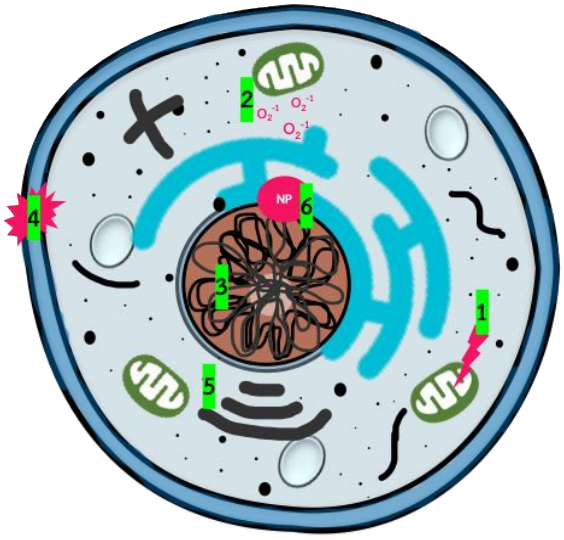
ปัจจุบันคาร์บอนดอตสามารถสังเคราะห์ได้จากสารตั้งต้นที่หลากหลายตามที่กล่าวถึงข้างต้น แต่มีเพียงส่วนประกอบของสารตั้นต้นบางส่วนที่ส่งผลให้คาร์บอนดอตมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ โดยโมเลกุลที่มีหมู่เอมีนเป็นองค์ประกอบจำนวนมาก (amine-rich molecules) ถือเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญสำหรับการสังเคราะห์คาร์บอนดอตเพื่อประยุกต์ใช้ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เนื่องจากการมีธาตุไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบจะสามารถช่วยถ่ายโอนพลังงานทางอิเล็กตรอนได้อย่างมีประสิทธิภาพซึ่งเป็นหนึ่งในกลไกสำคัญในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย อีกทั้งกลุ่มอะมิโนของสารตั้งต้นจะเปลี่ยนไปเป็นหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวของคาร์บอนดอต ทำให้บริเวณพื้นผิวของคาร์บอนดอตมีเป็นประจุบวก ส่งผลให้คาร์บอนดอตสามารถยึดเกาะกับแบคทีเรียที่มีประจุลบผ่านอันตรกิริยาระหว่างประจุได้อย่างมีประสิทธิภาพ จากงานวิจัยของ Ye และคณะ (2020) ได้นำพารา-ฟีนิลลีนไดอะมีนมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์คาร์บอนดอต จากนั้นนำไปหาค่าความเข้มข้นขั้นต่ำสุดที่ใช้ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (minimum bactericidal concentration หรือ MBC) จากผลการศึกษาพบว่าค่าความเข้มข้นขั้นต่ำสุดที่ใช้ในการฆ่าเชื้อสตาฟิโลคอคคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus* หรือ *S. aureus*) และ เชื้อ *E. Coli* เท่ากับ 2 และ 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งบ่งชี้ถึงศักยภาพของคาร์บอนดอตที่ใช้โมเลกุลที่มีหมู่เอมีนเป็นองค์ประกอบเป็นสารตั้งต้นเพื่อพัฒนาคาร์บอนดอตสำหรับการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย[24] นอกจากการเลือกสารตั้งต้นที่มีหมู่เอมีนเป็นองค์ประกอบเป็นจำนวนมากแล้ว ยังมีกลยุทธ์อื่น ๆ ที่ใช้พิจารณาควบคู่กัน เพื่อพัฒนาให้คาร์บอนดอตสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้อย่างมีประสิทธิภาพ ยกตัวอย่างเช่น การปรับพื้นผิวให้เหมาะสมโดยการโด๊ปด้วยอะตอม (hetero-atom-doped carbon dots) และการควบคุมขนาด เป็นต้น จากตัวอย่างงานวิจัยของ Lee และคณะ (2016) อธิบายไว้ว่าการโด๊ปไนโตรเจนช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการกระตุ้นแสงของคาร์บอนดอต โดยการเพิ่มความสามารถในการดูดซับแสง และเพิ่มปฏิกิริยาสำหรับการกระตุ้นให้เกิดสารอนุมูลอิสระ reactive oxygen species หรือ ROS อีกทั้งช่วยเพิ่มความสามารถในการเข้ากันได้ทางชีวภาพและความเสถียรในระหว่างการใช้งานทางการรักษา ส่งผลให้การโด๊ปไนโตรเจนมีศักยภาพสูงในการใช้ในการบำบัดทางแสงแบบโฟโตไดนามิคสำหรับรักษาการติดเชื้อแบคทีเรีย[25] และสำหรับการควบคุมขนาดจากงานวิจัยของ Wibowo และคณะ (2024) รายงานว่าคาร์บอนดอตขนาดเล็กช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัดทางแสงแบบโฟโตไดนามิคอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากมีการเพิ่มพื้นที่ผิวสำหรับการดูดซับแสง ส่งผลให้การถ่ายโอนพลังงานมีประสิทธิภาพมากขึ้น[26] อย่างไรก็ตาม การสังเคราะห์คาร์บอนดอตเพื่อใช้สำหรับการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียยังคงเป็นเรื่องท้าทายอย่างมากในปัจจุบัน

กลไกการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของคาร์บอนดอต

คาร์บอนดอตสามารถใช้เป็นสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และสามารถเพิ่มฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียผ่านการกระตุ้นด้วยแสงได้ โดยกลไกพื้นฐานที่สามารถออกฤทธิ์โดยไม่ผ่านการกระตุ้นด้วยแสง คือคาร์บอนดอตสามารถดูดซับที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรียโดยการแพร่ หรือแรงดึงดูดทางไฟฟ้าบนพื้นผิวของคาร์บอนดอต ทำให้กระบวนเมแทบอลิซึมของแบคทีเรียถูกรบกวน โดยกลไกแบ่งได้ตามกระบวนการถูกรบกวนแสดงดังรูปที่ 2 ดังนี้ 1) การเสื่อมสภาพหรือความบกพร่องของไมโตคอนเดรีย ซึ่งเป็นออร์แกเนลล์ที่สำคัญในการผลิตพลังงานในเซลล์ โดยสามารถแบ่งออกเป็นสองประเภทหลัก ได้แก่ การทำลายทางสารเคมี (chemical damage) และ การทำลายทางกายภาพ (physical damage) ซึ่งส่งผลกระทบที่รุนแรงต่อสุขภาพของเซลล์แบคทีเรีย เช่น การผลิตพลังงานของแบคทีเรียลดลง มีการเพิ่มการตายของเซลล์ (apoptosis) เกิดการอักเสบ และเกิดความผิดปกติทาง

เมตาบอลิซึม 2) เกิดการสร้างสารอนุมูลอิสระเมื่อกระบวนเมแทบอลิซึมของแบคทีเรียถูกรบกวน 3) คาร์บอนดอตสามารถเข้าไปจับกับสารพันธุกรรม (DNA damage) ทำให้การเจริญของแบคทีเรียถูกรบกวน 4) คาร์บอนดอตมีขนาดอนุภาคเล็กจะสามารถผ่านชั้นคู่ลิพิด (lipid bilayers) ได้ง่าย ส่งผลให้เกิดการสร้างไบโอฟิล์มนำไปสู่การรั่วของไซโทพลาสซึมและเกิดการตายของแบคทีเรีย 5) สารโครงร่างของเซลล์ หรือไซโทสเกเลตอนถูกทำลาย (cytoskeleton) และ 6) เยื่อหุ้มนิวเคลียส (nucleoskeleton) ของเซลล์ถูกทำลาย ซึ่งไซโทสเกเลตอนเป็นเครือข่ายของเส้นใยโปรตีนและท่อที่ช่วยให้เซลล์มีรูปร่างและความแข็งแรง และมีบทบาทสำคัญในการทำงานของเซลล์หลายอย่างจึงนำไปสู่การทำลายของแบคทีเรีย[27] ดังแสดงในรูปที่ 2 และเมื่อต้องการเพิ่มฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรีย สามารถอาศัยกลไกผ่านการบำบัดด้วยแสงได้ โดยคาร์บอนดอตที่ถูกกระตุ้นด้วยแสงจะมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีขึ้นเมื่อเทียบกับคาร์บอนดอตที่ไม่ถูกกระตุ้นด้วยแสง เรียกกระบวนการที่คาร์บอนดอตถูกกระตุ้นด้วยแสงว่า antimicrobial phototherapy (APT) โดยคาร์บอนดอตจะทำหน้าที่เป็นสารที่ไวต่อแสง (photosensitizers หรือ PSs) หรือตัวกลางที่สามารถเปลี่ยนพลังงานแสงเป็นพลังงานความร้อน (photothermal agents หรือ PTAs)[28,29]

จากกลไกการดื้อของ *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* ต่อยากลุ่ม Beta-lactam โดยการสร้าง Beta-lactamase เพื่อมาทำลายวง Beta-lactam ของยากลุ่มนี้ ที่ออกฤทธิ์โดยการขัดขวางการสร้างเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย ทำให้เกิดการตายของแบคทีเรีย และอีกกลไกหนึ่งคือการเปลี่ยนแปลงตำแหน่งเป้าหมายของยาจาก Penicillin-binding protein (PBPs) ไปเป็น PBP2a ทำให้ยาไม่สามารถออกฤทธิ์ในการขัดขวางการสร้างเยื่อหุ้มเซลล์ได้[30] จากกลไกที่กล่าวถึงในข้างต้นอธิบายได้ว่าคาร์บอนดอตสามารถนำมาประยุกต์ใช้เพื่อลดการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียได้ เนื่องจากกลไกการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของคาร์บอนดอตไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ Beta-lactamase และไม่ได้เข้าจับที่ตำแหน่ง PBPs ที่ทำให้เกิดการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรีย จึงคาดว่าคาร์บอนดอตสามารถใช้ทดแทนยาต้านจุลชีพในปัจจุบัน เพื่อแก้ปัญหาการดื้อยาต้านจุลชีพได้

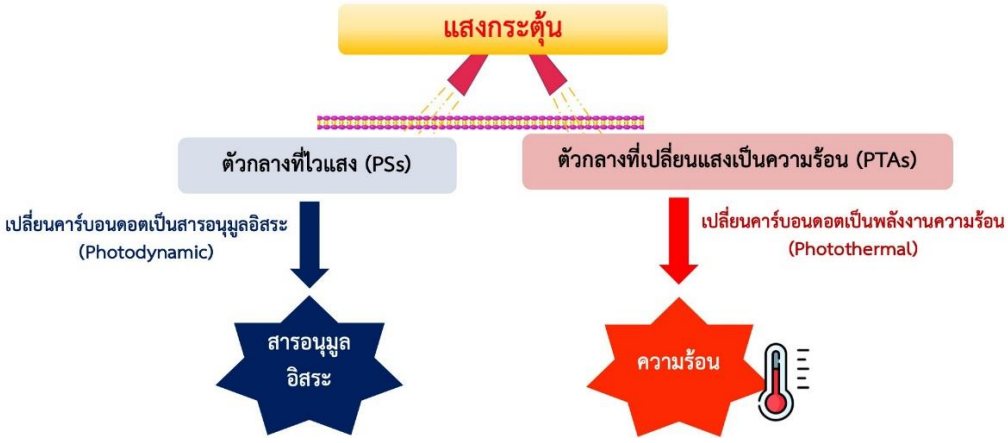


รูปที่ 2 การยับยั้งเซลล์แบคทีเรียผ่านกระบวนการต่าง ๆ (อธิบายความหมายของหมายเลข 1-5 ในรูป ไว้ในเนื้อหาของบทความ ภาพดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 24)

การเพิ่มฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียผ่านการบำบัดด้วยแสง

การบำบัดด้วยแสง (phototherapy) ประกอบด้วยแบบโฟโตไดนามิค (photodynamic) และแบบความร้อนจากแสง (photothermal) ถือเป็นวิธีการรักษาที่แพร่หลายในปัจจุบัน เนื่องจากเป็นวิธีการรักษาที่ไม่ทำให้เซลล์หรือเนื้อเยื่อปกติได้รับความเสียหาย มีความเป็นพิษต่ำ อีกทั้งยังไม่ก่อให้เกิดการดื้อยาหรือช่วยลดผลข้างเคียงจากการบำบัดด้วยวิธีการรักษาแบบดั้งเดิม[31,32] สำหรับการบำบัดแบบโฟโตไดนามิค จะอาศัยสารไวแสงร่วมกับการฉายแสงจากแหล่งกำเนิดแสง เพื่อทำให้เกิดปฏิกิริยาการเหนี่ยวนำให้เกิด ROS เมื่อคาร์บอนดอตถูกกระตุ้นด้วยแสงจะมีการดูดกลืนแสง และเกิดสารอนุมูลอิสระ ซึ่งจะทำให้เกิดการทำลายภายในเซลล์ของสารชีวโมเลกุล (biomolecules) กล่าวคือ ROS ไปทำลายผนังเซลล์ของแบคทีเรียและทำให้เซลล์เกิดการตายได้ในที่สุด ขณะเดียวกันสำหรับการบำบัดด้วยแสงแบบความร้อนจากแสง จะอาศัยสารที่สามารถดูดกลืนแสงในช่วงเนียร์อินฟราเรดแล้วเปลี่ยนเป็นความร้อน โดยอุณหภูมิที่มากกว่า 45 องศาเซลเซียสขึ้นไป จะสามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียได้[33] ด้วยหลักการที่อธิบายมาข้างต้น ทางการแพทย์จึงนิยมนำคาร์บอนดอตมาประยุกต์ใช้สำหรับการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ดังนั้นการบำบัดด้วยแสงถือเป็นเทคโนโลยีทางเลือกที่น่าสนใจและเหมาะกับการนำมาพัฒนาเพื่อใช้สำหรับการเพิ่มฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียต่อไปในอนาคต[34] โดยภาพรวมกลไกการบำบัดด้วยแสงสามารถอธิบายดังรูปที่ 3

โดยทั่วไปเมื่อกระตุ้นคาร์บอนดอตด้วยแสงในช่วงอัลตราไวโอเลตและช่วงวิสิเบิลอิเล็กตรอนที่อยู่ในสถานะเดี่ยวและอยู่ในสถานะพื้นลำดับที่ต่ำสุด (S_0) จะดูดกลืนพลังงานดังกล่าวแล้วย้ายขึ้นไปอยู่ในสถานะกระตุ้น ลำดับที่หนึ่ง (S_1) หรือลำดับที่สอง (S_2) จากนั้นอิเล็กตรอนจะพยายามกลับคืนสู่สถานะพื้นอีกครั้ง โดยกระบวนการคืนสถานะพื้น ซึ่งสามารถแยกออกได้เป็น 2 ประเภท คือ กระบวนการที่ไม่เกิดแสงและกระบวนการที่เกิดแสง กระบวนการที่ไม่เกิดแสงถือเป็นกระบวนการหลักที่สามารถใช้อธิบายถึงการเกิดอนุมูลอิสระและความร้อนได้ โดยกระบวนการที่ไม่เกิดแสง สามารถแยกออกเป็น 5 ประเภท คือ การผ่อนคลายแบบสั่น (vibrational relaxation) การถ่ายเทพลังงานภายใน (internal convertion) การถ่ายเทพลังงานภายนอก (external convertion) กระบวนการ intersystem crossing หรือ ISC

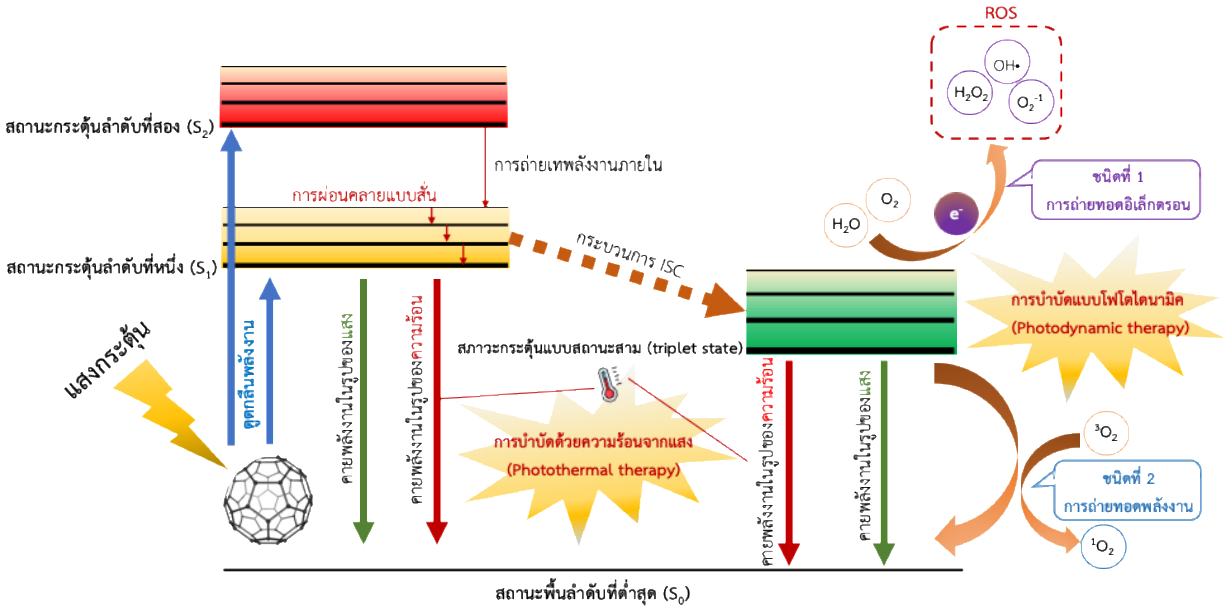


รูปที่ 3 กลไกการบำบัดด้วยแสง

และกระบวนการ quenching จากกระบวนการที่ไม่เกิดแสงข้างต้น บางประเภทสามารถนำมาประยุกต์ใช้เพื่ออธิบายหลักการบำบัดด้วยแสงของคาร์บอนดอต[31] แสดงดังรูปที่ 4

การผ่อนคลายแบบสั่น (vibrational relaxation) เป็นกระบวนการที่อิเล็กตรอนที่อยู่ในสถานะถูกกระตุ้นในลำดับที่สูงกว่าพยายามที่จะกลับลงมาสู่สถานะพื้นของการสั่น โดยกระบวนการดังกล่าวจะสูญเสียพลังงานออกมาในรูปของการคายความร้อน หรือเรียกว่า thermal relaxation ทางการแพทย์จึงอาศัยหลักการดังกล่าว ส่งผลให้คาร์บอนดอตเกิดความร้อนและใช้ประโยชน์ในการรักษาผ่านการบำบัดด้วยแสง หรือที่เรียกว่า photothermal ได้[35]

กระบวนการ intersystem crossing หรือ ISC เป็นกระบวนการที่โมเลกุลในสถานะกระตุ้นเกิดการเปลี่ยนแปลงการหมุนของอิเล็กตรอนแล้วทำให้เกิดการย้ายระดับชั้นพลังงานจากสถานะเชิงเดี่ยว (singlet state) ไปยังสถานะสาม (triplet state) จึงส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาในการเหนี่ยวนำให้เกิด ROS ซึ่งเป็นพิษต่อเซลล์ โดยกลไกการเกิดสารอนุมูลอิสระสามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิด ดังนี้ ชนิดที่ 1 เกิดผ่านการถ่ายทอดอิเล็กตรอน (electron transfer) โดยอาศัยออกซิเจน (O_2) หรือน้ำเป็นตัวกลางส่งผลให้เกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide หรือ H_2O_2) ซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (superoxide anion หรือ O_2^{-1}) หรือไฮดรอกซิลแรดิคัล (hydroxyl radical หรือ OH•) ชนิดที่ 2 เกิดผ่านการถ่ายทอดพลังงาน ส่งผลให้เกิดซิงเกลตออกซิเจน (singlet oxygen หรือ $^1O_2$) แสดงดังรูปที่ 4 ทางการแพทย์จึงอาศัยหลักการดังกล่าว เหนี่ยวนำคาร์บอนดอตให้เกิดสารอนุมูลอิสระและใช้ประโยชน์ในการรักษาผ่านการบำบัดด้วยแสงหรือที่เรียกว่าการบำบัดแบบโฟโตไดนามิคได้ อย่างไรก็ตามการเกิด ISC มีโอกาสเพิ่มมากขึ้นเมื่อลำดับชั้นพลังงานกระตุ้นของสถานะเชิงเดี่ยวซ้อนทับกันกับสถานะสาม[33]



รูปที่ 4 กลไกการบำบัดด้วยแสงของคาร์บอนดอต (ภาพดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 17)

ตัวอย่างการประยุกต์ใช้คาร์บอนดอตสำหรับการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

ปัจจุบันคาร์บอนดอต เป็นส่วนสำคัญในการพัฒนางานทางด้านการแพทย์และเภสัชกรรม เนื่องจากการเป็นอนุภาคนาโนของคาร์บอนดอตสามารถช่วยลดข้อจำกัดบางประการที่เป็นอุปสรรคต่อการปัญหาการดื้อยาปฏิชีวนะสำหรับการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย รวมทั้งความหลากหลายของเชื้อแบคทีเรียที่สามารถทำให้เกิดโรคและการกลายพันธุ์อย่างรวดเร็ว ด้วยเหตุนี้การวิจัยและพัฒนายาในปัจจุบันจึงนิยมนำอนุภาคนาโนคาร์บอนดอตมาประยุกต์ใช้

1. คาร์บอนดอตสำหรับการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยไม่ผ่านการบำบัดด้วยแสง

ในปี ค.ศ. 2021 Liang และคณะ[36] สังเคราะห์คาร์บอนดอตเพื่อใช้สำหรับการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ โดยใช้ลีโวฟลอกซาซิน ไฮโดรคลอไรด์ (levofloxacin hydrochloride) เป็นสารตั้งต้นผ่านการใช้ความร้อนชื้นที่อุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เวลาและความเข้มข้นต่างกัน และหาค่าความเข้มข้นของยาในระดับต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ รวมทั้งประเมินความเป็นพิษต่อเซลล์ของคาร์บอนดอตที่สังเคราะห์ขึ้นด้วยเซลล์ปกติของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม (mammalian cells) จากการศึกษาพบว่าคาร์บอนดอตที่สังเคราะห์ขึ้นไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ และสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ แกรมบวกประกอบด้วย *S. aureus* และบาซิลลัส ซับทิลิส (*Bacillus subtilis* หรือ *B. subtilis*) และแกรมลบประกอบด้วย *E. coli* และซูโดโมแนส แอรูจิโนซา (*Pseudomonas aeruginosa* หรือ *P. aeruginosa*) โดยฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจะแปรผันตรงกับเวลาและความเข้มข้นของคาร์บอนดอตที่เพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ

2. การเพิ่มฤทธิ์คาร์บอนดอตสำหรับการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียผ่านการบำบัดด้วยแสง

ในปี ค.ศ. 2021 Yan และคณะ[37] สังเคราะห์คาร์บอนดอตเพื่อประยุกต์ใช้สำหรับการบำบัดด้วยแสงเพื่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยใช้กรดซิตริกและไทโอยูเรียเป็นสารตั้งต้นผ่านการใช้ความร้อนชื้นที่อุณหภูมิ 220 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 ชั่วโมง จากนั้นประเมินความเป็นพิษต่อเซลล์ของคาร์บอนดอตที่สังเคราะห์ขึ้นด้วยเซลล์ปกติของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม ทดสอบคุณสมบัติของการเกิดความร้อนที่เปลี่ยนแปลงไป หลังกระตุ้นด้วยแสงเป็นเวลา 30 นาที โดยอาศัยแหล่งกำเนิดแสง 2 ชนิดรวมกัน ได้แก่ แหล่งกำเนิดแสงที่อยู่ในช่วงเนียร์อินฟาเรด (808 นาโนเมตร; กำลัง 500 มิลลิวัตต์ต่อตารางเซนติเมตร) และแสงวิสิเบิล (405 นาโนเมตร; กำลัง 200 มิลลิวัตต์ต่อตารางเซนติเมตร) และทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของคาร์บอนดอตผ่านการบำบัดด้วยแสง จากการศึกษาพบว่าคาร์บอนดอตที่สังเคราะห์ขึ้นไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม อีกทั้งยังสามารถคายพลังงานความร้อนหลังกระตุ้นด้วยแสงได้สูงถึง 65 องศาเซลเซียสซึ่งแตกต่างจากอุณหภูมิของกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ส่งผลต่อแบคทีเรียได้ และความร้อนที่เกิดขึ้นมีความแปรผันตรงกับความเข้มข้นของคาร์บอนดอต โดยเมื่อความเข้มข้นของคาร์บอนดอตเพิ่มขึ้นความร้อนที่เกิดขึ้นก็จะเพิ่มมากขึ้นด้วย นอกจากความร้อนที่เกิดขึ้นคาร์บอนดอตดังกล่าวถูกประยุกต์ใช้เป็นตัวพาเพื่อโหลดสารเคอร์คิวมิน (curcumin) ผลการศึกษาพบว่าเคอร์คิวมินสามารถกระตุ้นให้เกิดซิงเกลตออกซิเจนผ่านการบำบัดด้วยแสงแบบโฟโตไดนามิคได้ จึงส่งผลให้ระบบดังกล่าวสามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อยับยั้งแบคทีเรียโดยการเสริมฤทธิ์กันระหว่างการบำบัดด้วยความร้อนและการบำบัดแบบโฟโตไดนามิคได้

3. การเพิ่มฤทธิ์คาร์บอนนาโนพาร์ทิเคิลสำหรับการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียผ่านการบำบัดด้วยแสง

ในปี ค.ศ. 2024 Dechsri และคณะ[38] ได้ทำการสังเคราะห์คาร์บอนนาโนพาร์ทิเคิลเพื่อประยุกต์ใช้สำหรับการบำบัดด้วยแสงและพัฒนาต่อโดยการบรรจุคาร์บอนนาโนพาร์ทิเคิลลงแผ่นไฮโดรเจลเพื่อใช้ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย การสังเคราะห์คาร์บอนนาโนพาร์ทิเคิลเลือกใช้กรดแกลลิกเป็นสารตั้งต้น เนื่องจากสารดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้[39] อีกทั้งยังมีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) เป็นจำนวนมากซึ่งสามารถส่งผลให้เกิดกระบวนการ intersystem crossing ได้มากขึ้น จึงคาดว่าสารตั้งต้นดังกล่าวจะสามารถเพิ่มฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียผ่านการบำบัดด้วยแสงได้ คณะผู้วิจัยจึงเลือกสารดังกล่าวเป็นสารตั้งต้น โดยสังเคราะห์ผ่านเครื่องไมโครเวฟที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นประเมินความสามารถในการเกิด ROS หลังกระตุ้นด้วยแสง และประเมินหาความเข้มข้นของสารในระดับต่ำสุดที่สามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ โดยเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ประกอบด้วย *S. aureus* และ *E. coli* ซึ่งเป็นตัวแทนของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบตามลำดับ ผลการศึกษาพบว่าคาร์บอนนาโนพาร์ทิเคิลสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทั้ง *S. aureus* และ *E. coli* โดยค่า MIC และ MBC ของคาร์บอนนาโนพาร์ทิเคิลน้อยกว่าสารละลายแกลลิกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อทำการกระตุ้นด้วยแสงพบว่าคาร์บอนนาโนพาร์ทิเคิลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทั้ง *S. aureus* และ *E. coli* ได้ดีกว่าการรักษาแบบไม่กระตุ้นด้วยแสงผ่านกระบวนการโฟโตไดนามิค จากนั้นบรรจุคาร์บอนนาโนพาร์ทิเคิลลงแผ่นไฮโดรเจลเพื่อทำการประเมินประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียต่อไป จากการศึกษาพบว่าแผ่นไฮโดรเจลที่บรรจุคาร์บอนนาโนพาร์ทิเคิลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่าการรักษาแบบไม่กระตุ้นด้วยแสงผ่านกระบวนการโฟโตไดนามิค จึงสามารถอนุมานได้ว่านอกจากคาร์บอนดอตแล้วคาร์บอนนาโนพาร์ทิเคิลชนิดต่าง ๆ สามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อยับยั้งแบคทีเรียผ่านการบำบัดด้วยแสงได้

บทสรุป

คาร์บอนดอตจัดเป็นวัสดุนาโนชนิดหนึ่งที่ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในช่วงหลายปีที่ผ่านมา เนื่องจากมีงานวิจัยอย่างแพร่หลายรายงานว่าคาร์บอนดอตสามารถประยุกต์ใช้ผ่านการบำบัดด้วยแสง โดยการสร้างสารอนุมูลอิสระ และการเกิดความร้อนเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ ส่งผลให้ช่วยลดข้อจำกัดบางประการของการรักษาเชื้อแบคทีเรียแบบดั้งเดิม รวมทั้งช่วยแก้ปัญหาด้านการดื้อยาปฏิชีวนะสำหรับการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียซึ่งถือเป็นปัญหาสำคัญต่อระบบสาธารณสุขทั่วโลก ปัจจุบันยังคงมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง โดยการเลือกใช้สารตั้งต้น หรือวิธีการสังเคราะห์ที่แตกต่างกัน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพและความปลอดภัย ลดความเป็นพิษ และให้มีความเข้ากันได้กับสิ่งมีชีวิตมากที่สุด ดังนั้นคาร์บอนดอตจึงถูกพัฒนาอย่างต่อเนื่องเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์และเภสัชกรรม โดยคาดว่าอาจเป็นส่วนสำคัญต่อการพัฒนาอุตสาหกรรมยาในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. Wang L, Hu C, Shao L. The antimicrobial activity of nanoparticles: Present situation and prospects for the future. Int J Nanomedicine. 2017;12:1227-49.
2. Liu Y, Roy S, Sarkar S, Xu J, Zhao Y, Zhang J. A review of carbon dots and their composite materials for electrochemical energy technologies. Carbon Energy. 2021;3(5):795-826.
3. Xu X, Ray R, Gu Y, Ploehn H, Gearheart L, Raker K, et al. Electrophoretic analysis and purification of fluorescent single-walled carbon nanotube fragments. J Am Chem Soc. 2004;126(40):12736-7.
4. Liu J, Li R, Yang B. Carbon dots: A new type of carbon-based nanomaterial with wide applications. ACS Cent Sci. 2020;6(12):2179-95.

5. Hussen NH, Hasan AH, FaqiKhedr YM, Bogoyavlenskiy A, Bhat AR, Jamalis J. Carbon dot based carbon nanoparticles as potent antimicrobial, antiviral, and anticancer agents. ACS Omega. 2024;9(9):9849-64.
6. Dong X, Liang W, Meziani MJ, Sun YP, Yang L. Carbon dots as potent antimicrobial agents. Theranostics. 2020;10(2):671-86.
7. Zhou Q, Zhang L, Wu H. Nanomaterials for cancer therapies. Nanotechnol Rev. 2017;6(5):473-96.
8. Wang C, Hu T, Wen Z, Zhou J, Wang X, Wu Q, et al. Concentration-dependent color tunability of nitrogen-doped carbon dots and their application for iron(III) detection and multicolor bioimaging. J Colloid Interface Sci. 2018;521:33-41.
9. Chu KW, Lee SL, Chang CJ, Liu L. Recent progress of carbon dot precursors and photocatalysis applications. Polymers. 2019;11(4):689.
10. Chang Q, Zhou X, Xiang G, Jiang S, Li L, Wang Y, et al. Full color fluorescent carbon quantum dots synthesized from triammonium citrate for cell imaging and white LEDs. Dyes Pigm. 2021;193(18):109478.
11. Ding H, Zhou XX, Zhang ZH, Zhao YP, Wei JS, Xiong HM. Large scale synthesis of full-color emissive carbon dots from a single carbon source by a solvent-free method. Nano Res. 2021;15(4):3548-55.
12. Dechsri K, Suwanchawalit C, Chitropas P, Opanasopit P, Pengnam S. Carbon dots and their pharmaceutical applications. Thai Bull Pharm Sci. 2022;17(2):37-52. (in Thai)
13. Khayal A, Dawane V, Amin MA, Tirth V, Yadav VK, Algahtani A, et al. Advances in the methods for the synthesis of carbon dots and their emerging applications. Polymers. 2021;13(18):3190.
14. Jorns M, Pappas D. A review of fluorescent carbon dots, their synthesis, physical and chemical characteristics, and applications. Nanomaterials. 2021;11(6):1448.
15. Zhou J, Sheng Z, Han H, Zou M, Li C. Facile synthesis of fluorescent carbon dots using watermelon peel as a carbon source. Mater Lett. 2012;66(1):222-4.
16. Tan XW, Romainor ANB, Chin SF, Ng SM. Carbon dots production via pyrolysis of sago waste as potential probe for metal ions sensing. J. Anal. Appl. Pyrol. 2014;105:157-65.
17. Akhgari F, Samadi N, Farhadi K, Akhgari M. A green one-pot synthesis of nitrogen and sulfur co-doped carbon quantum dots for sensitive and selective detection of cephalexin. Can J Chem. 2017;95(6):641-8.
18. Pierrat P, Wang R, Kereselidze D, Lux M, Didier P, Kichler A, et al. Efficient in vitro and in vivo pulmonary delivery of nucleic acid by carbon dot-based nanocarriers. Biomater. 2015;51:290-302.
19. Chen W, Hu C, Yang Y, Cui J, Liu Y. Rapid synthesis of carbon dots by hydrothermal treatment of lignin. Mater. 2016;9(3):184.
20. Sun L, Zhang H, Wang Y, Xiong Z, Zhao X, Xia Y. Chitosan-derived N-doped carbon dots for fluorescent determination of nitrite and bacteria imaging. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc. 2021;251:119468.
21. Duan Q, Ma Y, Che M, Zhang B, Zhang Y, Li Y, et al. Fluorescent carbon dots as carriers for intracellular doxorubicin delivery and track. J Drug Deliv Sci Technol. 2019;49:527-33.
22. Chahal S, Yousefi N, Tufenkji N. Green synthesis of high quantum yield carbon dots from phenylalanine and citric acid: Role of stoichiometry and nitrogen doping. ACS Sustain Chem Eng. 2020;8(14):5566-75.
23. Qu X, Gao C, Fu L, Chu Y, Wang JH, Qiu H, et al. Positively charged carbon dots with antibacterial and antioxidant dual activities for promoting infected wound healing. ACS Appl Mater Interfaces. 2023;15(15):18608-19.
24. Ye Z, Li G, Lei J, Liu M, Jin Y, Li B. One-step and one-precursor hydrothermal synthesis of carbon dots with superior antibacterial activity. ACS Appl Bio Mater. 2020;3(10):7095-102.
25. Lee C, Kwon W, Beack S, Lee D, Park Y, Kim H, et al. Biodegradable nitrogen-doped carbon nanodots for non-invasive photoacoustic imaging and photothermal therapy. Theranostics. 2016;6(12):2196-208.
26. Wibowo A, Jahir Khan M, Sansanaphongpricha K, Khemthong P, Laosiripojana N, Yu YS, et al. Carbon dots in photodynamic therapy: The role of dopant and solvent on optical and photo-responsive properties. Chemistry. 2024;30(54):e202400885.
27. Fatehbasharzad P, Fatehbasharzad P, Sillanpää M, Shamsi Z. Investigation of bioimpacts of metallic and metallic oxide nanostructured materials: Size, shape, chemical

composition, and surface functionality: A review. Part Part Syst Char. 2021;38(10):2100112.

28. Li P, Sun L, Xue S, Qu D, An L, Wang X, et al. Recent advances of carbon dots as new antimicrobial agents. SmartMat. 2022;3(2):226-48.
29. Zhang Q, Wang R, Feng B, Zhong X, Ostrikov KK. Photoluminescence mechanism of carbon dots: Triggering high-color-purity red fluorescence emission through edge amino protonation. Nat Commun. 2021;12(1):6856.
30. Ali Alghamdi B, Al-Johani I, Al-Shamrani JM, Musamed Alshamrani H, Al-Otaibi BG, Almazmomi K, et al. Antimicrobial resistance in methicillin-resistant staphylococcus aureus. Saudi J Biol Sci. 2023;30(4):103604.
31. Li B, Zhao S, Huang L, Wang Q, Xiao J, Lan M. Recent advances and prospects of carbon dots in phototherapy. J Chem Eng. 2021;408:127245.
32. Amaral SI, Costa-Almeida R, Gonçalves IC, Magalhães FD, Pinto AM. Carbon nanomaterials for phototherapy of cancer and microbial infections. Carbon. 2022;190:194-244.
33. Dediu V, Ghitman J, Gradisteanu Pircalabioru G, Chan KH, Iliescu FS, Iliescu C. Trends in photothermal nanostructures for antimicrobial applications. Int J Mol Sci. 2023;24(11):9375.
34. Jia Q, Zheng X, Ge J, Liu W, Ren H, Chen S, et al. Synthesis of carbon dots from Hypocrella bambusae for bimodel fluorescence/photoacoustic imaging-guided synergistic photodynamic/photothermal therapy of cancer. J Colloid Interface Sci. 2018;526:302-11.
35. Bao X, Yuan Y, Chen J, Zhang B, Li D, Zhou D, et al. In vivo theranostics with near-infrared-emitting carbon dots-highly efficient photothermal therapy based on passive targeting after intravenous administration. Light Sci Appl. 2018;7:91.
36. Liang J, Li W, Chen J, Huang X, Liu Y, Zhang X, et al. Antibacterial activity and synergetic mechanism of carbon dots against gram-positive and -negative bacteria. ACS Appl Bio Mater. 2021;4(9):6937-45.
37. Yan H, Zhang B, Zhang Y, Su R, Li P, Su W. Fluorescent carbon dot–curcumin nanocomposites for remarkable antibacterial activity with synergistic photodynamic and photothermal abilities. ACS Appl Bio Mater. 2021;4(9):6703-18.
38. Dechsri K, Suwanchawalit C, Patrojanasophon P, Opanasopit P, Pengnam S, Charoenying T, et al. Photodynamic antibacterial therapy of gallic acid-derived carbon-based nanoparticles (GACNPs): Synthesis, characterization, and hydrogel formulation. Pharmaceutics. 2024;16(2):254.
39. Aranaz I, Alcántara AR, Civera MC, Arias C, Elorza B, Heras Caballero A, et al. Chitosan: An overview of its properties and applications. Polymers. 2021;13(19):3256.