

ΜΕΛΕΤΗ ΑΣΒΕΣΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΠΟΛΥΜΕΡΙΚΩΝ ΥΛΙΚΩΝ ΜΕ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ**Π. Μαρούλη^{1,*}, Π.Δ. Νάτση^{2,3}, Ι. Τζουμάνη¹, Σ. Μαρινάκης¹, Ε. Ντάλας¹, Π.Γ. Κουτσούκος^{2,3}**¹Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Ελλάδα²Τμήμα Χημικών Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Πατρών, Ελλάδα³Ινστιτούτο Τεχνολογίας και Έρευνας/ΙΕΧΜΗ, FORTH-ICEHT, Πάτρα, Ελλάδα(*up1068896@ac.upatras.gr)**ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

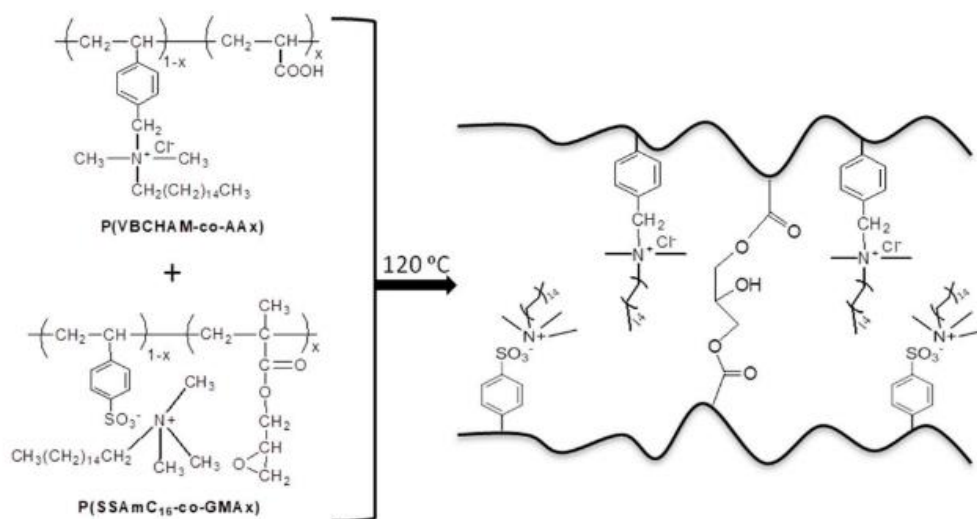
Πολυμερικά υλικά με αντιμικροβιακή δράση παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Η ασβεστοποίηση των υλικών αυτών κατά την επαφή τους με βιολογικά ρευστά, δηλαδή η δυνατότητα επαγωγής σχηματισμού υδροξυαπατίτη ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$, HAP), είναι καθοριστική για τις σκοπούμενες χρήσεις τους. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η ασβεστοποίηση δύο πολυμερικών υποστρωμάτων τα οποία παρασκευάστηκαν με διασύνδεση των συμπολυμερών $\text{P}(\text{SSAmC}_{16}\text{-co-GMAx})$ και $\text{P}(\text{AAx-co-VBCHAM}_x)$, σε αναλογίες 85/15 (IT131A) και 70/30 (IT131B) % w/w, τα οποία έχουν αποδειχθεί ότι έχουν αντιμικροβιακή δράση. Μελετήθηκε η επιλεκτική εναπόθεση HAP στα IT131A και IT131B η οποία και συγκρίθηκε με την κρυσταλλική ανάπτυξη HAP σε κρυσταλλικά φύτρα του. Μετρήθηκαν ο ρυθμός κρυσταλλικής ανάπτυξης και ο χρόνος επαγωγής, ο οποίος μεσολαβούσε από την εισαγωγή των υποστρωμάτων μέχρι την έναρξη της κρυσταλλικής ανάπτυξης του HAP ($\text{pH} = 7.4$, 37°C), σε σταθερά υπέρκορα διαλύματα. Η περιοχή τιμών σχετικού υπερκορεσμού, σ_{HAP} των διαλυμάτων ήταν στην περιοχή τιμών 9.44 - 9.99. Ο ρυθμός της κρυσταλλικής ανάπτυξης του HAP ήταν γραμμική συνάρτηση του σχετικού υπερκορεσμού ενώ έλαβε χώρα αποκλειστικά στα φύτρα των κρυστάλλων HAP. Στην περίπτωση των πολυμερικών συστημάτων τα οποία μελετήθηκαν, προ της εισαγωγής τους στα υπέρκορα διαλύματα προηγήθηκε εξισορρόπησή τους: σε τριπλά απεσταγμένο νερό. Σε όλες τις περιπτώσεις διαπιστώθηκε απελευθέρωση στα διαλύματα της τασιενεργού ουσίας Cetyltrimethylammonium bromide (CTAB), η παρουσία της οποίας στα υπέρκορα διαλύματα επιβράδυνε την κρυσταλλική ανάπτυξη HAP. Η εισαγωγή των δύο πολυμερικών υποστρωμάτων, έδειξε ότι και τα δύο είχαν την ικανότητα επαγωγής σχηματισμού HAP μετά την πάροδο χρόνων επαγωγής εξαρτώμενων από τον υπερκορεσμό των διαλυμάτων. Ο χρόνος επαγωγής ήταν μικρότερος μετά την εξισορρόπηση του πολυμερικού συστήματος με καθαρό νερό. Η εξάρτηση του ρυθμού κρυσταλλικής ανάπτυξης HAP ήταν ευθέως ανάλογη της συγκεντρώσεως των αντιστοιχών αιωρημάτων, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι η εναπόθεση του HAP στα πολυμερικά υποστρώματα ήταν επιλεκτική. Η παρουσία θετικού επιφανειακού φορτίου συνηγορεί στο ότι η ικανότητα πυρηνογένεσης και κρυσταλλικής ανάπτυξης στην επιφάνεια των πολυμερικών συστημάτων οφείλεται στη δημιουργία επιφανειακών συμπλόκων των δραστικών τους ομάδων με τα φωσφορικά ή και τα ιόντα ασβεστίου στα διαλύματα, τα οποία έχουν ως αποτέλεσμα την δημιουργία τοπικά αυξημένου υπερκορεσμού και τη δημιουργία ενεργών κέντρων κρυσταλλικής ανάπτυξης.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: Βιοκτόνα πολυμερή, Βιολογική ασβεστοποίηση, υδροξυαπατίτης, κρυσταλλική ανάπτυξη, μηχανισμός**ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

Η έρευνα σε αντιμικροβιακά πολυμερή υλικά και επιφάνειες είναι εντατική τις τελευταίες δεκαετίες, καθώς τέτοια υλικά είναι σημαντικά για ποικίλες εφαρμογές^[1,2]. Με αυξημένη βαρύτητα ως προς την χρήση τους σε βιοϊατρικές εφαρμογές, αντιμικροβιακά πολυμερή που βασίζονται σε ομάδες τεταρτοταγούς αμμωνίου, αποτελούν πιθανώς, τα ευρύτερα μελετημένα υλικά. Τα υλικά αυτά εξυπηρετούν την υγειονομική περίθαλψη, τα προϊόντα υγιεινής, τις

βιοιατρικές συσκευές και τις επιφάνειες οι οποίες είναι επιρρεπείς σε μόλυνσεις από παθογόνους μικροοργανισμούς. Ως εκ τούτου, χρησιμοποιούνται σε επικαλύψεις σε ιατρικές συσκευές και εργαλεία, σε υλικά που ενδέχεται να έρθουν σε επαφή με το ανθρώπινο σώμα, όπως εμφυτεύματα ή βιοιατρικές συσκευές. Κατά την επαφή τους επαφή με βιολογικά ρευστά, τα οποία είναι υπέρκορα ως προς τα άλατα του φωσφορικού ασβεστίου, είναι σκόπιμο να διερευνηθεί η ενδεχόμενη ασβεστοποίηση τους.

Συγκεκριμένα, μελετήθηκαν τα πολυμερικά υλικά, IT131A και IT131B, τα οποία συντέθηκαν με διασύνδεση των συμπολυμερών P(SSAmC₁₆-co-GMAx) και P(AAx-co-VBCHAM_x) (Σχήμα 1), σε αναλογίες 85/15 και 70/30 % w/w αντίστοιχα [3-5], όπως φαίνεται στο Σχήμα 1.

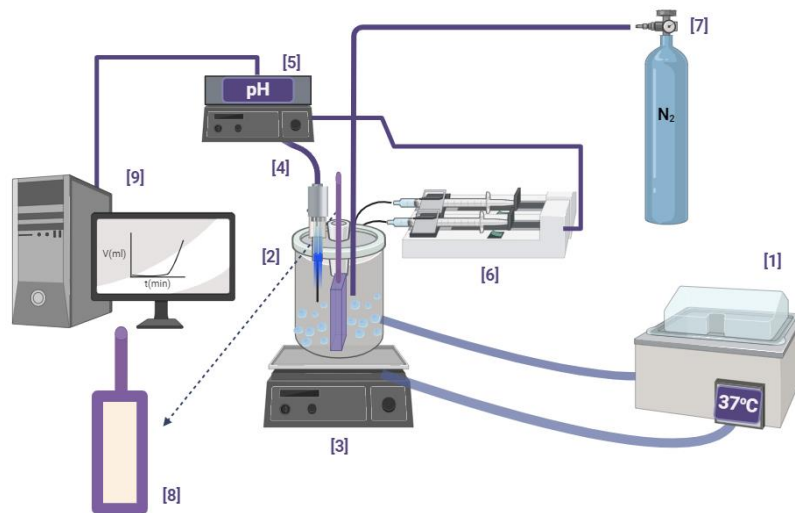


Σχήμα 1. Αντίδραση διασύνδεσης των συμπολυμερών P(VBCHAM-co-AAx) και P(SSAmC16-co-GMAx), έπειτα από κατεργασία αυτών στους 120°C [3].

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Η μελέτη της κρυσταλλικής ανάπτυξης, στοιχειομετρικού υδροξυαπατίτη (Ca₅(PO₄)₃OH, HAP) τόσο σε φύτρα HAP, όσο και στα πολυμερικά υποστρώματα, σε μορφή κόνεως ή μορφοποιημένων σε μεμβράνες επί πλακιδίων υάλου, σε διαλύματα υπέρκορα ως προς HAP, διεξήχθη σε σταθερή θερμοκρασία 37°C, με τη βοήθεια κυκλοφορικού θερμοστάτη, μέσω ροής νερού μέσω των τοιχωμάτων του γυάλινου αντιδραστήρα συνολικού όγκου 0.22dm³. Τα υπέρκορα ως προς το φωσφορικό ασβέστιο διαλύματα παρασκευάζονταν εντός του αντιδραστήρα με ανάμιξη επακριβώς υπολογισμένων και μετρημένων προτύπων διαλυμάτων χλωριούχου ασβεστίου, δισόξινου φωσφορικού νατρίου και χλωριούχου νατρίου. Η μέτρηση της τιμής του pH των διαλυμάτων γινόταν με ζεύγος ηλεκτροδίων υάλου // Ag/AgCl η προτυποποίηση του οποίου γινόταν πριν από κάθε πείραμα με πρότυπα ρυθμιστικά διαλύματα NIST [6]. Η τιμή του pH των διαλυμάτων ρυθμιζόταν στο 7.40, με προσθήκη ποσότητας προτύπου διαλύματος καυστικού νατρίου (NaOH). Όλα τα υπέρκορα διαλύματα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν ήταν σταθερά, τουλάχιστον για χρονικό διάστημα το οποίο υπερέβαινε τις 5 ημέρες. Ακριβώς ζυγισμένες ποσότητες των προς μελέτην υλικών, (φύτρα στοιχειομετρικού HAP ή πολυμερικά υποστρώματα σε μορφή κόνεως ή μεμβράνης) εισήγοντο στα υπέρκορα διαλύματα. Οι πολυμερικές μεμβράνες στερεώνονταν σε κατάλληλους δειγματοφορείς από PET ή PTFE. Η περιοχή τιμών σχετικού υπερκορεσμού, σ_{HAP}, των διαλυμάτων ήταν στην περιοχή 9.44 - 9.99. Ο σχηματισμός HAP στα εισαγόμενα στα υπέρκορα διαλύματα υλικά, αναγνωριζόταν από την πτώση της τιμής του pH, η οποία καταγραφόταν με τη βοήθεια κατάλληλης διασύνδεσης του αισθητήρα με H/Y. Μείωση της μετρούμενης τιμής του pH κατά 0.005 μονάδες, σηματοδοτούσε την έναρξη της προσθήκης διαλυμάτων από μηχανικά συζευγμένες προχοϊδες. Οι συγκεντρώσεις των διαλυμάτων, τα οποία

προστίθεντο υπολογίζονταν βάσει της στοιχειομετρίας του καταβυθιζόμενου στερεού, κατά τρόπον ώστε να αντικαθίστανται στο διάλυμα, τα ιόντα τα απαιτούμενα για το σχηματισμό του στερεού. Με τον τρόπο αυτό, η κινούσα δύναμη για το σχηματισμό του φωσφορικού ασβεστίου παρέμενε σταθερή (κρυσταλλική ανάπτυξη σε συνθήκες σταθερής σύστασης των διαλυμάτων και επομένως του υπερκορεσμού ως προς HAP). Από το στάδιο της παρασκευής των υπέρκορων διαλυμάτων και κατά τη διάρκεια της κρυσταλλικής ανάπτυξης, προκειμένου να αποφευχθεί διείσδυση CO₂ από την ατμόσφαιρα, παροχετεύονταν δια των διαλυμάτων κορεσμένο σε υδρατμούς, υψηλής καθαρότητας άζωτο. Σε τυχαία χρονικά διαστήματα, λαμβάνονταν δείγματα των αιωρημάτων από τον αντιδραστήρα, τα οποία διηθούντο μέσω ηθμών μεμβράνης (μέγεθος πόρων 0.22 μm). Στα διηθήματα, εμετρούντο οι συγκεντρώσεις του ασβεστίου και ανόργανων φωσφορικών προκειμένου να επαληθευθεί η σύσταση των υπέρκορων διαλυμάτων. Η πειραματική διάταξη απεικονίζεται σχηματικά στο Σχήμα 2.



Σχήμα 2. Πειραματική διάταξη. [1] Θερμοστατούμενο υδατόλουτρο 37°C, [2] Διπλότοιχος αντιδραστήρας Pyrex [3] Μαγνητικός αναδευτήρας [4] ηλεκτρόδιο μέτρησης pH [5] pH-μετρο [6] σύστημα συζευγμένων προχοϊδών [7] φιάλη αζώτου, [8] δειγματοφορέας μεμβρανών και [9] Η/Υ για συλλογή δεδομένων.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η κινούσα δύναμη για τον σχηματισμό HAP σε υδατικά υπέρκορα διαλύματά του, είναι ο υπερκορεσμός ως προς τη φάση αυτή. Ο υπερκορεσμός, SR, είναι ο λόγος του ιοντικού γινομένου προς το αντίστοιχο θερμοδυναμικό γινόμενο διαλυτότητας, $K_{S,HAP}^0$ (Εξ. 1):

$$SR = \frac{(Ca^{2+})^5 (PO_4^{3-})^3 (OH^-)}{K_{S,HAP}^0} \quad (1)$$

Όπου οι παρενθέσεις αναφέρονται στις ενεργότητες των αντίστοιχων ιόντων. Ο σχετικός υπερκορεσμός, σ_{HAP} δίνεται από την εξίσωση (2):

$$\sigma_{HAP} = SR^{1/9} - 1 \quad (2)$$

Κρυσταλλική ανάπτυξη HAP σε κρυσταλλικά φύτρα του

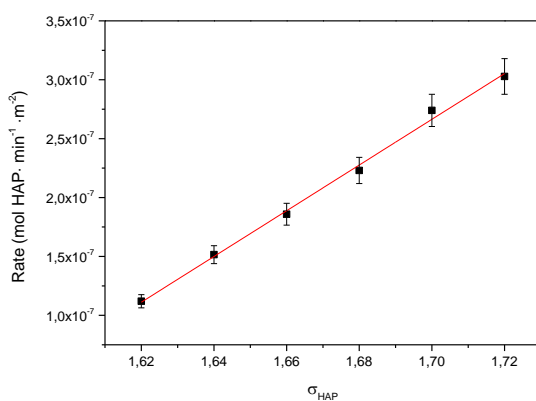
Κατά την κρυσταλλική ανάπτυξη HAP σε φύτρα HAP σε συνθήκες σταθερού υπερκορεσμού, υπολογίστηκε ο ρυθμός κρυσταλλικής ανάπτυξης, από τους προστιθέμενους όγκους αντιδραστηρίων για τη διατήρηση του υπερκορεσμού, συναρτήσει του χρόνου. Στον Πίνακα 1, συνοψίζονται τα δεδομένα των πειραματικών συνθηκών και τα αποτελέσματα των μετρήσεων του ρυθμού τα οποία ελήφθησαν κατά την κρυσταλλική ανάπτυξη των φύτρων HAP σε υπέρκορα διαλύματα, σε σταθερό υπερκορεσμό. Όπως αποτυπώνεται και στο γράφημα του Σχήματος 3, ο ρυθμός αυξήθηκε αυξανόμενου του σχετικού υπερκορεσμού και μάλιστα γραμμικά. Με βάση την ημιεμπειρική εξίσωση:

$$R_p = k\sigma_{HAP}^n \quad (1)$$

όπου k , η κινητική σταθερά της κρυσταλλικής ανάπτυξης και n , η φαινόμενη τάξη της. Από την προσαρμογή των δεδομένων υπολογίσθηκε η τιμή της φαινόμενης τάξης, n ίση με 1, ενώ η φαινόμενη σταθερά k ήταν ίση με $3.23 \times 10^{-7} \text{ mol min}^{-1} \text{ m}^{-2}$. Από την γραμμική εξάρτηση του ρυθμού συμπεραίνεται ότι η κρυσταλλική ανάπτυξη καθορίζεται από την επιφανειακή διάχυση των δομικών μονάδων στην επιφάνεια των αναπτυσσομένων κρυστάλλων HAP. Η μοναδική φάση φωσφορικού ασβεστίου που ταυτοποιήθηκε στο καταβυθιζόμενο στερεό ήταν αποκλειστικά στοιχειομετρικός HAP.

Πίνακας 1. Κρυσταλλική ανάπτυξη HAP σε φύτρα HAP. Συγκέντρωση ασβεστίου (ολική) στα υπέρκορα διαλύματα (Ca_t : $P_t = 1.67$, P_t : ολικά φωσφορικά), σχετικός υπερκορεσμός διαλυμάτων ως προς HAP και αντίστοιχοι ρυθμοί κρυσταλλικής ανάπτυξης HAP. $\theta=37^\circ\text{C}$, $pH=7.4$, και ιοντική ισχύς, $I=0.15\text{M NaCl}$. Ο ρυθμός αναφέρεται ανά μονάδα επιφανείας κρυσταλλικών φύτρων HAP μετρημένης με ρόφηση αζώτου (BET).

$Ca_t(\text{mM})$	Σχετικός υπερκορεσμός, σ_{HAP}	Ρυθμός κρυσταλλικής ανάπτυξης, ($10^{-7} \text{ mol HAP m}^{-2} \text{ min}^{-1}$)
1.62	9.44	1.12
1.64	9.55	1.52
1.66	9.66	1.86
1.68	9.80	2.23
1.70	9.88	2.74
1.72	9.99	3.03



Σχήμα 3. Εξάρτηση του ρυθμού κρυσταλλικής ανάπτυξης HAP σε υπέρκορα διαλύματά του σε σταθερό υπερκορεσμό σε φύτρα HAP ($pH 7.40$, 0.15M NaCl , 37°C).

Ασβεστοποίηση πολυμερικών υποστρωμάτων

Στην συνέχεια μελετήθηκε η ανάπτυξη στοιχειομετρικού HAP στις υπό μελέτη πολυμερικές μεμβράνες με βιοκτόνο δράση. Τα πολυμερικά υποστρώματα, IT131A και IT131B, ήταν κονιοποιημένα, και η ειδική τους επιφάνεια BET ίση με 0.28 και $0.47 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ σε στερεή κατάσταση, αντίστοιχα. Κατά την εναίωρηση και διόγκωση των πολυμερικών υποστρωμάτων στα υπέρκορα διαλύματα διαπιστώθηκε ο έντονος σχηματισμός αφρού, που πιθανόν να οφείλεται στην ύπαρξη τασιενεργού ουσίας η οποία συνόδευε τα ανιονικά υποστρώματα τα οποία μελετήθηκαν. Συγκεκριμένα η τασιενεργός ουσία ήταν το CTAB. Ως εκ τούτου και προκειμένου να αποφευχθούν τυχόν προβλήματα οφειλόμενα στην παρουσία επιμολύνσεων των υπέρκορων διαλυμάτων από την τασιενεργό ουσία, τα πολυμερικά υποστρώματα διογκώθηκαν σε νερό και πλύθηκαν για την

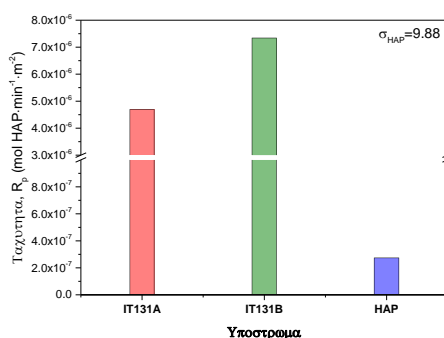
απομάκρυνση τυχόν προσμίξεων. Παράλληλα, μελετήθηκε και η επίδραση της παρουσίας του CTAB στην κρυσταλλική ανάπτυξη του HAP.

Από τις μετρήσεις του ρυθμού κρυσταλλικής ανάπτυξης του HAP παρουσία CTAB, όπως φαίνεται στον Πίνακα 2, βρέθηκε ότι η ουσία αυτή, είχε ως αποτέλεσμα την αναστολή της κρυσταλλικής ανάπτυξης του HAP.

Πίνακας 2. Ρυθμός κρυσταλλικής ανάπτυξης HAP σε υπέρκορα διαλύματά του και σε σταθερό υπερκορεσμό, απουσία και παρουσία CTAB ($\sigma_{\text{HAP}}=9.88$, $\vartheta=37^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7.4$, και $I=0.15\text{M NaCl}$).

Συγκέντρωση CTAB (ppm)	Σχετικός υπερκορεσμός, σ_{HAP}	Ρυθμός κρυσταλλικής ανάπτυξης, ($10^{-7} \text{ mol HAP m}^{-2} \text{ min}^{-1}$)
0	9.88	2.74
0.1		1.65
0.5		1.15
1		0.61

Στο Σχήμα 4 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του ρυθμού ασβεστοποίησης των πολυμερικών υποστρωμάτων τα οποία μελετήθηκαν σε σύγκριση με το ρυθμό κρυσταλλικής ανάπτυξης του HAP. Ο χρόνος επαγωγής ήταν μικρότερος μετά την εξισορρόπηση του πολυμερικού συστήματος με καθαρό νερό, ενώ στην περίπτωση του HAP δεν μεσολαβούσε μετρούμενος χρόνος.

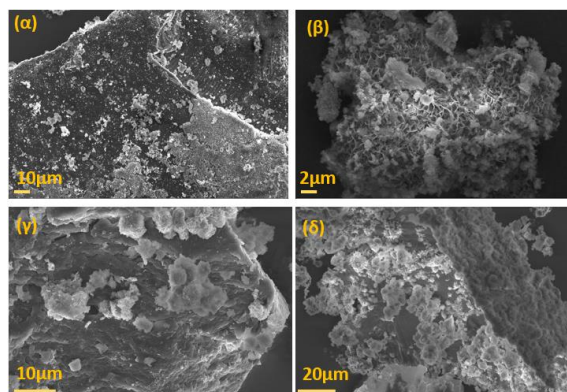


Σχήμα 4. Ρυθμός κρυσταλλικής ανάπτυξης HAP στα πολυμερικά υποστρώματα IT131A και IT131B, έπειτα από έκπλυση με νερό (εξισορρόπηση με νερό για τρεις ημέρες), και σε φύτρα HAP, σε σταθερό υπερκορεσμό ($\sigma_{\text{HAP}} = 9.88$, $\text{pH} 7.40$, 0.15M NaCl , 37°C).

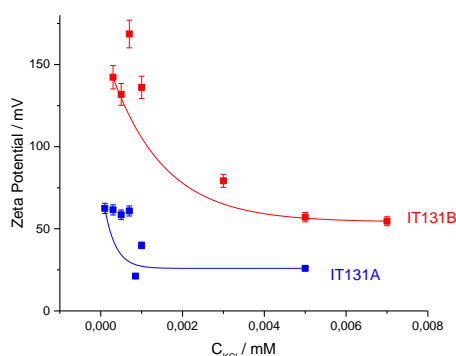
Οι τιμές ανάπτυξης HAP στα πολυμερικά υποστρώματα, ήταν σχεδόν μια τάξη μεγέθους υψηλότεροι, σε σχέση με τις αντίστοιχες για την κρυσταλλική ανάπτυξη του HAP. Δεδομένου του ότι η μάζα των υποστρωμάτων ήταν η αυτή (10mg) σε όλες τις περιπτώσεις, η μεγάλη διαφορά φανερώνει την παρουσία πολύ μεγάλης πυκνότητας ενεργών κέντρων κρυσταλλικής ανάπτυξης στα πολυμερικά υποστρώματα. Επίσης, όσον αφορά τα δυο πολυμερικά συστήματα, η διαφορά του ρυθμού ασβεστοποίησης των δύο οφείλεται πιθανώς και στο βαθμό ενυδάτωσης ο οποίος για το IT131B είναι 200% σημαντικά μεγαλύτερος από τον αντίστοιχο του IT131A. Χαρακτηριστικές φωτογραφίες της μορφολογίας των εναποθέσεων από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) φαίνονται στο Σχήμα 5. Όπως φαίνεται, το υπόστρωμα IT131A είχε μεγαλύτερη επιφανειακή κάλυψη με εναποθέσεις HAP, σε σύγκριση με το IT131B. Και στα δύο πολυμερικά υποστρώματα διαπιστώθηκε ο σχηματισμός νανοκρυστάλλων HAP φυλλοειδούς μορφολογίας.

Στη συνέχεια, διερευνήθηκε η σημασία του επιφανειακού φορτίου των πολυμερικών υποστρωμάτων στο σχηματισμό των εναποθέσεων HAP. Για το σκοπό αυτό έγιναν μετρήσεις του δυναμικού ζ της επιφάνειας των κονιοποιημένων υποστρωμάτων με τη μέθοδο της μέτρησης του

δυναμικού ροής. Ηλεκτρολυτικά διαλύματα KCl με την εφαρμογή διαφορικής πίεσης αζώτου, διήρχοντο δια κυψελίδος στην οποία είχε γίνει πυκνή στίβαξη των δειγμάτων των κονιοποιημένων πολυμερικών υποστρωμάτων. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων φαίνονται στο Σχήμα 6.



Σχήμα 5. Φωτογραφίες ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης (SEM) πολυμερικών υποστρωμάτων IT131A (α,β) και IT131B (γ,δ), μετά το σχηματισμό εναποθέσεων HAP σε σταθερό υπερκορεσμό ($\sigma_{\text{HAP}} = 9.88$, pH 7.40, 0.15M NaCl, 37°C). Τα πολυμερικά υποστρώματα είχαν εκπλυθεί με νερό.



Σχήμα 6. Μεταβολή δυναμικού ζ των διασυνδεδεμένων πολυμερών (IT131A, substrate A, IT131B, substrate B). Μεταβολή δυναμικού ζ συναρτήσει της συγκέντρωσης του ηλεκτρολύτη. 25°C, pH 7.4.

Η παρουσία υψηλού θετικού δυναμικού (και επομένως και επιφανειακού φορτίου) συνηγορεί στο ότι η ικανότητα πυρηνογένεσης και κρυσταλλικής ανάπτυξης στην επιφάνεια των πολυμερικών συστημάτων οφείλεται στη δημιουργία επιφανειακών συμπλόκων των δραστικών ομάδων των πολυμερών, με τα φωσφορικά και τα ιόντα ασβεστίου στα διαλύματα, τα οποία έχουν ως αποτέλεσμα την τοπική αύξηση του υπερκορεσμού και τη δημιουργία ενεργών κέντρων κρυσταλλικής ανάπτυξης.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστούμε τη Δρ Ε. Κορδούλη για τις μετρήσεις BET και το Θ. Ρούσσο (Τμήμα Χημείας) για το ενδιαφέρον του στα πειράματα.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Kenawy E-R, Worley SD, Broughton, R. (2007). *Biomacromolecules*, 8(5), 1359–1384.
- [2] Jiao Y, Niu L, Ma S, Li J, Tay, FR, Chen J. (2017). *Prog. Polym. Sci.*, 71, 53–90.
- [3] Druvari D, Koromilas ND, Bekiari V, Bokias G, Kallitsis J K. (2017). *Coatings*, 8(1), 8.
- [4] Druvari D, Kyriakopoulou F, Lainioti GC, Vlamis-Gardikas A, Kallitsis JK. (2023). *ACS Applied Materials & Interfaces*, 15(8), 11193-11207.
- [5] Druvari D, Antonopoulou A, Lainioti GC, Vlamis-Gardikas A, Bokias G, Kallitsis JK. (2021). *Int. J. Mol. Sci.*, 22(24), 13236.
- [6] Bates RG. (1962). *J. Res. N.B.S.-A. Physics Chem.* 66A(2),179-184.