



POLITECHNIKA RZESZOWSKA
im. Ignacego Łukasiewicza
WYDZIAŁ CHEMICZNY
KATEDRA CHEMII ORGANICZNEJ



PRACA DOKTORSKA

**BIOKOMPOZYCJE I HYBRYDOWE
NANOBIOKOMPOZYTY POLIMEROWE
NA OSNOWIE KWASU
POLI(3-HYDROKSYMASŁOWEGO)**

mgr inż. Beata Krzykowska

Promotor pracy:
prof. dr hab. inż. Iwona Zarzyka
Promotor pomocniczy:
dr hab. inż. Anna Czerniecka-Kubicka, prof. UR

Rzeszów 2025

PODZIEKOWANIA

Składam serdeczne podziękowanie Promotorowi Pani prof. dr hab. inż. Iwonie Zarzyce za niezwykle cenną pomoc, merytoryczne wsparcie oraz konstruktywne uwagi, które pozwoliły mi przeprowadzić tę pracę z odpowiednią precyzją i – jak w dobrze zaprojektowanej reakcji – z wysoką wydajnością. Pani zaangażowanie było katalizatorem, który znacząco przyspieszył mój rozwój naukowy.

Z całego serca dziękuję mojemu Mężowi oraz Dzieciom za nieustające wsparcie, poświęcenie, cierpliwość i zrozumienie, które towarzyszyły mi na każdym etapie realizacji pracy doktorskiej.

Wasza obecność, dobre słowo i wiara we mnie były dla mnie najważniejszym fundamentem.

Z całego serca dziękuję mojej najlepszej Przyjaciółce (ona wie, że to dla niej) – za mądrość, wsparcie i nieocenioną pomoc na każdym etapie tej pracy. To Ty byłaś moją stałą, gdy wszystko inne się zmieniało.

Niniejsza rozprawa doktorska została częściowo zrealizowana dzięki finansowaniu projektu w ramach Inkubatora Innowacyjności 4.0: Blendy polimerowe na bazie kwasu poli(3-hydroksymasłowego), realizowanego w okresie 1.05.2022-31.10.2022.



Rzeczpospolita
Polska

Unia Europejska
Europejski Fundusz
Rozwoju Regionalnego



Niniejsza rozprawa doktorska została częściowo zrealizowana w ramach projektu „Nanokompozyty polimerowe na podstawie kwasu poli(3-hydroksymasłowego)” finansowanego przez Narodową Agencję Wymiany Akademickiej w ramach umowy. **PPN/BCZ/2019/1/00063/U/00001** dotyczącej wymiany bilateralnej z Czechami, w okresie 1.01.2020 -31.12.2022.



NARODOWA AGENCJA
WYMIANY AKADEMICKIEJ

Spis treści

STRESZCZENIE	11
ABSTRACT.....	13
1. WYKAZ SKRÓTÓW/AKRONIMÓW	15
2. CZĘŚĆ LITERATUROWA	19
2.1. Biopolimery	19
2.2. Charakterystyka poli(hidroksyalkanianów)	21
2.3. Otrzymywanie poli(hidroksyalkanianów)	24
2.3. Modyfikacja właściwości P3HB.....	28
2.3.1. Kopolimery P3HB	28
2.3.2. Blendy polimerowe P3HB	29
2.3.3. Nanokompozyty na osnowie P3HB	33
2.4. Zastosowanie poli(hidroksyalkanianów)	36
3. CEL PRACY	39
4. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA.....	41
4.1. Wytwarzanie materiałów	41
4.1.1. Otrzymywanie poliuretanów	41
4.1.2. Wytwarzanie kompozycji polimerowych P3HB-poliuretan	41
4.1.3. Wytworzenie polimerowych nanobiokompozytów hybrydowych.....	42
4.1.4. Wytwarzanie kształtek do badań mechanicznych.....	43
4.2. Metody Badawcze	44
4.2.1. Oznaczanie liczby izocyjanianowej	44
4.2.2. Pomiary techniką wąskokątowego rozpraszania promieniowania rentgenowskiego.....	44
4.2.3. Transmisyjna mikroskopia elektronowa.....	44
4.2.4. Skaningowa mikroskopia elektronowa.....	45
4.2.5. Badania mechaniczne	45
4.2.6. Badania TGA	45
4.2.7. Analiza chromatograficzna GPC.....	46
4.2.8. Spektroskopia FT IR	46
4.2.9. Analiza DSC	46
4.2.10. Pomiar kąta zwilżania wodą	47
4.2.11. Pomiar chropowatości.....	47
4.2.12. Badania cytotoksyczności in vitro.....	48
4.2.13. Analiza elementarna.....	50
4.2.14. Badanie podatności na biodegradację	50

5.	OMÓWIENIE WYNIKÓW NAUKOWYCH PREZENTOWANYCH W ARTYKUŁACH BĘDĄCYCH PODSTAWĄ DOKTORATU	53
5.1.	PUBLIKACJA [D1]	53
5.2.	PUBLIKACJA [D2]	61
5.3.	PUBLIKACJA [D3]	75
5.4.	PUBLIKACJA [D4]	86
5.5.	PUBLIKACJA [D5]	99
6.	PODSUMOWANIE I WNIOSKI	113
7.	BIBLIOGRAFIA	115
8.	NAJWAŻNIEJSZE OSIĄGNIĘCIA BADAWCZE	135
8.1.	Publikacja [D1] – Załącznik 1	135
8.2.	Publikacja [D2] – Załącznik 2	156
8.3.	Publikacja [D3] – Załącznik 3	178
8.4.	Publikacja [D4] – Załącznik 4	197
8.5.	Publikacja [D5] – Załącznik 5	219
9.	DOROBK NAUKOWY	247
10.	OŚWIADCZENIA DOTYCZĄCE UDZIAŁU PROCENTOWEGO WSPÓŁAUTORÓW W TWORZENIU ARTYKUŁÓW	253
10.1.	PUBLIKACJA [D1]	253
10.2.	PUBLIKACJA [D2]	259
10.3.	PUBLIKACJA [D3]	266
10.4.	PUBLIKACJA [D4]	273
10.5.	PUBLIKACJA [D5]	284

STRESZCZENIE

Praca doktorska koncentruje się na opracowaniu biokompozycji polimerowych i hybrydowych nanobiokompozytów polimerowych na osnwie kwasu poli(3-hydroksymasłowego), (P3HB), będącego jednym z najbardziej obiecujących, biodegradowalnych polimerów pochodzenia naturalnego.

Celem badań było zwiększenie możliwości przetwarzania i funkcjonalności P3HB poprzez jego modyfikację za pomocą termoplastycznego poliuretanu oraz termoplastycznego poliuretanu i nanododatku w postaci organicznie modyfikowanego montmorylonitu (MMT). Przeprowadzono szczegółową analizę wpływu tych modyfikacji na mieszalność, strukturę, morfologię, właściwości mechaniczne, cieplne, przetwórcze i termodegradacyjne materiałów, co pozwoliło na zaprojektowanie nowych, ekologicznych biokompozycji polimerowych i hybrydowych nanobiokompozytów polimerowych o potencjalnym zastosowaniu w przemyśle biomedycznym, opakowaniowym oraz ogrodnictwie czy rolnictwie.

W części literaturowej omówiono właściwości i metody syntezy naturalnych poliestrów alifatycznych - poli(hydroksyalkanianów) (PHA), ze szczególnym uwzględnieniem P3HB jako najbardziej obiecującego poliestru w szerokim komercyjnym zastosowaniu ze względu na jego właściwości i największe możliwości wytwarzania. Przedstawiono także metody modyfikacji właściwości P3HB, obejmujące wytwarzanie jego kopolimerów z innymi hydroksykwasami, blend polimerowych oraz nanokompozytów na osnwie P3HB, które pozwalają na poprawę jego właściwości fizykochemicznych.

Szczególną uwagę zwrócono na zastosowanie termoplastycznych poliuretanów oraz montmorylonitu jako środków modyfikujących strukturę i funkcjonalność PHA, co stanowiło punkt wyjścia do eksperymentalnej części pracy dotyczącej P3HB.

Część badawcza obejmowała syntezę poliuretanów (PU) z udziałem glikoli polietylenowych (PEG), glikoli polipropylenowych (PPG) oraz butano-1,4-diolu (BD) oraz 1,6-diizocyjanianu heksametylenu (HDI) i 4,4'-diizocyjanianu difenylometanu (MDI), a także ich wprowadzenie do matrycy P3HB poprzez mieszanie bezpośrednie w stanie stopionym. Sprawdzono wpływ rodzaju i ilości poliuretanu na właściwości wytwarzanych biokompozycji polimerowych P3HB-PU.

Ponadto biokompozycje polimerowe P3HB-PU wzbogacono w nanonapełniacz w postaci modyfikowanego organicznie za pomocą czwartorzędowych kationów amoniowych montmorylonitu (Cloisite®30B), uzyskując hybrydowe nanobiokompozyty polimerowe. Charakterystyka uzyskanych materiałów obejmowała badania spektroskopowe (FT IR), termiczne (TGA, DSC), strukturalne (SAXS, SEM, TEM) oraz mechaniczne, w tym testy wytrzymałości na rozciąganie, uderzenie i twardość. Dla wybranych materiałów przeprowadzono analizę podatności na biodegradację, chropowatości powierzchni i kąta zwilżania oraz ocenę

biokompatybilności wybranych materiałów na liniach ludzkich fibroblastów skóry i keratynocytów.

Wprowadzenie poliuretanu, zarówno alifatycznego jak i aromatycznego, do matrycy P3HB, w ilości w zakresie 5-20 % mas., poprawia właściwości przetwórcze poliestru, poszerzając znacznie jego okno przetwarzania poprzez podwyższenie temperatury degradacji i zazwyczaj obniżenie temperatury topnienia. Ponadto obecność poliuretanu, zwłaszcza alifatycznego, zmniejsza twardość P3HB, a dodatek poliuretanu aromatycznego zwiększa znacząco odporność na uderzenia tego poliestru. Dodatek montmorylonitu, w ilości w zakresie 1-3 % mas. wpływa również pozytywnie na właściwości wytwarzanych nanobiokompozytów hybrydowych, zwłaszcza z udziałem poliuretanu alifatycznego jako modyfikatora, zwiększając ich stabilność termiczną oraz poprawiając właściwości mechaniczne poprzez efekt wzmacniający na poziomie nanostruktury. Analiza podatności na biodegradację wykazała, że mimo zastosowanych modyfikacji w formie trudno degradowalnego poliuretanu czy poliuretanu i mineralnego nanododatku, otrzymane materiały nadal charakteryzują się zdolnością do biodegradacji w środowisku naturalnym, co podkreśla ich ekologiczny, zrównoważony charakter. Otrzymane biokompozycje zawierające poliuretan aromatyczny oraz nanobiokompozyty charakteryzują się niskim poziomem cytotoksyczności. Zastosowanie poliuretanu, zarówno samodzielnie, jak i w połączeniu z nanododatkiem, powoduje stopniowe obniżanie biokompatybilności materiałów, przy czym nadal pozostaje ona na akceptowalnym poziomie dla zastosowań biomedycznych.

Uzyskane wyniki potwierdziły, że zaprojektowane biokompozycje polimerowe i hybrydowe nanobiokompozyty polimerowe na osnowie P3HB wykazują istotnie lepsze właściwości użytkowe niż natywny P3HB, co czyni je atrakcyjnymi kandydatami do zastosowań w biomedycynie, przemyśle opakowaniowym oraz jako nowoczesnych, ekologicznych materiałów dla rolnictwa i ogrodnictwa.

Praca ma istotny wkład w rozwój inżynierii chemicznej w zakresie kompleksowego i systematycznego opisu wytwarzania kompozycji polimerowych i kompozytowych materiałów polimerowych o pożądanych właściwościach wytrzymałościowych, biodegradowalności i odpowiedniej trwałości. Problemy naukowe opisane w ramach pracy poszerzają wiedzę z zakresu nauk podstawowych oraz będą wsparciem w pracach o charakterze technologicznym.

Dalsze badania powinny skupić się na optymalizacji metod ich wytwarzania oraz analizie zachowania tych materiałów w rzeczywistych warunkach aplikacyjnych.

ABSTRACT

The doctoral dissertation focuses on the development of polymer biocomposites and hybridised polymer nanobiocomposites based on poly(3-hydroxybutyrate) matrix, (P3HB), which is one of the most promising biodegradable polymers of natural origin.

The aim of this study was to enhance the processability and functionality of P3HB by modifying it with thermoplastic polyurethane and thermoplastic polyurethane and a nano-additive in the form of organically modified montmorillonite (MMT). A detailed analysis of the effects of these modifications on the miscibility, structure, morphology, mechanical, thermal, processing and degradation properties of the materials was carried out, allowing the design of new eco-friendly polymer biocomposites and hybrid polymer nanobiocomposites with potential applications in the biomedical, packaging and horticultural or agricultural industries.

The literature review discusses the properties and methods of synthesis of natural aliphatic polyesters - poly(hydroxyalkanoates) (PHAs), with particular emphasis on P3HB as the most promising polyester for broad commercial application due to its properties and the greatest potential for production. Methods for modifying the properties of P3HB, including the production of its copolymers with other hydroxyalkanoates, polymer blends and P3HB-matrixed nanocomposites to improve its physicochemical properties, are also presented.

Particular attention was paid to the use of thermoplastic polyurethanes and montmorillonite as modifying agents for PHA structure and functionality, which was the starting point for the experimental part of the work on P3HB.

The research part involved the synthesis of polyurethanes (PUs) based on polyethylene glycols (PEG), polypropylene glycols (PPG) and butane-1,4-diol with hexamethylene 1,6-diisocyanate (HDI) and diphenylmethane 4,4'-diisocyanate (MDI), and their incorporation into the P3HB matrix by melt blending. The effect of the type and amount of polyurethane on the properties of the produced polymer biocompositions was tested.

In addition, the P3HB-PU polymer compositions were enriched with a nanofiller in the form of montmorillonite (Cloisite®30B) modified organically with quaternary ammonium cations, yielding hybrid polymer nanobiocomposites. Characterisation of the obtained materials included spectroscopic (FT IR), thermal (TGA, DSC), structural (SAXS, SEM, TEM) and mechanical tests, including tensile strength, impact strength and hardness tests. In addition, biodegradability, surface roughness and wetting angle were analysed and the biocompatibility of selected materials was assessed on human skin fibroblast and keratinocyte lines.

The incorporation of polyurethane, both aliphatic and aromatic, into the P3HB matrix in the amount of 5–20 wt.% improves the processing properties of the polyester by significantly widening its processing window through an increase in degradation temperature and, typically, a

reduction in melting temperature. Moreover, the presence of polyurethane, particularly aliphatic polyurethane, reduces the hardness of P3HB, while the addition of aromatic polyurethane significantly enhances the impact resistance of the polyester.

The addition of montmorillonite in the amount of 1–3 wt.% also positively influences the properties of the resulting hybrid nanobiocomposites, especially in systems containing aliphatic polyurethane as a modifier, by increasing their thermal stability and improving mechanical properties through a reinforcement effect at the nanostructural level.

Biodegradability analysis demonstrated that, despite the incorporation of poorly degradable polyurethane and the mineral nanofiller, the resulting materials still exhibit the ability to degrade under natural environmental conditions, highlighting their ecological and sustainable character. The obtained biocomposites containing aromatic polyurethane and nanobiocomposites are characterized by a low level of cytotoxicity. The use of polyurethane, either alone or in combination with the nanofiller, results in a gradual decrease in the biocompatibility of the materials; however, it remains at an acceptable level for biomedical applications.

The results obtained confirmed that the designed polymer biocomposites and hybrid polymer nanobiocomposites based on P3HB matrix show significantly better performance properties than native P3HB, making them attractive candidates for applications in biomedicine, packaging industry and as modern green materials for agriculture and horticulture.

The work has a significant contribution to the development of chemical engineering in the field of comprehensive and systematic description of the production of polymer compositions and composite polymer materials with desired strength properties, biodegradability and appropriate durability. The scientific problems described in the work expand the knowledge in the field of basic science and will support technological work.

Further research should focus on optimising their fabrication methods and analysing the behaviour of these materials under real application conditions.

1. WYKAZ SKRÓTÓW/AKRONIMÓW

3HH	- kwas 3-hydroksyheksanowy
3HV	- kwas 3-hydroksywalerianowy
4HB	- kwas 4-hydroksymasłowy
ABS	- terpolimer akrylonitrylowo-butadienowo-styrenowy
AgNPs	- nanocząstki srebra
DBTL	- dilaurynian dibutylocyny(IV)
DI	- stopień dyspersji
DMF	- N,N-dimetyloformamid
GPC	- chromatografia żelowa
GnP	- nanopłytki grafenu
HDI	- 1,6-diizocyjanian heksametylenu
HDPE	- polietylen o wysokiej gęstości
LIC	- liczba izocyjanianowa
LCL-PHA	- poli(hydroksyalkaniany) długołańcuchowe
LDPE	- polietylen o niskiej gęstości
MCL-PHA	- poli(hydroksyalkaniany) średniołańcuchowe
MDI	- 4,4'- diizocyjanian difenylometanu
MMT	- montmorylonit
M_n	- liczbowo średnia masa cząsteczkowa
M_w	- wagowo średnia masa cząsteczkowa
P3HB	- kwas poli(3-hydroksymasłowy), kwas poli(3-hydroksybutanowy)
P3HD	- kwas poli(3-hydroksydekanowy)
P3HDD	- kwas poli(3-hydroksydodekanowy)
P3HHp	- kwas poli(3-hydroksyheptanowy)

P3HHx	- kwas poli(3-hydroksyheksanowy)
P3HN	- kwas poli(3-hydroksynonanowy)
P3HO	- kwas poli(3-hydroksyoktanowy)
P3HP	- kwas poli(3-hydroksypropionowy)
P3HUN	- kwas poli(3-hydroksyundekanowy)
P3HV	- kwas poli(3-hydroksywalerianowy)
P4HB	- kwas poli(4-hydroksymasłowy)
P5HV	- poli(5-hydroksywalerianowy)
PASP	- kwas poliasparaginowy
PBS	- poli(bursztynian butylenu)
PBAT	- poli(adypinian 1,4-butyleno-co-tereftalan 1,4-butyleno)
PBT	- poli(tereftalan 1,4-butyleno)
PC	- poliwęglan
PCL	- poli(ϵ -kaprolakton)
PE	- polietylen
PEG1000	- glikol polietylenowy o masie molowej 1000 g
PEG1500	- glikol polietylenowy o masie molowej 1500g
PEG400	- glikol polietylenowy o masie molowej 400 g
PET	- poli(tereftalan etylenu)
PHA	- poli(hydroksyalkaniany)
PHBO	- kwas poli(3-hydroksymasłowy-co-3-hydroksyoktanowy)
PHBod	- kwas poli(3-hydroksymasłowy-co-3-hydroksyoktadekanowy)
PHBV	- poli(kwas 3-hydroksymasłowy-co-3-hydroksywalerianowy)
PLA	- polilaktyd
PMC	- kompozyt z osnową polimerową
PMMA	- poli(metakrylan metylu)

PNM	- nanokompozyt na osnowie polimerowej
POM	- mieszanki polimerowe
PP	- polipropylen
PPG400	- glikol polipropylenowy o masie molowej 400 g
PS	- polistyren
PU	- poliuretany
PU1000	- poliuretan wytworzony z udziałem PEG1000
PU1500	- poliuretan wytworzony z udziałem PEG1500
PU400	- poliuretan wytworzony z udziałem PEG400
PVA	- poli(alkohol winylowy)
PVAc	- poli(octan winylu)
PVC	- poli(chlorek winylu)
Ra	- średnia arytmetyczna chropowatości
Rc	- średnia wysokość elementów profilu mierzonych na odcinku próbkowania
ROP	- polimeryzacja z otwarciem pierścienia
Rp	- średnia wysokość szczytu; średnia wysokość szczytów powyżej linii środkowej
Rq	- średnie odchylenie kwadratowe podczas pomiaru chropowatości
Rsm	- szerokość profilu chropowatości
Rv	- średnia głębokość dolin
Rz	- maksymalna wysokość profilu
SCL-PHA	- poli(hydroksyalkaniany) krótkołańcuchowe
SAXS	- wąskokątowe rozpraszanie promieniowania rentgenowskiego
SEM	- skaningowa mikroskopia elektronowa
TDI	- diizocyjanian toluenu
T_g	- temperatura zeszklenia
TGA	- analiza termogravimetryczna
T_{max}	- temperatura najszybszego rozkładu
T_{on}	- temperatura początku rozkładu
TPU	- termoplastyczny poliuretan
T_{x%}	- temperatura, w której następuje x% ubytku masy
ZMMT	- zmodyfikowany montmorylonit

2. CZĘŚĆ LITERATUROWA

2.1. Biopolimery

W ostatnich latach zauważalny jest wzrost produkcji materiałów opartych na pochodnych ropy naftowej, szczególnie w sektorze opakowaniowym. Tworzywa sztuczne, będące głównie produktami ropopochodnymi, stanowią istotny element codziennego życia, jednak stają się również głównym źródłem odpadów. Zgodnie z danymi Komisji Europejskiej z 2023 roku, w Europie rocznie powstaje 26 mln ton odpadów, a prawie 80% odpadów, które zanieczyszczają morza, pochodzi z tworzyw sztucznych produkowanych z ropy naftowej [1]. W związku z rosnącym zanieczyszczeniem środowiska i chęcią zmniejszenia emisji gazów cieplarnianych, naukowcy i przemysł wspólnie opracowują różne sposoby, które mogą pomóc w rozwiązaniu tego problemu. Jednym z nich są bioplastiki – tworzywa sztuczne wytwarzane całkowicie lub częściowo z surowców naturalnych [2]. Przyjazne dla środowiska, biodegradowalne biopolimery produkowane przez mikroorganizmy stanowią alternatywę dla tworzyw sztucznych pochodzących z węglowodorów, a tym samym przyczyniają się do zmniejszenia stosowania tradycyjnych polimerów. Biopolimery lub tak zwane „zielone polimery” można pozyskiwać, wykorzystując zasoby odnawialne.

Biopolimery są ogólnie definiowane jako polimery pochodzące ze źródeł naturalnych, które są albo syntetyzowane z materiału pochodzenia naturalnego, albo biosyntetyzowane przez organizmy żywe, takie jak rośliny, zwierzęta i mikroorganizmy takie jak bakterie, drożdże i gatunki pleśni [3, 4]. Zgodnie z normą [5], podkreślającą rolę substratów używanych w ich produkcji, biopolimery to polimery produkowane z odnawialnych źródeł [6]. Biopolimery to również polimery, które ostatecznie całkowicie rozkładają się w środowisku – w glebie lub w wodzie – pod wpływem działania mikroorganizmów, zwykle w ciągu sześciu miesięcy [7].

Biodegradowalne polimery najczęściej są produkowane z surowców roślinnych, ale mogą też być pozyskiwane z bakterii, grzybów czy pancerzy skorupiaków. Część biodegradowalnych polimerów powstaje również z ropy naftowej – są to głównie alifatyczne poliestry oraz ich kopolimery, takie jak poli(ϵ -kaprolakton) (PCL), poli(bursztynian butylenu), (PBS), a także poli(alkohol winylowy), (PVA) oraz jego mieszaniny z poli(adypinianem butylenu) czy z poli(tereftalanem butylenu), (PBT).

Do drugiej grupy zaliczamy polimery, które nie są biodegradowalne, ale ich źródłem są surowce odnawialne. Przykładem może być polietylen wytwarzany z etenu uzyskanego z etanolu roślinnego czy poli(tereftalan etylenu), (PET), którego składniki – glikol etylenowy i kwas tereftalowy – pochodzą odpowiednio z bioetanolu oraz ze źródeł petrochemicznych [8]. Innym przykładem jest syntetyczny poli(furanian etylenu) wytwarzany wyłącznie z roślinnych surowców.

Przedstawicielem biopolimerów pochodzących z surowców petrochemicznych są poliestry alifatyczne takie jak PCL. Modyfikacja poliestrów alifatycznych poprzez dodanie monomerów alifatycznych lub aromatycznych, jak w przykładzie poli(adypinianu 1,4-butyleno-co-tereftalanu 1,4-butyleno), (PBAT), pozwala na poprawę ich właściwości mechanicznych, przy jednoczesnym zachowaniu cech biodegradowalnych, co jest ważne w kontekście zastosowań takich jak opakowania ekologiczne [9]. Kwas poliasparaginowy, (PASP) to również przykład interesującego biopolimeru, którego wieloetapowy proces produkcji pokazuje, jak złożone mogą być metody wytwarzania biopolimerów [10].

Trzecią grupę stanowią biodegradowalne polimery naturalnego pochodzenia, takie jak kwas polimlekowy, (PLA), estry celulozy, termoplastyczna skrobia, P3HB oraz inne poli(hydroksyalkaniiny) – bakteryjne kopoliestry alifatyczne.

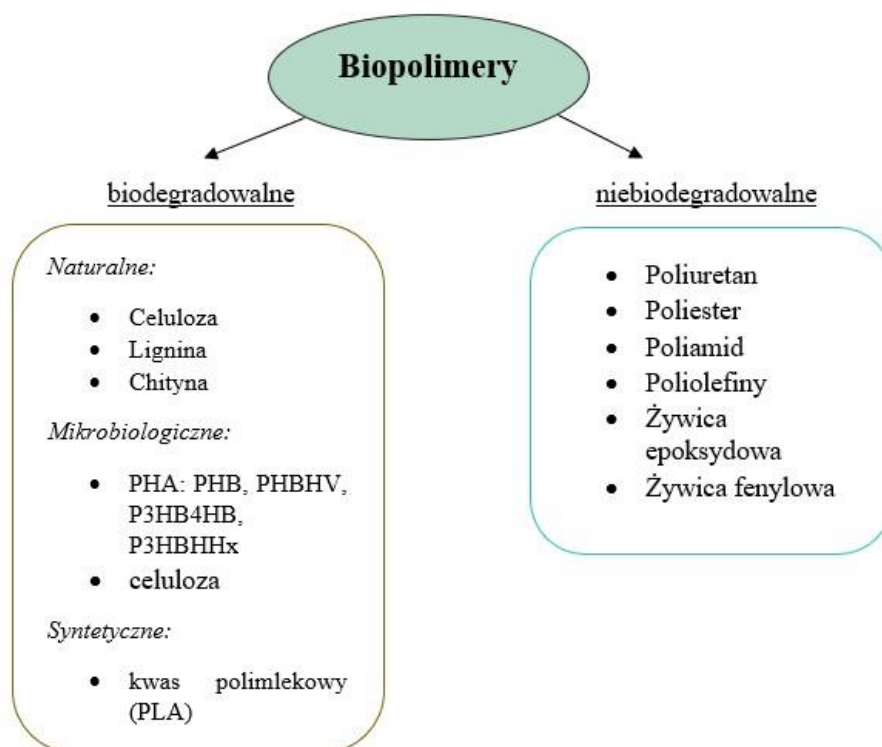
Biopolimery to materiały o naturalnym pochodzeniu lub charakteryzujące się zdolnością do biodegradacji i kompostowania, co sprawia, że mogą częściowo zastępować syntetyczne tworzywa sztuczne produkowane z nieodnawialnych surowców. Zainteresowanie biopolimerami rośnie, ponieważ oferują one liczne korzyści, m. in. możliwość rozkładu przez mikroorganizmy do nieszkodliwych substancji, takich jak woda czy dwutlenek węgla. Dodatkowo, biopolimery są coraz częściej wykorzystywane w produkcji opakowań do kontaktu z żywnością oraz w aplikacjach biomedycznych, dzięki takim właściwościom jak biokompatybilność, nietoksyczność i brak toksycznych produktów rozkładu [11].

Biopolimery występują powszechnie w organizmach żywych i pełnią funkcje strukturalne, enzymatyczne, magazynowe, a także odpowiadają za przechowywanie i przekazywanie informacji genetycznych. Są to duże cząsteczki powstające w wyniku polimeryzacji monomerów, takich jak aminokwasy, nukleotydy czy sacharydy, tworzące odpowiednio polipeptydy, polinukleotydy i polisacharydy [12]. Wiązania między monomerami w biopolimerach są stosunkowo słabe, co sprawia, że są one podatne na rozkład pod wpływem czynników takich jak powietrze, światło, ciepło czy mikroorganizmy [13].

Biopolimery można klasyfikować biorąc pod uwagę ich pochodzenie, strukturę chemiczną i właściwości, a także ich zastosowania przemysłowe [14]. Najczęściej dzieli się je według pochodzenia na naturalne, mikrobiologiczne i syntetyczne [15] oraz zdolności do biodegradacji na biodegradowalne i niebiodegradowalne, co zostało przedstawione na rysunku 1 [16].

Wśród polimerów biodegradowalnych najłatwiej ulegają biodegradacji te, które odznaczają się brakiem bocznych odgałęzień (możliwie jak największa liniowość łańcucha), co ułatwia działanie enzymów na makrocząsteczki. Podatność na atak mikroorganizmów jest ponadto tym większa, im więcej w łańcuchu polimeru znajduje się grup chemicznych wrażliwych na takie działanie, np. grup estrowych, hydroksylowych, karboksylowych, eterowych [17]. Ważny jest również stopień krystaliczności, ciężar cząsteczkowy i brak obecności wiązań sieciujących

[18]. Przebieg biodegradacji zależy wreszcie od takich czynników jak rodzaj aktywnych mikroorganizmów, warunki środowiskowe oraz kształt gotowego wyrobu [19, 20].



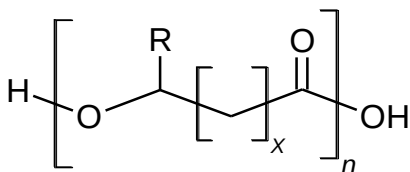
Rysunek 1. Przykładowy podział biopolimerów w oparciu o zdolność do biodegradacji [16]

Do szczególnie ważnych biopolimerów należą kwas PLA oraz PHA, które ze względu na swoje właściwości oraz potencjał zastosowania są szeroko badane i wykorzystywane w różnych dziedzinach. Oba te materiały są biodegradowalne, co czyni je obiecującymi alternatywami dla tradycyjnych tworzyw sztucznych [21]. PHA, stanowią przyszłość dla bardziej zrównoważonej produkcji plastiku. Ich "podwójnie zielony" charakter – będąc zarówno surowcem odnawialnym, jak i produktem biodegradowalnym – czyni je szczególnie atrakcyjnymi w kontekście ochrony środowiska.

2.2. Charakterystyka poli(hydroksyalkanianów)

Poli(hydroksyalkaniany) to poliestry alifatyczne (rys. 2) stanowiące jedną z najważniejszych biodegradowalnych grup materiałów polimerowych [22, 23]. PHA należą do rodziny związków, w której skład wchodzi około 150 struktur, co pozwala zaliczyć je do najbardziej licznej grupy poliestrów naturalnych [24-27]. W przyrodzie pochodne β -hydroksy-kwasów stanowią główne źródła pozyskiwania atomów węgla i materiału zapasowego bakterii, które to źródła są uzyskiwane za pomocą genetycznej modyfikacji roślin lub w wyniku procesów

mikrobiologicznych. PHA to biopolimery, które ze względu na bardzo szeroki zakres przewidywanych zastosowań, mogą być alternatywą dla obecnie produkowanych i stosowanych tworzyw sztucznych [28-30].



Rysunek 2. Ogólny wzór półstrukturalny PHA, R – grupa alkilowa

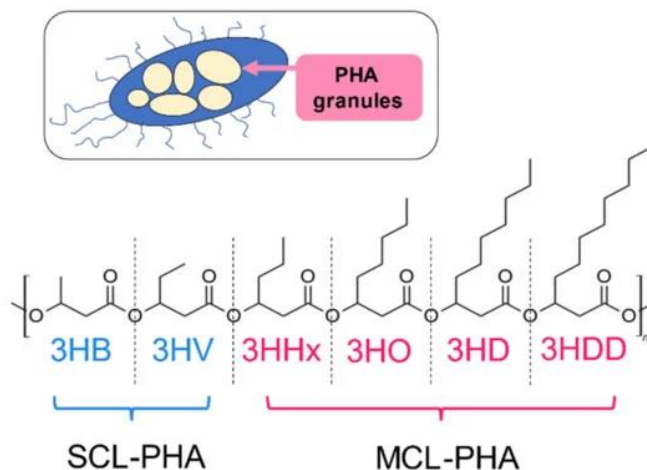
PHA mają właściwości, które wyróżniają je spośród innych materiałów naturalnych, m.in. są biokompatybilne, nietoksyczne oraz łatwo ulegają degradacji enzymatycznej, co stwarza możliwości zastosowania ich w wielu dziedzinach gospodarki i przemysłu. W warunkach przemysłowego kompostowania, zgodnie z normą [31], końcowymi produktami degradacji PHA są dwutlenek węgla i woda. Podczas hydrolizy biopoliestrów w środowisku kwaśnym powstają produkty o końcowych grupach hydroksylowych i karboksylowych, a w środowisku zasadowym produkty z grupami hydroksylowymi i karboksylanowymi. Mikrostruktura PHA nie ma znaczącego wpływu na mechanizm degradacji hydrolitycznej [32, 33]. PHA ulega również degradacji termicznej, w której mechanizm cis-eliminacji prowadzi do powstawania oligomerów z grupami alkenowymi i karboksylowymi. Użycie zasady jako katalizatora w tej reakcji pozwala na uzyskanie oligomerów o określonych właściwościach [34-36]. Degradacja termiczna PHA zachodzi poprzez mechanizm eliminacji jednocząsteczkowej ze skoniungowaną zasadą (E1cB). Na przykład pirolityczny rozkład P3HB prowadzi w dużej mierze do kwasu krotonowego, który może być przekształcony w krotoniany metylu lub butylu w wyniku transestryfikacji. Krotoniany te mogą służyć jako surowce do syntezy akrylanów, bezwodnika maleinowego czy butan-1-olu oraz propenu w procesie metatezy. W badaniach przeprowadzonych w warunkach zasadowych z użyciem promieniowania mikrofalowego, produkty degradacji P3HB obejmują kwasy krotonowy, 3-hydroksymasłowy oraz 3-metoksymasłowy [37].

PHA to naturalne materiały, łatwo ulegające procesom biodegradacji, która zachodzi pod wpływem bakterii obecnych w ściekach, glebie lub wodach powierzchniowych. Do organizmów eukariotycznych degradujących PHA należą również kosmopolityczne grzyby z rodzajów *Penicillium* czy *Aspergillus* [38]. Ostatecznymi produktami biodegradacji PHA są woda i tlenek węgla(IV) [38, 39].

W zależności od długości łańcucha monomeru PHA dzielimy na następujące grupy (rys. 3):

1. SCL-PHA - poliestry krótkołańcuchowe zawierające w cząsteczce monomeru od 3 do 5 atomów węgla;

2. MCL-PHA – poliestry średniołańcuchowe, zawierające w cząsteczce monomeru od 6 do 14 atomów węgla;
3. LCL-PHA– poliestry długołańcuchowe zawierające w cząsteczce monomeru 15 lub więcej atomów węgla.



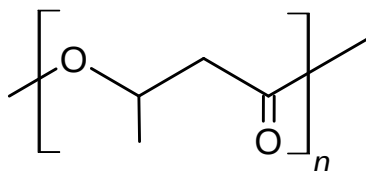
Rysunek 3. Monomery PHA z powtarzalnymi jednostkami monomeru SCL i MDL. **SCL** (ang. Short Chain Length) – pochodne krótkołańcuchowych hydroksykwasów składające się od 3 do 5 atomów C w jednostce monomerycznej; **MCL** (ang. Medium Chain Length) – składające się z 6 do 14 atomów C w jednostce monomerycznej [35]

Długość łańcucha polimerowego warunkuje właściwości fizyczne PHA. Jednostka monomeru zbudowana jest z łańcucha bocznego (R), którą najczęściej stanowi nasycona grupa alkilowa, łańcuchem boczny monomeru PHA może być również nienasycona, podstawiona lub rozgałęziona grupa alkilowa. Polimery te zbudowane są z około 600 do 35 000 jednostek monomeru [35, 40-42].

Właściwości fizykochemiczne PHA w głównej mierze zależą od źródła węgla, użytego podczas hodowli oraz mikroorganizmów zastosowanych do ich syntezy [29, 43]. PHA mogą być syntetyzowane jako homopolimery, kopolimery lub mieszanki, w zależności od użytego szczepu bakterii lub podłoża wzrostu. Najlepiej poznanym przedstawicielem PHA jest P3HB. Do przedstawicieli innych homopolimerów należą: kwas poli(4-hydroksymasłowy) (P4HB), kwas poli(3-hydroksypropionowy) (P3HP), kwas poli(3-hydroksywalerianowy) (P3HV), kwas poli(5-hydroksywalerianowy) (P5HV), kwas poli(3-hydroksyheksanowy) (P3HHx), kwas poli(3-hydroksyheptanowy) (P3HHp), kwas poli(3-hydroksyoktanowy) (P3HO), kwas poli(3-hydroksynonanowy) (P3HN), kwas poli(3-hydroksydekanowy) (P3HD), kwas poli(3-hydroksyundekanowy) (P3HUN), kwas poli(3-hydroksydodekanowy) (P3HDD). Homopolimery te niestety nie zostały do tej pory w pełni zbadane ze względu na ich bardzo małą zawartość w komórkach mikroorganizmów.

Głównym i najbardziej popularnym przedstawicielem grupy PHA jest kwas poli(3-hydroksymasłowy) (P3HB), którego budowę przedstawiono na rysunku 4 [44]. P3HB zaliczany jest do grupy polimerów podwójnie zielonych, z uwagi na fakt, iż jest biodegradowalny, a także

biosyntezywalny. Ponadto P3HB należy do grupy polimerów termoplastycznych. Ten poliestr to ciało stałe rozpuszczalne w wielu rozpuszczalnikach organicznych m. in. w dichlorometanie, chloroformie, chlorku metylenu i tetrahydrofuranie, natomiast nie rozpuszcza się w wodzie i toluenie. P3HB charakteryzuje się dużym udziałem fazy krystalicznej (do 80 %), co powoduje dużą sztywność i kruchość. Temperatura zeszklenia tego polimeru mieści się w zakresie 0 – 5°C, a temperatura topnienia wynosi około 170°C.

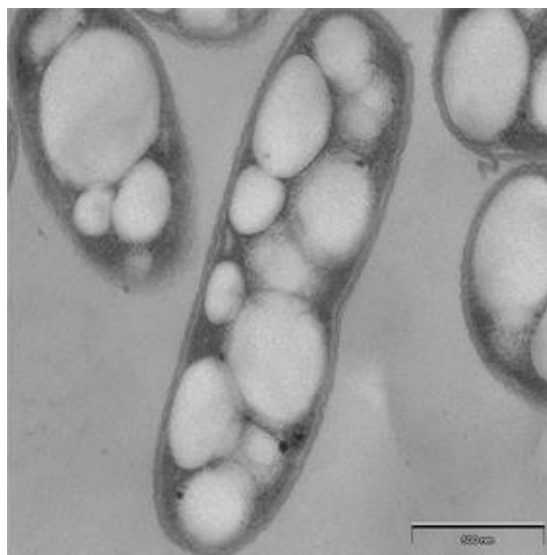


Rysunek 4. Wzór półstrukturalny P3HB

P3HB może być przetwarzany w bardzo wąskim zakresie temperatury, ponieważ temperatura jego termicznego rozkładu jest jedynie o 10°C wyższa od temperatury topnienia. Temperatura topnienia i temperatura zeszklenia, właściwości mechaniczne oraz stopień krystaliczności i wysoka odporność na promieniowanie UV sprawiają, że P3HB wykazuje zespół cech podobnych do izotaktycznego polipropylenu, (PP) [44]. Ponadto wartości wytrzymałości na zerwanie (ok. 40 MPa) oraz moduł Younga o wartości 3,5 MPa również potwierdzają podobieństwo cech do PP. Istotną różnicę pomiędzy P3HP a PP stanowi wartość wydłużenia na zerwanie, gdyż dla P3HB parametr ten wynosi poniżej 5 %, podczas gdy dla PP wynosi aż 150 – 600 % [45, 46]. P3HB charakteryzuje się średnią masą cząsteczkową na poziomie 6 - 16·10⁵ g/mol [47, 48]. Masa cząsteczkowa P3HB warunkuje jego właściwości termomechaniczne i biodegradowalność. Do wad P3HB możemy zaliczyć dużą sztywność, kruchość oraz niską stabilność termiczną [49-52].

2.3. Otrzymywanie poli(hydroksyalkanianów)

W latach 50-tych XX wieku pojawiły się doniesienia mówiące o zdolności bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych do magazynowania węgla i energii w formie P3HB. Polimer jest produkowany przez bakterie takie jak *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Escherichia* oraz *Ralstonia*. Bakterie wykorzystują go jako swój materiał zapasowy [35-37]. P3HB umiejscowiony jest w cytoplazmie bakterii w postaci granulek. Granulki P3HB zostały przedstawione na rysunku 5. Materiał zapasowy (P3HB) wykorzystywany jest przez mikroorganizmy w sytuacji braku składników odżywczych (fosforu, azotu i siarki) przy jednoczesnym nadmiarze źródeł węgla [28, 47, 53].



Rysunek 5. Zdjęcie bakterii Rhodobacter z widocznym materiałem zapasowym [52]

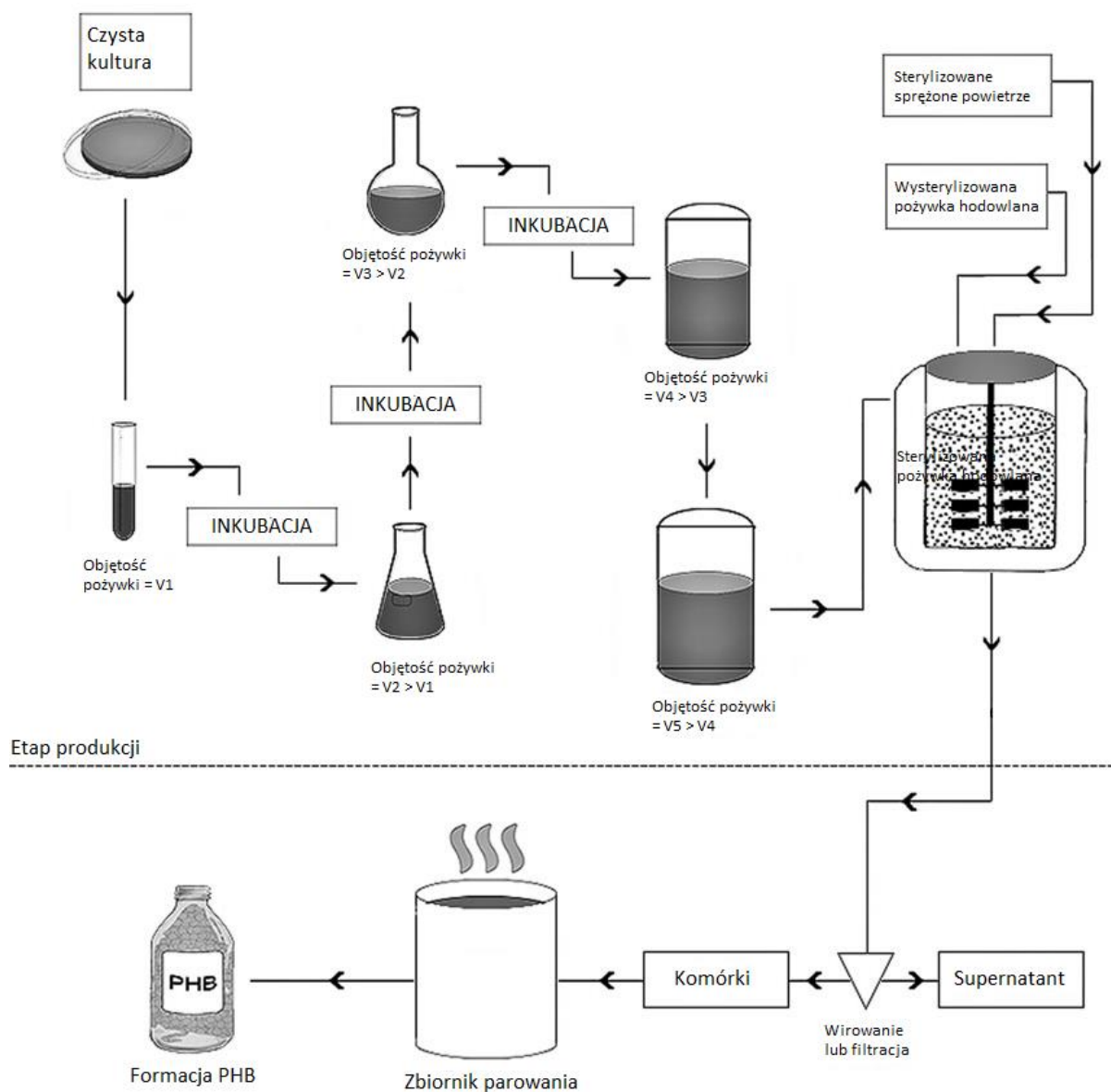
Fermentacja bakteryjna wykorzystująca różne źródła węgla jest główną metodą otrzymywania PHA, w tym także P3HB [55]. Odpowiednie bakterie poddaje się hodowli w bioreaktorach przy nieograniczonym dostępie źródeł węgla z jednoczesnym ograniczeniem niektórych składników odżywczych jak np. azot [56]. Podczas procesu prowadzonego w takich warunkach bakterie produkują PHA wewnątrz swoich komórek. Najczęściej stosowanymi źródłami węgla podczas produkcji PHA są cukry (sacharoza, glukoza, fruktoza), oleje roślinne, oraz odpady organiczne, np. melasa buraczana. Wykorzystanie olei roślinnych i tłuszczów, wpływa na wzrost ilości produkowanego PHA, ponieważ dostarczają one mikroorganizmom większej ilości węgla [34].

PHA produkowany jest dwuetapowo [23, 57], co przedstawione zostało na rysunku 6. W pierwszej fazie (fazie wzrostu) źródło węgla jest stale dostarczane przez co dochodzi do intensywnego namnażania się mikroorganizmów. Korzystając z czystej kultury i inkubując w początkowej objętości pożywki (V1), otrzymuje się inokulum wstępne. Po pewnym czasie V1 zwiększa się do większej objętości (V2) i proces ten trwa aż do osiągnięcia objętości V5, co odpowiada końcowemu inokulum. Wytworzone inokulum jest następnie przenoszone do bioreaktora zawierającego sprężone powietrze, a pożywka hodowlana jest sterylizowana w celu zainicjowania procesu wytwarzania biopolimeru.

W drugiej fazie (fazie akumulacji PHA) ogranicza się dostarczanie kluczowych składników (np. azotu, fosforu), co skutkuje syntezą i magazynowaniem przez mikroorganizmy wewnątrz ich komórek PHA, głównie w postaci P3HB.

Kolejno po zakończeniu procesu produkcji P3HB następuje etap oddzielenia biomasy bakterii zawierającej P3HB od pozostałości pofermentacyjnych [30].

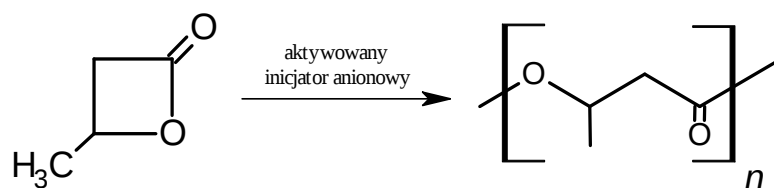
Polimer izoluje się poprzez filtrację lub odwirowanie bakterii od pożywki hodowlanej, a następnie rozpuszczenie P3HB rozpuszczalnikami organicznymi (np. chloroformem), co pozwala na oddzielenie polimeru od pozostałości komórek. W dalszym etapie procesu P3HB jest wytrącane z roztworu za pomocą nie rozpuszczalnika, np. metanolu, suszony i oczyszczany [37]. Proces oczyszczania wyodrębnionego polimeru jest niezwykle istotny ze względu na konieczność usunięcia zanieczyszczeń organicznych utrudniających etap przetwórstwa P3HB [29, 41].



Rysunek 6. Schemat produkcji P3HB wraz z etapem regeneracji i aplikacji [58]

Inną metodą produkcji P3HB jest synteza chemiczna polegająca na anionowej polimeryzacji z otwarciem pierścienia (ROP) β -butyrolaktonu. Schemat syntezy P3HB w reakcji ROP β -butyrolaktonu został przedstawiony na rysunku 7 [38]. W procesie polimeryzacji stosuje

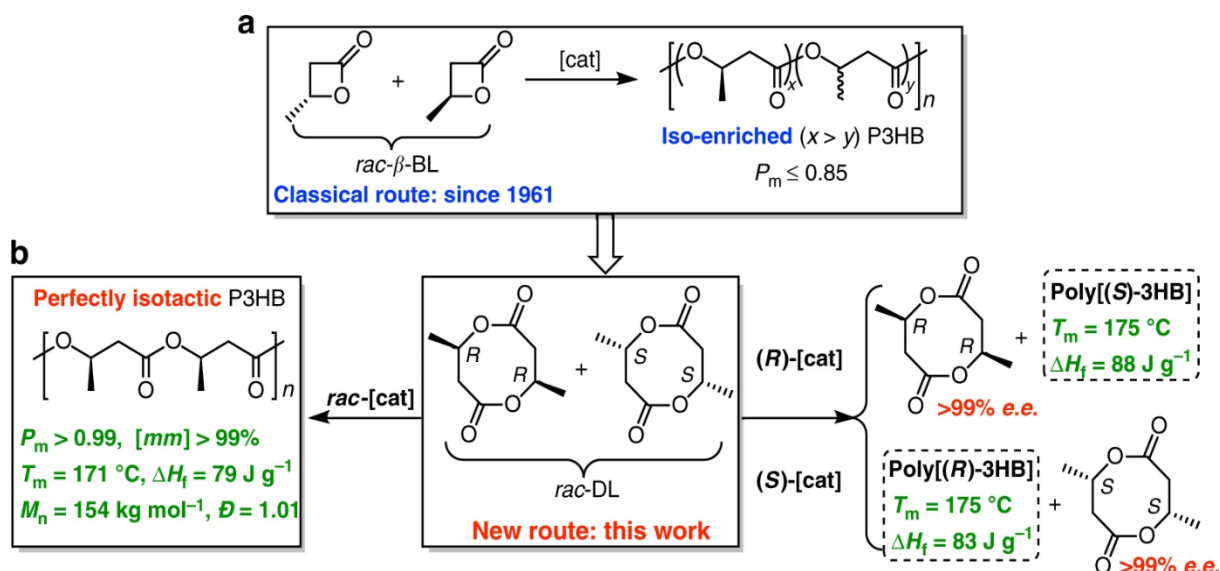
się inicjatory anionowe aktywowane makrocyclicznymi ligandami, takimi jak, np. etery koronowe lub kryptandy.



Rysunek 7. Schemat syntezy P3HB w reakcji polimeryzacji ROP β -butyrolaktonu

Metodę tę wykorzystuje się do otrzymywania P3HB zróżnicowanej mikrostrukturze (ataktycznej, syndiotaktycznej, izotaktycznej), a także o różnych masach molowych i grupach funkcyjnych [59-61].

Na rysunku 8 przedstawiono schemat polimeryzacji z otwarciem pierścienia prowadzącej do uzyskania izotaktycznego P3HB [60].



Rysunek 8. Drogi syntezy chemicznej P3HB: a. klasyczna ścieżka przez polimeryzację z otwarciem pierścienia mieszaniny racemicznej β -butyrolaktonu (*rac*- β -BL). b. nowa droga przez polimeryzację z otwarciem pierścienia racemicznego cyklicznego diolidu (*rac*-DL) prowadzącej do otrzymania idealnie izotaktycznego P3HB [60]

Proces produkcji PHA, w tym P3HB metodą fermentacyjną, nie jest wolny od wad. Główną wadą metody chemicznej jest to, że otrzymany produkt jest zanieczyszczony stosowanymi katalizatorami metalicznymi lub organicznymi [62]. Do wad procesu produkcji PHA można zaliczyć stosunkowo wysoki koszt produkcji, ponieważ otrzymywanie, izolacja i oczyszczanie PHA metodą fermentacji bakteryjnej jest relatywnie droższe w porównaniu do otrzymywania tradycyjnych tworzyw sztucznych produkowanych z wykorzystaniem ropy naftowej. Redukcja kosztów surowców oraz optymalizacja procesów fermentacyjnych są kluczowe, aby uczynić produkcję PHA bardziej opłacalną. Istotnym zagadnieniem jest również przeniesienie technologii

produkcji PHA na skalę przemysłową, przy jednoczesnym zapewnieniu odpowiedniej wydajności i opłacalności [63]. Genetyczna modyfikacja mikroorganizmów oraz roślin może pozytywnie wpłynąć na zwiększenie efektywności produkcji PHA, tym samym zwiększyć skalę produkcji. Produkcja PHA na szeroką skalę stworzy nowe możliwości zastosowania tych biopolimerów.

W obecnym czasie naukowcy intensywnie pracują nad poprawą metod wytwarzania PHA, ze szczególnym uwzględnieniem zastosowania tanich, naturalnych i odnawialnych surowców np. odpadów rolniczych lub przemysłowych [63]. Prace mają na celu rozwinięcie ekologicznych i ekonomicznych metod produkcji PHA spełniających założenia gospodarki o obiegu zamkniętym. W P3HB i pozostałych PHA upatruje się, że będą to materiały przyszłości, które w miarę wzrostu światowego zapotrzebowania na materiały ekologiczne mają realną szansę stać się liderem pod względem zastosowań.

2.3. Modyfikacja właściwości P3HB

Pomimo wielu swoich zalet P3HB nie jest wolny od wad. Wykazuje on dużą sztywność i kruchość. Jego ograniczona stabilność termiczna, bardzo zbliżona do temperatury topnienia i w dużej mierze utrudnia warunki przetwórstwa. Aby poprawić właściwości mechaniczne i parametry przetwórstwa P3HB, poprzez odsunięcie temperatury topnienia od temperatury degradacji, oraz w celu zwiększenia możliwości zastosowań, polimer ten poddaje się licznym modyfikacjom [64, 65].

2.3.1. Kopolimery P3HB

Jedną z możliwości modyfikacji właściwości P3HB jest wytworzenie jego kopolimerów z innymi hydroksykwasami. Obecność innego hydroksyalkanianu w strukturze P3HB umożliwia poprawę niektórych właściwości fizycznych P3HB i pozwala na otrzymanie materiałów o odpowiednich właściwościach, dostosowanych do potrzeb użytkownika. Popularnym przykładem tej metody modyfikacji P3HB jest wykorzystanie kwasu 3-hydroksywalerianowego (3HV). Przeprowadzenie reakcji kopolimeryzacji monomerów tych kwasów, zazwyczaj w proporcji masowej 4 3HB : 1 3HV prowadzi do uzyskania produktu kwasu poli(3-hydroksymasłowego-co-3-hydroksywalerianowego) (PHBV) wykazującego o połowę niższy stopień krystaliczności w porównaniu do niemodyfikowanego P3HB. Temperatura zeszklenia tak otrzymanego produktu nie ulega zmianie, zmienia się natomiast temperatura topnienia polimeru. Obniżenie temperatury topnienia kopolimeru PHBV znacząco poprawia jego warunki przetwórcze, z uwagi na możliwość przetwórstwa w temperaturach niższych niż temperatura rozkładu [66].

W przemyśle produkuje się następujące kopolimery kwasu poli(3-hydroksymasłowy-co-3-hydroksywalerianowy), (PHBV), kwas poli(3-hydroksymasłowy-co-3-hydroksyheksanowy),

(PHBHHx), kwas poli(3-hidroksymasłowy-co-3-hidroksyoktanowy), (PHBO), kwas poli(3-hidroksymasłowy-co-3-hidroksyoktadekanowy), (PHB0d), a także kwas poli(3-hidroksyoktanowy-co-3-hidroksydekanowy), (PHO-co-HD) [41, 67, 68].

Kolejną skuteczną metodą modyfikacji i poprawy właściwości P3HB jest otrzymywanie terpolimerów. Terpolimer P(3HB-co-3HV-co-3HHx) – kwas poli(3-hidroksymasłowy-co-3-hidroksywalerianowy-co-3-hidroksyheksanowy) charakteryzuje się wyższą stabilnością termiczną, ma niższą temperaturę topnienia oraz niższy stopień krystaliczności w porównaniu do P3HB i jego kopolimeru PHBV [69]. Kopolimeryzacja z włączeniem składników PHA, takich jak kwas 3-hidroksywalerianowy (3HV) [70] 4-hidroksymasłowy (4HB) [71] lub 3-hidroksyheksanowy (3HH) [72] również może polepszyć właściwości mechaniczne P3HB [73]. Kopolimery P3HB, których skład stanowi ponad 20 % mas. kwas 4-hidroksymasłowy [74] lub zawierające w sobie jednostki 3-hidroksyalkanianu o długości łańcucha C6-C18 [75], a także kopolimery P3HB o średniej długości łańcucha, takie jak P3HB-P3HH [76] wykazują właściwości elastomeryczne. Pozwala to na zastosowanie wymienionych polimerów w inżynierii tkankowej, gdzie wyjątkowo ważne jest stosowanie polimerów o właściwościach jak najbardziej zbliżonych do właściwości elastomerowych tkanek organizmów żywych.

2.3.2. Blendy polimerowe P3HB

Inną metodą modyfikacji właściwości P3HB jest wytworzenie jego mieszanek z innymi polimerami. Blendy polimerowe to mieszaniny jednorodne makroskopowo składające się z dwóch lub więcej różnych gatunków polimerów [77, 78]. Połączenie dwóch lub więcej polimerów ma na celu polepszenie ich właściwości lub połączenie odpowiednich cech, aby poszerzyć zakres zastosowań otrzymanej kompozycji polimerowej. Konkretnie zastosowania wymagające specyficznych właściwości niejednokrotnie nie mogą zostać spełnione przez jeden polimer. Dodatkowo takie mieszanie polimerów pozwala na optymalizację ich właściwości, przy niższych kosztach wytwarzania. Rozróżniane są dwa rodzaje blend - blendy homogeniczne, jednorodne fazowo mające jedną temperaturę zeszklenia oraz blendy heterogeniczne niejednorodne fazowo [79]. Ilość użytych do produkcji blend składników można tak modyfikować, aby zmieniać właściwości fizyczne w pożądanym kierunku [80]. Efekt modyfikacji właściwości blend jest uzależniony od stopnia mieszalności i kompatybilności zastosowanych polimerów [81]. Zaletą mieszanki polimerowej jest najczęściej poprawa wytrzymałości mechanicznej, odporności na wysoką temperaturę, czy też ułatwienie procesów produkcyjnych [82-84].

Mieszanie PHA z innymi polimerami, zarówno syntetycznymi, jak i naturalnymi, jest powszechną praktyką w celu poprawy ich właściwości użytkowych. Polimerem najczęściej wykorzystywanym do tworzenia blend z P3HB jest PLA. Pierwsze badania nad mieszalnością,

krystalizacją i topnieniem mieszanin PLA/P3HB zostały zbadane przez Blumma i Owena [85]. Ponadto Zhang i współpracownicy [86] dowiedli, że kompozycje P3HB i PLA uzyskane poprzez zmieszane w stanie stopionym wykazywały pewne cechy częściowej mieszalności, takie jak obniżenie temperatury topnienia i zmniejszenie krystaliczności P3HB.

Blendy polimerowe P3HB zawierające w swym składzie PLA zbadane zostały pod kątem elastyczności przy jednoczesnym zachowaniu biodegradowalności. Dodanie elastomerów do P3HB może poprawić ich elastyczność i udurość, co jest bardzo istotne w zastosowaniach, w których materiał musi wytrzymać zmienne warunki mechaniczne, np. części samochodowe, artykuły medyczne [87-91].

Badania mieszalności i właściwości termicznych blend P3HB wytworzonych z udziałem PVAc przeprowadzili Greco i Martusceli za pomocą DSC [78]. Dowiedli, że kompozycje P3HB/PVAc są mieszalne; zaobserwowali pojedyncze przejście szkliste oraz obniżenie temperatury topnienia materiału. W trakcie kolejnych badań porównano izotermiczną i nieizotermiczną krystalizację, a także proces topnienia mieszanek P3HB/PVAc [93, 94]. Badania wykazały, że dodanie PVAc do P3HB powoduje wzrost szybkości krystalizacji. Zwiększenie zawartości PVAc w mieszanke prowadzi do wzrostu gęstości zarodkowania, co z kolei przyspiesza proces krystalizacji. PVAc działa jak "jądro krystalizacji", umożliwiając lepsze formowanie kryształów w matrycy P3HB. Jednak dodanie PVAc do P3HB zmniejsza szybkość krystalizacji w pobliżu przejścia szklistego, co pozwala oczekiwać mniejszej tendencji tych mieszanek do wzrostu kruchości podczas przechowywania w temperaturze pokojowej. Częsteczki PVAc wyłączone z krystalizacji będą działać uelastyczniająco i w ten sposób wzmocnią powstałą kompozycję polimerową [95].

Kolejnym przykładem kompozycji polimerowych jest mieszanka P3HB i PVA. Blendy P3HB i PVA są częściowo mieszalne w fazie amorficznej przy wysokim stężeniu PVA, co sugeruje, że nie tworzą one pełnej, jednorodnej mieszanki, ale mogą tworzyć mieszaniny o częściowej kompatybilności w fazie amorficznej [96]. Zastosowanie gliceryny jako plastyfikatora nie ma znaczącego wpływu na właściwości termiczne mieszanek, z wyjątkiem obniżenia temperatury topnienia frakcji PVA. Testy biodegradacji wykazały, że folie z dominującym udziałem P3HB w mieszanke miały wyższą szybkość degradacji i wyższy końcowy stopień degradacji niż czysta folia P3HB. Folie z wyższą zawartością PVA ulegały degradacji w większym stopniu niż czysta folia PVA, ale nie zapadały się po 30 dniach, co sugeruje, że PVA może spowolnić proces degradacji w porównaniu do P3HB [97]. Stwierdzono, że lepsza biodegradowalność folii mieszanych może wynikać z mniejszej krystaliczności składników w mieszanke. Bardziej amorficzne materiały są bardziej podatne na biodegradację, co obserwowali autorzy na szczególnie na początku procesu rozkładu.

Badania przeprowadzone przez Xing'a i współpracowników [98] wskazują na mieszalność P3HB z kopolimerem P(VAc-co-VA), który wykazuje interesujące zmiany fazowe w zależności od

zawartości kopolimeru winylowego. Ich badania wykazały, że wprowadzenie P(VAc-co-VA) do P3HB poprawia właściwości mechaniczne kompozycji i hamuje krystalizację. Może to wynikać z amorficznej struktury P3HB w połączeniu z kopolimerem P(VAc-co-VA), który zmienia charakter tej mieszanki, w zależności od stężenia kopolimeru winylowego.

Natomiast w badaniach przeprowadzonych przez Lotti'ego i współpracowników dotyczących mieszanek P3HB z polimetakrylanem metylu, (PMMA) i polimetakrylanem cykloheksylu, (PCHMA) otrzymano różne wyniki w zależności od składu mieszanek [99]. W wypadku P3HB/PMMA, gdy stężenie P3HB nie przekraczało 20 % mas. obserwowano wytworzenie jednofazowego szkła amorficznego, którego temperatura zeszklenia zależała od składu. Jednak po przekroczeniu tej zawartości P3HB, krystalizacja P3HB była opóźniona, zarówno podczas chłodzenia jak ogrzewania. Co ciekawe, P3HB nie wykazał mieszalności z PCHMA, co skutkowało powstaniem dwóch faz w całym zakresie składu, a krystalizacja P3HB była niezależna od obecności PCHMA.

Iriondo i jego współpracownicy [100] zbadali właściwości termiczne mieszanek poli(p-winylofenolu), PVPh i P3HB za pomocą DSC w całym zakresie składu. Rozważano mieszanki z syntetycznym ataktycznym P3HB oraz bakteryjnym izotaktycznym P3HB. Kompozycje zarówno izotaktycznego P3HB, jak i ataktycznego P3HB z PVPh są mieszalne w całym zakresie składu, co potwierdza pojedyncza T_g o wartości pośredniej w porównaniu do T_g czystych składników.

Garcia-Garcia i współpracownicy [101] wytworzyli mieszanki polimerowe P3HB z PCL przy stosunku masowym 75/25 przez reaktywne wytlaczanie z różną zawartością nadtlenu dikumylu jako kompatybilizatora. Zaobserwowali pozytywny wpływ PCL na właściwości mechaniczne P3HB poprzez wzrost wydłużenia przy zerwaniu i energii pochłoniętej przy uderzeniu oraz obniżenie stopnia krystaliczności P3HB, przy nie pogorszonych właściwościach termicznych materiału.

P3HB mieszano również z innymi polimerami naturalnymi, takimi jak inne PHA, celuloza, chitozan czy chityna. Zmieszanie P3HB z chitozanem powoduje zmniejszenie stopnia krystaliczności P3HB oraz obniżenie temperatury topnienia i zeszklenia. Dodatek chitozanu przyczynia się do zwiększania właściwości hydrofilowych otrzymanego materiału. Z kolei właściwości mechaniczne wytworzonych materiałów zmniejszyły się w porównaniu z P3HB, ale wzrosły w porównaniu z chitozanem, co sugeruje, że P3HB ma właściwości wzmacniające [102, 103].

Całkowicie biodegradowalne kompozycje poliestrowo-polisacharydowe zostały przygotowane jako mieszaniny mikrobiologicznego P3HB z α -chityną i chitozanem przez Ikejima i współpracowników [104]. Badania metodą DSC i FT IR wykazały, że krystalizacja P3HB w tych mieszankach zmniejsza się wraz ze wzrostem udziału polisacharydu. Stwierdzono, że chitozan ma silniejszą zdolność do ograniczenia krystalizacji P3HB niż α -chityna. Zarówno mieszanki

P3HB/chityna, jak i P3HB/chitozan ulegają biodegradacji w środowisku w wodzie, i wykazują szybszą biodegradację niż czyste polimery składowe [105].

Mieszanki P3HB i celulozy wykazują dobre właściwości fizyko-mechaniczne, szczególnie zauważalny jest wzrost wytrzymałości na rozciąganie podobnie jak w wypadku mieszanek P3HB z octanem celulozy [106].

Conti i współpracownicy [107] badali blendy P3HB i kopolimeru P(3HB-co-3HV) zawierającego 10 % mas. 3HV przygotowane przez odlewanie. Stwierdzili, że wytworzone w szerokim zakresie proporcji blendy są mieszalne, temperatura zeszklenia i temperatura topnienia maleją wraz ze wzrostem zawartości P(3HB-co-3HV), a temperatura krystalizacji wzrasta. Jednocześnie zaobserwowali spadek krystaliczności mieszanek o wyższej zawartości kopolimeru.

Analiza danych literaturowych wykazała, że poliuretany nie były używane do modyfikacji właściwości natywnego P3HB poprzez wytworzenie kompozycji binarnych. Frone i współpracownicy [108] modyfikowali właściwości P3HB za pomocą termoplastycznego poliuretanu zawierającego biodegradowalne segmenty PCL lub PCL/PBA jako segment miękkiej w obecności mikrofibrylowanej celulozy. Materiały wytworzono przy użyciu przedmieszki oraz przez bezpośrednie mieszanie. Modyfikatory poprawiły stabilność termiczną PH3B (o 13°C) i nieznacznie zmniejszyły jego lepkość w stanie stopionym, poprawiając przetwarzalność w tym stanie.

Przeprowadzono jednak takie badania, w których P3HB zastosowano do modyfikacji właściwości poliuretanów. Saha i współpracownicy [109] zsyntetyzowali PU z oleju rycynowego i diolu otrzymanego na bazie P3HB z użyciem HDI. Obecność P3HB znacząco zwiększyła wytrzymałość na rozciąganie, zwiększając jednocześnie sztywność i krystaliczność powstałych PU w porównaniu PU na bazie oleju rycynowego.

Natomiast poliuretany stosowano czasami do modyfikacji właściwości kopolimerów P3HB, np. PHBV. Kompozycje polimerowe PHBV i termoplastycznego poliuretanu (TPU) zostały wytworzone przez mieszanie w stanie stopionym i opisane przez Wanga i współpracowników [110]. Wprowadzenie TPU zmniejszyło krystaliczność mieszanki, zwiększyło początkową temperaturę degradacji o 5°C, a wydłużenie przy zerwaniu wzrosło o 225 % w porównaniu z czystym PHBV.

Z kolei Martínez-Abad i współpracownicy [111] zbadali, że obecność TPU nie miała wpływu na krystaliczność PHBV. Jednocześnie Autorzy zaobserwowali stopniowy spadek modułu sprężystości i wytrzymałości na rozciąganie wraz ze wzrostem zawartości TPU w mieszankach, przy zachowaniu właściwości barierowych i biodegradowalności PHBV.

Panaiteescu i współpracownicy [112] modyfikowali właściwości PHBV za pomocą dwóch elastomerów poliuretanowych zawierających PCL lub PCL/PBA jako segment miękkiej i różną zawartość segmentów twardych. Dodatek 5-15 % mas. elastomerów PU nie wpłynął znacząco na

stabilność termiczną badanych mieszanek, ale obniżył temperaturę krystalizacji PHBV i stopień krystaliczności o ok. 5%. Wytrzymałość na rozciąganie i moduł sprężystości mieszanek pozostały zbliżone do czystego PHBV, ale wydłużenie przy zerwaniu wzrosło do 70 %.

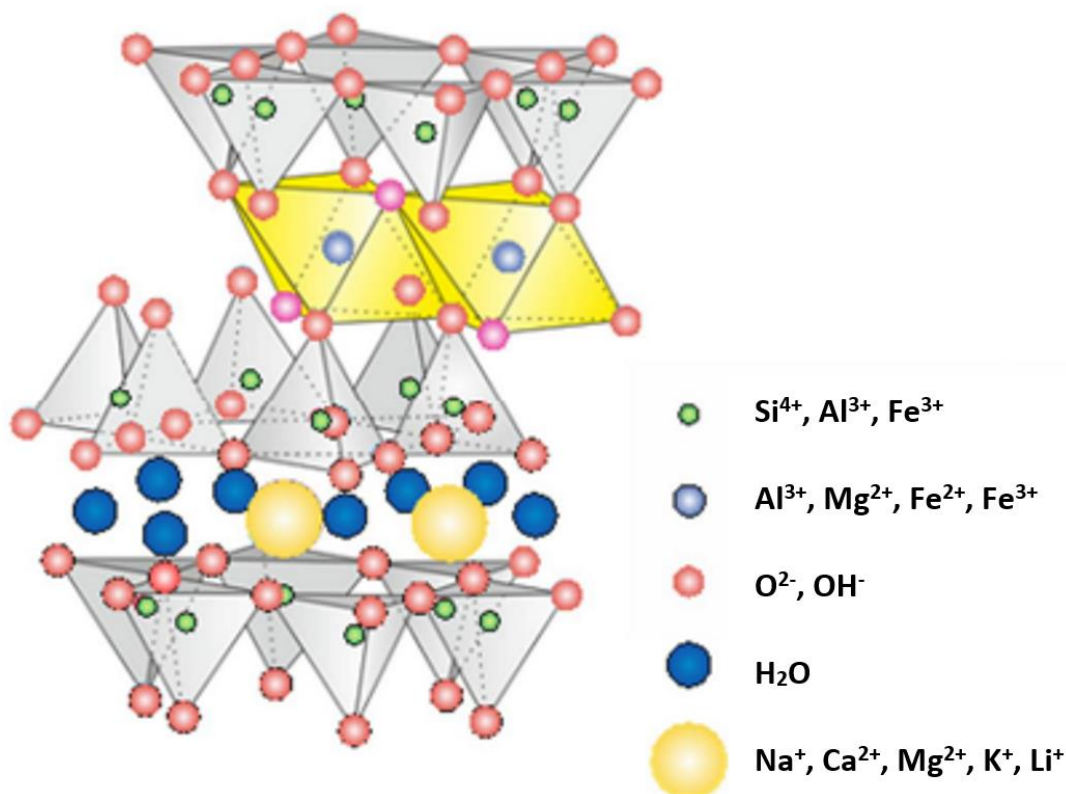
Podsumowując tworzenie mieszanek P3HB z innymi polimerami wpływa pozytywnie na poprawę właściwości tego poliestru tudzież obecność P3HB polepsza właściwości drugiego składnika kompozycji binarnej. Mieszanie P3HB z innymi polimerami stanowi skuteczną strategię dostosowywania jego właściwości do konkretnych zastosowań przemysłowych. Do modyfikacji właściwości P3HB nie stosowano zwykle poliuretanów, choć wykorzystano je z powodzeniem w kompozycjach z jego kopolimerem, np. PHBV, poprawiając elastyczność, temperaturę degradacji i wytrzymałość mechaniczną.

2.3.3. Nanokompozyty na osnowie P3HB

Nanokompozyty na osnowie P3HB to obiecująca klasa materiałów biodegradowalnych, które łączą właściwości biopolimeru z funkcjonalnością nanocząsteczek. Określenie nanokompozyty dotyczy zaawansowanej formy kompozytów, w których co najmniej jeden z komponentów jest rozmiarów nanometrycznych (poniżej 100 nm). Nanocząstki stanowią składniki wzmacniające nanokompozytów, dzięki temu nanokompozyty wykazują dużo lepsze właściwości przy zastosowaniu już bardzo niewielkich ilości nanonapełniaczy (1-5 % mas.). Zastosowanie komponentów o nanometrycznych rozmiarach prowadzi do znacznej poprawy właściwości mechanicznych, elektrycznych, optycznych czy termicznych i barierowych w porównaniu do tradycyjnych kompozytów [113, 114]. Głównymi metodami otrzymywania nanokompozytów z nanocząstkami są: mieszanie nanododatku z polimerem w roztworze, mieszanie z prepolimerem lub monomerem oraz metoda bezpośredniego mieszania w stanie stopionym [115].

Biorąc pod uwagę charakter chemiczny nanonapełniczy dzielimy je na organiczne i nieorganiczne, natomiast ze względu na kształt nanonapełniacze dzielone są na sferyczne (proszkowe) – 3D [116], płytkowe – 2D [117] i liniowe – 1D [118]. Nanonapełnie sferyczne to między innymi: kreda, sadza, węgliki, tlenki, borki, azotki metali, krzemionka, krzemiany, poliedryczne oligosilseskwioksany, sole i metale [116, 119]. Nanocząstki o strukturze 1D to przede wszystkim nanowłókna, nanorurki i nanopręciki, charakteryzujące się dużym stosunkiem długości do średnicy, (zazwyczaj 100-1000), która wpływa na właściwości mechaniczne nanokompozytów. Najważniejsze ze względu na właściwości są: nanorurki węglowe (CNT) i nanowłókna węglowe (CNF) [118, 120]. Najczęściej stosowanymi nanonapełniaczami 2D są krzemiany warstwowe takie jak montmorylonit (MMT), saponit, hektoryt, mika oraz beidelit. Wprowadzenie nieznacznej ilości krzemianu warstwowego powoduje wzrost wytrzymałości mechanicznej, odporności termicznej i zmniejszenie palności otrzymywanych nanokompozytów.

Nanokompozyty zawierające w swej strukturze MMT wykazują bardzo dobre właściwości barierowe, dzięki utrudnionej migracji cząsteczek cieczy bądź gazów do matrycy polimerowej [121]. MMT jest glinokrzemianem warstwowym o wzorze ogólnym $M_x(Al_{4-x}Mg_x)Si_8O_{20}(OH)_4$, gdzie M^+ to kation wymienny (rys. 9).



Rysunek 9. Struktura montmorylonitu [122]

W zależności od rodzaju kationów wyróżniamy MMT amoniowy, potasowy, sodowy, wapniowy i wodorowy. MMT zbudowany jest z warstwy wewnętrznej, w skład której wchodzi oktaedryczne kryształy tlenku glinu lub magnezu, zamkniętą pomiędzy dwoma warstwami tetraedrycznymi, zbudowanymi z kryształków ditlenku krzemu. Warstwy połączone są ze sobą wspólnymi atomami tlenu. Pomiedzy warstwami znajdują się cząsteczki wody i kationy metali [122, 123].

Hydrofobowe właściwości montmorylonitu, mają niekorzystny wpływ na jego kompatybilność z polimerami, w związku z tym konieczna jest modyfikacja, która polega na wymianie kationów metalu na kationy organiczne, głównie czwartorzędowe kationy amoniowe, które pochodzą od alkilowych soli amoniowych lub alifatycznych aminokwasów. W wyniku modyfikacji struktura ta staje się bardziej hydrofobowa, co skutkuje zwiększeniem powinowactwa do większości polimerów i przenikaniu osnowy polimerowej do przestrzeni międzywarstwowych MMT [122, 124]. Obecnie prowadzone badania skupiają się na wykorzystaniu warstwowych glinokrzemianów, które są atrakcyjnym materiałem ze względu na łatwą dostępność, niskie koszty oraz możliwość dostosowania do różnych środowisk. Tworzące

się interakcje pomiędzy związkami krzemu a łańcuchami polimerowymi prowadzą do uzyskania doskonałych typów nanokompozytów. Nanokompozyty ze względu na swoje właściwości znalazły szerokie zastosowanie w przemyśle motoryzacyjnym, opakowaniowym, medycznym, systemach kontrolowanego dostarczania leków, czy w stomatologii [125-129].

Jednym z przykładów nanokompozytów wytwarzanych z udziałem P3HB są nanokompozyty z dodatkiem nanocelulozy (CNC). Badania przeprowadzone przez Díez'a-Pascual'a [130] miały na celu zbadanie wpływu CNC na właściwości mechaniczne, termiczne i barierowe nanokompozytów na osnowie P3HB. Nanokompozyty przygotowano metodą odlewania z roztworu, dodając CNC w ilości do 10 % mas. wytworzono nanokompozyty o jednorodnym rozmieszczeniu nanocząstek CNC w matrycy P3HB, co wpłynęło na poprawę właściwości mechanicznych. Dodatek CNC zwiększył wytrzymałość na rozciąganie i sztywność materiału. Ponadto zaobserwowano wzrost temperatury topnienia oraz poprawę stabilności termicznej. Z kolei przenikalność tlenu i pary wodnej zmniejszyła się wraz z wzrostem zawartości CNC. Poprawa właściwości mechanicznych, termicznych i barierowych nowych materiałów wskazuje na możliwość ich zastosowania w opakowaniach spożywczych [129].

Opracowanie nanokompozytów P3HB z dodatkiem nanopłytek grafenu (GnP) miało na celu poprawę właściwości mechanicznych, termicznych, barierowych oraz biodegradowalności materiału. Nanokompozyty przygotowano metodą odlewania z roztworu z różną ilością GnP 0–1,3 % mas. [131]. Nanopłytki grafenu zwiększyły wytrzymałość na rozciąganie nanokompozytów dwukrotnie w porównaniu do czystego P3HB. Ponadto zaobserwowano wzrost temperatury topnienia o 10°C oraz poprawę stabilności termicznej również o 10°C. Przenikalność tlenu i pary wodnej zmniejszyła się odpowiednio trzykrotnie i dwukrotnie. Nanokompozyty z dodatkiem GnP wykazywały poprawioną biodegradowalność w porównaniu do czystego P3HB i brak cytotoksyczności [131, 132].

Innym przykładem są nanokompozyty na osnowie P3HB z nanododatkiem tlenku cynku (ZnO). Wykazują lepsze właściwości mechaniczne, barierowe oraz aktywność przeciwdrobnoustrojową, co czyni je obiecującymi biodegradowalnymi materiałami [133, 134]. Nanokompozyty przygotowane metodą odlewania z roztworu z uwzględnieniem różnego stężenia nanocząstek ZnO (1–10 % mas.) wykazywały jednorodne rozproszenie nanocząsteczek przy niskich stężeniach, natomiast przy wyższych stężeniach zaobserwowano ich aglomerację. Nanododatek ZnO zwiększył moduł Younga o 43 %, wytrzymałość na rozciąganie o 32 % oraz udarność o 26 % w porównaniu do czystego P3HB. Przenikalność tlenu i pary wodnej zmniejszyła się odpowiednio o 53 % i 38 % przy 5 % mas. zawartości ZnO. Poziomy migracji nanododatku w stymulantach spożywczych były poniżej dopuszczalnych limitów, co wskazuje na bezpieczeństwo materiału. Nanokompozyty wykazały aktywność przeciwko bakteriom *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus*, która wzrastała wraz ze wzrostem stężeniem ZnO [135].

Nanokompozyty na osnowie P3HB, zawierające nanocząstki srebra (AgNPs) o działaniu przeciwdrobnoustrojowym otrzymano z zastosowaniem chemicznej i biologicznej metody syntezy AgNPs. Autorzy wykazali, że bakterie *Cupriavidus necator* mają zdolność do samodzielnej redukcji soli srebra, co pozwala na uzyskanie nanocząstek już na etapie biosyntezy P3HB. Otrzymane nanokompozyty w formie folii zawierały równomiernie rozmieszczone nanocząstki srebra o średnicy 76–95 nm, których obecność nie zmieniła właściwości termicznych P3HB. Zaobserwowano niewielki spadek stopnia krystaliczności, silne działanie przeciwdrobnoustrojowe wobec *Salmonella enterica* i *Listeria monocytogenes*. W warunkach kompostowania nanomateriały uległy całkowitej biodegradacji w ciągu 40 dni, a obecność srebra nie miała negatywnego wpływu na ten proces [136].

Zastosowanie nanocząstek CNC, GnP, ZnO, AgNPs do wytworzenia nanokompozytów na osnowie P3HB poprawia jego właściwości mechaniczne, barierowe, termiczne oraz zwiększa biodegradowalność lub jej nie pogarsza, wpływa na działanie przeciwdrobnoustrojowe i wywołuje działania toksycznego.

2.4. Zastosowanie poli(hidroksyalkanianów)

Ze względu na biodegradowalność i biokompatybilność, a także właściwości zbliżone do tradycyjnych tworzyw sztucznych PHA znajdują szerokie zastosowanie głównie w przemyśle opakowaniowym. P3HB i pozostałe PHA wykorzystywane są do produkcji biodegradowalnych opakowań i tym samym stanowią ekologiczną alternatywę dla konwencjonalnych tworzyw sztucznych. Jest to niezwykle istotne w kontekście globalnych działań mających na celu ograniczenie ilości odpadów tworzyw sztucznych [29, 30, 137]. PHA jest jednym z głównych czynników wzrostu produkcji biopochodnych, biodegradowalnych tworzyw sztucznych, których prognozowana produkcja ma wzrosnąć z 0,88 mln ton w 2017 r. do 5,33 mln ton do 2026 r. [138].

Nowoczesna inżynieria materiałowa wykorzystuje PHA, tym kopolimery P3HB, w postaci włókien, folii oraz form 3D [32]. Jednym z zastosowań PHA jest produkcja biodegradowalnych folii wykorzystywanych w rolnictwie do ściółkowania. Folie te ulegają rozkładowi w glebie, co eliminuje konieczność ich utylizacji po okresie użytkowania.

Głównym czynnikiem warunkującym zastosowanie PHA jest ich średnia masa cząsteczkowa i zawartość komonomerów. Względnie niska masa cząsteczkowa $M_n = 500000$ g/mol oraz mała zawartość komonomerów pozwala na przetwarzanie PHA za pomocą metod wtryskowych. W ten sposób wytwarza się materiały opakowań jednorazowych: kubki, tacki, łyżki, talerzyki. PHA o większej masie cząsteczkowej, $M_n = 600000$ g/mol znajdują zastosowanie do produkcji włókien, z których z kolei wytwarza się bioresorbowalne nici chirurgiczne oraz jednorazową biodegradowalną odzież medyczną [139, 140]. Średnia masa cząsteczkowa $M_n = 600000 - 700000$ g/mol pozwala na zastosowanie PHA w produkcji opakowań sztywnych

(butelki) metodą wtrysku z rozdmuchem i termoformowania, a także produkcji worków na odpady metodą wytłaczania z rozdmuchem. Kopolimery 3HB z zawartością 3HV > 15% mas. są bardzo elastyczne i wykorzystywane są jako kleje, a także do produkcji folii elastycznych [29, 39]. Ponadto PHA znajdują szerokie zastosowanie w biomedycynie. Ze względu na swoją biodegradowalność i biokompatybilność. P3HB po pewnym czasie ulega rozkładowi w organizmie, przez co jest idealnym materiałem do aplikacji medycznych. P3HB służy do produkcji podłoży hodowli komórkowych, ale także materiałów do przeszczepów nerwowych i naczyniowych [141]. Z udziałem PHA wytwarza się nowoczesne systemy kontrolowanego dostarczania leków [142]. Wysoka bioresorbowalność PHA umożliwia wykorzystanie ich do produkcji nici chirurgicznych, implantów, które ulegają biodegradacji in vivo, nie wywołując przy tym infekcji [143].

Podsumowując kwas poli(3-hydroksymasłowy) mimo podobieństwa właściwości do konwencjonalnych polimerów, cechuje się dużą sztywnością, kruchością oraz wąskim oknem przetwarzania. Aby przezwyciężyć te ograniczenia, P3HB poddaje się go modyfikacjom poprzez tworzenie kopolimerów, np. PHBV, PHBHHx, terpolimerów, np. P(3HB-co-3HV-co-3HHx), blend z innymi polimerami, np. PLA, PVA, PVAc, PMMA, a także nanokompozytów z udziałem nanocząstek, np. CNC, GnP, ZnO, AgNPs, montmorylonitu. Takie zabiegi pozwalają znacząco poprawić właściwości P3HB, co zwiększa zakres jego zastosowania.

Mieszanie P3HB z innymi polimerami syntetycznymi i naturalnymi prowadzi do zwiększenia wytrzymałości mechanicznej, w tym elastyczności, stabilności termicznej oraz zmniejszenia krystaliczności, co ma istotne znaczenie z punktu jego właściwości użytkowych.

Z kolei wprowadzenie nanonapełniaczy w niewielkich ilościach do matrycy P3HB skutkuje poprawą właściwości mechanicznych, termicznych, barierowych i nadaniem właściwości antybakteryjnych, przy jednoczesnym zachowaniu biodegradowalności.

Dzięki wymienionym modyfikacjom P3HB staje się bardziej funkcjonalnym materiałem, co zwiększa jego potencjał zastosowań w przemyśle, medycynie i ochronie środowiska, szczególnie w kontekście dążenia do zrównoważonego rozwoju.

Rozważając P3HB jako jeden z kluczowych polimerów przyszłości podjęcie w pracy tematyki modyfikacji jego właściwości za pomocą termoplastycznych poliuretanów i organicznie modyfikowanego glinokrzemianu warstwowego jest uzasadnione.

3. CEL PRACY

W niniejszej pracy zostały postawione następujące cele naukowe:

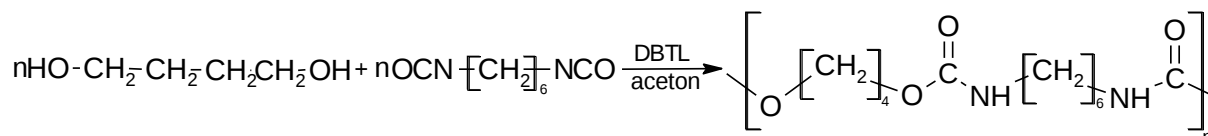
1. Modyfikacja właściwości naturalnego alifatycznego poliestru – kwasu poli(3-hydroksy-masłowego) za pomocą termoplastycznego poliuretanu oraz termoplastycznego poliuretanu i nanododatku.
2. Zbadanie wpływu rodzaju i ilości termoplastycznego poliuretanu na właściwości wytwarzanych biokompozycji polimerowych z uwzględnieniem rodzaju izocyjanianu i rodzaju polioliu oraz masy molowej polioliu stosowanego do wytwarzania poliuretanu.
3. Zbadanie wpływu rodzaju poliuretanu oraz poliuretanu i nanododatku na interakcję składników, morfologię i nanostrukturę wytwarzanych materiałów na podstawie kwasu poli(3-hydroksy-masłowego).
4. Opracowanie składu biokompozycji polimerowych i nanobiokompozytów hybrydowych, z udziałem badanych komponentów, o optymalnych właściwościach przetwórczych, termicznych i mechanicznych.

4. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

4.1. Wytwarzanie materiałów

4.1.1. Otrzymywanie poliuretanów

W związku z syntezą poliuretanów z udziałem różnych rodzajów komponentów i podobną procedurę syntezy podaję przykładowy opis syntezy poliuretanu z udziałem butano-1,4-diolu i 1,6-diizocyjanianu heksametylenu wg schematu na rysunku 10.



Rysunek 10. Schemat reakcji butano-1,4-diolu z 1,6-diizocyjanianem heksametylenu

W okrągłodennej kolbie trójszyjnej o pojemności 1000 cm³ zaopatrzonej w mieszadło mechaniczne, termometr, wkraplacz oraz chłodnicę zwrotną kolejno umieszczano: butano-1,4-diol w ilości 95,3 cm³ (97,2 g, 1,08 mola) oraz aceton bezwodny w ilości 300 cm³, a także 0,2 cm³ dilaurynianu dibutylocyny(IV) (DBTL) jako katalizatora. Następnie wkraplano 160,5 cm³ (168 g, 1,00 mol) 1,6-diizocyjanianu heksametylenu (HDI), czyli taką ilość, aby stosunek molowy grup izocyjanianowych do grup hydroksylowych wynosił 1:1,08. Syntezę prowadzono w atmosferze azotu. Szybkość wkraplania regulowano tak, aby temperatura mieszaniny reakcyjnej nie przekraczała 20°C. Syntezę uznawano za zakończoną po zaniku efektu egzotermicznego oraz po określeniu liczby izocyjanianowej zgodnie z normą [144] (LIC = 0). Po zakończeniu syntezy usuwano aceton pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie wygrzewano poliuretan w suszarce próżniowej do stałej masy w temperaturze do 100°C i pod ciśnieniem 0,01 MPa. Syntezy pozostałych poliuretanów używanych w pracy prowadzono w analogiczny sposób, przy czym mieszaniny reakcyjne z udziałem MDI, po ustaniu efektu egzotermicznego, ogrzewano przez 1 godzinę w temperaturze ok. 56°C. Szczegóły syntez opisano w poszczególnych publikacjach stanowiących podstawę pracy doktorskiej [145-149].

4.1.2. Wytwarzanie kompozycji polimerowych P3HB-poliuretan

Do mieszalnika typu Stephan wprowadzano odpowiednią ilość P3HB, tak aby stanowił 95, 90, 85 lub 80 % mas. podczas otrzymywania blend zgodnie ze przykładowym składem podanym w tabeli 1. Następnie dodawano poliuretan i oba składniki mieszano przez około 20 minut w temperaturze pokojowej celem homogenizacji. Jednorodną wizualnie mieszaninę dozowano do leja zasypowego wytłaczarki. W tabeli 2 zestawiono dane techniczne wykorzystanej wytłaczarki. Wydzielające się części lotne w czasie procesu wytłaczania odprowadzano przez odgazowanie

atmosferyczne. Temperatura głowicy wylączarskiej oraz poszczególnych stref grzejnych układu uplastyczniającego wylączarki była utrzymywana na stałym poziomie, a szybkość obrotowa ślimaka była stała.

Tabela 1. Skład mieszanek polimerowych P3HB i poliuretanu (produkt reakcji HDI i butano-1,4-diolu)

Zawartość [% mas.]		Blenda
P3HB	PU	
95	5	K5
90	10	K10
85	15	K15
80	20	K20

Tabela 2. Parametry techniczne używanej wylączarki dwuślimakowej współbieżnej ZE-25-33D

Maksymalna temperatura wylączania, [°C]	450
Wydajność, [kg/h]	5-20
Średnica ślimaka, D [mm]	25
Stosunek L/D,	33
Szybkość obrotowa, [min ⁻¹]	0-450
Liczba stref grzejnych	10

W tabeli 3 przedstawiono parametry procesu wylączania. Stopiony produkt opuszczał wylączarkę przez głowicę do wanny chłodzącej. Następnie poddawany był granulacji i suszeniu w temperaturze 60°C przez ok. 2 godziny.

W podobny sposób przetworzono czysty P3HB jako materiał odniesienia.

Tabela 3. Parametry procesu wylączania mieszanek polimerowych P3HB i PU (produkt reakcji HDI i butano-1,4-diolu)

Materiał	Temperatura stref grzejnych wylączarki [°C]										Ciśnienie [bar]	Obroty [min ⁻¹]
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X		
P3HB	32	120	135	135	135	148	148	148	150	158	0,875	300
K5	32	134	167	135	135	149	148	170	151	179	1	300
K10	31	126	142	136	136	149	148	169	147	175	1	300
K15	31	124	145	135	135	148	148	169	149	172	1	300
K20	31	125	144	135	136	148	148	169	148	173	1	300

4.1.3. Wytworzenie polimerowych nanobiokompozytów hybrydowych

Nanobiokompozyty wytwarzano w podobny sposób jak blendy polimerowe opisane w pkt 4.1.3. Poniżej podany został opis dla nanokompozytów otrzymanych z udziałem PU na bazie butano-1,4-diolu i HDI. W mieszalniku bębnowym wymieszano kompozycje zawierające 5 % mas.

PU, 94, 93 lub 92 % mas. P3HB oraz nanoglinkę organiczną Cloisite®30B w ilości odpowiednio 1, 2 i 3 % mas. wg składu podanego w tabeli 4.

Tabela 4. Przykładowy skład polimerowych nanobiokompozytów hybrydowych P3HB i PU (produkt reakcji HDI i butano-1,4-diolu) oraz Cloisite®30B

Zawartość [% mas.]			Materiał
PU	P3HB	Cloisite®30B	
5	94	1	K5-1
5	93	2	K5-2
5	92	3	K5-3

Proces mieszania trwał przez ok. 30 minut. Zhomogenizowaną mieszaninę wytłaczano za pomocą współbieżnej wytłaczarki dwuślimakowej, a parametry procesu wytłaczania podano w tabeli 5.

Tabela 5. Parametry procesu wytłaczania polimerowych nanobiokompozytów hybrydowych P3HB i PU (produkt reakcji HDI i butano-1,4-diolu) oraz Cloisite®30B

Materiał	Temperatura stref grzejnych wytłaczarki [°C]										Ciśnienie [bar]	Obroty [min ⁻¹]
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X		
K5-1	33	124	134	135	135	146	146	153	164	170	1	350
K5-2	34	125	135	134	134	145	146	153	167	169	1	350
K5-3	36	123	133	135	135	145	145	153	164	169	1	350

4.1.4. Wytwarzanie kształtek do badań mechanicznych

Kształtki, z badanych kompozycji polimerowych i nanobiokompozytów polimerowych, do zaplanowanych badań mechanicznych wytworzono za pomocą wtryskarki BOY 55E, a parametry całego procesu przedstawiono w tabeli 6.

Tabela 6. Parametry wytwarzania kształtek, z kompozycji polimerowych i nanobiokompozytów polimerowych P3HB i PU (produkt reakcji HDI i butano-1,4-diolu) oraz Cloisite®30B, do badań mechanicznych

Materiał	Temperatura formy [°C]	Temperatura stref grzejnych [°C]					Przepływ [cm ³]	Ciśnienie [bar]
		I	II	III	IV	V		
P3HB	25	140	159	167	168	163	18	550
K5	30	142	159	167	169	170	18	280
K5-1	30	142	159	167	169	170	17	290
K5-2	30	146	160	168	170	170	17	270
K5-3	30	145	162	167	170	172	17	275

4.2. Metody Badawcze

4.2.1. Oznaczanie liczby izocyjanianowej

W kolbie stożkowej o pojemności 250 cm³ umieszczano próbkę mieszaniny reakcyjnej o masie 0,2 - 0,5 g ± 0,0001 g. Do kolby dodawano 25 cm³ acetonu i 25 cm³ 0,2 M roztworu amoniaku w acetonie. Po wymieszaniu i rozpuszczeniu naważki pozostawiano na 10 minut. w temperaturze pokojowej. Następnie nadmiar amoniaku odmiareczkowano 0,1 M HCl w obecności czerwieni metylowej jako wskaźnika, do zmiany zabarwienia z żółtej na pomarańczowo-czerwoną. Jednocześnie wykonywano ślepą próbę. Zawartość grup izocyjanianowych (LIC) wyrażoną w % mas. obliczano wg wzoru z normy [144].

$$LIC = 0,0042 \cdot \frac{(V_1 - V_2) \cdot K}{m} \cdot 100\%$$

gdzie:

- V_1 - objętość 0,1 M roztworu HCl zużyta na zmiareczkowanie ślepej próby, [cm³],
- V_2 - objętość 0,1 M roztworu HCl zużyta na zmiareczkowanie próbki, [cm³],
- K - mnożnik przeliczeniowy stężenia molowego HCl na ściśle 0,1 M, [-],
- M - masa próbki, [g],
- 0,0042 - ilość grup izocyjanianowych, odpowiadająca 1 cm³ 0,1 M roztworu HCl, [g/cm³].

4.2.2. Pomiary techniką wąskokątowego rozpraszania promieniowania rentgenowskiego

Do scharakteryzowania struktury nanoglinki w przygotowanych biokompozytach zastosowano technikę wąskokątowego rozpraszania promieniowania rentgenowskiego w zakresie kąta 2Θ od 1° do 28°. Pomiary przeprowadzono w temperaturze laboratoryjnej przy użyciu dyfraktometru rentgenowskiego Bruker SAXS Nanostar-U (Dekendorf, Niemcy). Pomiary próbek wykonywano w trybie transmisyjnym. Dyfraktometr wąskokątowy podłączony był do źródła promieniowania z anodą miedzianą CuKα (1,54 Å) umieszczoną w uszczelnionej rurze, pracującego przy napięciu 50 kV i natężeniu 30 mA. Do skanowania całej powierzchni próbki użyto detektora 2D (Vantec2000, Bruker, Dekendorf, Niemcy) przy użyciu wiązki punktowej o średnicy około 500 μm. Zakres skanowania określono zmieniając odległość próbki od detektora. Rozdzielczość detektora i zakres kątowy umożliwiały pomiary w rozdzielczości 2048 × 2048 pikseli. Pomiary wykonywano przez okres 2 godzin.

4.2.3. Transmisyjna mikroskopia elektronowa

Do badania nanostruktury nanobiokompozytów wykorzystano transmisyjną mikroskopię elektronową (TEM). Pomiary przeprowadzono za pomocą aparatu TECNAI G12 Spirit-Twin (Hillsboro, OH, US) (źródło LaB6), który był wyposażony w kamerę CCD FEI Eagle 4k (Eindhoven,

Holandia), pracującą z napięciem przyspieszającym 120 kV. Próbki pomiarowe wycięto za pomocą krioultramikrotomu i umieszczono je na siatkach miedzianych o oczkach 300 mesh.

4.2.4. Skaningowa mikroskopia elektronowa

Celem zbadania morfologii analizowanych materiałów: P3HB, blend i nanobiokompozytów hybrydowych przeprowadzone zostały pomiary za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego HITACHI S-3400 przy różnych powiększeniach i napięciu przyspieszającym 10 kV. W pierwszej kolejności, przeprowadzono proces wymrażania próbek w ciekłym azocie, a następnie dokonano przełamania próbki. Zdjęcia uzyskano poprzez skanowanie przełomu próbek w miejscu ich pęknięcia na skutek przyłożonej siły. Uzyskane po połamaniu próbki zostały pokryte warstwą złota o grubości ok. 10 nm przy użyciu napylarki złotem JEOL JFC-1300.

4.2.5. Badania mechaniczne

Przeprowadzono badania wybranych właściwości mechanicznych natywnego P3HB, uzyskanych blend i nanobiokompozytów hybrydowych, tj. wytrzymałość na rozciąganie, wydłużenie względne przy zerwaniu, udarność oraz twardość.

4.2.5.1. Właściwość na rozciąganie

Do badań kompozycji polimerowych i nanobiokompozytów hybrydowych dotyczących określenia wytrzymałości na rozciąganie oraz wydłużenia względnego przy zerwaniu wykorzystano maszynę wytrzymałościową 4505 firmy Instron. Próbę jednoosiowego rozciągania przeprowadzano zgodnie z normą [150] dla wytworzonych standardowych wyprasek o geometrii „wiosełek”.

4.2.5.2. Udarność Charpy’ego

Badania udarności Charpy’ego na próbkach bez karbu przeprowadzono za pomocą młota Zwick 5102 (Ulm, Niemcy) zgodnie z normą [151].

4.2.5.3. Twardość

Badania twardości przeprowadzono metodą Brinell’a zgodnie z normą [152] z użyciem aparatu firmy Zwick (Ulm, Niemcy) lub metodą Shore’a zgodnie z normą [153].

4.2.6. Badania TGA

Analizę termogravimetryczną uzyskanych biokompozycji, nanobiokompozytów i referencyjnego P3HB wykonano za pomocą analizatora termogravimetrycznego typu TGA/SDTA 851e firmy Metler Toledo (Greifensee, Szwajcaria). Pomiary wykonano dla próbek o masach ok. 10 mg z szybkością ogrzewania 5°C/min w przedziale temperatury 25-600°C w atmosferze azotu. W wyniku badania wyznaczono temperaturę początku rozkładu, temperaturę x % ubytku masy

oraz temperaturę maksymalnej szybkości rozkładu próbki, a także całkowity ubytek masy próbki w temperaturze 600°C.

4.2.7. Analiza chromatograficzna GPC

Masa molowa uzyskanych poliuretanów została zmierzona z użyciem chromatografu HT-GPC 220 firmy Agilent (Santa Clara, USA) wyposażonego w podwójny zestaw do detekcji (detektor współczynnika załamania światła i detektor lepkości). Próbkę do pomiaru uzyskano z użyciem rozpuszczalnika DMF, roztwór o stężeniu ok. 3 mg /ml. Chromatograf był wyposażony w 2 kolumny z żelom PL (1 x Mixed-A, 300 x 7,8 mm, 15 µm cząstek + 1 x Mixed-B, 300 x 7,8 mm, 10 µm cząstek + 1 x Mixed-D, 300 X 7,8 mm, cząstki 5 µm), który pracował w temperaturze 50°C. Natężenie przepływu cieczy wynosiło 1,0 ml/min, a objętość próbki to 100 µl. Aparat skalibrowano za pomocą uniwersalnych wzorców polistyrenowych w zakresie masy od 580 do 271 000 kDa. Wyznaczono liczbowo średnią masę molową (M_n) i wagowo średnią masę molową (M_w) oraz stopień dyspersji (DI).

4.2.8. Spektroskopia FT IR

Widma FT IR natywnego P3HB, poliuretanów, kompozycji polimerowych P3HB-PU oraz nanobiokompozytów hybrydowych zarejestrowano z użyciem spektrometru ALPHA FTIR firmy Bruker (Billerica, USA) wykonując pomiar w liczby falowej 400 - 4000 cm^{-1} . Widma rejestrowano przy rozdzielczości 2 cm^{-1} , techniką ATR lub w pastylce KBr.

4.2.9. Analiza DSC

Pomiary DSC P3HB, jego kompozycji polimerowych z PU oraz hybrydowych nanobiokompozytów przeprowadzono przy użyciu różnicowego kalorymetru skaningowego np. Q1000TM firmy TA Instruments, Inc. (New Castle, USA), co pozwoliło uzyskać wyniki w postaci zależności strumienia ciepła od temperatury lub czasu jako odpowiedź na liniową zmianę temperatury w czasie. Analizy zostały przeprowadzone w atmosferze azotu, którego przepływ utrzymywał się na stałym poziomie wynoszącym około 50 ml/min. Kalibracja temperatury i strumienia ciepła w kalorymetrze została przeprowadzona w odniesieniu do parametrów topnienia indu, to znaczy do początkowej temperatury topnienia, wynoszącej $T_{m(\text{onset})} = 156,6^\circ\text{C}$ (429,6 K) i entalpii topnienia $\Delta H_f = 28,45 \text{ J/g}$ (3,28 kJ/mol) [154, 155].

Masy badanych próbek mieściły się w zakresie 5 - 10 mg. Z kolei dokładność pomiaru ciepła właściwego to $\pm 3 \%$. Pomiary przeprowadzono w zakresie temperatury od -40 do 195 °C przy stałej szybkości chłodzenia i ogrzewania 10 deg/min. W temperaturze 195 °C próbka była izotermicznie wygrzewana przez 2 minuty, a w temperaturze -40 °C próbka była stabilizowana

przez 10 minut. Zawartość ruchomej fazy amorficznej (W_a) w uzyskanych blendach oszacowano za pomocą analizy termicznej z równania [156]:

$$W_a = \frac{\Delta C_p}{\Delta C_p^{100\%}}$$

gdzie:

ΔC_p – zmiana ciepła właściwego w temperaturze T_g semikrystalicznego materiału,

$\Delta C_p^{100\%}$ – zmiana ciepła właściwego w temperaturze T_g materiału całkowicie amorficznego.

Zawartość fazy krystalicznej (W_c) określono na podstawie równania:

$$W_a = \frac{\Delta H_f}{\Delta H_f^{(100\%)}}$$

ΔH_f – ciepło topnienia materiału semikrystalicznego,

$\Delta H_f^{(100\%)}$ – ciepło topnienia materiału całkowicie krystalicznego.

W układach trójfazowych oprócz fazy amorficznej i krystalicznej współlistnieje jeszcze sztywna faza amorficzna (RAF), której zawartość (W_{RAF}) oblicza się ze wzoru [156]:

$$W_{RAF} = 1 - W_a - W_c$$

4.2.10. Pomiar kąta zwilżania wodą

Do pomiaru kąta zwilżania wodą wykorzystano goniometr optyczny OCA 15 wyposażony w moduł automatycznego dozowania kropli pomiarowych firmy Data Physics (Wrocław), zgodnie z normą [157]. Kąt zwilżania to kąt styczny do powierzchni kropli pomiarowej osadzonej na powierzchni ciała stałego, w punkcie styku trzech faz: stałej, ciekłej i gazowej. Pomiary wykonano w temperaturze pokojowej. Kontury kropli wyznaczono przy użyciu oprogramowania komputerowego SCA20U, a kąt zwilżania obliczono. Dla każdego materiału wykonano dziesięć pomiarów.

4.2.11. Pomiar chropowatości

Wybrane kompozycje polimerowe zostały poddane ocenie wizualnej za pomocą mikroskopu Olympus DSX 1000. Oceny powierzchni dokonano przy użyciu metody bezkontaktowego pomiaru. Pomiarów dokonano na panoramicznym zdjęciu złożonym z czterech obrazów o łącznej powierzchni $2891 \mu\text{m} \times 2156 \mu\text{m}$. Do analizy posłużono się aplikacją LEXT dedykowaną serii DSX. Długość odcinka pomiarowego wynosiła około $2900 \mu\text{m}$. Profile chropowatości zostały określone zgodnie z normą [158]. Profil chropowatości to linia opisująca

mikroskopijne nierówności na powierzchni materiału. Jest to wynik pomiarów chropowatości, które oceniają różnice w wysokości na powierzchni wzdłuż określonej linii. Profil ten dostarcza informacji o właściwościach powierzchni, takich jak gładkość, szorstkość czy tekstura, co ma znaczenie w wielu zastosowaniach przemysłowych i inżynierskich. Wyznaczono parametry:

- R_p – maksymalna wysokość szczytów profilu
- R_v – maksymalna głębokość doliny profilu
- R_z – maksymalna wysokość - suma maksymalnej wysokości szczytu R_p i maksymalnej głębokości doliny R_v profilu w obrębie długości odcinka

$$R_z = R_p + R_v$$



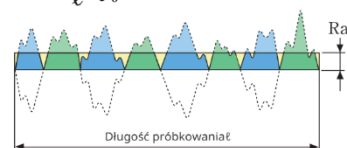
- R_c – średnia wysokość Z_t elementów profilu na długości próbkowania

$$R_c = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m Z_{ti}$$



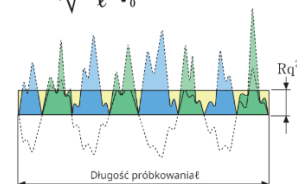
- R_a – średnie odchylenie arytmetyczne - reprezentuje średnią arytmetyczną rzędnej bezwzględnej $Z(x)$ w obrębie długości próbkowania

$$R_a = \frac{1}{l} \int_0^l |Z(x)| dx$$



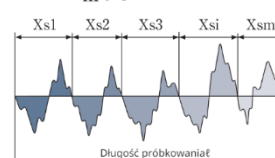
- R_q - pierwiastek średniokwadratowy odchylenia - reprezentuje średnią kwadratową dla $Z(x)$ w obrębie długości próbkowania

$$R_q = \sqrt{\frac{1}{l} \int_0^l Z^2(x) dx}$$



- R_{sm} – średnia szerokość - Reprezentuje średnią długość X_s elementów profilu w obrębie długości próbkowania

$$R_{sm} = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m X_{si}$$



4.2.12. Badania cytotoksyczności in vitro

Cytotoksyczność polimerów oszacowano za pomocą testu toksyczności bezpośredniego kontaktu, jak opisano wcześniej [159]. Normalne ludzkie fibroblasty (BJ) i zimmortalizowane

keratynocyty (HaCaT) wysiano na płytki 6-dołkowe w ilości odpowiednio 3×10^5 i 8×10^5 komórek/dołek i inkubowano przez 24 godziny w temperaturze 37°C , 5% CO_2 , 95% wilgotności. Następnie dodano 1 ml świeżego podłoża z 10% FBS na dołek i termicznie sterylizowane próbki (grubość $10 \times 10 \text{ mm} \times 5 \text{ mm}$) umieszczono na monowarstwie komórek i inkubowano przez 24 godziny. Następnie próbki usunięto, a komórki przemyto raz PBS i barwiono 0,2% fioletem krystalicznym w 2% etanolu przez 30 min. Po przemyciu wodą destylowaną (trzykrotnie) zebrano obrazy płytek z barwionymi komórkami i oceniono strefy reaktywności za pomocą oprogramowania ImageJ 1.49 (NIH, Bethesda, USA). Uzyskane wyniki zinterpretowano na podstawie stopnia strefy reaktywności opisanego w U.S. Pharmacopeial Convention [160] i [161,162]. Następnie przeprowadzono solubilizację barwionych komórek za pomocą 10% kwasu octowego na wytrząsarce (1 ml/dołek, 10 minut, 400 obr./min, temperatura pokojowa). Absorbancję roztworów CV z poszczególnych próbek mierzono przy 595 nm w stosunku do 450 nm i do próbki ślepej (10% kwas octowy) za pomocą czytnika mikropłytek ($\mu\text{QuantTM}$, BioTek Instruments, Inc. Winooski, USA). Wyniki przedstawiono jako % kontroli. Wszystkie eksperymenty przeprowadzono trzykrotnie.

Różnice między próbkami kontrolnymi poddanymi leczeniu i niepoddanymi leczeniu oszacowano za pomocą nieparametrycznego testu Kruskala-Wallisa ze względu na brak rozkładu normalnego danych w badanych grupach (analizowanych testem Shapiro-Wilka). Do oceny różnic między dwiema badanymi liniami komórkowymi inkubowanymi z tymi samymi próbkami zastosowano test U Manna-Whitneya. $P \leq 0,05$ uznano za statystycznie istotne. Wszystkie analizy, obliczenia i rysunki wykonano za pomocą oprogramowania Statistica 13.3 (StatSoft, Kraków).

Hodowla komórkowa

Normalne fibroblasty ludzkiej skóry BJ (ATCC, USA) hodowano w EMEM i HaCaT ludzkich immortalizowanych keratynocytów (CLS, Niemcy) w podłożu DMEM. Oba podłoża uzupełniono 10% inaktywowanego cieplnie FBS, 100 U/ml penicyliny i 100 $\mu\text{g/ml}$ streptomycyny. Komórki hodowano w temperaturze 37°C w atmosferze 5 % CO_2 i 95 % wilgotności, przy czym podłoże hodowlane zmieniano co 2–3 dni, a następnie pasażowano przy około 80 % zbieżności z 0,25 % trypsyny i 0,03 % kwasu etylenodiaminotetraoctowego w wolnym od wapnia i magnezu PBS. Morfologię komórek monitorowano pod odwróconym mikroskopem Nikon TE2000S z kontrastem fazowym (Tokio, Japonia). Liczbę i żywotność komórek oszacowano za pomocą testu wykluczenia błękitu trypanu z użyciem automatycznego licznika komórek TC20™ (Bio-Rad Laboratories, Hercules, USA).

4.2.13. Analiza elementarna

Wykonano analizę elementarną (C, H, N) natywnego P3HB, PU, kompozycji polimerowych P3HB-PU i hybrydowych nanobiokompozytów polimerowych z użyciem analizatora Vario EL III C, H, N firmy Elementar (Langensfeld, Niemcy).

4.2.14. Badanie podatności na biodegradację

Badanie podatności na biodegradację nanobiokompozytów na osnwie P3HB przeprowadzono za pomocą aparatu OxiTop® Control S6 firmy WTW-Xylem (Raleigh, USA), który wykorzystywał respirometryczną metodę pomiaru zapotrzebowania tlenu niezbędnego do biodegradacji tlenowej materiałów polimerowych w glebie. Pomiar zużytego tlenu wyrażono za pomocą wartości biologicznego zapotrzebowania na tlen (BZT), które wyrażono w ilości miligramów wychwyconego tlenu przypadającego na jednostkę masy badanego tworzywa poliuretanowego.

Aparat OxiTop® Control S6 składa się ze szklanych butelek o pojemności 510 ml wyposażonych w gumowe kołczany oraz główki pomiarowe typu OxiTop-C, za pomocą których dokonywano pomiaru BZT. Pozwalały one na dokonanie pomiaru ciśnienia w zakresie 500 do 1350 hPa z dokładnością do 1% w temperaturze od 5°C do 50°C. W skład zestawu wchodzi również kontroler OC 110, który służył do komunikacji pomiędzy główkami pomiarowymi, użytkownikiem, a oprogramowaniem komputerowym Achat OC (WTW-Xylem, Raleigh, USA), służącym do interpretacji otrzymanych wyników pomiaru.

Badanie podatności na biodegradację wykonano według normy [163]. Jako środowisko biodegradacji zastosowano przesianą i wysuszoną glebę ogrodową posiadającą dużą zawartość próchnicy o parametrach fizykochemicznych takich jak: wilgotność 5 % [164], pH 6 [165], średnica ziaren < 2 mm, pobraną w miejscowości Szczepanowo (woj. kujawsko-pomorskie). Następnie odważono ją w ilości 200 g i wprowadzono do butelki z zestawu OxiTop. W kolejnym kroku odmierzone i dodano 100 ml wody destylowanej. Całość wymieszano, a następnie dodano ok. 200 mg litej próbki badawczej i ponownie wymieszano. Dokładna masa wprowadzonej próbki została odczytana i zapisana. Po przygotowaniu układu, założono gumowy kołczan, w którym umieszczono 2 pastylki stałego NaOH i przykręcono główkę pomiarową. Czynność tę powtórzono również dla pozostałych butelek aparatu OxiTop. Zestaw badawczy umieszczono w cieplarni utrzymującej stałą temperaturę wynoszącą $20 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ i termostatowano go wstępnie w tej temperaturze przez 2 godziny. Następnie za pomocą kontrolera OC 110 uruchomiono program pomiaru BZT i pozostawiono go w cieplarni w stałej temperaturze $20 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ przez 28 dni. Wyniki pomiaru odczytywano z główek pomiarowych co 2-3 dni.

Zestaw próbek badawczych zawierał dwa układy odniesienia: dodatni i ujemny, jedną próbę ślepą oraz próbki badanych materiałów. Jako próbę ślepą zastosowano mieszaninę gleby i

wody bez materiału poddawanego procesowi biodegradacji. Próbą dodatnią był łatwo biodegradowalny polimer naturalny – skrobia, natomiast próbą ujemną był polimer całkowicie niebiodegradowalny – polietylen. Do badania zastosowano cztery typy próbek na bazie P3HB: czysty P3HB, kompozycję z PU i nanokompozyty P3HB zawierające PU i nanokrzemionkę Cloisite®30B. Zgodnie z normą [166] wszystkie próbki poddane badaniu były porównywalnych rozmiarów, ponieważ bezwzględny stopień degradacji zależy od formy i kształtu materiału.

Biochemiczne zapotrzebowanie tlenu BZT dla pojedynczej butelki OxiTop® Control S6 wyznaczono ze wzoru uwzględniającego BZT badanego układu, skorygowanego o BZT samej gleby uwzględniając stężenie badanego materiału w glebie.

$$BZT_S = \frac{BZT_x - BZT_g}{c}$$

gdzie:

S – liczba dni pomiaru

BZT_S – biochemiczne zapotrzebowanie na tlen analizowanego materiału w ciągu S dni [mg/l]

BZT_x – wynik pomiaru dla układu x [mg/l]

BZT_g – wyniki pomiaru dla samej gleby (bez próby) [mg/l]

c – stężenie próbki w badanym układzie [mg/l].

Stopień biodegradacji materiału polimerowego wyznaczono na podstawie równania:

$$D_t = \frac{BZT_S}{TZZ} \cdot 100\%$$

gdzie:

D_t – stopień biodegradacji materiału [%];

TZZ – teoretyczne zapotrzebowanie na tlen [mg/l].

Teoretyczne zapotrzebowanie na tlen dla każdego układu obliczono ze wzoru zawartego w normie. Założono, że w wyniku procesu biodegradacji w warunkach tlenowych, węgiel zawarty w badanym związku przechodzi w CO_2 , wodór w H_2O , fosfor w P_4O_{10} , siarka w SO_3 , a azot w NH_3 , chlor w HCl . Dla związku o znanym wzorze sumarycznym zawierającym pierwiastki C, H, Cl, N, S, P, Na, O, wartość TZZ można obliczyć według równania:

$$TZZ = \frac{16[2c + 0,5(h - cl - 3n) + 3s + 2,5p + 0,5k - o]}{M_r}$$

gdzie:

c, h, p, s, n, cl, k, o – ilość poszczególnych pierwiastków w cząsteczce biodegradowanego materiału [-];

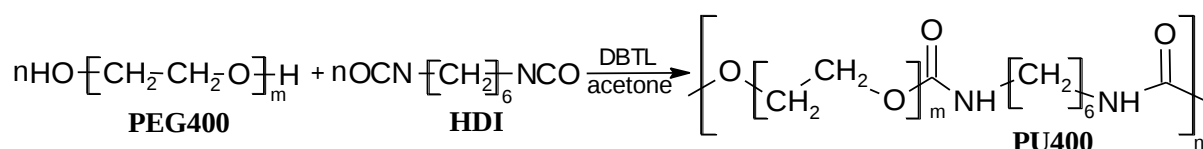
M_r – masa naważki biodegradowanego materiału [g].

5. OMÓWIENIE WYNIKÓW NAUKOWYCH PREZENTOWANYCH W ARTYKUŁACH BĘDĄCYCH PODSTAWĄ DOKTORATU

5.1. PUBLIKACJA [D1]

A. Białkowska, B. Krzykowska, I. Zarzyka, M. Bakar, V. Sedlařík, M. Kovářová, A. Czerniecka-Kubicka, Polymer/Layered Clay/Polyurethane Nanocomposites: P3HB Hybride Nanobiocomposites - Preparation and Properties Evaluation, *Nanomaterials*, 13, 225 (2023). <https://doi.org/10.3390/nano13020225> [IF=4,4]

Z uwagi na pewne niekorzystne właściwości P3HB to jest dużą sztywność, kruchość i niską stabilność termiczną powyżej temperatury topnienia oraz w celu zwiększenia zakresu zastosowań podjęłam próbę polepszenia tych właściwości. W tym celu wykorzystałam liniowy alifatyczny poliuretan (PU400) i modyfikowany za pomocą czwartorzędowej soli amoniowej montmorylonit (MMT) – Cloisite®30B. Założyłam, że hybrydowe nanobiokompozyty na bazie P3HB będą wykazywać lepsze właściwości ze względu na dwa różne mechanizmy wzmacniania zastosowanych modyfikatorów. Termoplastyczny poliuretan (PU400) otrzymałam zgodnie z przepisem podanym w artykule [145] w reakcji glikolu polietylenowego o masie molowej 400 g (PEG400) i 1,6-diizocyjanianu heksametylenu (HDI), wg reakcji przedstawionej na rysunku 11:



gdzie: $m \approx 9$ i $n \approx 9$.

Rysunek 11. Schemat syntezy z udziałem glikolu polietylenowego o masie molowej 400 g (PEG400) i 1,6-diizocyjanianu heksametylenu (HDI)

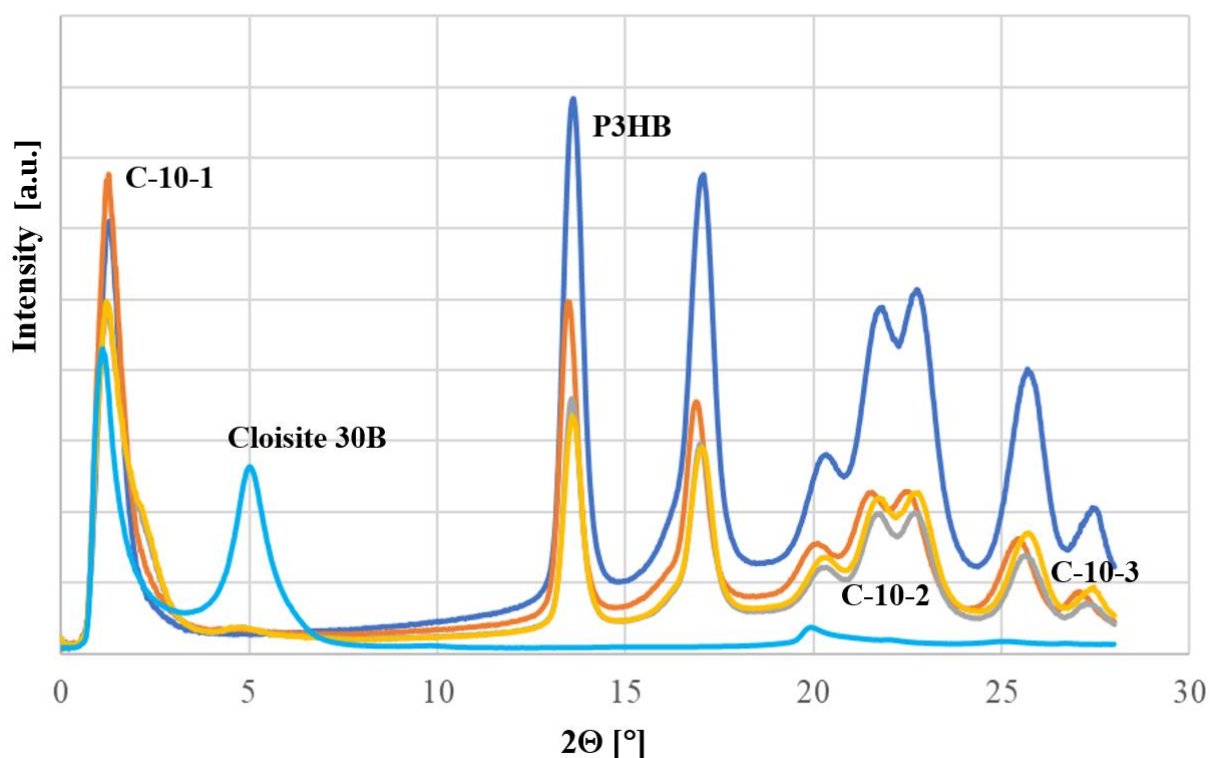
Kolejno przygotowałam mieszanki polimerowe z nanonapełniaczem zgodnie ze składem podanym w tabeli 7.

Tabela 7. Skład mieszanek oraz oznaczenia przygotowanych nanobiokompozytów P3HB-PU400 i Cloisite®30B

Zawartość (% mas.)			Oznaczenia materiału
P3HB	PU400	Cloisite®30B	
90	10	0	C-10-0
89	10	1	C-10-1
88	10	2	C-10-2
87	10	3	C-10-3

Tak przygotowane mieszanki zostały poddane wytłaczaniu za pomocą wytłaczarki dwuślimakowej współbieżnej, granulacji i suszeniu. Materiał referencyjny stanowiły nienapełniony P3HB oraz kompozycja polimerowa P3HB, zawierająca 10 % mas. PU400 (C-10-0). Otrzymane nanobiokompozyty poddałam szeregowi badań mających na celu sprawdzenie ich struktury, morfologii i właściwości termicznych i mechanicznych.

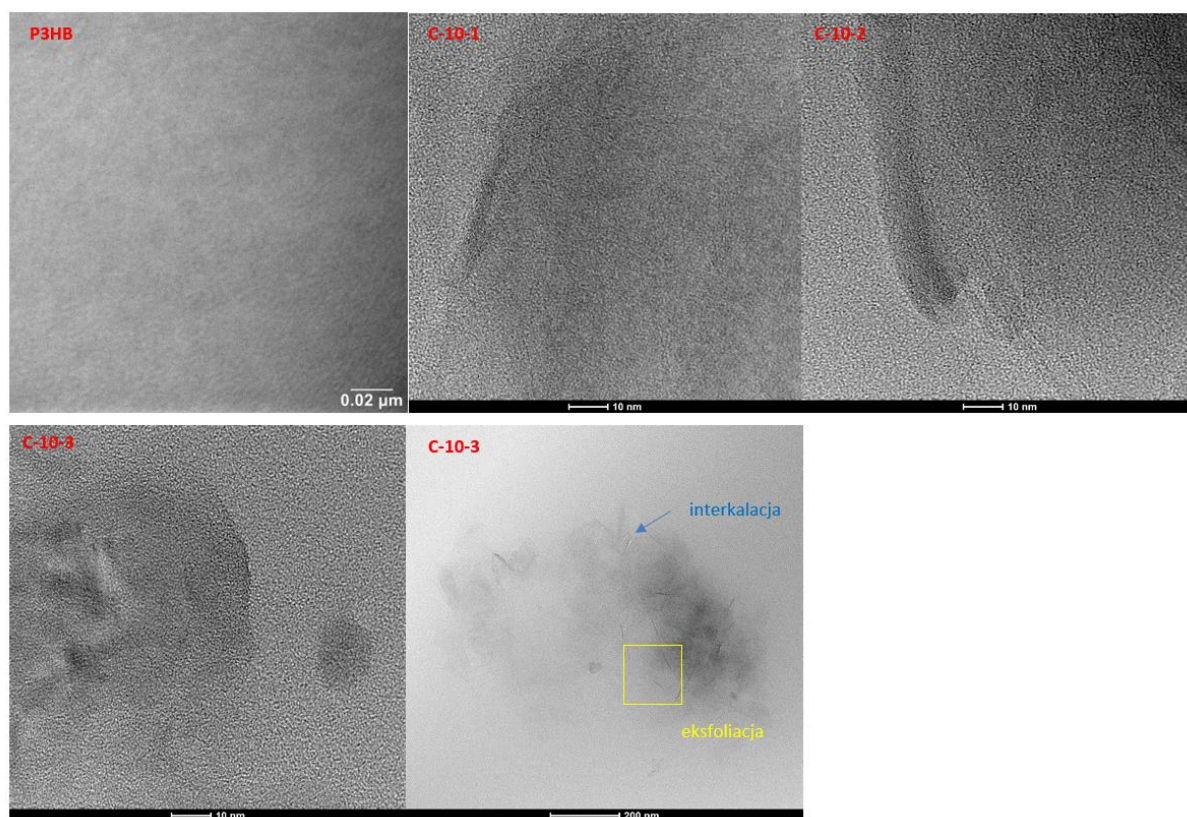
Analiza materiałów za pomocą techniki wąskokątowego rozpraszania promieniowania rentgenowskiego SAXS wykazała, że nienapełniony P3HB wykazuje poniżej wartości kąta 2θ 12° jedynie rozpraszanie tła o niskiej intensywności, podczas gdy Cloisite®30B charakteryzuje się maksimum dyfrakcji przy wartości kąta $2\theta = 5,00^\circ$ (rys. 12). Równania Bragga pozwala na tej podstawie obliczyć wartości odległości d między płytkami glinokrzemianowymi w Cloisite®30B, które wynoszą ok. 1,77 nm. Otrzymane nanobiokompozyty nie wykazywały pików dyfrakcji poniżej wartości $2\theta < 5^\circ$, co wskazuje, że łańcuchy P3HB przeniknęły między warstwami płytek nanoglinki powodując jej rozwarstwienie. Wykresy C-10-2 i C-10-3 pokazują poszerzenie pików zerowego, co może wskazywać na częściową interkalację. Ponadto uzyskane w badaniu wykresy SAXS nanobiokompozytów, obecność bardziej rozmytych pików powyżej 12°C , wskazują na wzrost stopnia amorficzności matrycy - semikrystalicznego P3HB.



Rysunek 12. Wykresy SAXS zarejestrowane w trybie transmisyjnym dla natywnego P3HB — , Cloisite®30B - nanoglinki organicznej — i nanobiokompozytów hybrydowych zawierających 10 % mas. PU400 i 2 i 3 % mas. Cloisite®30B (oznaczonych jako C-10-1 — , C-10-2 — i C-10-3 —)

Analiza TEM potwierdziła wnioski wynikające z analizy SAXS. Na obrazach TEM uzyskanych nanobiokompozytów obserwuje się wysoki stopień rozproszenia Cloisite®30B.

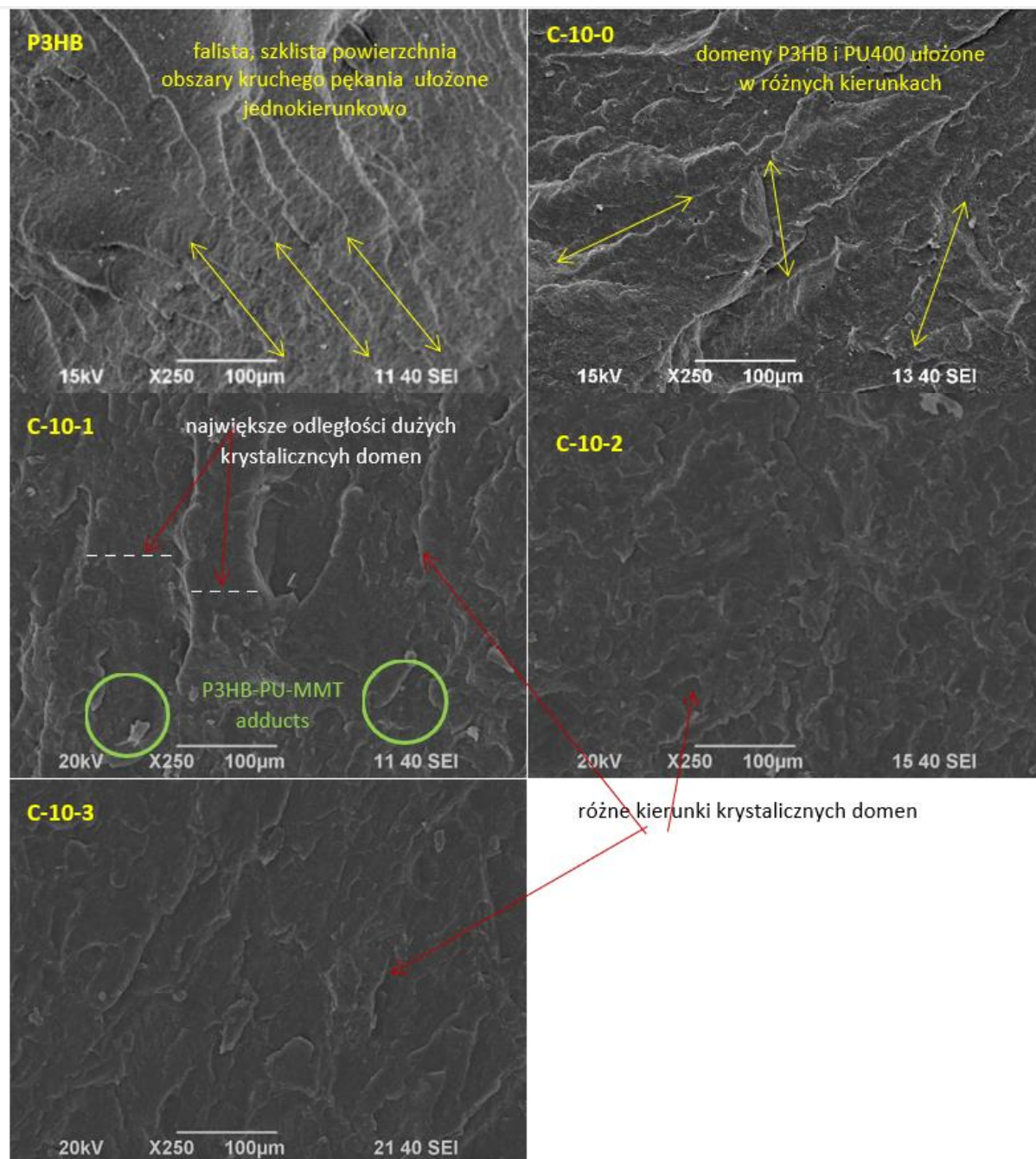
Łańcuchy P3HB spenetrowały przestrzeń międzywarstwową gliny glinokrzemianowej, we wszystkich próbkach obserwuje się podobny stopień eksfoliacji. Z kolei przy stężeniu nanonapełniacza 3 % mas. (C-10-3), obserwuje się częściową interkalację (rys. 13).



Rysunek 13. Mikrografie TEM P3HB i jego hybrydowych nanobiokompozytów z 10 % mas. PU400 i 1, 2 i 3 % mas. Cloisite®30B oznaczone jako C-10-1, C-10-2, C-10-3

Na rysunkach 14 przedstawiono mikrografie SEM powierzchni pęknięcia, na skutek przyłożonej siły, próbek poliestru (P3HB) i kompozycji zawierającej 10% mas. dodatek poliuretanu na bazie glikolu polietylenowego (PEG400) i różne ilości nanonapełniacza. Powierzchnia przełomu matrycy poliestrowej pokazana na rysunku 14a jest lekko falista i szklista, co sugeruje regularną i elastyczną ścieżkę propagacji pęknięcia, a obszary kruchego pęknięcia są rozmieszczone jednokierunkowo. Wprowadzenie PU400 jako jedyne modyfikatora, powoduje zakłócenie ciągłości struktury matrycy P3HB. Zauważalne na zdjęciu ułożone w różnych kierunkach chropowate obszary mogą sugerować oddziaływanie matrycy biopolimeru z PU skutkujące rozsunięciem wzajemnie oddziaływujących na siebie łańcuchów P3HB i utworzeniem krystalicznych domen. Rozsunięcie to może mieć związek ze zwiększeniem wydłużenia i udużności oraz ze znacznym zmniejszeniem twardości i niewielkim zmniejszeniem wytrzymałości kompozycji, co świadczy o uelastyczniającym wpływie modyfikatora poliuretanowego.

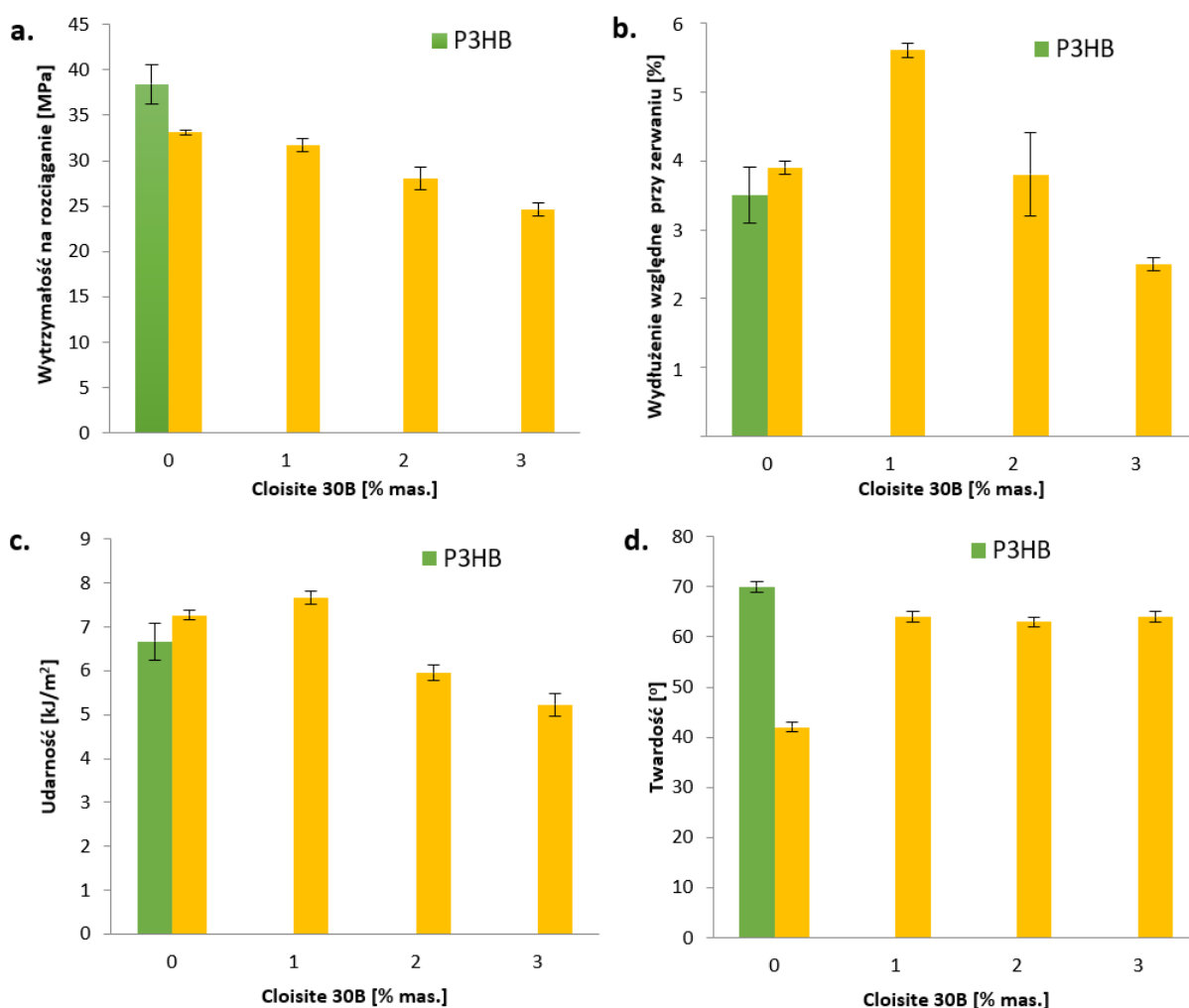
Dodatek 1% mas. Cloisite®30B sprawia, że powierzchnia pęknięcia charakteryzuje się zupełnie inną strukturą niż pozostałe próbki. Wyraźne, ułożone w różnych kierunkach krystaliczne domeny mają dużo większe rozmiary niż na pozostałych załączonych zdjęciach. Domeny te są rozsunięte na większe niż w pozostałych próbkach odległości, co sugerować może mniejsze ich wzajemne oddziaływanie i efekt uelastycznienia P3HB. Z jednej strony może to mieć związek z tworzeniem się łatwo przemieszczających względem siebie adduktów P3HB-PU-MMT, a zjawisko to może wpływać na wzrost wydłużenia oraz wzrost udatności analizowanej próbki. Z drugiej strony wzrost twardości materiału może sugerować usztywniający wpływ MMT.



Rysunek 14. Mikrografie SEM nienapełnionego P3HB, modyfikowanego 10 % mas. PU400 (C-10-0), oraz nanobiokompozytów zawierających: 10 % mas. poliuretanu PU400 i odpowiednio 1, 2 i 3 % mas. nanoglinki organicznej Cloisite®30B (C-10-1, C-10-2 i C-10-3), przy powiększeniu x250

Dodatek większych ilości Cloisite®30B wyklucza powstawanie wspomnianych adduktów, co sugeruje bezzasadność zwiększania ilości MMT w kompozytach. Struktura powierzchni pękania tych nanobiokompozytów staje się coraz bardziej podobna do struktury kompozycji P3HB z PU400 wraz ze zwiększaniem ilości MMT. Większa ilość Cloisite®30B nie powoduje rozsunienia się domen i wskutek tego nie uelastycznia nanobiokompozytów, dlatego obserwowany jest spadek udarności, wytrzymałości i wydłużenia przy zerwaniu oraz usztywnienie.

Właściwości mechaniczne nanobiokompozytów (rys. 15) zmieniały się w zależności od ilości zastosowanego Cloisite®30B.



Rysunek 15. Wpływ zawartości nanoglinki organicznej Cloisite®30B na wytrzymałość na rozciąganie (a) i wydłużenie względne przy zerwaniu (b) udarność (c) i twardość (d) nanobiokompozytów na osnwie P3HB z dodatkiem PU400

Wytrzymałość na rozciąganie wyraźnie zmniejszała się wraz ze wzrostem ilości wprowadzonego nanonapełniacza. Dodanie PU400 spowodowało 14% spadek wytrzymałości na rozciąganie, dodanie Cloisite®30B spowodowało dalszy spadek wytrzymałości i w wypadku nanobiokompozytu zawierającego 1% mas. Cloisite®30B (C-10-1) był to spadek o ok. 17%. Z kolei można zauważyć niewielki wzrost wydłużenia przy zerwaniu o 11% po dodaniu PU400

i dalszy wzrost po wprowadzeniu 1 % mas. nanododatku – ok. 60% w porównaniu z próbką niemodyfikowaną i 44% w porównaniu z próbką modyfikowaną PU400. Dalsze zwiększanie zawartości nanonapełniacza spowodowało zmniejszenie wartości wydłużenia przy zerwaniu. Kompozycja P3HB-PU400 i nanobiokompozyt C-10-1 (modyfikowany PU400 i 1% mas. Cloisite®30B) wykazały wyższą wytrzymałość na uderzenie niż P3HB (rys. 15c). Jak pokazano na Rysunku 15d, widoczny jest spadek twardości otrzymanych nanobiokompozytów. Wprowadzenie PU400 sprawia, że kompozycja jest bardziej elastyczna, obserwuje się spadek twardości z 70 do 42. Dodatek organomodyfikowanej nanoglinki zwiększa twardość nanobiokompozytu do 64, ale nadal twardość jest niższa w porównaniu z nienapełnionym P3HB.

W celu zbadania stabilności termicznej przygotowanych nanobiokompozytów przeprowadzona została analiza termogravimetryczna, a jej wyniki pokazane w tabeli 8. Analiza TG wykazała, że stabilność termiczna P3HB wzrosła o 10°C po wprowadzeniu 10 % mas. PU400. Co więcej, stabilność termiczna nanobiokompozytu zawierającego 1% mas. Cloisite®30B wzrosła o 30°C w porównaniu do niewypełnionego P3HB. Jednak dalszy wzrost ilości nanonapełniacza spowodował, że stabilność termiczna nanobiokompozytu pozostała niezmienną.

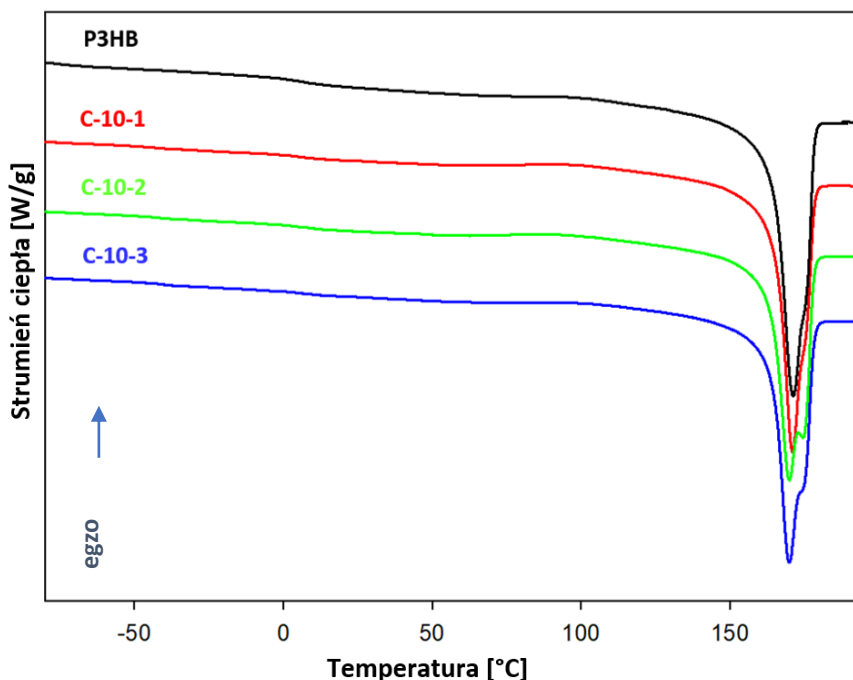
Tabela 8. Interpretacja krzywych TG i DTG P3HB i nanobiokompozytów opartych na P3HB, PU400 i Cloisite®30B zarejestrowanych przy szybkości ogrzewania 5°C/min w atmosferze azotu

Materiał	T_{on} [°C]	T_{50%} [°C]	T_{max} [°C]	Pozostałość w temp. 600°C [%]
P3HB	221	281	282	1,10
C-10-0	231	280	278	0,57
C-10-1	251	282	283	0,65
C-10-2	250	281	282	1,31
C-10-3	246	281	281	2,24

T_{on} - temperatura początku rozkładu, T_{50%} - temperatura 50 % ubytku masy, T_{max} - temperatura najszybszego rozkładu

Jakościową analizę właściwości cieplnych przeprowadzono przy użyciu metody DSC na podstawie pomiaru szybkości przepływu ciepła dla P3HB i jego nanobiokompozytów. Rysunek 16 przedstawiający porównanie zależności temperaturowej szybkości przepływu ciepła nienapełnionego P3HB i otrzymanych nanobiokompozytów pokazuje, że nanobiokompozyty, tak jak P3HB, są semikrystalicznymi materiałami z przemianą szklistą i topnieniem. Parametry termiczne przemian fazowych oszacowano podczas ogrzewania i wymieniono w tabeli 9. Zaobserwowano, że wartości temperatury zeszklenia są niższe niż nienapełnionego P3HB, co wskazuje na plastyfikujący wpływ PU400 i Cloisite®30B na matrycę P3HB. Największa zmiana temperatury zeszklenia wynosi 13,3°C. Wprowadzenie poliuretanu i MMT obniżyło również temperaturę topnienia, maksymalnie o 7,7°C w wypadku C-10-3. Szczególnie interesująca i użyteczna jest znaczna różnica między wartościami temperatury degradacji i topnienia, która

ułatwia przetwarzanie i zapobiega degradacji materiału. Można zauważyć, że najlepsze właściwości termiczne i najszersze okno przetwarzania wyrażone jako różnica między temperaturą degradacji i temperaturą topnienia uzyskano dla C-10-2 i wynosi ono 95,7°C.



Rysunek 16. Porównanie szybkości przepływu ciepła dla P3HB i jego nanobiokompozytów z PU400 i Cloisite®30B w funkcji temperatury (materiały oznaczone odpowiednio jako C-10-1, C-10-2 i C-10-3)

Tabela 9. Parametry cieplne nanobiokompozytów P3HB z poliuretanem PU400 i nanoglinką Cloisite®30B

Materiał	T_g [°C]	ΔC_p [J/(mol·°C)]	ΔH_f [kJ/mol]	$T_{m(onset)}$ [°C]
P3HB	7,7	15,20	8,63	159,7
C-10-0	0,7	10,34	4,60	161,8
C-10-1	-1,0	21,91	4,54	156,9
C-10-2	-3,6	14,26	5,34	154,3
C-10-3	-5,6	20,50	4,82	152,0

Ponadto, w celu próby powiązania właściwości mechanicznych z właściwościami termicznymi, przeanalizowano skład fazowy otrzymanych nanokompozytów. Na podstawie przeprowadzonych pomiarów ciepła właściwego i ciepła topnienia semikrystalicznych nanobiokompozytów obliczono zawartość fazy krystalicznej (W_c) oraz fazy amorficznej (W_a) i sztywnej amorficznej (W_{RAF}) (tab. 10). Wprowadzenie PU400 i Cloisite®30B sprawia, że stopień krystaliczności wszystkich nanobiokompozytów obniża się w porównaniu do P3HB, a największy spadek obserwuje się dla C-10-2, podczas gdy najlepsze właściwości mechaniczne obserwuje się dla C-10-1.

Tabela 10. Charakterystyka zawartości faz dla nienapełnionego P3HB, kompozycji P3HB-PU i nanobiokompozytów z Cloisite®30B

Materiał	C_p^{100%} (a) [J·mol⁻¹·°C⁻¹]	H_f^{100%} (b) [kJ·mol⁻¹]	W_a^(c) [%]	W_c^(d) [%]	W_{RAF}^(e) [%]
P3HB	42,14*	12,47*	33*	63*	4*
C-10-0	35,44**	7,70**	30,4**	59,7**	9,9**
C-10-1	54,99	10,83	39,8	41,9	18,3
C-10-2	32,47	14,42	43,9	37,0	19,1
C-10-3	51,64	12,15	39,7	39,7	20,6

* dane uzyskane z [49]; ** dane uzyskane z [167]; (a) ciepło właściwe w temperaturze T_g całkowicie amorficznej próbki; (b) ciepło topnienia całkowicie krystalicznej próbki; (c) stopień krystaliczności; (d) stopień amorficzności; (e) zawartość sztywnej fazy amorficznej.

Na podstawie analizy przedstawionych danych (TEM i SAXS) można stwierdzić, że w uzyskanych nanobiokompozytach hybrydowych przeważa struktura eksfoliowana. Użycie większej ilości niż 1 % mas. organomodyfikowanej glinki Cloisite®30B prowadzi do częściowej interkalacji powodując tworzenie nanobiokompozytów o nieuporządkowanej, mieszanej strukturze. Analiza SEM powierzchni przełomów wytworzonych nanobiokompozytów pozwoliła wytłumaczyć wpływ ich morfologii na poprawę właściwości mechanicznych takich jak udurowienie i wydłużenie przy zerwaniu przy jednoczesnym spadku wytrzymałości na rozciąganie. Dodatek Cloisite®30B do kompozycji P3HB-PU powoduje usztywnienie kompozycji i wzrost twardości. Zwiększanie zawartości MMT powyżej 1 % mas. nie jest nieskutecznym sposobem polepszenia właściwości mechanicznych nanobiokompozytów na osnowie P3HB z dodatkiem poliuretanu. Dodatek PU400 oraz Cloisite®30B do matrycy poliestrowej spowodował wzrost temperatury degradacji, obniżenie temperatury zeszklenia i temperatury topnienia. Zmiany te ułatwią przetwórstwo nanobiokompozytów zwiększając temperaturowe okno przetwarzania. Najlepszymi właściwościami mechanicznymi i termicznymi charakteryzuje się nanobiokompozyt zawierający 1 % mas. Cloisite®30B i 10 % mas. PU400. Stwarza to możliwość zastosowania tak zmodyfikowanego P3HB do produkcji jednorazowych materiałów opakowaniowych lub w zastosowaniach biomedycznych.

5.2. PUBLIKACJA [D2]

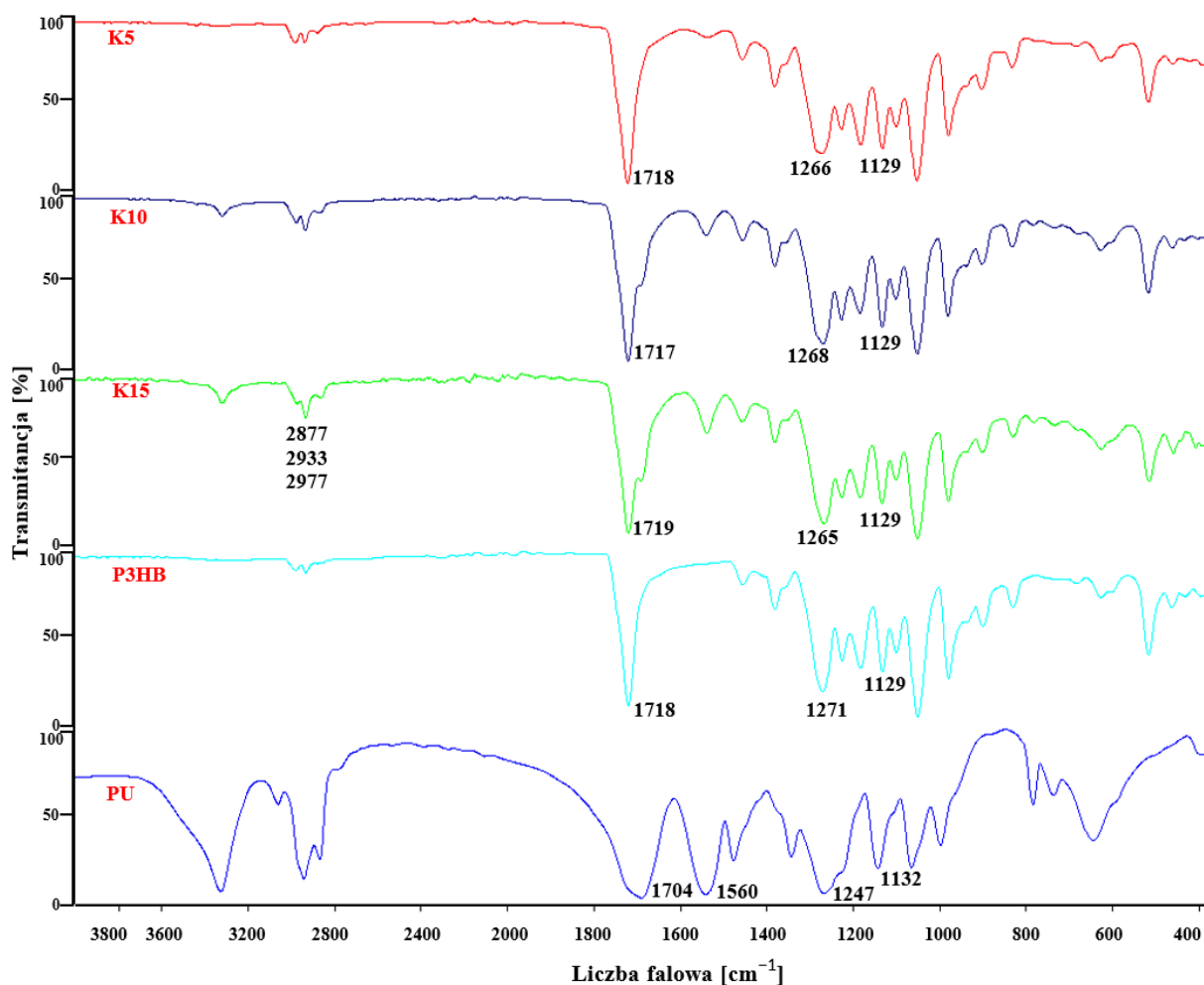
B. Krzykowska, A. Czerniecka-Kubicka, A. Białkowska, M. Bakar, K. Hęclik, L. Dobrowolski, M. Longosz, I. Zarzyka, Polymer biocompositions and hybrid polymer nanobiocomposites based on P3HB with an aliphatic polyurethane and organically modified montmorillonite, *Int. J. Mol. Sci.*, 24, 17405 (2023). <https://doi.org/10.3390/ijms242417405>, [IF = 4,9]

W tej pracy do modyfikacji właściwości P3HB zastosowałam alifatyczny poliuretan liniowy, który zsyntezowałam w reakcji butano-1,4-diolu z 1,6-diizocyjanianem heksametylenu. Poliuretan użyłam do wytworzenia kompozycji polimerowych z P3HB w ilości 5, 10, 15 i 20 % mas. (tab. 11) celem polepszenia właściwości mechanicznych i termicznych poliuretanu alifatycznego. Kompozycje polimerowe wytworzone zostały poprzez homogenizację w stanie stopionym, a celem pozyskania materiału referencyjnego w porównywalnych warunkach przetworzony został również czysty P3HB.

Tabela 11. Skład mieszanek polimerowych P3HB i PU oraz P3HB, PU i Cloisite®30B

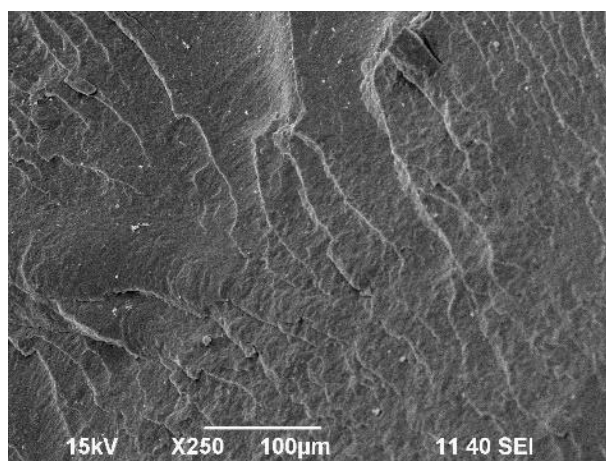
Zawartość [% mas.]			Materiał
P3HB	PU	Cloisite®30B	
95	5	0	K5
90	10	0	K10
85	15	0	K15
80	20	0	K20
94	5	1	K5-1
93	5	2	K5-2
92	5	3	K5-3

W celu potwierdzenia kompatybilności składników przeprowadziłam analizę spektralną. Na rysunku 17 przedstawione zostały widma FT IR czystego P3HB, PU oraz ich kompozycji. Widmo FT IR P3HB obrazuje charakterystyczne dla estru pasmo drgań walencyjnych grup karbonylowych przy 1718 cm^{-1} oraz pasma drgań asymetrycznych i symetrycznych wiązań C-O grupy estrowej przy 1271 oraz 1129 cm^{-1} . W widmie FT IR czystego poliuretanu (rys. 17) występują pasma drgań walencyjnych wiązań N-H grupy uretanowej powyżej 3100 cm^{-1} . Drgania walencyjne grupy karbonylowej w grupie uretanowej generują pasmo przy 1704 cm^{-1} , a drgania wiązań CON-H pasmo przy 1560 cm^{-1} . Pasma wynikające z drgań symetrycznych i asymetrycznych wiązania C-O w grupie uretanowej są widoczne przy 1247 i 1097 cm^{-1} . W widmach FT IR kompozycji P3HB-PU dla liczb falowych większych od 3000 cm^{-1} następuje zmiana kształtu pasma w porównaniu do widma czystego PU. Zdecydowanie maleje jego intensywność, ale jednocześnie jest ono szerokie i rozmyte, co wynika z tworzenia wiązań wodorowych z udziałem grup uretanowych poliuretanu alifatycznego z grupami estrowymi P3HB [168, 169].



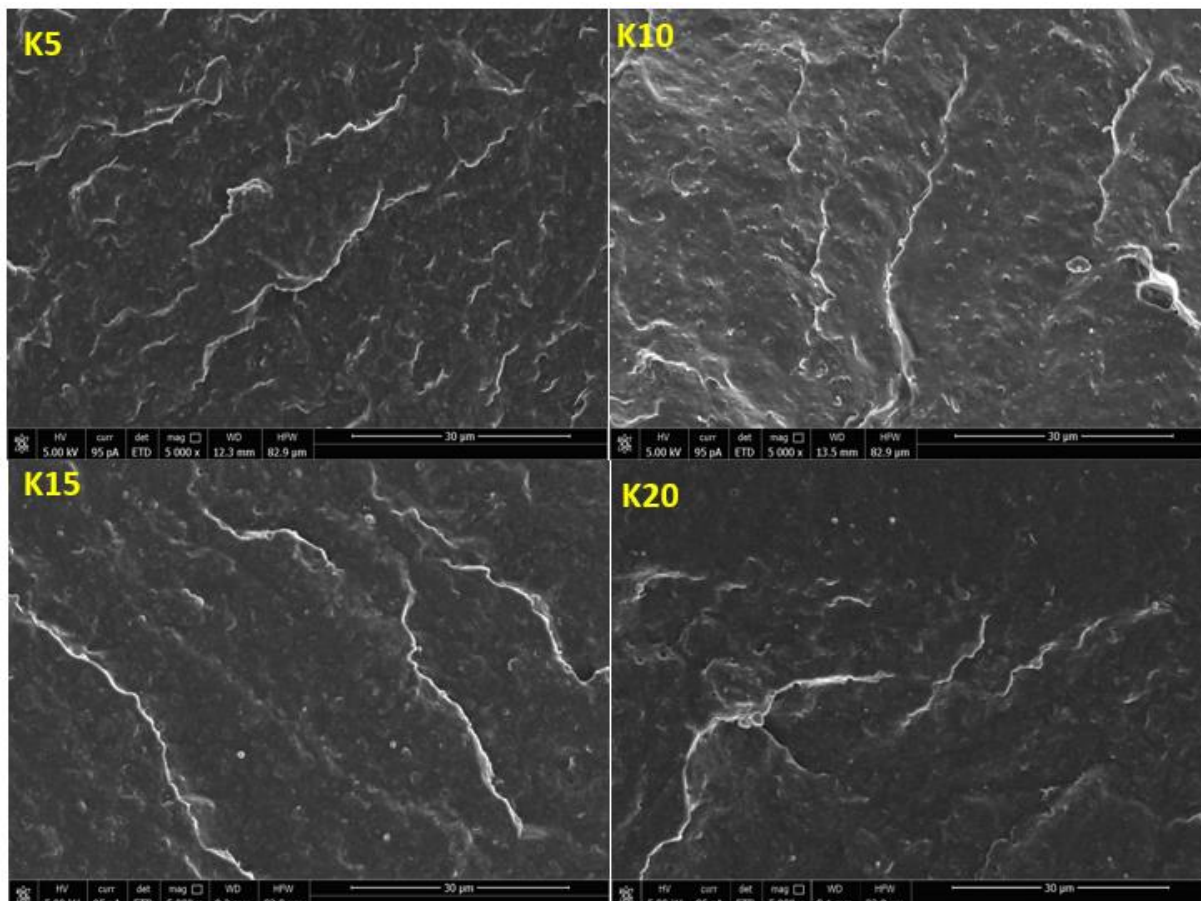
Rysunek 17. Widma FT IR P3HB, PU i ich kompozycji zawierających 5, 10 i 15 % mas. PU, odpowiednio K5, K10 i K15

W celu zbadania zmian w morfologii powierzchni przełomów przygotowanych kompozycji polimerowych w porównaniu z osnową P3HB, wykonano mikrografie SEM powierzchni pęknięcia w punkcie przyłożenia obciążenia. Powierzchnia bazowego P3HB, pokazana na rysunku 18, jest ma lekko falistą, szklistą morfologię, co sugeruje stosunkowo dużą kruchość.



Rysunek 18. Mikrografia SEM czystego P3HB, powiększenie 250x

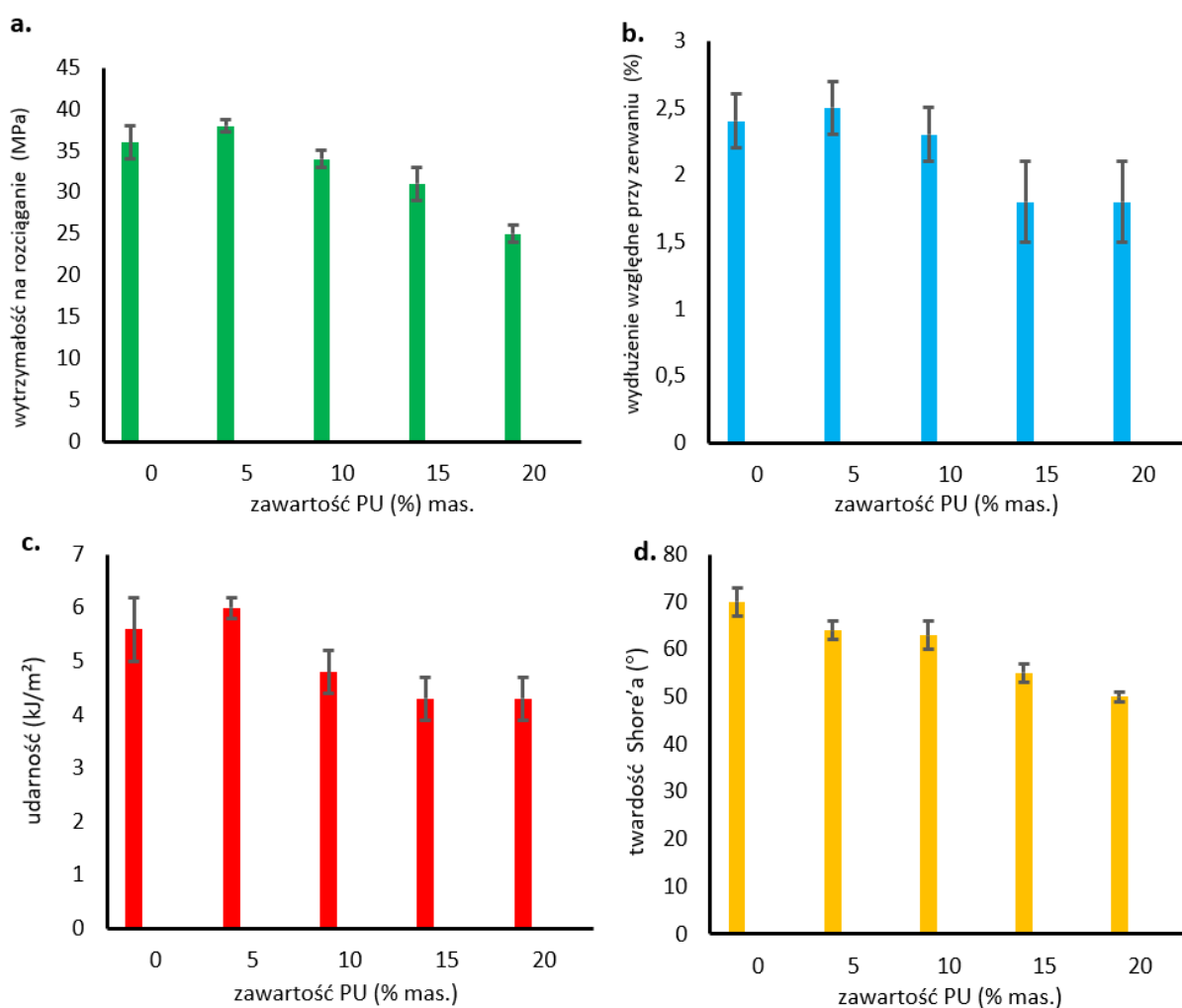
Na rysunku 19 przedstawione zostały mikrografie SEM powierzchni pęknięć mieszanek P3HB z dodatkiem modyfikatora PU w ilości 5, 10, 15 i 20 % mas. Wprowadzenie PU jako modyfikatora spowodowało widoczne przerwanie ciągłości struktury matrycy P3HB. Pojawiły się domeny krystaliczne w postaci szorstkich ułożonych jednokierunkowo przełamów. Może to sugerować interakcję matrycy biopolimerowej z PU skutkującą rozsunieniem oddziałujących na siebie łańcuchów P3HB i utworzeniem tych domen [170].



Rysunek 19. Mikrografie SEM kompozycji polimerowych P3HB z dodatkiem 5, 10, 15 i 20 % mas. poliuretanu, oznaczonych odpowiednio K5, K10, K15 i K20

Jednak wraz ze wzrostem ilości PU w matrycy P3HB zauważalne są coraz większe rozsunienia tych szklistych pęknięć. Te rozsunienia mogą mieć wpływ na wzrost wydłużenia przy zerwaniu i niewielki spadek twardości, uderzalności i wytrzymałości na rozciąganie wytworzonych kompozycji wraz ze wzrostem zawartości modyfikatora w poliestrze. Przewidywane właściwości mechaniczne kompozycji polimerowych wynikają z uelastyczniającego efektu PU na matrycę poliestrową. Lepsze właściwości elastyczne są osiągane dzięki silnym oddziaływaniom wywieranym między łańcuchami P3HB i PU [169, 171]. Grupy uretanowe PU i końcowe grupy hydroksylowe są w stanie oddziaływać z grupami estrowymi P3HB poprzez wiązania wodorowe. Jeśli rozdzielanie faz nie jest wykrywalne, kompozycje dają optymalne wyniki pod względem właściwości mechanicznych i termicznych.

Właściwości mechaniczne zostały przedstawione na rysunku 20. Zbadana wytrzymałość na rozciąganie mieszanek polimerowych P3HB-PU zależy od zawartości modyfikatora (PU) i wzrasta do wartości maksymalnej przy 5% mas. PU w kompozycji polimerowej, a następnie spada wraz ze wzrostem zawartości PU (rys. 20a). Niektórzy autorzy zauważyli podobną zależność, tj. tendencję spadku wytrzymałości na rozciąganie w kilku uplastycznionych polimerach wraz ze wzrostem zawartości plastyfikatora przy niewielkim wzroście wydłużenia przy zerwaniu [172-174]. Zjawisko to można wyjaśnić wzrostem wolnej objętości w układzie z powodu obecności elastycznych łańcuchów dodanego modyfikatora, co prowadzi do zmniejszenia specyficznych oddziaływań polimer/polimer.



Rysunek 20. Wytrzymałość na rozciąganie (a), wydłużenie względne przy zerwaniu (b,) udarność (c) i twardość (d) kompozycji polimerowych na osnowie P3HB w funkcji ilości wprowadzonego PU

Wartości względnego wydłużenia przy zerwaniu pokazane na rysunku 20b mają podobną tendencję, tj. maksymalny wzrost po dodaniu 5% mas. PU, a następnie spadek aż do zawartości 15% mas. PU.

Udarność wytworzonych kompozycji polimerowych również rośnie w porównaniu z niemodyfikowanym P3HB (rys. 20c) po wprowadzeniu 5 % mas. PU. Wzrost udziału PU w kompozycji skutkuje spadkiem udarności poniżej wartości udarności czystego P3HB. Podobne zależności obserwowali Seydibeyoglu i in. [173] oraz Jost i in. [175]. Opisali oni maksymalną poprawę wszystkich mierzonych właściwości mechanicznych przy dodaniu niewielkiej ilości modyfikatora polimerowego (tj. 5% mas. PU), co można przypisać tworzeniu się struktury przenikających się sieci polimerowej.

Wytworzenie kompozycji polimerowych P3HB powoduje zmniejszanie się twardości, tym większe im większa zawartość PU (rys. 20d). Spadek twardości może być spowodowany efektem zmękczenia i uelastycznieniem próbek wywołanym przez wynikający z tego wzrost wolnej objętości w mieszaninie i obecność elastycznych łańcuchów modyfikatorów [176].

W celu zbadania stabilności termicznej kompozycji polimerowych P3HB z zawartością 5-20% mas. PU, przeprowadzona została analiza termogravimetryczna. Wyniki badań TG zostały podane w tabeli 12. Wprowadzenie poliuretanu do P3HB powoduje wzrost temperatury degradacji o 22°C. Dodanie większej ilości poliuretanu jeszcze bardziej zwiększa stabilność termiczną kompozycji polimerowych, temperatura początku rozkładu wynosi ponad 265°C dla K10 oraz K15 i K20. Degradacja termiczna przebiega w jednym etapie, na krzywej DTG występuje 1 pik z minimum w temperaturze ok. 280°C. Masa pozostałości w temperaturze 600°C nie przekracza 1% mas. (tab. 12). Dodatek plastyfikatora poliuretanowego doprowadził do zauważalnej poprawy stabilności termicznej P3HB, co jest osiągnięte poprzez interakcję cząsteczek plastyfikatora i łańcucha poliestrowego, co skutecznie opóźniło degradację termiczną mieszanek polimerowych, jak wyjaśniono również w innych badaniach [156, 171, 177-179].

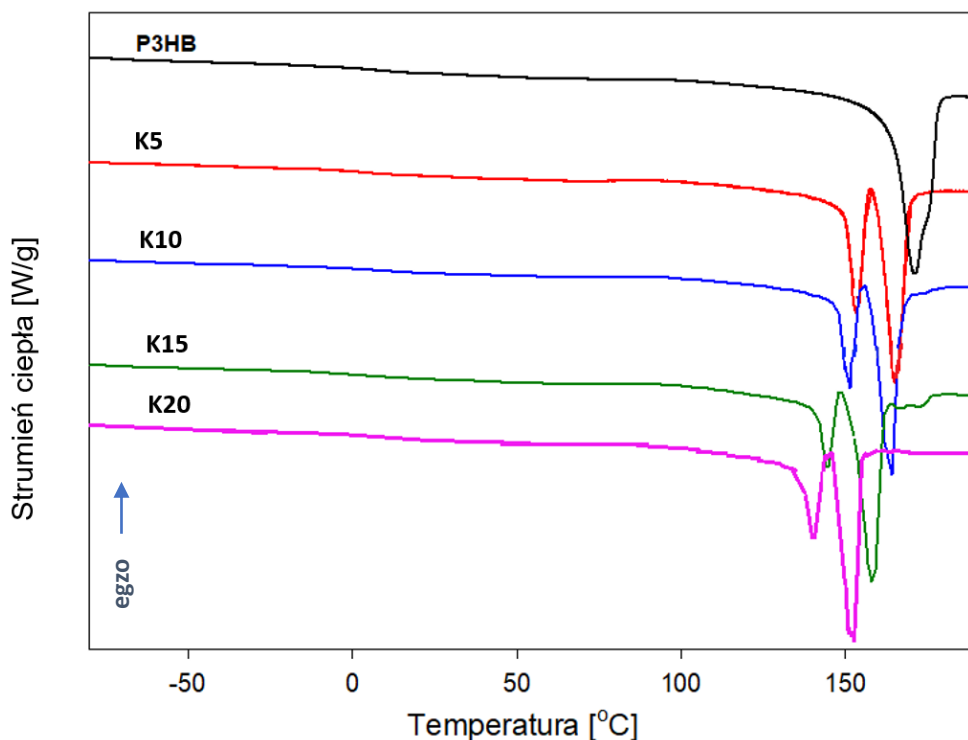
Tabela 12. Interpretacja krzywych TG i DTG kompozycji polimerowych P3HB-PU rejestrowanych przy szybkości grzania 5°C/min w atmosferze azotu

Materiał	T_{on} [°C]	T_{50%} [°C]	T_{max} [°C]	Pozostałość 600°C [%]
P3HB	212	246	278	1,01
K5	234	268	278	0,94
K10	266	277	278	0,75
K15	268	279	280	0,86
K20	268	279	279	0,64

T_{on} - temperatura początku rozkładu, T_{50%} - temperatura 50 % ubytku masy, T_{max} - temperatura najszybszego rozkładu

Jakościowa analiza właściwości cieplnych semikrystalicznego P3HB i jego kompozycji z poliuretanem przeprowadzona została metodą DSC. Na podstawie pomiaru strumienia ciepła w funkcji temperatury rejestrowano jedynie procesy zeszklenia i topnienia, co przedstawione zostało na rysunku 21. Określono zmianę ciepła właściwego (ΔC_p) i wartość temperatury zeszklenia (T_g), ciepło topnienia (ΔH_f) i temperaturę topnienia, T_m (tab. 13). Występowanie dwóch

pików w procesie topnienia polimerów może wskazywać na współistnienie różnych form krystalicznych lub może być spowodowane wprowadzeniem PU. Pierwszy endotermiczny pik jest spowodowany topnieniem mniej stabilnych kryształów, podczas gdy drugi większy pik odpowiada topnieniu większych, bardziej uformowanych kryształów [176].



Rysunek 21. Porównanie strumieni ciepłych P3HB oraz jego kompozycji polimerowych z PU w zależności od temperatury podczas ogrzewania z szybkością $10^{\circ}\text{C} / \text{min}$ w zakresie temperatury od -40°C do 195°C po uprzednim schłodzeniu z tą samą szybkością w podanym zakresie temperatury

Zaobserwowano, że temperatura początku topnienia ($T_{m(\text{onset})}$) kompozycji polimerowych była niższa niż w przypadku niemodyfikowanego P3HB i regularnie spadała wraz ze wzrostem zawartości PU w kompozycji (tab. 13). Biorąc pod uwagę wyniki TG (tab. 12) i różnicę temperatury degradacji i temperatury topnienia należy zauważyć, że okna przetwórcze uległo poszerzeniu z 52°C dla P3HB do zakresu $84\text{--}132^{\circ}\text{C}$ dla kompozycji P3HB PU i jest tym szersze im większy udział poliuretanu.

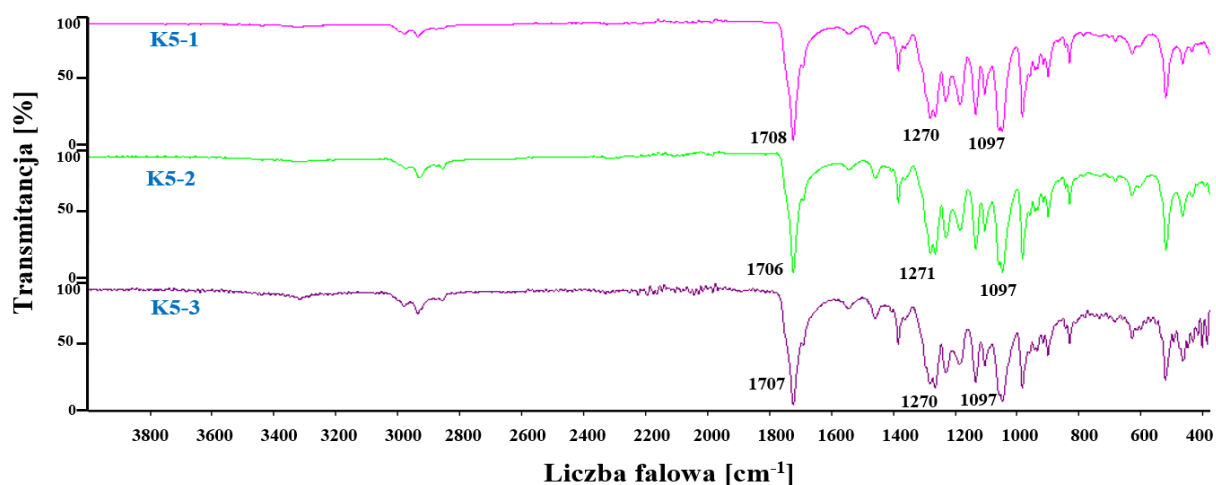
Tabela 13. Porównanie parametrów cieplnych kompozycji polimerowych P3HB-PU podczas ogrzewania ich reprezentatywnych próbek z szybkością $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ po wcześniejszym chłodzeniu z tą samą szybkością

Materiał	T_g [$^{\circ}\text{C}$]	ΔC_p [$\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot^{\circ}\text{C}^{-1}$]	$T_{m(\text{onset})}$ [$^{\circ}\text{C}$]	T_{m1} [$^{\circ}\text{C}$]	T_{m2} [$^{\circ}\text{C}$]	ΔH_f [$\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$]	T_c [$^{\circ}\text{C}$]	ΔH_c [$\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$]
P3HB	7,70	13,93	159,73	165,75	-	7,91	90,50	7,64
K5	4,45	20,08	149,92	153,30	165,30	8,27	88,00	7,03
K10	6,02	6,27	145,03	150,95	163,50	8,12	85,60	6,36
K15	2,40	21,92	140,81	144,55	158,10	9,03	80,80	6,41
K20	2,30	18,61	135,53	140,12	153,20	9,20	76,40	6,55

Zaobserwowano również obniżenie temperatury zeszklenia kompozycji polimerowych z 7,7°C dla P3HB do 2,3°C dla kompozycji zawierającej 20 % mas. zawartości PU, co dowodzi uplastycznienia poliestru w wyniku wprowadzenia poliuretanu. Podobny efekt zaobserwowali Fernández-Ronco i in. [180] w blendach P3HB - poli(bursztynian butylenu-dilinoleinian butylenu) lub Kozłowska i in. w blendach poli(bursztynian-dilinoleinian butylenu) i poli(bursztynianu butylenu) [181].

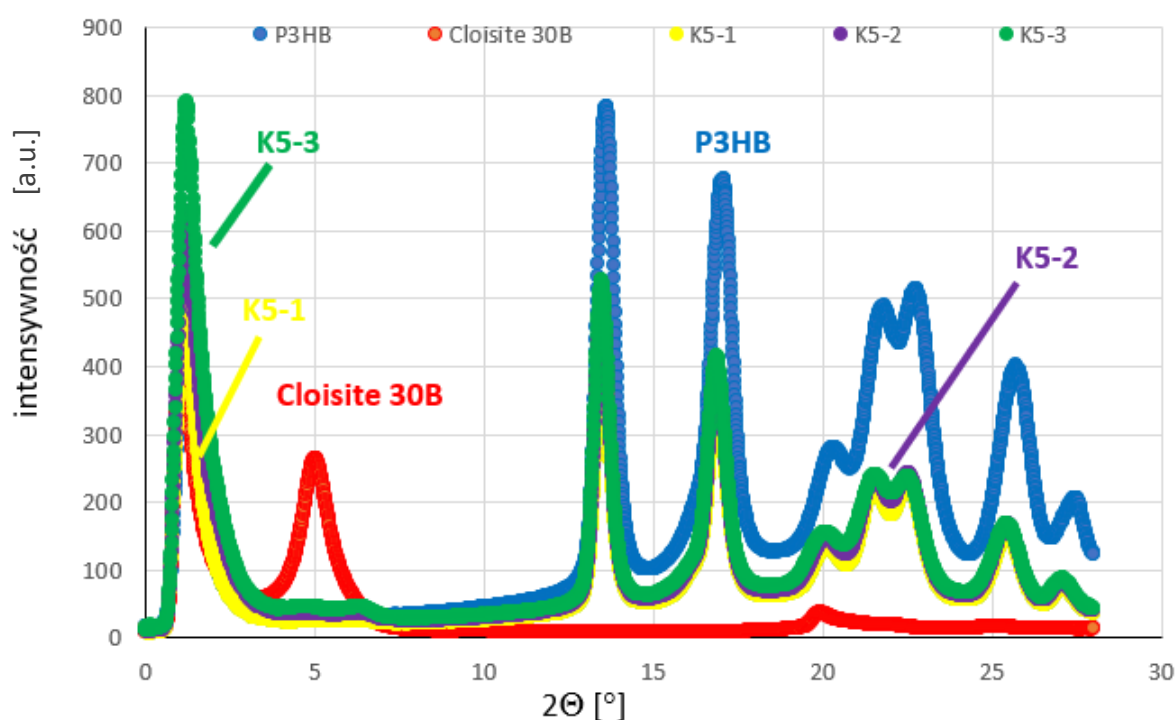
Uwzględniając uzyskane wyniki badań właściwości termicznych i mechanicznych otrzymanych kompozycji polimerowych P3HB-PU i mając na uwadze dalsze polepszenie właściwości P3HB wytworzyłam nanobiokompozyty hybrydowe z udziałem jako matrycy kompozycji P3HB i alifatycznego poliuretanu liniowego w ilości 5 % mas. i montmorylonitu modyfikowanego organicznie - Cloisite®30B jako nanonapełniacza. Do wytworzenia nanobiokompozytów hybrydowych zastosowałam Cloisite®30B w typowej ilości dla nanododatku 1, 2 i 3 % mas. (tab. 11).

Analiza widm FT IR nanobiokompozytów hybrydowych uzyskanych na podstawie P3HB z dodatkiem PU i Cloisite®30B przedstawionych na rysunku 22 potwierdziły wzajemne oddziaływanie i kompatybilność składników wytworzonych nanobiokompozytów hybrydowych. W widmie FT IR nanobiokompozytów hybrydowych pojawia się pasmo o niewielkiej intensywności powyżej 3000 cm⁻¹, którego intensywność wzrastała wraz ze wzrostem zawartości organicznej nanoglinki. Potwierdza to powstawanie wiązań wodorowych pomiędzy grupami uretanowymi modyfikatora a grupami estrowymi poliestru i modyfikowanego montmorylonitu [182, 183]. Jedno wspólne pasmo drgań walencyjnych grup estru i uretanu C=O zaobserwowałam przy ok. 1707 cm⁻¹, podobnie jak w widmach kompozycji polimerowych P3HB-PU, ale przesunięte do niższych wartości liczby falowej w porównaniu do widma czystego P3HB (rys. 17), co również potwierdza udział grup karbonylowych w tworzeniu wiązań wodorowych z grupami uretanowymi.



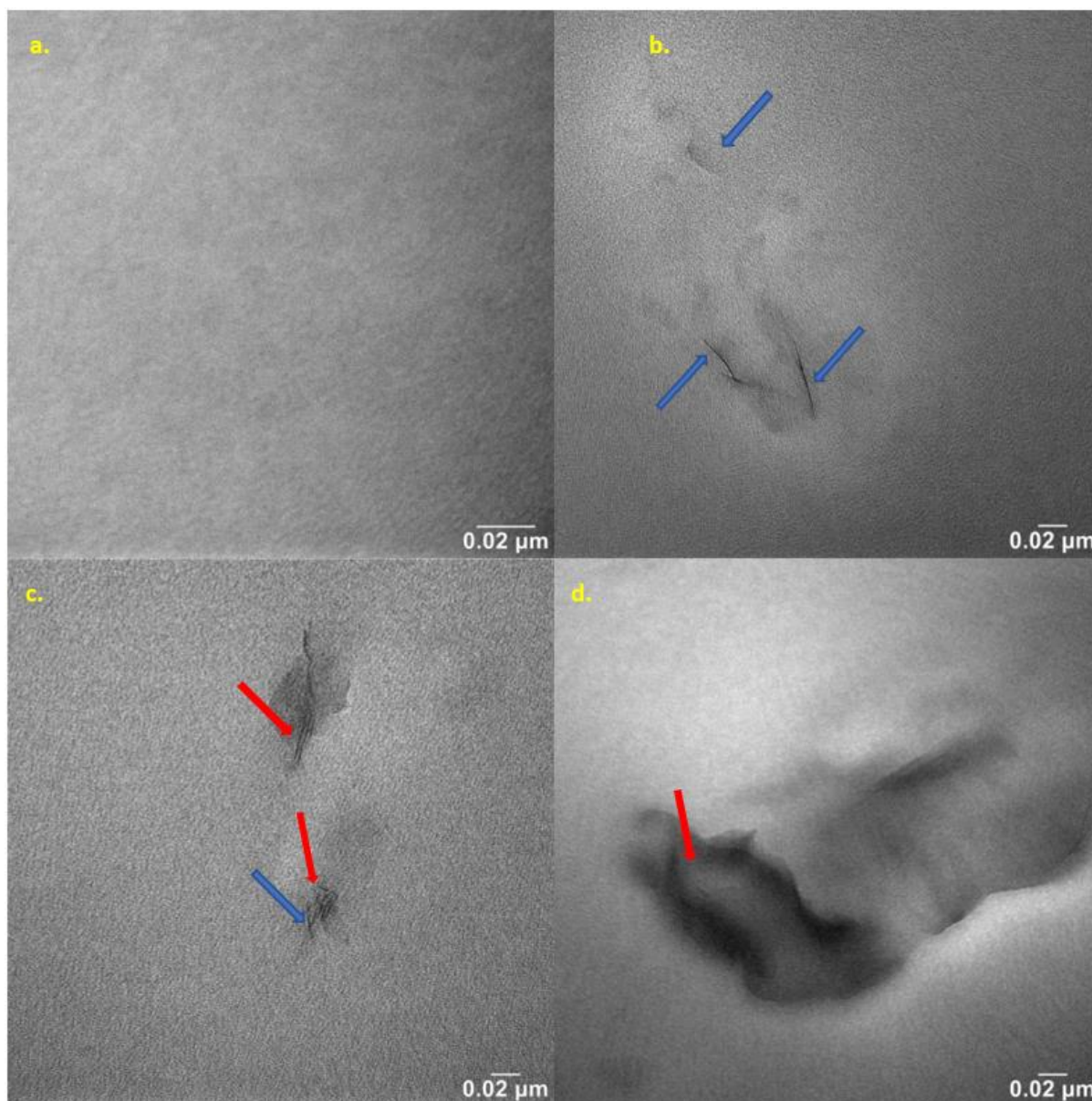
Rysunek 22. Widma FT IR nanobiokompozytów hybrydowych zawierających 5 % mas. PU i 1, 2, lub 3 % mas. Cloisite®30B (K5-1, K5-2 i K5-3)

Charakterystyka struktury nanoglinki w uzyskanych biokompozytach techniką SAXS w zakresie od 1° do 28° została przedstawiona na rysunku 23. Wytworzone biokompozyty hybrydowe przy udziale nanoglinki organicznej nie wykazują maksimum dyfrakcyjnego poniżej 5° wartości kąta 2θ . Brak pików w tym obszarze jest dowodem na całkowitą delaminację Cloisite®30B, co oznacza, że łańcuchy poliestrowe i poliuretanowe nie tylko wypełniły przestrzeń międzywarstwowe stosów glinokrzemianowych, ale doprowadziły do całkowitego ich rozwarstwienia. Wytworzonych nanobiokompozyty hybrydowe mają strukturę eksfoliowaną gwarantującą zdecydowaną poprawę właściwości nowych materiałów w stosunku do właściwości wyjściowej matrycy.



Rysunek 23 Wykresy SAXS nienapełnionego P3HB, nanoglinki organicznej Cloisite®30B oraz utworzonych polimerowych biokompozytów hybrydowych

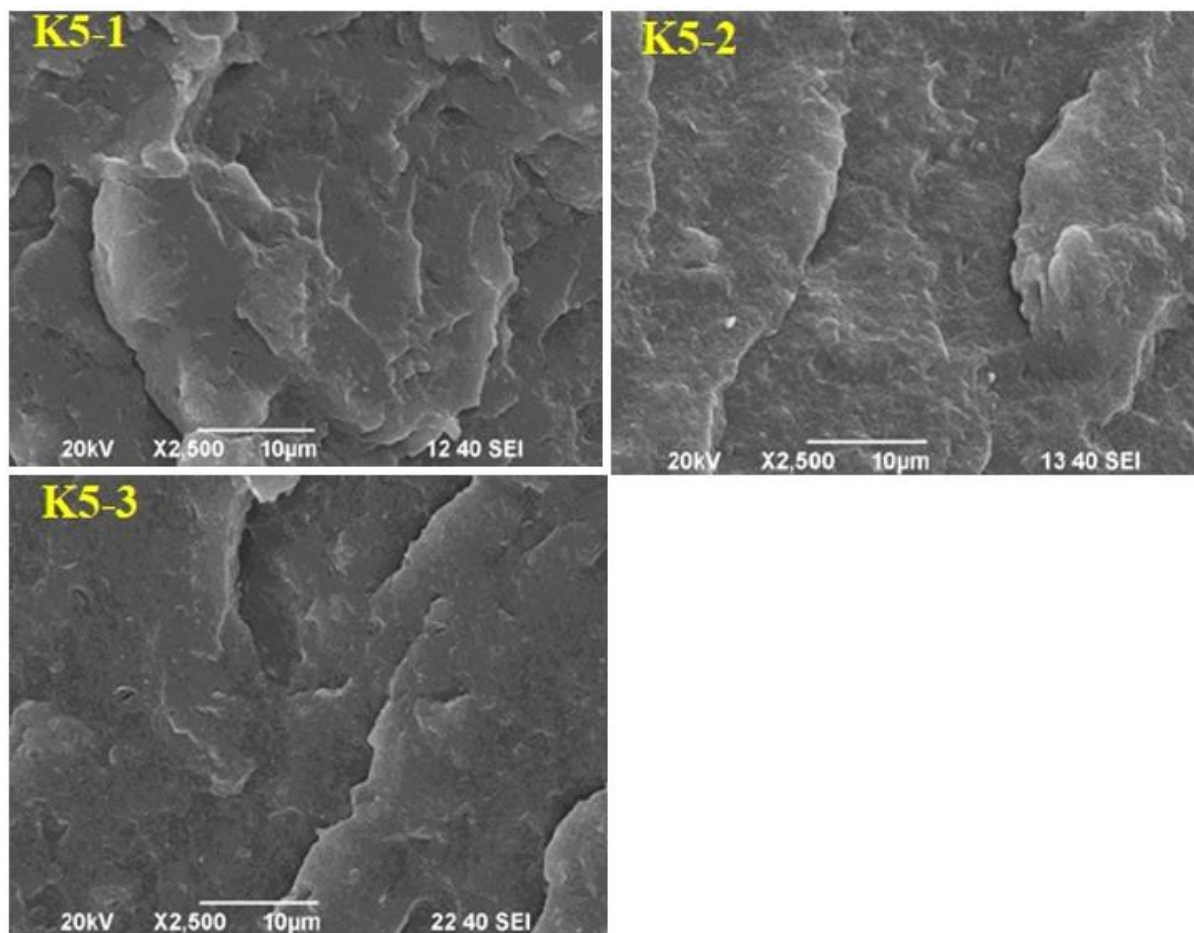
Analiza struktury nanokompozytu za pomocą TEM potwierdziła wnioski z analizy SAXS wytworzonych biokompozytów. Mikrografie TEM przedstawione na rysunku 24 pokazują, że Cloisite®30B jest dość podatny na deaglomerację i dyspersję indukowaną przez siły ścinające w matrycy P3HB. W miarę jak zawartość nanonapełniacza maleje, rozmiar rozproszonych obszarów glinki organicznej staje się coraz mniejszy. Warstwy montmorylonitu są dobrze rozproszone w matrycy w postaci losowo rozwarstwionych nanopłytek bez widocznej aglomeracji, co wskazuje głównie na strukturę eksfoliowaną [184, 185].



Rysunek 24. Mikrofotografie TEM nanobiokompozytów P3HB zawierających 5 % mas. PU i 1, 2 i 3 % mas. Cloisite®30B, oznaczone odpowiednio: (a) P3HB, (b) K5-1, (c) K5-2, (d) K5-3

W kolejności zbadałam morfologię nanobiokompozytów, a na rysunkach 25 przedstawione zostały mikrografie SEM powierzchni pękania próbek nanobiokompozytów P3HB. Wprowadzenie do uelastycznionego poliuretanem P3HB nanocząstek skutkuje wyraźną chropowatością struktury przełamów. Matryca poliestrowa modyfikowana 5 % mas. PU oraz najmniejszą ilością 1 % mas. Cloisite®30B charakteryzuje się zasługującą na uwagę zupełnie odmienną strukturą w porównaniu do pozostałych materiałów (rys. 25a). Można zaobserwować wyraźne, ułożone w różnych kierunkach krystaliczne domeny, które mają większe rozmiary i są rozsunięte na większe odległości niż w pozostałych próbkach. Sugeruje to mniejsze ich wzajemne oddziaływanie i efekt uelastycznienia P3HB, co może mieć związek z tworzeniem się łatwo przemieszczających względem siebie adduktów P3HB-PU-MMT, a zjawisko to może wpływać na znaczny wzrost wydłużenia przy

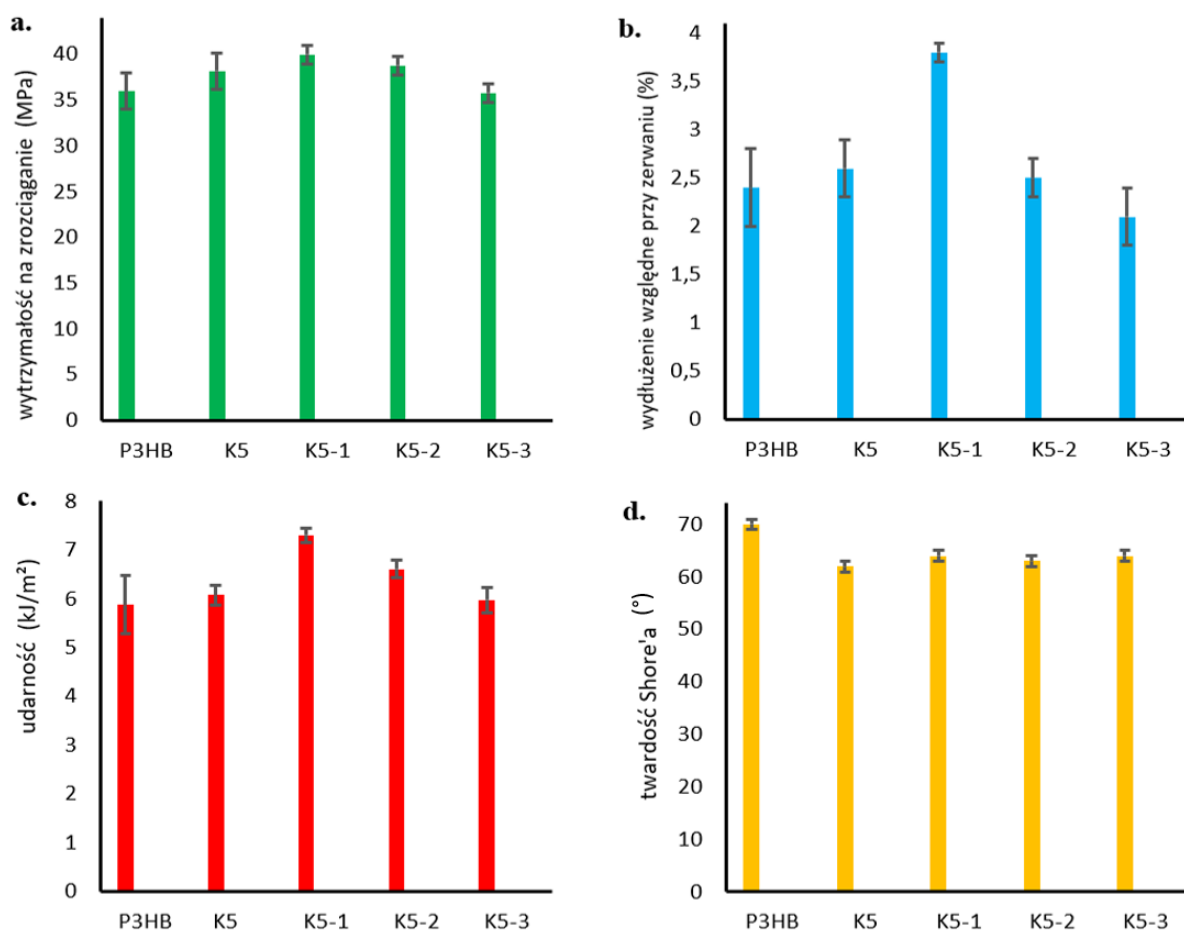
zerwaniu oraz niewielki wzrost udurowości analizowanej próbki. Z drugiej strony chropowatość obserwowanych przełomów nanokompozytów może sugerować usztywniający wpływ MMT, co przedkłada się na wzrost twardości materiału. Dodatek większych niż 1 % mas. ilości tj. 2 lub 3 % mas. Cloisite®30B wyklucza już, właściwych próbce K5-1, tworzenie wspomnianych adduktów. Sugeruje to, że dodatek 2 lub 3 % mas. MMT jest już bezcelowy. Struktura staje się podobna do struktury binarnej kompozycji polimerowej P3HB-PU, co wpływa na zmniejszanie się udurowości, wytrzymałości i wydłużenia przy zerwaniu tych nanobiokompozytów.



Rysunek 25. Mikrografie SEM nanobiokompozytów hybrydowych zawierających: 5 % mas. poliuretanu i 1, 2 lub 3 % mas. nanoglinki modyfikowanej organicznej Cloisite®30B, oznaczonych odpowiednio K5-1, K5-2 i K5-3

Przeprowadzone zostały badania mechaniczne, podobne jak w wypadku kompozycji polimerowych P3HB-PU, a wyniki przedstawiono na (rys. 26). Stwierdziłam wpływ obecności nanonapełniacza na wzrost wytrzymałości na rozciąganie (rys. 26a). Dodatek poliuretanu skutkuje nieznacznym wzrostem wytrzymałości, a wprowadzenie nanoglinki organicznej powoduje dalszy, widoczny wzrost wytrzymałości na rozciąganie. Zwiększanie ilości nanododatku wywołuje spadek tej wytrzymałości, ale wytrzymałość na rozciąganie wszystkich nanobiokompozytów hybrydowych jest nieznacznie wyższa niż czystego P3HB. Nanoglinka Cloisite®30B w ilości 1 % mas. miała dobrą dyspersyjność w matrycy polimerowej PH3B-PU, co

poprawiło właściwości mechaniczne biokompozytów [186-188]. Jednoczesna obecność 5 % mas. PU i 1% mas. Cloisite®30B (nanobiokompozyt K5-1) skutkuje wzrostem wydłużenia względnego przy zerwaniu o ok. 32 % w stosunku do próbki nienapełnionego P3HB (rys. 26b). Dalsze zwiększanie udziału modyfikowanego MMT powoduje obniżenie wartości wydłużenia przy zerwaniu, a przy 3 % mas. Cloisite®30B poniżej wartości niemodyfikowanego P3HB.



Rysunek 26. Wykres zależności: a. wytrzymałość na rozciąganie, b. wydłużenia względnego przy zerwaniu, c. uderności, d. twardości wytworzonych nanobiokompozytów hybrydowych zawierających 5 % mas. poliuretanu i 1, 2 lub 3 % mas. nanoglinki modyfikowanej organicznej Cloisite®30B, oznaczonych odpowiednio K5-1, K5-2 i K5-3 w funkcji zawartości Cloisite®30B

W wypadku uderności wytworzonych nanobiokompozytów hybrydowych (rys. 26c), zauważalne jest, że jednoczesna obecność poliuretanu i Cloisite®30B (1 % mas. nanoglinki) skutkuje znacznym wzrostem uderności o ok. 20 % w porównaniu z czystym P3HB. Jednakże wytrzymałość na uderzenie zmniejszyła się dla nanobiokompozytów oznaczonych jako K5-2 i K5-3, przy czym wartości były nadal wyższe niż w przypadku P3HB [170]. Poprawa wytrzymałości na uderzenie mogła zostać wywołana obecnością adduktów P3HB-PU-MMT zidentyfikowanych na obrazach SEM, podczas gdy spadek wytrzymałości na uderzenie jest związany z efektem usztywnienia spowodowanym przez Cloisite®30B.

Zauważalny jest wzrost twardości wytworzonych nanobiokompozytów po wprowadzeniu Cloisite®30B (rys. 26d). Dodatek poliuretanu powoduje uelastycznienie poliestru i zauważalny

jest największy spadek twardości z 70 na 64 tak modyfikowanego P3HB (K5). Wprowadzenie nanonapełniacza skutkuje usztywnieniem uelastycznionej struktury i nieznaczny wzrost twardości nanokompozytu, ale poniżej wartości twardości P3HB.

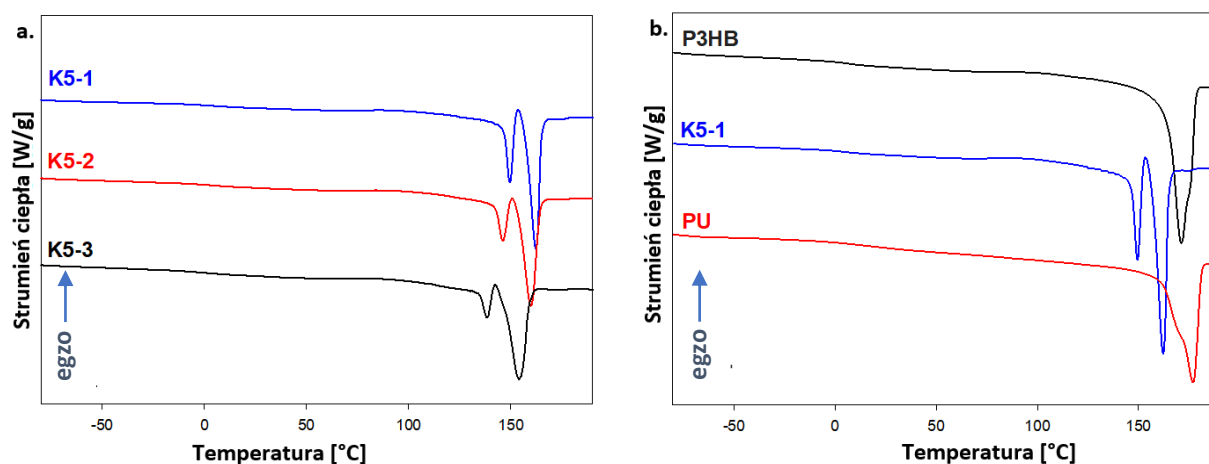
Analiza termograwimetryczna wytworzonych nanokompozytów (tab. 14) wykazała, że Wprowadzenie nanoglinki organicznej w ilości 1 % mas. powoduje, że stabilność nanobiokompozytu (K5-1) wzrasta o 33 °C w porównaniu do próbki referencyjnego P3HB. Przy dodatku 2 % mas. nanonapełniacza stabilność termiczna pozostaje bez zmian. Z kolei dodatek 3 % mas. nanoglinki skutkuje nieznacznym obniżeniem stabilności termicznej nanobiokompozytu hybrydowego. Temperatura maksymalnej szybkości rozkładu jest podobna w wypadku czystego P3HB i jego nanobiokompozytów i oscyluje między 279-276°C [185, 189, 190].

Tabela 14. Interpretacja krzywych TG i DTG nanobiokompozytów zawierających 5 % mas. poliuretanu i 1, 2 lub 3 % mas. nanoglinki modyfikowanej organicznej Cloisite®30B, oznaczonych odpowiednio K5-1, K5-2 i K5-3, rejestrowanych przy szybkości grzania 5°C/min w atmosferze azotu

Materiał	T _{on} [°C]	T _{50%} [°C]	T _{max} [°C]	Pozostałość 600°C [%]
P3HB	212	246	278	1,01
K5	234	268	278	0,94
K5-1	245	279	279	1,58
K5-2	245	279	278	2,64
K5-3	241	278	276	3,65

T_{on} - temperatura początku rozkładu, T_{50%} - temperatura 50 % ubytku masy, T_{max} - temperatura najszybszego rozkładu

Przeprowadzona jakościowa analiza DSC nanobiokompozytów wykazała ich semikrystaliczność. Jak przedstawiono na rysunkach 27, obserwowany jest obszar zeszklenia i dwa piki topnienia, podobnie jak biokompozycja polimerowa K5, której krzywa DSC została przedstawiona na rys. 21.



Rysunek 27 a) Porównanie przepływów ciepła nanobiokompozytów zawierających 5 % mas. poliuretanu i 1, 2 lub 3 % mas. nanoglinki modyfikowanej organicznej Cloisite®30B, oznaczonych odpowiednio K5-1, K5-2 i K5-3, w funkcji temperatury przy ogrzewaniu z szybkością 10 °C·min⁻¹. (b) Porównanie przepływu ciepła P3HB, nanobiokompozytu (K5-1) i poliuretanu (PU) w zależności od temperatury.

Pojedynczy obszar przemiany szklistej i topnienia wskazuje na całkowitą mieszalność P3HB, PU i modyfikowanego montmorylonitu we wszystkich wytworzonych nanobiokompozytach. Jak wskazują wyniki przedstawione w tabeli 15, temperatura zeszklenia mieści się w zakresie 4,40–5,25°C, a temperatura topnienia wynosi 134,6–156,7°C.

Najniższą wartość temperatury zeszklenia wykazuje nanobiokompozyt K5-2, co pozwala założyć, że materiał ten jest najbardziej uplastyczniony w odniesieniu do rozważanej serii materiałów. Największe możliwości przetwarzania oferuje K5-3, ponieważ okno przetwarzania jako różnicę pomiędzy temperaturą topnienia a temperaturą rozkładu, oszacowano na 122°C. Dla pozostałych nanobiokompozytów K5-1 i K5-2 okno przetwórcze wynosi ok. 117°C.

Tabela 15. Porównanie parametrów termicznych nanobiokompozytów po podgrzaniu ich reprezentatywnych próbek z prędkością 10 °C·min⁻¹ po uprzednim schłodzeniu z tą samą prędkością

Materiał	T_g [°C]	ΔC_p [J·mol⁻¹·°C⁻¹]	T_m (onset) [°C]	T_{m1} [°C]	T_{m2} [°C]	ΔH_f [kJ·mol⁻¹]	T_c [°C]	ΔH_c [kJ·mol⁻¹]
P3HB	7,70	13,93	159,73	165,75	-	7,91	90,50	7,64
K5-1	4,50	18,46	146,70	149,50	162,20	8,14	86,70	6,13
K5-2	4,40	21,04	142,00	146,00	159,80	8,12	82,87	6,23
K5-3	5,25	34,19	134,60	138,20	153,80	7,81	77,65	5,79
PU	14,9	79,83	166,30	175,2	-	23,32	-	-

Podsumowując, wytworzyłam kompozycje polimerowe P3HB z termoplastycznym poliuretanem alifatycznym z syntetyzowanym z udziałem heksametyleno-1,6-diizocyjanianu i butano-1,4-diolu, w ilości 5, 10, 15 i 20% mas. Stabilność termiczna kompozycji polimerowych P3HB-PU była wyższa niż niemodyfikowanej matrycy P3HB. Różnica między temperaturą degradacji P3HB i jego mieszanek poliuretanowych wynosiła 22-57°C. Z kolei różnica między temperaturą topnienia a temperaturą degradacji wynosiła powyżej 100°C dla większości otrzymanych mieszanek polimerowych. Właściwości mechaniczne nowych blend polimerowych P3HB-PU były najlepsze przy 5% mas. zawartość modyfikatora PU. Dlatego w kolejności wytworzyłam hybrydowe nanokompozyty polimerowe na osnowie P3HB z udziałem 5 % mas. PU z różnymi ilościami (1, 2, 3 % mas.) organicznie modyfikowanej nanoglinki – Cloisite®30B. Stosując technikę SAXS i TEM stwierdziłam, że nastąpiło rozwarstwienie montmorylonitu podczas procesu wytłaczania. Spektroskopia FT IR potwierdziła interakcję między polimerami a nanonapełniaczem. Analiza powierzchni przełomów hybrydowych nanobiokompozytów wykazała interakcję matrycy biopolimerowej z PU i Cloisite®30B z utworzeniem adduktów poliesteru-poliuretanu-montmorylonitu, które łatwo migrują względem siebie i prowadzą do poprawy właściwości mechanicznych w porównaniu do P3HB i kompozycji P3HB-PU. Wprowadzenie nanopłytek do matrycy polimerowej zapewniło lepszą stabilność termiczną i obniżenie

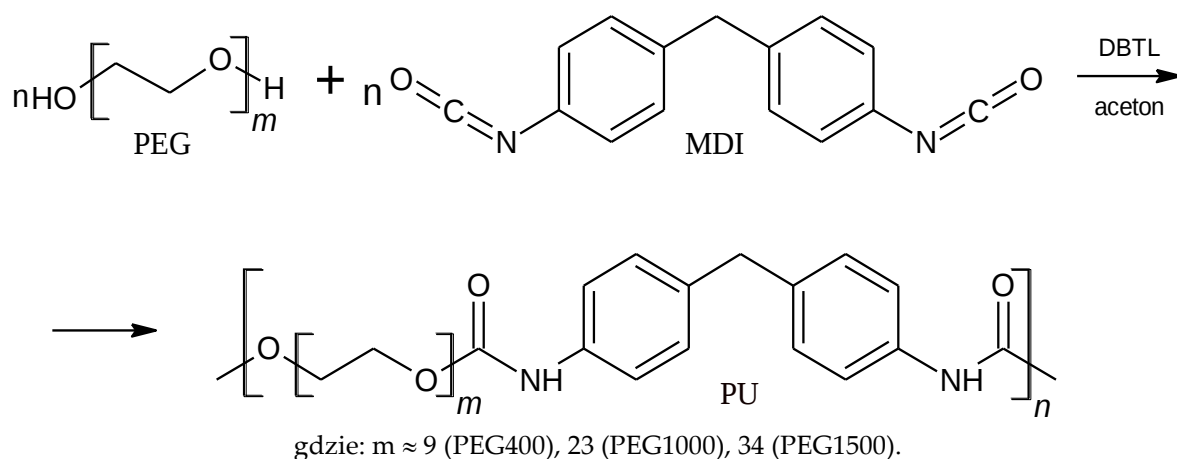
temperatury topnienia hybrydowych nanobiokompozytów. Najlepsze właściwości mechaniczne, termiczne i przetwórcze uzyskał nanobiokompozyt zawierający 1% mas. Cloisite®30B.

5.3. PUBLIKACJA [D3]

B. Krzykowska, A. Czerniecka-Kubicka, A. Białkowska, M. Bakar, M. Kovářová, V. Sedlařík, D. Hanusova, I. Zarzyka, Biopolymer Compositions Based on Poly(3-hydroxybutyrate) and Linear Polyurethanes with Aromatic Rings - Preparation and Properties Evaluation, *Polymers*, 16, 1618 (2024). <https://doi.org/10.3390/polym16121618> [IF = 4,7]

Przeprowadzone w tej pracy badania miały na celu modyfikację właściwości P3HB poprzez wytworzenie kompozycji polimerowych z udziałem termoplastycznych poliuretanów zsyntezowanych w reakcji 4,4-diizocyjanianu difenyłometanu i glikoli polietylenowych o różnych masach molowych uwzględniając wpływ długości elastycznego łańcucha polieterowego na właściwości wytwarzanych kompozycji. Sprawdziłam kompatybilność, mieszalność i morfologię otrzymanych kompozycji polimerowych, a ich właściwości termiczne i mechaniczne zostały porównane z właściwościami niemodyfikowanego P3HB.

Poliuretany przygotowałam w reakcji 4,4'-diizocyjanianu difenyłometanu i glikoli polietylenowych o masach molowych 400 g/mol (PU400), 1000 g/mol (PU1000) i 1500 g/mol (PU1500) w obecności dilaurynianu dibutylocyny(IV) (DBTL) jako katalizatora (rys. 28). Masy molowe uzyskanych poliuretanów zostały podane w tabeli 16.



Rysunek 28. Schemat syntezy poliuretanów z udziałem MDI i glikoli polietylenowych o masach molowych 400, 1000 i 1500 g, oznaczonych odpowiednio PEG400, PEG1000 i PEG15000

Tabela 16. Masy molowe i stopień dyspersji wytworzonych poliuretanów z udziałem MDI i glikoli polietylenowych

Poliuretan	M_n (g/mol)	M_w (g/mol)	M_p (g/mol)	DI
PU400	5000	7000	9000	1,40
PU1000	6000	8000	9000	1,33
PU1500	6000	8000	10000	1,33

Polimerowe biokompozycje kwasu poli(3-hydroksymasłowego) (P3HB) i liniowych poliuretanów (PU) z pierścieniami aromatycznymi wytworzyłam stosując metodę mieszania w stanie stopionym przy różnych stosunkach masowych P3HB/PU (95/5, 90/10 i 85/15) wg składu podanego tab. 17.

Tabela 17. Skład kompozycji polimerowych P3HB i PU (produkt reakcji MDI z glikolami polietylenowymi: PEG400, PEG1000 i PEG1500)

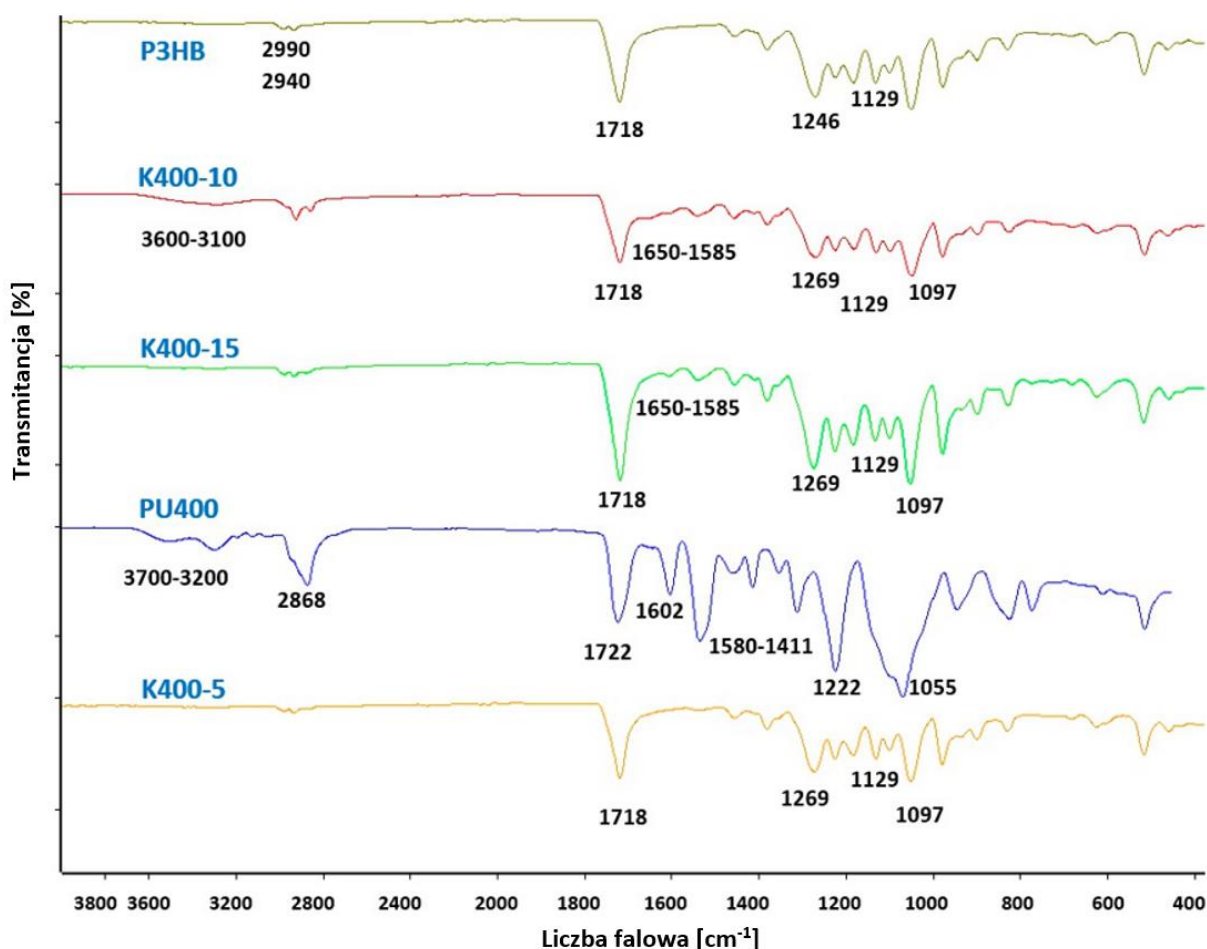
Zawartość PU400 (% mas.)	Oznaczenie biokompozycji
5	K400-5
10	K400-10
15	K400-15
Zawartość PU1000 (% mas.)	-
5	K1000-5
10	K1000-10
15	K1000-15
Zawartość PU1500 (% mas.)	-
5	K1500-5
10	K1500-10
15	K1500-15

W celu weryfikacji możliwych interakcji między składnikami biokompozycji i ich kompatybilności przeprowadziłam ich charakterystykę za pomocą spektroskopii FT IR. Widma przygotowanych biokompozycji P3HB-PU porównałam z widmami FT IR ich integralnych składników, tj. niemodyfikowanego P3HB oraz PU400, PU1000 i PU1500. W pracy przedstawiłam analizę przykładowego zestawu widm dla biokompozycji P3HB z poliuretanem PU400 (rys. 29), pozostałe zestawy wykazywały podobne charakterystyczne pasma.

Wszystkie diagnostyczne pasma zostały zaobserwowane i zaznaczone w widmie FT IR niemodyfikowanego P3HB na rys. 29 [170]. W widmie FT IR PU400 (rys. 29) widoczne jest pasmo drgań walencyjnych wiązania N-H grupy uretanowej -NH-COO- w zakresie 3600-3100 cm⁻¹. Pasma jest szerokie i rozmyte, co wskazuje na występowanie wiązań wodorowych. Przy 2868 cm⁻¹ obserwuje się również jedno szerokie pasmo pochodzące od drgań walencyjnych asymetrycznych i symetrycznych wiązań C-H grup metylenowych PU400. Przy około 3060 cm⁻¹ występuje pasmo drgań wiązań C-H pierścienia fenylenowego. Pasma drgań walencyjnych grup C=O uretanów -NH-COO- pojawia się przy 1722 cm⁻¹, a przy 1602 cm⁻¹ pojawia się pasmo charakterystyczne dla drgań deformacyjnych wiązań N-H poliuretanu. W zakresie 1580-1411 cm⁻¹ obecne są charakterystyczne pasma szkieletowe pierścienia aromatycznego. Pasma asymetrycznych i symetrycznych wiązań C-O grup -NH-COO- uretanowych widoczne są przy 1222 cm⁻¹ i 1055 cm⁻¹.

Pomiędzy widmami biokompozycji zawierających różne ilości PU stwierdzono pewne podobieństwa i różnice (rys. 29). Widma FT IR biokompozycji różnią się intensywnością

i zakresem pików w porównaniu do pików pojawiających się w widmie natywnego P3HB i samego modyfikatora poliuretanowego.



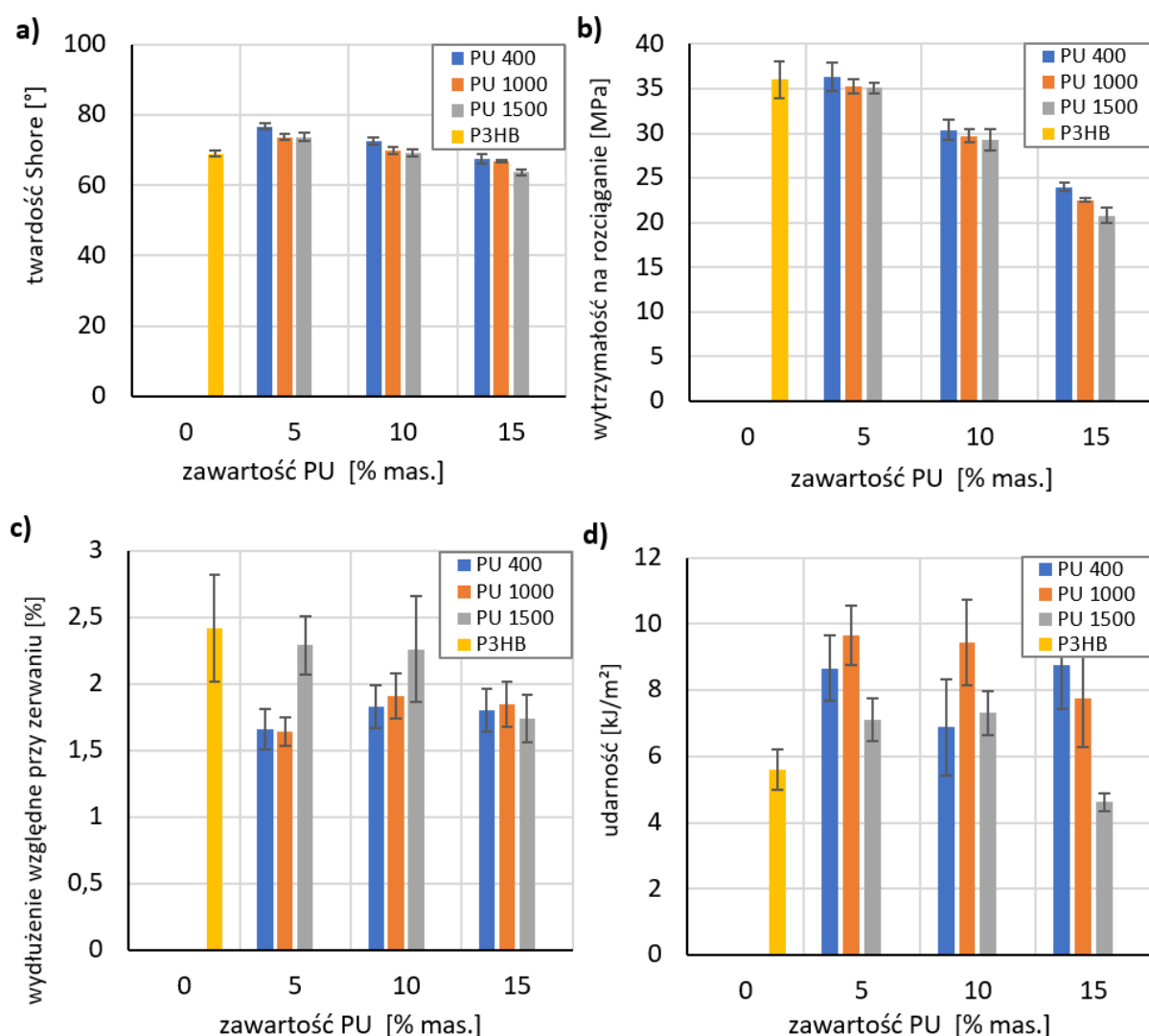
Rysunek 29. Zestaw widm FT IR biokompozycji polimerowych P3HB, PU400 i P3HB-PU zawierających 5, 10 i 15 % mas. PU400 (odpowiednio K400-5, K400-10 i K400-15)

W widmach wszystkich biokompozycji P3HB-PU występuje w zakresie 3600 - 3000 cm⁻¹ rozmyte pasmo o zmiennej intensywności zależnej od ilości PU400 w kompozycji. W biokompozycji zawierającej 10% mas. PU pasmo to jest znacznie mniejsze niż w poliuretanie natywnym, ale większe niż w samym P3HB. Może to wskazywać, że grupy uretanowe modyfikatora oddziałują z grupami C=O P3HB poprzez wiązania wodorowe. Jednakże w kompozycjach zawierających 5% mas. lub 15% mas. PU intensywność tego pasma jest porównywalna z tym zakresem liczby falowej w widmie P3HB, co może potwierdzać brak takich interakcji biomatrycy z takimi ilościami modyfikatora polimerowego. Z kolei w widmach wszystkich biokompozycji istnieje pasmo przy liczbie falowej 1718 cm⁻¹ przypisane drganiom rozciągającym wiązań C=O grupy estrowej P3HB i grupy uretanowej -NH-COO- modyfikatora PU. Dodatkowo należy podkreślić, że najniższą intensywność tego pasma wykazała biokompozycja zawierająca 10% mas. PU (K400-10), co dowodzi występowania interakcji grup uretanowych w składnikach biokompozycji. W zakresie

liczb falowych 1585 - 1650 cm^{-1} występuje pasmo drgań zginających wiązań N-H uretanu, które charakteryzuje się multipletowością ze względu na tworzenie międzycząsteczkowych wiązań wodorowych pomiędzy łańcuchami P3HB i PU400 [171, 172]. Intensywność tego pasma jest zmienna i zależy od ilości PU400 w składzie polimeru i jest najwyższa dla 10% mas. PU.

Analiza widm FT IR przygotowanych kompozycji polimerowych i ich składników potwierdziła zatem interakcje poliuretanu z P3HB, przy czym najsilniejsze oddziaływania pomiędzy matrycą a P3HB występują w kompozycji zawierającej 10% mas. PU.

Oceńłam wybrane właściwości mechaniczne przygotowanych biokompozycji polimerowych, a wyniki przedstawiłam na rysunku 30.



Rysunek 30. Wpływ zawartości PU400, PU1000 i PU1500 na twardość (a), wytrzymałość na rozciąganie (b), wydłużenie względne przy zerwaniu (c) i uderność (d) biokompozycji polimerowych P3HB-PU

Rysunek 30a obrazuje zależność twardości kompozycji biopolimerowych w zależności od ilości dodanego poliuretanu i wskazuje na wzrost twardości biokompozycji po wprowadzeniu PU w porównaniu do twardości P3HB. Twardość kompozycji polimerowych z PU400 zmniejsza się

wraz ze wzrostem ilości dodanego PU, ale pozostaje nadal wyższa niż w wypadku P3HB. Podobne zależności są widoczne dla biokompozycji z PU1000. Z kolei modyfikator PU1500 dodany w ilości 15% mas. powoduje spadek twardości poniżej wartości twardości natywnego P3HB. Zaobserwowałam, że po początkowym wzroście twardości biokompozycji polimerowych w porównaniu z natywnym P3HB, następuje spadek twardości, tym większy im dłuższy łańcuch glikolu polietylenowego użyty do przygotowania poliuretanu, to znaczy występuje większy efekt uelastyczniający modyfikatora poliuretanowego. Podobny wpływ długości łańcucha poliglikolu na właściwości modyfikowanego polimeru zaobserwowała Kowalska i współ. [194]. Obecność modyfikatora poliuretanowego na bazie MDI w kompozycji z P3HB wywołuje dwa efekty: uelastyczniający łańcucha polioliu i usztywniający wskutek obecności pierścieni aromatycznych. Efekt usztywniający pierścieni aromatycznych przeważa, gdy łańcuchy polioliu są krótsze (PU400 i PU1000). W przypadku PU1500 efekt uelastyczniający łańcucha polioliu zaczyna dominować stąd niższa twardość biokompozycji z udziałem PU1500.

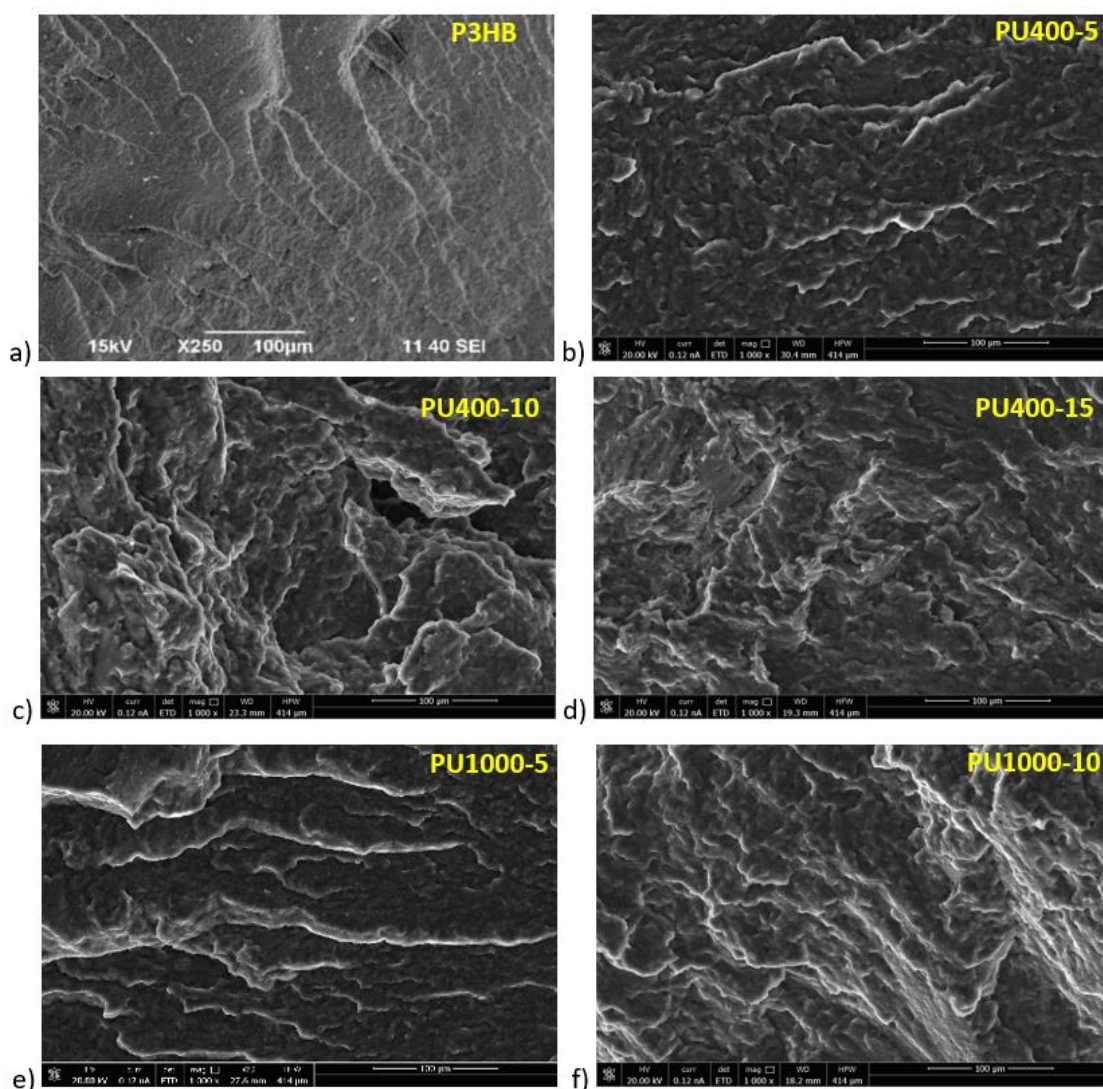
Wprowadzenie 5 % mas. PU w zasadzie nie zmienia wytrzymałości na rozciąganie wszystkich biokompozycji polimerowych P3HB-PU, jak przedstawione zostało na rysunku 30b, przy czym wytrzymałość jest niższa niż niemodyfikowanego P3HB, z wyjątkiem biokompozycji K5-400 zawierającej 5% mas. PU400. Zwiększenie ilości PU w biokompozycji do 10 lub 15% mas. powoduje spadek wartości wytrzymałości na rozciąganie. Wytrzymałość na rozciąganie biokompozycji polimerowych zmniejsza bardziej się wraz ze wzrostem masy cząsteczkowej glikolu polietylenowego w PU [180]. Można to wyjaśnić uelastyczniającym działaniem wywołanym przez coraz dłuższe łańcuchy eterolowe modyfikatora poliuretanowego, co wykazały również wyniki twardości (rys. 30a).

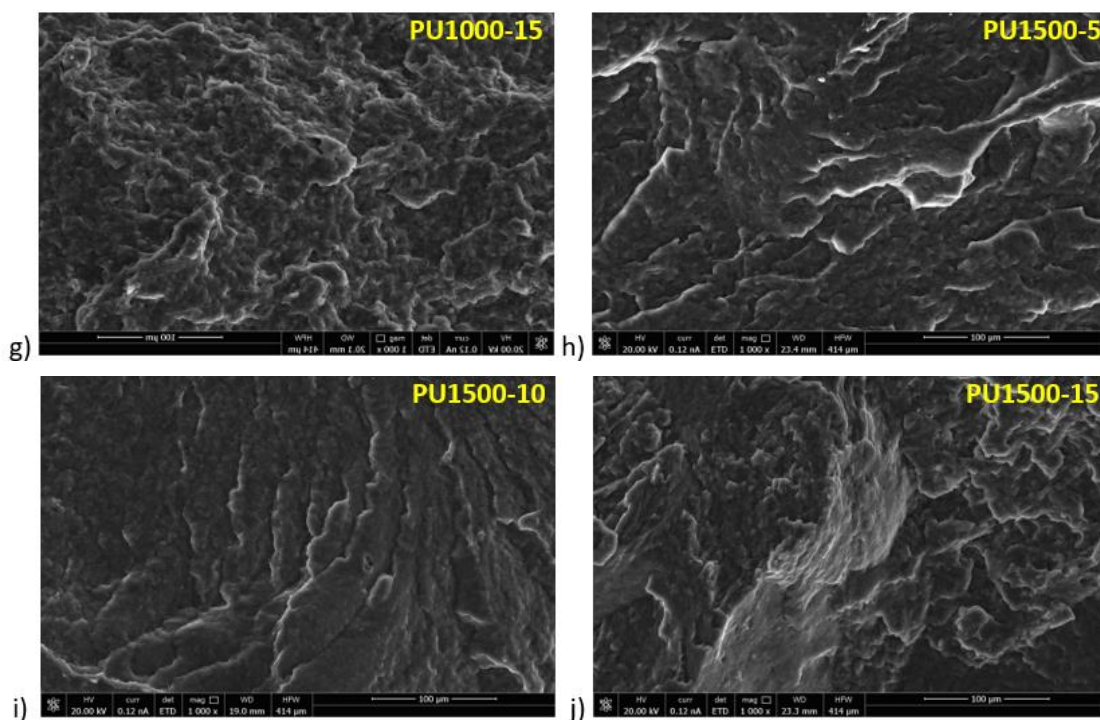
W wypadku względnego wydłużenia przy zerwaniu (rys. 30c) zauważyłam, że modyfikacja P3HB termoplastycznymi aromatycznymi poliuretanami PU400, PU1000 i PU1500 doprowadziła do zmniejszenia wartości tego parametru wszystkich testowanych kompozycji. Najniższą wartość względnego wydłużenia przy zerwaniu wykazały kompozycje zawierające modyfikator PU400. Zwiększenie zawartości PU400 powoduje niewielki wzrost wydłużenia przy zerwaniu. Podobną zależność obserwuje się w przypadku wprowadzenia PU1000. Uwagę skupia kompozycja polimerowa zawierająca 5 i 10% mas. PU1500, gdzie obserwuje się znaczny wzrost względnego wydłużenia przy zerwaniu w porównaniu do kompozycji z innymi PU. Wyniki innych badaczy potwierdziły, że dodanie niewielkich ilości plastyfikatorów pochodzących z olejów roślinnych powoduje zwiększenie wydłużenia przy zerwaniu i znaczący wzrost wytrzymałości na uderzenie [195, 196]. Podobnie zastosowanie plastyfikatorów terpenowych doprowadziło do znacznego wzrostu wydłużenia przy zerwaniu, ze względu na zwiększenie objętości swobodnej i ruchliwości cząsteczek [197].

Wszystkie biokompozycje polimerowe wykazują wyższą odporność na uderzenia niż natywny P3HB. Maksymalną poprawę udarności wykazują biokompozycje polimerowe zawierające PU400

i PU1000, co jest zgodne z obserwacjami struktury przełomów metodą SEM. Odporność na uderzenia wzrasta po dodaniu PU1500, a następnie obniża się wraz ze wzrostem ilości PU w kompozycji. Kompozycja zawierająca 15 mas. % PU1500 wykazuje najmniejszą wartość udarności i nawet mniejszą od natywnego P3HB. Efekt uelastyczniający wywołany przez najdłuższy łańcuch polioliowy w poliuretanie na bazie PU1500 odzwierciedla najniższą twardość i jednocześnie niższą udarność tych biokompozycji P3HB-PU [198].

Analiza powierzchni przełomów próbek P3HB i biokompozycji zawierających 5, 10 i 15% mas. modyfikatora poliuretanowego na bazie glikolu polietylenowego (PEG400, PEG1000 i PEG1500) przedstawionych na rysunku 31 pozwoliła wyjaśnić możliwe interakcje między matrycą polimerową a modyfikatorem poliuretanowym, i mechanizmy tłumaczące poprawę właściwości mechanicznych testowanych biokompozycji.





Rysunek 31. Mikrografie SEM P3HB (a) i jego biokompozycji polimerowych zawierających: 5, 10 oraz 15 % mas. poliuretanu - PU400: K400-5 (b), K-40010 (c), K400-15 (d); PU1000 - K1000-5 (e), K1000-10 (f), K1000-15 (g); PU1500 - K1500-5 (h), K1500-10 (i), K1500-15 (j)

Rysunki 31 b-j przedstawiają powierzchnie przełomów biokompozycji P3HB modyfikowanych różnymi ilościami poliuretanów na bazie glikolu krótkołańcuchowego (PEG400) i glikoli długołańcuchowych (PEG1000) i (PEG1500). Wprowadzenie modyfikatora PU spowodowało wyraźne przerwanie ciągłości struktury matrycy P3HB (rys. 31a). Szorstkie obszary widoczne na obrazach i ułożone w różnych kierunkach sugerują interakcję matrycy biopolimeru z PU, prowadzącą do rozdzielania oddziałujących łańcuchów P3HB i utworzenia wspomnianych domen. Widoczne są wyraźne różnice podczas porównywania obrazów próbek modyfikowanych PU400 ze strukturą próbek modyfikowanych PU1000 i PU1500, tym większe, im dłuższy był łańcuch użytego glikolu (rysunek 31b-j). Takie zmiany w strukturze są związane ze wzrostem wydłużenia przy zerwaniu, niewielkim spadkiem twardości i wytrzymałości na rozciąganie, a także uduchności kompozycji na bazie długołańcuchowego PU1500 w porównaniu z próbkami modyfikowanymi krótko-łańcuchowym PU400 [199, 200]. Na strukturę kompozycji wpływa również ilość dodanego PU. Obrazy biokompozycji zawierających 10% mas. PU mają nieco inną strukturę niż kompozycji zawierających 5% lub 15% mas. PU. Wyraźne strefy szorstkie i jednokierunkowo ułożone są znacznie większe niż na innych mikrografiach kompozycji zawierających 5% i 15% mas. PU. Ponadto, jednokierunkowo ułożone strefy szorstkie są dłuższe, im dłuższe są łańcuchy PU. Zjawisko to wskazuje, że im wyższa masa cząsteczkowa PEG użytego do syntezy PU, tym lepszy efekt plastyfikujący P3HB. Może to być związane z tworzeniem adduktów P3HB-PU, które łatwo przemieszczają się względem siebie. Mikrografie biokompozycji z PU1000 i PU1500 są podobne

przy 15% mas. PU, ale w przypadku kompozycji z PU1500 doszło do wytworzenia aglomeratów PU w matrycy, co spowodowało pogorszenie właściwości mechanicznych w porównaniu do kompozycji modyfikowanych PU1000.

Za pomocą analizy termogravimetrycznej (TG) określiłam stabilność termiczną wytworzonych biokompozycji polimerowych. Przeprowadzane badania wykazały wzrost odporności termicznej mierzonej temperaturą początku rozkładu (T_{on}), otrzymanych biokompozycji polimerowych P3HB-PU o ok. 30°C w porównaniu do czystego P3HB [201, 202], (tab. 18). Wzrost stabilności termicznej wynika z obecności plastyfikatora poliuretanowego, którego ilość i rodzaj zasadniczo nie wpłynęły na wartości T_{on} . Rozkład termiczny kompozycji polimerowych następuje w jednym etapie podobnie jak samego P3HB, a temperatura najszybszego rozkładu mieści się w zakresie 283-287°C. Pozostałość po rozkładzie w temperaturze 600°C była podobna, nie przekraczała 2% mas. i była nieznacznie wyższa niż w przypadku niemodyfikowanego P3HB, co jest związane z obecnością struktur aromatycznych wprowadzonych do biokompozycji w postaci PU.

Tabela 18. Interpretacja krzywych TG i DTG P3HB i jego biokompozycji z PU uzyskanych przy szybkości ogrzewania 5°C/min w atmosferze azotu

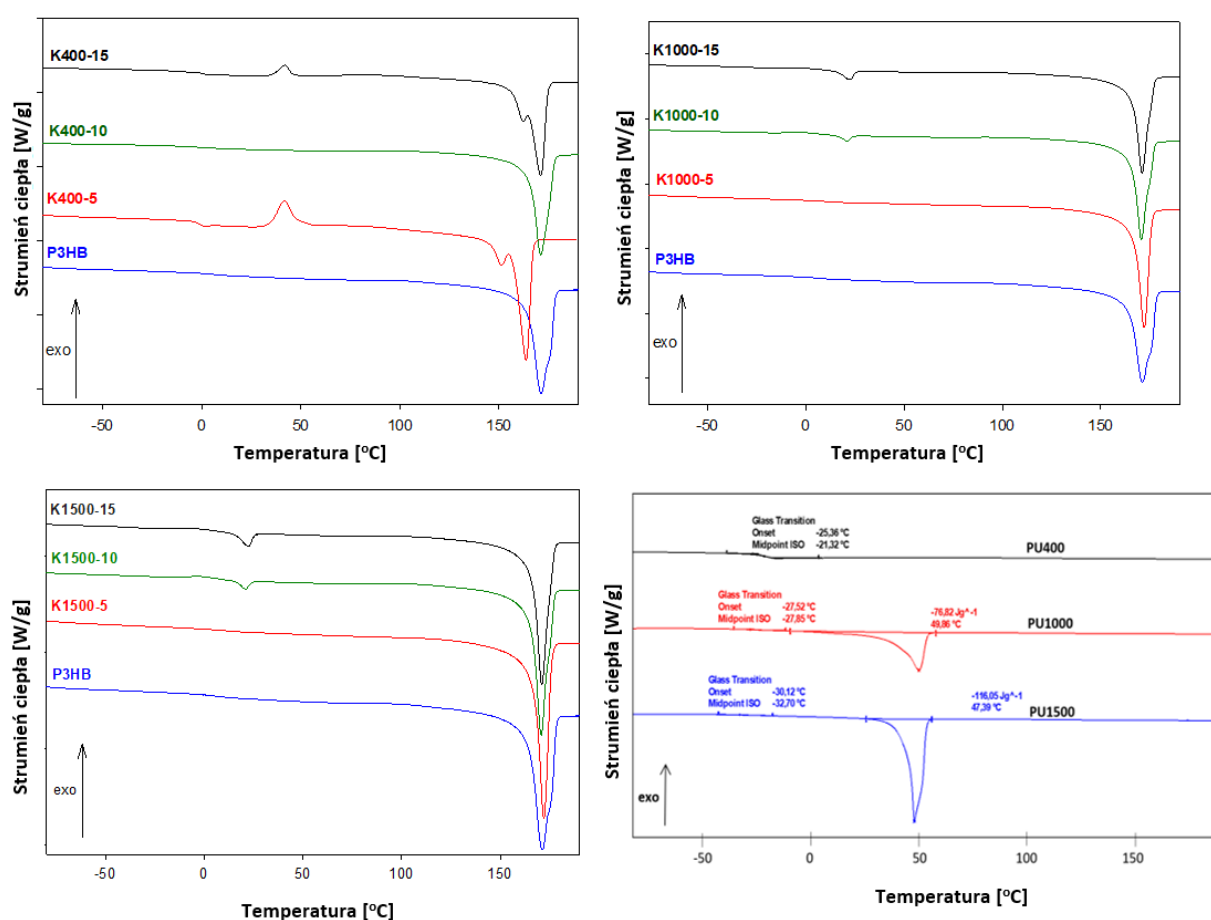
Materiał	T_{on} [°C]	$T_{5\%}$ [°C]	$T_{10\%}$ [°C]	$T_{50\%}$ [°C]	T_{max} [°C]	Pozostałość w 600°C [%]
P3HB	221,1	236,2	245,6	281,2	282,1	1,10
K400-5	252,1	266,5	271,1	307,6	283,7	1,23
K400-10	252,7	267,1	271,5	329,3	285,7	1,40
K400-15	253,6	267,3	271,8	283,8	285,2	1,90
K1000-5	250,1	265,0	270,2	284,5	285,1	1,67
K1000-10	251,7	265,6	271,0	285,7	287,1	1,60
K1000-15	250,9	267,6	272,2	282,6	286,2	1,76
K1500-5	250,2	265,5	267,3	281,3	286,1	1,57
K1500-10	249,8	267,4	271,4	282,7	287,2	1,68
K1500-15	250,8	266,0	270,5	282,7	282,6	1,78

T_{on} - temperatura początku rozkładu, $T_{x\%}$ - temperatura x % ubytku masy, T_{max} - temperatura najszybszego rozkładu

Jakościowa analiza termiczna przeprowadzona została metodą DSC, podczas ogrzewania zaobserwowane zostały proces zeszklenia, zimnej krystalizacji i topnienia, których parametry przedstawione zostały w tabeli 19. Na rysunku 32 przedstawione zostały strumienie ciepła w funkcji temperatury w zakresie od -90°C do 195°C P3HB i biokompozycji K400, K1000 i K1500 oraz zastosowanych PU.

PU400 jest polimerem amorficznym, a PU1000 i PU1500 są semikrystaliczne, temperatura $T_{m1(onset)}$ wynosi odpowiednio 49,86°C i 47,39°C. Oznaczona temperatura zeszklenia polimerów PU400, PU1000 i PU1500 zmniejszają się w serii PU400→PU1000→PU1500 od -21,3 do -32,7°C.

Przemiana szklista, zimna krystalizacja i topnienie są obserwowane dla K400-5 i K400-15; zimna krystalizacja jest prawdopodobnie powiązana ze sposobem wytłaczania mieszanek i formowania pewnej zawartości fazy krystalicznej podczas ogrzewania. Kompozycja K400-10 wykazuje tylko przemianę szklistą i topnienie. Przemiana szklista kompozycji z PU400 ma miejsce w zakresie temperatury $-1,80^{\circ}\text{C}$ - $1,20^{\circ}\text{C}$ i jest zbliżona do temperatury zeszklenia P3HB ($7,70^{\circ}\text{C}$); temperatura zeszklenia PU400 wynosi $-21,32^{\circ}\text{C}$. Temperatura zeszklenia po początkowym obniżeniu przy 5 % mas. PU400 (K400-5) wzrasta wraz ze wzrostem ilości PU400 w kompozycji polimerowej (tab. 19).



Rysunek 32. Porównanie strumienia ciepła: a. P3HB i biokompozycji K400-5, K400-10, K400-15, b. P3HB i biokompozycji K1000-5, K1000-10, K1000-15, c. P3HB i biokompozycji K1500-5, K1500-10, K1500-15, d. PU400, PU1000 i PU1500 w funkcji temperatury

Temperatura początku topnienia kompozycji z PU400 mieści się w zakresie $156,60^{\circ}\text{C}$ – $163,20^{\circ}\text{C}$. Na krzywych DSC wszystkich biokompozycji K400-5 i K400-15 zaobserwowano dwa piki topnienia. Pierwszy, zawsze mniejszy pik endotermiczny jest spowodowany topnieniem mniej stabilnych kryształów ($T_{m1(\text{pik})}$), podczas gdy drugi większy pik ($T_{m2(\text{pik})}$, tab. 19) odpowiada topnieniu większych, dobrze uformowanych kryształów. Taką sytuację obserwuje się w przypadku czystego P3HB czy jego kompozytów hybrydowych [203, 204].

Najniższa wartość temperatury przemiany szklistej biokompozycji K400-5 (tab. 19) pozwala przypuszczać, że ten materiał ten jest najbardziej uplastyczniony i jednocześnie największa różnica pomiędzy temperaturą początku topnienia i początku degradacji (tab. 18 i tab. 19, $\Delta T = 95,5^{\circ}\text{C}$) wskazuje na największe możliwości przetwarzania.

Tabela 19. Porównanie parametrów termicznych P3HB, biokompozycji i poliuretanów uzyskanych podczas ich ogrzewania z szybkością $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ po uprzednim schłodzeniu z tą samą szybkością

Materiał	T_g [$^{\circ}\text{C}$]	ΔC_p [$\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot^{\circ}\text{C}^{-1}$]	$T_{m1(\text{onset})}$ [$^{\circ}\text{C}$]	$T_{m1(\text{pik})}$ [$^{\circ}\text{C}$]	ΔH_{f1} [$\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$]	$T_{m2(\text{onset})}$ [$^{\circ}\text{C}$]	$T_{m2(\text{pik})}$ [$^{\circ}\text{C}$]	ΔH_{f2} [$\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$]
P3HB	7,70	13,93	-	-	-	159,73	165,75	7,91
K400-5	-1,80	32,19	-	-	-	156,60	163,60	3,41
K400-10	0,40	21,29	-	-	-	165,30	170,90	8,23
K400-15	1,20	15,83	-	-	-	163,20	171,00	5,76
K1000-5	-40,74	6,86	14,80	21,80	0,048	166,95	172,00	8,36
K1000-10	-43,75	2,28	16,13	20,85	0,091	165,60	170,70	8,19
K1000-15	-39,80	9,80	15,32	22,30	0,503	166,11	171,03	8,13
K1500-5	3,80	15,17	34,10	39,00	0,035	163,50	169,60	7,96
K1500-10	3,50	10,64	33,10	41,20	0,459	163,90	171,20	8,24
K1500-15	1,15	13,74	35,80	42,12	0,845	163,60	169,60	8,49
PU400	-21,32	196,54	-	-	-	-	-	-
PU1000	-27,85	183,04	3,42	49,86	98,33	-	-	-
PU1500	-32,70	172,87	27,05	47,39	204,71	-	-	-

Temperatura zeszklenia biokompozycji K1000 mieści się w zakresie $-39,80^{\circ}\text{C}$ do $-43,75^{\circ}\text{C}$. Kompozycje K1000 mają wartość T_g zbliżoną do wartości T_g PU1000, a nawet niższą od niej (tab. 19). Temperatura zeszklenia biokompozycji K1500 mieści się w zakresie $1,15^{\circ}\text{C}$ do $3,80^{\circ}\text{C}$. Temperatura T_g maleje wraz ze wzrostem ilości PU1500 w kompozycji polimerowej. Wszystkie kompozycje mają tylko jedną temperaturę zeszklenia. W przypadku kompozycji K400 i K1500 wartość temperatury zeszklenia jest zbliżona do T_g P3HB, ale została przesunięta w kierunku niższych wartości temperatury. Jest to spowodowane oddziaływaniami łańcuchów polimerowych - poliestrowych i poliuretanowych, m. in. w postaci wiązań wodorowych, których powstawanie zostało potwierdzone analizą FT IR.

Na krzywych DSC wszystkich kompozycji K1000 i K1500 obserwuje się 2 piki topnienia (rys. 32). Pierwszy mniejszy $T_{m1(\text{onset})}$ w zakresie $14,80 - 16,13^{\circ}\text{C}$ dla K1000 i $33,10 - 35,80^{\circ}\text{C}$ dla K1500, a drugi w podobnym zakresie dla kompozycji K1000 i K1500 $163,5$ do $166,95^{\circ}\text{C}$ (tab. 19). Współwystępowanie dwóch pików topnienia kompozycji P3HB z PU1000 i PU1500 wskazuje na układ dwufazowy i tworzenie się półprzenikających się sieci polimerowych [205]. Z kolei kompozycje P3HB i PU400 są układami jednofazowymi i są mieszaninami termodynamicznie kompatybilnych polimerów [206].

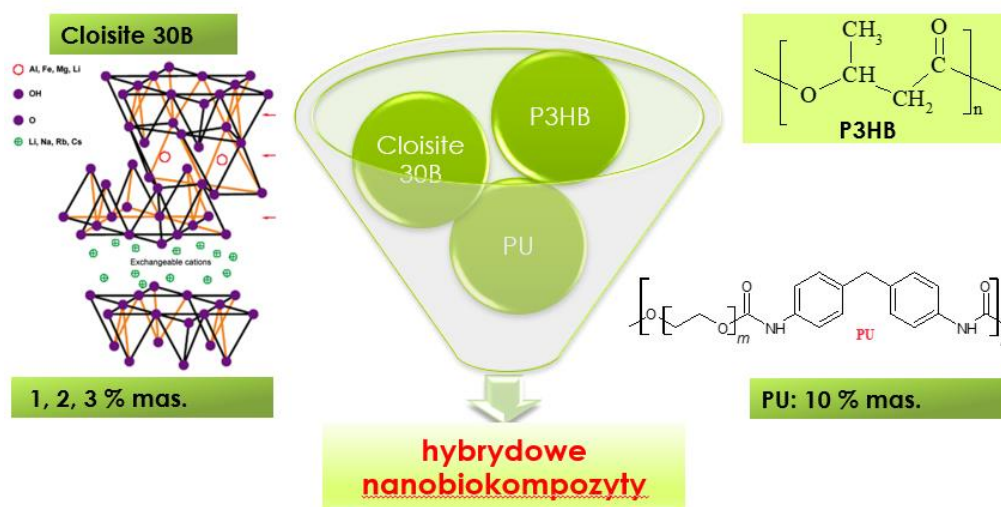
Największe możliwości przetwarzania oferuje K1000-10 oraz K1500-15, dla których oszacowano okno przetwarzania na ok. 86 i 87°C. Pozostałe kompozycje z serii K1000 i K1500 poprawiają również okno przetwarzania P3HB, ale jest ono nieco mniejsze.

Podsumowując zbadałam kompatybilność otrzymanych mieszanek polimerowych P3HB PU na bazie MDI i glikoli polietylenowych o różnych masach molowych. Zbadałam wpływ zawartości poliuretanu i długości łańcucha polieterolowego w PU na stabilność termiczną i właściwości mechaniczne biokompozycji oraz porównałam je z właściwościami niemodyfikowanego P3HB. Wykazałam, że zwiększenie zawartości PU w kompozycjach P3HB-PU do 10 % mas. prowadzi do poprawy wspomnianych właściwości. Uzyskane wyniki potwierdziły, że stabilność termiczna i właściwości mechaniczne P3HB uległy poprawie, szczególnie pod względem zwiększenia temperatury degradacji i zwiększenia udarności. Najlepsze właściwości termiczne i mechaniczne wykazały biokompozycje polimerowe P3HB-PU zawierające 10% mas. modyfikatorów poliuretanowych, zwłaszcza PU1000, co potwierdziła również analiza morfologii.

5.4. PUBLIKACJA [D4]

B. Krzykowska, Ł. Uram, A. Białkowska, M. Bakar, M. Kovářová, V. Sedlařík, D. Hanusova, M. Kisiel, J. Paciorek-Sadowska, M. Borowicz, I. Zarzyka, Polymer bionanocomposites based on P3BH/polyurethane matrix with organomodified montmorillonite – mechanical and thermal properties, biodegradability and cytotoxicity, *Polymers*, 16, 2681 (2024). <https://doi.org/10.3390/polym16182681> [IF = 4,7]

W tej pracy do modyfikacji właściwości P3HB, wykorzystałam poliuretan wytworzony przy użyciu MDI i glikolu polietylenowego o masie molowej 1000 g, z którego 10 % mas. udziałem uzyskałam biokompozycje polimerowe o najlepszych właściwościach mechanicznych i termicznych, opisane w poprzedniej publikacji [D3]. W celu dalszej modyfikacji właściwości P3HB jako nanododatek zastosowałam glinokrzemian warstwowy modyfikowany organicznie, Cloisite®30B w ilości 1, 2 i 3 % mas. (rys. 33, tab. 20). Zbadałam wpływ zastosowanych modyfikatorów na właściwości mechaniczne, termiczne, przetwórcze, biodegradowalność, biokompatybilność i cytotoksyczność uzyskanych nanobiokompozytów hybrydowych.

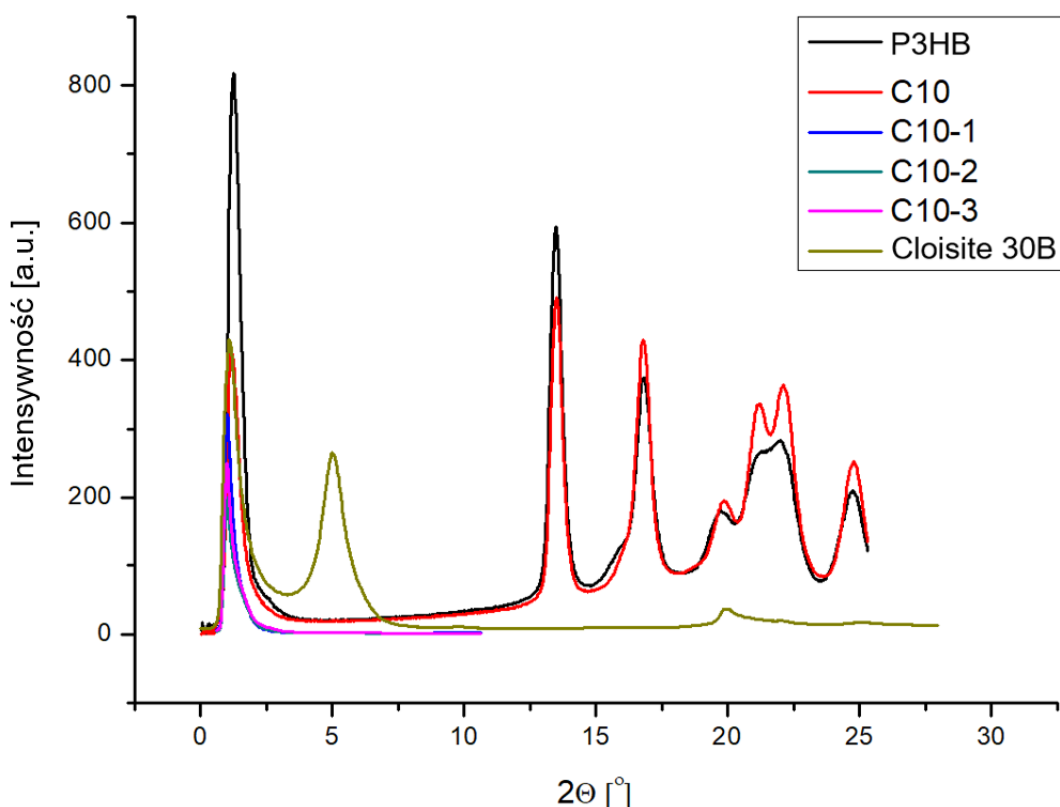


Rysunek 33. Schemat wytwarzania nanobiokompozytów z udziałem PU i Cloisite®30B

Tabela 20. Skład wytworzonych nanobiokompozytów polimerowych

Zawartość [% mas.]			Oznaczenie próbki
P3HB	PU	Cloisite®30B	
90	10	0	C10
89	10	1	C10-1
88	10	2	C10-2
87	10	3	C10-3

Techniką SAXS scharakteryzowałam strukturę nanoglinki w przygotowanych biokompozytach, a zarejestrowane krzywe przedstawiłam na rysunku 34. Cloisite®30B wykazuje pik z maksimum $2\theta \approx 5^\circ$, co oznacza, że odległość między płytkami d_{001} nanoglinki wynosi 1,8 nm [207]. Jak przedstawia rysunek 34, wszystkie wytworzone biokompozyty nie mają pików w zakresie od 1 do 5° , co potwierdza całkowitą eksfoliację montmorylonitu [175].

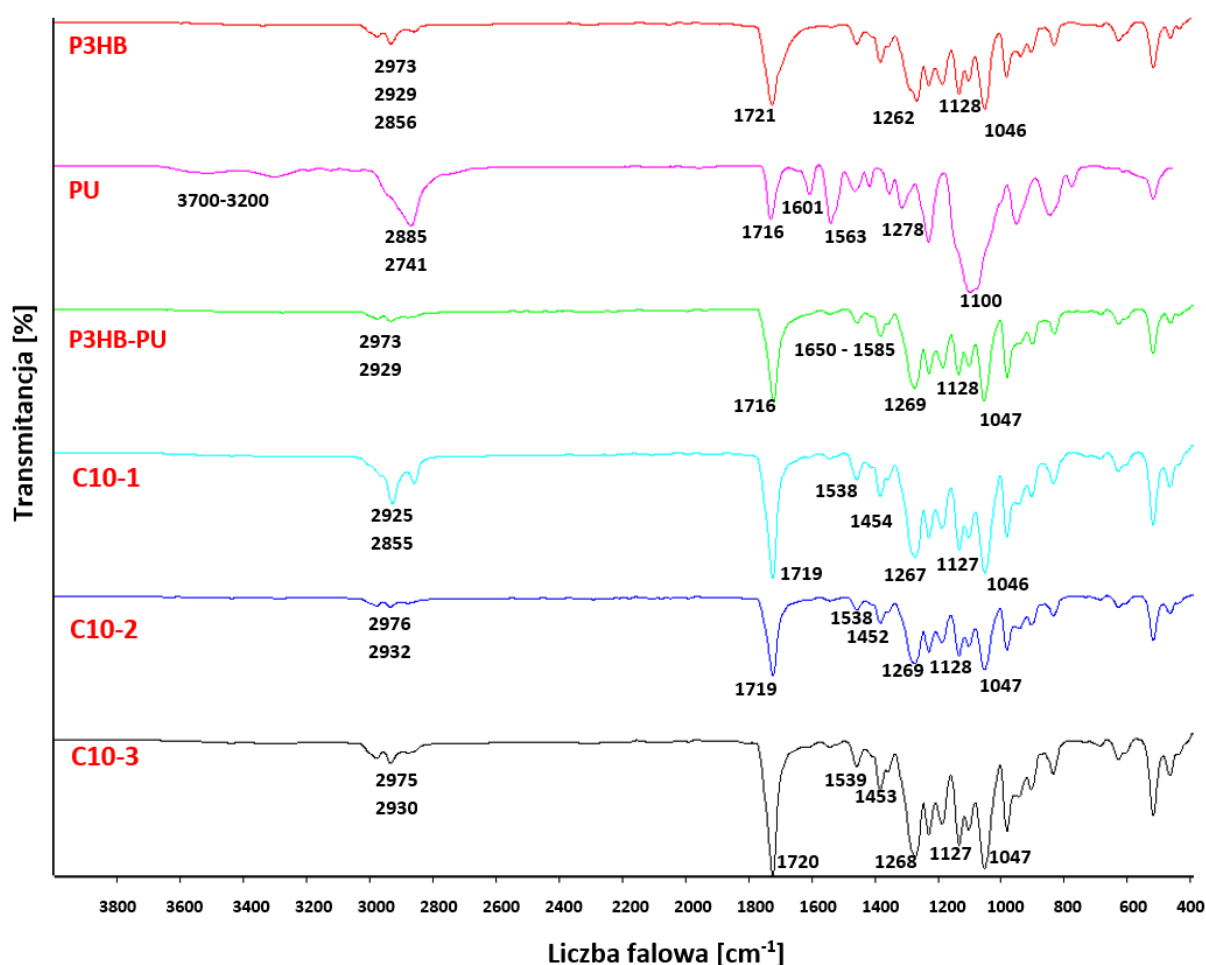


Rysunek 34. Wykresy SAXS nanobiokompozytów zawierających 1, 2 i 3 % mas. Cloisite®30B i 10 % mas. PU (oznaczonych odpowiednio jako C10-1, C10-2 i C10-3). Rysunek przedstawia referencyjne wykresy nienapełnionego P3HB i kompozycji polimerowej P3HB i 10 % mas. PU (C10) oraz czystego Cloisite®30B.

Kompatybilność składników badanych materiałów P3HB, PU i Cloisite®30B sprawdziłam za pomocą spektroskopii FT IR (rys. 35). Widmo FT IR natywnego P3HB wykazuje pasma charakterystyczne dla estrów, tj. pasmo pochodzące od drgań rozciągających grup karbonylowych przy 1721 cm^{-1} . Widoczne są również pasma asymetrycznych i symetrycznych drgań wiązań estrowych C-O przy 1262 i 1128 cm^{-1} . Ponadto występuje pasmo drgań rozciągających C-OH alkoholi drugorzędowych przy 1046 cm^{-1} , ponieważ łańcuchy poliestrowe są zakończone grupami hydroksylowymi. Udział grup hydroksylowych jest niewielki, dlatego pasmo drgań walencyjnych wiązań O-H nie jest obserwowane powyżej 3000 cm^{-1} . Widmo FT IR (rys. 35) aromatycznego liniowego poliuretanu (PU) wykazuje szerokie pasmo w zakresie $3700\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$, pochodzące od drgań rozciągających wiązań N-H grup, pasmo drgań rozciągających grup C=O przy 1716 cm^{-1} ,

pasmo drgań zginających wiązań N-H, a pasma w zakresie 1597-1413 cm^{-1} odnoszą się do drgań szkieletowych pierścieni aromatycznych, co zostało dokładnie opisane w publikacji [D3].

W widmie FT IR kompozycji polimerowej P3HB-PU (rys. 35) występuje zmiana kształtu pasm w porównaniu z widmem poliuretanu powyżej 3000 cm^{-1} , obecne jest bardzo szerokie pasmo o małej intensywności. W widmie obserwowałem charakterystyczne pasmo przy 1716 cm^{-1} , pochodzące od drgań rozciągających grup karbonylowych występujących w grupach estrowych i uretanowych. W zakresie 1585-1680 cm^{-1} pojawia się multipletowe pasmo wywołane drganiami zginającymi wiązań N-H w wyniku tworzenia międzycząsteczkowych wiązań wodorowych [208, 202].

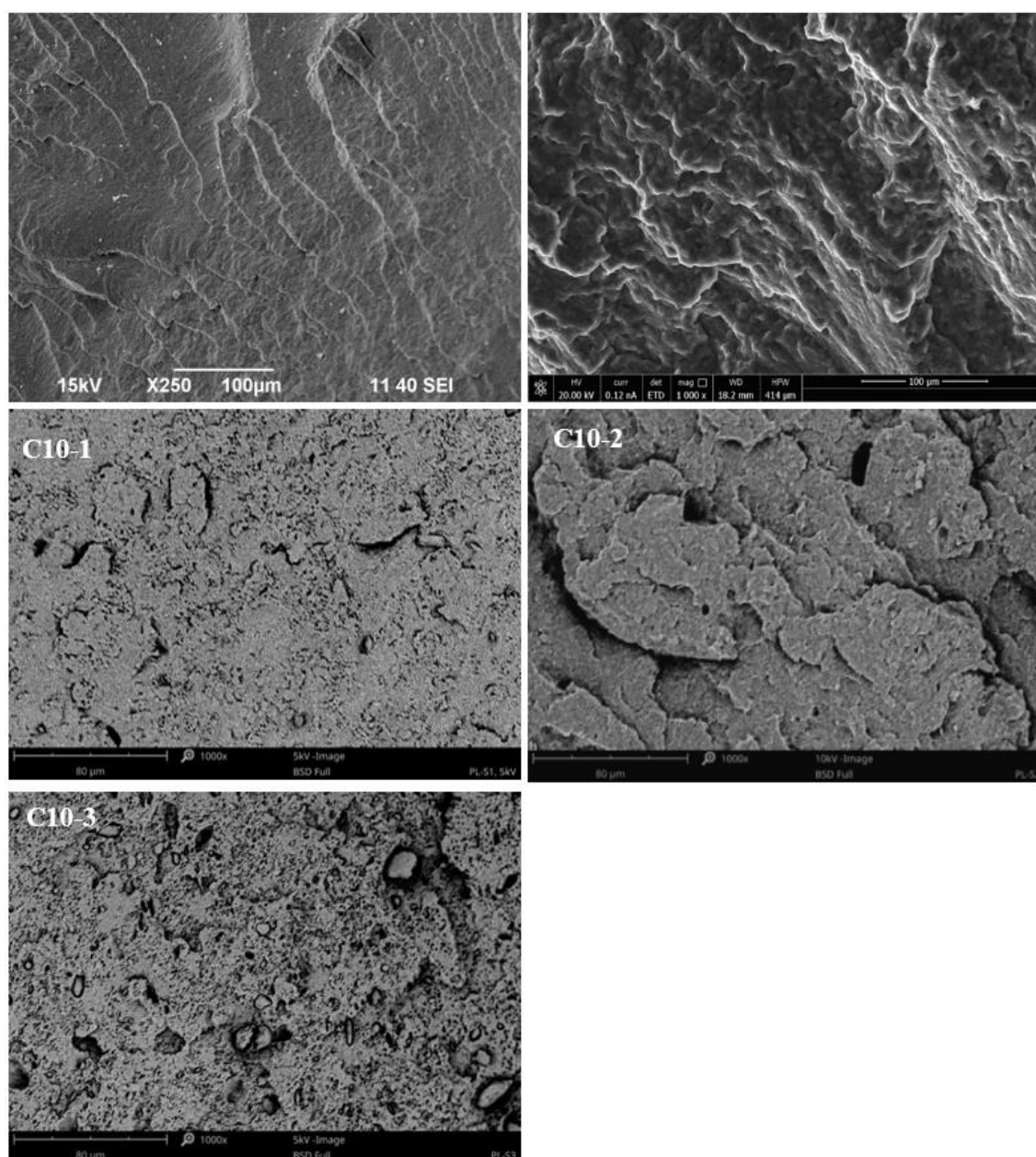


Rysunek 35. Zestaw widm FT IR P3HB, PU, kompozycji P3HB-PU zawierającej 10 % mas. PU (C10) oraz nanobiokompozytów na osnowie polimerowej P3HB-PU z 1, 2 i 3 % mas. Cloisite®30B (odpowiednio C10-1, C10-2, C10-3)

Analiza widm FT IR nanobiokompozytów hybrydowych otrzymanych przez wprowadzenie organicznie modyfikowanego montmorylonitu (Cloisite®30B) w ilości 1, 2 i 3 % mas. wykazała dalsze zmiany w odniesieniu do poszczególnych polimerów (P3HB i PU) oraz ich kompozycji. W zakresie 3600-3100 cm^{-1} można zaobserwować szerokie, rozmyte pasma o niskiej intensywności, których intensywność nieznacznie wzrasta wraz ze wzrostem ilości Cloisite®30B w nanobiokompozycie. Pasma te są charakterystyczne dla grup N-H poliuretanu i grup OH alkoholi, które tworzą wiązania wodorowe

między grupami uretanowymi i hydroksylowymi modyfikatora a grupami estrowymi i hydroksylowymi P3HB oraz Cloisite®30B. Multipletowość pasma w zakresie $1585\text{--}1680\text{ cm}^{-1}$ potwierdza tworzenie się międzycząsteczkowych wiązań wodorowych. Ponadto we wszystkich widmach nanobiokompozytów występuje pasmo o liczbie falowej 1719 cm^{-1} , wspólne dla drgań rozciągających wiązań C=O grupy estrowej P3HB i grupy uretanowej PU. Analiza widm FT IR składników przygotowanych nanobiokompozytów polimerowych potwierdziła oddziaływania Cloisite®30B, PU z matrycą P3HB oparte na wiązaniach wodorowych.

Celem wyjaśnienia mechanizmu wpływu zastosowanych modyfikatorów na właściwości mechaniczne badanych nanobiokompozytów przeprowadzone zostały pomiary za pomocą SEM, a na rysunku 36 przedstawione zostały mikrografie powierzchni przełomów badanych materiałów.

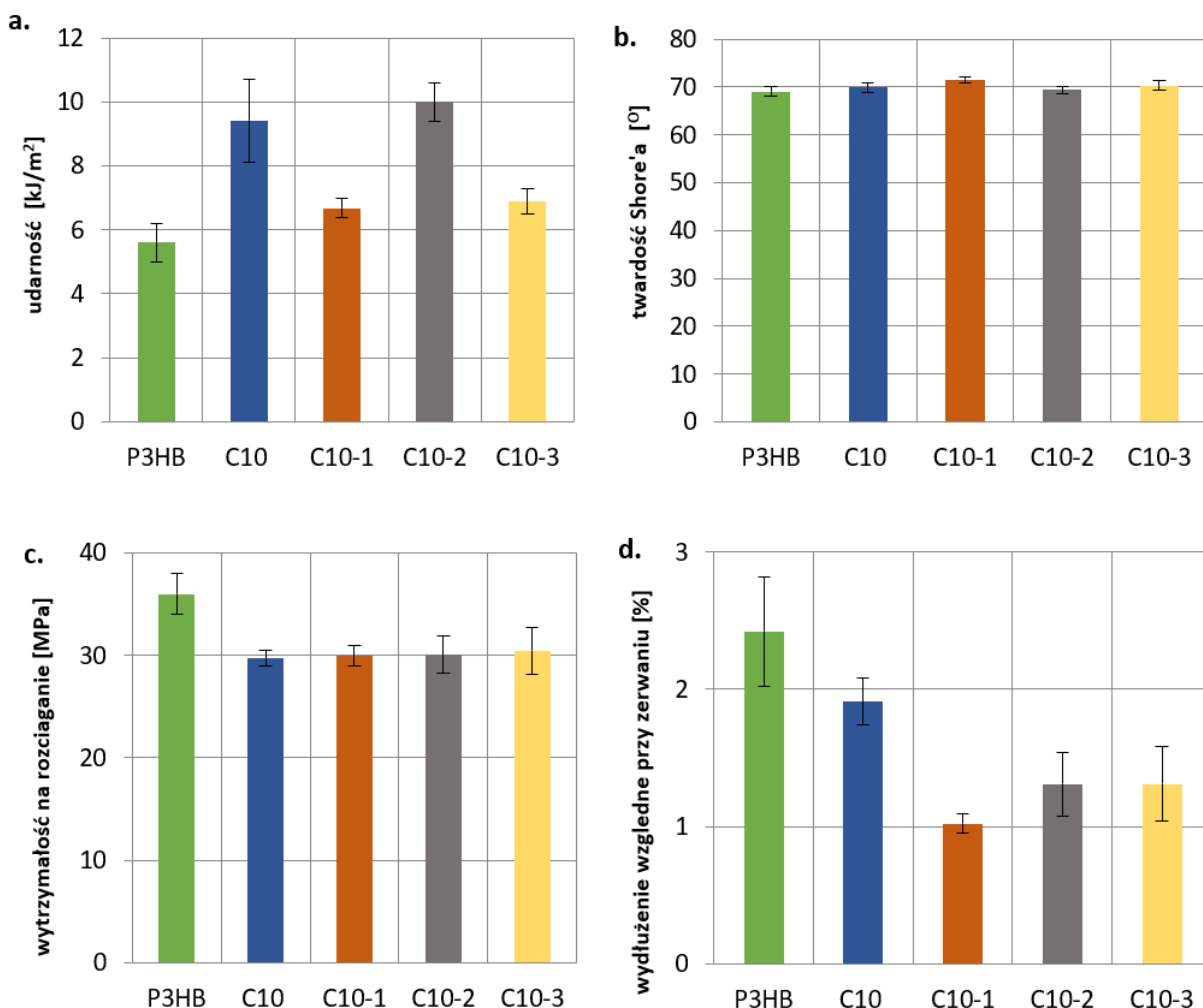


Rysunek 36. Mikrografie SEM P3HB (a) i jego biokompozycji polimerowej zawierającej 10 % mas. poliuretanu (P3HB-PU, C10) (b) oraz nanobiokompozytów P3HB z 10 % mas. PU i 1 % mas. (c), 2 % mas. (d) i 3 % mas. odpowiednio Cloisite®30B, oznaczonymi jako C10-1, C10-2, C10-3

Rysunek 36b przedstawia powierzchnię przełomu kompozycji binarnej P3HB z 10 % mas. modyfikatora poliuretanowego. Można zauważyć, że wprowadzenie PU do matrycy poliestrowej zakłóca ciągłość jej struktury i powoduje pojawienie się szorstkich, falistych obszarów ułożonych w różnych kierunkach, w porównaniu do P3HB na rysunku 36a gdzie obszary kruchego pęknięcia są rozmieszczone jednokierunkowo i jest związane z uelastycznieniem materiału [209]. Mikrofotografie na rysunku 36c-e dokumentują strukturę nanobiokompozytów hybrydowych modyfikowanych 10 % mas. PU i różnymi ilościami nanoglinki Cloisite®30B. Wszystkie nanobiokompozyty hybrydowe mają podobną strukturę. Niezależnie od zawartości modyfikowanego organicznie glinokrzemianu, nie można rozróżnić integralnych składników kompozytów hybrydowych. Kompozyty trójskładnikowe mają liczne mikro- i makropęknięcia oraz pory. Struktura tych materiałów jest niejednorodna fazowo. Wprowadzenie nanoglinki do matrycy zwiększa twardość wytworzonych kompozytów niezależnie od ilości wprowadzonego montmorylonitu, a co wynika z usztywniającego działania nanoglinki. Wspomniane zjawisko niejednorodności struktury hybrydowej jest szczególnie widoczne w kompozycjach zawierających 1% lub 3% mas. nanoglinki. Niejednorodność struktury materiałów trójskładnikowych może wskazywać na niewystarczającą kompatybilność składników w nich zawartych i w odniesieniu do matrycy i binarnej kompozycji P3HB-PU i wpływać na pogorszenie niektórych właściwości kompozytów hybrydowych. Jeżeli osnowa poliestrowa modyfikowana jest 10 % mas. PU i średnią, tj. 2 % mas. ilością Cloisite®30B (C10-2), kompozyt ma nieco inną strukturę i charakteryzuje się najmniejszą liczbą pęknięć i porów niż pozostałe próbki hybrydowe. Na mikrografii (rys. 36d) widoczne są szorstkie domeny, ułożone w różnych kierunkach, co wyjaśnia lepsze właściwości mechaniczne tego kompozytu w porównaniu do innych materiałów hybrydowych z 1 % lub 3 % mas. nanoglinki (C10-1 i C10-3).

W następnej kolejności zbadałam właściwości mechaniczne wytworzonych hybrydowych nanobiokompozytów polimerowych, a wyniki przedstawiłam na wykresach pokazujące wpływ zawartości organicznej nanoglinki na udarność Charpy'ego (rys. 37a), twardość Shore'a (rys. 37b), wytrzymałość na rozciąganie (rys. 37c) i względne wydłużenie przy zerwaniu (rys. 37d) oraz porównałam z wynikami dla kompozycji polimerowej P3HB-PU (C10) i natywnego P3HB. Wartość udarności wszystkich otrzymanych nanobiokompozytów polimerowych (rys. 37a) jest wyższa niż natywnego P3HB, ale tylko w wypadku C10-2 wyższa od udarności kompozycji C10 [190]. Nanobiokompozyt zawierający 2 % mas. Cloisite®30B wykazuje najwyższą udarność (10 kJ/m²), a w porównaniu do natywnego P3HB wzrost udarności wyniósł ok. 80 %. Twardość wytworzonych nanobiokompozytów polimerowych (rys. 37b) minimalnie zależy od ilości wprowadzonej nanoglinki i mieści się w zakresie 69 - 72. Nanobiokompozyt zawierający 1 % mas. Cloisite®30B charakteryzował się najwyższą twardością (72) i jest ona wyższa niż twardość kompozycji C10, czy P3HB (69). Dodatek 2 % mas. Cloisite®30B sprawia, że nanobiokompozyt (C10-2) ma najniższą twardość, równą twardości natywnego P3HB. Obecność

modyfikatora poliuretanowego i wprowadzenie aromatycznego liniowego poliuretanu i nanododatku w zasadzie nie zmienia twardości P3HB.



Rysunek 37. Wykresy a. uderności, b. twardości, c. wytrzymałości na rozciąganie, d. wydłużenia względnego przy zerwaniu P3HB, kompozycji polimerowej P3HB-PU (C10) i nanobiokompozytów polimerowych wytworzonych z udziałem P3HB-PU i 1, 2 i 3 % mas. Cloisite®30B (odpowiednio C10-1, C10-2 i C10-3)

Wszystkie wytworzone nanobiokompozyty na osnowie P3HB i liniowego poliuretanu aromatycznego charakteryzują się niższymi wartościami wytrzymałości na rozciąganie (rys. 37c) w porównaniu z natywnym P3HB. Wprowadzenie nanoglinki i wzrost jej zawartości nie zmienia wartości wytrzymałości w porównaniu do kompozycji P3HB-PU (C10). Podobne zależności obserwował Paścu i współpracownicy [210]. Wartość wytrzymałości na rozciąganie jest nadal akceptowalna dla przewidywanego zastosowania. W wypadku względnego wydłużenia przy zerwaniu (rys. 37d) można zauważyć, że P3HB modyfikowany liniowym aromatycznym poliuretanem (C10) zmniejsza wartość tego parametru, a wprowadzenie Cloisite®30B usztywnia strukturę i sprawia, że względne wydłużenie przy zerwaniu jeszcze nieco zmniejsza się, szczególnie dla C10-1.

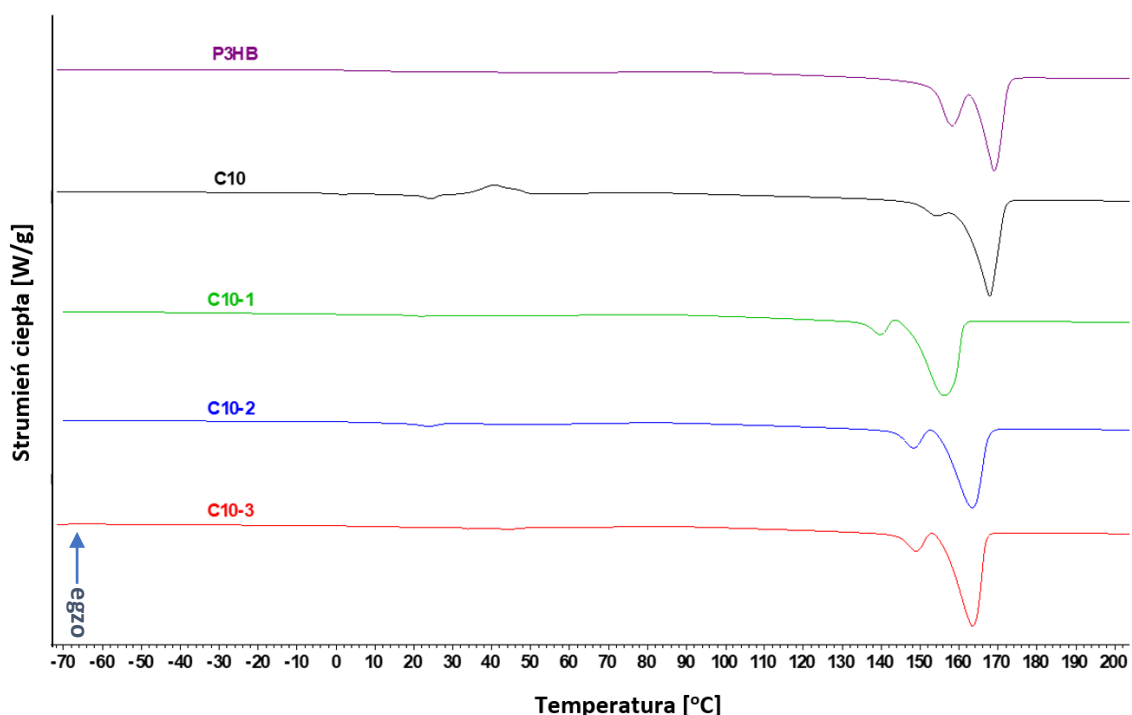
Stabilność termiczną wytworzonych hybrydowych polimerowych określiłam metodą TG, a wyniki zostały przedstawione w tabeli 21. Temperatura początku rozkładu wszystkich nanobiokompozytów, a także temperatura 5 i 10 % ubytku masy są znacznie wyższe niż dla natywnego P3HB i porównywalne z kompozycją P3HB-PU. Wprowadzenie glinki i zwiększenie jej ilości nie wpływa znacząco na stabilność termiczną otrzymanych nanobiokompozytów, a wartości temperatury początku rozkładu dla wszystkich badanych próbek są zbliżone. Temperatura najszybszego rozkładu P3HB jest zbliżona do temperatury najszybszego rozkładu przygotowanych nanobiokompozytów i mieści się w zakresie 293-295°C. Pozostałość po rozkładzie w temperaturze 600°C wzrasta wraz ze wzrostem ilości dodawanego Cloisite®30B i nie przekracza 3 % mas. Przygotowanie nanobiokompozytów hybrydowych polimerów na bazie P3HB z aromatycznym liniowym poliuretanem i modyfikowanym organicznie montmorylonitem zwiększa nieznacznie stabilność termiczną otrzymanych materiałów w porównaniu do kompozycji P3HB-PU. Stabilność termiczna jest ważnym parametrem, który należy rozważać przy określaniu temperatury przetwarzania polimerów termoplastycznych [211]. W tym kontekście wytworzone hybrydowe nanobiokompozyty zawierające łańcuchy poliureta-nowe i organicznie modyfikowany montmorylonit można przetwarzać w wyższych temperaturach niż sam P3HB i nieznacznie wyższych niż kompozycja P3HB-PU, maksymalnie do ok. 255°C.

Tabela 21. Interpretacja krzywych TG i DTG P3HB i jego biokompozycji z 10 % mas. PU (C10) oraz nanobiokompozytów hybrydowych P3HB-PU z Cloisite®30B (C10-1, C10-2, C10-3) uzyskanych przy szybkości ogrzewania 5°C/min w atmosferze azotu

Materiał	T_{on} [°C]	T_{5%} [°C]	T_{10%} [°C]	T_{50%} [°C]	T_{max} [°C]	Pozostałość w 600°C [%]
P3HB	221,1	236,2	245,6	281,2	295,7	1,70
C10	252,1	268,8	295,1	295,6	294,5	2,82
C10-1	252,2	272,8	292,5	293,3	293,7	1,38
C10-2	254,8	273,5	295,2	284,5	295,2	1,97
C10-3	252,3	272,3	294,8	283,8	293,3	2,59

T_{on} - temperatura początku rozkładu, T_{x%} - temperatura x % ubytku masy, T_{max} - temperatura najszybszego rozkładu

Wyniki badań właściwości cieplnych uzyskanych nanobiokompozytów hybrydowych metodą DSC zostały przedstawione na rysunku 38 oraz zestawione w tabeli 22. Na krzywych DSC (rys. 38) obrazujących proces ogrzewania materiałów można zaobserwować proces zeszklenia, topnienia i zimnej krystalizacji, których parametry zamieszczone zostały w tabeli 22, odpowiednio wartości temperatury zeszklenia (T_g); temperatury topnienia (T_m) i temperatury zimnej krystalizacji (T_{cc}). Ponadto na podstawie przebiegu chłodzenia oszacowano temperaturę krystalizacji (T_c) i jej entalpię (ΔH_c).



Rysunek 38. Krzywe DSC P3HB, kompozycji polimerowej P3HB-PU (C10) i nanobiokompozytów polimerowych P3HB-PU z 1, 2 i 3 % mas. Cloisite®30B (odpowiednio C10-1, C10-2 i C10-3) przedstawiające zależność strumienia ciepła od temperatury, przy szybkości nagrzewania $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ w zakresie temperatury -90°C do 230°C po wcześniejszym schłodzeniu z tą samą szybkością

Tabela 22. Parametry termiczne P3HB, kompozycji polimerowej P3HB-PU (C10) i nanobiokompozytów polimerowych P3HB-PU z dodatkiem 1, 2 i 3 % mas. Cloisite®30B (odpowiednio C10-1, C10-2 i C10-3) uzyskane z pomiarów DSC

Materiał	T_{g1} , [°C]	ΔC_p , [J·mol ⁻¹ ·°C ⁻¹]	T_{g2} , [°C]	ΔC_p , [J·mol ⁻¹ ·°C ⁻¹]	$T_{m1(\text{pik})}$, [°C]	ΔH_f , [kJ·mol ⁻¹]	T_{cc} , [°C]	ΔH_{cc} , [kJ·mol ⁻¹]	$T_{m2(\text{pik})}$, [°C]	$T_{m3(\text{pik})}$, [°C]	ΔH_f , [kJ·mol ⁻¹]	T_c , [°C]	ΔH_c , [kJ·mol ⁻¹]
P3HB	---	---	5,5	12,73	---	---	89,9	-0,41	157,5	167,8	8,38	85,7	-6,76
PU	-38,4	185,60	---	---	54,9	142,5	---	---	---	---	---	23,9	-159,4
C10	-42,9	4,27	-2,9	8,16	24,2	0,128	40,5	-2,31	153,8	166,7	7,79	63,5	-4,15
C10-1	-26,2	7,56	---	---	21,9	0,035	79,9	-0,79	139,3	155,3	7,62	59,8	-5,66
C10-2	-45,0	4,82	---	---	23,5	0,210	84,8	-0,93	147,7	162,0	7,25	66,4	-5,47
C10-3	-43,8	3,80	---	---	44,4	0,143	85,7	-1,18	148,5	162,3	7,54	70,2	-5,65

Podczas ogrzewania PU wykazuje przejście szkliste z T_g $-38,4^{\circ}\text{C}$ i jeden proces topnienia z temperaturą topnienia $54,9^{\circ}\text{C}$ (tab. 22). P3HB wykazuje przejście szkliste w T_g $5,5^{\circ}\text{C}$ i dwa piki topnienia podczas ogrzewania w temperaturze odpowiednio w temperaturze $157,5^{\circ}\text{C}$ i $167,8^{\circ}\text{C}$; pierwszy, mniejszy związany, ze wskazaną wcześniej, obecnością mniej wykształconych kryształów [212, 112].

Dodatek 10 % mas. PU (C10) sprawia, że na krzywej DSC obecne są dwa przejścia szkliste, z których jedno było przesunięte poniżej T_g P3HB, a drugie poniżej T_g PU. Ponadto kompozycja C10 wykazuje dwa obszary topnienia tak jak układy dwufazowe tworzące półprzenikające się sieci polimerowe [213]. P3HB i PU oddziałują ze sobą za pomocą wiązań wodorowych, których obecność potwierdziła analiza FT IR opisana również w [D3]. Dodatek Cloisite®30B ułatwia

proces krystalizacji (wyższe ciepło tego przejścia fazowego) i działa jak kompatybilizator, co potwierdza zanik obszaru zeszklenia w temperaturze zbliżonej do obszaru zeszklenia P3HB. Temperatura zeszklenia nanobiokompozytu C10-1 wynosi $-26,2^{\circ}\text{C}$, czyli mieści się w zakresie pomiędzy T_g P3HB i T_g PU. Pozostałe nanobiokompozyty wykazują również pojedynczą temperaturę zeszklenia w pobliżu temperatury zeszklenia czystego poliuretanu. Oznacza to termodynamiczną kompatybilność składników powstałego polimerowego nanobiokompozytu hybrydowego [214]. Wprowadzenie 1% mas. modyfikatora glinokrzemianowego obniża temperaturę zeszklenia P3HB. Jest to związane z rozkładem nanonapełniacza w matrycy kompozycji polimerowej. Nanokompozyt C10-1 zawierający najmniejsze ilości Cloisite®30B na mikrografii SEM (rys. 36c) wykazuje aglomeraty nanocząstek i ich oddzielenie od matrycy kompozytowej. W przypadku próbek z 2 i 3% mas. nanonapełniacza mikrofotografie SEM (rys. 36d i 36e) pokazują równomierne rozłożenie nanonapełniacza, co powoduje dalsze obniżenie temperatury zeszklenia i niższą tendencję do krystalizacji oraz lepsze właściwości mechaniczne. Zimna krystalizacja kompozycji C10-1, jak również pozostałych nanokompozytów zachodzi z mniejszą intensywnością i w wyższej temperaturze niż w wypadku kompozycji C10 (tab. 22). Wprowadzenie większej ilości Cloisite®30B powoduje, że entalpia topnienia w obszarze topnienia czystego PU jest 4-5 razy wyższa niż w przypadku C10-1. Nanododatek 2 i 3 % mas. działa również mniej wydajnie jako czynnik nukleacji, co potwierdza entalpia krystalizacji z przebiegu chłodzenia (tab. 22) i ciepło zimnej krystalizacji oraz wyższe ciepło topnienia w obszarze topnienia P3HB. Należy jednak zauważyć, że Cloisite®30B przyspiesza tworzenie fazy krystalicznej, ale całkowite ciepło topnienia w obszarze topnienia P3HB w próbce C10 jest nieco wyższe niż w próbkach C10-1, C10-2 i C10-3. Oznacza to, że polimery krystalizują szybciej, ale w nieco mniejszym stopniu. Temperatura topnienia nanobiokompozytów ulega obniżeniu, a najbardziej w wypadku C10-1 do temperatury 139°C , co oznacza, że okno przetwórcze ulega poszerzeniu do ponad 100°C (tab. 21 i tab. 22).

Zbadana została podatność badanych materiałów na biodegradację na podstawie testu respirometrycznego biochemicznego zapotrzebowania na tlen. Badanie pozwoliło wykazać wpływ obecności PU oraz nanododatku na tendencję wytworzonych materiałów do biodegradacji w porównaniu do biodegradowalnego P3HB. Stopień biodegradacji natywnego P3HB wynosi 63,21% (tab. 23), co potwierdza jego klasyfikację jako materiału biodegradowalnego. Wprowadzenie materiału poliuretanowego do P3HB zmniejszyło stopień biodegradowalności kompozycji (C10) do 49,36 %, co wynika z obecności struktur aromatycznych pochodzących z MDI, które są bardzo trudne do biodegradacji. Wprowadzenie 10 % mas. poliuretanu i 1 % mas. nanoglinki Cloisite®30B powoduje dalsze obniżenie stopnia biodegradacji do 44,22 %. Zwiększanie zawartości MMT skutkuje dalszym obniżaniem podatności na biodegradację (tab. 23).

Tabela 23. Zmierzone wartości biochemicznego zapotrzebowania na tlen oraz wyznaczone wartości teoretycznego zapotrzebowania na tlen i stopnia biodegradacji P3HB, kompozycji polimerowej P3HB-PU (C10) i nanobiokompozytów polimerowych P3HB-PU z dodatkiem 1, 2 i 3 % mas. Cloisite®30B (odpowiednio C10-1, C10-2 i C10-3)

Materiał	Masa próbki [g]	TZT [mg/l]	BZT zmierzone [mg/l]	BOD materiału [mg/l]	D _t – stopień biodegradacji [%]
P3HB	0,25	49,84	60,00	31,50	63,21
C10	0,15	84,08	70,00	41,50	49,36
C10-1	0,25	50,20	50,70	22,20	44,22
C10-2	0,23	54,31	50,60	22,10	40,70
C10-3	0,24	51,79	48,50	20,00	38,62

BZT - biologiczne zapotrzebowanie na tlen [mg/l], BZT - biologiczne zapotrzebowanie na tlen [mg/l], TZT - biologiczne zapotrzebowanie na tlen [mg/l], D_t - stopień biodegradacji materiału [%]

Zawartość węgla w badanych próbkach jest zbliżona (tab. 24), czyli o zmniejszeniu szybkości biodegradacji decyduje wprowadzenie do kompozytu materiału poliuretanowego otrzymanego na bazie liniowego polioliu polieterowego i aromatycznego izocyjanianu MDI. Obie struktury organiczne są bardzo trwałe zarówno chemicznie, jak i biologicznie, czyli trudno podlegają procesom biodegradacji, co znacznie ogranicza stopień biodegradacji wytworzonych kompozytów [215]. Drugim czynnikiem hamującym proces biodegradacji jest zdyspergowanie w matrycy P3HB-PU nanonapełniacza nieorganicznego (MMT).

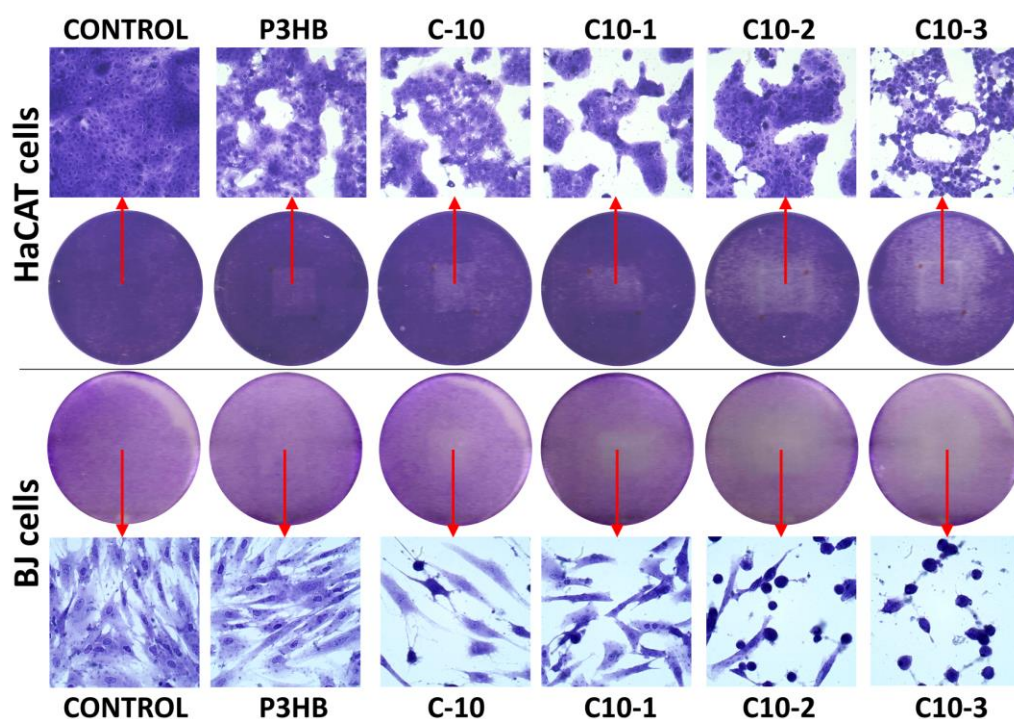
Tabela 24. Udział poszczególnych pierwiastków obliczony na podstawie struktury chemicznej składników i określony na podstawie analizy elementarnej w P3HB, kompozycji polimerowej P3HB-PU (C10) i nanobiokompozytów polimerowych P3HB-PU z dodatkiem 1, 2 i 3 % mas. Cloisite®30B (odpowiednio C10-1, C10-2 i C10-3)

Materiał	C (%)		H (%)		O (%)	Si (%)	N (%)	
	oblicz.	oznacz.	oblicz.	oznacz.			oblicz.	oznacz.
P3HB	55,81	55,95	6,98	6,93	37,24	0,00	0,00	0,79
C10	55,65	55,62	7,15	7,07	36,40	0,00	0,80	0,82
C10-1	55,60	55,40	6,99	7,04	36,55	0,47	0,42	0,83
C10-2	55,04	55,04	6,92	7,02	36,71	0,93	0,42	0,80
C10-3	54,48	54,73	6,85	6,99	36,87	1,40	0,42	0,76

Została również zbadana biokompatybilność wytworzonych nanobiokompozytów hybrydowych. Do oceny biokompatybilności badanych materiałów wykorzystane zostały dwie ludzkie linie komórkowe: fibroblasty skóry BJ i nieśmiertelne keratynocyty HaCaT. BJ to normalne komórki pochodzące ze skóry noworodków płci męskiej o długiej żywotności w porównaniu z innymi normalnymi ludzkimi liniami komórkowymi fibroblastów. HaCaT są nieśmiertelnymi komórkami, które mają kilka zalet w porównaniu z pierwotnymi keratynocytami. Keratynocyty HaCaT zostały wybrane ze względu na ich mniejszą zmienność niż pierwotne keratynocyty, długotrwały wzrost w kulturach i brak spontanicznych właściwości

nowotworowych [216]. Badania wykazały, że fibroblasty BJ i keratynocyty HaCaT są odpowiednim i doskonałym narzędziem do oceny toksyczności [217].

Wytworzone nanobiokompozyty wykazały raczej niską cytotoksyczność wobec badanych linii komórkowych. Po 24-godzinnej inkubacji zmiany w adhezji i kształcie komórek zaobserwowano jedynie w obszarze próbek P3HB, C10 i C10-1 (rys. 39), co pozwala stwierdzić, że zmiany te były niewielkie zgodnie z wytycznymi Pharmacopeial Convention U.S. (tab. 25). Materiały C10-2 i C10-3 wykazały większy wpływ: zaobserwowano odpowiednio łagodną i umiarkowaną reaktywność wobec obu linii komórkowych (tab. 25).



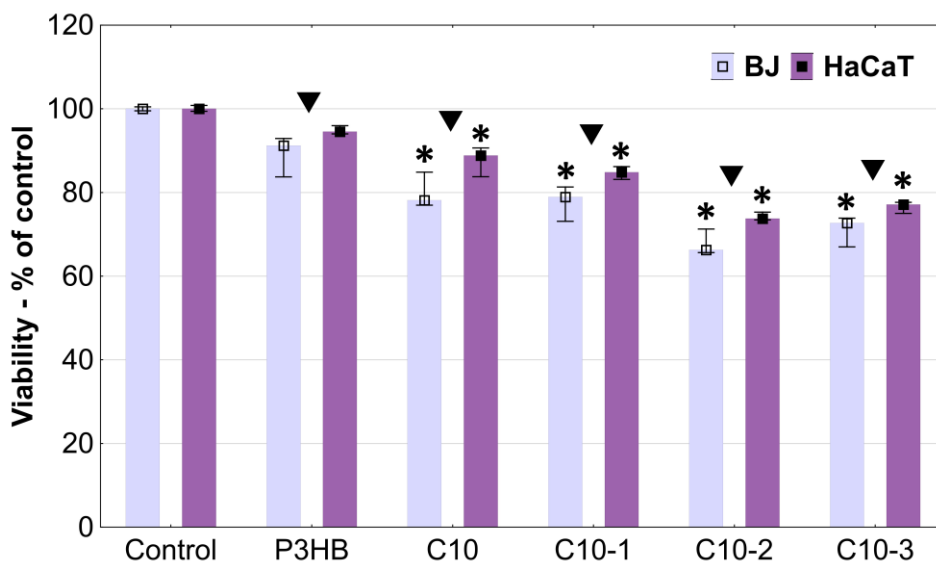
Rysunek 39. Obrazy mikroskopowe ludzkich fibroblastów (BJ) i unieśmiertnionych keratynocytów (HaCaT) wybarwionych fioletem krystalicznym po 24-godzinnej inkubacji z badanymi materiałami. Obrazy okrągłe przedstawiają dołki płytek zawierające barwione komórki z jaśniejszymi częściami wskazującymi lokalizację próbek. Górne i dolne rzędy pokazują komórki z centralnych części stref reaktywności.

Tabela 25. Stopnie reaktywności w teście bezpośredniego kontaktu zgodnie z Pharmacopeial Convention U.S. [218]

Stopień	Reaktywność	Opis strefy aktywności
0	Brak	Brak wykrywanej strefy wokół lub pod próbką
1	Lekki	Niektóre zniekształcone lub zdegenerowane komórki w próbce
2	Łagodny	Strefa ograniczona do obszaru pod próbką i mniej niż 0,45 cm poza próbką
3	Umiarkowany	Strefa rozciąga się 0,45-1,0 cm poza próbkę
4	Poważny	Strefa rozciąga się na więcej niż 1,0 cm poza próbkę

Najbardziej biokompatybilna okazała się próbka P3HB, która nie wywołała statystycznie istotnych zmian w żywotności komórek obu linii w porównaniu z próbą kontrolną. Pierwsze oznaki toksyczności pojawiły się po inkubacji komórek z próbką C10. 10 % mas. dodatek PU

okazał się zwiększać toksyczność, ale w bardzo niewielkim stopniu. Żywotność fibroblastów zmniejszyła się tylko o ok. 22 %, a HaCaT o 11 % (rys. 40).



Rysunek 40. Żywotność normalnych ludzkich fibroblastów (BJ) i nieśmiertelnionych ludzkich keratynocytów (HaCaT) po 24-godzinnej inkubacji z badanymi próbkami oceniana za pomocą testu bezpośredniego kontaktu. Wyniki wyrażono jako mediany. Dolne (25 %) i górne (75 %) zakresy kwartyli przedstawiono jako wiskery. Gwiazdka * oznacza różnice między kontrolą a próbkami ($P < 0,05$, test Kruskala-Wallis). Symbol ▼ oznacza istotne różnice między liniami komórkowymi dla danej próbki ($P < 0,05$, test U Manna-Whitneya).

Biokompatybilność oceniana z komórkami naskórka HaCaT potwierdziła, że P3HB nie jest cytotoksyczny, nie ulega samodegradacji i pozwala na wysoką jednorodną proliferację komórek HaCaT. Poprzednie badania wykazały toksyczne działanie MDI zawartego w poliuretanach na komórki BJ i HaCaT [219]. W związku z tym obniżenie żywotności badanych komórek było przewidywalne. Dodanie Cloisite®30B do próbek C10 spowodowało dalszy spadek żywotności komórek, proporcjonalny do jego stężenia. Nanobiokompozyt C10-1 zmniejszył żywotność komórek BJ i HaCaT odpowiednio do 79% i 84%, podczas gdy C10-2 odpowiednio do 66% i 74%. Komórki inkubowane z udziałem C10-3 wykazały wyższą żywotność w porównaniu z C10-2, ale tylko nieznacznie (odpowiednio 73% i 77% dla BJ i HaCaT). Inni badacze również potwierdzili, że Cloisite®30B wywołuje znaczące skutki toksyczne, z zależnym od czasu spadkiem żywotności ludzkich komórek nabłonka płuc BEAS-2B i zmianami w morfologii komórek po ekspozycji [220], czy wobec linii komórkowej Caco-2 ludzkiego jelita efekty toksyczne już od stężenia 3,91 µg/ml [221].

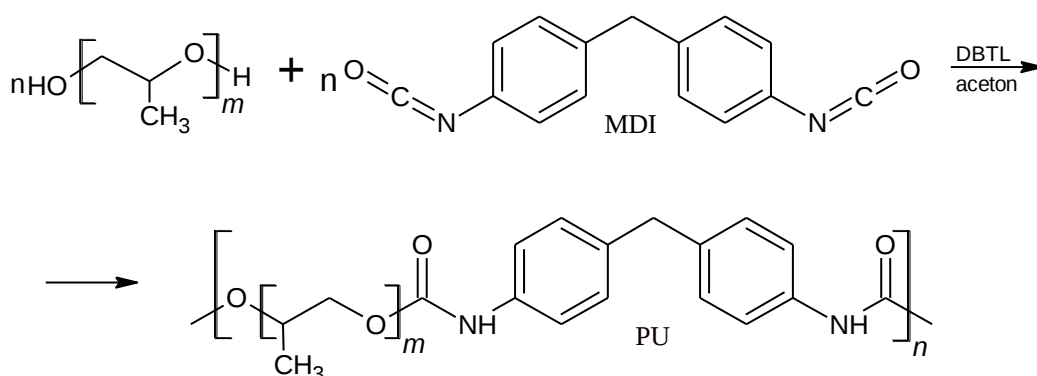
Podsumowując, wytworzyłam hybrydowe nanobiokompozyty na osnowie P3HB z wykorzystaniem aromatycznego termoplastycznego poliuretanu jako modyfikatora i organicznej nanoglinki – Cloisite®30B jako nanonapełniacza. Potwierdziłam strukturę eksfoliowaną nanobiokompozytów. Zbadałam, że obecność 2% mas. Cloisite®30B prowadzi do najlepszej, ale niewielkiej poprawy stabilności termicznej i właściwości mechanicznych

szczególnie pod względem zwiększenia udarności, co zostało również potwierdzone analizą morfologii tych nanobiokompozytów w porównaniu do kompozycji polimerowej P3HB-PU stanowiącej podstawę. Obecność termoplastycznego poliuretanu z pierścieniami aromatycznymi obniża biodegradowalność kompozycji polimerowej P3HB-PU, a dodatek modyfikowanego montmorylonitu powoduje dalsze nieznaczne zmniejszanie biodegradowalności nanobiokompozytów. Badania in vitro na ludzkich fibroblastach skóry i keratynocytach wskazują na zadowalającą biokompatybilność i niską cytotoksyczność wytworzonych nanobiokompozytów hybrydowych, co czyni je bezpiecznymi w kontakcie z ciałem ludzkim, na przykład w zastosowaniach biomedycznych.

5.5. PUBLIKACJA [D5]

B. Krzykowska, A. Fajdek-Bieda, A. Jakubus, J. Kostrzewa, A. Białkowska, M. Kisiel, Š. Dvořáková, W. Frącz, I. Zarzyka, Bio-based poly(3-Hydroxybutyrate) and Polyurethane Blends: Preparation, Properties Evaluation and Structure Analysis, *Materials*, 2025, 18, 1914. <https://doi.org/10.3390/ma18091914> [IF = 3,1]

W tej pracy w celu modyfikacji właściwości P3HB zastosowałam termoplastyczny poliuretan uzyskany w reakcji glikolu polipropylenowego o masie molowej 400 g (PPG400) z MDI (rys. 41). Zbadałam wpływ obecności i ilości poliuretanu na mieszalność składników, morfologię, chropowatość powierzchni, właściwości termiczne i mechaniczne biokompozycji polimerowych.

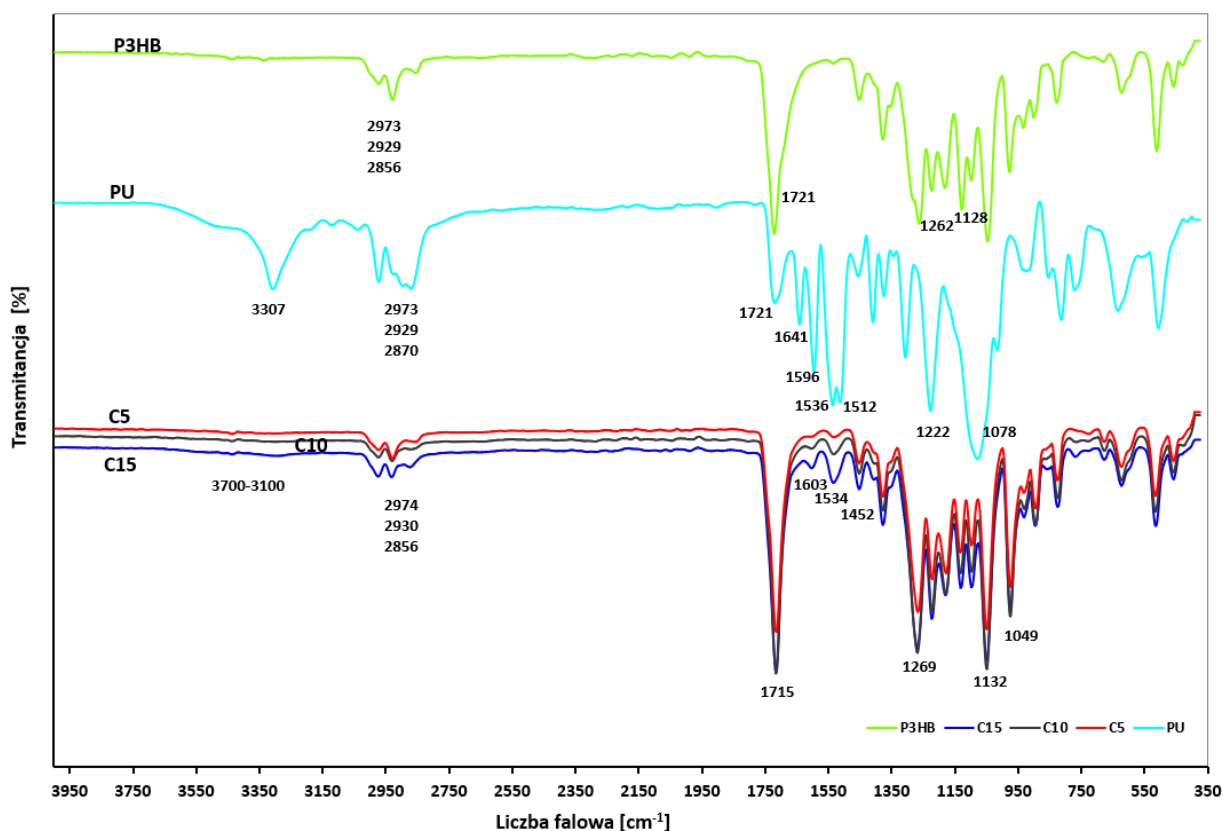


gdzie: $m \approx 7$, $n \approx 27$

Rysunek 41. Schemat syntezy poliuretanów liniowych z udziałem MDI i PPG400

Biokompozycje polimerowe zawierające w swoim składzie P3HB oraz modyfikator, w postaci poliuretanu liniowego, w ilości 5, 10 i 15% mas. (oznaczone odpowiednio jako C5, C10 i C15) wytworzone zostały metodą mieszania w stanie stopionym za pomocą wyciarkarki. Przeprowadziłam charakterystykę FT IR wytworzonych biokompozycji w celu zbadania możliwych oddziaływań między składnikami [222]. Widma FT IR otrzymanych kompozycji polimerowych P3HB-PU porównałam z widmami FT IR P3HB i PU na rysunku 42. Widmo FT IR P3HB potwierdza strukturę matrycy [223, 224]. W widmie FT IR PU, pasmo drgań walencyjnych wiązania N-H z grupy uretanowej (-NH-COO-) występuje w zakresie $3600 - 3100 \text{ cm}^{-1}$. Drgania walencyjne wiązania C-H grup metylenowych, metylowych i metinowych PU obrazuje szerokie pasmo przy $2973, 2930$ i 2870 cm^{-1} , podczas gdy pasmo drgań wiązań C-H pierścienia fenyłowego jest widoczne przy ok. 3039 cm^{-1} . Pasma drgań wiązania C=O grupy uretanowej -NH-COO- obserwuje się przy 1720 cm^{-1} , a charakterystyczne pasmo drgań deformacyjnych wiązania N-H poliuretanu pojawiło się przy 1596 cm^{-1} . Dodatkowo charakterystyczne pasma szkieletowe pierścienia aromatycznego są widoczne przy $1641, 1536, 1512$ i 1475 cm^{-1} . Pasma

asymetrycznych i symetrycznych wiązań C-O i C-N grup -NH-COO- są widoczne przy 1227 i 1078 cm^{-1} [225]. Widma kompozycji różnią się pod względem intensywności i zakresów pasm w porównaniu do widm czystego poliestru (P3HB) i modyfikatora PU.

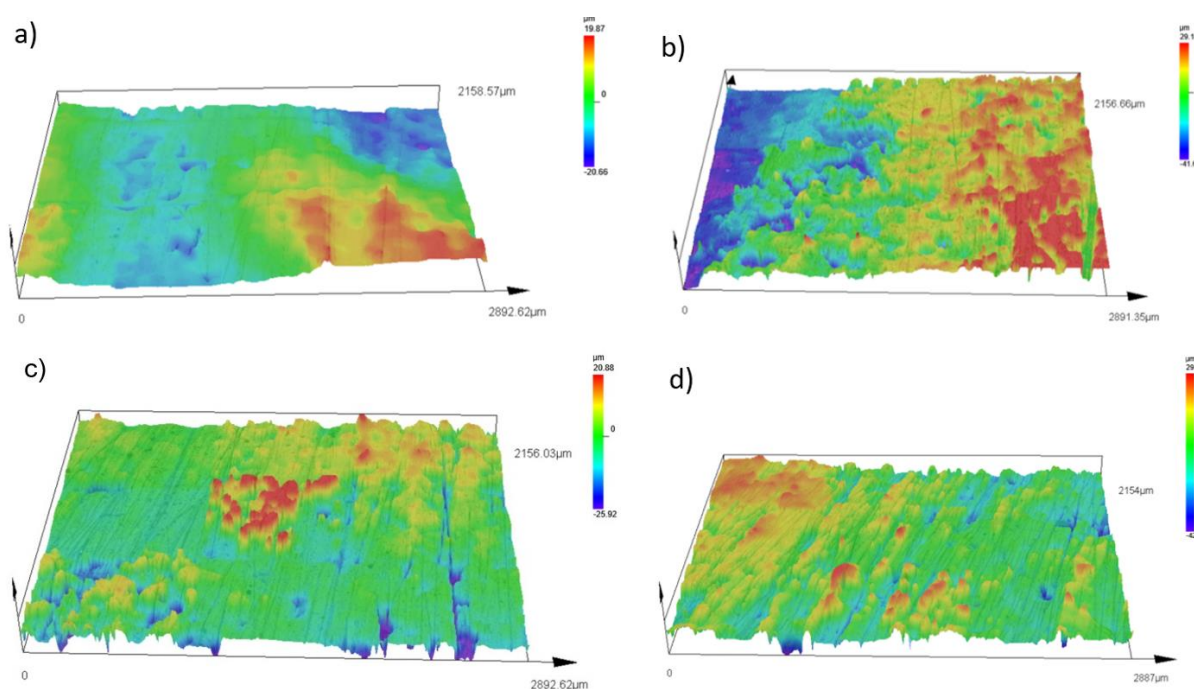


Rysunek 42. Widma FT IR P3HB, PU i kompozycji polimerowych P3HB-PU zawierających: 5, 10 i 15 % mas. PU oznaczonych jako C5, C10 i C15

W widmach FT IR wszystkich biokompozycji P3HB-PU (rys. 42) zaobserwuje się szerokie, rozmyte pasmo o niskiej intensywności w zakresie 3700-3100 cm^{-1} , intensywność tego pasma wzrasta wraz ze wzrostem zawartości PU w kompozycjach. Obecność tego pasma potwierdza występowanie wiązań wodorowych międzycząsteczkowych pomiędzy składnikami biokompozycji. Natomiast pasma w zakresie 2800-3000 cm^{-1} wykazują zmienną intensywność, w zależności od ilości PU w kompozycji. Pasma przy 1715 cm^{-1} pochodzą od rozciągających drgań wiązań C=O z grupy karbonylowej P3HB i grupy -NH-COO- modyfikatora PU. Pasma grupy karbonylowej zostało przesunięte do niższych wartości liczb falowych z 1721 cm^{-1} dla czystych składników do 1715 cm^{-1} . Zaobserwowane przesunięcie można przypisać wytworzeniu wiązań wodorowych, a obecność jednego pasma grup C=O przy niższych wartościach liczb falowych wskazuje, że wszystkie grupy C=O są najwyraźniej połączone wiązaniami wodorowymi [226]. Intensywność pasma przy 1715 cm^{-1} jest zmienna i zależy od ilości PU w kompozycji, przy czym najwyższą intensywność wykazuje kompozycja zawierająca 10% mas. PU. Sugeruje to, że specyficzne oddziaływania były najbardziej widoczne w próbce modyfikowanej 15% mas. PU.

Pasmo drgań zginających wiązań uretanowych N-H w zakresie liczbie falowej $1680\text{--}1580\text{ cm}^{-1}$ charakteryzuje się zmienną intensywnością i multipletowością ze względu na tworzenie się międzycząsteczkowych wiązań wodorowych między P3HB i PU [227, 202]. Zidentyfikowano charakterystyczne pasma asymetryczne i symetryczne pasma drgań C-O estrów i uretanów przy liczbach falowych 1269 cm^{-1} , 1132 cm^{-1} i 1049 cm^{-1} . Analiza widmowa FT IR wytworzonych biokompozycji polimerowych i ich składników potwierdziła oddziaływanie między PU a matrycą P3HB za pomocą wiązań wodorowych, co wskazuje, że modyfikator PU skutecznie wszedł w interakcję z P3HB, wpływając na właściwości powstałych biokompozycji.

W ramach przeprowadzonych badań przeanalizowana została topografia powierzchni natywnego P3HB i jego kompozycji polimerowych z dodatkiem PU celem określenia wpływu obecności PU na strukturę powierzchni materiałów i zmiany chropowatości w zależności od stężenia dodatku. Wyniki pomiarów topografii powierzchni zostały przedstawiona na rysunku 43 i 44. Powierzchnia próbki P3HB (rys. 43a) jest stosunkowo gładka, z małym zakresem chropowatości od ~ -20 do $\sim 20\text{ }\mu\text{m}$ oznaczającym minimalne zaburzenia strukturalne i jednorodną powierzchnię.

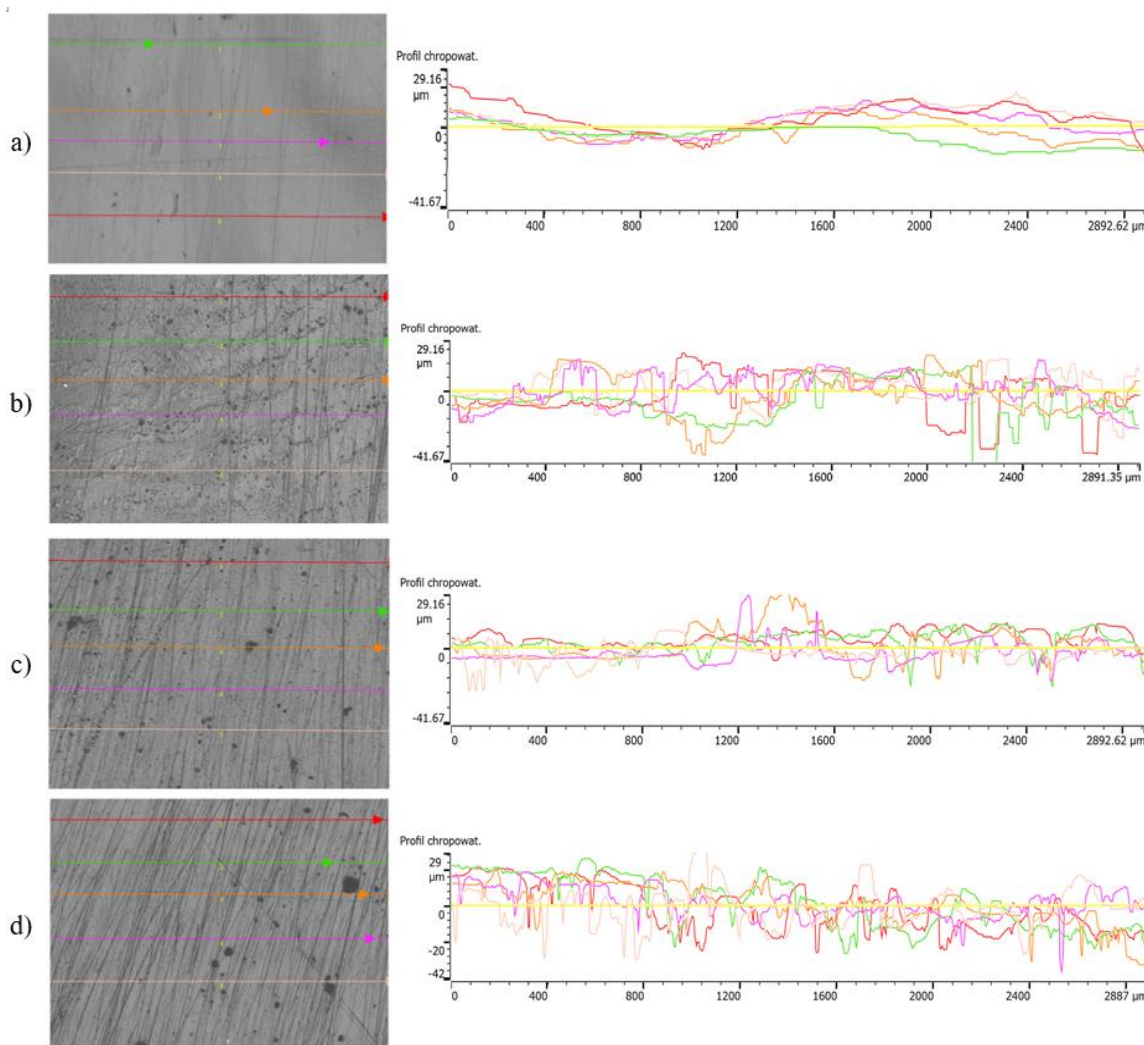


Rysunek 43. Topografia powierzchni próbek: a) P3HB; i jego biokompozycji z PU zawierających 5, 10 i 15 % mas. PU oznaczone odpowiednio: b) C5; c) C10 i d) C15

Dodatek 5% mas. PU (C5, rys. 43b) prowadzi do znacznego wzrostu chropowatości, z zakresem chropowatości od ~ -40 do $\sim 30\text{ }\mu\text{m}$. Obserwuje się wyraźne wypukłości i zagłębienia, wskazujące na intensywne zaburzenia powierzchni. Może to być spowodowane niejednorodnym rozkładem PU w matrycy P3HB, co prowadzi do lokalnych naprężeń strukturalnych. W próbce C10 (rys. 43c), zawierającej 10% mas. PU, topografia powierzchni wykazuje pewne wygładzenie

w porównaniu do C5. Zakres chropowatości mieści się wynosi ~ -26 do $20\ \mu\text{m}$, co sugeruje częściową stabilizację struktury. Może to być spowodowane lepszą kompatybilnością P3HB i PU przy tej zawartości modyfikatora, co zmniejsza występowanie ostrych nieregularności powierzchniowych. Próbką C15 (rys. 43d), zawierająca 15% mas. PU, ponownie wykazuje większy zakres nieregularności (~ -40 do $\sim 30\ \mu\text{m}$), ale struktura powierzchni wydaje się bardziej regularna i jednorodna w porównaniu do C5. Może to sugerować, że wyższa zawartość PU prowadzi do bardziej równomiernego rozłożenia fazy poliuretanowej, co zmniejsza lokalne naprężenia i skutkuje bardziej spójną strukturą powierzchni.

Chropowatość powierzchni próbek badanych materiałów zmierzona została w pięciu wyznaczonych kierunkach, jak pokazano na fotografiach próbek na rysunku 44, który przedstawia również profile chropowatości.



Rysunek 44. Powierzchnia analizowanych materiałów: a) P3HB; i jego biokompozycji z PU zawierających 5, 10 i 15 % mas. odpowiednio: b) C5; c) C10 i d) C15, wraz z liniami wyznaczającymi miejsca pomiarów chropowatość oraz profilami chropowatości

W tabeli 25 zestawione zostały parametry chropowatości powierzchni próbek P3HB i jego kompozycji z różną zawartością PU. Próbki P3HB wykazują stosunkowo niskie wartości

parametrów chropowatości i stanowią punkt odniesienia do porównania z próbkami modyfikowanymi PU. Wartości R_a i R_q sugerują, że powierzchnia jest stosunkowo gładka, a wysoka wartość R_{sm} wskazuje na dużą odległość między szczytami chropowatości. W przypadku próbek C5 zawierających 5% mas. PU następuje znaczny wzrost wszystkich parametrów chropowatości. Wzrosty R_v i R_z są szczególnie wyraźne, co wskazuje na większe głębokości dolin i wyższe wysokości chropowatości. Próbki P3HB zmodyfikowanego 10% mas. PU, wykazują wartości parametrów chropowatości wyższe niż w przypadku P3HB niemodyfikowanego, ale niższe niż w przypadku próbek C5. Wzrosty te są szczególnie widoczne w przypadku parametrów R_p , R_v i R_z , co sugeruje umiarkowany wzrost chropowatości powierzchni. W przypadku modyfikacji P3HB 15% mas. PU wyniki pokazują dalszy wzrost chropowatości w porównaniu z próbkami P3HB i C10, ale nie osiągają ekstremalnego poziomu, jak w przypadku C5. Średnia odległość między szczytami (R_{sm} , $R_{(sm)}$, R_{sm}) jest najniższa w tej grupie, co sugeruje bardziej regularną i gęstą strukturę chropowatości.

Najbardziej znaczący wzrost parametrów chropowatości przy udziale 5% mas. PU wskazuje na najsilniejszy wpływ tej ilości dodatku na strukturę powierzchni. Wzrost udziału PU w kompozycji polimerowej powoduje wzrost parametrów chropowatości powierzchni, ale nie jest to wzrost liniowy. Wartości R_v i R_z są szczególnie wrażliwe na zmiany, co może mieć kluczowe znaczenie w zastosowaniach wymagających określonych właściwości powierzchni. Wartość R_{sm} maleje wraz ze wzrostem ilości modyfikatora poliuretanowego, co wskazuje na bardziej regularną i gęstą strukturę chropowatości przy wyższej zawartości modyfikatora.

Tabela 25. Parametry chropowatości P3HB; i jego biokompozycji z PU zawierających 5, 10 i 15 % mas. PU

Materiał	R_p [μm]	R_v [μm]	R_z [μm]	R_c [μm]	R_a [μm]	R_q [μm]	R_{sm} [μm]
P3HB	11,0	10,1	21,2	15,9	4,6	5,4	1400,9
C5	20,6	35,7	56,3	25,0	9,1	11,7	348,9
C10	18,0	20,3	38,3	15,2	4,2	5,9	312,5
C15	19,2	30	49,4	21,6	6,4	8,4	221,8

R_a - Średnia arytmetyczna chropowatości; najczęściej używany parametr mierzący średnią wartość bezwzględną odchylenia profilu od linii środkowej w danym przekroju. R_a daje ogólną ocenę chropowatości powierzchni.

R_z - Maksymalna wysokość profilu; suma wysokości najwyższego szczytu i najgłębszej doliny w przekroju. R_z jest bardziej wrażliwy na pojedyncze duże nieregularności niż R_a .

R_p - Średnia wysokość szczytu; średnia wysokość szczytów powyżej linii środkowej.

R_v - Średnia głębokość dolin; średnia głębokość dolin poniżej linii środkowej.

R_{sm} - Szerokość profilu chropowatości; Jest to średnia odległość między sąsiednimi szczytami chropowatości.

R_q - Średnie odchylenie kwadratowe; pierwiastek kwadratowy średniej kwadratu wartości $Z(x)$ w obrębie odcinka próbkowania.

R_c - Średnia wysokość; średnia wartość wysokości elementów profilu mierzonych na odcinku próbkowania.

Jednocześnie z analizą topografii powierzchni przeprowadzono analizę kąta zwilżania w celu oceny wpływu mikrostruktury na zwilżalność powierzchni. Powierzchnia P3HB wykazuje

średni kąt zwilżania 72,14°, co wskazuje na jej hydrofilową naturę. Gładka i jednorodna struktura P3HB ogranicza adsorpcję cieczy, przyczyniając się do wysokiej stabilności zwilżalności. Dodanie 5% mas. PU spowodowało znaczny wzrost chropowatości powierzchni, widoczny jako wyraźne nieregularności i wypukłości, a średni kąt zwilżania wyniósł 54,13°. Sugeruje to zwiększoną hydrofilowość w porównaniu z P3HB. Wyraźne nieregularności w topografii powierzchni mogą wynikać z nierównomiernej dyspersji PU, co prowadzi do lokalnych zmian w rozkładzie energii powierzchniowej (tab. 26).

Tabela 26. Wpływ składu biokompozycji polimerowych P3HB - PU na kąt zwilżania i charakterystykę powierzchni

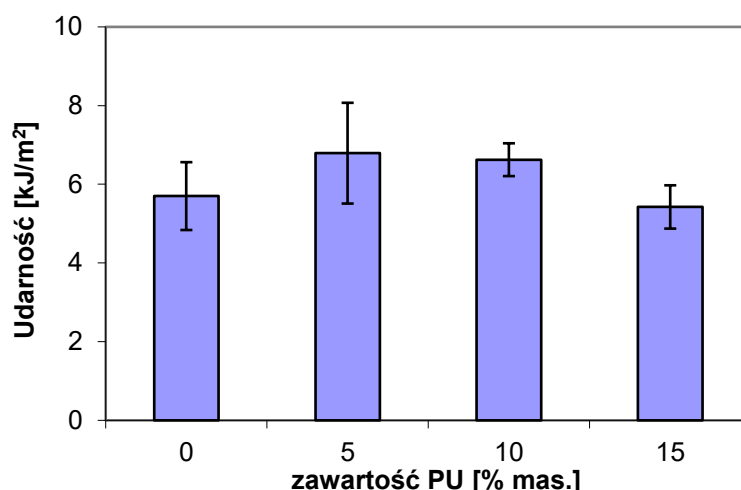
Materiał	Średni kąt zwilżania [°]	Charakterystyka powierzchni
P3HB	72,14	Gładka, jednorodna struktura
C5	54,13	Wysoka szorstkość, wyraźne nierówności
C10	58,17	Umiarkowana szorstkość, bardziej zrównoważona tekstura
C15	62,23	Większa jednorodność, bardziej stabilna powierzchnia

Właściwości chemiczne PU, w tym obecność grup karbonylowych i hydroksylowych, mogą promować interakcje z wodą, dodatkowo zwiększając zwilżalność. W przypadku próbki C10 średni kąt zwilżania wyniósł 58,17°. Chropowatość powierzchni była nadal znaczna, ale wykazywała bardziej zrównoważony wzór w porównaniu z próbką C5. Wzrost stężenia PU doprowadził do częściowej homogenizacji powierzchni, prawdopodobnie z powodu lepszej zgodności fazowej między PU i P3HB. Stabilizację kąta zwilżania można wyjaśnić zwiększoną liczbą oddziaływań wiązań wodorowych między PU i P3HB, zmniejszając kontrast między powierzchniami hydrofilowymi i hydrofobowymi. Najwyższa zawartość PU (15 % mas.) spowodowała dalszy wzrost kąta zwilżania do 62,23°. Analiza topograficzna wykazała większą jednorodność powierzchni, z mniejszą liczbą wyraźnych wypukłości i zagłębień niż w próbkach C5 i C10 (tab. 26). Poprawiona dyspersja PU może wynikać z większej liczby oddziaływań międzycząsteczkowych, takich jak wiązania wodorowe między segmentami uretanowymi i poliestrowymi stabilizującymi strukturę powierzchni i wpływając na wzrost jej hydrofobowości.

Związek między chropowatością powierzchni a kątem zwilżania wskazuje, że mikrostrukturalne nieregularności w próbce C5 doprowadziły do zmniejszenia kąta zwilżania, co można wyjaśnić lokalnym wzrostem energii powierzchniowej z powodu agregacji PU. Natomiast wyższa zawartość PU (C10 i C15) stabilizowała powierzchnię, zmniejszając jej niejednorodność i prowadząc do umiarkowanego wzrostu hydrofobowości. Chemicznie efekt ten można wyjaśnić zmianami w sieci wiązań wodorowych i różnicami w rozkładzie segmentów hydrofilowych i hydrofobowych. Przy niższych stężeniach PU (C5) dominowały oddziaływania hydrofilowe ze względu na obecność polarnych grup uretanowych. Przy wyższych stężeniach PU (C15) zwiększona liczba segmentów hydrofobowych z PU doprowadziła do większej hydrofobowości i bardziej stabilnej powierzchni. Te ustalenia są szczególnie istotne dla zastosowań w inżynierii

biomedycznej i powłokach ochronnych, gdzie kontrola zwilżalności powierzchni ma kluczowe znaczenie dla interakcji materiału ze środowiskiem.

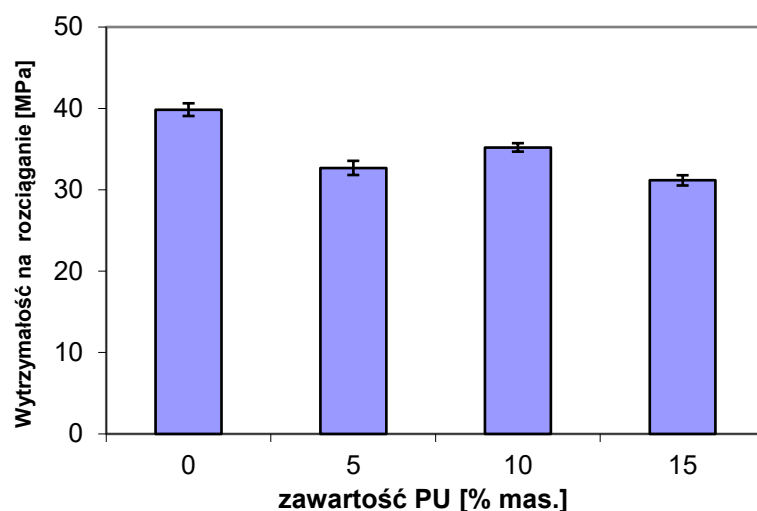
W kolejności zbadałam właściwości mechaniczne uzyskanych kompozycji polimerowych P3HB-PU. Rysunek 45 przedstawia zależność odporności na uderzenia kompozycji w funkcji zawartości PU. Udarność wzrasta wraz ze wzrostem zawartości PU. Maksymalną wartość udarności wykazuje kompozycja zawierająca 5% mas. PU (C5); wyższą o ok. 20% od udarności P3HB. Spadek udarności przy wyższej zawartości PU można tłumaczyć brakiem wystarczających interakcji między P3HB i PU, ale także nasyceniem matrycy modyfikatorem prowadzącym do rozdzielania faz i spadku udarności [202]. Jednak najniższą wartość udarności wykazuje kompozycja uzyskana z udziałem 15% mas. PU i jest ona porównywalna z udarnością P3HB. Poprawę odporności na uderzenia kompozycji P3HB/PU można przypisać tworzeniu się przenikających się sieci polimerowych o dobrej jednorodności i zwiększającej wzmocnienie kompozycji. Taką poprawę wytrzymałości na uderzenia kompozycji P3HB z 5% mas. PU odnotowała również w pracy [D2]. Feng i in. zaobserwowali poprawę wytrzymałości na uderzenia w mieszankach polilaktydu i poliuretanu [228].



Rysunek 45. Wpływ zawartości PU na wytrzymałość na udarności kompozycji polimerowych P3HB-PU

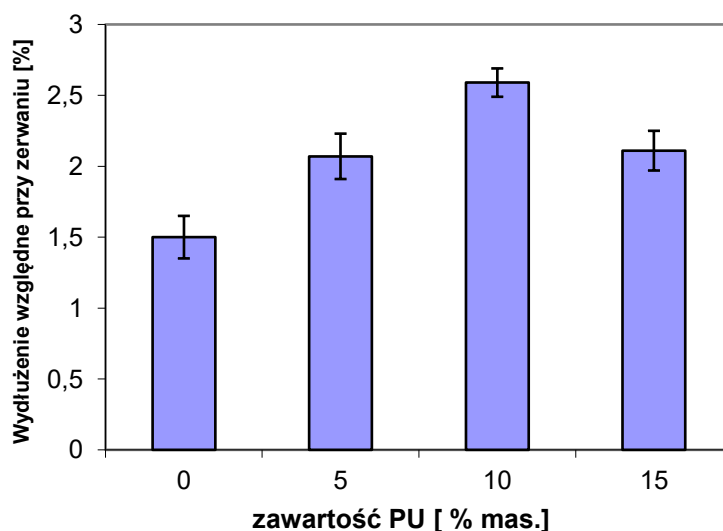
Rysunek 46 obrazuje zależność wytrzymałości na rozciąganie od zawartości PU w kompozycji; i tu obserwuje się nieco inną tendencję zmiany wytrzymałości na rozciąganie w zależności od zawartości PU. Dodanie PU powoduje obniżenie wytrzymałości na rozciąganie ze względu na obecność elastycznych łańcuchów PU. Najwyższą wytrzymałości na rozciąganie (ponad 35 MPa) ma kompozycja zawierające 10 % mas. PU. Zwiększenie zawartości PU do 15% mas. powoduje spadek wytrzymałości na rozciąganie do ok. 31 MPa. Wang i in. [229] wykazali, że wytrzymałość na rozciąganie i moduł sprężystości mieszanek PLA i termoplastycznego PU były wrażliwe na zmianę zawartości PU, a PLA odgrywał dominującą rolę w wytrzymałości na rozciąganie tych kompozycji. Sun i inni wykazali, że mieszalność i kompatybilność między

składnikami kompozycji PHBV z termoplastycznym PU ma znaczący wpływ nie tylko na wytrzymałość na rozciąganie, ale także na inne właściwości użytkowe i przetwarzalność tej kompozycji [230].



Rysunek 46. Wytrzymałość na rozciąganie kompozycji P3HB-PU w funkcji zawartości PU

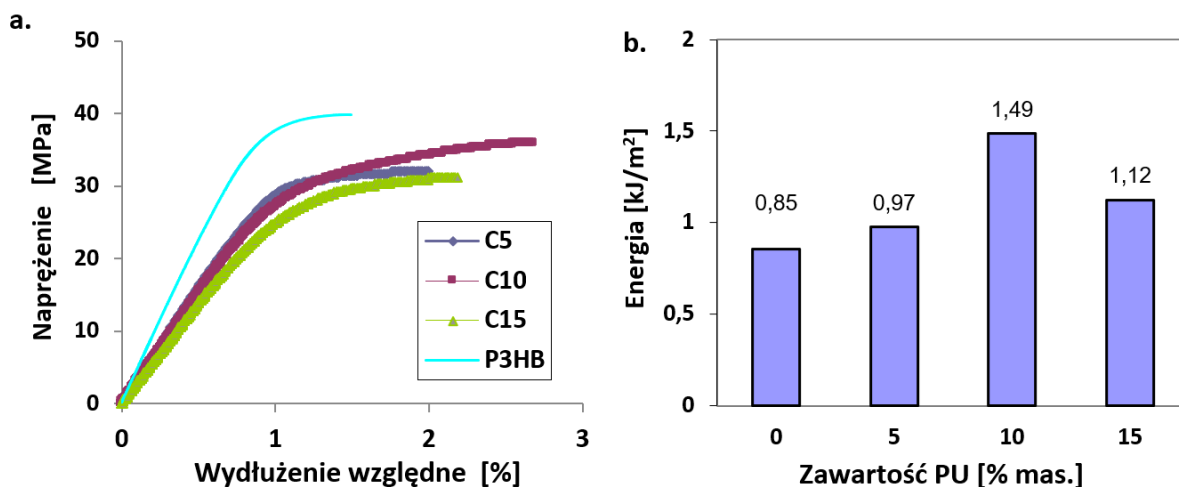
Względne wydłużenie przy zerwaniu (rys. 47) wykazuje odwrotny trend niż wytrzymałość na rozciąganie (rys. 46) i jest wyższe niż natywnego P3HB. Maksymalną wartość obserwuje się również przy dodatku 10% mas. PU. Najwyższa zawartość PU w kompozycji z P3HB powoduje spadek wydłużenia przy zerwaniu, podobnie jak w przypadku kompozycji PLA-PU, jak podali Feng i in. [228].



Rysunek 47. Wpływ zawartości PU na względne wydłużenie przy zerwaniu kompozycji polimerowych P3HB-PU

Jak pokazano na rysunku 48a, krzywe naprężenie-odkształcenie P3HB zawierającego 5-15% mas. PU (C5, C10, C15) są niższe niż w przypadku czystego P3HB. Można zauważyć, że

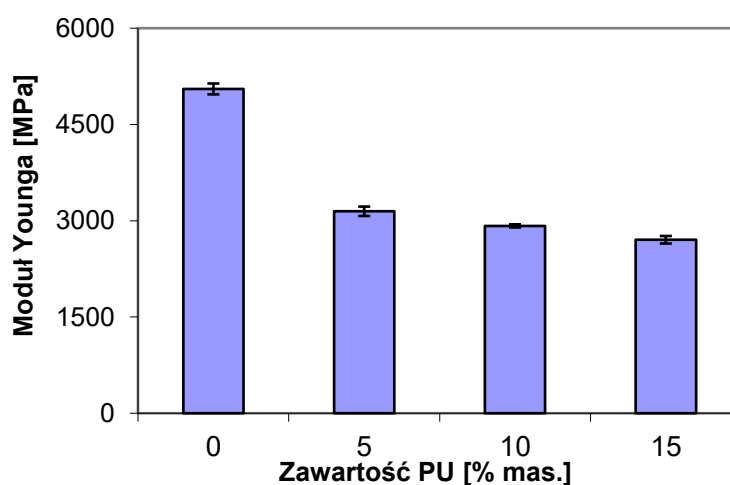
nachylenia krzywych od 0 są również niższe dla mieszanek P3HB/PU niż dla P3HB, co potwierdza wzrost ich elastyczności i ciągliwości.



Rysunek 48. Krzywe naprężenie-odkształcenie dla P3HB oraz jego kompozycji polimerowych z PU (a) i energia do zerwania dla P3HB/PU w funkcji zawartości PU

Energia do zerwania próbek kompozycji (rys. 48b), określona na podstawie obszarów pod różnymi krzywymi, wzrosła dla wszystkich mieszanek zawierających PU. Maksymalną poprawę energii pęknięcia o ~75% w porównaniu z P3HB uzyskano dla kompozycji z 10% mas. PU. Wzrost wydłużenia przy zerwaniu i energii przy zerwaniu można przypisać istnieniu ciągłej i rozproszonej fazy oraz adhezji międzyfazowej [111]. Jednakże Wang i in. [110] wyjaśnili znaczący wzrost wydłużenia przy zerwaniu matrycy poliestrowej ciągliwością i dobrą wytrzymałością PU.

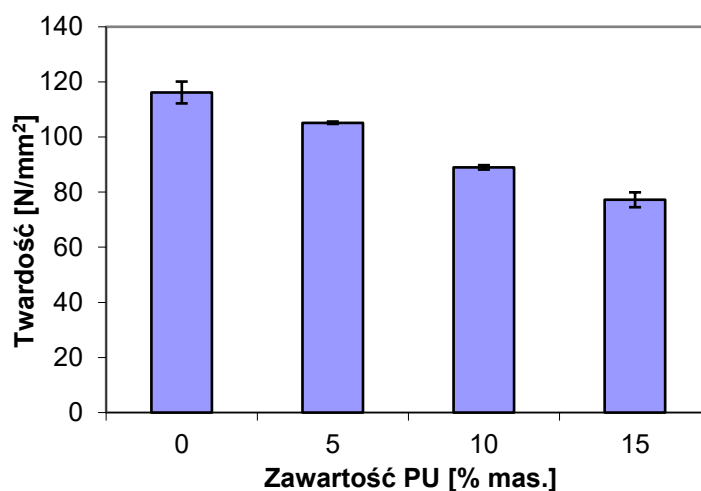
Zaobserwowany został spadek modułu Younga wraz ze wzrostem zawartości PU w matrycy P3HB (rys. 49). Wartość modułu obniżyła się z ok. 3150 MPa przy 5% mas. PU do ok. 2700 MPa przy 15% mas. PU.



Rysunek 49. Wpływ zawartości PU na moduł Younga kompozycji polimerowych P3HB-PU

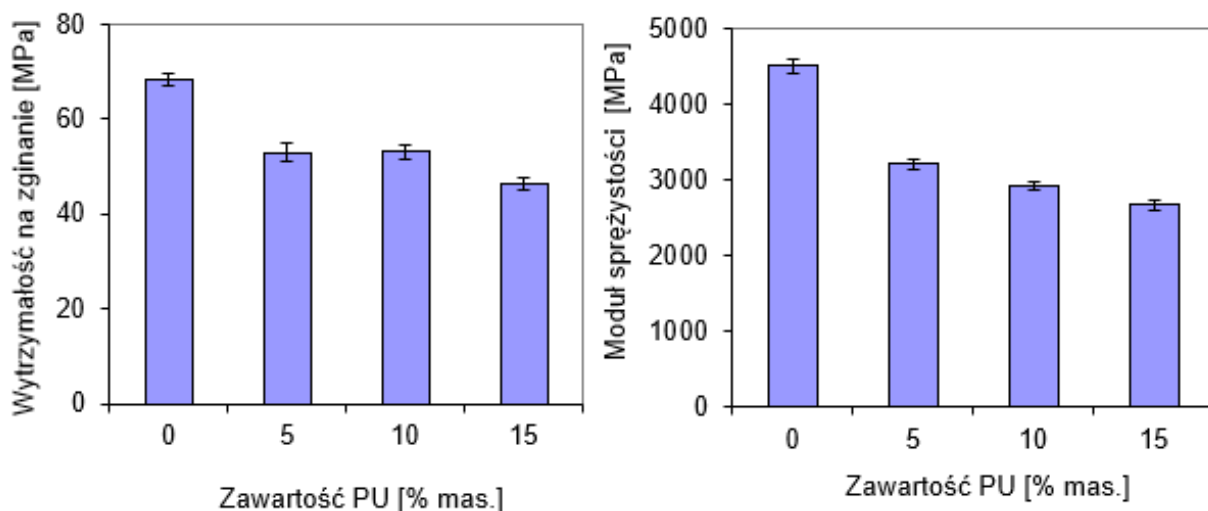
Znaczne zmniejszenie modułu Younga o ok. 40% dla kompozycji zawierającej 5% mas. PU w porównaniu z czystym P3HB można przypisać wzrostowi elastyczności składu wywołanemu przez łańcuchy modyfikatorów poliuretanowych. Ponadto wzrost wolnej objętości w mieszanke może również wyjaśniać spadek modułu, a wraz z nim sztywności mieszanek.

Na rysunku 50 przedstawione zostały wyniki testów twardości badanych materiałów. Zgodnie z oczekiwaniami i zgodnie z tendencją modułu Younga (rys. 49), twardość zmniejszała się wraz ze wzrostem zawartości PU, osiągając najniższą wartość 78 N/mm² dla zawartości modyfikatora 15% mas., co można przypisać wzrostowi elastyczności mieszanek wywołane obecnością łańcuchów termoplastycznego PU.



Rysunek 50. Twardość kompozycji polimerowych P3HB-PU w funkcji zawartości PU

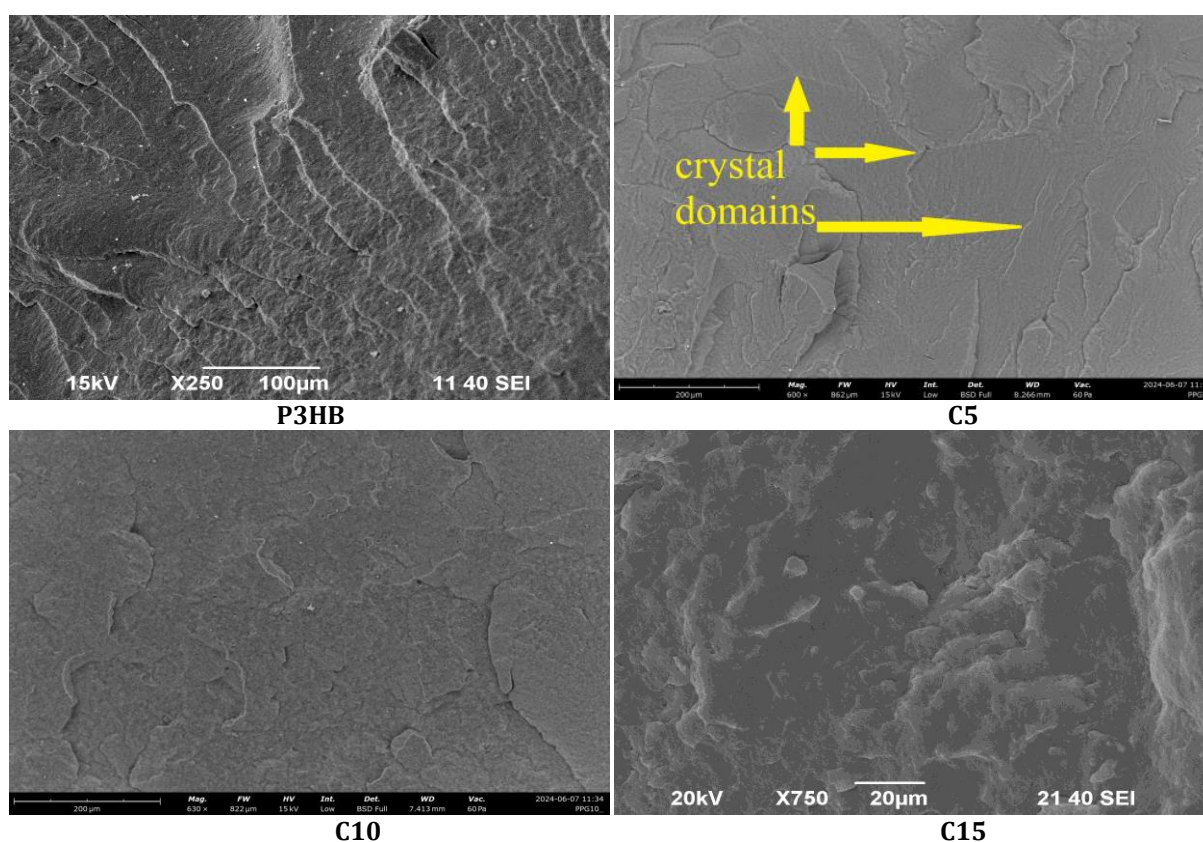
Wytrzymałość na zginanie (rys. 51 a) kompozycji polimerowych wykazała podobną tendencję do modułu sprężystości przy zginaniu (rys. 51 b), ale inną niż wytrzymałość na rozciąganie (rys. 46).



Rysunek 51. Zależność wytrzymałości na zginanie (a) i modułu sprężystości przy zginaniu (b) kompozycji polimerowych P3HB-PU od zawartości PU

Wytrzymałość na zginanie zmniejszyła się z 67 MPa dla czystego P3HB do ok. 53 MPa dla kompozycji zawierających 5 i 10 % mas. PU oraz 46 MPa w wypadku kompozycji z 15% mas. PU. Podobne zjawisko obniżenia niektórych właściwości wytrzymałości mechanicznej odnotowano dla mieszanek polimerowych P3HB/PCL [231] i P3HB/PLA [232], a zmniejszenie wytrzymałości na zginanie przypisano tworzeniu się dwóch faz o słabej mieszalności [232].

Wyjaśnienia mechanizmu interakcji poliuretanu z poliestrem determinującego właściwości mechaniczne badanych biokompozycji polimerowych dokonałam na podstawie pomiarów SEM. Mikrografie powierzchni przełamów P3HB i jego kompozycji zawierających różne ilości PU (5 % mas., 10 % mas. lub 15% mas. oznaczone odpowiednio jako C5, C10 i C15) przedstawione zostały na rys. 52.



Rysunek 52. Mikrografie SEM P3HB i jego kompozycji z PU w ilości: 5, 10, 15% masowych oznaczonych jako C5, C10 i C15

Czysty P3HB ma strukturę semikrystaliczną, która jest związana ze budową makrocząsteczki. Na rysunku 52 widoczne są obszary kruchego pękania, które ułożone są niemal jednokierunkowo. Wprowadzenie modyfikatora poliuretanowego powoduje widoczne zaburzenie ciągłości struktury matrycy P3HB, co zakłóca krystalizację P3HB. Szorstkie, jednokierunkowo ułożone domeny krystaliczne są obecne na wszystkich mikrografiach kompozycji zawierających PU. Krystalizacja między makrocząsteczkami PU jest utrudniona z przyczyn sferycznych. PU ma dwa duże pierścienie aromatyczne oddzielone grupą metylenową.

Domeny widoczne na mikrografiach nie mogą pochodzić od samego PU; nie mogą pochodzić również od samego P3HB, ponieważ nie występują na mikrografii natywnego P3HB. Wskazuje to na interakcję matrycy biopolimerowej z modyfikatorem poliuretanowym skutkującą rozprzestrzenianiem się oddziałujących łańcuchów P3HB i tworzeniem szorstkich domen poprzedzonych falistymi obszarami matrycy. Liniowy, przestrzennie mały łańcuch P3HB oddziałuje poprzez wiązania wodorowe grup karbonylowych C=O z grupami N-H z PU. Powoduje to tworzenie uporządkowanych adduktów między P3HB i PU. Szkliste przeploty charakterystyczne dla P3HB są zatem rozdzielone przez krystaliczne obszary utworzonych adduktów. Zwiększona ilość PU powoduje ich nierównomierne rozmieszczenie w matrycy z dużym prawdopodobieństwem wytworzenia dodatkowych uporządkowanych domen między łańcuchami samego modyfikatora. Obserwuje się zauważalne rozplątywanie szklistych przełomów charakterystycznych dla P3HB, które są rozdzielone przez krystaliczne obszary pochodzące od PU z fragmentami falistej struktury. Ich obecność wyjaśnia efekt uelastyczniający PU. Wyjaśnia to zmniejszenie twardości i wzrost wytrzymałości mieszanek modyfikowanych PU. Jednakże wprowadzenie 5% mas. i 10% mas. PU (C5 i C10) powoduje równomierne przerwanie ciągłości matrycy P3HB, a większa ilość PU (15% mas.) implikuje wyżej wymienione występowanie nierównomiernie rozłożonych obszarów chropowatości. Wyjaśnia to poprawę omawianych właściwości mechanicznych mieszanek zawierających 5% mas. (C5) i 10% mas. (C10) Pogorszenie właściwości biokompozycji zawierającej największe, tj. 15% mas. (C15) ilości modyfikatora PU. W kompozycji C15 następuje niekorzystna aglomeracja PU, a obszary chropowatości są rozmieszczone inaczej i nierównomiernie. Na zdjęciu SEM kompozycji C10 zawierającej 10% mas. PU można zaobserwować najbardziej równomierne zaburzenie ciągłości struktury P3HB w postaci domen krystalicznych, co wyjaśnia najlepsze właściwości mechaniczne tej kompozycji polimerowej.

Analiza termogravimetryczna biokompozycji wykazała wyższą stabilność termiczną biokompozycji w porównaniu do niemodyfikowanego P3HB, jak pokazują wyniki zestawione w tabeli 27. Temperatura początku rozkładu (T_{on}) biokompozycji polimerowych zawierających 5 i 10% mas. PU jest wyższa o prawie 30°C od temperatury czystego P3HB, a biokompozycji C15 o 23°C.

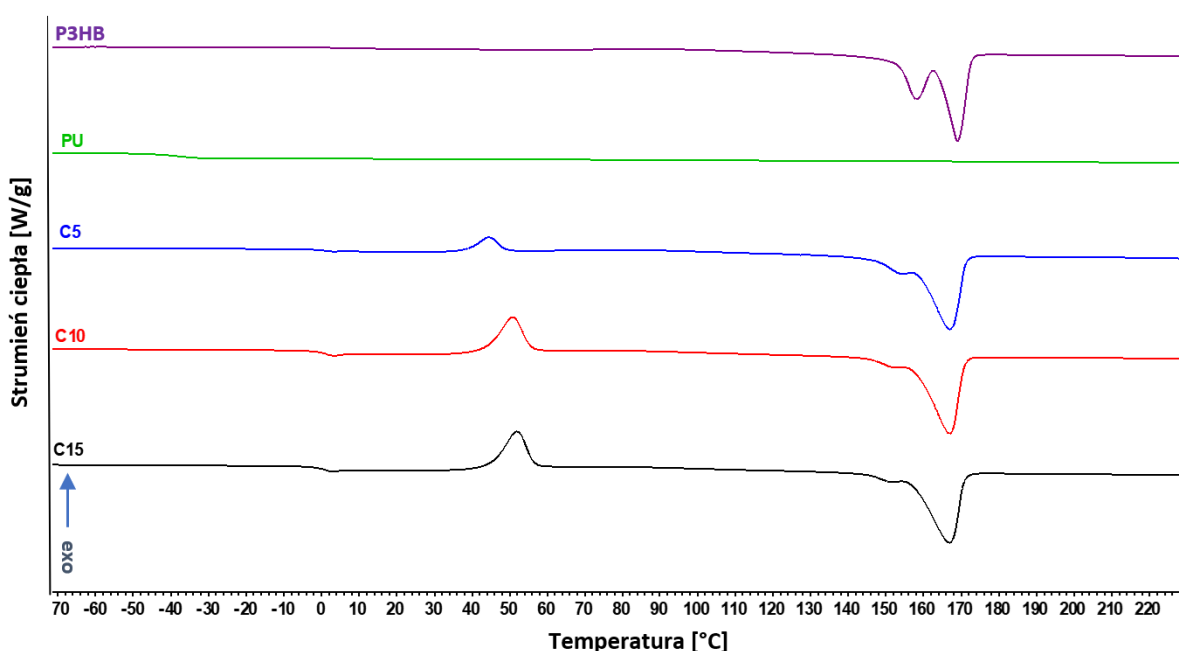
Tabela 27. Interpretacja krzywych TG i DTG natywnego P3HB i jego biokompozycji z PU podczas ogrzewania z szybkością 5°C min⁻¹ w atmosferze azotu

Materiał	T_{on} [°C]	$T_{5\%}$ [°C]	$T_{10\%}$ [°C]	$T_{50\%}$ [°C]	T_{max} [°C]	Pozostałość w 600 °C [%]
P3HB	221,1	236,2	245,6	281,2	291,7	1,41
C5	250,2	271,9	277,1	290,0	293,4	1,33
C10	251,2	275,2	281,5	295,2	293,7	1,52
C15	244,0	273,3	280,5	283,8	292,2	1,58

T_{on} - temperatura początku rozkładu, $T_{x\%}$ - temperatura x % ubytku masy, T_{max} - temperatura najszybszego rozkładu

Temperatury odpowiadające 5 i 10 % ubytkom masy biokompozycji polimerowych C5, C10 i C15 przedstawione w tabeli 27 są również znacząco wyższe w porównaniu do czystego PH3B. Wzrost temperatury degradacji wynika z obecności bardziej stabilnego termicznie składnika. Podobny efekt zaobserwowano w przypadku PHBV i termoplastycznego poliuretanu [110] lub poliamidu i P3HB [60].

Jakościowa analiza termiczna biokompozycji polimerowych metodą DSC pozwoliła zidentyfikować obszar zeszklenia, zimnej krystalizacji i topnienia podczas ogrzewania jak zobrazowano na rysunku 53.



Rysunek 53. Krzywe DSC P3HB, PU i kompozycji polimerowych zawierających 5, 10 i 15% mas. PU (odpowiednio C5, C10 i C15) podczas ogrzewania z szybkością $10^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ po wcześniejszym schłodzeniu z tą samą szybkością

Wyniki pomiarów czystego P3HB, PU i ich kompozycji zestawiono w tabeli 28. PU wykazał obszar zeszklenia i bardzo mały obszar topnienia, co wskazuje, że jest on materiałem semikrystalicznym, podobnie jak P3HB, przy czym obszar topnienia jest w wypadku P3HB bardzo wyraźny.

Tabela 28. Wyniki pomiarów DSC P3HB, PU i ich kompozycji C5, C10 i C15 zawierających odpowiednio 5, 10 i 15% mas. PU uzyskane podczas ogrzewaniu próbek z szybkością $10^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ po wcześniejszym schłodzeniu z tą samą szybkością

Materiał	T_g [°C]	ΔC_p [$\text{J} \cdot \text{g}^{-1} \cdot ^{\circ}\text{C}^{-1}$]	T_{cc} [°C]	ΔH_{cc} [$\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$]	T_{m1} [°C]	T_{m2} [°C]	ΔH_f [$\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$]	T_c [°C]	ΔH_c [$\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$]
P3HB	5,5	12,73	89,9	-0,41	157,5	167,8	8,38	85,7	-6,76
PU	-38,7	348,5	-----	----	131,6	----	0,26	44,3	-0,26
C5	-0,5	18,43	44,5	-2,72	152,9	165,3	7,73	66,7	-4,99
C10	-0,6	39,01	50,9	-5,27	150,9	165,4	7,63	58,4	-2,34
C15	-0,9	41,95	52,1	-5,57	150,4	165,3	7,55	63,7	-1,97

Wprowadzenie PU powoduje obniżenie T_g kompozycji polimerowych w porównaniu do T_g P3HB. Zwiększenie ilości dodanego PU ma bardzo ograniczony wpływ na wartości T_g kompozycji. Temperatury zeszklenia wszystkich biokompozycji polimerowych są podobne i mieszczą się w zakresie od $-0,5$ do $0,9^\circ\text{C}$, więc różnice można uznać za nieistotne. Obniżenie temperatury zeszklenia wskazuje na efekt plastyfikujący PU. Podobną zależność zaobserwowali Wang i in. [176], gdy P3HB był plastyfikowany o-ftalanem dioktylu, sebacynianem dioktylu, czy acetylocytrynianem tributylu.

Zwiększenie zawartości PU jest jednak ważne w przypadku rozważań dotyczących krystaliczności. W przypadku kompozycji C5 z 5% mas. PU, próbka ma większą tendencję do tworzenia stanu krystalicznego podczas chłodzenia. Świadczy o tym zarówno entalpia krystalizacji ΔH_c , jak i zmiana ciepła właściwego ΔC_p w procesie zeszklenia (im wyższe ΔC_p , tym większy udział fazy amorficznej) (tab. 28). Im większa zawartość PU w kompozycji tym mniejsza entalpia krystalizacji podczas chłodzenia. Wprowadzenie PU sprawia, że podczas procesu ogrzewania obserwuje się proces zimnej krystalizacji kompozycji polimerowej. Zwiększenie zawartości PU powoduje wzrost entalpii zimnej krystalizacji, ale nie obserwuje się istotnej różnicy w procesie zimnej krystalizacji pomiędzy próbkami C10 i C15.

PU wykazuje bardzo mały obszar topnienia w temperaturze ok. 130°C , którego nie obserwuje się w kompozycjach. Proces topnienia kompozycji P3HB-PU charakteryzują niższe wartości entalpii topnienia ΔH_f , tym niższe im większa zawartość PU. Temperatura topnienia kompozycji polimerowych ulega przesunięciu do niższych wartości w porównaniu do temperatury topnienia P3HB. Jest to typowe zachowanie kompozycji polimerowych P3HB, które zostało również zaobserwowane przez Garcia-Garcia jako spadek temperatury topnienia dla mieszanek P3HB i PCL [101]. Obniżenie temperatury topnienia i wzrost temperatury degradacji biokompozycji polimerowych poszerza temperaturowe okno ich przetwarzania, najbardziej do 100°C w wypadku 10% mas. dodatku PU.

Podsumowując wytworzyłam nowe biokompozycje polimerowe P3HB i termoplastycznego poliuretanu zsyntetyzowanego w reakcji 4,4'-difenyloketanu diizocyjanianu z glikolem propylenowym o masie molowej 400 g, których interakcje poprzez tworzenie międzycząsteczkowych wiązań wodorowych potwierdziłam metodą FT IR. Zbadałam topografię, chropowatość i kąt zwilżania powierzchni wytworzonych biokompozycji polimerowych; najsilniejszy wpływ na strukturę powierzchni ma dodatek 5 % mas. PU. Badania morfologii potwierdziły uelastyczniający wpływ poliuretanu wyjaśniający spadek twardości i wzrost udurości, zwłaszcza kompozycji zawierających 5 i 10% masowych PU. Wykazałam pozytywny wpływ zwłaszcza 5 i 10 % mas. dodatku PU na wzrost temperatury degradacji kompozycji polimerowych i obniżenie temperatury topnienia i poszerzenie okna przetwarzania.

6. PODSUMOWANIE I WNIOSKI

W pracy otrzymano nowe kompozycje polimerowe i hybrydowe nanobiokompozyty na osnowie kwasu poli(3-hydroksymasłowego) z udziałem termoplastycznych poliuretanów jako modyfikatorów i organicznie modyfikowanego montmorylonitu jako nanododatku.

Zbadano wpływ rodzaju izocyjanianu i długości łańcucha diolu w stosowanym poliuretanie na właściwości uzyskiwanych kompozycji polimerowych. Poliuretany otrzymano z udziałem alifatycznych i aromatycznych diizocyjanianów, tj. 1,6-diizocyjanianu heksametylenu i 4,4'-diizocyjanianu difenylometanu i krótkołańcuchowego diolu oraz polioli o różnych długościach łańcucha tj. glikoli polietylenowych i glikolu polipropylenowego.

Wprowadzenie poliuretanu w ilości 5, 10, 15 i 20 % mas. do matrycy poliestrowej skutkowało wytworzeniem zwykle mieszalnych blend polimerowych charakteryzujących się pojedynczą temperaturą zeszklenia i oddziałujących ze sobą poprzez wytworzenie wiązań wodorowych grup uretanowych i estrowych. Lepszą mieszalnością charakteryzują się blendy wytwarzane z udziałem poliuretanów alifatycznych. Użycie poliuretanów aromatycznych na bazie 4,4'-diizocyjanianu difenylometanu skutkuje zmniejszeniem mieszalności, a zastosowanie glikoli polipropylenowych do wytworzenia poliuretanu jeszcze ten efekt pogłębia.

Zaobserwowano plastyfikujący wpływ poliuretanu skutkujący poprawą właściwości mechanicznych nowych biokompozycji polimerowych w porównaniu z natywnym P3HB. Biokompozycje polimerowe charakteryzowały się istotnym wzrostem udarności i obniżeniem twardości, przy akceptowalnym spadku wytrzymałości na rozciąganie. Zastosowanie poliuretanów aromatycznych na bazie MDI skutkowało spodziewanym większym wzrostem udarności kompozycji biopolimerowych wynikającym z obecności pierścieni aromatycznych. Z kolei użycie poliuretanu alifatycznego spowodowało znaczne obniżenie twardości wytworzonych materiałów.

Wprowadzenie termoplastycznego poliuretanu do matrycy poliestrowej powodowało wzrost temperatury degradacji uzyskiwanych kompozycji polimerowych, przy jednoczesnym na ogół obniżeniu temperatury topnienia, co skutkowało poszerzeniem okna przetwórczego, a obserwowana różnica pomiędzy temperaturą topnienia i temperaturą degradacji wynosiła zwykle ok. 100°C.

Zbadano wpływ długości łańcucha polioliowego w poliuretanach na bazie MDI i glikoli polietylenowych na właściwości uzyskiwanych kompozycji polimerowych P3HB-PU, najlepsze właściwości termiczne i mechaniczne wykazały kompozycje uzyskane z udziałem poliuretanu wytworzonego z polioliu o masie molowej 1000 g.

Na podstawie wytworzonych kompozycji polimerowych P3HB-PU o najlepszych właściwościach termicznych i mechanicznych otrzymano nanobiokompozyty hybrydowe z dodatkiem modyfikowanego za pomocą czwartorzędowych soli amoniowych montmorylonitu (Cloisite®30B).

Wprowadzenie nanododatku w ilości 1 % mas. skutkowało uzyskaniem nanostruktury eksfoliowanej potwierdzonej metodą wąskokątowego rozpraszania światła i transmisyjną mikroskopią elektronową.

Wytworzenie nanobiokompozytów hybrydowych z udziałem aromatycznych poliuretanów i nanoglinki organicznej powoduje usztywnienie struktury skutkujące niewielkim wzrostem twardości materiału, wzrostem twardości, przy niezmienionej termoodporności.

Nanobiokompozyty hybrydowe wytworzone z dodatkiem poliuretanów alifatycznych i najmniejszej ilości Cloisite®30B (1% mas.) charakteryzują się tworzeniem adduktów P3HB-PU-MMT łatwo przemieszczających się względem siebie, co pozytywnie wpłynęło na właściwości mechaniczne nanobiokompozytów, tj. wyższą udarność i niższą twardość.

Hybrydowe nanobiokompozyty na podstawie P3HB z aromatycznym liniowym poliuretanem wykazują niższą biokompatybilność niż P3HB, ale można z nich udziałem wytwarzać materiały do zastosowań związanych z kontaktem z ciałem człowieka.

Obecność liniowego poliuretanu z pierścieniami aromatycznymi obniża podatność na biodegradację wytworzonej biokompozycji polimerowej z P3HB, a wprowadzenie mineralnego nanododatku i zwiększanie jego ilości powoduje dalsze pogłębienie tego efektu. Obniżenie podatności na biodegradację biokompozycji i nanobiokompozytów hybrydowych wynika z chemicznie i biologicznie trwałych, trudno degradowalnych składników. Należy podkreślić, że finalne materiały nadal zachowują podatność na biodegradację.

Przeprowadzone badania potwierdziły, że zastosowanie termoplastycznego poliuretanu oraz poliuretanu i zmodyfikowanego montmorylonitu jako modyfikatorów właściwości P3HB pozwala na uzyskanie materiałów o ulepszonych właściwościach termicznych, przetwórczych i mechanicznych, przy zachowanej biodegradowalności, otwierając nowe perspektywy dla ich praktycznego zastosowania.

Uzyskane materiały wykazują szeroki potencjał aplikacyjny w biomedycynie, np. biodegradowalne implanty, materiały opatrunkowe oraz w przemyśle biodegradowalnych tworzyw sztucznych, które mogą znaleźć zastosowanie w produkcji ekologicznych materiałów o krótkim okresie użytkowania, np. opakowaniowych czy artykułów dla rolnictwa i ogrodnictwa.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Flórez, M., Cazón, P., & Vázquez, M. (2023). Selected biopolymers' processing and their applications: A review. *Polymers (Basel)*, 15(3), 641. <https://doi.org/10.3390/polym15030641>
2. Qiao, P., & Davalos, J. F. (2013). Design of all-composite structures using fiber-reinforced polymer (FRP) composites. In *Woodhead Publishing* (pp. 469-508). <https://doi.org/10.1533/9780857098955.2.469>
3. Kanmani, K., Aravind, J., Kamaraj, M., Sureshbabu, S., & Karthikeyan, S. (2017). Environmental applications of chitosan and cellulosic biopolymers: A comprehensive outlook. *Bioresource Technology*, 242, 295-303. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.119>
4. Zhou, K. (2022). Engineering microbes to synthesize functionalized biopolymers. *Journal of Materials Chemistry B*, 10, 7132-7135. <https://doi.org/10.1039/D2TB01063A>
5. PN-EN 13432
6. Awasthi, S. K., Kumar, M., Kumar, V., Sarsaiya, S., Anerao, P., Ghosh, P., Singh, L., Liu, H., Zhang, Z., & Awasthi, M. K. (2022). A comprehensive review on recent advancements in biodegradation and sustainable management of biopolymers. *Environmental Pollution*, 307, 119600. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119600>
7. Varghese, S., Dhanraj, N. D., Rebello, S., Sindhu, R., Binod, P., Pandey, A., Jisha, M. S., & Awasthi, M. K. (2022). Leads and hurdles to sustainable microbial bioplastic production. *Chemosphere*, 305, 135390. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135390>
8. Tachibana, Y., Kimura, S., & Kasuya, K. (2015). Synthesis and verification of biobased terephthalic acid from furfural. *Scientific Reports*, 5, 8249. <https://doi.org/10.1038/srep08249>
9. Dacko, P., Sobota, M., & Kowalczyk, M. (2005). *Materiały XVII Konferencji "Modyfikacja Polimerów"*, Kudowa-Zdrój, 12-15 września 2005 r, 476.
10. Polaczek, J., Dziki, E., & Pielichowski, J. (2022). Properties and synthesis of poly(aspartic acid) and its derivatives. *Polimery*, 48(1), 61-65. <https://www.ichp.vot.pl/index.php/p/article/view/1838>
11. Zia, K. M., Bhatti, H. N., & Bhatti, I. A. (2007). Methods for polyurethane and polyurethane composites, recycling and recovery. *Reactive and Functional Polymers*, 67(8), 675-692. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2007.05.004>
12. Dassanayake, R. S., Acharya, S., & Abidi, N. (2019). Biopolymer-based materials from polysaccharides: Properties, processing, characterization and sorption applications. In *Advanced Sorption Process Applications* (pp. 1-27). IntechOpen. doi:10.5772/intechopen.80898
13. Francis, R., Sasikumar, S., & Gopalan, G. P. (2013). Synthesis, structure, and properties of biopolymers (natural and synthetic). In *Polymer Composites* (pp. 11-107). Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. <https://doi.org/10.1002/9783527674220.ch2>

14. Das, A., Ringu, T., Ghosh, S., & Pramanik, N. (2022). A comprehensive review on recent advances in preparation, physicochemical characterization, and bioengineering applications of biopolymers. *Polymers Bulletin*, 1–66. <https://doi.org/10.1007/s00289-022-04443-4>
15. Piekłna, J., & Mucha, M. (1999). Kompozyty polimerowe zawierające chitozan lub skrobię jako napęniacz biodegradowalny. *Polimery*, 44(24), 24.
16. Nicolescu, C. M., & et al. (2023). Biopolymers produced by lactic acid bacteria: Characterization and food application. *Polymers (Basel)*, 15(6), 1539. <https://doi.org/10.3390/polym15061539>
17. Błędzki, A., & Fabrycy, E. (1992). Polimery degradowalne – stan techniki. *Polimery*, 8, 343.
18. Kozłowska, A. (2004). Degradacja polimerów. *Tworzywa sztuczne i chemia*, 3, 85.
19. Żakowska, H. (1998). *Materiały II Konferencji Naukowo-Szkoleniowej "Opakowania a ochrona środowiska"*, Poznań, 1998.
20. Żakowska, H. (2003). *Odpady opakowaniowe*. Wydawnictwo: COBRO, Warszawa.
21. Gahlawat, G. (2019). Polyhydroxyalkanoates biopolymers. Cham: *Springer International Publishing*. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-33897-8>
22. Sharma, V., Sehgal, R., & Gupta, R. (2021). Polyhydroxyalkanoate (PHA): Properties and modifications. *Polymer*, 212, 123161. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2020.123161>
23. Demirbas, A. (2007). Biodegradable plastics from renewable resources. *Energy Sources Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*, 29(5), 419. <https://doi.org/10.1080/009083190965820>
24. Westlake, J. R., Tran, M. W., Jiang, Y., Zhang, X., Burrows, A. D., & Xie, M. (2023). Biodegradable biopolymers for active packaging: Demand, development, and directions. *Sustainable Food Technology*, 1(1), 50–72. <https://doi.org/10.1039/d2fb00004k>
25. Bedade, D. K., Edson, C. B., & Gross, R. A. (2021). Emergent approaches to efficient and sustainable polyhydroxyalkanoate production. *Molecules*, 26(11), 3463. <https://doi.org/10.3390/molecules26113463>
26. Koller, M., Salerno, A., Muhr, A., Reiterer, A., & Brauneegg, G. (2013). Polyhydroxyalkanoates: Biodegradable polymeric materials from renewable resources. *Materials Technology*, 47(5), 1–14.
27. Gutschmann, B., Huang, B., Santolin, L., Thiele, I., Neubauer, P., & Riedel, S. L. (2022). Native feedstock options for the polyhydroxyalkanoate industry in Europe: A review. *Microbiological Research*, 264, 127177. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127177>
28. Latos, M., & Masek, A. (2017). Biodegradowalne poliestry. *Przetwórstwo Tworzyw*, 4, 351–357.
29. Mizielińska, M., Łopusiewicz, Ł., & Soból, M. (2018). Polihydroksyalkanolany obiecujące polimery biodegradowalne. *Kosmos*, 67(2), 299–306.
30. Florjańczyk, Z., Dębski, M., Chwojnowska, E., Łokaj, K., & Ostrowska, J. (2009). Polimery syntetyczne i naturalne w nowoczesnych materiałach polimerowych. *Polimery*, 10, 609–694.
31. PN-EN 13432:2002

32. Kourmentza, K., Kachrimanidou, V., Psaki, O., Pateraki, C., Ladakis, D., & Koutinas, A. (2020). Competitive advantage and market introduction of PHA polymers and potential use of PHA monomers. In *The Handbook of Polyhydroxyalkanoates* (pp. 167–202). CRC Press.
33. Bugnicourt, E., Cinelli, P., Alvarez, V., & Lazzeri, A. (2014). Polyhydroxyalkanoate (PHA): Review of synthesis, characteristics, processing and potential applications in packaging. *eXPRESS Polymer Letters*, 8(11), 791–808. <https://doi.org/10.3144/expresspolymlett.2014.82>
34. Ramírez-Morales, J. E., Czichowski, P., Besirlioglu, V., Regestein, L., Rabaey, K., Blank, L. M., & Rosenbaum, M. A. (2021). Lignin aromatics to PHA polymers: Nitrogen and oxygen are the key factors for *Pseudomonas*. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 9(31), 10579–10590. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.1c02682>
35. Kondratowicz, F. Ł. (2010). Synteza i właściwości biodegradowalnych kopoliestrów alifatyczno-aromatycznych (*Rozprawa doktorska*, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie).
36. Zhang, C., & Wang, F. (2020). Catalytic lignin depolymerization to aromatic chemicals. *Accounts of Chemical Research*, 53(2), 470–484. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.9b00573>
37. Cheng, Y.-T., Wang, Z., Gilbert, C. J., et al. (2012) Production. *Angewandte Chemie International Edition*, 51, 11, 1097. <https://doi.org/10.1002/anie.201205230>
38. Assman, K. (2013). Wpływ promieniowania jonizującego na wybrane biodegradowalne materiały opakowaniowe (*Rozprawa doktorska*, Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu).
39. Kurcok, P., Kawalec, M., Sobota, M., Michalak, M., Kwiecień, M., & Jurczyk, S. (2017). Polihydroksyalkaniany – zastosowanie i recykling. *Polimery*, 62(5), 364–370.
40. Wolna-Stypka, K. (2015). Biodegradowalne poliestry jako materiały opakowaniowe dla przemysłu kosmetycznego (*Rozprawa Doktorska*, Centrum Materiałów Polimerowych i Węglowych Polskiej Akademii Nauk w Zabrze).
41. Riaz, S., Rhee, K. Y., & Park, S. J. (2021). Polyhydroxyalkanoates (PHAs): Biopolymers for biofuel and biorefineries. *Polymers*, 13(2), 252. <https://doi.org/10.3390/polym13020253>
42. Fonseca, G. G., & Antonio, R. V. (2006). Polyhydroxyalkanoates production by recombinant *Escherichia coli* harboring the structural genes of the polyhydroxyalkanoate synthases of *Ralstonia eutropha* and *Pseudomonas aeruginosa* using low-cost substrate. *Journal of Applied Sciences*, 6, 1745–1750. <https://doi.org/10.3923/jas.2006.1745.1750>
43. Chen, G.-Q. (2009). A microbial polyhydroxyalkanoates (PHA) based bio-and materials industry. *Chemical Society Reviews*, 38(8), 2434–2446. <https://doi.org/10.1039/b812677c>
44. Gołębiowski, J., Gibasz, E., & Malinowski, R. (2008). Wybrane polimery biodegradowalne - otrzymywanie, właściwości, zastosowanie. *Polimery* 53(11–12), 1–9.
45. Stachurek, I. (2012). Problemy z biodegradacją tworzyw sztucznych w środowisku. *Zeszyty Naukowe Wyższej Szkoły Zarządzania Ochroną Pracy w Katowicach*, 1(8), 74–108.
46. Pielichowski, J., Puszyński, A. (2003). *Technologia tworzyw sztucznych* (6th ed.). WNT.

47. Ukielski, F., Kondratowicz, D., Kotowski, D. (2013). Produkcja, właściwości i kierunki rozwoju biodegradowalnych poliestrów ze szczególnym uwzględnieniem kopolimerów alifatyczno-aromatycznych. *Polimery*, 3, 58, 165–246.
48. Pielichowski, J., Puszynski, A. (2004). *Chemia polimerów*. WNT TEZA.
49. Czerniecka-Kubicka, A., Frącz, W., Jasiorski, M., Błażejowski, W., Pilch-Pitera, B., Pyda, M., Zarzyka, I. (2017). Thermal properties of poly(3-hydroxybutyrate) modified by nanoclay. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 128(3), 1513–1526. <https://doi.org/10.1007/s10973-016-6039-9>
50. Gomes, M., Malafaya, P., Azevedo, H., Silva, S. (2013). Natural polymers in tissue engineering applications. In *Handbook of Biopolymers and Biodegradable Plastics* (pp. 385–425). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-2834-3.00016-1>
51. Peña, C., Castillo, T., García, A., Millán, M., & Segura, D. (2014). Biotechnological strategies to improve production of microbial poly-(3-hydroxybutyrate): A review of recent research work. *Microbial Biotechnology*, 7(4), 278–293. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12129>
52. Zhang, L., Jiang, Z., Tsui, T.-H., Loh, K.-C., Dai, Y., & Tong, Y. W. (2022). A review on enhancing *Cupriavidus necator* fermentation for poly(3-hydroxybutyrate) (PHB) production from low-cost carbon sources. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10, 946085. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.946085>
53. Malinowski, R. (2015). Biotworzywa jako nowe materiały przyjazne środowisku naturalnemu. *Inżynieria i Ochrona Środowiska*, 18(2), 215–231.
54. Yu, J. (2018). Fixation of carbon dioxide by a hydrogen-oxidizing bacterium for value-added products. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 34, 89. <https://doi.org/10.1007/s11274-018-2473-0>
55. Syed Mohamed, S. M. D., Ansari, N. F., Md Iqbal, N., & Anis, S. N. S. (2021). Polyhydroxyalkanoates (PHA)-based responsive polymers. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 71(17), 1283–1302. <https://doi.org/10.1080/00914037.2021.1962874>
56. Mondal, S., Syed, U. T., Gil, C., Hilliou, L., Duque, A. F., Reis, M. A., & Brazinha, C. (2023). A novel sustainable PHA downstream method. *Green Chemistry*, 25(3), 1137–1149. <https://doi.org/10.1039/D2GC04261D>
57. Chanprateep, S. (2010). Current trends in biodegradable polyhydroxyalkanoates. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 110(6), 621–632. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2010.07.014>
58. Alves, M. I., Macagnan, K. L., Rodrigues, A. A., de Assis, D. A., Torres, M. M., de Oliveira, P. D., Furlan, L., Vendruscolo, C. T., & Moreira, A. da S. (2017). Poly(3-hydroxybutyrate)-P(3HB): Review of production process technology. *Industrial Biotechnology*, 13(2), 59–68. <https://doi.org/10.1089/ind.2017.0013>

59. Abel, W., Ackermann, J. U., Breuer, U., & Steinbüchel, A. (2001). Physiology, regulation, and limits of the synthesis of poly(3HB) biopolyesters. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 71, 125–157. https://doi.org/10.1007/3-540-40021-4_4
60. Tang, X., & Chen, E. Y.-X. (2018). Chemical synthesis of perfectly isotactic and high melting bacterial poly(3-hydroxybutyrate) from bio-sourced racemic cyclic diolide. *Nature Communications*, 9(1), 2345. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04734-3>
61. Laycock, B., Halley, P., Pratt, S., Werker, A., & Lanta, P. (2013). The chemomechanical properties of microbial polyhydroxyalkanoates. *Progress in Polymer Science*, 38, 536–583. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2012.06.003>
62. Gigante, V., Cinelli, P., Seggiani, M., Álvarez, V. A., & Lazzeri, A. (2020). Processing and thermomechanical properties of PHA. *The Handbook of Polyhydroxyalkanoates* (pp. 91–118). CRC Press.
63. Kusuma, H. S., Sabita, A., Putri, N. A., Azliza, N., Illiyanasafa, N., Darmokoesoemo, H., Amenaghawon, A. N., Kurniawan, T. A. (2024). Waste to wealth: Polyhydroxyalkanoates (PHA) production from food waste for a sustainable packaging paradigm. *Food Chemistry: Molecular Sciences*, 9, 100225. <https://doi.org/10.1016/j.fochms.2024.100225>
64. Fernández-Ronco, M. P., Gradzik, B., Gooneie, A., Hufenus, R., & El Fray, M. T. (2017). Tuning poly(3-hydroxybutyrate) (P3HB) properties by tailored segmented bio copolymers. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. - American Chemical Society (ACS). - 2017, vol. 5, no. 11, <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.7b03023>
65. Almustaafa, W., Grishchuk, S., Sebastian, J., Schubert, D. W., & Grun, G. (2025). Improving i-P3HB processing window: Solution-casting blends with a-P3HB and P34HB. *Journal of Applied Polymer Science*, 142(17). <https://doi.org/10.1002/app.56805>
66. Olkhov, A. A., Kotenko, A. A., Lavrentieva, V. M., & Skorik, Y. A. (2021). Aggressive impacts affecting the biodegradable ultrathin fibers based on poly(3-hydroxybutyrate), polylactide, and their blends: Water sorption, hydrolysis, and ozonolysis. *Polymers (Basel)*, 13(6), 941. <https://doi.org/10.3390/polym13060941>
67. Bordes, P., Pollet, E., & Avérous, L. (2009). Nano-biocomposites: Biodegradable polyester/nanoclay systems. *Progress in Polymer Science*, 34, 125-155. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2008.10.002>
68. Szewczyk, E. M. (1996). Biodegradowalne poliestry hydroksykwasów alkanowych (PHA) syntetyzowane przez drobnoustroje. *Biotechnologia*, 3, 34, 97-115.
69. Meléndez-Rodríguez, B., Torres-Giner, S., Reis, M. A. M., Silva, F., Matos, M., Cabedo, L., & Lagarón, J. M. (2021). Blends of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) with fruit pulp biowaste-derived poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate-co-3-hydroxyhexanoate) for organic recycling food packaging. *Polymers*, 13, 1155. <https://doi.org/10.3390/polym13071155>

70. Holmes, P. A. (1988). Biologically produced (R)-3-hydroxy-alkanoate polymers and copolymers. In D. C. Bassett (Ed.), *Developments in crystalline polymers* (pp. 317–347). Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-009-1341-7_1
71. Doi, Y., Segawa, A., & Kunioka, M. (1990). Biosynthesis and characterization of poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate) in *Alcaligenes eutrophus*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 12, 106–111. [https://doi.org/10.1016/0141-8130\(90\)90061-e](https://doi.org/10.1016/0141-8130(90)90061-e)
72. Doi, Y., Kitamura, S., & Abe, H. (1995). Microbial synthesis and characterization of poly(3-hydroxybutyrate-co-hydroxyhexanoate). *Macromolecules*, 28(13), 4822–4828. <https://doi.org/10.1021/ma00118a007>
73. Scandola, M., Ceccorulli, G., Pizzoli, M., & Gazzano, M. (1992). Study of the crystal phase and crystallization rate of bacterial poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate). *Macromolecules*, 25, 1405–1410. <https://doi.org/10.1021/ma00031a008>
74. Martin, D. P., & Williams, S. F. (2003). Medical applications of poly-4-hydroxybutyrate: A strong, flexible, absorbable biomaterial. *Biochemical Engineering Journal*, 16, 97–105. [https://doi.org/10.1016/S1369-703X\(03\)00040-8](https://doi.org/10.1016/S1369-703X(03)00040-8)
75. Satkowski, M. M., Melik, D. H., Autran, J. P., Green, P. R., Noda, I., & Schechtman, L. A. (2005). Physical and processing properties of polyhydroxyalkanoate copolymers. In Y. Doi & A. Steinbüchel (Eds.), *Biopolymers* (Vol. 3b, Polyesters II: Properties and chemical synthesis, pp. 231–264). Wiley. <https://doi.org/10.1002/3527600035.bpol3b09>
76. Gagnon, K. D., Fuller, R. C., Lenz, R. W., & Farris, R. J. (1992). A thermoplastic elastomer produced by bacterium *Pseudomonas oleovorans*. *Rubber World*, 207, 32–38.
77. Work, W. J., Horie, K., Hess, M., & Stepto, R. F. T. (2004). Definition of terms related to polymer blends, composites, and multiphase polymeric materials. *Pure and Applied Chemistry*, 76(11), 1985–2007. <https://doi.org/10.1351/pac200476111985>
78. Greco, P., & Martuscelli, E. (1989). Crystallization and thermal behavior of poly(D(-)-3-hydroxybutyrate)-based blends. *Polymer*, 30, 1475–1483. [https://doi.org/10.1016/0032-3861\(89\)90219-X](https://doi.org/10.1016/0032-3861(89)90219-X)
79. Chung, C. W., Kim, H. W., Kim, Y. B., & Rhee, Y. H. (2003). Poly(ethylene glycol)-grafted poly(3-hydroxyundecenoate) networks for enhanced blood compatibility. *International Journal of Biological Macromolecules*, 32, 17–22. [https://doi.org/10.1016/S0141-8130\(03\)00020-5](https://doi.org/10.1016/S0141-8130(03)00020-5)
80. Saini, P., Arora, M., & Kumar, M. N. V. R. (2016). Poly(lactic acid) blends in biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 107, 47–59. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.06.014>
81. Muralisrinivasan, N. (2017). *Polymer Blends and Composites Chemistry and Technology*. Scrivener Publishing

82. Chen, G. Q. (2009). Polyhydroxyalkanoates: A polymer with great potential for medical and industrial applications. *Biotechnology Advances*, 27(2), 107–114. DOI:10.6000/1927-3037.2012.01.01.03
83. Madbouly, S. A. (2023). Bio-based polyhydroxyalkanoates blends and composites. *Physical Sciences Reviews*, 8(8), 1107-1125. <https://doi.org/10.1515/psr-2020-0073>
84. Blumm, E., & Owen, A. J. (1995). Miscibility, crystallization and melting of poly(3-hydroksybutyrate)/poly(L-lactide) blends *Polymer*, 36, 4077–4081. [https://doi.org/10.1016/0032-3861\(95\)90987-D](https://doi.org/10.1016/0032-3861(95)90987-D)
85. Blumm, E., & Owen, A. J. (1995). Miscibility,crystallization and melting of poly(3-hydroksybutyrate)/poly(L-lactide) blends *Polymer*,36,4077–4081. [https://doi.org/10.1016/0032-3861\(95\)90987-D](https://doi.org/10.1016/0032-3861(95)90987-D)
86. Zhang, L., Xiong, C., & Deng, X. (1996). Miscibility ,crystalization and morphology of poly(β -hydroxybutyrate)/poly(D,L-lactide) blends *Polymer*, 37, 235–241. [https://doi.org/10.1016/0032-3861\(96\)81093-7](https://doi.org/10.1016/0032-3861(96)81093-7)
87. Cazón, P., et al. (2021). Polyhydroxyalkanoates and their blends with other biodegradable polymers: Properties and applications. *Polymers*, 13(9), 1400. <https://doi.org/10.3390/polym13091400>
88. Zhao, K., Deng, Y., Chen, G.-Q. (2003). Effects of surface morphology on the biocompatibility of polyhydroxyalkanoates *Biochemical Engineering Journal*, 16(2), 115–123. [https://doi.org/10.1016/S1369-703X\(03\)00029-9](https://doi.org/10.1016/S1369-703X(03)00029-9).
89. Koh, M. H., & Kim, S. H. (2019). Biodegradable polymer blends of polyhydroxyalkanoates with polylactic acid for sustainable packaging materials. *Journal of Applied Polymer Science*, 136(19), 47652. <https://doi.org/10.1002/app.47652>
90. Arrieta, M., Samper, M., Aldas, M., & López, J. (2017). On the use of PLA-PHB blends for sustainable food packaging applications. *Materials*, 10(9), 1008. <https://doi.org/10.3390/ma10091008>
91. Dalton, B., Bhagabati, P., De Micco, J., Padamati, R. B., & O'Connor, K. (2022). A review on biological synthesis of the biodegradable polymers polyhydroxyalkanoates and the development of multiple applications. *Catalysts*, 12(3), 319. <https://doi.org/10.3390/catal12030319>
92. Olkhov, A. A., et al. (2021). Aggressive impacts affecting the biodegradable ultrathin fibers based on poly(3-hydroxybutyrate), polylactide, and their blends: Water sorption, hydrolysis, and ozonolysis. *Polymers (Basel)*, 13(6), 941. <https://doi.org/10.3390/polym13060941>
93. An, Y. X., Dong, L. S., Li, L. X., Mo, Z. S., & Feng, Z. L. (1999). Isothermal crystallization and melting behavior of poly((3-hydroxybutyrate)-poly(vinyl acetate)) blends. *European Polymer Journal*, 35, 365–369.
94. An, Y. X., Li, L. X., Dong, L. S., Mo, Z. S., & Feng, Z. L. (1999). Nonisothermal crystallization and melting behavior of poly((3-hydroxybutyrate)-poly(vinyl acetate)) blends. *Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics*, 37, 443–450. DOI:10.1016/S0014-3057(02)00046-0

95. Hay, J. N., & Sharma, L. (2000). Crystallization of poly(3-hydroxybutyrate)/poly(vinyl acetate) blends. *Polymer*, 41, 5749–5757. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(99\)00807-1](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(99)00807-1)
96. Azuma, Y., Yoshie, N., Sakurai, M., Inoue, Y., & Chujo, R. (1992). Thermal behavior and miscibility of poly(3-hydroxybutyrate)/poly(vinyl alcohol) blends. *Polymer*, 33(22), 4763–4767. [https://doi.org/10.1016/0032-3861\(92\)90690-X](https://doi.org/10.1016/0032-3861(92)90690-X)
97. Ikejima, T., Cao, A. M., Yoshie, N., & Inoue, Y. (1998). Surface composition and biodegradability of poly(3-hydroxybutyric acid)/poly(vinyl alcohol) blend films. *Polymer Degradation and Stability*, 62(3), 263–270. [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(99\)00076-2](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(99)00076-2)
98. Xing, P. X., Ai, X., Dong, L. S., & Feng, Z. L. (1998). Miscibility and crystallization of poly((3-hydroxybutyrate)/poly(vinyl acetate-co-vinyl alcohol)) blends. *Macromolecules*, 31, 6898–6907.
99. Lotti, N., Pizzoli, M., Ceccorulli, G., & Scandola, M. (1993). Binary blends of microbial poly(3-hydroxybutyrate) with polymethacrylates. *Polymer*, 34, 4935–4940. [https://doi.org/10.1016/0032-3861\(93\)90022-3](https://doi.org/10.1016/0032-3861(93)90022-3)
100. Irujo, P., Irujo, J. J., & Fernandez-Berride, M. (2000). Thermal and infrared spectroscopic investigations of a miscible blend composed of poly(vinyl phenol) and poly(hydroxybutyrate). *Polymer*, 36(16), 3235–3237.
101. Garcia-Garcia, D., Rayón, E., Carbonell-Verdu, A., Lopez-Martinez, J., & Balart, R. (2017). Improvement of the compatibility between poly(3-hydroxybutyrate) and poly(ϵ -caprolactone) by reactive extrusion with dicumyl peroxide. *European Polymer Journal*, 86, 41–57. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2016.11.018>
102. Sukhanova, A. A., Murzova, A. E., Boyandin, A. N., Kiselev, E. G., Sukovatyi, A. G., Kuzmin, A. P., & Shabanov, A. V. (2020). Poly-3-hydroxybutyrate/chitosan composite films and nonwoven mats. *International Journal of Biological Macromolecules*, 165, 2947–2956. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.10.177>
103. Ikejima, T., Yagi, K., & Inoue, Y. (1999). Thermal properties and crystallization of poly(3-hydroxybutyric acid) in mixtures with chitin and chitosan. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 200(2), 413–421. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-3935\(19990201\)200:2<413::AID-MACP413>3.0.CO;2-Q](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-3935(19990201)200:2<413::AID-MACP413>3.0.CO;2-Q)
104. Ikejima, T., Yagi, K., & Inoue, Y. (1999). Thermal properties and crystallization of poly(3-hydroxybutyric acid) in mixtures with chitin and chitosan. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 200(2), 413–421. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-3935\(19990201\)200:2<413::AID-MACP413>3.0.CO;2-Q](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-3935(19990201)200:2<413::AID-MACP413>3.0.CO;2-Q)
105. Ikejima, T., & Inoue, Y. (2000). Crystallization behaviour and environmental biodegradability of the blend films of poly(3-hydroxybutyric acid) with chitin and chitosan. *Carbohydrate Polymers*, 41, 351–356. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(99\)00105-8](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(99)00105-8)

106. Raza, Z. A., Khalil, S., & Abid, S. (2020). Recent progress in development and chemical modification of poly(hydroxybutyrate) based blends for potential medical applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 1–77. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.05.114>
107. Conti, D. S., Yoshida, M. I., Pezzin, S., & Coelho, L. A. F. (2006). Miscibility and crystallinity of poly(3-hydroxybutyrate)/poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) blends. *Thermochimica Acta*, 450(1), 61–66. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2006.07.018>
108. Frone, A. N., Panaitescu, D. M., Gabor, A. R., Nicolae, C.-A., Ghiurea, M., & Bradu, C. (2024). Poly(3-hydroxybutyrate) modified with thermoplastic polyurethane and microfibrillated cellulose: Hydrolytic degradation and thermal and mechanical properties. *Polymers*, 16, 3606. <https://doi.org/10.3390/polym16243606>
109. Saha, P., Khomlaem, C., Aloui, H., & Kim, B. S. (2021). Biodegradable polyurethanes based on castor oil and poly(3-hydroxybutyrate). *Polymers*, 13, 1387. <https://doi.org/10.3390/polym13091387>
110. Wang, S., Xiang, H., Wang, R., Peng, C., Zhou, Z., & Zhu, M. (2014). Morphology and properties of renewable poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) blends with thermoplastic polyurethane. *Polymer Engineering and Science*, 54, 1113–1119. <https://doi.org/10.1002/pen.23655>
111. Martínez-Abad, A., Gonzalez-Ausejo, J., Lagaron, M., & Cabedo, L. (2016). Biodegradable poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)/thermoplastic polyurethane blends with improved mechanical and barrier performance. *Polymer Degradation and Stability*, 132, 52–61. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2016.03.039>
112. Panaitescu, D. M., Melinte, V., Frone, A. N., Nicolae, C. A., Gabor, A. R., & Capră, L. (2023). Influence of biobased polyurethane structure on thermal and mechanical properties of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)-polyurethane blends. *Journal of Polymer Environment*, 31, 1584–1597. <https://doi.org/10.1007/s10924-022-02710-z>
113. Bogue, R. (2011). Nanocomposites: A review of technology and applications. *Assembly Automation*, 31(2), 106–112. <https://doi.org/10.1108/01445151111117683>
114. Muhammed Shameem, M., Sasikanth, S. M., Annamalai, R., & Ganapathi Raman, R. (2021). A brief review on polymer nanocomposites and its applications. *Materials Today: Proceedings*, 45(2), 2536–2539. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.11.254>
115. Królikowski, W., & Rosłaniec, Z. (2004). Nanokompozyty polimerowe. *Composites*, 4, 3–16.
116. Li, L., Li, X., & Yang, R. (2012). Mechanical, thermal properties, and flame retardancy of PC/ultrafine octaphenyl-POSS composites. *Journal of Applied Polymer Science*, 124, 3807–3814. <https://doi.org/10.1002/app.35443>
117. Nour, M. A. (2002). Polymer/clay nanocomposites. *Polimery*, 47, 326–331.
118. Pietrzak, Ł., & Jeszka, J. K. (2010). Nanokompozyty polilaktyd/wielościennie nanorurki węglowe – otrzymywanie i właściwości elektryczne. *Polimery*, 55, 524–528.

119. Amin Zadehazari (2022). Metal oxide/polymer nanocomposite: a review of recent advances in fabrication and applications. *Polymer-Plastics Technology and Materials*, 62(5), 655-700. <https://doi.org/10.1080/25740881.2022.2129387>
120. Potschke, P., Fornes, T. D., & Paul, D. R. (2002). Rheological behavior of multiwalled carbon nanotube/polycarbonate composites. *Polymer*, 43, 3247–3255. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(02\)00151-9](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(02)00151-9)
121. Olejnik, M. (2008). Nanokompozyty polimerowe z udziałem montmorylonitu – otrzymywanie, metody oceny, właściwości i zastosowanie. *Techniczne Wyroby Włókiennicze*, 67–74.
122. Vilarinho, F., Vaz, M. F., & Sanches Silva, A. (2019). The use of Montmorillonite (MMT) in food nanocomposites: Methods of incorporation, characterization of MMT/polymer nanocomposites, and main consequences in the properties. *Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture*, 10(0), 1–14. <https://doi.org/10.2174/2212798410666190401160211>
123. Rokicińska, A. (2017). *Wspomagane hydrożelami podpórkowanie montmorylonitu nanocząstkami Co₃O₄ do katalitycznego dopalania toluenu* [Rozprawa doktorska, Uniwersytet Jagielloński].
124. Jayrajsinh, S., Shankar, G., Agrawal, Y. K., & Bakre, L. (2017). Montmorillonite nanoclay as a multifaceted drug-delivery carrier: A review. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 39, 200-209. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2017.03.023>
125. Przybyłek, M., & Mendrycka, M. (2017). Badania wpływu krzemianów warstwowych na właściwości mechaniczne nanokompozytów polimerowych. *Przetwórstwo Tworzyw*, 3, 219-225.
126. Rhim, J.-W., & Ng, P. K. W. (2007). Natural biopolymer-based nanocomposite films for packaging applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(4), 411-433. <https://doi.org/10.1080/10408390600846366>
127. Omanović-Miklićanin, E., Badnjević, A., Kazlagić, A., & Hajlovac, M. (2019). Nanocomposites: A brief review. *Health and Technology*, 1-9. <https://doi.org/10.1007/s12553-019-00380-x>
128. Muahmmad, N. A., Shoaib, A. M., Choudhary, H. B., Umer, R., Muhammad, N., Khalid, M. Z., (2020). Chapter 13 - Polyhydroxyalkanoates-based bionanocomposites. *Bionanocomposites*, 321-333. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816751-9.00013-1>
129. Fu, S., Sun, Z., Huang, P., Li, Y., & Hu, N. (2019). Some basic aspects of polymer nanocomposites: A critical review. *Nano Materials Science*, 1(1), 2-30. <https://doi.org/10.1016/j.nanoms.2019.02.006>
130. Díez-Pascual, A. M. (2022). Poly(3-hydroxybutyrate) nanocomposites with cellulose nanocrystals. *Polymers*, 14(10), 1974. <https://doi.org/10.3390/polym14101974>
131. Mehdizadeh, M. A. R., & Poor Heravi, M. R. (2020). Preparation and characterization of environmentally safe and highly biodegradable microbial polyhydroxybutyrate (PHB)

- based graphene nanocomposites for potential food packaging applications. *Polymers*, 12, 123. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.084>
132. Díez-Pascual, A. M., & Díez-Vicente, A. L. (2015). Polyhydroxybutyrate-based nanocomposites: Influence of nanofillers on properties and applications. *Materials*, 8, 1–35. <https://doi.org/10.3390/polym15183746>
 133. Therias, S.; Larche, J.-F.; Bussiere, P.-O.; Gardette, J.-L.; Murariu, M.; Dubois, P. Photochemical behavior of polylactide/ZnO nanocomposite films. *Biomacromolecules* 2012, 13, 3283–3291 <https://doi.org/10.1021/bm301071w>
 134. Díez-Pascual, A. M., & Díez-Vicente, A. L. (2014). Poly(3-hydroxybutyrate)/ZnO bionanocomposites with improved mechanical, barrier, and antibacterial properties. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(6), 10950–10973. <https://doi.org/10.3390/ijms150610950>
 135. Zhou, Y., Zhang, L., Liu, Y., et al. (2012). Poly(3-hydroxybutyrate)/ZnO nanocomposites: Preparation, characterization and antibacterial properties. *Journal of Applied Polymer Science*, 125, 1413–1420. <https://doi.org/10.3390/ijms150610950>
 136. Castro-Mayorga, J. L., Freitas, F., Reis, M. A. M., Prieto, M. A., & Lagaron, J. M. (2017). Biosynthesis of silver nanoparticles and polyhydroxybutyrate nanocomposites of interest in antimicrobial applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 105, 1068–1077. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.12.007>
 137. García, A., Aguirre, C., Pérez, A., Bahamonde, S. S., Urtuvia, V., Díaz-Barrera, A., & Peña, C. (2024). Recent trends in the production and recovery of bioplastics using polyhydroxyalkanoates copolymers. *Microorganisms*, 12, 2135. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12112135>
 138. Ali, S. S., Abdelkarim, E. A., Elsamahy, T., Al-Tohamy, R., Li, F., Kornaros, M., Zuorro, A., Zhu, D., & Sun, J. (2023). Bioplastic production in terms of life cycle assessment: A state-of-the-art review. *Environmental Science and Ecotechnology*, 13, 100254. <https://doi.org/10.1016/j.esec.2023.100254>
 139. Baidurah, S. (2022). Methods of analyses for biodegradable polymers: A review. *Polymers (Basel)*, 14(22), 4928. <https://doi.org/10.3390/polym14224928>
 140. Sosa-Hernández, J. E., et al. (2020). Poly-3-hydroxybutyrate-based constructs with novel characteristics for drug delivery and tissue engineering applications—A review. *Polymer Engineering and Science*, 60(8), 1760–1772. <https://doi.org/10.1002/pen.25470>
 141. Bonartsev, A. P., Bonartseva, G. A., Reshetov, I. V., Shaitan, K. V., & Kirpichnikov, M. P. (2019). Application of polyhydroxyalkanoates in medicine and the biological activity of natural poly(3-hydroxybutyrate). *Acta Naturae*, 11(2), 4–16. <https://doi.org/10.32607/20758251-2019-11-2-4-16>
 142. Paul, V., Pandhi, S., Mahato, D. K., Agarwal, A., Tripathi, A. D., & Dutt, A. (2024). Polyhydroxyalkanoates (PHAs) and its copolymer nanocarrier application in cancer treatment: An overview and challenges. *International Journal of Biological Macromolecules*, 277, 134201. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.134201>

143. Guo, W., Yang, K., Qin, X., Luo, R., Wang, H., & Huang, R. (2022). Polyhydroxyalkanoates in tissue repair and regeneration. *Engineered Regeneration*, 3(1), 24-40. <https://doi.org/10.1016/j.engreg.2022.01.003>
144. PN-EN 1242:2006.
145. Białkowska, A., Krzykowska, B., Zarzyka, I., Bakar, M., Sedlařík, V., Kovářová, M., Czerniecka-Kubicka, A. (2023). Polymer/Layered Clay/Polyurethane Nanocomposites: P3HB Hybrid Nanobiocomposites - Preparation and Properties Evaluation. *Nanomaterials*, 13(2), 225. <https://doi.org/10.3390/nano13020225>
146. Krzykowska, B., Czerniecka-Kubicka, A., Białkowska, A., Bakar, M., Hęćlik, K., Dobrowolski, L., Longosz, M., Zarzyka, I. (2023). Polymer biocompositions and hybrid polymer nanobiocomposites based on P3HB with an aliphatic polyurethane and organically modified montmorillonite. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(17), 17405. <https://doi.org/10.3390/ijms242417405>
147. Krzykowska, B., Czerniecka-Kubicka, A., Białkowska, A., Bakar, M., Kovářová, M., Sedlařík, V., Hanusova, D., Zarzyka, I. (2024). Biopolymer Compositions Based on Poly(3-hydroxybutyrate) and Linear Polyurethanes with Aromatic Rings - Preparation and Properties Evaluation. *Polymers*, 16(12), 1618. <https://doi.org/10.3390/polym16121618>
148. Krzykowska, B., Uram, Ł., Białkowska, A., Bakar, M., Kovářová, M., Sedlařík, V., Hanusova, D., Kisiel, M., Paciorek-Sadowska, J., Borowicz, M., Zarzyka, I. (2024). Polymer bionanocomposites based on P3HB/polyurethane matrix with organomodified montmorillonite –mechanical and thermal properties, biodegradability and cytotoxicity. *Polymers*, 16, 2681. <https://doi.org/10.3390/polym16182681>
149. Krzykowska, B., Fajdek-Bieda, A., Jakubus, A., Kostrzewa, J., Białkowska, A., Kisiel, M., Dvořáčková, Š., Frącz, W., Zarzyka, I. (2025). Bio-based poly(3-Hydroxybutyrate) and Polyurethane Blends: Preparation, Properties Evaluation and Structure Analysis. *Materials*, 18(9), 1914. <https://doi.org/10.3390/ma18091914>
150. PN-EN ISO 527-2:2012.
151. PN-EN ISO 179-1:2010.
152. PN-EN ISO 6506-1:2014. PN-EN ISO 868
153. PN-EN ISO 868
154. Silverajah, V. S. G., Ibrahim, N. A., Zainuddin, N., Yunus, W. M. Z. W., Abu Hassan, H. (2012). Mechanical, Thermal and Morphological Properties of Poly(lactic acid)/Epoxidized Palm Olein Blend. *Molecules*, 17(10), 11729–11747. <https://doi.org/10.3390/molecules171011729>
155. Silverajah, V. S. G., Ibrahim, N. A., Yunus, W. M. Z. W., Abu Hassan, H., Woei, C. B. (2012). Thermal and Morphological Characterization of Poly(lactic acid)/Epoxidized Palm Oil Blend. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(5), 5878–5898. <https://doi.org/10.3390/ijms13055878>
156. Wunderlich, B. (2005). *Thermal analysis of polymeric materials*. Springer.

157. PN-EN 828.
158. ISO 4287:1997.
159. Park, J.-C., Park, B. J., Lee, D. H., Suh, H., Kim, D.-G., Kwon, O.-H. (2002). Evaluation of the cytotoxicity of polyetherurethane (PU) film containing zinc diethyldithiocarbamate (ZDEC) on various cell lines. *Yonsei Medical Journal*, 43(4), 518–526. <https://doi.org/10.3349/ymj.2002.43.4.518>
160. US Pharmacopeia. (2024). Chapter 87: Biological Reactivity Test, In Vitro. Available online: https://www.drugfuture.com/pharmacopoeia/usp32/pub/data/v32270/usp32nf27s0_c87.html
161. ISO 10993-12:2021.
162. Biological Evaluation of Medical Devices-Part 12: Sample Preparation and Reference Materials. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland.
163. ISO 17556:2012
164. ISO 11274
165. ISO 10390
166. ISO 17556:2012
167. Zarzyka I., Czerniecka-Kubicka A., Hęclik K., Dobrowolski D., Pyda M., Leś K., Walczak M., Białkowska A., Bakar M. (2021) Thermally stable biopolymer composites based on poly(3-hydroxybutyrate) modified with linear aliphatic polyurethanes - preparation and properties, *Acta of Bioengineering and Biomechanic*, 23(2), 1-15. <https://doi.org/10.37190/ABB-01782-2021-05>
168. Ribeiro, P. L. L., Figueiredo, T. V. B., Moura, L. E., Druzian, J. I. (2019). Chemical modification of cellulose nanocrystals and their application in thermoplastic starch (TPS) and poly(3-hydroxybutyrate) (P3HB) nanocomposites. *Polymers for Advanced Technologies*, 30(5), 573–583. <https://doi.org/10.1002/pat.4494>
169. Chieng, B. W., Ibrahim, N. A., Then, Y. Y., Loo, Y. Y. (2014). Epoxidized Vegetable Oils Plasticized Poly(lactic acid) Biocomposites: Mechanical, Thermal and Morphology Properties. *Molecules*, 19(10), 16024–16038. <https://doi.org/10.3390/molecules191016024>
170. Garcia-Garcia, D., Ferri, J. M., Montanes, N., Lopez-Martinez, J., Balart, R. (2016). Plasticization effects of epoxidized vegetable oils on mechanical properties of poly(3-hydroxybutyrate). *Polymer International*, 65(10), 1157–1164. <http://doi.org/10.1002/pi.5164>
171. Al-Mulla, E. A. J., Yunus, W. M. Z. W., Ibrahim, N. A. B., Ab Rahman, M. Z. (2010). Physical properties of plasticized PLA/HNTs bionanocomposites: Effects of plasticizer type and content. *Journal of Materials Science*, 45(7), 1942–1946. <http://doi.org/10.1088/1757-899X/557/1/012067>
172. Zhao, Y., Qu, J., Feng, Y., Wu, Z., Chen, F., Tang, H. (2012). Mechanical and thermal properties of epoxidized soybean oil plasticized polybutylene succinate blends. *Polymer Advanced Technologies*, 23(5), 632–638. <https://doi.org/10.1002/pat.1937>

173. Seydibeyoglu, M. O., Misra, M., Mohanty, A. (2010). Progress in bio-based plastics and plasticizing modifications. *International Journal of Plastics Technology*, 14(1), 1–16. <https://doi.org/10.1039/C3TA12555F>
174. Ferri, J. M., Samper, M., Garcia-Sanoguera, D., Reig, M., Fenollar, O., Balart, R. (2016). Plasticizing effect of biobased epoxidized fatty acid esters on mechanical and thermal properties of poly(lactic acid). *Journal of Materials Science*, 51(11), 5356–5366. <https://doi.org/10.1007/s10853-016-9838-2>
175. Jost, V., Kopitzky, R. (2015). Blending of Polyhydroxybutyrate-co-valerate with Polylactic Acid for Packaging Applications – Reflections on Miscibility and Effects on the Mechanical and Barrier Properties. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 29(3), 221–246. <https://doi.org/10.15255/CABEQ.2014.2257>
176. Wang, W., Zhu, X., Wang, X., Chen, G. Q., Xu, K. X. (2008). Processability modifications of poly(3-hydroxybutyrate) by plasticizing, blending, and stabilizing. *Journal of Applied Polymer Science*, 107(1), 166–173. <https://doi.org/10.1002/app.27004>
177. Ali, F., Chang, Y.-W., Kang, S. C., Yoon, J. Y. (2009). Thermal, mechanical and rheological properties of poly(lactic acid)/epoxidized soybean oil blends. *Polymer Bulletin*, 62(1), 91–98. <http://doi.org/10.1007/s00289-008-1012-9>
178. Silverajah, V. S. G., Ibrahim, N. A., Zainuddin, N., Yunus, W. M. Z. W., & Abu Hassan, H. (2012). Mechanical, thermal, and morphological properties of poly(lactic acid)/epoxidized palm olein blend. *Molecules*, 17(10), 11729–11747. <https://doi.org/10.3390/molecules171011729>
179. Prempeh, N., Li, J., Liu, D., Das, K., Maiti, S., & Zhang, Y. (2014). Plasticizing effects of epoxidized sunflower oil on biodegradable polylactide films: A comparative study. *Polymer Science Series A*, 56(10), 856–863 <https://doi.org/10.1134/S0965545X14060182>
180. Fernández-Ronco, M. P., Gradzik, B., Gooneie, A., Hufenus, R., & El Fray, M. T. (2017). Tuning poly(3-hydroxybutyrate) (P3HB) properties by tailored segmented biocopolymers. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 5(11), 11060–11068. <https://doi.org/10.1021/sc500353v>
181. Kozłowska, A., Gromadzki, D., El Fray, M., & Štěpánek, P. (2008). Morphology evaluation of biodegradable copolyesters based on dimerized fatty acid studied by DSC, SAXS, and WAXS. *Fibres and Textiles in Eastern Europe*, 6(71), 85–88.
182. Mirmusavi, M. H. (2018). Assessing the physical and mechanical properties of poly(3-hydroxybutyrate)-chitosan-multi-walled carbon nanotube/silk nano-micro composite scaffold for long-term healing tissue engineering applications. *Micro & Nano Letters*, 13(7), 829–834. <https://doi.org/10.1049/mnl.2017.0725>
183. Zarei, M., & Karbasi, S. (2018). Evaluation of the effects of multiwalled carbon nanotubes on electrospun poly(3-hydroxybutyrate) scaffold for tissue engineering applications. *Journal of Porous Materials*, 25(3), 259–272. <https://doi.org/10.1007/s10934-017-0439-5>

184. Isa, M. R. M., Hassan, A., Nordin, N. A., Thirmizir, M. Z. A., & Ishak, Z. A. M. (2020). Mechanical, rheological, and thermal properties of montmorillonite-modified polyhydroxybutyrate composites. *High Performance Polymers*, 32(2), 192–200. <https://doi.org/10.1177/0954008319899721>
185. D'Amico, D. A., Manfredi, L. B., & Cyras, V. P. (2012). Relationship between thermal properties, morphology, and crystallinity of nanocomposites based on polyhydroxybutyrate. *Journal of Applied Polymer Science*, 123(1), 200–208. <https://doi.org/10.1002/app.34457>
186. Li, D. N., Fu, J. R., & Ma, X. J. (2020). Improvement in thermal, mechanical, and barrier properties of biocomposite of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate)/modified nano-SiO₂. *Polymer Composites*, 41(1), 381–390. <https://doi.org/10.1002/pc.25377>
187. Risyon, N. P., Othman, S. H., Basha, R. K., & Talib, R. A. (2016). Effect of halloysite nanoclay concentration and addition of glycerol on mechanical properties of bionanocomposite films. *Polymer & Polymer Composites*, 24(9), 795–801. <https://doi.org/10.1177/096739111602400917>
188. Souza, A. C., Goto, G. E. O., Mainardi, J. A., Coelho, A. C. V., & Tadini, C. C. (2013). Cassava starch composite films incorporated with cinnamon essential oil: Antimicrobial activity, microstructure, mechanical, and barrier properties. *LWT - Food Science and Technology*, 54(2), 346–352. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.06.017>
189. Jandas, P. J., Prabakaran, K., Kumar, R., Mohanty, S., & Nayak, S. K. (2021). Eco-friendly poly(hydroxybutyrate) nanocomposites: Preparation and characterization. *Journal of Polymer Research*, 28, 285. <https://doi.org/10.1007/s10965-021-02653-4>
190. Botana, A., Mollo, M., Eisenberg, P., & Torres Sanchez, R. M. (2010). Effect of modified montmorillonite on biodegradable PHB nanocomposites. *Applied Clay Science*, 47(3), 263–270. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2009.11.001>
191. Alfano, S., Pagnanelli, F., & Martinelli, A. (2023). Rapid estimation of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) composition using ATR-FTIR. *Polymers*, 15(20), 4127. <https://doi.org/10.3390/polym15204127>
192. Łukaszewska, I., Lalik, S., Bukowczan, A., Marzec, M., Pielichowski, K., & Raftopoulos, K. N. (2023). Tailoring the physical properties of non-isocyanate polyurethanes by introducing secondary amino groups along their main chain. *Journal of Molecular Liquids*, 391, 123263. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2023.123263>
193. Ryszkowska, J. (2012). Supramolecular structure, morphology, and physical properties of urea-urethane elastomers. *Polimery*, 58(11-12), 775–785. <https://doi.org/10.14314/polimery.2012.777>
194. Kowalska, M., Broniatowski, M., Mach, M., Płachta, Ł., & Wydro, P. (2021). The effect of the polyethylene glycol chain length of a lipopolymer (DSPE-PEG_n) on the properties of DPPC monolayers and bilayers. *Journal of Molecular Liquids*, 335, 116529. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.116529>

195. Matumba, K. I., Motloun, M. P., Ojijo, V., Ray, S. S., & Sadiku, E. R. (2023). Investigation of the effects of chain extender on material properties of PLA/PCL and PLA/PEG blends: Comparative study between polycaprolactone and polyethylene glycol. *Polymers*, 15(9), 2230. <https://doi.org/10.3390/polym15092230>
196. Garcia-Garcia, D., Fenollar, O., Fombuena, V., Lopez-Martinez, J., & Balart, R. (2017). Improvement of mechanical ductile properties of poly(3-hydroxybutyrate) by using vegetable oil derivatives. *Macromolecular Materials and Engineering*, 302(2), 1600330. <https://doi.org/10.1002/mame.201600330>
197. Mangeon, C., Michely, L., Rios de Anda, A., Thevenieau, F., Renard, E., & Langlois, V. (2018). Natural terpenes used as plasticizers for poly(3-hydroxybutyrate). *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 6(12), 16160–16168. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.8b02896>
198. Jin, P., Pang, A., Yang, R., Guo, X., He, J., & Zhai, J. (2022). Study on mechanical properties of polyurethane cross-linked P(E-co-T)/PEG blended polyether elastomer. *Polymers*, 14(24), 5419. <https://doi.org/10.3390/polym14245419>
199. Iqbal, H. M., Kyazze, G., Tron, T., Keshavarz, T. (2014). "One-pot" synthesis and characterization of novel P(3HB)-ethyl cellulose-based graft composites through lipase catalyzed esterification. *Polymer Chemistry*, 5(24), 7004–7012. <https://doi.org/10.1039/C4PY00857J>
200. Tejada-Oliveros, R., Balart, R., Ivorra-Martinez, J., Gomez-Caturla, J., Montanes, N., & Quiles-Carrillo, L. (2021). Improvement of impact strength of polylactide blends with a thermoplastic elastomer compatibilized with biobased maleinized linseed oil for applications in rigid packaging. *Molecules*, 26(1), 240. <https://doi.org/10.3390/molecules26010240>
201. Abbasi, M., Pokhrel, D., Coats, E. R., Guho, N. M., & McDonald, A. G. (2022). Effect of 3-hydroxyvalerate content on thermal, mechanical, and rheological properties of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) biopolymers produced from fermented dairy manure. *Polymers*, 14(19), 4140. <https://doi.org/10.3390/polym14194140>
202. Omura, T., Gato, T., Maehara, A., Kimura, S., Abe, H., & Iwata, T. (2021). Thermal degradation behavior of poly[(R)-3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate]. *Polymer Degradation and Stability*, 183, 109460. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2020.109460>
203. Zarzyka, I., Czerniecka-Kubicka, A., Szyszkowska, A., Pyda, M., Frącz, W., Byczyński, Ł., & Sedlarik, V. (2020). Hybrid nanobiocomposites based on poly(3-hydroxybutyrate) - characterization, thermal, and mechanical properties. *Acta of Bioengineering and Biomechanics*, 22(1), 97–110. <https://doi.org/10.37190/ABB-01473-2019-02>
204. Bossu, J., Le Moigne, N., Dieudonné-George, P., Dumazert, L., Guillard, V., & Angellier-Coussy, H. (2021). Impact of the processing temperature on the crystallization behavior and mechanical properties of poly[(R)-3-hydroxybutyrate-co-(R)-3-hydroxyvalerate]. *Polymer*, 229, 123987. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2021.123987>

205. Work, W. J., Horie, K., Hess, M., & Stept, R. F. T. (2004). Definition of terms related to polymer blends, composites, and multiphase polymeric materials (IUPAC Recommendations 2004). *Pure and Applied Chemistry*, 76(11), 1985–2007. <https://doi.org/10.1351/pac200476111985>
206. Musaev, S. S., & Samieva, G. O. (2020). The study of thermodynamic compatibility of polymers. *International Journal of Research and Development (IJRD)*, 5(5), 91–98. <https://doi.org/10.36713/epra2016>
207. García-Quiles, L., Cuello, A. F., & Castell, P. (2019). Sustainable materials with enhanced mechanical properties based on industrial polyhydroxyalkanoates reinforced with organomodified sepiolite and montmorillonite. *Polymers*, 11(4), 696–702. <https://doi.org/10.3390/polym11040696>
208. Yeo, J. C. C., Muiruri, J. K., Thitsartarn, W., Li, Z., & He, C. (2018). Recent advances in the development of biodegradable PHB-based toughening materials: Approaches, advantages, and applications. *Materials Science and Engineering C*, 92, 1092–1116. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.11.006>
209. Corre, Y. M., Bruzaud, S., Audic, J. L., & Grohens, Y. (2012). Morphology and functional properties of commercial polyhydroxyalkanoates: A comprehensive and comparative study. *Polymer Testing*, 31(2), 226–235. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2011.11.002>
210. Paşcu, E. I., Stokes, J., & McGuinness, G. B. (2013). Electrospun composites of PHBV, silk fibroin, and nano-hydroxyapatite for bone tissue engineering. *Materials Science and Engineering C*, 33(8), 4905–4916. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2013.08.012>
211. Chandar, J. V., Shanmugan, S., Mutharasu, D., & Azlan, A. A. (2017). Poly (3-hydroxybutyrate-co-15 mol% 3-hydroxyhexanoate)/ZnO nanocomposites by solvent casting method: A study of optical, surface, and thermal properties. *Materials Research Express*, 4(1), 015301. <https://doi.org/10.1088/2053-1591/4/1/015301>
212. Gunaratne, L. M. W. K., & Shanks, R. A. (2005). Multiple melting behaviour of poly(3-hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) using step-scan DSC. *European Polymer Journal*, 41, 2980–2988. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2005.06.015>
213. Uto, K., Matsushita, Y., & Ebara, M. (2023). Multiphase PCL semi-interpenetrating networks exhibiting the triple- and stress-free two-way shape memory effect. *Polymer Chemistry*, 14, 1478–1487. <https://doi.org/10.1039/D2PY01607A>
214. Pielichowski, K., & Pielichowska, K. (2022). Polymer Nanocomposites and Hybrid Materials, *Thermal Analysis of Polymeric Materials* (Chapter 11). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9783527828692.ch11>
215. Gunawan, N. R., Tessman, M., Zhen, D., Johnson, L., Evans, P., Clements, S. M., Pomeroy, R. S., Burkart, M. D., Simkovsky, R., Mayfield, S. P. (2022). Biodegradation of renewable polyurethane foams in marine environments occurs through depolymerization by marine microorganisms. *Science of The Total Environment*, 850, 158761. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158761>
216. Colombo, I., Sangiovanni, E., Maggio, R., Mattozzi, C., Zava, S., Corbett, Y., Fumagalli, M., Carlino, C., Corsetto, P. A., Scaccabarozzi, D., Calvieri, S., Gismondi, A., Taramelli, D., Dell'Agli, M. (2017). HaCaT Cells as a Reliable In Vitro Differentiation Model to Dissect the

- Inflammatory/Repair Response of Human Keratinocytes. *Mediators of Inflammation*, 7435621. <https://doi.org/10.1155/2017/7435621>
217. Hoh, A., & Maier, K. (1993). Comparative cytotoxicity test with human keratinocytes, HaCaT cells, and skin fibroblasts to investigate skin-irritating substances. In B. A., Bereiter-Hahn, J., Hevert, F., Holzmann (Eds.), *Cell and Tissue Culture Models in Dermatological Research* (pp. 341–347). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-77817-9_38
 218. US Pharmacopeia. (2024). Chapter 87: Biological Reactivity Test, In Vitro. Retrieved from https://www.drugfuture.com/pharmacopoeia/usp32/pub/data/v32270/usp32nf27s0_c87.html
 219. Król, P., Uram, Ł., Król, B., Pielichowska, K., Walczak, M. (2018). Study of chemical, physico-mechanical and biological properties of 4,4'-methylenebis(cyclohexyl isocyanate)-based polyurethane films. *Materials Science and Engineering C*, 93, 483–494. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.07.082>
 220. Wagner, A., Eldawud, R., White, A., Agarwal, S., Stueckle, T. A., Sierros, K. A., Rojanasakul, Y., Gupta, R. K., & Dinu, C. Z. (2017). Toxicity evaluations of nanoclays and thermally degraded byproducts through spectroscopical and microscopical approaches. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1861, 3406–3415. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2016.09.003>
 221. Jeziórska, R., Świerz-Motysia, B., Szadkowska, A., Marciniak, B., Maciejewski, H., Dutkiewicz, M., Leszczyńska, I. (2011). Effect of POSS on morphology, thermal and mechanical properties of polyamide 6. *Polimery*, 56, 809–816.
 222. Jin, P., Pang, A., Yang, R., Guo, X., He, J., & Zhai, J. (2022). Study on mechanical properties of polyurethane cross-linked P(E-co-T)/PEG blended polyether elastomer. *Polymers*, 14(24). <https://doi.org/10.3390/polym14245419>
 223. Almustafa, W., Schubert, D. W., Grishchuk, S., Sebastian, J., & Grun, G. (2024). Chemical synthesis of atactic poly-3-hydroxybutyrate (a-P3HB) by self-polycondensation: Catalyst screening and characterization. *Polymers*, 16, 1655. <https://doi.org/10.3390/polym16121655>
 224. Huang, H., Hu, Y., Zhang, J., Sato, H., Zhang, H., Noda, I., & Ozaki, Y. (2005). Miscibility and hydrogen-bonding interactions in biodegradable polymer blends of poly(3-hydroxybutyrate) and a partially hydrolyzed poly(vinyl alcohol). *The Journal of Physical Chemistry B*, 109(41), 19175–19183. <https://doi.org/10.1021/jp0532162>
 225. Naureen, B., Haseeb, A. S. M. A., Basirun, W. J., & Muhamad, F. (2021). Synthesis and degradation of 3D biodegradable polyurethane foam scaffolds based on poly (propylene fumarate) and poly[(R)-3-hydroxybutyrate]. *Materials Today Communications*, 28, 102536. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2021.102536>
 226. Lejardi, A., Etxeberria, A., Meaurio, E., & Sarasua, J.-R. (2012). Novel poly(vinyl alcohol)-g-poly(hydroxy acid) copolymers: Synthesis and characterization. *Polymer*, 53(1), 50–59. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2011.11.029>

227. Yeo, J. C. C., Muiruri, J. K., Thitsartarn, W., Li, Z., & He, C. (2018). Recent advances in the development of biodegradable PHB-based toughening materials: Approaches, advantages and applications. *Materials Science and Engineering C*, 92, 1092–1116. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.11.006>
228. Feng, F., Zhao, X., & Ye, L. (2011). Structure and properties of ultradrawn polylactide/thermoplastic polyurethane elastomer blends. *Journal of Macromolecular Science, Part B*, 50(8), 1500–1507. <https://doi.org/10.1080/00222348.2010.518889>
229. Wang, F., Ji, Y., Chen, C., Zhang, G., & Chen, G. (2022). Tensile properties of 3D printed structures of polylactide with thermoplastic polyurethane. *Journal of Polymer Research*, 29, 320. <https://doi.org/10.1007/s10965-022-03172-6>
230. Ivorra-Martinez, J., Verdu, I., Fenollar, O., Sanchez-Nacher, L., Balart, R., & Quiles-Carrillo, L. (2020). Manufacturing and properties of binary blend from bacterial polyester poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) and poly (caprolactone) with improved toughness. *Polymers*, 12(5), 1118. <https://doi.org/10.3390/polym12051118>
231. Zhu, C., & Chen, Q. (2014). Polyhydroxyalkanoate-based biomaterials for applications in biomedical engineering. In *Advanced Healthcare Materials* (Chapter 12, pp. 439–464). Wiley.

8. NAJWAŻNIEJSZE OSIĄGNIĘCIA BADAWCZE

8.1. Publikacja [D1] – Załącznik 1

A. Białkowska, B. Krzykowska, I. Zarzyka, M. Bakar, V. Sedlařík, M. Kovářová, A. Czerniecka-Kubicka, Polymer/Layered Clay/Polyurethane Nanocomposites: P3HB Hybride Nanobiocomposites - Preparation and Properties Evaluation, Nanomaterials, 13, 225 (2023).
<https://doi.org/10.3390/nano13020225>

Autor	%
A. Białkowska	10
B. Krzykowska	55
I. Zarzyka	5
M. Bakar	5
V. Sedlařík	5
M. Kovářová	5
A. Czerniecka-Kubicka	15

Article

Polymer/Layered Clay/Polyurethane Nanocomposites: P3HB Hybrid Nanobiocomposites—Preparation and Properties Evaluation

Anita Białkowska ¹, Beata Krzykowska ^{2,*}, Iwona Zarzyka ^{2,*}, Mohamed Bakar ¹, Vladimír Sedlářík ³, Miroslava Kovářová ³ and Anna Czerniecka-Kubicka ⁴ 

¹ Faculty of Chemical Engineering and Commodity Science, University of Technology and Humanities, Chrobrego 27, 26-600 Radom, Poland

² Faculty of Chemistry, Rzeszów University of Technology, Powstańców Warszawy 6, 35-959 Rzeszów, Poland

³ Centre of Polymer Systems, University Institute, Tomas Bata University in Zlín, Tr. T. Bati 5678, 76001 Zlín, Czech Republic

⁴ Department of Experimental and Clinical Pharmacology, Medical College of Rzeszów University, The University of Rzeszów, 35-310 Rzeszów, Poland

* Correspondence: b.krzykowska@prz.edu.pl (B.K.); izarzyka@prz.edu.pl (I.Z.); Tel.: +48-017-865-17-62 (I.Z.); Fax: +48-017-854-36-55 (I.Z.)



Citation: Białkowska, A.; Krzykowska, B.; Zarzyka, I.; Bakar, M.; Sedlářík, V.; Kovářová, M.; Czerniecka-Kubicka, A. Polymer/Layered Clay/Polyurethane Nanocomposites: P3HB Hybrid Nanobiocomposites—Preparation and Properties Evaluation. *Nanomaterials* 2023, 13, 225. <https://doi.org/10.3390/nano13020225>

Academic Editor: Antonios Kelarakis

Received: 17 December 2022

Revised: 1 January 2023

Accepted: 1 January 2023

Published: 4 January 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

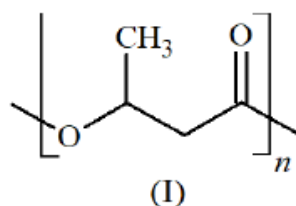
Abstract: This paper presents an attempt to improve the properties of poly(3-hydroxybutyrate) (P3HB) using linear aliphatic polyurethane (PU400) and organomodified montmorillonite (MMT)—(Cloisite®30B). The nanostructure of hybrid nanobiocomposites produced by extrusion was analyzed by X-ray diffraction and transmission electron microscopy, and the morphology was analyzed by scanning electron microscopy. In addition, selected mechanical properties and thermal properties were studied by thermogravimetric analysis, TGA, and differential scanning calorimetry, DSC. The interactions of the composite ingredients were indicated by FT IR spectroscopy. The effect of the amount of nanofiller on the properties of prepared hybrid nanobiocomposites was noted. Moreover, the non-equilibrium and equilibrium thermal parameters of nanobiocomposites were established based on their thermal history. Based on equilibrium parameters (i.e., the heat of fusion for the fully crystalline materials and the change in the heat capacity at the glass transition temperature for the fully amorphous nanobiocomposites), the degree of crystallinity and the mobile and rigid amorphous fractions were estimated. The addition of Cloisite®30B and aliphatic polyurethane to the P3HB matrix caused a decrease in the degree of crystallinity in reference to the unfilled P3HB. Simultaneously, an increase in the amorphous phase contents was noted. A rigid amorphous fraction was also denoted. Thermogravimetric analysis of the nanocomposites was also carried out and showed that the thermal stability of all nanocomposites was higher than that of the unfilled P3HB. An additional 1% mass of nanofiller increased the degradation temperature of the nanocomposites by about 30 °C in reference to the unfilled P3HB. Moreover, it was found that obtained hybrid nanobiocomposites containing 10 wt.% of aliphatic polyurethane (PU400) and the smallest amount of nanofiller (1 wt.% of Cloisite®30B) showed the best mechanical properties. We observed a desirable decrease in hardness of 15%, an increase in the relative strain at break of 60% and in the impact strength of 15% of the newly prepared nanobiocomposites with respect to the unfilled P3HB. The produced hybrid nanobiocomposites combined the best features induced by the plasticizing effect of polyurethane and the formation of P3HB–montmorillonite–polyurethane (P3HB–PU–MMT) adducts, which resulted in the improvement of the thermal and mechanical properties.

Keywords: nanobiocomposites; polyalcanoates; nanoclay; modified montmorillonite; properties modification; aliphatic polyurethane

1. Introduction

With the growing awareness in society about environmental care, the use of biodegradable plastics is now the best solution to the environmental risks posed by conventional and

commonly used plastics. Biodegradable plastics are environmentally friendly, and their properties can be compared with those of conventional polymers. Many applications have been, including in food packaging and in biomedicine [1–18]. The only 100% biodegradable polymers are polyhydroxyalkanoates (PHAs) [19,20]. One of the more important PHAs is poly(3-hydroxybutyrate), known as P3HB (I) Scheme 1, which shows a much longer degradation time compared to polymers from the poly(α -hydroxyalkanoates) group, such as polylactide or poly(lactic-co-glycolic acid) [21].



Scheme 1. Structure of repeating unit of P3HB.

Poly(3-hydroxybutyrate) is produced as an energy carrier from various bacteria [22–24], which build polymer chains that are perfectly linear and isotactic, allowing for unique properties and a high degree of crystallinity. In this form, P3HB is biobased, biodegradable and biocompatible [11,25,26]. However, this material shows some disadvantages (high stiffness, brittleness, and low thermal stability above the melting point) when compared to other polymers [27–29]. For these reasons, and in order to increase its range of applications, it has undergone multiple modifications [30]. In most cases, the production of composites based on the P3HB matrix leads to the much-desired separation of its melting point from its degradation temperature which characterizes their better thermal and mechanical properties than the unfilled P3HB.

Polymer nanocomposites are currently an important direction in industrial development. The addition of even a small amount of nanofillers to a polymer leads to improvement in their mechanical, thermal, barrier, flammability, ductility, stiffness, and electrical and thermal conductivity properties, without affecting their processability [30–33]. Different studies have confirmed that hybrid biopolymer nanocomposites have shown even better properties than conventional composites, including mechanical properties [34,35].

The present work investigated the effect of aliphatic linear polyurethane and organomodified montmorillonite (Cloisite®30B) on the performance properties and structure of P3HB biopolymer. It was expected that P3HB-based hybrid nanobiocomposites would exhibit improved properties due to two different reinforcing mechanisms of the used modifiers.

2. Materials and Methods

2.1. Materials

P3HB was supplied by Biomer (Krailling, Germany); its weight average molecular mass was $M_w = 443,900 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ and its dispersity was $(M_w/M_n)^{-1} = 5.72$; the P3HB melt flow index was $0.11 \text{ g}\cdot(10 \text{ min})^{-1}$ (180°C at 2.16 kg). Organically modified montmorillonite Cloisite®30BB was supplied by Southern Clay Products Inc. (Gonzales, LA, USA). Cloisite®30BB is a natural montmorillonite modified with methylbis(2-hydroxyethyl) tallowalkylammonium cations.

Hexamethylene 1,6-diisocyanate (HDI) and dibutyltin dilaurate (DBTL) were purchased from Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, USA), and polyethylene glycol, with a molecular mass of 400 g/mol (PEG400), from Merck (Darmstadt, Germany).

Linear Polyurethane Synthesis

The molecular weight of the PU400 determined by size exclusion chromatography (SEC) in tetrahydrofuran (THF) was $M_w = 13,430$ g/mol and the dispersity was $M_w/M_n = 2.09$. Linear polyurethane was synthesized by the procedure described in [36].



where m is 8.7 and n is 8.6 on average.

2.2. Methods

2.2.1. Nanobiocomposite Preparation

To homogenize the components, P3HB was introduced into a Stephan-type mixer, followed by an appropriate amount of liquid PU400 and an appropriate amount of Cloisite®30B. The mixture was then stirred for about 20 min at room temperature for homogenization. Table 1 shows the compositions of the prepared mixtures.

Table 1. Designations of the prepared nanobiocomposites.

P3HB * Content (wt.%) (wt.%)	PU400 * Content (wt.%)	Cloisite 30B * Content (wt.%)	Biocomposite Designation
90	10	0	C-10-0
89	10	1	C-10-1
88	10	2	C-10-2
87	10	3	C-10-3

* P3HB, PU400, Cloisite 30B—abbreviations of poly(3-hydroxybutyrate), linear polyurethane, and nanofiller, respectively.

The homogeneous mixture was then introduced into the hopper of a co-rotating twin-screw extruder with a working diameter of $D = 25$ mm and $L/D = 33$, operating at 300–450 rpm. The different zones of the extruder were maintained at the following temperatures during the extrusion of the composite: hopper: 22–36 °C, II zone: 120–125 °C, III zone: 135–145 °C, IV zone: 134–136 °C, V zone: 134–135 °C, VI zone: 145–148 °C, VII zone: 145–148 °C, VIII zone: 148–163 °C, IX zone: 134–150 °C, and head: 158 °C to 170 °C.

During the extrusion, the volatile parts were evacuated by degassing, and the temperatures of the head of the extruder and the heating zones of the plasticizing system of the extruder were kept constant. The molten composite was cooled in a cooling bath, pelletized, and dried at 60 °C for 2 h.

The unfilled P3HB and a mixture of P3HB containing 10 wt.% of PU400 (C-10-0) were also extruded in order to compare the properties of the prepared nanobiocomposites with a reference material.

2.2.2. Analytical Methods

The hydroxyl number (HN) of polyethylene glycol and the obtained polyurethane were determined according to the standard (PN-87/C-89085/13). For this purpose, 1 g of the tested compound was placed in a conical flask and the acetylating mixture, i.e., a solution of acetic anhydride in DMF, was added. The flask was equipped with a reflux condenser, and the solution was heated in a boiling water bath for one hour. After heating was completed, toluene was poured into the flask and stirred vigorously. Then, it was titrated with 1.5 M potassium hydroxide solution in the presence of phenolphthalein

until a persistent pink color appeared. The hydroxyl number value was calculated from the formula:

$$HN = \frac{56.1 \cdot (V_1 - V_2) \cdot C}{m} \quad (1)$$

where HN—hydroxyl number, (mg KOH/g), C—molar concentration of the KOH solution, (mol/dm³), V₁, V₂—volumes of the KOH solution used for the titration of the blank sample and the analyzed sample, respectively, (cm³), m—mass of the sample, (g).

The content of the isocyanate groups (ICN) in the synthesized polyurethane was determined according to the standard (PN-EN 1242:2006). A 0.5 g sample was placed in a conical flask, dissolved in acetone, and mixed with 0.2 M acetone ammonia solution. The flask was stoppered, the solution was stirred, and then left standing for 10 min at room temperature. The excess ammonia was titrated with 0.1 M HCl_{aq} in the presence of methyl red until a bright red color persisted. A blank test was performed in parallel. The contents of the isocyanate groups (ICN) in % by weight were calculated using the equation:

$$LIC = 0.0042 \cdot \frac{(V_1 - V_2)}{m} \cdot 100\% \quad (2)$$

where V₁ and V₂—volumes of 0.1 M HCl_{aq} used for the titration of the blank and the sample, respectively, (cm³); m—mass of the sample, (g); 0.0042—the number of isocyanate groups equivalent to 1 cm³ of a 0.1 M HCl solution, (g).

2.2.3. Instrumental Methods

The X-ray diffraction technique was used to characterize the structure of biocomposites at the nanometric scale. The measurements were carried out at room temperature with the use of a Bruker SAXS Nanostar-U X-ray diffractometer. The spectra of the samples were studied in transmission mode to verify the effect of nanoparticle orientation. A small-angle diffractometer was coupled to a filtered CuKα radiation source (1.54 Å) in a sealed tube, operating at 50 kV and 30 mA. The 2D detector (Vantec2000) was used to scan the entire sample surface; the spot beam was approx. 500 μm. The scanning range was determined by changing the distance of the sample from the detector. The resolution of the detector and the angular range allowed for measurement at the level of 2048 × 2048 pixels. The measurements were carried out from 1 to 28° over a period of 2 h.

The nanostructures of the nanobiocomposites were tested by transmission electron microscopy (TEM). The nanoparticle distribution was imaged using a Tecnai TF20 X-TWIN (200 kV)—a high-resolution transmission electron microscope equipped with a field emission gun (FEG) (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). TEM samples were prepared with the use of a microtome.

The study of the composite morphologies was carried out using a JEOL JSM-6490 LV scanning electron microscope with an accelerating voltage of 20 kV and secondary electron detection (SEI). The samples to be tested were subjected to freezing in liquid nitrogen and then broken using a blade hammer. The surfaces of the broken samples were then sputtered with a thin layer of gold with a thickness of about 10 nm using a JEOL JFC-1300 sputtering machine. Finally, the sputtered samples were placed in an electron microscope chamber, and the analysis of the material surface was conducted within several micro-areas.

The infrared (FT IR) spectra of the P3HB, polyurethane, and their composites were recorded on an ALPHA FT-IR Bruker instrument in the ATR mode or in KBr pellets.

Thermogravimetric analysis (TGA) of the nanobiocomposites was conducted using a Mettler Toledo TGA/DSC 3+ thermogravimetric analyzer. The composite samples were heated at a rate of 5 °C/min in the temperature range of +25 to +600 °C in an inert gas (nitrogen) atmosphere. The temperature of the onset of decomposition (T_{on}), the temperature corresponding to 50% weight loss (T_{50%}), the temperature of the maximum decomposition rate (T_{max}), and the total weight loss of the samples at 600 °C were determined.

All experiments by calorimetry in the temperature range from −90 °C to 195 °C were performed using a Q1000TM differential scanning calorimeter (DSC) from TA Instruments,

Inc. (New Castle, DE, USA). This calorimeter is the heat-flux type and is equipped with a mechanical refrigerator to control the heating and cooling of samples. The measurements were carried out in a nitrogen atmosphere with a constant flow rate of around 50 mL/min. The mass of samples used for measurements by DSC was about 10 mg. The experimental heat flow was measured at a heating rate of 10 °C/min after previously cooling at a rate of 10 °C/min by the standard DSC. The temperature and heat flow rate calibration in the DSC apparatus was performed using the parameters of the melting indium, the onset melting temperature ($T_m(\text{onset}) = 156.6\text{ °C}$), and the heat of fusion ($\Delta H_f = 28.45\text{ J/g}$ (3.281 kJ/mol)). In order to obtain accurate results, the heat capacity was calibrated by sapphire [37]. The heat flow data were collected from the second heating run after the controlled cooling.

The following mechanical tests were conducted: tensile strength, impact strength, and Shore hardness. The samples for mechanical testing were produced by injection molding technology on the DrBoy 50 injection molding machine equipped with the Priamus production supervision and monitoring system. All samples were produced with the same adjustable injection parameters, which made it possible to assess changes in the parameters of the material state in the injection mold. An injection mold temperature of 25 °C was used for the P3HB, and 30 °C for the nanobiocomposites, and the process temperature was in the range of 140–168 °C.

The tensile tests of the nanocomposites were carried out at room temperature using a Zwick Z030 testing machine equipped with an automatic multiextensometer, and with a deformation speed of 50 mm/min. Young's modulus was determined at a rate of 1 mm/min. The tests were conducted for 10 samples in a given series in accordance with the standard (PN-EN ISO 527 (1998)).

The impact strength of the nanobiocomposite samples was performed using an Instron brand impact hammer. The impact test was carried out for bilaterally notched samples according to method A of the standard (PN-EN ISO 179-1:2010).

The hardness of the obtained nanobiocomposite samples was determined by the Shore method using Bareiss Shore hardness testers: HP-A and HP-D. The measurement consisted of measuring the sample resistance of the tested composite while immersing an indenter needle with a specific shape and dimension in accordance with the standard (PN-EN ISO 868 and ASTM D2240).

3. Results

3.1. Hybrid Nanobiocomposite Preparation

Hybrid nanobiocomposites based on P3HB with linear aliphatic polyurethane and modified montmorillonite (MMT) (Cloisite®30B) nanoadditive were produced using a co-rotating twin-screw extruder. Polyurethane obtained in the reaction of 1,6-hexamethylene diisocyanate and polyethylene glycol with a molar mass of 400 g/mol was used in the amount of 10 wt.%, and Cloisite®30B in the amounts of 1, 2, and 3 wt.%, (C-10-1, C-10-2, C-10-3). In order to obtain a reference material to compare the properties with the obtained nanobiocomposites, unfilled P3HB and a mixture of P3HB with 10 wt.% PU400 (C-10-0) were used.

3.2. Structure Analysis by X-ray Diffraction

To characterize the nanoclay structure of the prepared nanobiocomposites, the X-ray diffraction (XRD) technique was used in the range of 1° to 30°. For comparison, reference diffractograms of unfilled P3HB and Cloisite®30B are shown in Figure 1. The unfilled P3HB showed only low-intensity background scattering below 12°, while Cloisite®30B was characterized by a diffraction maximum at an angle of $2\theta = 5.00^\circ$, which means that the plates were separated by a distance d_{001} of 1.77 nm. The obtained nanobiocomposites containing 1 wt.% of nanoclay (C-10-1) did not show a diffraction maximum below the value of $2\theta < 5^\circ$. This means that the P3HB chains penetrated between the layers of the nanoclay platelets and there was not only separation, but complete delamination. On the other hand, the introduction of 2 and 3 wt.% of Cloisite®30B resulted in a significant broadening of the

null peak. In addition, a low-intensity peak was observed with a diffraction maximum at 4.64° , corresponding to the second reflection (d_{002}). Its presence suggests the possible small share of the partially intercalated structure of the nanobiocomposites.

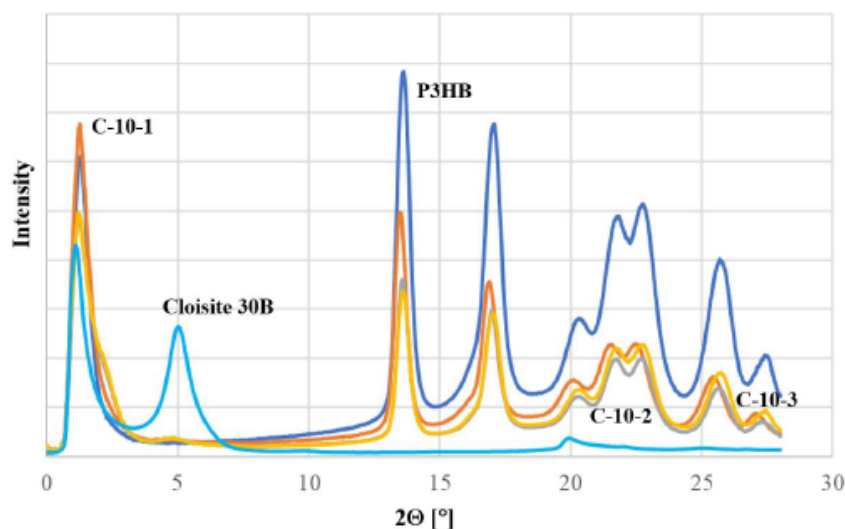


Figure 1. X-ray diffractograms recorded in transmission mode for unfilled P3HB, Cloisite[®]30B organic nanoclay, and nanobiocomposites containing 10 wt.% of PU400 and 1, 2, and 3 wt.% of Cloisite[®]30B nanoclay (designated C-10-1, C-10-2, and C-10-3, respectively).

Moreover, the diffractograms of the prepared nanobiocomposites indicate an increase in the amorphous degree of the semicrystalline matrix P3HB. This is evidenced by the shape change of peaks in the range of 2θ from 19 to 27° .

3.3. Nanostructure Analyzed by TEM

The nanobiocomposites were observed by the TEM method to identify the nanostructure features. The structure analysis of the resulting nanobiocomposites by TEM confirmed the conclusions resulting from the XRD analysis. The TEM micrographs of the nanobiocomposites are shown in Figure 2. Additionally, the TEM micrograph of the unfilled P3HB was also added for comparison. The TEM images of all nanobiocomposites showed a high degree of dispersity of organically modified montmorillonite, i.e., Cloisite[®]30B. P3HB chains penetrated the silicate gallery, with complete delamination (exfoliation) on single silicate nanoplatelets. However, the influence of the nanofiller concentration was not observed at the level of exfoliation. To emphasize this state, the micrograph with less magnification (200 nm) was shown for the nanobiocomposite with the highest concentration (3 wt.%) of Cloisite[®]30B (C-10-3).

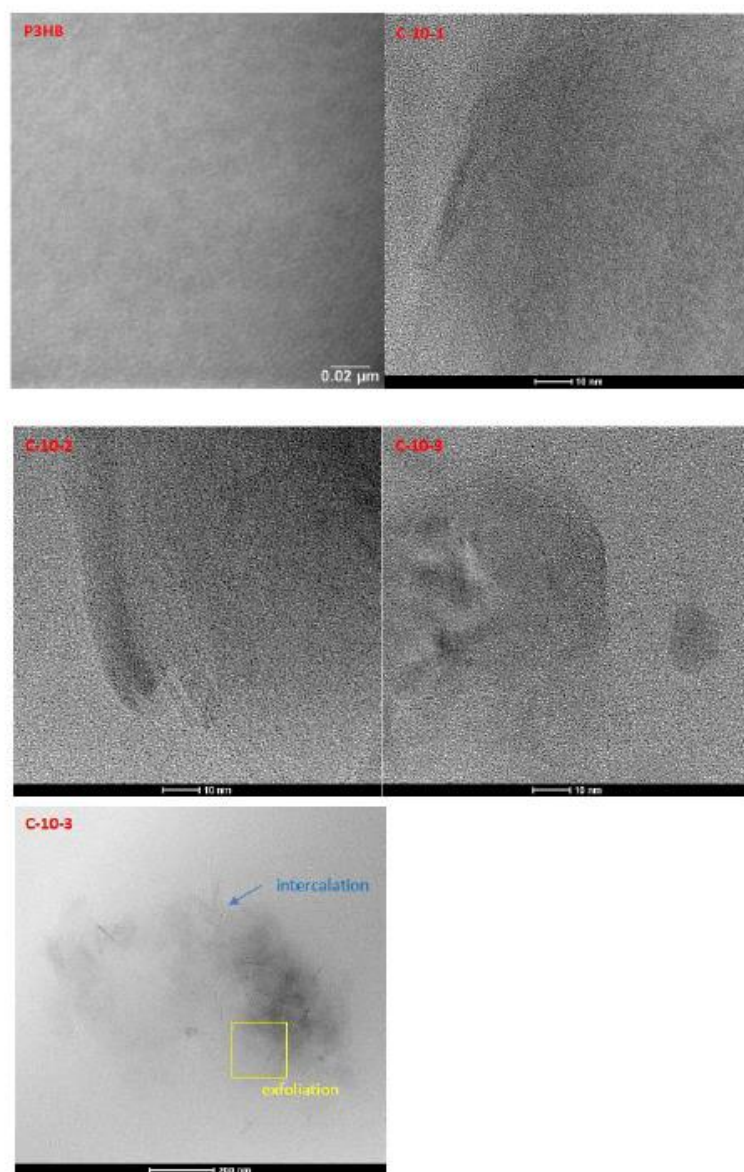


Figure 2. TEM micrographs of P3HB and its hybrid nanobiocomposites with 10 wt.% of PU400 and 1, 2, and 3 wt.% of Cloisite®30B, respectively (designated as C-10-1, C-10-2, and C-10-3), (the visible artifacts resulted from the sample preparation).

3.4. Morphology Analysis of the Obtained Nanobiocomposites

Figure 3 shows the SEM micrographs of the fractured surfaces of the polyester (P3HB) samples and biocomposites containing 10% polyurethane prepared from polyethylene

glycol (PU400) and various amounts of nanofillers. The images shown were obtained by scanning the samples at the breaking point due to the applied force.

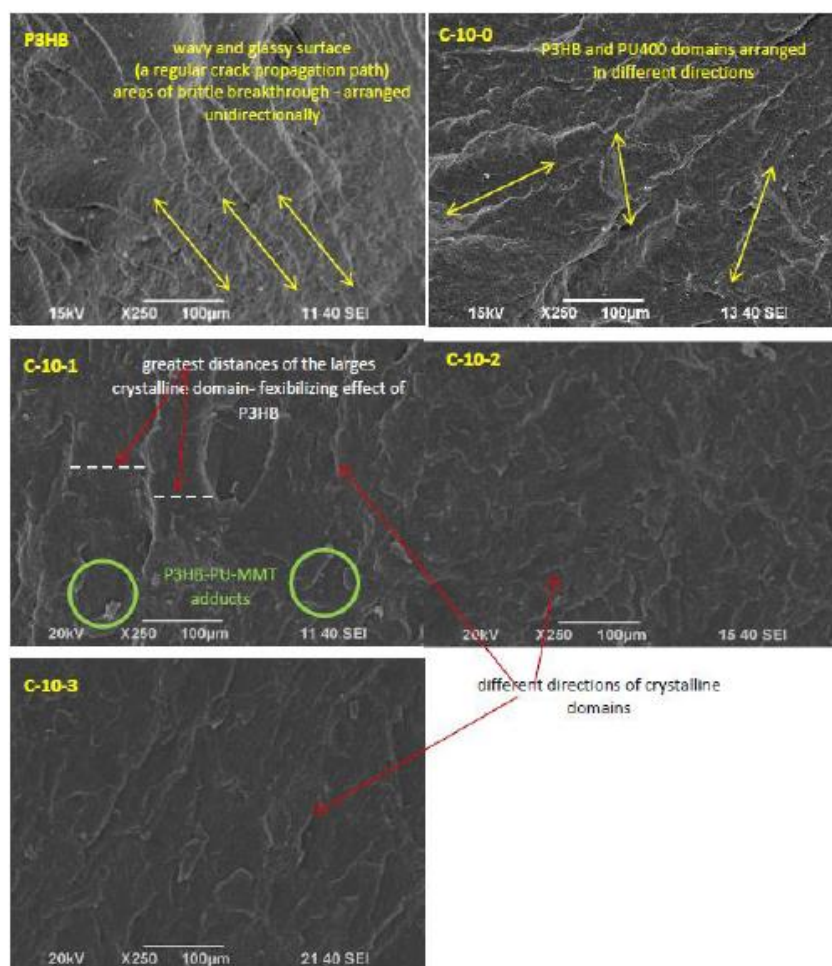


Figure 3. SEM micrographs of unfilled P3HB, P3HB loaded with 10 wt.% PU400 (C-10-0), and its nanobiocomposites containing 10 wt.% of polyurethane (PU400) and 1, 2, and 3 wt.% of Cloisite®30B (designated as C-10-1, C-10-2, and C-10-3, respectively) at 250× magnification.

The fractured surface of the so-called null unmodified polyester (P3HB), shown in Figure 3, is slightly wavy and glassy, indicating the presence of a regular crack propagation path, and areas of brittle breakthrough are arranged unidirectionally.

The next micrograph shows the surface of the blend loaded with 10 wt.% of polyurethane based on PEG400. As can be seen, the introduction of polyurethane (PU400) as the only modifier caused an apparent disruption of the continuity of the P3HB matrix structure. The presence of crystalline domains is noticeable. The rough areas visible in the image, which are arranged in different directions, suggest the interaction of the biopolymer matrix with the

PU400, resulting in the separation of the interacting P3HB chains and the formation of the mentioned domains.

The following micrographs in Figure 3 show the structures of the hybrid nanobiocomposites loaded with 10 wt.% of PU400 and different amounts of nanofiller (1%, 2%, or 3 wt.% of Cloisite®30B).

The polyester matrix modified with 10 wt.% of PU400 and the smallest amount of Cloisite®30B (1 wt.%) had a noteworthy completely different structure from the other samples. Distinct crystalline domains arranged in different directions were much larger in size than in the other accompanying photos. In addition, these domains were separated by larger distances than in the other samples, suggesting a smaller interaction between them and a flexibilizing effect of the P3HB.

3.5. Mechanical Properties of Nanobiocomposites

Figure 4a shows that the tensile strength (TS) of the obtained nanobiocomposites decreased with increasing amounts of incorporated nanofillers. Moreover, the addition of PU400 caused a 13.8% decrease in the TS, while the addition of Cloisite®30B caused a further decrease in the TS. The greater the addition of nanofiller, the greater the decrease in stress, and it reached about 17.5% for the nanobiocomposite containing 1 wt.% of Cloisite®30B (C-10-1) and 36.0% for the nanobiocomposite with 3 wt.% of Cloisite®30B (C-10-3). Figure 4b shows the strain at break as a function of the sample composition. A slight increase in the elongation of 11.4% can be seen due to the addition of PU400. The value of strain at break of the nanobiocomposite C-10-1 increased significantly, by about 60% compared to the unmodified sample and 43.5% compared to the sample modified with PU400. Further increasing the nanofiller content resulted in a decrease in the value of strain at break, which for C-10-3 was lower than the unfilled P3HB.

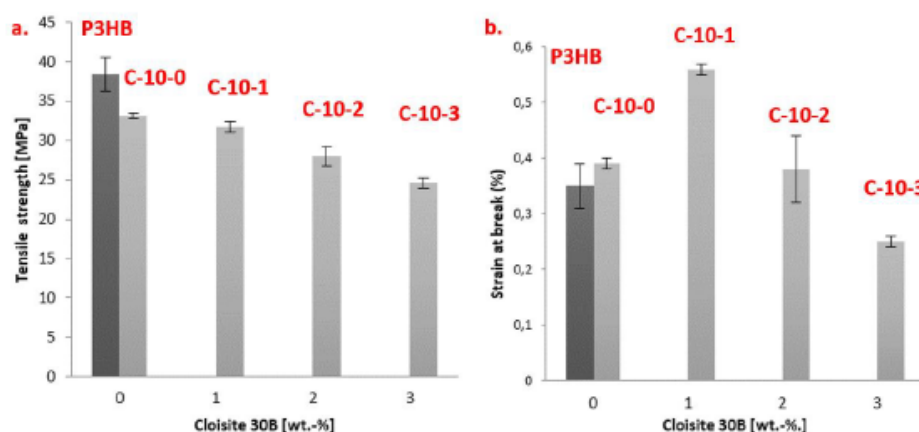


Figure 4. Cont.

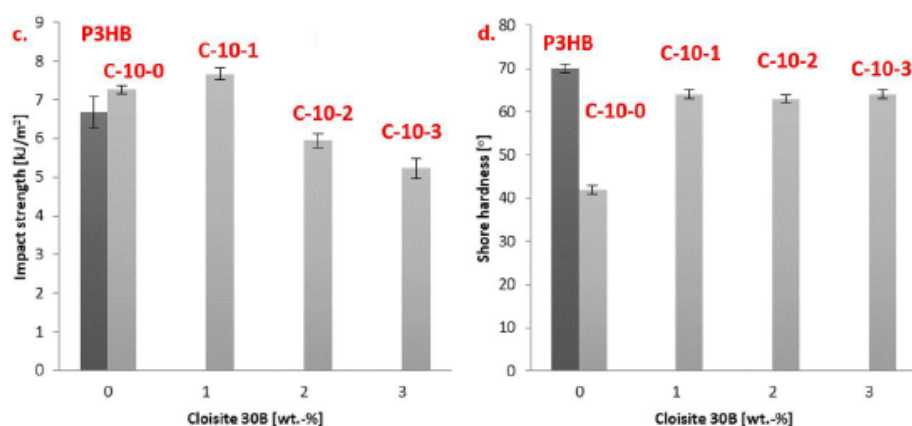


Figure 4. Effect of Cloisite®30B contents on the tensile strength (a), strain at break (b), impact strength (c) and Shore hardness (d) of P3HB and its nanobiocomposites with 10 wt.% of polyurethane (PU400) and 1, 2, and 3 wt.% of Cloisite®30B (designated as C-10-1, C-10-2, and C-10-3, respectively).

The average impact strength (IS) values are shown in Figure 4c. It can be seen that all nanobiocomposites modified with only PU400 or PU400 and 1% Cloisite®30B showed higher impact strength than the original sample. However, the maximum impact strength (an improvement of 15% compared to the unfilled P3HB) was shown by the composite designated as C-10-1. It should be noted that the impact strengths of the nanobiocomposites C-10-2 and C-10-3 were lower compared to the unmodified P3HB. As illustrated in Figure 4d, a decrease in the hardness of the obtained nanobiocomposites is evident. The introduction of PU400 made the blend more flexible, and the greatest decrease in hardness was observed from 70 to 42°, i.e., by 15% of such modified P3HB (C-10-0). The addition of organomodified nanoclay increased the hardness of the nanobiocomposite to 64° in reference to C-10-0, but the decreases in the hardness values are still noticeable compared to the unfilled P3HB.

3.6. Thermal Stability of the Obtained Nanobiocomposites

Thermogravimetric analysis (TGA) was carried out in order to study the thermal stability of the prepared nanobiocomposites (Table 2). The TGA of the composites showed that the thermal stability of the P3HB increased by 10 °C after the introduction of PU400. Moreover, the thermal stability of the nanobiocomposite containing 1% by weight of Cloisite®30B increased by 30 °C compared to the unfilled P3HB. However, a further increase in the amount of nanofiller made the thermal stability of the nanobiocomposite unchanged.

Table 2. The selected characteristic values of the TG and DTG curves of poly(3-hydroxybutyrate) (P3HB) and nanobiocomposites based on P3HB, polyurethane (PU400), and Cloisite®30B recorded at a heating rate of 5 °C/min in a nitrogen atmosphere (designated as C-10-1, C-10-2, and C-10-3, respectively).

Sample	T _{on} (°C)	T _{50%} (°C)	T _{maxd} (°C)	Residue at 600 °C (%)
P3HB	221	281	282	1.10
C-10-0	231	280	278	0.57
C-10-1	251	282	283	0.65
C-10-2	250	281	282	1.31
C-10-3	246	281	281	2.24

The addition of 3 wt.% of Cloisite®30B caused a slight decrease in the thermal stability of the nanobiocomposites, but the thermal stability nevertheless remained superior to that of polyester and polyester modified with 10 wt.% of PU400 (biocomposite designated C-10-0). The fastest decomposition temperatures for P3HB and its hybrid nanobiocomposites were similar (i.e., 282 °C). The exception was P3HB modified with PU400 alone, in which case a temperature drop of 5 °C was observed.

The decomposition residue decreased when PU400 was introduced, and it increased again when Cloisite®30B was introduced, and it increased with its increasing content. This was related to the increase in the content of inorganic aluminosilicate in the nanobiocomposite.

3.7. Heat Resistance of Nanobiocomposites

Qualitative thermal analysis was carried out based on the heat flow rate of the P3HB and its nanobiocomposites using DSC. Figure 5 shows a comparison of the temperature dependence of the heat flow rate of the unfilled P3HB and the obtained nanobiocomposites. The results indicate that the nanobiocomposites, like P3HB, were semicrystalline nanomaterials with the glass transition and the melting observed during the heating scan. Thermal parameters of the phase transitions were estimated under heating and listed in Table 3. The temperature of the glass transition, T_g , and the change in the heat capacity at T_g , ΔC_p , were established based on the study of the glass transition region, and the heat of fusion, ΔH_f , and the onset melting temperature, T_m , were also estimated based on the analysis of the melting region. Additionally, it can be noted that the double melting peak was maintained as with the P3HB analysis. This is probably related to the presence of crystals of different lamella thicknesses [38].

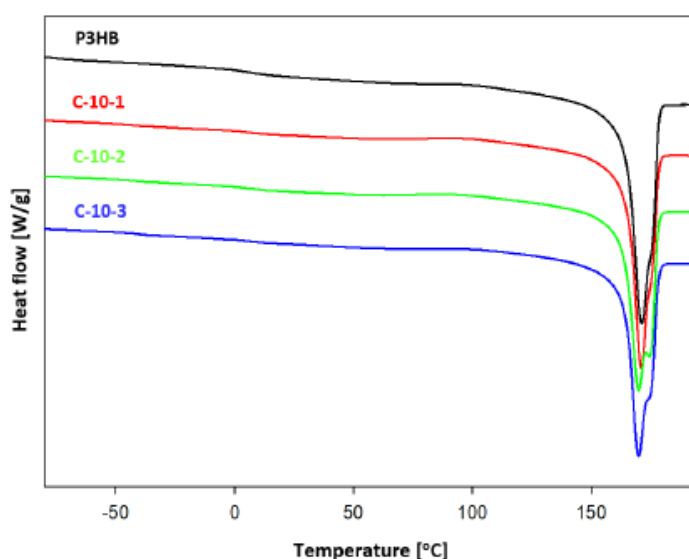


Figure 5. Comparison of heat flow rate of P3HB and its nanobiocomposites with PU400 and Cloisite®30B as a function of temperature (designated as C-10-1, C-10-2, and C-10-3, respectively).

Table 3. Comparison of thermal parameters of P3HB nanobiocomposites with polyurethane (PU400) and Cloisite®30B nanoclay obtained for representative samples heated at 10 °C/min after cooling at the same rate (designated as C-10-1, C-10-2, and C-10-3, respectively).

	P3HB	C-10-0	C-10-1	C-10-2	C-10-3
T_g (°C)	7.7	0.7	−1.0	−3.6	−5.6
ΔC_p (J/(g·°C))	0.1768	0.1100	0.2311	0.1491	0.2126
ΔH_f (J/g)	100.36	48.90	47.86	55.82	50.02
T_m (onset) (°C)	159.7	161.8	156.9	154.3	152.0

The influence of the Cloisite®30B additive on the glass transition temperature (T_g) and melting temperature (T_m), and the variations in the heat of fusion and the heat capacity at T_g were investigated. Figure 5 shows the curves of the unfilled P3HB and its nanobiocomposites with PU400 and a different content of Cloisite®30B. Based on the qualitative analysis (analysis of heat flow rate) of the unfilled semicrystalline P3HB and its nanobiocomposites, the changes in the heat capacity at T_g and the heat of fusion with T_m were estimated. It was observed that the values of the glass transition temperatures were lower than those of the unfilled P3HB. This is proof of the plasticizing effect of Cloisite®30B on the P3HB matrix. The biggest changes in the glass transition temperature of 13.3 °C and the melting temperature of 7.7 °C were observed between the P3HB and C-10-3. The incorporation of polyurethane reduced the glass transition temperature to 0.7 °C [36].

Particularly interesting and useful is the substantial difference between the values of the degradation and the melting temperature, which facilitates processing and prevents the degradation of the material. It can be noted that the best thermal properties and the widest processing window expressed as the difference between the degradation temperature and the melting temperature were obtained for C-10-2 and equaled 95.7 °C (based on $T_{on}-T_m$ (onset) = 250.0 °C–154.3 °C).

In addition, in order to combine the mechanical properties with the thermal properties, the phase contents of the obtained nanocomposites were analyzed. The changes in the heat of fusion and changes in the heat capacity were analyzed in relation to the values expressed as percentages of the crystalline phase (W_c) and the mobile (W_a) and rigid amorphous (W_{RAF}) phases (see Table 4).

Table 4. Characterization of phase contents for the unfilled P3HB and its nanobiocomposites with Cloisite30B.

Sample Designation	$C_p^{100\%}$ (a) (J·g ^{−1} ·°C ^{−1})	$H_f^{100\%}$ (b) (J·g ^{−1})	W_a (c) (%)	W_c (d) (%)	W_{RAF} (e) (%)
P3HB *	0.4900 *	145.00 *	33 *	63 *	4 *
C-10-0 **	0.3770 **	81.90 **	30.4 **	59.7 **	9.9 **
C-10-1	0.5800	114.20	39.8	41.9	18.3
C-10-2	0.3396	150.86	43.9	37.0	19.1
C-10-3	0.5355	126.00	39.7	39.7	20.6

* Data obtained from Ref. [39]; ** data obtained from Ref. [36]; (a) heat capacity at T_g (mobile) of full amorphous sample; (b) heat of fusion of the fully crystalline sample; (c) degree of crystallinity; (d) degree of amorphous phase; (e) rigid amorphous fraction.

Figure 6 shows an example analysis of the changes in the heat capacity at the glass transition temperature and the measured heat of fusion for the semicrystalline C-10-1 samples with different thermal histories after different cooling rates. Depending on the different cooling rates, the semicrystalline C-10-1's glass transition was situated between −4.2 °C and 6.7 °C with a ΔC_p (changes in the heat capacity between liquid and solid states at T_g) in the range 0.11–0.56 J·°C^{−1}·g^{−1}. The melting endotherm of the semicrystalline C-10-1 occurred between 152 and 161 °C with a heat of fusion in the range 2.7–101.1 J·g^{−1}. It should be noted that the changes in the heat capacity values were estimated from the qualitative thermal analysis (analysis of the heat flow rate). The red points are characteristic of a two-phase

model. In turn, the black squares confirm the existence of a rigid amorphous fraction and characterize the three-phase model. The solid straight line indicates the full amorphous and full crystalline C-10-1 nanobiocomposite represented by the yellow star points. The change in the heat capacity for the fully amorphous C-10-1 was $0.58 \text{ J} \cdot \text{g}^{-1} \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$, and the heat of fusion for the fully crystalline samples was $114.2 \text{ J} \cdot \text{g}^{-1}$.

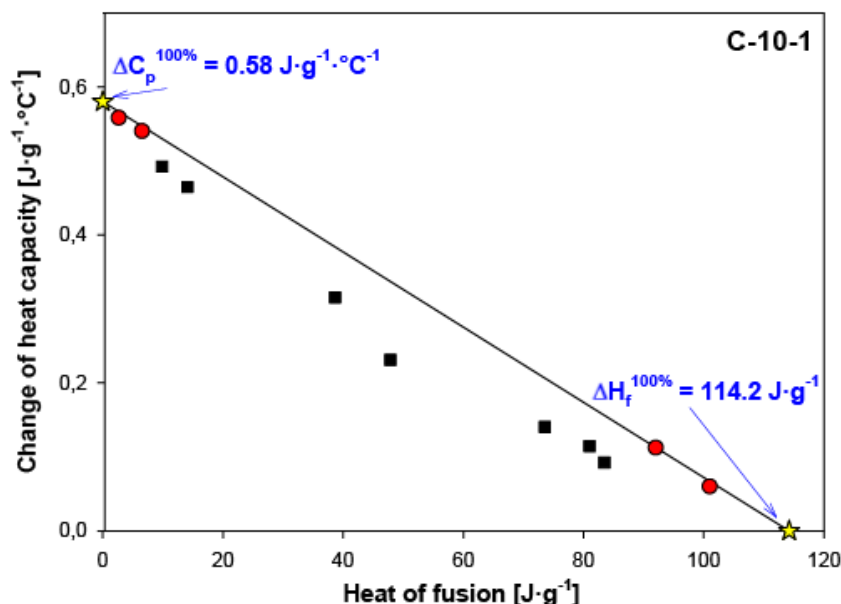


Figure 6. Dependence of the heat capacity change at the glass transition temperature versus the heat of fusion of the semicrystalline nanocomposites P3HB containing 1 wt.% of Cloisite®30B (denoted as C-10-1). The red points are characteristic of the two-phase model of nanocomposite, and the black squares show the three-phase model of C-10-1. The solid straight line indicates the full amorphous and full crystalline C-10-1 samples represented by the yellow star points.

The dependence of the mobile amorphous fraction on the degree of crystallinity of the semi-crystalline C-10-1 is shown in Figure 7. The data obtained from Figure 6 were converted to the corresponding degree of amorphous phase using $W_a = \Delta C_p / \Delta C_p^{100\%}$ and the degree of crystallinity using $W_c = \Delta H_f / \Delta H_f^{100\%}$. The degree of crystallinity (W_c) was defined as the ratio between the experimental heat of fusion (ΔH_f) of the semicrystalline sample and the heat of fusion of the fully crystalline C-10-1 sample ($\Delta H_f^{100\%}$). ΔC_p and $\Delta C_p^{100\%}$ are the variations in the heat capacity at T_g (mobile) of the semi-crystalline and full amorphous C-10-1, respectively. For computation, a $\Delta C_p^{100\%}$ value equal to $0.58 \text{ J} \cdot \text{g}^{-1} \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$ and $\Delta H_f^{100\%} = 114.2 \text{ J} \cdot \text{g}^{-1}$ were used. The green triangle point derived from the qualitative analysis of the C-10-1 is also plotted in Figure 7. The data of this green triangle point were obtained during heating at $10^\circ\text{C}/\text{min}$ after cooling the sample at a constant rate of $10^\circ\text{C}/\text{min}$ from the melting. It was calculated that the selected C-10-1 sample (green triangle) remained in a three-phase model, which is confirmed in Figure 7 (the sample shows deviation from the straight line). As illustrated in Figure 7, C-10-1 contained 39.8% amorphous and 41.9% crystalline phase, and the rigid amorphous fraction was 18.3% ($W_{RAF} = 1 - W_a - W_c$). Similar analyses for the other nanocomposites were carried out and are listed in Table 4.

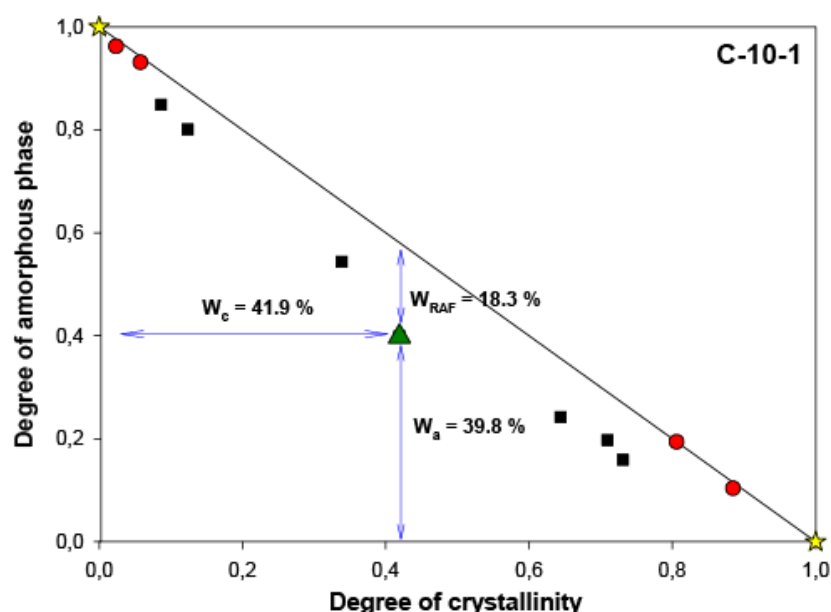


Figure 7. Dependence of the amorphous fraction as a function of the degree of crystallinity of the semicrystalline P3HB nanocomposite containing 1 wt.% of Cloisite®30B (denoted as C-10-1). The red points are characteristic of the two-phase model of nanocomposite, and the black squares show the three-phase model of C-10-1. The solid straight line indicates the full amorphous and full crystalline C-10-1 samples represented by the yellow star points.

The change in the heat capacity for the fully amorphous material and the heat of fusion for the fully crystalline material were also obtained using the same method as for C-10-1. In Table 4, the phase contents are shown for the samples that were cooled at a controlled rate of 10 °C/min and then heated at a rate of 10 °C/min.

3.8. FTIR Analysis for P3HB-Based Hybrid Nanobiocomposites

The FTIR spectra of the P3HB, PU400, and P3HB blends with 10 wt.% of PU400 and its hybrid nanobiocomposites with Cloisite®30B are shown in Figures 8 and 9. The FTIR spectrum of the P3HB shows a characteristic band of ester, i.e., a vibration band of carbonyl groups at 1718 cm^{-1} . Moreover, there were bands of asymmetrical and symmetrical C-O bonds of the ester at 1246 and 1129 cm^{-1} . Two bands of asymmetrical vibrations and symmetrical C-H bonds of the methyl and methylene groups were observed at 2990 and 2940 cm^{-1} . However, no band was observed above 3000 cm^{-1} .

In the FTIR spectrum of PU400 (Figure 8), there was a valence vibration band of the N-H bond of the urethane group in the range of 3600–3100 cm^{-1} , which almost disappeared in the spectrum of the C-10-0. A wide band of valence vibrations of asymmetric and symmetric methylene groups of PU400 was observed in the range of 2800–3000 cm^{-1} . The band of valence vibrations of the urethane carbonyl groups appeared at 1702 cm^{-1} . Bands of the asymmetric and symmetric C-O bonds of the urethane groups are visible at 1271 and 1095 cm^{-1} .

In the FTIR spectrum of the hybrid nanobiocomposites (Figure 9), a small band appeared above 3000 cm^{-1} , the intensity of which slightly increased with increasing nanoclay contents. In the 2800–3000 cm^{-1} range, there were three bands of asymmetrical and symmetrical C-H bonds of the methyl and methylene groups at 2877, 2933, and

2977 cm^{-1} . A combined band of valence vibrations of the C=O ester and urethane groups was observed at 1707 cm^{-1} . The common band for esters and urethanes for the vibrations of asymmetric C-O bonds appeared at a wavenumber of 1270 cm^{-1} , and the band of symmetric vibrations of C-O bonds appeared at 1097 cm^{-1} .

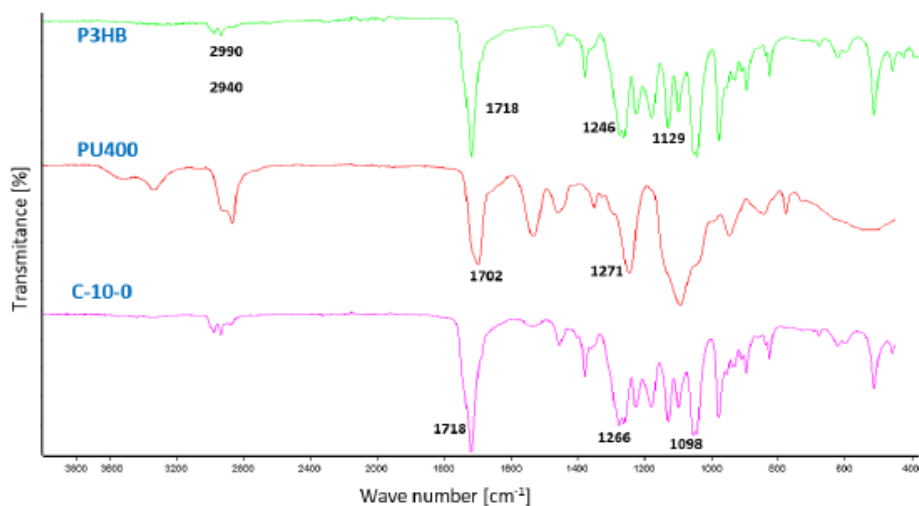


Figure 8. FTIR spectra of P3HB, polyurethane (PU400), and blend of P3HB and 10 wt.% of polyurethane (PU400) (C-10-0).

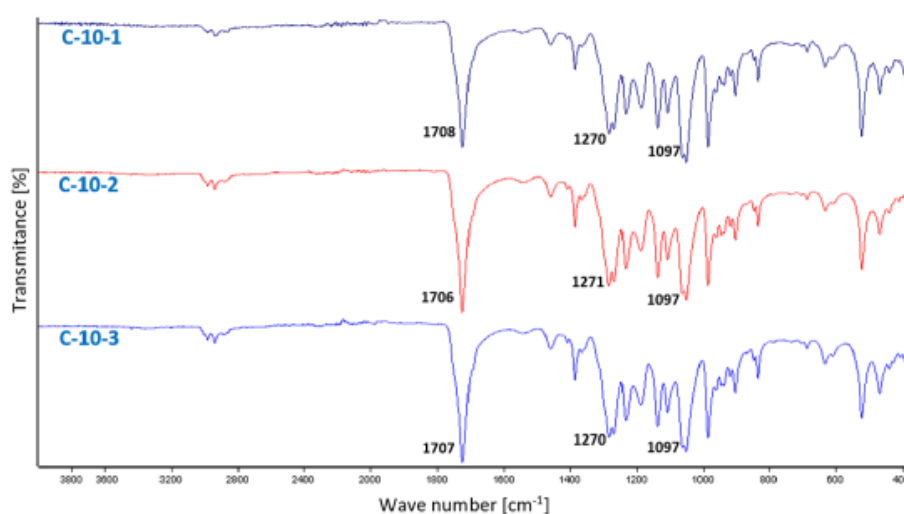


Figure 9. FTIR spectra of hybrid nanobiocomposites based on P3HB containing 10 wt.% of polyurethane (PU400) and 1, 2, and 3 wt.% of Cloisite®30B designated as C-10-1, C-10-2, and C-10-3, respectively.

4. Discussion

Nanobiocomposites of P3HB modified with Cloisite®30B nanoclay and linear aliphatic polyurethane were prepared with the aim of improving the physical properties of the P3HB matrix. Polyurethane (PU400) was obtained by reacting polyethylene glycol with a molecular weight of 400 g/mole with hexamethylene 1,6-diisocyanate (HDI). The introduction of two additives aimed to improve the biopolymer properties resulting from the plasticizing effect of polyurethane, as described earlier [36], and the presence of nanofiller.

Analysis of the diffraction images (Figure 1) of the obtained hybrid nanobiocomposites proved the predominance of the exfoliated structure. The introduction of 1 wt.% of the organomodified nanoclay (Cloisite®30B) led to a fully exfoliated structure (C-10-1). On the other hand, the presence of a larger amount of Cloisite®30B resulted in possible partial intercalation in addition to delamination (Figure 1), indicating the formation of nanobiocomposites with a disordered, mixed structure.

The TEM images (Figure 2) of the nanobiocomposites show a high degree of nanofiller dispersion, and no influence of the nanoclay concentration on the composite nanostructure was observed. The complete delamination of single silicate nanoplatelets took place in these systems.

The interactions and compatibility of the components of the produced hybrid nanobiocomposites were confirmed by FTIR spectral analysis, indicating the formation of hydrogen bonds between the urethane groups of the modifier and the ester groups of the polyester and the modified montmorillonite (Figure 9).

The SEM images (Figure 3) of the sample fracture surfaces show the mechanism of the interaction of the modifiers by projecting them onto the mechanical properties of the tested nanobiocomposites. SEM analysis of the P3HB modified with PU400 suggested the disentanglement of interacting P3HB chains due to the presence of the PU400, which may have accounted for the increases in the strain at break and impact strength and a slight decrease in the tensile strength of the blend. The significant reduction in hardness was induced by the plasticizing effect of the polyurethane modifier. These results are in contrast to those of the research of Garcia-Quiles et al. who developed P3HB samples loaded with modified montmorillonite (natural sodium montmorillonite modified with a quaternary ammonium salt) at 3 wt.% and evaluated the mechanical properties. The tensile strength values found for a nanocomposite containing 3 wt.% of nanoclay increased by approximately 42% in relation to the nonmodified sample [40]. This may have resulted from the method of composite preparation, as they mixed samples at lower temperatures, but at much higher rotation speeds, which induced higher shear and therefore led to the dispersion and delamination of the montmorillonite.

The addition of 1 wt.% Cloisite®30B indicated the formation of P3HB-PU-MMT adducts that are easily displaced with respect to each other, and this phenomenon may have affected a significant increase in the elongation at break and a slight increase in the impact strength of the tested sample. However, the increase in the hardness of the material may suggest a stiffening effect of the MMT presence.

The addition of quantities greater than 1 wt.%, i.e., 2 wt.% or 3 wt.% of Cloisite®30B already excludes the formation of the mentioned adducts inherent in the C-10-1 sample and indicates that the addition of 2% or 3% Cloisite®30B is already useless. The structures of these nanobiocomposites were similar to P3HB containing only PU400, and they were more similar to a binary biocomposite with more nanofiller added. Increasing the amount of MMT above 1 wt.% did not affect the material's elasticity, which appeared to decrease the impact strength, toughness, and relative elongation at break of these nanobiocomposites and suggests the stiffening of the P3HB-PU400 samples by such amounts of Cloisite®30B (2 and 3 wt.%).

The obtained P3HB nanobiocomposites showed a predominance of an exfoliated structure, but a decrease in the content of nanofiller resulted in only the exfoliated structure, which had an impact on the mechanical properties. Therefore, the best mechanical properties were shown by the composite designated as C-10-1, containing 1 wt.% of Cloisite®30B

and 10 wt.% of PU400, whose impact resistance enhancement was due to the exfoliated structure and the formation of the P3HB-PU-MMT adducts as observed on the SEM micrographs. The addition of organomodified nanoclay resulted in a stiffening of the exfoliated structure and an increase in the hardness of the composite but below the hardness value of the unfilled P3HB.

The thermal properties of the produced nanobiocomposites were improved as expected. The addition of the PU400 modifier caused an increase in the onset of the degradation temperature by 10 °C, and a further increase of 20 °C or 30 °C due to the addition of 1 wt.% of Cloisite®30B compared to the unfilled P3HB. Increasing the amount of nanofiller not only failed to further increase the thermostability but even induced its decrease. Nanocomposites with Cloisite®30B alone were obtained by Naguib using an intercalation method. It was observed that the greater the addition of nanoclay, the greater the reduction in the composite decomposition temperature. It should be noted that 5 and 10 wt.% of Cloisite®30B were used, and only a deterioration in the thermal properties of the composites was observed compared to the neat P3HB [41].

The addition of polyurethane caused the plasticization of P3HB, which appeared in the form of a decrease in the glass transition temperature, while the addition of nanoclay caused a stiffening effect and a further increase in the glass transition temperature as the nanoclay content increased. In summary, the plasticizing effect was not completely suppressed by the presence of nanofiller because the value of the glass transition temperature of the nanocomposites remained lower than the glass transition temperature of the unfilled P3HB. The tendency of the T_g to decrease has been observed in other studies [40,42,43]. Furthermore, the addition of Cloisite®30B led to a decrease in the degree of crystallinity of nanobiocomposites in reference to P3HB. The X-ray analysis of the prepared nanobiocomposites also confirmed an increase in the amorphousness of the nanobiocomposites compared to the semi-crystalline unfilled P3HB.

From the comparison of the melting point values of the individual nanobiocomposites and their degradation onset temperatures (Tables 2 and 3), it was possible to notice a definite increase in their differences, which indicates an increase in the processing window of the produced P3HB hybrid nanobiocomposites compared to the unfilled P3HB up to almost 100 °C.

This increases the possibilities of using P3HB for the production of disposable packaging materials or in medical applications, e.g., as implants, drug carriers, etc. Preliminary studies of nanofiber formation and active substance release involving P3HB and cytosine have already been carried out [44].

5. Conclusions

The conducted tests clearly showed the influence of the dispersion degree of Cloisite®30B nanoclay in the P3HB matrix with the addition of aliphatic linear polyurethane (PU400) on selected thermal and mechanical properties of the produced nanobiocomposites.

The polymer matrix chains penetrated the interlayer spaces of Cloisite®30B, and delamination occurred with partial intercalation as the proportion of nanoclay in the matrix increased. This was possible due to the strong interaction between the components and the shear forces during direct mixing in a co-rotating twin-screw microextruder.

The morphology studies on the produced nanobiocomposites showed the compatibility of the components used and the homogeneity of the obtained structure, the plasticizing effect of PU400, and the stiffening effect of Cloisite®30B. The polyester matrix modified with 10% PU400 and the smallest amount of Cloisite®30B (1 wt.%) was characterized by the formation of P3HB-PU-MMT adducts easily displaced with respect to each other, which positively affected the mechanical properties of the nanobiocomposites, i.e., better impact strength and lower hardness. The best mechanical properties were shown by a nanocomposite containing 1 wt.%. Cloisite®30B (15% increase in impact strength, 60% increase in relative elongation at break, and 15% decrease in hardness).

The introduction of nanoplatelets into the polymer matrix resulted in better thermal stability of the nanocomposites as measured by the TGA method under non-oxidizing conditions. There was an increase in the degradation temperature by 30 °C. As the concentration of the nanoplatelets increased, the thermal stability of the nanocomposites deteriorated but remained better compared to the unfilled P3HB.

Qualitative thermal analysis showed a decrease in the glass transition and melting temperature of the P3HB nanobiocomposites. A reduction of the melting temperature was beneficial due to easier processing and prevented material degradation.

The obtained nanobiocomposites containing the smallest amount of nanofiller (1 wt.%) exhibited an exfoliated structure and formed P3HB-PU-MMT adducts, which were characterized by the best mechanical and thermal properties.

Author Contributions: B.K.—investigation, data curation, original draft preparation; A.C.K.—investigation, data curation, formal analysis, writing; A.B.—formal analysis, writing; M.B.—formal analysis, review and editing; V.S.—investigation, formal analysis, supervision; M.K.—investigation, formal analysis; I.Z.—conceptualization, methodology, formal analysis, original draft preparation. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was partially funded by Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic grant numbers [8J20PL026 and RP/CPS/2022/002].

Data Availability Statement: Not applicable.

Acknowledgments: X-ray analysis was conducted at the Laboratory of Spectrometry, Faculty of Chemistry, Rzeszów University of Technology and financed by the DS budget. The work was conducted in the range of mobility projects PPN/BCZ/2019/1/00063.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

- Rhim, J.-W.; Park, H.-M.; Ha, C.-S. Bionanocomposites for food packaging applications. *Prog. Polym. Sci.* **2013**, *38*, 1629–1652. [\[CrossRef\]](#)
- Bhardwaj, R.; Mohanty, A.K.; Drzal, L.T.; Pourboghrat, F.; Misra, M. Renewable Resource-Based Green Composites from Recycled Cellulose Fiber and Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) Bioplastic. *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 2044. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Mehrotra, S.; Chouhan, D.; Konwarh, R.; Kumar, M.; Jodi, P.K.; Mandal, B.B. Comprehensive Review on Silk at Nanoscale for Regenerative Medicine and Allied Applications. *ACS Biomater. Sci. Eng.* **2019**, *5*, 2054–2078. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Chen, G.Q.; Wu, Q. The application of polyhydroxyalkanoates as tissue engineering materials Biomaterials. *Biomaterials* **2005**, *26*, 6565–6578. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Demirbas, A. Biodegradable Plastics from Renewable Resources Energ. *Source Part A* **2007**, *29*, 419. [\[CrossRef\]](#)
- Franchetti, S.M.; Marconato, J.C. Biodegradable polymers—A partial way for decreasing the amount of plastic waste. *Quim. Nova* **2006**, *29*, 811. [\[CrossRef\]](#)
- Freier, T. Biopolyesters in Tissue Engineering Applications. *Adv. Polym. Sci.* **2006**, *203*, 1–61.
- Ikada, Y.; Tsuji, H. Biodegradable polyesters for medical and ecological applications Macromol. *Rapid Commun.* **2000**, *21*, 117. [\[CrossRef\]](#)
- Koller, M.; Salerno, A.; Muhr, A.; Reiterer, A.; Braunegg, G. Polyhydroxyalkanoates: Biodegradable Polymeric Materials from Renewable Resources. *Mater. Technol.* **2013**, *47*, 5.
- Insomphun, C.; Chuah, J.-A.; Kobayashi, S.; Fujiki, T.; Numata, K. Influence of Hydroxyl Groups on the Cell Viability of Polyhydroxyalkanoate (PHA) Scaffolds for Tissue Engineering. *ACS Biomater. Sci. Eng.* **2017**, *3*, 3064–3075. [\[CrossRef\]](#)
- Lenz, R.W.; Marchessault, R.H. Bacterial Polyesters: Biosynthesis, Biodegradable Plastics and Biotechnology. *Biomacromolecules* **2005**, *6*, 1–8. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Kaniuk, U.L.; Stachewicz, Development and Advantages of Biodegradable PHA Polymers Based on Electrospun PHBV Fibers for Tissue Engineering and Other Biomedical Applications. *ACS Biomater. Sci. Eng.* **2021**, *7*, 5339–5362. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Nair, L.S.; Laurencin, C.T. Biodegradable polymers as biomaterials. *Prog. Polym. Sci.* **2007**, *32*, 762–798. [\[CrossRef\]](#)
- Philip, S.; Keshavarz, T.; Roy, I. Review Polyhydroxyalkanoates: Biodegradable polymers with a range of applications. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **2007**, *82*, 233–247. [\[CrossRef\]](#)
- Reddy, C.S.K.; Ghai, R.; Rashmi; Kalia, V.C. Polyhydroxyalkanoates: An overview. *Bioresour. Technol.* **2003**, *87*, 137–146. [\[CrossRef\]](#)

16. Marcano, A.; Haidar, N.B.; Marais, S.; Valletton, J.-M.; Duncan, A.C. Designing Biodegradable PHA-Based 3D Scaffolds with Antibiofilm Properties for Wound Dressings: Optimization of the Microstructure/Nanostructure. *ACS Biomater. Sci. Eng.* **2017**, *3*, 3654–3661. [\[CrossRef\]](#)
17. Wu, Q.; Wang, Y.; Chen, G.Q. Medical Application of Microbial Biopolyesters Polyhydroxyalkanoates. *Artif. Cell Blood Substit. Biotechnol.* **2009**, *37*, 1–12. [\[CrossRef\]](#)
18. Dias, Y.J.; Robles, J.R.; Sinha-Ray, S.; Abiade, J.; Pourdeyhi, B.; Niemczyk-Soczynska, B.; Kolbuk, D.; Sajkiewicz, P.; Yarin, A.L. Solution-Blown Poly(hydroxybutyrate) and ϵ -Poly-L-lysine Submicro- and Microfiber-Based Sustainable Nonwovens with Antimicrobial Activity for Single-Use Applications. *ACS Biomater. Sci. Eng.* **2021**, *7*, 3980–3992. [\[CrossRef\]](#)
19. Matsumoto, K.; Shiba, T.; Hiraide, Y.; Taguchi, S. Incorporation of Glycolate Units Promotes Hydrolytic Degradation in Flexible Poly(glycolate-co-3-hydroxybutyrate) Synthesized by Engineered *Escherichia coli*. *ACS Biomater. Sci. Eng.* **2017**, *3*, 3058–3063. [\[CrossRef\]](#)
20. Flechter, A. *Plastics from Bacteria and for Bacteria: PHA as Natural, Biodegradable Polyesters*; Springer: New York, NY, USA, 1993; Volume 6, pp. 77–93.
21. Leja, K.; Lewandowicz, G. Polymer biodegradation and biodegradable polymers—A review. *Polish J. Environ. Stud.* **2010**, *19*, 255–266.
22. Sudesh, K.; Abe, H.; Doi, Y. Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: Biological polyesters. *Prog. Polym. Sci.* **2000**, *25*, 1503–1555. [\[CrossRef\]](#)
23. Poli, A.; Di Donato, P.; Abbamondi, G.R.; Nicolaus, B. Synthesis, Production, and Biotechnological Applications of Exopolysaccharides and Polyhydroxyalkanoates. *Archaea* **2011**, 1–13. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Pan, P.; Inoue, Y. Polymorphism and isomorphism in biodegradable polyesters. *Prog. Polym. Sci.* **2009**, *34*, 605–640. [\[CrossRef\]](#)
25. Yokouchi, M.; Chatani, Y.; Tadokoro, H.; Teranishi, K.; Tani, H. Structural studies of polyesters: 5. Molecular and crystal structures of optically active and racemic poly(β -hydroxybutyrate). *Polymer* **1973**, *14*, 267–272. [\[CrossRef\]](#)
26. Gain, O.; Espuche, E.; Pollet, E.; Alexandre, M.; Dubois, P. Gas barrier properties of poly(3-caprolactone)/clay nanocomposites: Influence of the morphology and polymer/clay interactions. *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* **2005**, *43*, 205–214. [\[CrossRef\]](#)
27. Grassie, N.; Murray, E.J.; Holmes, P.A. Thermal degradation of poly(-D)- β -hydroxybutyric acid: Part 3—The reaction mechanism. *Polym. Degrad. Stab.* **1984**, *6*, 127–134. [\[CrossRef\]](#)
28. Grassie, N.; Murray, E.J.; Holmes, P.A. Thermal degradation of poly(-D)- β -hydroxybutyric acid: Part 1—Identification and quantitative analysis of products. *Polym. Degrad. Stab.* **1984**, *6*, 47–61. [\[CrossRef\]](#)
29. Grassie, N.; Murray, E.J.; Holmes, P.A. Thermal degradation of poly(-D)- β -hydroxybutyric acid: Part 2—Changes in molecular weight. *Polym. Degrad. Stab.* **1984**, *6*, 95–103. [\[CrossRef\]](#)
30. Rivera-Briso, A.; Serrano-Aroca, Á. Poly(3-Hydroxybutyrate-co-3-Hydroxyvalerate): Enhancement Strategies for Advanced Applications. *Polymers* **2018**, *10*, 732. [\[CrossRef\]](#)
31. de Oliveira, A.D.; Beatrice, C.A.G. *Polymer Nanocomposites with Different Types of Nanofiller, Polymer Nanocomposites—Recent Evolutions*; IntechOpen: Rijeka, Croatia, 2019; p. 26.
32. Rajapaksha, A.U.; Vithanage, M. *Pharmaceuticals and Personal Care Products: Waste Management and Treatment Technology*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2019.
33. Akpan, E.I.; Shen, X.; Wetzel, B.; Friedrich, K. *Design and Synthesis of Polymer Nanocomposite in Polymer Composites with Functionalized Nanoparticles*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2018; pp. 47–83.
34. Mczumder, M.S.; Maitrpad, A.; Mourad, A.H.I. Polymeric nanobiocomposites for biomedical applications. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* **2017**, *105*, 1241–1259. [\[CrossRef\]](#)
35. Hasan, K.M.F.; Horvath, P.G.; Alpar, T. Potential Natural Fiber Polymeric Nanobiocomposites: A Review. *Polymers* **2020**, *12*, 1072. [\[CrossRef\]](#)
36. Zarzyka, I.; Czerniecka-Kubicka, A.; Hęclik, K.; Dobrowolski, D.; Pyda, M.; Leś, K.; Walczak, M.; Białkowska, A.; Bakar, M. Thermally stable biopolymer composites based on poly(3-hydroxybutyrate) modified with linear aliphatic polyurethanes—Preparation and properties. *Acta Bioeng. Biomech.* **2021**, *23*, 1–15. [\[CrossRef\]](#)
37. Wunderlich, B. *Thermal Analysis of Polymeric Materials*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2005.
38. Czerniecka-Kubicka, A.; Zarzyka, I.; Pyda, M. Advanced analysis of poly(3-hydroxybutyrate) phases based on vibrational heat capacity. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2017**, *127*, 905–914. [\[CrossRef\]](#)
39. Czerniecka-Kubicka, A.; Frącz, W.; Jasiński, M.; Pilch-Pitera, B.; Pyda, M.; Zarzyka, I. Thermal properties of poly(3-hydroxybutyrate) modified by nanoclay. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2017**, *128*, 1513–1526. [\[CrossRef\]](#)
40. Garcia-Quiles, L.; Cuello, A.E.; Castell, P. Sustainable Materials with Enhanced Mechanical Properties Based on Industrial Polyhydroxyalkanoates Reinforced with Organomodified Sepiolite and Montmorillonite. *Polymers* **2019**, *11*, 696–714. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
41. Naguib, H.E.; Aziz, M.S.; Saad, G.R. Effect of organo-modified montmorillonite on thermal properties of bacterial poly(3-hydroxybutyrate). *Polym.-Plast. Technol. Eng.* **2014**, *53*, 90–96. [\[CrossRef\]](#)
42. Corre, Y.M.; Bruzard, S.; Audic, J.L.; Grohens, Y. Morphology and functional properties of commercial polyhydroxyalkanoates: A comprehensive and comparative study. *Polym. Test.* **2012**, *31*, 226–235. [\[CrossRef\]](#)

43. Thiré, R.M.; Arruda, L.C.; Barreto, L.S. Morphology and thermal properties of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)/attapulgite nanocomposites. *Mater. Res.* **2011**, *14*, 340–344. [[CrossRef](#)]
44. Czerniecka-Kubicka, A.; Skotnicki, M.; Zarzyka, I.; Lovecka, L.; Maternia-Dudzic, K.; Kovarova, M.; Sedlarik, V.; Tutka, P.; Pyda, M. The cytosine-enriched poly(3-hydroxybutyrate) fine fibers as a starting product for the production of a new dosage form of cytosine with sustained release. *Int. J. Biol. Macromol.* **2021**. *in review*.

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

8.2. Publikacja [D2] – Załącznik 2

B. Krzykowska, A. Czerniecka-Kubicka, A. Białkowska, M. Bakar, K. Hęclik, L. Dobrowolski, M. Longosz, I. Zarzyka, Polymer biocompositions and hybrid polymer nanobiocomposites based on P3HB with an aliphatic polyurethane and organically modified montmorillonite, Int. J. Mol. Sci., 24, 17405 (2023). <https://doi.org/10.3390/ijms242417405>

Autor	%
B. Krzykowska	60
A. Czerniecka-Kubicka	5
A. Białkowska	5
M. Bakar	5
K. Hęclik	5
L. Dobrowolski	5
M. Longosz	5
I. Zarzyka	10



Article

Polymer Biocompositions and Nanobiocomposites Based on P3HB with Polyurethane and Montmorillonite

Beata Krzykowska ^{1,*}, Anna Czerniecka-Kubicka ² , Anita Białkowska ³, Mohamed Bakar ³, Karol Hęclik ⁴,
Lucjan Dobrowolski ⁴, Michał Longosz ¹ and Iwona Zarzyka ^{1,*}

- ¹ Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, Rzeszów University of Technology, Powstańców Warszawy 6, 35-959 Rzeszów, Poland; michal.longosz98@gmail.com
- ² Department of Experimental and Clinical Pharmacology, Medical College of Rzeszów University, The University of Rzeszów, al. Tadeusza Rejtana 16C, 35-310 Rzeszów, Poland; aczerniecka@ur.edu.pl
- ³ Faculty of Chemical Engineering and Commodity Science, University of Technology and Humanities, Chrobrego 27, 26-600 Radom, Poland; a.bialkowska@uthrad.pl (A.B.); m.bakar@wp.pl (M.B.)
- ⁴ Department of Biotechnology and Bioinformatic, Faculty of Chemistry, Rzeszów University of Technology, Powstańców Warszawy 6, 35-959 Rzeszów, Poland; kheclik@prz.edu.pl (K.H.); ldobrowolski@prz.edu.pl (L.D.)
- * Correspondence: b.krzykowska@prz.edu.pl (B.K.); izarzyka@prz.edu.pl (I.Z.); Tel.: +48-017-865-1762 (I.Z.); Fax: +48-017-854-3655 (B.K. & I.Z.)



Citation: Krzykowska, B.; Czerniecka-Kubicka, A.; Białkowska, A.; Bakar, M.; Hęclik, K.; Dobrowolski, L.; Longosz, M.; Zarzyka, I. Polymer Biocompositions and Nanobiocomposites Based on P3HB with Polyurethane and Montmorillonite. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 17405. <https://doi.org/10.3390/ijms242417405>

Academic Editor: Jordi Puiggali

Received: 26 October 2023

Revised: 2 December 2023

Accepted: 5 December 2023

Published: 12 December 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Due to the growing interest in biopolymers, biosynthesizable and biodegradable polymers currently occupy a special place. Unfortunately, the properties of native biopolymers make them not good enough for use as substitutes for conventional polymers. Therefore, attempts are being made to modify their properties. In this work, in order to improve the properties of the poly(3-hydroxybutyrate) (P3HB) biopolymer, linear aliphatic polyurethane (PU) based on 1,4-butane diol (BD) and hexamethylene 1,6-diisocyanate (HDI) was used. The conducted studies on the effect of the amount of PU used (5, 10, 15 and 20 m/m%) showed an improvement in the thermal properties of the prepared polymer blends. As part of the tested mechanical properties of the new polymer blends, we noted the desired increase in the tensile strength, and the impact strength showed a decrease in hardness, in particular at the presence of 5 m/m% PU. Therefore, for further improvement, hybrid nanobiocomposites with 5 m/m% PU and organically modified montmorillonite (MMT) (Cloisite 30®B) were produced. The nanoadditive was used in a typical amount of 1–3 m/m%. It was found that the obtained nanobiocomposites containing the smallest amount of nanofillers, i.e., 1 m/m% Cloisite 30®B, exhibited the best mechanical and thermal properties.

Keywords: natural polyesters; modification; structure-properties relationship

1. Introduction

Plastics are used in almost every field, from the automotive industry to medicine. With the growing awareness of environmental protection in society, biopolymers are increasingly attracting attention. These materials are replacing the previously widely used non-biodegradable polymers. Most research is based on already existing biomaterials such as polyhydroxyalkanoates (PHAs) [1,2]. These polymers can be converted into water and carbon dioxide in the presence of oxygen, and into methane in the case of anaerobic conditions.

PHAs, i.e., linear biopolyesters composed of hydroxyalkanoate units, are biodegradable and biocompatible, and can successfully replace petroleum-based materials. The most popular polymer in the PHAs family is poly(3-hydroxybutyrate), P3HB (Figure 1) [3], known as a double green polymer, which is used in the agricultural, packaging and medical industries [4–7].

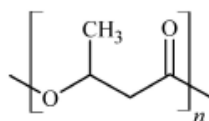


Figure 1. Repeated unit of P3HB.

Compared to other biodegradable polyesters, P3HB is a semicrystalline material with a high melting point ($T_m = 173\text{--}180\text{ }^\circ\text{C}$) and its glass transition temperature (T_g) is about $0\text{--}10\text{ }^\circ\text{C}$. P3HB is produced as an energy carrier by various bacteria [2,8,9], which build polymer chains that are perfectly linear and isotactic [10], allowing unique properties and a high degree of crystallinity [11]. In this form, P3HB is biobased, biodegradable and biocompatible [12,13]. The polymer is UV-resistant, and is insoluble in water and relatively resistant to hydrolysis, which distinguishes it from other biodegradable polymers that are either water-soluble or moisture-sensitive.

Therefore, P3HB is a very interesting material, serving as a substitute for synthetic polypropylene. P3HB can be extruded, injected and pressed using conventional processing equipment. Unfortunately, the storage of P3HB products at room temperature causes deterioration of product properties, and the material becomes very brittle due to the formation of significant proportions of the crystalline phase [14]. Such disadvantages of P3HB, i.e., stiffness and brittleness, and above all low thermal stability, which is only slightly higher than its melting point [15], limit the large-scale commercial use of P3HB. The thermal instability of this polymer during plasticization renders the replacement of commercial non-biodegradable polymers with native P3HB difficult due to the narrow window of processing conditions.

In order to improve the properties of P3HB and increase its range of applications, the polymer is subject multiple modifications [16]. The manufacture of polymer blends and composites based on the P3HB matrix leads in most cases to the desired separation of its melting point and degradation temperature, which is characterized by better thermal properties and at the same time better mechanical properties.

The use of a polyurethane modifier will not only allow the desired modification of the thermal and mechanical properties of P3HB and its copolymers, but also accelerate its biodegradation, as the addition of hydrophilic polymers increases the absorption of water into the polymer mass and accelerates its hydrolysis [17]. In addition, polymer compositions with thermoplastic characteristics produced based on P3HB will still be highly biocompatible similar to native P3HB.

In order to improve the properties of P3HB, especially for thermal and mechanical applications, polymer compositions and nanocomposites based on it were produced. The study deals with the preparation of polymer compositions involving P3HB and aliphatic linear polyurethane (PU) obtained by reacting hexamethylene 1,6-diisocyanate (HDI) with 1,4-butanediol (BD) and hybrid nanobiocomposites based on the P3HB matrix with the abovementioned PU modifier with organically modified montmorillonite (Cloisite®30B), as well as studying the morphology, nanostructure, and thermal and mechanical properties of the obtained materials. Due to the better properties, new elasticized polymer compositions and composites can be used, e.g., in biodegradable packaging materials and gardening and construction materials.

2. Results

2.1. Polymer Blends of Poly(3-hydroxybutyrate)—Polyurethane

Polyurethane synthesized by reacting BD with HDI (Figure 2) was used to produce polymer compositions with P3HB. In order to improve the mechanical and thermal properties of aliphatic polyester, 5, 10, 15 and 20 m/m% of PU were used, as shown in Table 1.



Figure 2. Synthesis scheme of polyurethane (PU).

Table 1. Composition of the polymer mixtures.

P3HB	Content (m/m%)		Sample Designation
	PU	Cloisite®	
95	5	0	K5
90	10	0	K10
85	15	0	K15
80	20	0	K20
94	5	1	K5-1
93	5	2	K5-2
92	5	3	K5-3

The polymer compositions were prepared by melting homogenization using a co-rotating twin-screw extruder. A native P3HB was also processed to obtain a reference material under comparable conditions.

2.2. Spectral Analysis of the Produced Polymer Compositions

Figure 3 shows Fourier transform infrared (FTIR) spectra of P3HB, PU and their blends. The FTIR spectrum of P3HB illustrates the characteristic valence vibration band of the carbonyl group in the ester structure at 1718 cm^{-1} and the vibration bands of asymmetric and symmetric C–O bonds in the ester at 1271 and 1129 cm^{-1} . Bands above 3000 cm^{-1} are not present.

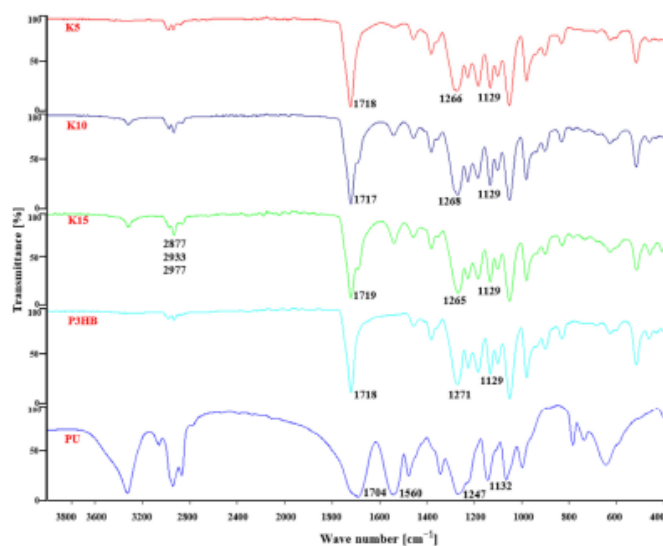


Figure 3. FTIR spectra of P3HB, PU and their blends containing 5, 10 and 15 m/m% PU.

On the other hand, the FTIR spectrum of PU (Figure 3) shows the valence vibration bands of N–H bonds of the urethane group above 3100 cm^{-1} . The valence vibrations of the carbonyl group in the urethane group generate a band at 1704 cm^{-1} , while the vibrations of the CO–NH bonds are visible at 1560 cm^{-1} . Bands resulting from symmetric and asymmetric vibrations of the C–O bond in the urethane group are visible at 1247 and 1132 cm^{-1} (Figure 3).

In the FTIR spectra of P3HB–PU blends for wavenumbers above 3000 cm^{-1} there was a change in the shape of the band compared to PU's spectrum. Its intensity decreased significantly and broadened, which is due to the formation of hydrogen interactions involving the urethane groups and/or terminal hydroxyl groups of aliphatic PU with the ester groups of P3HB (Figure 4) [18,19].

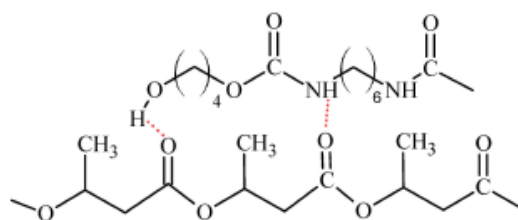


Figure 4. Scheme of hydrogen bond formation between P3HB and PU chains.

The intensity of the band above 3000 cm^{-1} increased with the PU content in the polymer mixture (Figure 3). In the range of $2800\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$, there were three bands of asymmetric and symmetric C–H bonds of methyl and methylene groups at 2877 , 2933 and 2977 cm^{-1} , similar to the spectrum of P3HB or PU. Only one broadened valence vibration band of the carbonyl groups in the ester and urethane groups was observed at 1719 cm^{-1} . Asymmetric and symmetric C–O bond vibration bands occurred together for the ester and urethane groups at 1268 cm^{-1} and 1129 cm^{-1} .

2.3. Morphology Analysis of the Obtained Polymer Compositions

Scanning electron microscope (SEM) micrographs of the fractured surfaces at the point of load application were taken to investigate the changes in the morphology of the prepared polymer mixtures compared to the polymer P3HB matrix. The surface of the base P3HB, shown in Figure 5, had a slightly wavy, glassy morphology, which, along with several edge lines, indicates the presence of a regular crack propagation path. Such a morphology suggests a relatively brittle behavior.

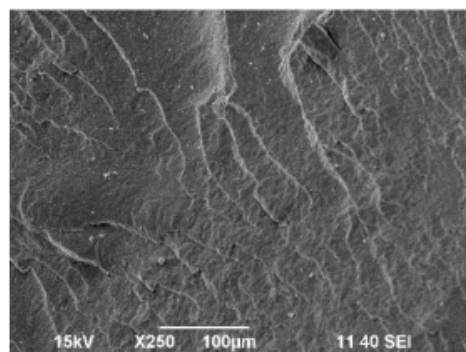


Figure 5. SEM micrograph of native P3HB.

Figure 6 shows SEM micrographs of the sampled fracture surfaces of the P3HB blends with 5, 10, 15 and 20 m/m% of a PU modifier. The presented images were obtained by scanning the fracture surfaces of the tested samples at the site of their cracking as a result of the applied load. The fracture surfaces of all P3HB-PU blends shown in Figure 6 are slightly wavy and glassy, indicating the presence of a regular and relatively linear crack propagation path, which is typical of brittle materials. As can be noted, the introduction of PU as a modifier caused an apparent disruption of the continuity of the P3HB matrix structure. One can also note the appearance of crystalline domains in the form of rough platelets arranged unidirectionally.

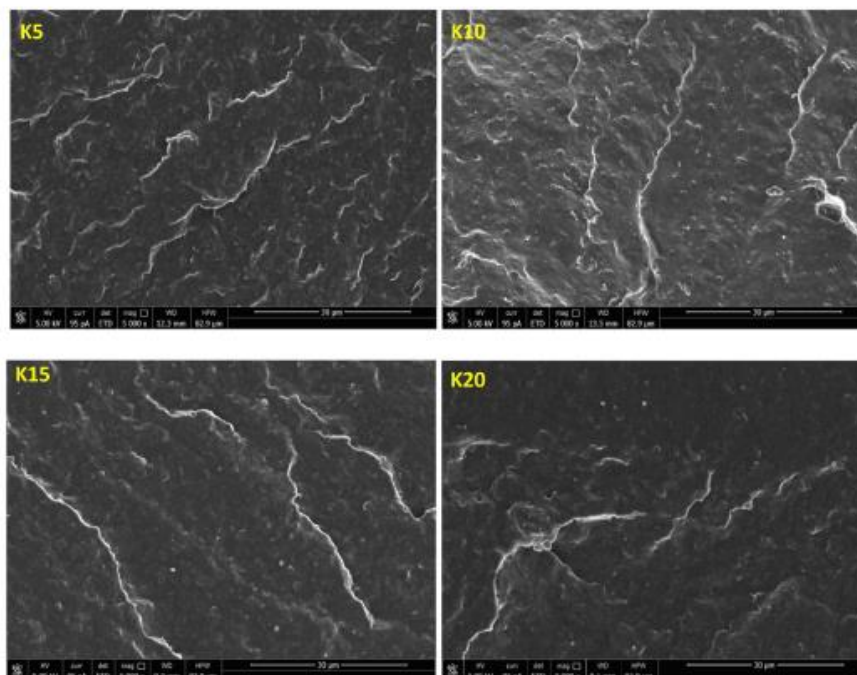


Figure 6. SEM micrographs of the P3HB polymer compositions containing 5, 10, 15 and 20 m/m% PU, designated as K5, K10, K15 and K20, respectively.

2.4. Mechanical Properties of the Prepared P3HB-PU Polymer Blends

Select mechanical properties of the obtained polymer blends were investigated by measuring, among others, the tensile strength and the relative elongation at break. Figure 7a shows the obtained strength results as functions of the amount of added PU modifier. The tensile strength of the P3HB-PU polymer blends depended on the PU modifier content, and it increased to a maximum value at 5 m/m% PU in the blend, after which it decreased with increasing PU content.

The values of relative elongation at break shown in Figure 7b have a similar tendency, i.e., they maximally increased after the addition of 5 m/m% PU, and then decreased up to a content of 15 m/m% PU. A further increase in the proportion of PU in the blend did not change the values of relative elongation at break.

As shown in Figure 7c, the impact strength (IS) of the obtained polymer blends also increased compared to unmodified P3HB, with a maximum value at 5 m/m% PU. However, a further increase in the PU content resulted in a decrease in the impact strength below that

of native P3HB. The introduction of more than 15 m/m% PU no longer changed the impact strength of the blends. Similar findings were reported by Seydibeyoglu et al. [20] and by Jostet et al. [21]. Moreover, the hardness of the prepared P3HB was found to decrease with increasing modifier content (Figure 7d).

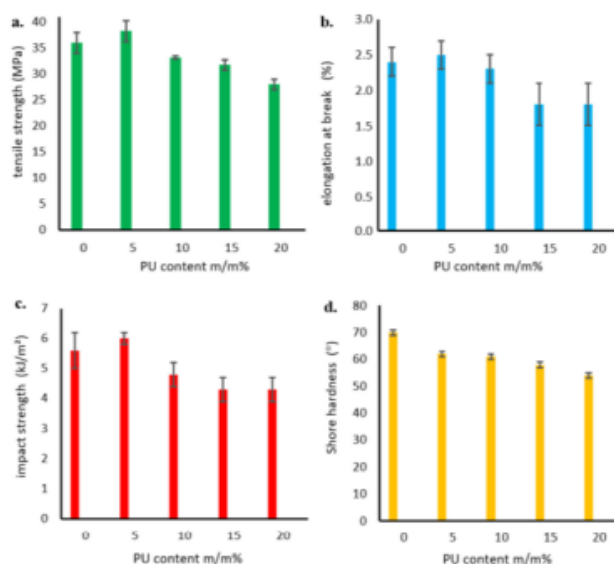


Figure 7. Tensile strength (a), relative elongation at break (b), impact strength (c), and hardness (d) of P3HB-PU polymer compositions as functions of the amount of PU.

2.5. Thermal Stability of the Produced P3HB Polymer Blends

The thermal stability of P3HB polymer blends with 5, 10, 15 and 20 m/m% PU content was investigated by thermogravimetric analysis (TGA). The results of TGA are shown in Table 2, Figure 8. The polymer composition containing 5 m/m% PU started to degrade at 234 °C, which is 13 °C higher than the P3HB without a modifier. Adding more PU made the thermal stability even higher. The onsets of decomposition temperatures were 266, 268 and 268 °C for K10, K15 and K20, respectively.

Table 2. Interpretation of TG and DTG curves of the P3HB-PU polymer compositions and hybrid nanobiocomposites recorded at a heating rate of 5 °C/min under a nitrogen atmosphere.

Sample	T _{on} (°C)	T _{50%} (°C)	T _{max1} (°C)	Residue 600 °C (m/m%)
P3HB	221	246	278	1.01
K5	234	268	278	0.94
K10	266	277	278	0.75
K15	268	279	280	0.86
K20	268	279	279	0.64
K5-1	245	279	279	1.58
K5-2	245	279	278	5.64
K5-3	241	278	276	3.65

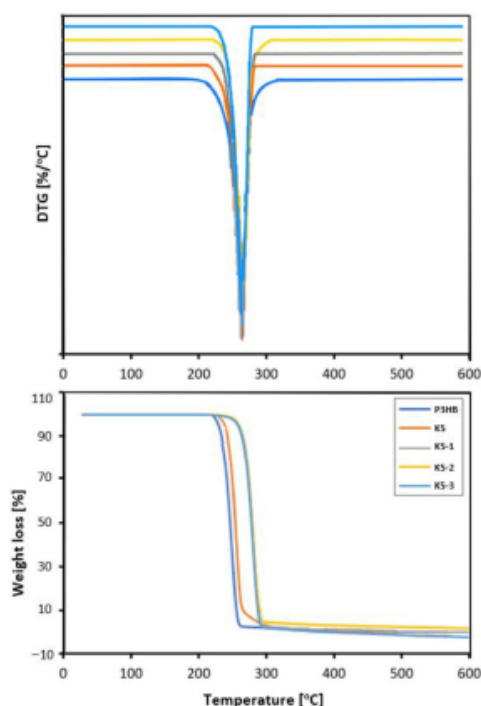


Figure 8. TG and DTG curves of the native P3HB, its composition with 5 m/m% of PU (K1) and composites of P3HB with 5 m/m% of PU and 1, 2 or 3 m/m% Cloisite 30B (K5-1, K5-2 and K5-3, respectively).

The thermal degradation of the P3HB–PU polymer samples, just as with the unmodified P3HB, proceeded in a single step with the presence of a peak on the DTG curve representing the fastest decomposition at 278–280 °C. The mass of the residue at 600 °C did not exceed 1 m/m% (Table 2).

2.6. Thermal Properties of P3HB–PU Polymer Blends

In order to analyze the thermal properties of the prepared blends of P3HB and PU, DSC measurements were conducted. Figure 9 shows the dependence of the experimental heat flow of the tested blends as a function of temperature at a heating rate of 10 °C·min^{−1} in the temperature range of −90 °C to 195 °C, after prior cooling at the same rate in the temperature range given.

Qualitative thermal analysis was performed on the basis of heat flow rates of the semicrystalline P3HB and its blends with PU, recording only the glass transition (T_g) and melting processes. Based on the analysis of glass transition region during heating, the change of specific heat (ΔC_p) and the value of glass transition temperature T_g were determined. In turn, from the analysis of the melting region, the fusion heat ΔH_f and the melting temperature T_m (peak) were estimated. The occurrence of two peaks in the melting of polymers may indicate the coexistence of different crystalline forms or may be due to the introduction of PU. Two melting peaks were observed in thermograms of all polymer samples. The first, always smaller endothermic peak is due to the melting of less-stable crystals (T_{m1} (peak), Table 3), while the second larger peak (T_{m2} (peak), Table 3) corresponds to the melting of larger, well-formed crystals.

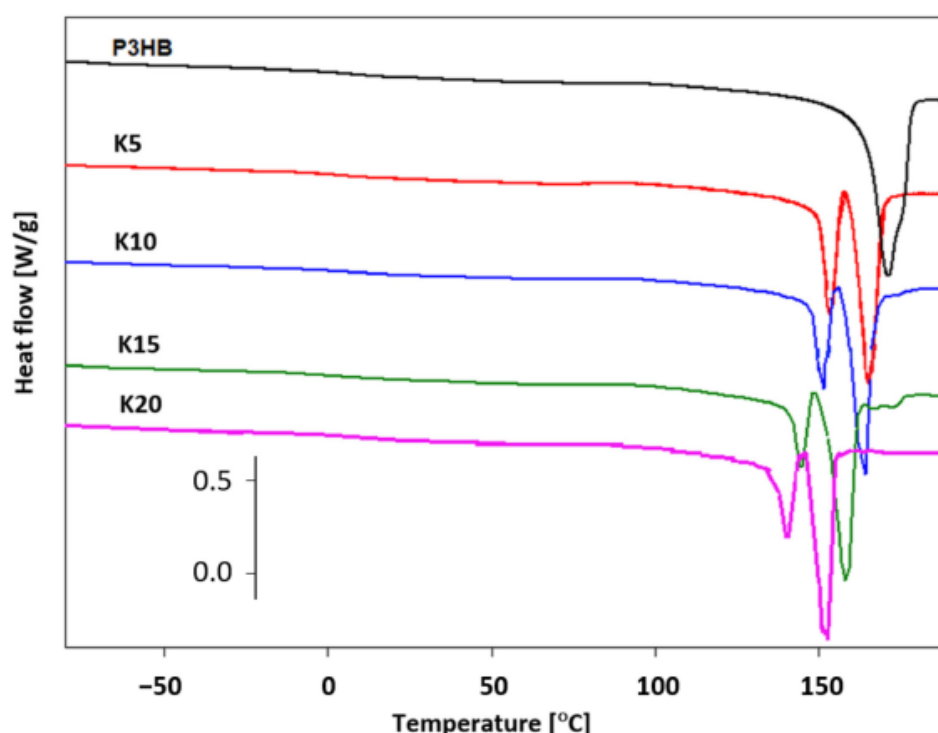


Figure 9. Comparison of heat flows of P3HB and its polymer compositions with PU as a function of temperature upon heating at a rate of $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

Table 3. Comparison of thermal parameters of P3HB–PU polymer blends upon heating their representative samples at $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ after prior cooling at the same rate.

Sample	T_g ($^{\circ}\text{C}$)	ΔC_p ($\text{J}\cdot\text{g}^{-1}\cdot^{\circ}\text{C}^{-1}$)	T_m (onset) ($^{\circ}\text{C}$)	T_{m1} ($^{\circ}\text{C}$)	T_{m2} ($^{\circ}\text{C}$)	ΔH_f ($\text{J}\cdot\text{g}^{-1}$)	T_c ($^{\circ}\text{C}$)	ΔH_c ($\text{J}\cdot\text{g}^{-1}$)
P3HB	7.70	0.1620	159.73	165.75	-	91.93	90.50	88.79
K5	4.45	0.2257	149.92	153.30	165.30	92.98	88.00	79.06
K10	6.02	0.0680	145.03	150.95	163.50	88.14	85.60	68.98
K15	2.40	0.2294	140.81	144.55	158.10	94.55	80.80	67.04
K20	2.30	0.1875	135.53	140.12	153.20	92.67	76.40	66.00

The estimated thermal parameters of the phase transitions are presented in Table 3. The crystallization heat ΔH_c and the crystallization temperature T_c were determined during the cooling analysis. The presence of PU caused a decrease in the crystallization temperature, which regularly decreased with an increase in the amount of PU introduced (Table 3).

2.7. Production of Hybrid Nanobiocomposites

Considering the obtained results of P3HB–PU polymer blends and with a view towards the further improvement of the physical properties of P3HB, hybrid nanobiocomposites were obtained by using polyester as a matrix, with the addition of the abovementioned aliphatic linear PU as a modifier and an organic-modified montmorillonite, Cloisite®30B,

as a nanofiller. PU at 5 m/m% and Cloisite®30B at 1, 2 and 3 m/m% were used to produce the nanocomposites.

2.8. FTIR Analysis of Hybrid Nanobiocomposites

FTIR spectra of the hybrid nanobiocomposites based on the P3HB matrix with PU and Cloisite®30B as modifiers are shown in Figure 10. A small band above 3000 cm^{-1} appeared in the FTIR spectrum of the hybrid nanobiocomposites, whose intensity increased with increasing organic nanoclay content. Three bands of vibration of the asymmetric and symmetric C–H bonds of the methyl and methylene groups at 2877 , 2933 and 2977 cm^{-1} and whose intensity increased with the increase in the amount of the nanofiller were observed in the range of 2800 – 3000 cm^{-1} . One common valence vibration band of ester and urethane C=O groups was observed at 1707 cm^{-1} and at a lower frequency than in the case of the base P3HB matrix or the P3HB–PU blend (cf. Figures 3 and 10), confirming the formation of intermolecular hydrogen bonds with Cloisite®30B. A common band for esters and urethanes for the vibration of asymmetric C–O bonds appeared at a wavenumber of 1270 cm^{-1} , and a band for the vibration of symmetric C–O bonds appeared at 1097 cm^{-1} , which was similar to the spectra of the P3HB–PU polymer blends.

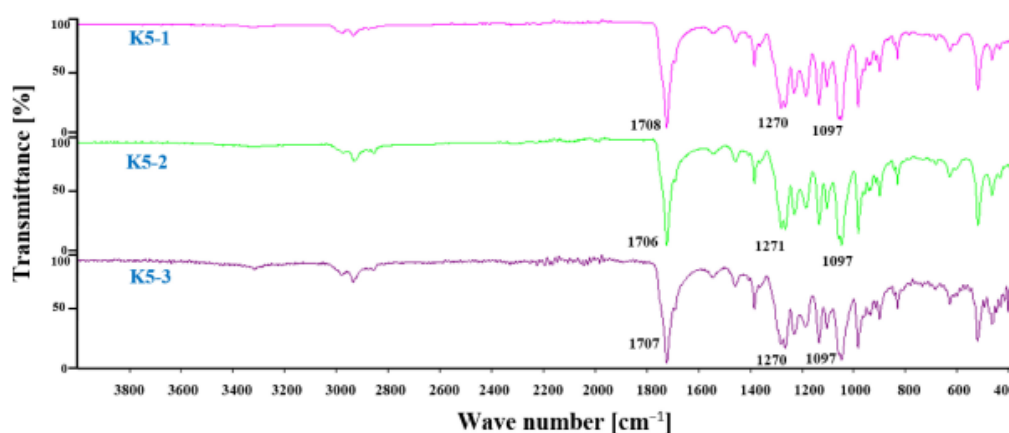


Figure 10. FTIR spectra of hybrid nanobiocomposites based on P3HB containing 5 m/m% PU and 1, 2 or 3 m/m% Cloisite®30B (K5-1, K5-2 and K5-3, respectively).

2.9. Structure Analysis of Hybrid P3HB–PU–Cloisite®30B Nanobiocomposites

In order to characterize the nanoclay structure in the obtained biocomposites, SAXS measurements were conducted in the range from 1° to 28° , with the most diagnostic area being the range of 1 – 5° . Figure 11 shows the SAXS patterns of the prepared nanobiocomposites as well as the patterns of the unmodified P3HB and that of the Cloisite®30B nanoclay. The unmodified P3HB shows only background scattering at an angle 2θ value smaller than 12° [22,23]. By contrast, the pattern of Cloisite®30B shows a peak with a maximum angle 2θ value of about 5.00° [24], which indicates a distance between the aluminosilicate plates in Cloisite®30B of approximately 1.77 nm. The tested hybrid nanobiocomposites with 1 m/m% organic nanoclay (the sample designated as K5-1) and higher amounts did not show a peak with a maximum angle 2θ value smaller than 5° . The absence of a peak in this area proves the complete delamination of Cloisite®30B, which means that the polyester and polyurethane chains not only filled the interlayer spaces of the aluminosilicate stacks, but led to their complete delamination [25].

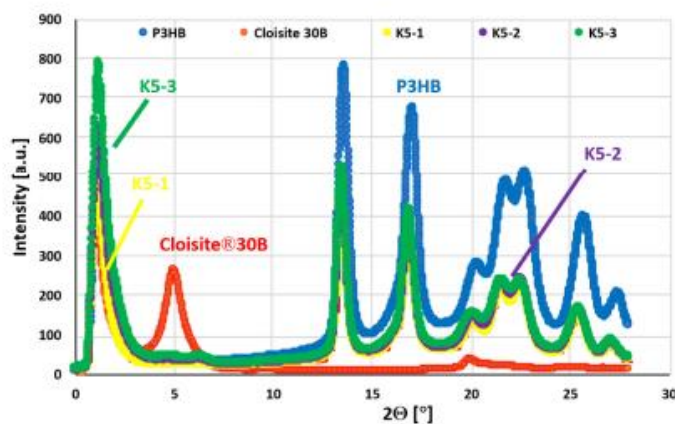


Figure 11. SAXS plots of native P3HB, Cloisite®30B (an organic nanoclay) and the produced hybrid biocomposites containing 5 m/m% PU and 1, 2, or 3 m/m% Cloisite®30B designated as K5-1, K5-2 and K5-3, respectively.

2.10. Nanostructure Analysis of Produced Hybrid Nanobiocomposites

The nanocomposites were studied using the transmission electron microscope (TEM) method to observe the effects of nanoclay content on nanostructure features. Selected TEM micrographs of the nanobiocomposites are presented in Figure 12. The dark lines represent cross-sections of the nanoclay layers, and the gray area corresponds to the polymer matrix. Figure 12a shows the base polyester matrix, and Figure 12b–d show the structure of the hybrid nanobiocomposites containing 1–3 m/m% Cloisite®30B.

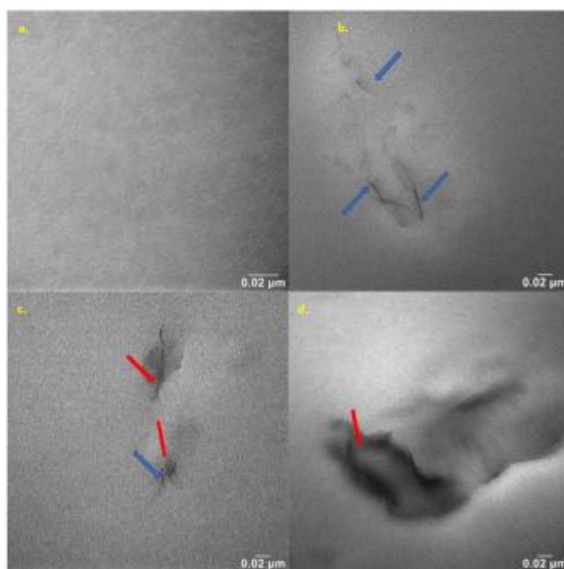


Figure 12. TEM microphotographs of P3HB (a) and its nanobiocomposites containing 5 m/m% PU and: (b) 1, (c) 2 or (d) 3 m/m% Cloisite®30B, designated respectively as K5-1, K5-2 and K5-3 (the visible artifacts resulted from the sample preparation).

Analysis of the nanocomposite structure using TEM confirmed the conclusions of the SAXS analysis of the aforementioned composites. The TEM micrographs (Figure 12) show that Cloisite®30B is quite susceptible to deagglomeration and dispersion in the P3HB matrix, which is induced by the shear forces. As the nanofiller content decreases, the size of dispersed organic clay areas becomes smaller and smaller. The study of the image in Figure 12a reveals a homogeneous dispersion of clay platelets throughout the matrix on a nanometer scale. The MMT layers are well-dispersed in the matrix in the form of randomly stratified nanosheets, mainly indicating an exfoliation structure (blue arrows) [26]. Figure 12c,d show TEM images of the hybrid nanobiocomposites with 2 and 3 m/m% Cloisite®30B, respectively. A small share of nanosheet agglomeration is visible, and a partially intercalated structure (red arrows) is observed in Figure 12c.

2.11. Morphology Analysis of the Obtained Hybrid Nanobiocomposites

Figure 13 shows SEM micrographs of the fracture surfaces of the P3HB matrix nanocomposite samples containing 5 m/m% of the PU modifier and different amounts of the Cloisite®30B nanofiller, namely 1 m/m% (sample K5-1), 2 m/m% (sample K5-2) and 3 m/m% (sample K5-3). The incorporation of nanoparticles into the PU flexibilized P3HB (Figure 13) resulted in a noticeable roughness in the fracture surfaces of the nanobiocomposites. The polyester matrix modified with 5 m/m% PU and the smallest amount of 1 m/m% Cloisite®30B was characterized by a noteworthy completely different morphology from that of the other samples (Figure 13, K5-1). It is possible to observe distinct wavelike domains arranged in different directions, indicating the presence of a regular crack-propagation path. These domains are larger in size and more widely spaced than in the other samples. However, the addition of more than 1 m/m% of Cloisite®30B (i.e., 2 m/m% or 3 m/m%) already excludes the sample K5-1 from the formation of the mentioned agglomerates. This suggests that the addition of 2 m/m% or 3 m/m% Cloisite®30B is already pointless. The structure of samples containing 2 m/m% or 3 m/m% of Cloisite®30B (K5-2 and K5-3, respectively, Figure 13) became similar to that of a binary polymer mixture, i.e., containing P3HB and a polymeric modifier (Figure 6).

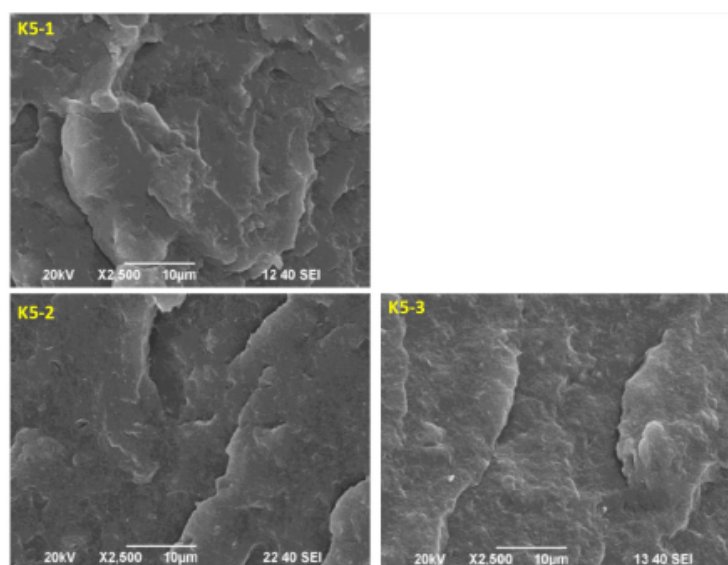


Figure 13. SEM micrographs of P3HB hybrid nanobiocomposites containing 5 m/m% PU and 1, 2 or 3 m/m% organic modified nanoclay—Cloisite®30B, designated K5-1, K5-2 and K5-3, respectively.

2.12. Mechanical Properties of the Obtained Nanobiocomposites Hybrids

As a part of the mechanical tests, the tensile strength, relative elongation at break, impact strength and hardness of the obtained hybrid nanobiocomposites were investigated similarly to the P3HB–PU polymer blends, and the results are shown in Figure 14. The effect of nanofiller addition on the increase in tensile strength is shown in Figure 14a. As mentioned earlier (Figure 7a), the addition of PU resulted in a slight increase in tensile strength, while the incorporation of organic nanoclay caused a noticeable increase in tensile strength (TS). Increasing the amount of nanoadditive caused a decrease in TS, which intensified with an increase in the nanofiller content [27]. It should be noted that the tensile strength of all hybrid nanobiocomposites was higher than that of the P3HB matrix. Nanoclay (Cloisite 30B) in an amount between 1 and 3 m/m% had good dispersibility in the polymer matrix of PH3B-PU, which improved the mechanical properties of the biocomposites [28–31]. The simultaneous addition of 5 m/m% PU and 1 m/m% Cloisite®30B (K5-1) resulted in a large increase in relative elongation at break of about 58% compared to the P3HB matrix sample (Figure 14b). A further increase in the percentage of modified nanoclay to 3 m/m% led to a decrease in the value of elongation at break, even below the value for the unmodified P3HB (K5-3).

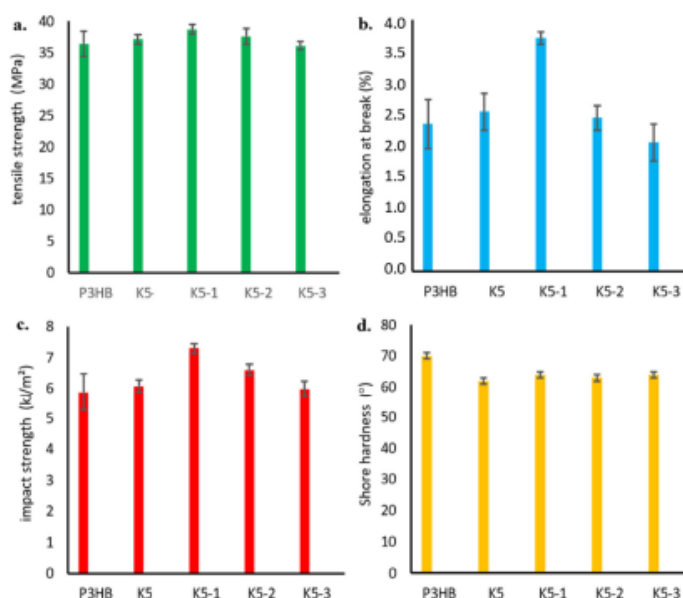


Figure 14 Dependency graph: (a) tensile strength, (b) relative elongation at break, (c) impact strength, and (d) hardness of the produced hybrid nanobiocomposites as a function of Cloisite®30B content.

As in the case of the impact strength of the hybrid nanobiocomposites (Figure 14c), we observed that the simultaneous addition of PU and Cloisite®30B (1 m/m% of nanoclay) led to a significant increase in impact strength, by approximately 30% compared to the unmodified P3HB matrix. However, the impact strength decreased for the nanobiocomposite samples designated K5-2 and K5-3, with values still higher than that of the reference sample with 3 m/m% of nanoclay.

A decrease in the hardness of the tested nanobiocomposites was observed (Figure 14d). The addition of polymeric modifier made the polyester/polyurethane blend more flexible, and the greatest decrease in hardness of about 11% was observed for the sample K5 (i.e., the P3HB containing 5 m/m% PU).

2.13. Thermogravimetric Analysis of Nanobiocomposites

The prepared hybrid nanobiocomposites were subjected to thermogravimetric analysis in order to investigate the physicochemical changes that occurred during heating. The results of the thermogravimetric analysis of the nanobiocomposites are shown in Table 2 and Figure 8. The addition of 1 and 2 m/m% nanofiller resulted in a 24 °C increase of the degradation temperature. By contrast, the addition of 3 m/m% nanoclay (K5-3) resulted in a slight (4 °C) decrease in the thermal stability of the hybrid nanobiocomposite. However, the thermal stability of this nanocomposite was still higher than that of the unfilled P3HB and the polyester modified with only 5 m/m% PU (K5). The temperature of the maximum decomposition rate was similar for the unmodified P3HB and its nanobiocomposites and oscillated between 279 and 276 °C.

2.14. Thermal Analysis Based on the Differential Scanning Calorimetry Measurements

Figure 15a shows the heat flow rates versus temperature in the range of −90 °C to 195 °C for the K5-1, K5-2 and K5-3 nanobiocomposites obtained based on the DSC measurements.

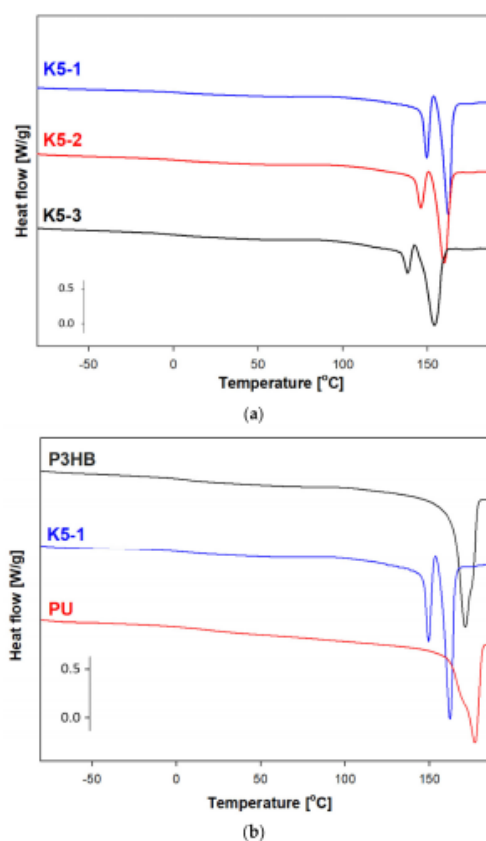


Figure 15. (a) Comparison of the heat flows of the nanobiocomposites versus temperature upon heating at a rate of 10 °C·min^{−1}. (b) Comparison of the heat flow of poly(3-hydroxybutyrate) (P3HB), nanobiocomposite (K5-1) and polyurethane (PU) versus temperature.

The glass transitions were observed in the range of 4.40–5.25 °C and the onset melting temperature was in the range of 134.6–156.7 °C. The changes in heat capacity and heat of fusion were also determined for the future estimation of the phase contents of new materials. Based on Tables 3 and 4, the lowest value of the glass transition temperature was observed for the K5-2 nanobiocomposite, which allows us to assume that this material will be the most plasticized in reference to the series of materials considered. The greatest processing capabilities are offered by K5-3, because the processing window was estimated as 122.2 °C. For the remaining nanobiocomposites K5-1 and K5-2, it was 116.8 °C and 118.2 °C, respectively. Figure 15b shows a comparison of the heat flow of the poly(3-hydroxybutyrate) (P3HB), nanobiocomposite (K5-1) and polyurethane (PU) versus temperature. The PU heating scan presented the glass transition at $T_g = 14.90$ °C and $\Delta C_p = 0.3094 \text{ J} \cdot \text{g}^{-1} \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$, the melting region at $T_m \text{ onset} = 166.30$ °C, and the heat of fusion at $\Delta H_f = 90.39 \text{ J} \cdot \text{g}^{-1}$. It can be observed that DSC heating scans present a single glass transition and melting region, which indicates a complete miscible area of P3HB and PU in all nanocomposites.

Table 4. Comparison of the thermal parameters of nanobiocomposites upon heating their representative samples at $10 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ after prior cooling at the same rate.

Sample	T_g (°C)	ΔC_p ($\text{J} \cdot \text{g}^{-1} \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$)	$T_{m \text{ (onset)}}$ (°C)	T_{m1} (°C)	T_{m2} (°C)	ΔH_f ($\text{J} \cdot \text{g}^{-1}$)	T_c (°C)	ΔH_c ($\text{J} \cdot \text{g}^{-1}$)
K5-1	4.50	0.2059	146.70	149.50	162.20	90.75	86.70	68.34
K5-2	4.40	0.2328	142.00	146.00	159.80	89.78	82.87	68.97
K5-3	5.25	0.3752	134.60	138.20	153.80	85.70	77.65	63.58

3. Discussion

In order to improve the properties of P3HB, polymer compositions were produced with the use of linear aliphatic PU based on BD and HDI with the following amounts of PU: 5, 10, 15 and 20 m/m%.

FTIR was used to study the interactions between P3HB and PU. The FTIR spectra revealed a formation of hydrogen bonds between the urethane groups and/or terminal hydroxyl groups of the aliphatic PU with the ester groups of P3HB (Figure 4). Thus, the presence of hydrogen bonds decreases specific P3HB chain interactions (polyester–polyester interactions).

The SEM images of fractured samples allow to explain the mechanism of improvement of the mechanical properties of the nanobiocomposites tested by the added polymeric modifier. The observed morphology of compositions suggests the interaction of the biopolymer matrix with the polymeric modifier (PU), resulting in disentanglement of interacting P3HB chains [31]. These disentanglements may be related to an increase in the elongation and impact strength of the tested blends as the polymer modifier content increased, and the enhancement of the mentioned mechanical properties is due to the flexibilization of the polyester matrix by the PU modifier. If the phase separation is not detectable, the blends give optimum mechanical and thermal property results. Urethanes groups of PU and terminal hydroxyl groups can interact with P3HB ester groups, forming hydrogen bonds. The good ductile properties are achieved by the strong interactions exerted between the P3HB and PU chains [19,32].

The tested selected mechanical properties of the polymer compositions show that the composition containing the smallest amount of PU (K5) had the best properties, and the effect of worsening of the properties with increasing PU content was observed. Some authors have reported a trend of decreasing the tensile strength in several plasticized polymers with increasing plasticizer content with a slight increase in elongation at break [20,33,34]. This finding might be explained by the increase of the free volume in the system due to the addition of flexible chains of modifier material, leading to a reduction in specific polyester–polyester interactions. The maximum improvement of all measured mechanical properties with an addition of a small amount of polymeric modifier (i.e., 5 m/m% PU) can

be attributed to the formation of a grafted interpenetrating polymer network structure, as reported elsewhere with similar crosslinkable systems. The exception means a decrease in hardness, which is desirable. This may be due to the softening effect and flexibilization of the samples induced by the consequent increase in the free volume in the mixture and the presence of flexible modifier chains [35].

The introduction of PU into P3HB caused an increase in the degradation temperature of the resulting polymer mixture compared to the unmodified P3HB. There was an increase in the degradation temperature of the obtained blends of 13–57 °C in relation to the native P3HB. The addition of plasticizer led to a noticeable improvement in the thermal stability of the P3HB, which was achieved via the interaction of the plasticizer molecules and the polyester chain. It resulted in the formation of a thin physical barrier on the surface of the blends and obstructed permeability of volatile products towards the exterior. It effectively retarded the thermal degradation of blends, as explained in other studies [36–40].

DSC analysis indicated that the melting onset temperature $T_{m(\text{onset})}$ of the polymer samples was lower than that of the unmodified P3HB and decreased regularly with increasing PU content in the mixture [35]. The difference between the melting point and the degradation point was above 100 °C for most of the obtained blends. A decrease in the glass transition temperature of the new polymer mixtures was also observed, which proves the plasticization of the polyester due to the introduction of PU. A similar effect was observed by Fernández-Ronco et al. [41] in P3HB–poly(butylene succinate-butylene dilinoleate) blends—and by Kozłowska et al. [42].

In order to further improve P3HB's properties, hybrid nanobiocomposites were produced with the use of 5 m/m% aliphatic linear PU as a modifier and organic-modified MMT—Cloisite®30B—as a nanofiller at 1, 2 and 3 m/m%. FTIR analysis of the produced nanobiocomposites confirmed the formation of hydrogen bonds between the urethane groups of the modifier and the ester groups of the polyester and the modified MMT, as well as the compatibility of the components [43,44].

Analysis of SAXS patterns of the produced hybrid nanobiocomposites indicated that the exfoliated structure of the nanocomposites was obtained, guaranteeing a definite improvement in the properties of the new materials over those of the initial matrix. TEM analysis confirmed that the exfoliated layers are the main structure of the produced nanobiocomposites, as evidenced by single clay nanosheets and the absence of tactoids [45].

SEM analysis of the nanobiocomposites' morphology suggests that the P3HB chains are interacting less with each other, with the effect of the P3HB becoming more flexible [46]. This may be related to the formation of P3HB–PU–MMT adducts that are easily displaced with respect to each other, and this phenomenon may affect the significant increase in elongation and the slight increase in impact strength of the analyzed sample. On the other hand, an increase in the hardness of the material may suggest a stiffening effect of MMT, which translates into the roughness of the observed nanocomposites. Increasing the amount of added nanoparticles above 1 m/m% does not affect the flexibility of material, which affects the decrease in impact strength, toughness and elongation at break of these nanobiocomposites and suggests the stiffening of P3HB–PU polymer blends by such amounts of Cloisite®30B (2 m/m% and 3 m/m%) [47].

The improvement in impact strength can be induced by the presence of P3HB–PU–MMT adducts identified in the SEM images, while the decrease in impact strength is related to the stiffening effect due to Cloisite®30B [48]. The introduction of nanofiller resulted in a relative stiffening of the plasticized structure and a slight increase in the hardness of nanocomposite slightly above the hardness value of the K5 sample. In the case of hybrid nanobiocomposites, it was noted that the lowest content of nanofiller (1 m/m%) added to 5 m/m% PU (K5-1) allowed the formation of P3HB–PU–MMT adducts, showing the best mechanical properties.

Thermogravimetric analysis of the nanobiocomposites (Table 2, Figure 8) showed that the addition of 5 m/m% aliphatic PU and 1 or 2 m/m% organic nanoclay resulted in a 24 °C increase in the stability of the nanobiocomposite compared to the reference P3HB

sample [41,49]. Moreover, based on the difference between the degradation temperature and the onset melting temperature (the start of melting), the processing window of the nanobiocomposites was determined to be in the range of 116–120 °C.

4. Materials and Methods

4.1. Materials

P3HB was supplied by Biomer (Krailling, Germany); its weight-average molecular weight was $M_w = 443,900 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ and its dispersity index was $(M_w/M_n)^{-1} = 5.72$; the P3HB melt flow index was $0.11 \text{ g}\cdot(10 \text{ min})^{-1}$ (180 °C at 2.16 kg). Organically modified montmorillonite (Cloisite®30B) was supplied by Southern Clay Products Inc. (Gonzales, LA, USA). Cloisite®30B is a natural montmorillonite modified with methylbis(2-hydroxyethyl)tallowalkylammonium cations. Hexamethylene 1,6-diisocyanate and dibutyltin dilaurate (DBTL) were purchased from Aldrich (Darmstadt, Germany), 1,4-butanediol, 98%, was purchased from Aldrich (Darmstadt, Germany) and acetone was purchased from Chemsolute (Bremgarten, Germany).

4.1.1. Synthesis of Linear Polyurethane

First, BD dried acetone and DBTL were introduced into a three-necked round-bottom flask equipped with a mechanical stirrer, thermometer and dropper. Then, an appropriate amount of HDI was dropped into the mixture with a molar ratio of isocyanate groups to hydroxyl groups that should ideally be 1:1.08. The rate of dropping was adjusted to keep the temperature of the reaction mixture below 25 °C. The synthesis was monitored on the basis of isocyanate number determination according to the standard [50]. During the reaction (Figure 2), a product precipitated out of solution. The polyurethane was separated by filtration and was brought to a constant mass by exposure in a vacuum dryer at the temperature range of 40–100 °C. The molar weight of the PU was $109,000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ and the hydroxyl number was $277 \text{ mg KOH}\cdot\text{g}^{-1}$.

4.1.2. Preparation of Polymer Blends

In order to prepare P3HB–polymer blends with PU, P3HB was dosed into a Stephan-type mixer, followed by PU in appropriate amounts, i.e., 5, 10, 15 and 20 m/m%. The mixture was homogenized by stirring at room temperature for about 20 min. Table 1 shows the composition of the resulting mixtures. The homogeneous mixture was then dosed into a hopper of a co-rotating twin-screw extruder with a screw operating diameter of $D = 25 \text{ mm}$ and $L/D = 33$, operating at a speed of 300–450 rpm. The different zones of the extruder were maintained during extrusion at the following temperatures: hopper—31–32 °C, II zone—124–134 °C, III zone—142–167 °C, IV zone—135–136 °C, V zone—135–136 °C, VI zone—148–149 °C, VII zone—148 °C, VIII zone—148–150 °C and IX zone—148–151 °C, and the head was kept at temperature range between 172 °C and 179 °C. During extrusion, volatile particles were discharged by atmospheric degassing, and the temperature of the extruder head and the heating zones of the extruder plasticizing system were kept constant. The melted composition was cooled in a cooling bath, pelletized and dried at 60 °C for 2 h.

4.1.3. Preparation of Polymer Nanobiocompositions

Polymer nanobiocomposites based on a P3HB matrix with P3HB, 5 m/m% PU and 1, 2 and 3 m/m% organic nanoclay Cloisite®30B were prepared using a mixer, in which P3HB, PU and Cloisite®30B were mixed according to the composition given in Table 1. The mixing process lasted for about 20 min. The homogenized mixture was extruded using a co-rotating twin-screw extruder, under conditions similar to those described above in Section 4.1.2.

4.2. Analytical Methods

The isocyanate group contents were determined according to the standard [50]. The hydroxyl number was determined according to the standard [51].

4.2.1. Small-Angle X-ray Scattering

The small-angle X-ray scattering technique was used to characterize the nanoclay structure in the prepared nanobiocomposites. The measurements were conducted at laboratory temperature using a Bruker SAXS Nanostar-U X-ray diffractometer (Dekendorf, Germany). The spectra of the samples were studied in transmission mode. The small-angle diffractometer was connected to a CuK α -filtered radiation source (1.54 Å) placed in a sealed tube, operating at 50 kV and 30 mA. A 2D detector (Vantec2000, Brucker, Dekendorf, Germany) was used to scan the entire surface of the sample using a spot beam of about 500 μ m. The scanning range was determined by varying the distance of the sample from the detector. The detector's resolution and angular range allowed measurements of 2048 $\times$ 2048 pixels. The measurements were conducted from 1 to 28° for a period of 2 h.

4.2.2. Transmission Electron Microscopy

Transmission electron microscopy was used to study the nanostructure of the obtained biocomposites. The measurements were conducted on a TECNAI G12 Spirit-Twin instrument (Hillsboro, OH, USA) (LaB $_6$ source) equipped with a FEI Eagle 4k CCD camera (Eindhoven, The Netherlands) operating at an acceleration voltage of 120 kV. Prior to analysis, the samples were cut with a cryoultramicrotome and placed on 300 mesh copper grids.

4.2.3. Scanning Electron Microscopy

The extruded base P3HB, P3HB-PU polymer blends and prepared nanobiocomposites were studied using a JEOL-type JSM-6490 LV scanning electron microscope (Tachikawa, Tokyo, Japan) to analyze the morphology of the materials in the micro-area. First, the process of freezing the samples in liquid nitrogen was carried out, followed by their breakage using a blade. The samples thus prepared were coated with a layer of gold about 10 nm thick using a JEOL JFC-1300 gold sputtering machine (Tachikawa, Tokyo, Japan). Microphotographs showing the morphology were taken along with the surface structure of the P3HB matrix blends and nanobiocomposites.

4.2.4. FTIR Spectroscopy

Infrared spectra of the base P3HB, PU, polymer blends and hybrid nanobiocomposites were measured using an ALPHA FTIR spectrometer (Brucker, Dekendorf, Germany) performing measurements at the wave numbers of 400–4000 cm^{-1} . The spectra were recorded at a resolution of 0.01 cm^{-1} using the ATR technique.

4.2.5. Mechanical Properties

The specimens for mechanical testing were obtained by injection molding using an Arburg 420 M injection molding machine of the Allrounder 1000-250 type (Dortmund, Germany). The process was carried out at 140–172 °C. The injection molding temperature was 25 °C for P3HB and 30 °C for polymer blends and nanobiocomposites.

The tensile mechanical properties were determined in accordance with [52] using an “Instron 4505” testing machine. Tensile strength and relative elongation at break were measured using a rate of 5 mm/min. Unnotched Charpy impact tests were performed in accordance with [53] using a Zwick 5102 impact hammer. Shore hardness was determined in accordance with [54] using a Zwick apparatus.

4.2.6. Thermogravimetric Analysis

Thermogravimetric analysis (TGA) of P3HB and its blends as well as hybrid nanobiocomposites was carried out using a Mettler Toledo TGA/DSC 3+ thermogravimetric analyzer (Greifensee, Switzerland). The heating rate of samples was 5 °C·min $^{-1}$ in the temperature range from +25 to +600 °C. The measurements were conducted in a nitrogen atmosphere. The following temperatures were determined: temperature of the beginning

of decomposition (T_{on}), temperature of half mass loss (50%), temperature of the maximum decomposition rate (T_{max}) and the total mass loss of the sample at 600 °C.

4.2.7. DSC Analysis

Differential scanning calorimetry measurements were conducted for PU, P3HB, its blends and nanobiocomposites using a differential scanning calorimeter, which provided results in the form of heat flux versus temperature as a response to a linear change in temperature over time. Measurements of the heat flow rate in the temperature range from −90 °C to 195 °C (from 183.15 K to 468.15 K) were carried out using a differential scanning calorimeter (DSC), a type of the Discovery DSC 2500, from TA Instruments, Inc. (New Castle, DE, USA). In each case, the analyses were carried out in an atmosphere of nitrogen with a constant flow rate of about 50 mL·min^{−1}. Calibration of temperature and heat flux in the calorimeters was carried out with respect to the melting parameters of indium, i.e., the initial melting temperature, the so-called “onset,” of T_m (onset) = 156.6 °C (429.6 K), and the enthalpy of fusion $H\Delta_f$ = 28.45 J·g^{−1} (3.28 kJ·mol^{−1}).

5. Conclusions

New polymer blends were prepared with P3HB and aliphatic linear PU. Linear PU synthesized with HDI and BD was used as modifier for P3HB in the amounts of 5, 10, 15 and 20 m/m%. The thermal stability of the P3HB-PU polymer compositions was higher than that of the unmodified P3HB matrix. The difference between the degradation temperature of P3HB and its blends with PU was 13–57 °C. The difference between the melting point and degradation temperature was above 100 °C for most of the polymer blends obtained. DSC analysis also showed a decrease in the glass transition temperature of the tested polymer blends. The mechanical properties of the new P3HB-PU polymer blends at 5 m/m% modifier content showed a desirable increase in tensile strength and relative elongation at break and impact strength, and a decrease in hardness. A further increase in the PU percentage in the composition resulted in a deterioration of mechanical properties except for the desired decrease in hardness.

P3HB-PU polymer blends containing 5 m/m% aliphatic linear PU showed the best mechanical and thermal properties, and were therefore used with different amounts of organically modified nanoclay (Cloisite®30B) to prepare hybrid nanocomposites based on P3HB.

Using the SAXS technique and transmission electron microscopy, it was found that polyester and polyurethane chains penetrated the interlayer spaces of the organically modified MMT (Cloisite®30B) and complete delamination occurred during direct mixing in the extrusion process. Spectral analysis confirmed the interaction between the polymers and the nanofiller and their compatibility in the obtained nanobiocomposites. The morphology of the prepared hybrid nanobiocomposites demonstrated the interaction of the biopolymer matrix with PU and Cloisite 30B as well as the formation of P3HB-PU-MMT adducts easily migrating in relation to each other and leading to improved mechanical properties compared to those of the base P3HB and P3HB-PU polymer blends.

The incorporation of nanoplatelets into the polymer matrix ensured a better thermal stability of the hybrid nanobiocomposites. There was an increase in the onset temperature of degradation by 24 °C relative to P3HB and 11 °C relative to the P3HB-PU polymer blends.

The hybrid nanobiocomposites based on the P3HB matrix have shown higher impact and tensile strength as well as higher relative elongation at break. The best mechanical properties were obtained by a nanobiocomposite containing 1 m/m% Cloisite®30B (a 30% increase in impact strength, an 11% increase in tensile strength and a 58% increase in relative elongation at break). The obtained hybrid nanobiocomposites containing the smallest amount of nanofillers—1 m/m% Cloisite®30B and 5 m/m% PU—were characterized by the best mechanical and thermal properties.

Due to the better thermal properties, i.e., a higher degradation temperature and a lower melting point compared to native P3HB, as well as a broader processing window, and

better mechanical properties, especially impact strength, the hybrid nanobiocomposites based on P3HB and containing the smallest amount of nanoadditive are expected to be used in the production of biodegradable packaging materials. Their biodegradability will be the subject of a future paper.

Author Contributions: Conceptualization, B.K. and I.Z.; Data curation, B.K., A.B., K.H., L.D., M.L. and A.C.-K.; Formal analysis, I.Z., B.K., A.B. and A.C.-K.; Investigation, I.Z., B.K. and A.C.-K.; Methodology, I.Z. and B.K.; Supervision, I.Z. and M.B.; Validation, I.Z. and A.C.-K.; Visualization, B.K. and A.C.-K.; Writing—original draft, I.Z. and B.K.; Writing—review and editing, I.Z., B.K. and M.B. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by Inkubator Innowacyjności 4.0.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available on request from the corresponding author. The data are not publicly available due to privacy or ethical.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

- Kalia, V.C.; Patel, S.K.S.; Shanmugam, R.; Lee, J.-K. Polyhydroxyalkanoates: Trends and advances toward biotechnological applications. *Bioresour. Technol.* **2021**, *326*, 124737. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Leja, K.; Lewandowicz, G. Polymer biodegradation and biodegradable polymers—A review. *Polish J. Environ. Stud.* **2010**, *19*, 255–266.
- Hablot, E.; Bordes, P.; Pollet, E.; Averous, L. Thermal and thermo-mechanical degradation of poly(3-hydroxybutyrate)-based multiphase systems. *Polym. Degrad. Stab.* **2008**, *93*, 413–421. [\[CrossRef\]](#)
- Chen, G.Q.; Wu, Q. The application of polyhydroxyalkanoates as tissue engineering materials. *Biomaterials* **2005**, *26*, 6565–6578. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Ansari, S.; Sami, N.; Yasin, D.; Ahmad, N.; Fatma, T. Biomedical applications of environmentally friendly polyhydroxyalkanoates. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, *183*, 549–563. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Tarrahi, R.; Fathi, Z.; Özgür, M.; Seydibeyoglu, K.; Doustkhah, E.; Khataee, A. Polyhydroxyalkanoates (PHA): From production to nanoarchitecture. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, *146*, 596–619. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Dias, Y.J.; Robles, J.R.; Sinha-Ray, S.; Abiade, J.; Pourdeyhimi, B.; Niemczyk-Soczynska, B.; Kolbuk, D.; Sajkiewicz, P.; Yarin, A.L. Solution-Blown Poly(hydroxybutyrate) and ϵ -Poly-L-lysine Submicro- and Microfiber-Based Sustainable Nonwovens with Antimicrobial Activity for Single-Use Applications. *ACS Biomater. Sci. Eng.* **2021**, *7*, 3980–3992. [\[CrossRef\]](#)
- Polí, A.; Di Donato, P.; Abbamondi, G.R.; Nicolaus, B. Synthesis, Production, and Biotechnological Applications of Exopolysaccharides and Polyhydroxyalkanoates. *Archaea* **2011**, *2011*, 693253. [\[CrossRef\]](#)
- Sudesh, K.; Abe, H.; Doi, H. Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: Biological polyesters. *Prog. Polym. Sci.* **2000**, *25*, 1503–1555. [\[CrossRef\]](#)
- Fernandes, E.G.; Pietrini, M.; Chiellini, E. Thermo-mechanical and morphological characterization of plasticized poly[(R)-3-hydroxybutyric acid]. *Macrom. Symp.* **2004**, *218*, 157–164. [\[CrossRef\]](#)
- El-Taweel, S.H.; Höhne, G.W.H.; Mansour, A.A.; Stoll, B. Glass transition and the rigid amorphous phase in semicrystalline blends of bacterial polyhydroxybutyrate PHB with low molecular mass atactic R, S-PHB-diol. *Polymer* **2004**, *45*, 983–992. [\[CrossRef\]](#)
- Pan, Y.; Inoue, Y. Polymorphism and isomorphism in biodegradable polyesters. *Prog. Polym. Sci.* **2009**, *34*, 605–640. [\[CrossRef\]](#)
- Yokouchi, M.; Chatani, Y.; Tadokoro, H.; Teranishi, K.; Tani, H. Structural studies of polyesters: Molecular and crystal structures of optically active and racemic poly(β -hydroxybutyrate). *Polymer* **1973**, *14*, 267–272. [\[CrossRef\]](#)
- Lenz, R.W.; Marchessault, R.H. Bacterial Polyesters: Biosynthesis, Biodegradable Plastics and Biotechnology. *Biomacromolecules* **2005**, *6*, 1–8. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Lee, S.N.; Lee, M.Y.; Park, W.H. Thermal stabilization of poly(3-hydroxybutyrate) by poly(glycidyl methacrylate). *J. Appl. Polym. Sci.* **2022**, *83*, 2945–2952. [\[CrossRef\]](#)
- Khanna, S.; Srivastava, A.K. Recent advances in microbial polyhydroxyalkanoates. *Process. Biochem.* **2005**, *40*, 607–619. [\[CrossRef\]](#)
- Palmeiro-Sánchez, T.; O’Flaherty, V.; Lens, P.N. Polyhydroxyalkanoate bio-production and its rise as biomaterial of the future. *J. Biotechnol.* **2022**, *348*, 10–25. [\[CrossRef\]](#)
- Ribeiro, P.L.L.; Figueiredo, T.V.B.; Moura, L.E.; Druzian, J.I. Chemical modification of cellulose nanocrystals and their application in thermoplastic starch (TPS) and poly(3-hydroxybutyrate) (P3HB) nanocomposites. *Polym. Adv. Technol.* **2019**, *30*, 573–583. [\[CrossRef\]](#)
- Chieng, B.W.; Ibrahim, N.A.; Then, Y.Y.; Loo, Y.Y. Epoxidized Vegetable oils plasticized poly(lactic acid) biocomposites: Mechanical, thermal and morphology properties. *Molecules* **2014**, *19*, 16024–16038. [\[CrossRef\]](#)

20. Garcia-Garcia, D.; Ferri, J.M.; Montanes, N.; Lopez-Martinez, J.; Balart, R. Plasticization effects of epoxidized vegetable oils on mechanical properties of poly(3-hydroxybutyrate). *Polym. Int.* **2016**, *65*, 1157–1164. [\[CrossRef\]](#)
21. Alakrach, A.M.; Zulkepli, N.N.; Dahham, O.S.; AL-Rashdi, A.A.; Johari, I.; Razlan, Z.M.; Ibrahim, Z.; Khairunizam, W. Physical properties of plasticized PLA/HNTs bionanocomposites: Effects of plasticizer type and content. *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.* **2019**, *557*, 012067. [\[CrossRef\]](#)
22. Zhao, Y.; Qu, J.; Feng, Y.; Wu, Z.; Chen, F.; Tang, H. Mechanical and thermal properties of epoxidized soybean oil plasticized polybutylene succinate blends. *Polym. Adv. Technol.* **2012**, *23*, 632–638. [\[CrossRef\]](#)
23. Seydibeyoglu, M.O.; Misra, M.; Mohanty, A. Progress in bio-based plastics and plasticizing modifications. *Int. J. Plast. Technol.* **2010**, *14*, 1–16.
24. Ferri, J.M.; Samper, M.; Garcia-Sanoguera, D.; Reig, M.; Fenollar, O.; Balart, R. Plasticizing effect of biobased epoxidized fatty acid esters on mechanical and thermal properties of poly(lactic acid). *J. Mater. Sci.* **2016**, *51*, 5356–5366. [\[CrossRef\]](#)
25. Jost, V.; Kopitzky, R. Blending of Polyhydroxybutyrate-co-valerate with Polylactic Acid for Packaging Applications—Reflections on Miscibility and Effects on the Mechanical and Barrier Properties. *Chem. Biochem. Eng. Q.* **2015**, *29*, 221–246. [\[CrossRef\]](#)
26. Wang, W.; Zhu, X.; Wang, X.; Chen, X.; Chen, G.Q.; Xu, K. Processability modifications of poly (3-hydroxybutyrate) by plasticizing, blending, and stabilizing. *J. Appl. Polym. Sci.* **2008**, *107*, 166–173. [\[CrossRef\]](#)
27. Ali, F.; Chang, Y.-W.; Kang, S.C.; Yoon, J.Y. Thermal, mechanical and rheological properties of poly (lactic acid)/epoxidized soybean oil blends. *Polym. Bull.* **2009**, *62*, 91–98. [\[CrossRef\]](#)
28. Silverajah, V.S.G.; Ibrahim, N.A.; Zainuddin, N.; Yunus, W.M.Z.W.; Abu, H. Mechanical, thermal and morphological properties of poly(lactic acid)/epoxidized palm olein blends. *Molecules* **2012**, *17*, 11729–11747. [\[CrossRef\]](#)
29. Al-Mulla, E.A.J.; Yunus, W.M.Z.W.; Ibrahim, N.A.B.; Ab Rahman, M.Z. Properties of epoxidized palm oil plasticized poly(lactic acid). *J. Mater. Sci.* **2010**, *45*, 1942–1946. [\[CrossRef\]](#)
30. Silverajah, V.S.G.; Ibrahim, N.A.; Yunus, W.M.Z.W.; Abu, H.; Woei, C.B. Thermal and Morphological Characterization of Poly(lactic acid)/Epoxidized Palm Oil Blend. *Int. J. Mol. Sci.* **2012**, *13*, 5878–5898. [\[CrossRef\]](#)
31. Prempeh, N.; Li, J.; Liu, D.; Das, K.; Maiti, S.; Zhang, Y. Plasticizing effects of epoxidized sun flower oil on biodegradable polylactide films: A comparative study. *Polym. Sci. Ser. A* **2014**, *56*, 856–863. [\[CrossRef\]](#)
32. Fernández-Ronco, M.P.; Gradzik, B.; Gooneie, A.; Hufenus, R.; El Fray, M. Tuning poly(3 hydroxybutyrate) (P3HB) properties by tailored segmented bio copolymers. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2017**, *5*, 11060–11068. [\[CrossRef\]](#)
33. Kozłowska, A.; Gromadzki, D.; El Fray, M.; Štěpánek, P. Morphology evaluation of biodegradable copolyesters based on dimerized fatty acid studied by DSC, SAXS and WAXS. *Fibres Text. East Eur.* **2008**, *16*, 85.
34. Mirmusavi, M.H. Assessing the physical and mechanical properties of poly 3-hydroxybutyrate-chitosan-multi-walled carbon nanotube/silk nano-micro composite scaffold for long-term healing tissue engineering applications. *Micro. Nano. Lett.* **2018**, *13*, 829–834. [\[CrossRef\]](#)
35. Zarei, M.; Karbasi, S. Evaluation of the effects of multiwalled carbon nanotubes on electrospun poly (3-hydroxybutyrate) scaffold for tissue engineering applications. *J. Porous Mat.* **2018**, *25*, 259–272. [\[CrossRef\]](#)
36. Barud, H.S.; Souza, J.L.; Santos, D.B.; Crespi, M.S.; Ribeiro, C.A.; Messaddeq, Y.; Ribeiro, S.J.L. Bacterial cellulose/poly(3-hydroxybutyrate) composite membranes. *Carbohydr. Polym.* **2011**, *83*, 1279–1284. [\[CrossRef\]](#)
37. Thiré, R.M.S.M.; Ribeiro, T.A.A.; Andrade, C.T. Effect of starch addition on compression-molded poly(3-hydroxybutyrate)/starch blends. *J. Appl. Polym. Sci.* **2006**, *100*, 4338–4347. [\[CrossRef\]](#)
38. Dos Santos, B.R.; Bacalhau, F.B.; Pereira, T.D.S. Chitosan-montmorillonite microspheres: A sustainable fertilizer delivery system. *Carbohydr. Polym.* **2015**, *127*, 340–346. [\[CrossRef\]](#)
39. Souza, J.L.; de Campos, A.; França, D.; Faez, R. PHB and montmorillonite clay composites as KNO₃ and NPK support for a controlled release. *J. Polym. Environ.* **2019**, *27*, 2089–2097. [\[CrossRef\]](#)
40. Isa, M.R.M.; Hassan, A.; Nordin, N.A.; Thirizir, M.Z.A.; Ishak, Z.A.M. Mechanical, rheological and thermal properties of montmorillonite-modified polyhydroxybutyrate composites. *High Perform. Polym.* **2020**, *32*, 192–200. [\[CrossRef\]](#)
41. D'Amico, D.A.; Manfredi, L.B.; Cyras, V.P. Relationship between thermal properties, morphology, and crystallinity of nanocomposites based on polyhydroxybutyrate. *J. Appl. Polym. Sci.* **2012**, *123*, 200–208. [\[CrossRef\]](#)
42. Joshi, S. Can nanotechnology improve the sustainability of biobased products? The case of layered silicate biopolymer nanocomposites. *J. Ind. Ecol.* **2014**, *12*, 474–489. [\[CrossRef\]](#)
43. Yan, X.U.; Zhou, W.; Ma, X.; Sun, B. Fabrication and characterization of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) modified with nano-montmorillonite biocomposite. *e-Polymers* **2021**, *21*, 38–46. [\[CrossRef\]](#)
44. Hussain, E.; Hojjati, M.; Okamoto, M. Polymer-matrix nanocomposites, processing, manufacturing, and application. *J. Compos. Mater.* **2006**, *40*, 1511–1575. [\[CrossRef\]](#)
45. Li, D.N.; Fu, J.R.; Ma, X.J. Improvement in thermal, mechanical, and barrier properties of biocomposite of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate)/modified nano-SiO₂. *Polym. Compos.* **2020**, *41*, 381–390. [\[CrossRef\]](#)
46. Risyon, N.P.; Othman, S.H.; Basha, R.K.; Talib, R.A. Effect of halloysite nanoclay concentration and addition of glycerol on mechanical properties of bionanocomposite films. *Polym. Polym. Compos.* **2016**, *24*, 795–801. [\[CrossRef\]](#)
47. Souza, A.C.; Goto, G.E.O.; Mainardi, J.A.; Coelho, A.C.V.; Tadini, C.C. Cassava starch composite films incorporated with cinnamon essential oil: Antimicrobial activity, microstructure, mechanical and barrier properties. *LWT-Food Sci. Technol.* **2013**, *54*, 346–352. [\[CrossRef\]](#)

48. Jandas, P.J.; Prabakaran, K.; Kumar, R.; Mohanty, S.; Nayak, S.K. Eco-friendly poly (hydroxybutyrate) nanocomposites: Preparation and characterization. *J. Polym. Res.* **2021**, *28*, 285. [[CrossRef](#)]
49. Botana, A.; Mollo, M.; Eisenberg, P.; Torres Sanchez, R.M. Effect of modified montmorillonite on biodegradable PHB nanocomposites. *Appl. Clay Sci.* **2010**, *47*, 263–270. [[CrossRef](#)]
50. PN-EN 1242:2006; Kleje—Oznaczanie Zawartości Grup Izocyjanianowych. Polski Komitet Normalizacyjny: Warsaw, Poland, 2006.
51. PN-C-89052-03:1985; Polietery do Poliuretanów—Metody Badań—Oznaczanie Liczby Hydroksylowej. Polski Komitet Normalizacyjny: Warsaw, Poland, 1985.
52. PN-EN ISO 527-2:2012; Tworzywa Sztuczne—Oznaczanie właściwości Mechanicznych Przy Statycznym Rozciąganiu—Część 2: Warunki Badań Tworzyw Sztucznych Przeznaczonych do Różnych Technik Formowania. Polski Komitet Normalizacyjny: Warsaw, Poland, 2012.
53. PN-EN ISO 179-1:2010; Plastics—Determination of Charpy Impact Properties—Part 1: Non-Instrumented Impact Test. Polish Committee for Standardization: Warsaw, Poland, 2010.
54. PN-EN ISO 868:2004; Tworzywa Sztuczne i Ebonit—Oznaczanie Twardości Przy Wciskaniu z Zastosowaniem Twardościomierza (Twardość Shore’a). Polski Komitet Normalizacyjny: Warsaw, Poland, 2004.

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

8.3. Publikacja [D3] – Załącznik 3

B. Krzykowska, A. Czerniecka-Kubicka, A. Białkowska, M. Bakar, M. Kovářová, V. Sedlařík, D. Hanusova, I. Zarzyka, Biopolymer Compositions Based on Poly(3-hydroxybutyrate) and Linear Polyurethanes with Aromatic Rings - Preparation and Properties Evaluation, Polymers, 16, 1618 (2024). <https://doi.org/10.3390/polym16121618>

Autor	%
B. Krzykowska	60
A. Czerniecka-Kubicka	5
A. Białkowska	5
M. Bakar	5
M. Kovářová	5
V. Sedlařík	5
D. Hanusova	5
I. Zarzyka	10

Article

Biopolymer Compositions Based on Poly(3-hydroxybutyrate) and Linear Polyurethanes with Aromatic Rings—Preparation and Properties Evaluation

Beata Krzykowska ^{1,*}, Anna Czerniecka-Kubicka ², Anita Białkowska ³, Mohamed Bakar ³,
Miroslava Kovářová ⁴, Vladimír Sedlářik ⁴, Dominika Hanusová ⁴ and Iwona Zarzyka ^{1,*}

¹ Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, Rzeszów University of Technology, Powstańców Warszawy 6, 35-959 Rzeszów, Poland

² Department of Experimental and Clinical Pharmacology, Medical College of Rzeszów University, The University of Rzeszów, 35-310 Rzeszów, Poland; aczerniecka@uredu.pl

³ Faculty of Applied Chemistry, Radom University, Chrobrego 27, 26-600 Radom, Poland; a.bialkowska@uthrad.pl (A.B.); m.bakar@wp.pl (M.B.)

⁴ Centre of Polymer Systems, University Institute, Tomas Bata University in Zlin, Tr. T. Bati 5678, 76001 Zlin, Czech Republic; kovarova@utb.cz (M.K.); sedlarik@utb.cz (V.S.); d.hanusova@utb.cz (D.H.)

* Correspondence: b.krzykowska@prz.edu.pl (B.K.); izarzyka@prz.edu.pl (I.Z.); Tel.: +48-017-865-1762 (I.Z.); Fax: +48-017-854-3655 (I.Z.)



Citation: Krzykowska, B.; Czerniecka-Kubicka, A.; Białkowska, A.; Bakar, M.; Kovářová, M.; Sedlářik, V.; Hanusová, D.; Zarzyka, I. Biopolymer Compositions Based on Poly(3-hydroxybutyrate) and Linear Polyurethanes with Aromatic Rings—Preparation and Properties Evaluation. *Polymers* 2024, 16, 1618. <https://doi.org/10.3390/polym16121618>

Academic Editor: Manuela Zubitur

Received: 9 April 2024

Revised: 20 May 2024

Accepted: 3 June 2024

Published: 7 June 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract Polymer biocompositions of poly(3-hydroxybutyrate) (P3HB) and linear polyurethanes (PU) with aromatic rings were produced by melt-blending at different P3HB/PU weight ratios (100/0, 95/5, 90/10, and 85/15). Polyurethanes have been prepared with 4,4'-diphenylmethane diisocyanate and polyethylene glycols with molar masses of 400 g/mol (PU400), 1000g/mol (PU1000), and 1500 g/mol (PU1500). The compatibility and morphology of the obtained polymer blends were determined by infrared spectroscopy (FTIR), scanning electron microscopy (SEM), and differential scanning calorimetry (DSC). The effect of the polyurethane content in the biocompositions on their thermal stability and mechanical properties was investigated and compared with those of the native P3HB. It was shown that increasing the PU content in P3HB-PU compositions to 10 wt.% leads to an improvement in the mentioned properties. The obtained results demonstrated that the thermal stability and mechanical properties of P3HB were improved, particularly in terms of increasing the degradation temperature, reducing hardness, and increasing impact strength. The best thermal and mechanical properties were shown by the P3HB-PU polymer compositions containing 10 wt.% of polyurethane modifiers, especially PU1000, which was also confirmed by the morphology analysis of these biocompositions. The presence of polyurethanes in the resulting polymer biocomposites decreases their glass transition temperatures, i.e., makes the materials more flexible. The resulting polymer biocompositions have suitable mechanical properties and thermal properties within the processing conditions for the predicted application as biodegradable, short-lived products for agriculture.

Keywords: polyester; polyurethane; structure-properties relationship; mechanical properties; thermal properties

1. Introduction

Drastic climate change, rapid depletion of natural resources, and increased greenhouse-gas emissions are just a few of the consequences of continued human interference with the environment. Among the most notable is the significant pollution of the environment by waste from everyday subjects. On the other hand, the global production of plastics has increased drastically over the past few years, which has been controversial. The European Commission reports that Europe alone produces 26 million tons of plastic waste annually [1]. Due to its inability to biodegrade and the lack of developed appropriate

disposal methods, the waste is dumped in landfills or, in the worst case, incinerated. Toxic products of their partial decomposition under the influence of atmospheric factors as well as disposal processes are released into the environment, which poses a threat to the health of all living organisms [2]. In addition, oil deposits are non-renewable. It is estimated that, with their depletion, the cost of extraction will increase significantly and, thus, their price. Therefore, the scientific community continues to focus on solutions that address the reduction of synthetic polymers' effects [3].

Solutions are constantly being sought to meet the challenges of reducing plastics derived from fossil fuels and petroleum. A potential solution is the use of products derived from biomass, as well as increasing the share of biodegradable biopolymers in materials [4,5]. Biopolymers are competitive not only in terms of their functional properties but also in terms of cost. Most biopolymers are biodegradable [6,7] and are generally biocompatible and non-toxic to the environment [8]. However, despite their many advantages, they also have a lot of disadvantages for applications in structural materials. However, they can be slightly improved or modified, making them more accessible. To increase the biodegradability of some materials or to partially reduce reliance on artificial materials, they are used as matrix components, additives, and fillers in composites or hybrid composites [9,10]. Mixing polymers together and using plasticizers effectively improve the processability and strength of biopolymers. As a result, it increases the possibility of their potential applications in various branches of industry [11–16].

Given the current advances in biopolymer research, biopolymers from the poly(hydroxyalkanoates) (PHAs) family show properties with the most potential [17,18]. The physicochemical properties of short-chain PHAs are similar to polypropylene (PP) [19]. This, in turn, makes them predisposed to replace plastics made especially of PP in the future, especially disposable packaging.

A representative of the PHAs family is poly(3-hydroxybutyrate), (P3HB) (Figure 1), which is a common compound responsible for energy storage in bacteria. Due to its biocompatibility, non-toxicity, bioinertness, and biodegradability, it is used in many medical applications [20–22]. As a material, it has many disadvantages, most notably brittleness, low thermal stability, or a narrow processing window [23,24]. The degradation temperature of P3HB is almost equal to its melting point, which makes its processing conditions very difficult. Such disadvantages can be compensated for by certain modifications to P3HB depending on the selected application.

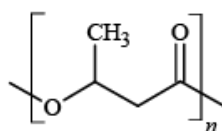


Figure 1. Repeated unit of P3HB.

One of the methods to improve the properties of P3HB is to produce blends and composites using it as a polymer matrix. Taking into account the work of Bakar and co-workers on hybrid compositions and nanocomposites based on polyester resins with the addition of polyurethanes, an improvement in the thermal and mechanical properties of P3HB was expected after the introduction of polyurethane [25–29]. The use of a polyurethane modifier was not only supposed to improve the thermal and mechanical properties of P3HB but also should not reduce the biodegradability of P3HB because the addition of hydrophilic polymers increases the absorption of water into the polymer mass and accelerates its hydrolysis, facilitating biodegradation [30]. Therefore, various polyurethanes are used to modify the P3HB properties, i.e., polyurethanes based on hexamethylene 1,6-diisocyanate and polyethylene and polypropylene glycols with different molar masses were used to produce polymer compositions and composites [31–34].

The present studies aimed to modify the properties of P3HB by producing polymer blends with MDI-based linear polyurethanes and polyethylene glycols of different molar masses. The compatibility and homogeneity of the obtained polymer compositions were confirmed, and their thermal and mechanical properties were studied and compared with those of native P3HB.

2. Materials and Methods

2.1. Materials

P3HB was supplied by Biomer (Krailling, Germany). Its weight average molecular mass was $M_w = 443,900 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, and its dispersity index was $(M_w \cdot M_n^{-1}) = 5.72$. The P3HB melt flow index was $0.11 \text{ g}\cdot(10 \text{ min})^{-1}$ (180°C at 2.16 kg). 4,4'-diphenylmethane diisocyanate (MDI) and dibutyltin dilaurate (DBTL) were supplied by Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, USA) and acetone from Chemsolute (Stuttgart, Germany).

2.2. Synthesis of Linear Polyurethanes with Aromatic Rings

In a three-neck round-bottom flask equipped with a mechanical stirrer, thermometer, and dropping funnel, polyethylene glycol with molecular mass 1000 g/mol (PEG1000), anhydrous acetone, and dibutyltin(IV) dilaurate (DBTL) as a catalyst (0.003 mol/mol PEG1000) were placed. The reaction was conducted in an inert gas (nitrogen). A suspension of 4,4'-diphenylmethane diisocyanate (MDI) in acetone was dropped into the solution in such a way that the molar ratio of isocyanate groups to hydroxyl groups of glycol was 1:1.08. The dropping funnel was protected by a tube with drying media. The dropping of the suspension was carried out at such a rate that the reaction mixture's temperature did not exceed 30°C . If the exothermic effect disappeared, the reaction mixture was kept boiling at about 56°C for at least 1 h. The turbidity of the reaction mixture occurred during heating. The end of synthesis was confirmed by an increase in the viscosity of the mixture, as well as by a zero value of the determined isocyanate number (according to the standard PN-EN 1242, 2006 [35]). Acetone was removed from the reaction mixture using a rotary evaporator. Residual solvent was removed during the exposure of the polyurethane in a vacuum dryer at $40\text{--}100^\circ\text{C}$ to a constant product weight.

Syntheses were also conducted using polyethylene glycol with a molar mass of 400 g/mol (PEG400) and a molar mass of 1500 g/mol (PEG1500) using the appropriate amount of catalyst, i.e., 0.001 mol DBTL/mol PEG400 and 0.005 mol DBTL/mol PEG1500 (Figure 2).

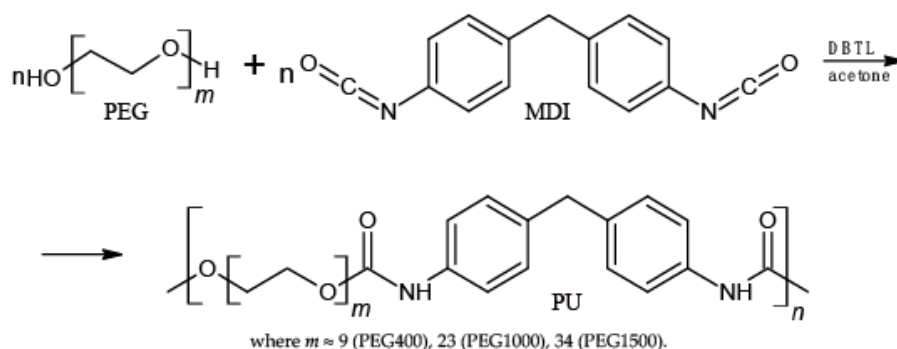


Figure 2. Synthesis scheme of polyurethanes.

The polyurethanes were characterized by size-exclusion chromatography (SEC) by determining the number of the average molar mass (M_n), the weight of the average molar mass (M_w), the molar mass at peak maximum (M_p), and the degree of dispersion (DI). The results of the SEC analysis are shown in Table 1 below.

Table 1. Molar masses and dispersion degree of the obtained polyurethanes.

Polyurethane	M_n (g/mol)	M_w (g/mol)	M_p (g/mol)	DI
PU400	5000	7000	9000	1.40
PU1000	6000	8000	9000	1.33
PU1500	6000	8000	10,000	1.33

2.3. Preparation of Polymer Blends

Polymer compositions consisting of poly(3-hydroxybutyrate) (P3HB) and a modifier, in the form of an aromatic linear polyurethane, were produced with PU contents of 5, 10, and 15 wt.% (Table 2). For this purpose, the polyurethane was heated in a laboratory dryer to a liquid state at 100 °C. In the next step, polyurethane was homogenized with P3HB by mixing them in a drum mixer. The homogenization process was carried out for 20 min at room temperature. The homogenized mixture was fed into a co-rotating twin-screw extruder, where the extrusion of biodegradable polymer blends was carried out. The different zones of the extruder were maintained at the following temperatures: tray—25 °C, zone I—125 °C, zone II—136 °C, zone III—150 °C, zone IV—160 °C, and head—166 °C. Extrusion was carried out at a speed of 350 rotations per minute. The molten product exited the extruder through a dual-core head. After cooling in a cooling bath, the composition was pelletized and then dried at 60 °C for more than 2 h.

Table 2. Composition of the polymer mixtures.

PU400 Content (wt.%)	Biocomposition Designation
5	K400-5
10	K400-10
15	K400-15
PU1000 content (wt.%)	-
5	K1000-5
10	K1000-10
15	K1000-15
PU1500 content (wt.%)	-
5	K1500-5
10	K1500-10
15	K1500-15

2.4. Analytical Methods

2.4.1. Size-Exclusive Chromatography (SEC)

The molar mass of the resulting polyurethane was measured by SEC using the following apparatus and measurement conditions: Waters HPLC liquid chromatograph, Waters model e2695 and Waters model 2414 differential refractometer, mixed gel bed column series: PL gel MIXED-A (300 × 7.5 mm, 20 µm) + PL gel MIXED-B (300 × 7.5 mm, 10 µm) + PL gel MIXED-D (300 × 7.5 mm, 5 µm), mobile phase: tetrahydrofuran (THF) stabilized with butylated hydroxytoluene, temperature: 40 °C, injection volume: 100 µL, flow rate: 1 mL/min, refractometer detector, and Empower 3 software.

Prior to the measurements, the chromatographic system was calibrated with polystyrene standards for molecular weights in the range of 580–990,500 g·mol^{−1} with 12 points.

2.4.2. Scanning Electron Microscopy

The morphology of the polymer compositions was studied using a JEOL JSM-6490 LVy scanning electron microscope (Tokyo, Japan) with 20 kV accelerating voltage and secondary

electron detection (SEI). The samples to be tested were frozen in liquid nitrogen and then shattered with a hammer. The surfaces of the shattered samples were then sputtered with a thin layer of gold about 10 nm thick using a JEOL JFC-1300 atomizer (Tokyo, Japan). Finally, the sputtered samples were placed in an electron-microscope chamber, and the material surface was analyzed in several micro-areas.

2.4.3. Thermogravimetric Analysis

Thermogravimetric analysis (TGA) of the polymer compositions was carried out using a Metler Toledo TGA/DSC 3+ thermogravimetric analyzer (Hamburg, Germany). Composition samples were heated at a rate of 5 °C/min in the temperature range from +25 to +600 °C in an inert gas (nitrogen) atmosphere. The temperature of the onset decomposition (T_{on}), the temperature corresponding to 50% weight loss ($T_{50\%}$), the temperature of the maximum decomposition rate (T_{max}), and the total weight loss of the samples at 600 °C were determined.

2.4.4. Standard Differential Scanning Calorimetry Measurements

The DSC measurements of P3HB, polyurethanes, and their biocompositions were carried out with the use of a differential scanning calorimeter (TA Instrument Q25, Newcastle, DE, USA). The results were obtained in the form of a heat-flow dependence on temperature or time as a response to a linear change of temperature with time. All measurements were made under a nitrogen atmosphere at a constant nitrogen flow of about 50 mL/min. The temperature and heat-flow calibration of the calorimeters was carried out in relation to the melting parameters of indium. The initial melting point, the so-called “Onset” of indium is $T_{m(onset)} = 156.6$ °C (429.6 K), and the enthalpy of fusion is $\Delta H_f = 28.45$ J/g (3.28 kJ/mol).

The weights of the tested samples were in the range of 5–10 mg. The accuracy of measurements was $\pm 3\%$. DSC measurements were carried out in the temperature range of -40 to 195 °C, and a constant heating rate of 10 °C·min $^{-1}$. An isothermal annealing was performed for 2 min at 195 °C, and the system was stabilized for 5 min at -40 °C.

2.4.5. FTIR Spectroscopy

The infrared (FTIR) spectra of P3HB, polyurethane, and their compositions were recorded on an ALPHA FT-IR Bruker instrument in ATR mode or KBr discs at the wavenumber of 400 – 4000 cm $^{-1}$. The spectra were recorded at a resolution of 2 cm $^{-1}$ using the ATR technique.

2.4.6. Mechanical Properties

The following tests were carried out for the mechanical properties of the obtained blends and pure P3HB, i.e., tensile strength, relative elongation at break, Charpy impact strength, and shore hardness.

The tensile mechanical properties were determined in accordance with PN-EN ISO 527-2: 2012 [36] using the Instron 4505 testing machine. Tensile strength and relative elongation at break were measured at a tensile rate of 5 mm/min.

Charpy impact tests were conducted in accordance with PN-EN ISO 179-1: 2010 [37] using a Zwick 5102 impact hammer.

The hardness of the obtained polymer composition samples was determined by the shore method using Barriess Shore hardness testers: HP-A and HP-D. The measurement consisted of measuring the resistance of the sample of the tested composite during the penetration of a needle of a defined shape and dimension in accordance with PN-EN ISO 868 [38] and ASTM D2240 [39].

3. Results and Discussion

P3HB is a biodegradable, biocompatible, and biosynthesizable polymer [40]. However, P3HB exhibits undesirable characteristics, which include brittleness, stiffness, and limited thermal stability, making this polymer difficult to process [41]. P3HB was, thus,

mixed with linear aromatic polyurethane in order to improve its selected properties. The linear polyurethane was prepared by the polyaddition reaction of diphenylmethane 4,4'-diisocyanate (MDI) and polyethylene glycol with a molar mass of 400 g/mol (PEG400), 1000 g/mol (PEG1000), or 1500 g/mol (PEG1500) in the presence of dibutyltin(IV) dilaurate (DBTL) as a catalyst.

Polyurethanes were used in amounts of 5, 10, and 15 wt.% (Table 2) to synthesize biodegradable polymer compositions. The blends were prepared using a co-rotating twin-screw extruder. P3HB processed under similar conditions as the polymer blends was used as the reference material for comparison purposes.

3.1. Spectral Analysis of the Prepared Polymer Biocompositions

FTIR characterization was carried out aiming to verify the possible interactions between the components of the biocompositions and their compatibility [42]. The spectra of the prepared P3HB-PU compositions were compared with the FTIR spectra of their integral components, i.e., native P3HB as well as PU400, PU1000, and PU1500. The observed differences and similarities of the bands appearing in the FTIR spectra are discussed in the example of polymer compositions prepared from PU400 as presented in Figure 3.

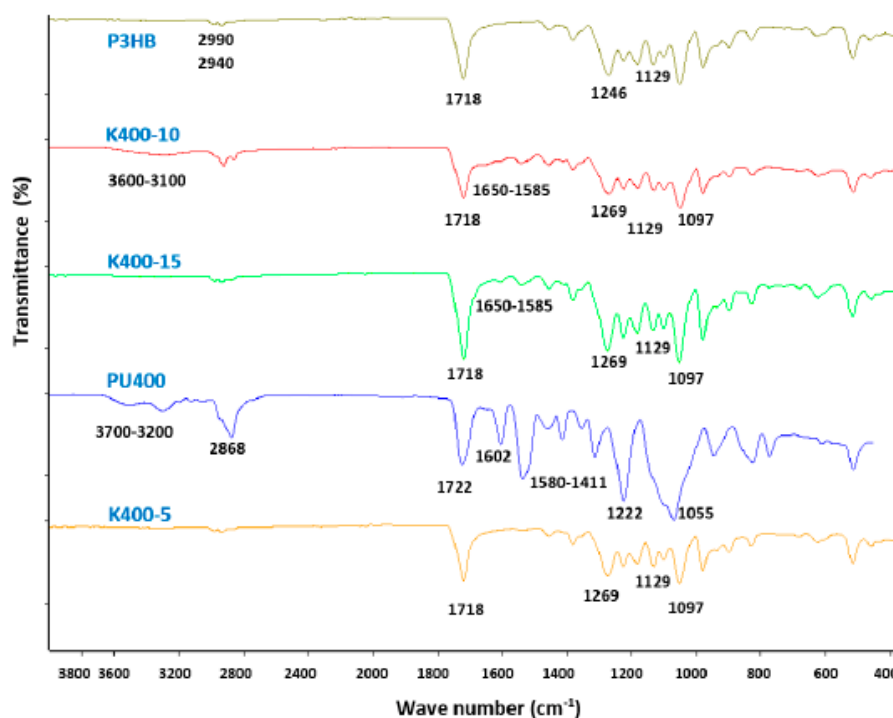


Figure 3. Set of FTIR spectra of native P3HB, PU400, and P3HB-PU polymer biocompositions containing 5, 10, and 15 wt.% PU400 (K400-5, K400-10, and K400-15, respectively).

All characteristic peaks were observed in the FTIR spectrum of native P3HB (Figure 3), thus confirming the structure of the biocomposition matrix used. The spectrum showed a characteristic, intense band of ester bonds, originating from the valence vibrations of C=O bonds at 1718 cm^{-1} . Additionally, asymmetric and symmetric vibration bands of the C–O bonds of the ester group are observed at 1246 cm^{-1} and 1129 cm^{-1} . However,

asymmetric and symmetric vibration bands of C–H bonds in methyl and methylene groups are observed at 2990 cm^{-1} and 2940 cm^{-1} .

On the FTIR spectrum of PU400 (Figure 3), there is a band from the valence vibration of the N–H bond of the urethane group –NH–COO– in the wavenumber range of $3600\text{–}3100\text{ cm}^{-1}$. The peak of the urethane groups is wide and diffuse, indicating the occurrence of hydrogen bonds in polyurethane. At 2868 cm^{-1} , one broad band from valence vibrations of asymmetric and symmetric C–H bonds of methylene groups PU400 is also observed. At about 3060 cm^{-1} , there is a band of C–H bond vibrations of the phenylene ring. A valence vibration band of the C=O groups of urethanes –NH–COO– appears at 1722 cm^{-1} , and at 1602 cm^{-1} , a band characteristic of deformation vibrations of N–H bonds of polyurethane appears. In the wavenumber range of $1580\text{–}1411\text{ cm}^{-1}$, the characteristic backbone bands of the aromatic ring are present. Bands of asymmetric and symmetric C–O bonds of –NH–COO– urethane groups are visible at 1222 cm^{-1} and 1055 cm^{-1} . The FTIR analysis of the polyurethane used to modify P3HB, therefore, confirmed the correct progress of the polyaddition reaction during PU synthesis.

Similarities and differences were found between the spectra of biocompositions containing different amounts of PU (Figure 3). These spectra also differ in their intensity and range of peaks compared to the peaks appearing in the spectrum of the native polymer matrix and the polyurethane modifier itself. In the spectra of all P3HB-PU biocompositions (Figure 3), there is, in the range of $2800\text{–}3000\text{ cm}^{-1}$, a scattered band with variable intensity depending on the amount of PU400 in the composition. In the biocomposition containing 10 wt.% PU, this band is much smaller than in native polyurethane but larger than in P3HB itself. This may indicate that the urethane groups of the polymeric modifier interacted with the CH and CH_2 groups of P3HB in the composition containing 10 wt.% PU. However, in the samples containing 5 wt.% or 15 wt.% polyurethane, the intensity of this band is comparable to the band assigned to the vibrations of C–H methine and methylene groups in P3HB, which may confirm the lack of interaction of the biomatrix with such amounts of polymer modifier. Moreover, there is a band at the wave number of 1718 cm^{-1} in all the spectra of the biocompositions. It was attributed to the stretching vibrations of C=O bonds of the –NH–COO– urethane group of the PU modifier. Additionally, it should be emphasized that the lowest intensity of this band was shown by the biocomposition containing 10 wt.% PU (K400-10), demonstrating the occurrence of the urethane groups' interaction in the biocomposition components. In the wave number range of $1585\text{–}1650\text{ cm}^{-1}$, there is a band of bending vibrations of the N–H bonds of urethane, which is characterized by multiplicity due to the formation of intermolecular hydrogen bonds between the P3HB and PU400 chains [43,44]. The intensity of this band is variable and depends on the amount of PU400 in the polymer composition and is highest for a 10 wt.% amount of PU. Hence, it can be assumed that the interactions between the matrix and P3HB occurred to the greatest extent in the sample modified with 10 wt.% PU. Additionally, other bands characteristic of the analyzed compositions were identified. Common bands from asymmetric and symmetric C–O vibrations of esters and urethanes appeared at a wavenumber of 1269 cm^{-1} and 1129 and 1097 cm^{-1} .

An FTIR spectral analysis of the prepared polymer compositions and their components confirmed the interaction of polyurethane with the P3HB matrix in a composition containing 10 wt.% polymeric modifier.

In the spectra of biocompositions obtained with other polyurethanes, i.e., PU1000 and PU1500, similar changes are observed with a change in the amount of PU in the polymer biocompositions.

3.2. Morphology Characteristics of the Obtained Polymer Biocompositions

Figure 4 shows SEM micrographs of the fracture surfaces of polyester samples and biocompositions containing 5, 10, and 15 wt.% of polyurethane modifier based on polyethylene glycol (PEG400, PEG1000, and PEG1500). The fracture surfaces of the broken samples are used, in general, to explain the possible interaction between the polymer matrix and the

polyurethane modifier and, hence, the mechanism(s) that may explain the improvement in the mechanical properties of the tested biocompositions. The images presented were obtained by scanning the surfaces of broken samples. The fracture surface of unmodified polyester (P3HB), shown in Figure 4a, is slightly wavy and glassy, indicating a regular and relatively linear crack propagation path. In addition, the brittle cracking zones are arranged unidirectionally [45].

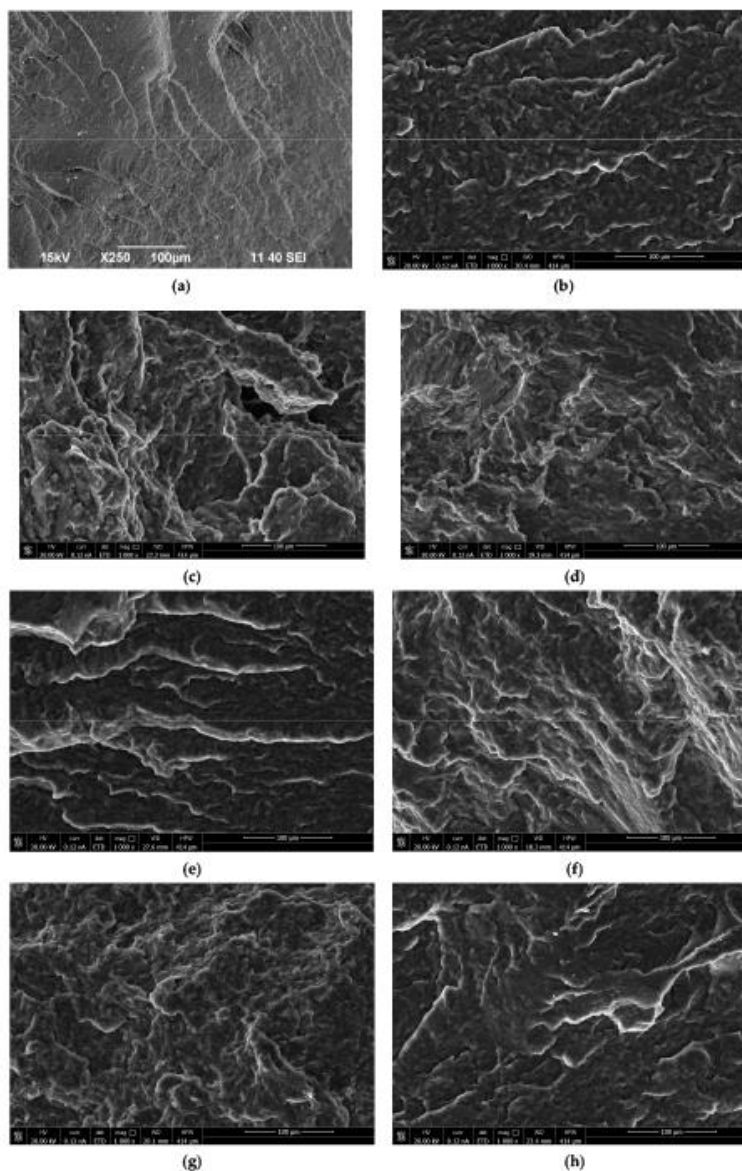


Figure 4. *Cont.*

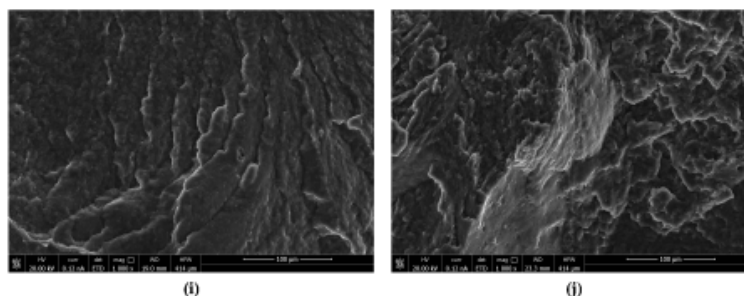


Figure 4. SEM micrographs of P3HB (a) and its polymer biocompositions containing 5, 10, and 15 wt.% polyurethane: PU400—K400-5 (b), K400-10 (c), K400-15 (d); PU1000—K1000-5 (e), K1000-10 (f), K1000-15 (g); PU1500—K1500-5 (h), K1500-10 (i), and K1500-15 (j).

Figure 4b–j show the fracture surfaces of P3HB polyester biocompositions modified with different amounts of polyurethane based on short-chain-based glycol (PEG400) and long-chain glycols (PEG1000) and (PEG1500). As can be seen, the introduction of the PU modifier caused an apparent disruption in the continuity of the P3HB matrix structure. The rough areas visible in the images and arranged in different directions may suggest the interaction of the biopolymer matrix with PU, leading to the separation of the interacting P3HB chains and the formation of the mentioned domains.

There were clear differences in the aforementioned disentanglement when comparing the images of PU400-modified samples with the structure of the PU1000- and PU15000-modified samples, and it was greater the longer the chain of glycol was used (Figure 4b–j). Such a relationship may be related, for example, to an increase in the elongation at break, to a slight decrease in hardness and tensile strength, and to an increase in the impact strength of compositions based on long-chain PU compared to samples modified with short-chain PU400 [46]. Thus, slight differences in the mechanical properties of the samples based on PU1000 and PU1500 are expected.

The composition structure was also affected by the amount of added PU. The polyester matrix modified with 10 wt.% PU had a slightly different structure than the other samples (compositions containing 5 wt.% or 15 wt.% PU). The distinct rough zones and those unidirectionally aligned are much larger in size than in the other images of compositions containing 5 wt.% and 15 wt.% PU. Moreover, the unidirectionally arranged rough zones are longer the longer the PU chains are. This finding demonstrated that the higher the molecular weight of PEG used for PU synthesis, the better the plasticization effect of P3HB. This may be related to the formation of P3HB-PU adducts that are easily displaced relative to each other. The images of compositions with PU1000 and PU1500 are similar at 15 wt.% PU, which may account for the slight increase in elongation at break and little or no difference in impact strength of the analyzed samples. On the other hand, the use of PU1500 resulted in the formation of PU agglomerates in the matrix, with the deterioration of the mechanical properties compared to the PU1000-modified compositions.

3.3. Mechanical Properties of the Produced Polymer Biocompositions

Selected mechanical properties of the prepared polymer compositions were evaluated, and the obtained results are shown in Figure 5. Figure 5a shows an increase in the hardness of obtained polymer biocompositions based on P3HB-PU. The hardness of polymer compositions with PU400 decreased with an increase in the amount of added PU, but it was still higher than that of the unmodified P3HB. Similar results were observed in the compositions with PU1000. Furthermore, it is shown that even the modifier PU1500 caused the decrease of hardness below the hardness value of native P3HB. It was observed that after an initial increase of hardness the polymer biocompositions compared to native P3HB, that the longer the chain of polyethylene glycol used to prepare the polyurethane, the greater the decrease

in hardness, i.e., the greater the flexibilization effect of the polyurethane modifier, despite the presence of the aromatic rings [47].

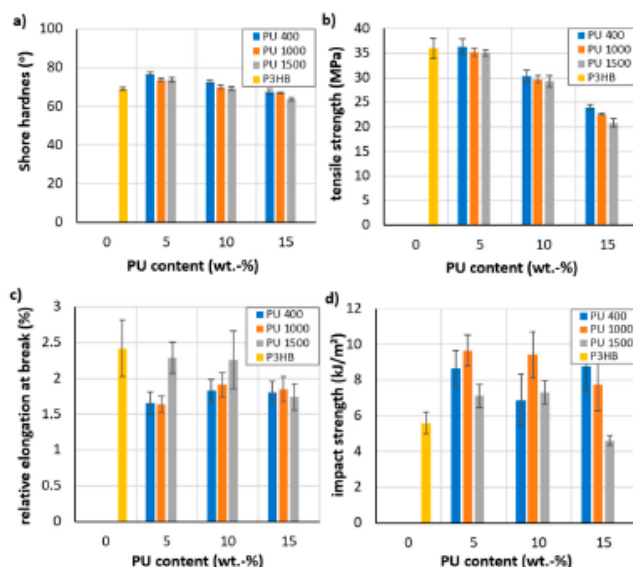


Figure 5. Effect of PU400, PU1000, and PU1500 content on hardness (a), tensile strength (b), relative elongation at break (c), and impact strength (d) of P3HB-PU polymer biocompositions.

The addition of PU based on MDI to P3HB causes two effects, namely the flexibilization effect of the polyol chain and the stiffening effect of aromatic rings. The stiffening effect of aromatic rings predominates when the polyol chains are shorter (PU400 and PU1000). In the case of PU1500, the flexibilization effect of the polyol chain starts to prevail.

Figure 5b shows the dependence of tensile strength (TS) on the content of PU400, PU1000, and PU1500 in the polymer biocompositions, and indicates that the strength decreased with the increasing molecular weight of polyethylene glycol in PU [48]. The TSs of all the P3HB-PU polymer compositions were lower than that of unmodified P3HB, apart from the TS of the 5 wt.% PU400-based composition, which was slightly higher. An increase in the amount of PU in the polymer composition from 5 wt.% to 10 or 15 wt.% resulted in a minimal decrease in the TS values. The introduction of PU1000 (wt.5%) into P3HB resulted in only a minimal decrease in the tensile strength of the polymer biocomposition. However, increasing the amount of PU1000 up to 10 wt.% resulted in an approximately 16% decrease in the TS. The lowest value of TS (i.e., a decrease in strength of more than 30% compared to a native P3HB) was shown by the P3HB-PU polymer biocompositions with PU1500 (wt.15%). It should be noted that, in the case of modification of P3HB with PU1500, an increase in the amount of PU caused a regular decrease in the TS of the biocompositions. The reduction in TS can be explained by the flexibilization of the biocompositions induced by the flexible chains of the polymer modifier, as demonstrated by the hardness results (Figure 5a).

In the case of the relative elongation at break (Figure 5c), it can be noted that the modification of P3HB with the linear aromatic polyurethanes PU400, PU1000, and PU1500 led to the decrease in the value of the parameter of all the tested compositions. Strength-strain curves are shown in Figures S1–S4. The lowest value of the relative elongation at break was shown by the blends containing the PU400 modifier. An increase in the PU400 content results in a small increase in elongation at the break. A similar relationship is

observed in the case of the introduction of PU1000. Attention is focused on the polymer composition containing 5 and 10 wt.% PU1500, where a significant increase in the relative elongation at break is observed. In the case of the polymer composition containing 15 wt.% PU1500, the relative elongation at the break parameter showed lower values. Another study has confirmed that the addition of small amounts of vegetable-oil-derived plasticizers resulted in an increase in elongation at break, with a significant increase in the impact strength [49,50]. Moreover, the use of terpene plasticizers led to a significant increase in elongation at the break (more than a six-fold increase of the P3HB, which increases free volume and molecular mobility) [51].

The impact strength (IS) of the P3HB-PU polymer compositions is shown in Figure 5d as a function of the PU modifier content. It should be noted that, basically, all polymer biocompositions showed higher IS than the native P3HB sample. The maximum IS (70% improvement over native P3HB) was shown by the polymer compositions containing 5 and 15 wt.% PU400, as well as 5 and 10 wt.% PU1000, which is in accordance with the results obtained by SEM. Among the compositions with PU1000, the lowest IS was found in the composition containing 15 wt.% PU1000. On the other hand, the impact resistance increased and then decreased after the addition of PU1500. At 15 wt.% PU1500, the composition showed the smallest IS value, being the only one even smaller than that of the native P3HB (the IS reduction reached ~17%). The flexibilizing effect induced by the longest polyol chain in the polyurethane based on PU1500 was reflected by the lowest hardness and, at the same time, the lower IS of the P3HB-PU samples [52].

3.4. Thermal Stability of the Prepared P3HB Polymer Blends

The thermal stability of the prepared polymer biocompositions and native P3HB was determined by thermogravimetric (TG) analysis. The TG results are shown in Table 3. Taking into account that P3HB can partially degrade in the extruder as Yeo et al. [20] described, the native P3HB was processing in the same or very similar conditions as the P3HB-PU compositions.

Table 3. Interpretation of TG curves of pure P3HB and its biocompositions with PU obtained at a heating rate of 5 °C/min in a nitrogen atmosphere.

Sample	T _{on} (°C)	T _{5%} (°C)	T _{10%} (°C)	T _{30%} (°C)	T _{max} (°C)	Residue at 600 °C (%)
P3HB	221.1	236.2	245.6	281.2	282.1	1.10
K400-5	252.1	266.5	271.1	307.6	283.7	1.23
K400-10	252.7	267.1	271.5	329.3	285.7	1.40
K400-15	253.6	267.3	271.8	283.8	285.2	1.90
K1000-5	250.1	265.0	270.2	284.5	285.1	1.67
K1000-10	251.7	265.6	271.0	285.7	287.1	1.60
K1000-15	250.9	267.6	272.2	282.6	286.2	1.76
K1500-5	250.2	265.5	267.3	281.3	286.1	1.57
K1500-10	249.8	267.4	271.4	282.7	287.2	1.68
K1500-15	250.8	266	270.5	282.7	282.6	1.78

The thermal stability of the P3HB-PU polymer biocompositions, as measured by the onset decomposition temperature (T_{on}), increased by 30 °C compared to pure P3HB [53,54]. As it has been reported by Garcia-Garcia et al. [50], the thermal stability of P3HB increased by more than 30 °C due to the addition of a plasticizer. By onset decomposition temperature, we mean the temperature at which a detectable weight loss of less than 5% occurs. Moreover, it can be noted that the amount and type of incorporated PU, basically, did not affect the values of T_{on}. Due to the specificity of the P3HB-based composition, the

thermal decomposition occurred in one step, with a maximum in the temperature range of 283–287 °C, as observed in the DTG curve, further indicating the fastest decomposition of the material. The maximum decomposition temperature of the native P3HB was close to the temperatures of all the prepared P3HB-based compositions. The residue after decomposition at 600 °C was similar, not exceeding 2 wt.%, and was slightly higher than that of unmodified P3HB, which is related to the presence of aromatic structures introduced into the biocompositions with polyurethanes. The preparation of P3HB polymer compositions with aromatic linear polyurethanes contributed to an increase in the thermal stability of the obtained materials.

3.5. Analysis of Thermal Parameters of P3HB-PU Polymer Biocompositions

Figures 6–8 show the heat-flow rates versus the temperature in the range of −90 °C to 195 °C for K400-, K1000-, and K1500-based biocompositions. All obtained data are presented in Table 4. The qualitative thermal analysis was performed based on the heat-flow rates of semicrystalline P3HB and its blends with PU and recording glass transition (T_g), cold crystallization, and melting temperatures. Based on the analysis of the glass transition region during heating, the change of heat capacity (ΔC_p) and the value of T_g were determined. However, from the analysis of the melting transition, the heat of fusion (ΔH_f and ΔH_f) and the beginning of melting $T_{m1(\text{onset})}$ and $T_{m2(\text{onset})}$ were estimated.

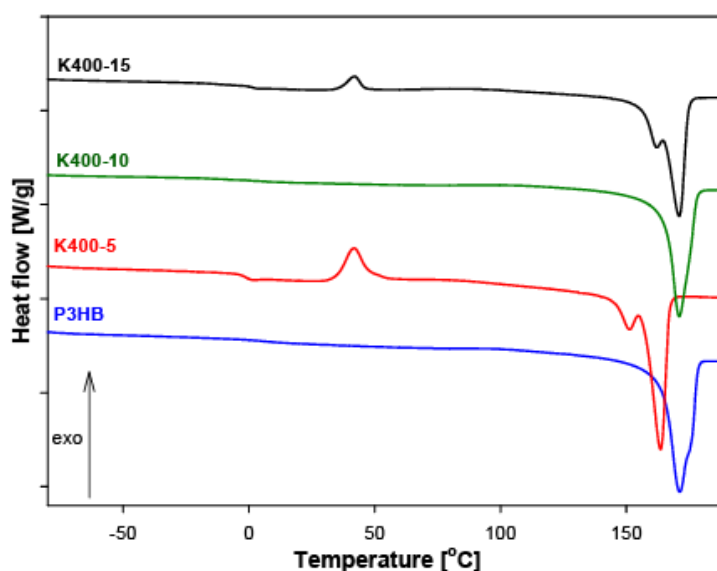


Figure 6. Comparison of heat flow of poly(3-hydroxybutyrate), P3HB, and K400-5, K400-10, K400-15 biocompositions versus temperature.

Figure 6 shows three heating scans for K400 blends and P3HB as the reference sample. The glass transition, cold crystallization, and melting were observed for K400-5 and K400-15. Probably, it is linked to the method of extrusion of the blends and the forming of some of the contents of the crystalline phase during heating. It can be observed that glass transition and melting are visible for K400-10. The glass transitions of K400-5 and K400-15 were observed in the range of −1.80 °C to 1.20 °C, and the onset melting temperature was in the range of 156.6 °C–163.2 °C. The change in heat capacity and heat of fusion were also determined for the next estimation of the phase content of new materials. Based on Table 4, the lowest value of the glass transition temperature was observed for the K400-5 biocompositions,

which allows us to assume that this material will be the most plasticized compared to the other tested materials. The greatest processing capabilities K400-5 offers are because the processing window was estimated as 95.5 °C. For the remaining biocompositions (i.e., K400-10 and K 400-15), it is 87.4 °C and 90.4 °C, respectively.

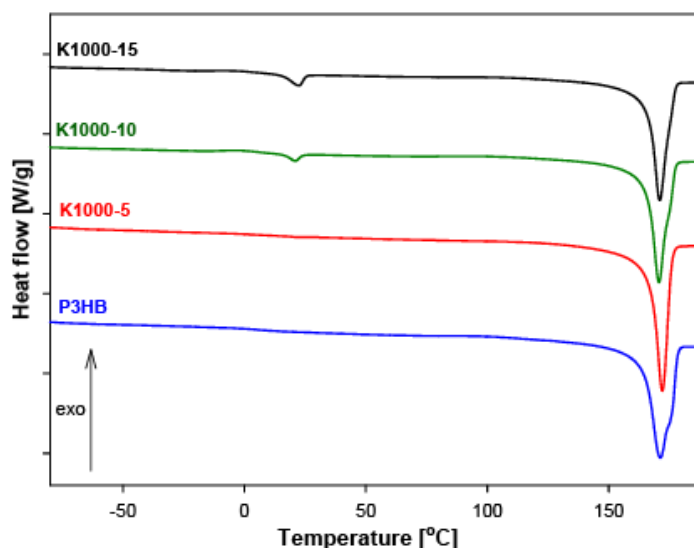


Figure 7. Comparison of heat flow of poly(3-hydroxybutyrate), P3HB, and K1000-5, K1000-10, K1000-15 biocompositions versus temperature.

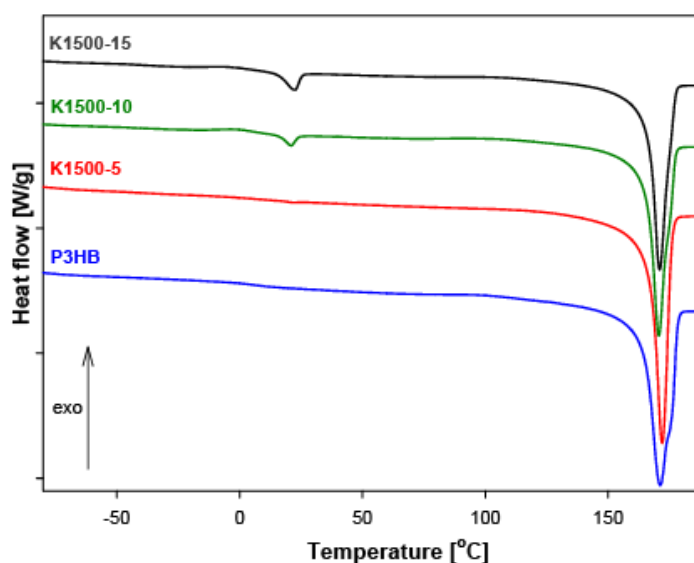


Figure 8. Comparison of heat flow of poly(3-hydroxybutyrate), P3HB, and K1500-5, K1500-10, K1500-15 biocompositions versus temperature.

Table 4. Comparison of thermal parameters of P3HB, biocompositions, and polyurethanes upon heating their samples at 10 °C/min after prior cooling at the same rate.

Sample	T_g (°C)	ΔC_p (J·g ⁻¹ ·°C ⁻¹)	$T_{m1}(\text{Onset})$ (°C)	$T_{m1}(\text{Peak})$ (°C)	ΔH_{f1} (J·g ⁻¹)	$T_{m2}(\text{Onset})$ (°C)	$T_{m2}(\text{Peak})$ (°C)	ΔH_{f2} (J·g ⁻¹)
P3HB	7.70	0.162	159.73	165.75	91.93	-	-	-
K400-5	-1.80	0.358	156.60	163.60	37.89	-	-	-
K400-10	0.40	0.226	165.30	170.90	87.33	-	-	-
K400-15	1.20	0.160	163.20	171.00	58.25	-	-	-
K1000-5	-40.74	0.076	14.80	21.80	0.535	166.95	172.00	92.68
K1000-10	-43.75	0.024	16.13	20.85	0.959	165.60	170.70	86.30
K1000-15	-39.80	0.098	15.32	22.30	5.029	166.11	171.03	81.27
K1500-5	3.80	0.168	34.10	39.00	0.388	163.50	169.60	88.20
K1500-10	3.50	0.112	33.10	41.20	4.833	163.90	171.20	86.68
K1500-15	1.15	0.137	35.80	42.12	8.427	163.60	169.60	84.68
PU400	-21.32	0.296	-	-	-	-	-	-
PU1000	-27.85	0.143	3.42	49.86	76.82	-	-	-
PU1500	-32.70	0.098	27.05	47.39	116.05	-	-	-

Figures 7 and 8 show a single elongated glass transition and two melting peaks, which were caused by P3HB and PU contents. Figure 9 shows the melting peaks of PU1000 and PU1500, with the peak temperatures of melting at 49.86 and 47.39 °C, respectively.

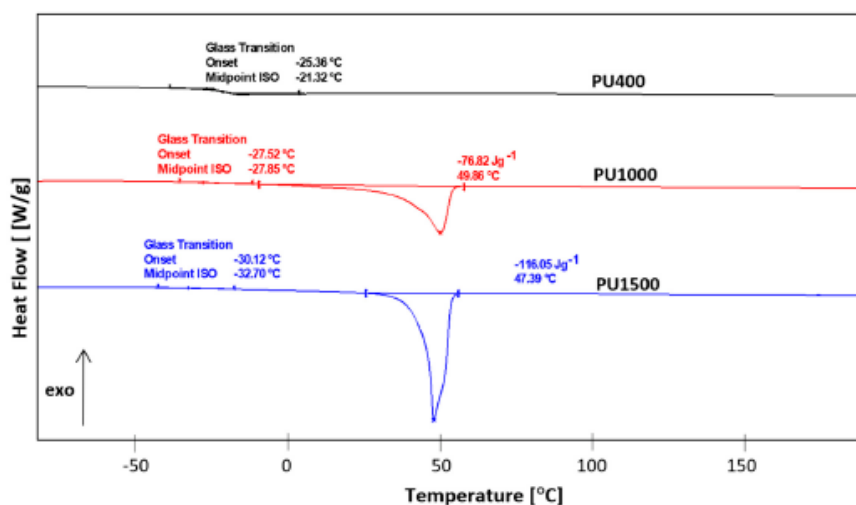


Figure 9. Comparison of heat flow of the used polyurethanes, PU400, PU100, and PU1500 versus temperature.

The glass transition temperature of the polymers PU400, PU1000, and PU1500 was also determined. The glass transition temperature values of these polymers decrease in the series PU400→PU1000→PU1500, from -21.3 to -32.7 °C.

The glass transitions of K1000 and K1500 were observed in the range of -39.80 °C to -43.75 °C and 1.15 °C to 3.8 °C, respectively. Two melting peaks were

observed in thermograms (Figures 7 and 8) of all the biocompositions. The first, always smaller, endothermic peak is due to the melting of less stable crystals of PU ($T_{m1(peak)}$, Table 4), while the second larger peak ($T_{m2(peak)}$, Table 4) corresponds to the melting of larger, well-formed, crystals of P3HB. This same situation is observed for K1500 biocompositions. Based on Table 4, the lowest value of the glass transition temperature was observed for the K1000-10 biocomposite, which allows us to assume that this material will be the most plasticized in reference to the series of materials considered. The greatest processing capabilities K1500-15 offers are because the processing window was estimated as 87.2 °C. For the remaining biocompositions, K1000-5, K1000-10, K1000-15, K1500-5, and K1500-10 are 83.15 °C, 86.10 °C, 84.79 °C, 86.70 °C, and 85.9 °C, respectively. The remaining compositions from the K1000 and K1500 series improve also the P3HB processing window, but it is smaller. In the results, the best thermal properties have K400-5 and K1000-10.

All compositions have only one glass transition. In the case of compositions K400 and K1500, the value of the glass transition temperature is close to the T_g of P3HB and was shifted to lower temperatures. It is caused by the polymer interactions in the form of hydrogen bonds, the formation of which was confirmed by FTIR analysis. Compositions K1000 have a T_g value close to the T_g value of PU1000 and even lower than it. The coexistence of two melting peaks of compositions P3HB with PU1000 and PU1500 indicates a two-phase system and the formation of the interpenetrating polymer networks. In turn, the compositions of P3HB and PU400 are one-phase systems and are mixtures of thermodynamically compatible polymers.

4. Conclusions

1. New polymer biocompositions were prepared with poly(3-hydroxybutyrate) and aromatic linear polyurethane obtained by reacting diphenylmethane 4,4'-diisocyanate with polyethylene glycol at molecular weights of 400, 1000, and 1500 g/mol to produce the polymer compositions with polyurethane used in amounts of 5, 10, and 15 wt.%;
2. Spectral analysis (FTIR) confirmed the interactions of polymers with hydrogen bonds and their compatibility in the preparation of polymer biocompositions;
3. SEM analysis demonstrated that the morphology of the obtained polymer compositions showed a homogeneous structure, and the interaction of biopolyester with polyurethanes with the formation of P3HB-PU adducts easily displaced relative to each other. It resulted in the effect of P3HB plasticization, and the effect was better when the longer chain of PEG in PU was there;
4. The plasticizing effect of PU resulted in better mechanical properties for the new biocompositions compared to native P3HB. The prepared polymer biocompositions were characterized by a significant desirable increase in impact strength, an acceptable decrease in tensile strength, and a relative elongation at break, which was related to the plasticizing effect of PU on the properties of P3HB. The best mechanical properties were characterized by biocompositions containing 5 and 10 wt.% polyurethane PU400 and PU1000 modifiers, as confirmed by the analysis of the morphology of these blends;
5. The prepared polymer biocompositions were characterized by higher thermal stability compared to unmodified P3HB. The onset decomposition temperature of the polymer biocompositions was higher by 30 °C on average. Increasing the amount of added polyurethane modifier did not significantly affect the thermal stability of the blends obtained, as the values of the onset decomposition temperature of all the compositions tested were similar. The compositions with PU400 and PU1000 additives had the highest thermal stability;
6. The study carried out showed that the preparation of P3HB polymer biocompositions with the modifier in the form of aromatic linear polyurethane had a positive effect on the thermal and mechanical properties and significantly increased the processability of this polyester. It will be used in the future application of the compositions, among others, in the production of non-woven fabric.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at <https://www.mdpi.com/article/10.3390/polym16121618/s1>: Figure S1: Strength-strain curves of P3HB-PU polymer biocompositions containing: 5, 10 and 15 wt.% polyurethane: PU400—K400-5, K400-10, K400-15; Figure S2: Strength-strain curves of P3HB-PU polymer biocompositions containing: 5, 10 and 15 wt.% polyurethane: PU1000—K1000-5, K1000-10, K1000-15; Figure S3: Strength-strain curves of P3HB-PU polymer biocompositions containing: 5, 10 and 15 wt.% polyurethane: PU1500—K1500-5, K1500-10, K1500-15; Figure S4: Strength-strain curves of P3HB.

Author Contributions: Conceptualization, B.K. and I.Z.; Methodology, B.K.; Formal analysis, B.K. and V.S.; Investigation, B.K., A.C.-K. and A.B.; Data curation, B.K., M.K. and D.H.; Writing—original draft, B.K.; Writing—review & editing, M.B.; Visualization, B.K. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Minister of Science and Higher Education of the Republic of Poland within the program “Regional Excellence Initiative”.

Institutional Review Board Statement: The study was not involving humans and animals.

Data Availability Statement: The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors on request.

Acknowledgments: The authors would like to thank Marek Pyda for providing Cloisite 30B.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

- Baran, B. Resource (in)efficiency in the EU: A case of plastic waste. *Ekon. I Pravo* **2022**, *21*, 45–62. [\[CrossRef\]](#)
- Saud, S.; Yang, A.; Jiang, Z.; Ning, D.; Fahad, S. New insights in to the environmental behavior and ecological toxicity of microplastics. *J. Hazard. Mater. Adv.* **2023**, *10*, 100298–100305. [\[CrossRef\]](#)
- Arif, Z.U.; Khalid, M.Y.; Sheikh, M.F.; Zolfagharian, A.; Bodaghi, M. Biopolymeric sustainable materials and their emerging applications. *J. Environ. Chem. Eng.* **2022**, *10*, 108159–108168. [\[CrossRef\]](#)
- George, A.; Sanjay, M.R.; Srisuk, R.; Parameswaranpillai, J.; Siengchin, S. A comprehensive review on chemical properties and applications of biopolymers and their composites. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, *154*, 329–338. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Riaz, S.; Rhee, K.Y.; Park, S.J. Polyhydroxyalkanoates (PHAs): Biopolymers for biofuel and biorefineries. *Polymers* **2021**, *13*, 253. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Bordes, P.; Pollet, E.; Avérous, L. Nano-biocomposites: Biodegradable polyester/nanoclay systems. *Progress. Polym. Sci.* **2009**, *34*, 125–155. [\[CrossRef\]](#)
- Antipova, T.V.; Zhelifonova, V.P.; Zaitsev, K.V.; Nedorezova, P.M.; Aladyshv, A.M.; Klyamkina, A.N.; Kostyuk, S.V.; Danilovskaya, A.A.; Kozlovsky, A.G. Biodegradation of Poly-ε-caprolactones and Poly-L-lactides by Fungi. *J. Polym. Environ.* **2018**, *26*, 4350–4359. [\[CrossRef\]](#)
- Baidurah, S. Methods of Analyses for Biodegradable Polymers: A Review. *Polymers* **2022**, *14*, 4928. [\[CrossRef\]](#)
- Olkhov, A.A.; Tyubaeva, P.M.; Vetcher, A.A.; Karpova, S.G.; Kurnosov, A.S.; Rogovina, S.Z.; Iordanskii, A.L.; Berlin, A.A. Aggressive Impacts Affecting the Biodegradable Ultrathin Fibers Based on Poly(3-Hydroxybutyrate), Polylactide and Their Blends: Water Sorption, Hydrolysis and Ozonolysis. *Polymers* **2021**, *13*, 941. [\[CrossRef\]](#)
- Tan, D.; Wang, Y.; Tong, Y.; Chen, G.Q. Grand Challenges for Industrializing Polyhydroxyalkanoates (PHAs). *Trends Biotechnol.* **2021**, *39*, 953–963. [\[CrossRef\]](#)
- Sharma, A.; Thakur, M.; Bhattacharya, M.; Mandal, T.; Goswami, S. Commercial application of cellulose nanocomposites—A review. *Biotechnol. Rep.* **2019**, *15*, e00316. [\[CrossRef\]](#)
- Khan, A.; Wang, B.; Ni, Y. Chitosan-Nanocellulose Composites for Regenerative Medicine Applications. *Curr. Med. Chem.* **2020**, *27*, 4584–4592. [\[CrossRef\]](#)
- Saryang, M.L.; Ilyas, R.A.; Sapuan, S.M.; Jumaidin, R. Sugar Palm Starch-Based Composites for Packaging Applications. In *Bionanocomposites for Packaging Applications*; Jawaid, M., Swain, S., Eds.; Springer: Cham, Switzerland, 2018. [\[CrossRef\]](#)
- Meléndez-Rodríguez, B.; Torres-Giner, S.; Reis, M.A.M.; Silva, F.; Matos, M.; Cabedo, L.; Lagarón, J.M. Blends of Poly(3-Hydroxybutyrate-co-3-Hydroxyvalerate) with Fruit Pulp Biowaste Derived Poly(3-Hydroxybutyrate-co-3-Hydroxyvalerate-co-3-Hydroxyhexanoate) for Organic Recycling Food Packaging. *Polymers* **2021**, *13*, 1155. [\[CrossRef\]](#)
- Sukhanova, A.A.; Murzova, A.E.; Boyandin, A.N.; Kiselev, E.G.; Sukovaty, A.G.; Kuzmin, A.P.; Shabanov, A.V. Poly-3-hydroxybutyrate/chitosan composite films and nonwoven mats. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, *165*, 2947–2956. [\[CrossRef\]](#)
- Raza, Z.A.; Khalil, S.; Abid, S. Recent progress in development and chemical modification of poly(hydroxybutyrate)-based blends for potential medical applications. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, *160*, 77–100. [\[CrossRef\]](#)
- Dalton, B.; Bhagabati, P.; De Micco, J.; Padamati, R.B.; O'Connor, K. A Review on Biological Synthesis of the Biodegradable Polymers Polyhydroxyalkanoates and the Development of Multiple Applications. *Catalysts* **2022**, *12*, 319. [\[CrossRef\]](#)

18. Kalia, V.C.; Singh-Patel, S.K.; Shanmugam, R.; Lee, J.K. Polyhydroxyalkanoates: Trends and advances toward biotechnological applications. *Bioresour. Technol.* **2021**, *326*, 124737. [\[CrossRef\]](#)
19. Fernandes, E.G.; Pietrini, M.; Chiellini, E. Thermo-mechanical and morphological characterization of plasticized poly((R)-3-hydroxybutyric acid). *Macromol. Symp.* **2004**, *218*, 157–164. [\[CrossRef\]](#)
20. Yeo, J.C.C.; Muiruri, J.K.; Thitsartarn, W.; Li, Z.; He, C. Recent advances in the development of biodegradable PHB-based toughening materials: Approaches, advantages and applications. *Mater. Sci. Eng. C* **2018**, *92*, 1092–1116. [\[CrossRef\]](#)
21. Sosa-Hernández, J.E.; Villalba-Rodríguez, A.M.; Romero-Castillo, K.D.; Zavala-Yoe, R.; Bilal, M.; Ramírez-Mendoza, R.A.; Parra-Saldivar, R.; Iqbal, H.M. Poly-3-hydroxybutyrate-based constructs with novel characteristics for drug delivery and tissue engineering applications—A review. *Polym. Eng. Sci.* **2020**, *60*, 1760–1772. [\[CrossRef\]](#)
22. Taylor, C.S.; Behbehani, M.; Glen, A.; Basnett, P.; Gregory, D.A.; Lukaszewicz, B.B.; Nigmatullin, R.; Claeysens, F.; Roy, I.; Haycock, J.W. Aligned Polyhydroxyalkanoate Blend Electrospun Fibers as Intraluminal Guidance Scaffolds for Peripheral Nerve Repair. *ACS Biomater. Sci. Eng.* **2023**, *9*, 1472–1485. [\[CrossRef\]](#)
23. El-Taweel, S.H.; Höhne, G.W.H.; Mansour, A.A.; Stoll, B. Glass transition and the rigid amorphous phase in semicrystalline blends of bacterial polyhydroxybutyrate PHB with low molecular mass atactic R, S-PHB-diol. *Polymer* **2004**, *45*, 983–992. [\[CrossRef\]](#)
24. Lee, S.N.; Lee, M.Y.; Park, W.H. Thermal stabilization of poly(3-hydroxybutyrate) by poly(glycidyl methacrylate). *J. Appl. Polym. Sci.* **2002**, *83*, 2945–2952. [\[CrossRef\]](#)
25. Bakar, M.; Kostzewa, M.; Pawelec, Z. Preparation and properties of epoxy resin modified with polyurethane based on hexamethylene diisocyanate and different polyols. *J. Thermoplast. Compos. Mater.* **2014**, *27*, 620–631. [\[CrossRef\]](#)
26. Bakar, M.; Kostzewa, M.; Hausnerova, B. Effect of diisocyanates on the properties and morphology of epoxy/polyurethane interpenetrating polymer networks. *J. Thermoplast. Compos. Mater.* **2012**, *26*, 1364–1376. [\[CrossRef\]](#)
27. Kostzewa, M.; Hausnerova, B.; Bakar, M.; Dalka, M. Property evaluation and structure analysis of polyurethane/epoxy graft interpenetrating polymer networks. *J. Appl. Polym. Sci.* **2011**, *122*, 1722–1730. [\[CrossRef\]](#)
28. Bakar, M.; Kostzewa, M.; Hausnerova, B.; Sar, K. Preparation and property evaluation of nanocomposites based on polyurethane-modified epoxy/montmorillonite systems. *Adv. Polym. Tech.* **2010**, *29*, 237–248. [\[CrossRef\]](#)
29. Bakar, M.; Kostzewa, M.; Hausnerova, B.; Pajak, K. Preparation and characterization of an epoxy resin modified by a combination of MDI-based polyurethane and montmorillonite. *J. Appl. Polym. Sci.* **2011**, *122*, 3237–3247. [\[CrossRef\]](#)
30. Frieler, T. Biopolyesters in Tissue Engineering Applications. *Adv. Polym. Sci.* **2006**, *203*, 1–61. [\[CrossRef\]](#)
31. Zarzyka, I.; Czerniecka-Kubicka, A.; Hęclik, K.; Dobrowolski, D.; Pyda, M.; Leś, K.; Walczak, M.; Białkowska, A.; Bakar, M. Thermally stable biopolymer composites based on poly(3-hydroxybutyrate) modified with linear aliphatic polyurethanes—Preparation and properties. *Acta Bioeng. Biomech.* **2021**, *23*, 1–15. [\[CrossRef\]](#)
32. Zarzyka, I.; Czerniecka-Kubicka, A.; Hęclik, K.; Dobrowolski, L.; Krzykowska, B.; Białkowska, A.; Bakar, M. Biobased poly(3-hydroxybutyrate acid) composites with addition of aliphatic polyurethane based on polypropylene glycols. *Acta Bioeng. Biomech.* **2022**, *24*, 75–89. [\[CrossRef\]](#)
33. Krzykowska, B.; Czerniecka-Kubicka, A.; Białkowska, A.; Bakar, M.; Kovarova, M.; Sedlarik, V.; Zarzyka, I. Polymer/layered clay/polyurethane nanocomposites: P3HB hybride nanobiocomposites—Preparation and properties evaluation. *Nanomaterials* **2023**, *13*, 225. [\[CrossRef\]](#)
34. Krzykowska, B.; Czerniecka-Kubicka, A.; Białkowska, A.; Bakar, M.; Hęclik, K.; Dobrowolski, L.; Longosz, M.; Zarzyka, I. Polymer Biocompositions and Nanobiocomposites Based on P3HB with Polyurethane and Montmorillonite. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 17405. [\[CrossRef\]](#)
35. PN-EN 1242; Adhesives—Determination of the Content of Isocyanate Groups. Polish Committee for Standardization: Warsaw, Poland, 2006.
36. PN-EN ISO 527-2; Determination of Tensile Properties, Part 2: Test Conditions for Moulding and Extrusion Plastics. Polish Committee for Standardization: Warsaw, Poland, 2012.
37. PN-EN ISO 179-1; Plastics—Determination of Charpy Impact Properties, Part 1: Non-Instrumented Impact Test. Polish Committee for Standardization: Warsaw, Poland, 2023.
38. PN-EN ISO 868; Plastics and Ebonite—Determination of Indentation Hardness by Means of a Durometer (Shore Hardness). Polish Committee for Standardization: Warsaw, Poland, 2003.
39. ASTM D2240; Standard Test Method for Rubber Property—Durometer Hardness. Polish Committee for Standardization: Berlin, Germany, 2017.
40. Eesaee, M.; Ghassemi, P.; Nguyen, D.D.; Thomas, S.; Elkoun, S.; Nguyen-Tri, P. Morphology and crystallization behaviour of polyhydroxyalkanoates-based blends and composites: A review. *Biochem. Eng. J.* **2022**, *187*, 108588. [\[CrossRef\]](#)
41. Rodríguez-Cendal, A.I.; Gómez-Secane, I.; de Toro-Santos, F.J.; Fuentes-Boquete, I.M.; Señaris-Rodríguez, J.; Díaz-Prado, S.M. Biomedical Applications of the Biopolymer Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHBV): Drug Encapsulation and Scaffold Fabrication. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 11674. [\[CrossRef\]](#)
42. Alfano, S.; Pagnanelli, E.; Martinelli, A. Rapid Estimation of Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) Composition Using ATR-FTIR. *Polymers* **2023**, *15*, 4127. [\[CrossRef\]](#)
43. Łukaszewska, I.; Lalik, S.; Bukowczan, A.; Mazec, M.; Pielichowski, K.; Raftopoulos, K.N. Tailoring the physical properties of non-isocyanate polyurethanes by introducing secondary amino groups along their main chain. *J. Mol. Liq. Part A* **2023**, *391*, 123263. [\[CrossRef\]](#)

44. Ryszkowska, J. Supramolecular structure, morphology and physical properties of urea-urethane elastomers. *Polimery* **2012**, *58*, 775–785. [\[CrossRef\]](#)
45. Iqbal, H.M.; Kyazze, G.; Tron, T.; Keshavarz, T. “One-pot” synthesis and characterisation of novel P(3HB)-ethyl cellulose based graft composites through lipase catalysed esterification. *Polym. Chem.* **2014**, *5*, 7004–7012. [\[CrossRef\]](#)
46. Tejada-Oliveros, R.; Balart, R.; Ivorra-Martínez, J.; Gómez-Caturla, J.; Montanes, N.; Quiles-Carrillo, L. Improvement of Impact Strength of Polylactide Blends with a Thermoplastic Elastomer Compatibilized with Biobased Maleinized Linseed Oil for Applications in Rigid Packaging. *Molecules* **2021**, *26*, 240. [\[CrossRef\]](#)
47. Kowalska, M.; Broniatowski, M.; Mach, M.; Plachta, L.; Wydro, P. The effect of the polyethylene glycol chain length of a lipopolymer (DSPE-PEGn) on the properties of DPPC monolayers and bilayers. *J. Mol. Liq.* **2021**, *335*, 116529. [\[CrossRef\]](#)
48. Fernández-Ronco, M.P.; Gradzik, B.; Gooneie, A.; Hufenus, R.; El Fray, M. Tuning poly(3 hydroxybutyrate) (P3HB) properties by tailored segmented bio copolymers. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2017**, *5*, 11060–11068. [\[CrossRef\]](#)
49. Matumba, K.I.; Motloung, M.P.; Ojijo, V.; Ray, S.S.; Sadiku, E.R. Investigation of the Effects of Chain Extender on Material Properties of PLA/PCL and PLA/PEG Blends: Comparative Study between Polycaprolactone and Polyethylene Glycol. *Polymers* **2023**, *15*, 2230. [\[CrossRef\]](#)
50. García-García, D.; Fenollar, O.; Fombuena, V.; Lopez-Martínez, J.; Balart, R. Improvement of Mechanical Ductile Properties of Poly (3-hydroxybutyrate) by Using Vegetable Oil Derivatives. *Macromol. Mater. Eng.* **2017**, *302*, 1600330. [\[CrossRef\]](#)
51. Mangeon, C.; Michely, L.; Rios de Anda, A.; Thevenieau, F.; Renard, E.; Langlois, V. Natural terpenes used as plasticizers for poly (3-hydroxybutyrate). *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2018**, *6*, 16160–16168. [\[CrossRef\]](#)
52. Jin, P.; Pang, A.; Yang, R.; Guo, X.; He, J.; Zhai, J. Study on Mechanical Properties of Polyurethane Cross-Linked P(E-co-T)/PEG Blended Polyether Elastomer. *Polymers* **2022**, *14*, 5419. [\[CrossRef\]](#)
53. Abbasi, M.; Pokhrel, D.; Coats, E.R.; Guho, N.M.; McDonald, A.G. Effect of 3-Hydroxyvalerate Content on Thermal, Mechanical, and Rheological Properties of Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) Biopolymers Produced from Fermented Dairy Manure. *Polymers* **2022**, *14*, 4140. [\[CrossRef\]](#)
54. Omura, T.; Gato, T.; Maehara, A.; Kimura, S.; Abe, H.; Iwata, T. Thermal degradation behavior of poly [(R)-3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate]. *Polym. Degrad. Stab.* **2021**, *183*, 109460. [\[CrossRef\]](#)

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

8.4. Publikacja [D4] – Załącznik 4

B. Krzykowska, Ł. Uram, A. Białkowska, M. Bakar, M. Kovářová, V. Sedlařík, D. Hanusova, M. Kisiel, J. Paciorek-Sadowska, M. Borowicz, I. Zarzyka, Polymer bionanocomposites based on P3BH/polyurethane matrix with organomodified montmorillonite –mechanical and thermal properties, biodegradability and cytotoxicity, Polymers, 16, 2681 (2024). <https://doi.org/10.3390/polym16182681>

Autor	%
B. Krzykowska	50
Ł. Uram	5
A. Białkowska	5
M. Bakar	5
M. Kovářová	5
V. Sedlařík	5
D. Hanusova	5
M. Kisiel	5
J. Paciorek-Sadowska	5
M. Borowicz	5
I. Zarzyka	5

Article

Polymer Bionanocomposites Based on a P3BH/Polyurethane Matrix with Organomodified Montmorillonite—Mechanical and Thermal Properties, Biodegradability, and Cytotoxicity

Beata Krzykowska ^{1,*}, Łukasz Uram ², Wiesław Frącz ³, Miroslava Kovářová ⁴, Vladimír Sedlářik ⁴, Dominika Hanusova ⁴, Maciej Kisiel ⁵, Joanna Paciorek-Sadowska ⁶, Marcin Borowicz ⁶ and Iwona Zarzyka ^{1,*}

- ¹ Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, Rzeszów University of Technology, Powstańców Warszawy 6, 35-959 Rzeszów, Poland
 - ² Department of Inorganic and Analytical Chemistry, Faculty of Chemistry, Rzeszów University of Technology, Powstańców Warszawy 6, 35-959 Rzeszów, Poland; l.uran@prz.edu.pl
 - ³ Department of Material Forming and Processing, Faculty of Mechanical Engineering and Aeronautics, Rzeszów University of Technology, Powstańców Warszawy 8, 35-959 Rzeszów, Poland; wf@prz.edu.pl
 - ⁴ Centre of Polymer Systems, University Institute, Tomas Bata University in Zlín, Tr. T. Bati 5678, 76001 Zlín, Czech Republic; kovarova@utb.cz (M.K.); sedlarik@utb.cz (V.S.); d_hanusova@utb.cz (D.H.)
 - ⁵ Department of Industrial and Materials Chemistry, Faculty of Chemistry, Rzeszów University of Technology, Powstańców Warszawy 6, 35-959 Rzeszów, Poland; m.kisiel@prz.edu.pl
 - ⁶ Department of Chemistry & Technology Polyurethanes, Faculty of Materials Engineering, Kazimierz Wielki University, JK Chodkiewicza Street 30, 85-064 Bydgoszcz, Poland; sadowska@ukw.edu.pl (J.P.-S.); m.borowicz@ukw.edu.pl (M.B.)
- * Correspondence: b.krzykowska@prz.edu.pl (B.K.); izarzyka@prz.edu.pl (I.Z.); Tel.: +48-0178651762 (I.Z.); Fax: +48-0178643655 (I.Z.)



Citation: Krzykowska, B.; Uram, Ł.; Frącz, W.; Kovářová, M.; Sedlářik, V.; Hanusova, D.; Kisiel, M.; Paciorek-Sadowska, J.; Borowicz, M.; Zarzyka, I. Polymer Bionanocomposites Based on a P3BH/Polyurethane Matrix with Organomodified Montmorillonite—Mechanical and Thermal Properties, Biodegradability, and Cytotoxicity. *Polymers* 2024, 16, 2681. <https://doi.org/10.3390/polym16182681>

Academic Editor: Long-Cheng Tang

Received: 30 August 2024

Revised: 16 September 2024

Accepted: 22 September 2024

Published: 23 September 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: In the present work, hybrid nanobiocomposites based on poly(3-hydroxybutyrate), P3HB, with the use of aromatic linear polyurethane as modifier and organic nanoclay, Cloisite 30B, as a nanofiller were produced. The aromatic linear polyurethane (PU) was synthesized in a reaction of diphenylmethane 4,4'-diisocyanate and polyethylene glycol with a molecular mass of 1000 g/mole. The obtained nanobiocomposites were characterized by the small-angle X-ray scattering technique, scanning electron microscopy, Fourier infrared spectroscopy, thermogravimetry, and differential scanning calorimetry, and moreover, their selected mechanical properties, biodegradability, and cytotoxicity were tested. The effect of the organomodified montmorillonite presence in the biocomposites on their properties was investigated and compared to those of the native P3HB and the P3HB-PU composition. The obtained hybrid nanobiocomposites have an exfoliated structure. The presence and content of Cloisite 30B influence the P3HB-PU composition's properties, and 2 wt.% Cloisite 30B leads to the best improvement in the aforementioned properties. The obtained results indicate that the thermal stability and mechanical properties of P3HB were improved, particularly in terms of increasing the degradation temperature, reducing hardness, and increasing impact strength, which were also confirmed by the morphological analysis of these bionanocomposites. However, the presence of organomodified montmorillonite in the obtained polymer biocomposites decreased their biodegradability slightly. The produced hybrid polymer nanobiocomposites have tailored mechanical and thermal properties and processing conditions for their expected application in the production of biodegradable, short-lived products for agriculture. Moreover, in vitro studies on human skin fibroblasts and keratinocytes showed their satisfactory biocompatibility and low cytotoxicity, which make them safe when in contact with the human body, for instance, in biomedical applications.

Keywords: polyester; polyurethane; structure-properties relationship; mechanical properties; thermal stability; biodegradability; cytotoxicity

1. Introduction

Polyurethanes are a class of polyaddition polymers with a wide range of industrial applications that includes linear, branched, and cross-linked products [1]. They consist of three monomers: a diisocyanate, a polyol, and a chain extender [2]. The main criterion that distinguishes polyurethanes from other plastics is their density [3]. Polyurethanes can be available as both relatively rigid plastomers and flexible elastomers with a solid or foamed structure [3].

Polyurethanes have excellent mechanical strength; toughness; good resistance to abrasion, corrosion, and chemicals; and flexibility at low temperatures [4]. One of the most important categories of polyurethanes is polyurethane elastomers, which have been widely incorporated into various engineering products and have been proven to offer very good properties [5]. They are malleable polymers and can be easily processed, either by extrusion or injection molding, and offer high recyclability [6]. As a general rule of thumb, for linear polymers, all properties, such as tensile strength, elongation, elasticity, melting point, glass transition temperature, and molecular weight, increase up to a limited value, after which all properties remain virtually unchanged. This behavior is useful for linear polyurethanes—polyurethane elastomers [7].

Today, polyurethanes are one of the most common, versatile, and researched materials in the world [6,8]. These materials combine the durability and strength of metals with the flexibility of rubber, making them suitable for replacing metals, plastics, and rubber in some engineering products [8,9]. They are widely used in biomedicine, construction, automotive, textile, and many other industries due to their excellent properties in terms of hardness, elongation, and strength [10–12].

Polyurethanes are widely used in biomedical applications due to their good physical and mechanical properties, as well as their relatively good biocompatibility and anti-coagulation properties [13]. Initially, polyurethanes in medical applications were used as artificial skin, vascular grafts, nerve connections, bone grafts, and articular cartilage repair materials [14]. Today, technologies such as computer-aided design (CAD)/computer-aided manufacturing (CAM) [2] and 3D printing [2,14] are being used to produce polyurethanes for medical purposes. Polyurethane plastics have found medical applications as blood vessel implants [15] and temporary membranes that help restore the function of body organs that have been damaged in accidents [16].

Polyurethanes are used in the field of gynecology, reconstructive surgery materials, and cardiovascular devices. In addition, polyurethanes are used in the fields of wound dressings, tissue engineering, and controlled drug release [2]. Their advantage over other materials lies in their good mechanical properties and biostability [17,18]. Biodegradable polyurethanes based on castor oil [19], carbohydrates [20], chitosan (with antimicrobial properties) [21], and electroactive polyurethanes in cardiac tissue engineering [22] are also used.

However, the most common application is in short-term implants. Incorporating polyurethanes into medical-related applications is economically viable and at the same time introduces robust and long-lasting materials [23]. Due to their excellent mechanical properties and biocompatibility, linear polyurethanes can be used to modify the properties of polyhydroxyalkanoates.

In this work, polyurethane produced with the use of 4,4'-diisocyanate diphenylmethane (MDI) and polyethylene glycol was applied to modify the properties of poly(3-hydroxybutyrate), P3HB. To further modify the properties of P3HB, a layered organo-modified aluminosilicate, Cloisite 30B, was used as a nano-additive. The effect of the used modifiers on the mechanical and thermal properties, biodegradability, biocompatibility, and cytotoxicity of P3HB was investigated.

2. Materials and Methods

2.1. Materials

P3HB was supplied by Biomer (Krailling, Germany). Its molecular weight was in the range of 400–1200 kDa and dispersion of $Mw/Mn^{-1} = 5.72$, as determined by exclusion chromatography in chloroform. Its melt flow rate was $0.11 \text{ g (10 min)}^{-1}$ (180°C at 2.16 kg). Cloisite 30B, which is a montmorillonite modified with methylbis(2-hydroxyethyl)tallowammonium cations, was provided by Southern Clay Products Inc. (Gonzales, TX, USA).

Polyurethane aromatic rings based on diphenylmethane 4,4'-diisocyanate (PU-MDI) were prepared according to a previously described procedure [24]. The reaction was carried out in anhydrous acetone at 60°C under a nitrogen atmosphere. MDI dissolved in acetone was dropped into a solution of polyethylene glycol with a molecular weight of 1000 g with dibutyltin dilaurate (DBTL) in acetone. The progress of the reaction was checked by the content of the NCO groups. The final product was purified with cold acetone by precipitation.

Normal human fibroblasts (BJ cell line), a penicillin and streptomycin solution, and Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM) were purchased from American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA, USA). Human immortalized keratinocytes (HaCaTs) were obtained from Cell Lines Service (Eppelheim, Germany). Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) and fetal bovine serum (FBS) were purchased from Corning (New York NY, USA). Trypsin-EDTA solution was delivered by Gibco Thermofischer Scientific (Waltham, MA, USA). Phosphate-buffered saline (PBS) with or without magnesium and calcium ions, crystal violet, 0.4% trypan blue solution, and sterile syringe filters of $0.22 \mu\text{m}$ were provided by Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA). Cell culture flasks were from Corning Incorporated (Corning, NY, USA) and 6-well plates from Nunc (Roskilde, Denmark).

2.2. Nanobiocomposite Preparation

Nanobiocomposites were prepared by combining P3HB and 10 wt.% of polyurethane (PU) with 1, 2, or 3 wt.% Cloisite 30B clay (designated as C10-1, C10-2, and C10-3, respectively), as described in Table 1, in a co-rotating twin-screw extruder (Figure 1). Initially, P3HB was dried at 40°C under reduced pressure for 30 min. The nanoclay was then dispersed in water using an ultrasonicator at room temperature for 2 h. In the next step, the nanoclay was filtered and dried at 40°C under reduced pressure. Native P3HB and P3HB with the addition of 10 wt.% PU (designated C10) were also extruded to obtain reference materials. The twin-screw extruder, equipped with four temperature-controlled zones, was programmed from 150 to 185°C . The screw diameter was 12.5 mm and the ratio $L:D^{-1}$ was 24. The screw speed during the extrusion process was 40 rpm. The extrusion conditions were determined experimentally.

Table 1. Composition of the polymer mixtures.

	Content (m/m%)			Sample Designation
	P3HB	PU	Cloisite®	
	90	10	0	C10
	89	10	1	C10-1
	88	10	2	C10-2
	87	10	3	C10-3

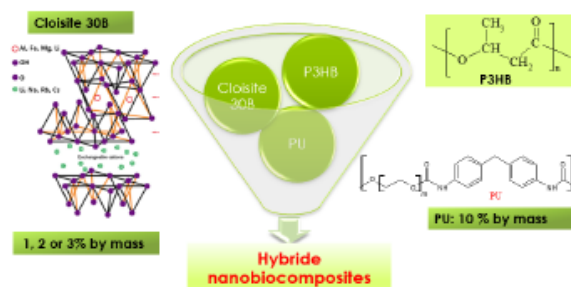


Figure 1. Scheme of nanocomposite production.

2.3. Analytical Methods

2.3.1. Scanning Electron Microscopy

To characterize the phase morphology of all nanobiocomposites and native P3HB, and the composition of P3HB-PU, scanning electron microscopy (SEM) was used. The investigated surface was coated with a thin layer of gold by a sputtering process. A HITACHI S-3400 N scanning electron microscope (Tokyo, Japan) with different image magnifications and an accelerated voltage of 10 kV was used.

2.3.2. SAXS Analysis

In order to verify the nanostructure of the biocomposites, small-angle X-ray scattering (SAXS) measurements were performed. The tests were carried out at room temperature using a Bruker SAXS Nanostar-U X-ray diffractometer. The comparative spectra of press-formed samples were studied in the transmission mode (coupled $h \cdot 2h^{-1}$) to check the effect of the nanoparticle orientation. The slit system allowed for the collection of a deflected beam with a divergence angle of less than 0.05. The measurements were carried out in the range from 0 to 28° at 2θ . The small-angle goniometer was coupled to a Cu-filtered radiation source $K\alpha$ (1.54 Å) in a closed tube, operating at 50 kV and 0.6 mA.

2.3.3. Fourier Transformation Infrared Spectroscopy

The infrared spectra of the native P3HB, polymer composition P3HB-PU, and hybrid nanobiocomposites were measured with the use of an ALPHA FT-IR spectrometer. The measurements were made in the wave number of $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$. The spectra were recorded at a resolution of 2 cm^{-1} using the ATR technique.

2.3.4. Thermogravimetric Analysis

The thermogravimetric analysis (TG) of P3HB and its nanocomposites were carried out using a Mettler Toledo TGA/DSC1 apparatus. The measurements were carried out using the following conditions: sample mass of $\sim 10\text{ mg}$, gas flow of $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $150\text{ }\mu\text{L}$ open alumina pan, and in the temperature range of $25\text{--}700^\circ\text{C}$ at a heating rate of $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ in a nitrogen atmosphere.

2.3.5. Differential Scanning Calorimetry (DSC) Analysis

The temperature dependence of the heat flow rate was obtained using a differential scanning calorimeter from Mettler Toledo. In order to obtain highly accurate measurements, the temperature calibration and calibration of the heat flow rate were performed with respect to the melting parameters of indium, i.e., the initial temperature was 429.6 K and the heat of fusion $\Delta H_f = 28.45\text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$ ($3.28\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$). All analyses were carried out in a nitrogen atmosphere at a constant flow rate of approximately $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. In order to improve the quality of the results obtained, a calibration of the heat capacity was performed. Three measurements were carried out for each sample, including a blank sample (reference) and composites of real samples, calibrated with a sapphire. The accuracy of the heat

capacity measurements was approximately 3%. The experiments were carried out in the temperature range from $-90\text{ }^{\circ}\text{C}$ to $230\text{ }^{\circ}\text{C}$ at a heating rate of $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. The data were collected from the second heating scan.

2.3.6. Strength Tests

Specimens for the strength tests were obtained by injection molding on a DrBoy 50 injection molding machine equipped with the Priamus production monitoring and control system. The specimens were made in accordance with PN EN ISO 527 (1998) [25]. The samples were molded according to the same injection parameters, which made it possible to assess changes in the plastic state parameters in the mold.

The tensile tests were carried out at room temperature on a Zwick Roell Z030 machine equipped with an automatic multiextensometer, at a machine gripping speed of $50\text{ mm}\cdot\text{min}^{-1}$. The Young's modulus was determined at a speed of $1\text{ mm}\cdot\text{min}^{-1}$. Tests were carried out on at least seven specimens in a series. Only those specimens showing the best parameters were selected for testing.

The hardness of the nanobiocomposite samples obtained was determined using the Brinell method in accordance with PN-EN ISO 6506-1:2006 [26]. The samples were made in accordance with PN-EN ISO 527-1 [27].

The tensile strength of the specimens was tested with an INSTRON impact hammer in accordance with ISO 8256-A-4J [28]. The notch was cut on both sides according to method A of the aforementioned standard.

2.3.7. Biodegradability Testing

The biodegradability of P3HB-based composites was tested using the OxiTop[®] Control S6 device from WTW-Xylem (San Diego, CA, USA), which used a respirometric method of measuring the oxygen demand necessary for the aerobic biodegradation of polymeric materials in the soil. The measurement of oxygen consumed was expressed using the biological oxygen demand (BOD) value, which is expressed as the number of milligrams of captured oxygen per unit mass of the tested polyurethane material. The OxiTop[®] Control S6 apparatus consisted of glass bottles with a capacity of 510 mL, equipped with rubber covers and OxiTopC measuring heads, with which BOD was measured. They allowed for pressure measurements in the range from 500 to 1350 hPa with an accuracy of 1% at temperatures from $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ to $50\text{ }^{\circ}\text{C}$. The set also included the OC 110 controller, which was used for communication between the measuring heads, the user, and the Achat OC computer 10.1 software (WTW-Xylem, San Diego, CA, USA), used to interpret the obtained measurement results.

The biodegradability test of P3HB and its composition with linear polyurethane containing aromatic rings and their composites with Cloisite 30B was performed according to the ISO 17556:2012 standard [29]. Sieved and dried garden soil with a high humus content and physicochemical parameters, such as humidity 5% (according to ISO 11274 [30]), pH 6 (according to ISO 10390 [31]), and grain diameter $<2\text{ mm}$, was used as the biodegradation environment. Then, it was weighed to the amount of 200 g and put into the bottle from the OxiTop set. In the next step, 100 mL of distilled water was added. The mixture was mixed, and then, approximately 200 mg of solid test sample was added and mixed again. The exact mass of the tested sample was read and saved. After preparing the system, a rubber quiver was placed in which 2 solid NaOH pellets were placed and the measuring head was screwed on. This step was also repeated for the remaining OxiTop bottles. The research set was placed in an incubator maintaining a constant temperature of $20 \pm 0.2\text{ }^{\circ}\text{C}$ and initially thermostated at this temperature for 2 h. Then, the BOD measurement program was started using the OC 110 controller and left in the incubator at a constant temperature of $20 \pm 0.2\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 28 days. The measurement results were read from the measuring heads every 2–3 days.

The set of test samples included two reference systems (positive and negative), one blank sample, and samples of the tested materials. A mixture of soil and water without

biodegradable material was used as a blank test. The positive test was an easily biodegradable natural polymer, starch, while the negative test was a completely non-biodegradable polymer, polyethylene. Five types of P3HB-based samples were used for the study: native P3HB, P3HB-PU composition, and 3 P3HB composites containing 10 wt%. PU and increasing contents of Cloisite 30B in the amount from 1 to 3% by weight. In accordance with the ISO 17556:2012 standard, all samples tested were of comparable size because the absolute degree of degradation depends on the form and shape of the material.

The biochemical oxygen demand (BOD) for a single OxiTop[®] Control S6 bottle was determined using the formula considering the BOD of the tested system, corrected for the BOD of the soil itself, and considering the concentration of the tested material in the soil.

$$BOD_S = \frac{BOD_x - BOD_g}{c}$$

where S—number of days of measurement; BOD_S—biochemical oxygen demand of the analyzed material during S days [mg·L⁻¹]; BOD_x—measurement result for system x [mg·L⁻¹]; BOD_g—measurement results for soil only (without sample) [mg·L⁻¹]; and c—sample concentration in the tested system [mg·L⁻¹].

The degree of biodegradation of the polymer material was determined based on the equation:

$$D_t = \frac{BOD_S}{TOD} \cdot 100\%$$

where D_t—degree of material biodegradation [%]; TOD—theoretical oxygen demand [mg·L⁻¹].

The theoretical oxygen demand for each system was calculated using the formula included in the standard. It was assumed that, as a result of the biodegradation process in aerobic conditions, the carbon contained in the tested compound turns into CO₂, hydrogen into H₂O, phosphorus into P₂O₅, sulfur into SO₃, and nitrogen in NH₃, and chlorine in HCl. For a compound with a known formula containing the elements C, H, Cl, N, S, P, Na, and O, the TOD value can be calculated according to the equation:

$$TOD = \frac{16[2c + 0.5(h - cl - 3n) + 3s + 2.5p + 0.5k - o]}{M_r}$$

where c, h, p, s, n, cl, k, o—number of individual elements in a molecule of biodegraded material [-]; M_r—mass of biodegraded material [g].

2.3.8. Elemental Analysis

Elemental analyses (C, H, N) of the native P3HB, PU, P3HB-PU polymer composition, and hybrid nanobiocomposites were carried out on the analyzer Vario EL III C, H, N from Elementar.

2.3.9. Cell Culture

The BJ normal human skin fibroblasts (ATCC, Manassas, VA, USA) were cultured in EMEM and HaCaT human immortalized keratinocytes (CLS, Neuenstein, Germany) in a DMEM medium. Both media were supplemented with 10% heat-inactivated FBS, 100 U/mL penicillin, and 100 µg/mL streptomycin. The cells were cultured at 37 °C in an atmosphere of 5% CO₂ and 95% humidity with the growth medium changed every 2–3 days and passaged at about 80% confluence with 0.25% trypsin-0.03% ethylenediamine-tetraacetic acid in calcium- and magnesium-free PBS. Cell morphology was monitored under a Nikon TE2000S inverted microscope with phase contrast (Tokyo, Japan). The number and viability of cells were estimated by the trypan blue exclusion assay with Automatic Cell Counter TC20™ (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA).

2.3.10. In Vitro Cytotoxicity Tests

The cytotoxicity of polymers was estimated with a direct contact toxicity assay, as described earlier [32]. Normal human fibroblasts (BJs) and immortalized keratinocytes (HaCaTs) were seeded in 6-well plates in the amount 3×10^5 and 8×10^5 cells/well, respectively, and incubated 24 h in 37 °C, 5% CO₂, and 95% humidity. Then, 1 mL of fresh media with 10% FBS per well was added and thermally sterilized samples (10 × 10 mm × 5 mm thickness) were placed on a cell monolayer and incubated for 24 h. Then, samples were removed and cells were washed once with PBS and stained with 0.2% crystal violet in 2% ethanol for 30 min. After washing with distilled water (thrice), images of plates with stained cells were collected, and the reactivity zones were assessed with the ImageJ 1.49 software (NIH, Bethesda, MD, USA). Obtained results were interpreted by the grade of the reactivity zone described by U.S. Pharmacopeial Convention [33] and ISO 10993-12 [34]. Then, the solubilization of the stained cells was performed with 10% acetic acid in a shaker (1 mL/well, 10 min, 400 rpm, room temperature). The absorbance of the CV solutions from the individual samples were measured at 595 nm against 450 nm and against a blank sample (10% acetic acid) with a microplate reader (μQuant™, BioTek Instruments, Inc. Winooski, VT, USA). The results are presented as a % of the control. All experiments were performed in triplicate.

2.3.11. Statistical Analysis

Differences between the treated and non-treated control samples were estimated with the non-parametric Kruskal–Wallis test due to the lack of a normal distribution of data in the studied groups (analyzed with Shapiro–Wilk test). The Mann–Whitney U test was used to evaluate the differences between two studied cell lines incubated with the same samples. $p \leq 0.05$ was regarded as statistically significant. All analyses, calculations, and figures were performed with the Statistica 13.3 software (StatSoft, Cracow, Poland).

3. Results and Discussion

Considering the obtained P3HB–PU polymer compositions described in our previous manuscript [24], and taking into account a further improvement in the physical properties of P3HB, hybrid nanobiocomposites were prepared with the use of P3HB as the matrix, with the addition of linear PU with aromatic rings as the modifier and an organomodified montmorillonite, Cloisite®30B, as a nanofiller. Based on the previous results, the polymer blends with the best thermal and mechanical properties were selected to further tests. It was selected the polymer blend based on PU obtained from the reaction of 4,4′-diphenylmethane diisocyanate and polyethylene glycol with the molecular weight of 1000 g. PU was used at 10 m/m%. In turn, Cloisite®30B was used at 1, 2, and 3 m/m%—at typical amounts to produce nanocomposites.

3.1. Results of SAXS Measurements

In order to characterize the nanoclay structure in the prepared composites, the SAXS technique was used. Measurements of the obtained hybrid composites were carried out in the 2θ angle range from 0° to 28°, and the results are shown in Figure 2. The structure of montmorillonite (intercalated or exfoliated) was determined using the Bragg equation, which allows to calculate the values of the distance d between the nanoclay plates. Figure 2 illustrates the pattern of the Cloisite 30B nanofiller, showing a peak with a maximum of approximately $2\theta = 4.92^\circ$, which means the distance between the nanoclay plates is $d_{001} = 1.8$ nm [35]. As can be seen, all the obtained composites do not have peaks in the range from 1 to 5° (Figure 2), which confirms the complete randomization and exfoliation of the nanofiller [36].

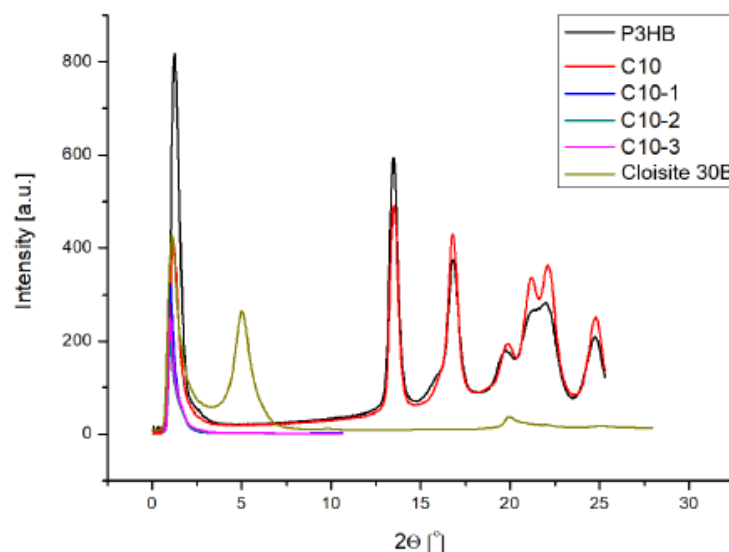


Figure 2 SAXS plots of nanocomposites containing 1, 2, and 3 wt.% of Cloisite 30B and 10 wt.% of PU (designated as C10-1, C10-2, and C10-3, respectively). The figure shows the reference diffractograms of the unfilled P3HB and the polymer composition of P3HB and 10 wt.% PU and pure Cloisite 30B.

3.2. Results of FTIR Analysis

The compatibility of the components the tested materials P3HB, PU, and Cloisite 30B was checked by FTIR spectra measurements [37] and is shown in Figure 3. The FTIR spectrum of a native P3HB shows bands characteristic of esters, i.e., the band originating from the stretching vibrations of carbonyl groups at 1721 cm^{-1} . There are also visible bands of asymmetric and symmetric vibrations of the C-O ester bonds at 1262 and 1128 cm^{-1} , respectively. In addition, there is a band of C-OH stretching vibrations of secondary alcohols at 1046 cm^{-1} , because the polyester chains are terminated with hydroxyl groups. The share of hydroxyl groups is small; therefore, the valence vibration band of O-H bonds is not observed above 3000 cm^{-1} . In turn, at the wave numbers of 2929 and 2974 cm^{-1} , two bands can be observed originating from the stretching vibrations of asymmetric and symmetric C-H bonds of the methyl and methylene groups of P3HB, respectively.

The FTIR spectrum (Figure 3) of aromatic linear polyurethane (PU) shows a broad band in the range of $3700\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$, originating from the stretching vibrations of the N-H bonds of urethane groups. At 2885 and 2741 cm^{-1} , the asymmetric and symmetric vibration bands of the C-H bonds of the methylene groups of the aliphatic fragment of the PU chain are observed. The stretching vibration band of the C=O groups of urethanes occurs at 1716 cm^{-1} , and at a wave number of 1601 cm^{-1} , the bending vibration band of the N-H bonds of polyurethane. However, at 1278 and 1100 cm^{-1} , asymmetric and symmetric vibration bands of C-O bonds of urethane groups appear, respectively. The bands in the range of $1597\text{--}1413\text{ cm}^{-1}$ refer to the skeletal vibrations of aromatic rings.

In the FTIR spectrum of the P3HB-PU polymer composition (Figure 3), there is a change in the shape of the bands compared to the spectrum of polyurethane above 3000 cm^{-1} . There is very broad and a small intensity band. In the range of $3000\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$, there are bands originating from asymmetric and symmetric vibrations of C-H bonds of the methyl and methylene groups of P3HB and PU, respectively. In the spectrum of the obtained composition, a characteristic band at 1716 cm^{-1} can also be noticed. This is a common band originating from the stretching vibrations of carbonyl groups occurring in ester and

urethane groups (Figure 4). In the range of $1585\text{--}1680\text{ cm}^{-1}$, a multiplate band appears due to the bending vibrations of the amide N-H bonds due to the formation of intermolecular hydrogen bonds [38,39].

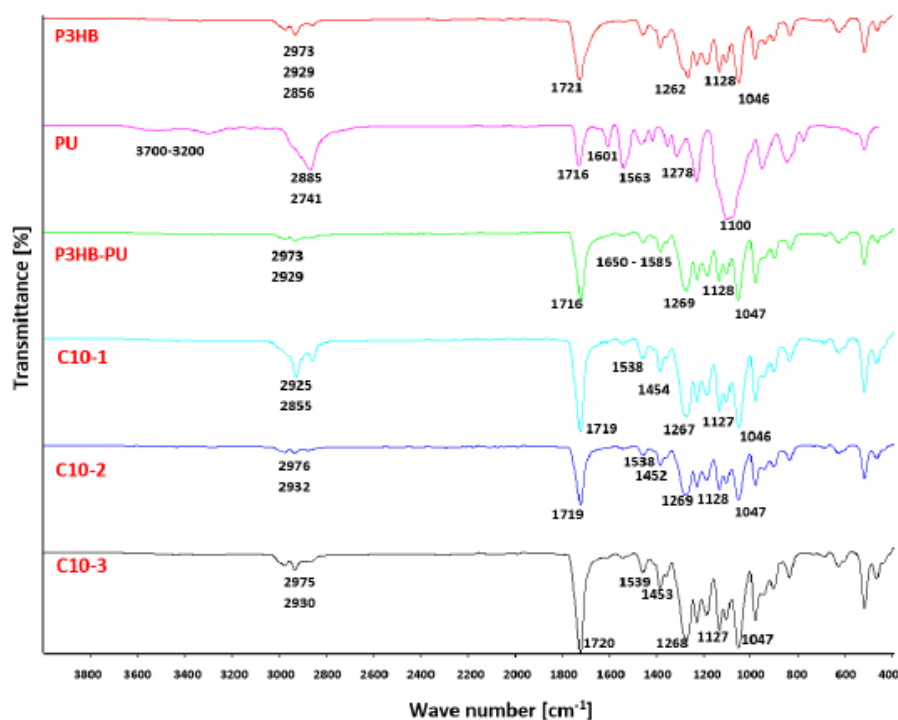


Figure 3. Set of FTIR spectra of a native P3HB, PU, and P3HB-PU polymer biocomposition containing 10 wt.% PU and bionanocomposites based on the P3HB-PU polymer matrix with 1, 2, and 3 wt.% of Cloisite 30B (C10-1, C10-2, and C10-3, respectively).

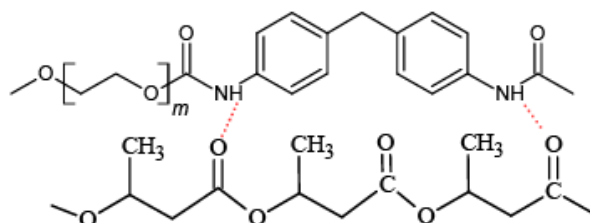


Figure 4. Scheme of hydrogen bond formation between P3HB and PU chains.

Similar to the spectra of P3HB and PU, in the range of $1040\text{--}1300\text{ cm}^{-1}$, there appear bands originating from the asymmetric and symmetric vibrations of the C-O bonds of the ester and urethane, respectively.

The FTIR spectra of the hybrid nanobiocomposites obtained by introducing organically modified montmorillonite (Cloisite 30B) (Figure 3) in the amounts of 1, 2, and 3% by mass were also analyzed. Some similarities and differences with respect to the individual polymers (P3HB and PU) or the polymer composition were observed regarding the intensity

and position of the bands. In the range of $3600\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$, broad, blurry bands of a low intensity can be observed, which slightly increase with the increase in the amount of Cloisite 30B in the nanobiocomposite. These bands are characteristic of the N-H groups of polyurethane and the OH groups of alcohols, which form hydrogen bonds between the urethane and hydroxyl groups of the modifier and the ester and hydroxyl groups of P3HB. The multiplicity of the band in the range of $1585\text{--}1680\text{ cm}^{-1}$ proves the formation of intermolecular hydrogen bonds [40]. Moreover, in all spectra of nanobiocomposites, there is a band with a wave number of 1719 cm^{-1} , common to the stretching vibrations of the C=O bonds of the P3HB ester group and the PU urethane group. At 1538 cm^{-1} , there is a band of the bending vibrations of the N-H bonds of urethane. Additionally, at the wave numbers of 1268 cm^{-1} and 1127 cm^{-1} , there are typical bands of asymmetric and symmetric C-O vibrations of esters and urethanes.

The FTIR spectral analysis of the components prepared using polymer composites confirmed the interactions of PU with the Cloisite30B and P3HB matrix in the nanobiocomposites based on, e.g., hydrogen bonds.

3.3. Results of SEM Analysis

Figure 5 shows the SEM micrographs of the fracture surface of samples: polyester—P3HB (Figure 5a), P3HB-PU binary composition (Figure 5b) containing a 10 wt.% addition of polyurethane based on polyethylene glycol with a molar mass of 1000 g/mol, and hybrid composites based on P3HB-PU with different amounts of nanoclay Cloisite 30B (1, 2, and 3 wt.%), (Figure 5c,d). The images of the fracture surface of the destroyed samples make it possible to explain the mechanism of influence of the used modifiers on the mechanical properties of the tested biocomposites. The presented micrographs were obtained by scanning the fracture surface of the samples at the point of fracture as a result of the used force. The fracture surface of the polyester matrix shown in Figure 5a is slightly wavy and glassy, which suggests a regular and flexible crack propagation path, and the brittle fracture areas are arranged unidirectionally. Figure 5b shows the fracture of the binary composite made of P3HB modified with a 10 wt.% amount of the polyurethane modifier. It can be seen that the introduction of PU into the polyester matrix disrupts the continuity of its structure and results in the appearance of rough, wavy areas arranged in different directions. Their presence may suggest the interaction of the P3HB matrix with PU, resulting in the separation of the interacting biopolymer chains and the formation of the aforementioned rough areas. This shift may be related to the improvement in the mechanical properties of the binary composition compared to the matrix itself. For the two-component P3HB-PU composition, an increase in elongation and impact strength as well as a decrease in hardness and a slight decrease in strength were noted, which was related to the elasticizing effect of the polyurethane modifier [41]. The micrographs in Figure 5c–e document the structure of the hybrid biocomposites modified with 10 wt.% PU and various amounts of nanoclay Cloisite 30B. All hybrid biocomposites have a similar structure. Regardless of the modified aluminosilicate content, the integral components of the hybrids cannot be distinguished. The three-component composites have numerous micro- and macro-cracks and pores. The structure of these materials is phase-heterogeneous. The introduction of nanoclay into the composition increases the hardness of the materials produced and does not depend on the amount of montmorillonite introduced into the composites. The clay used only stiffens the manufactured materials, i.e., P3HB or P3HB-PU, resulting in their greater hardness.

The aforementioned phenomenon of the heterogeneity of the hybrid structure is highlighted mainly in composites containing clays at 1% or 3% by mass. The heterogeneity of the structure of the three-component materials indicates an insufficient compatibility of the components included in them and, in relation to the matrix and binary composition, results in the deterioration of some properties of the hybrid composites. It should be noted that the polyester matrix modified by 10 wt.% of PU and average, i.e., 2% by mass amount of clay, has a slightly different structure and is characterized by the smallest number

of cracks and pores mentioned above than other hybrid samples. In the micrograph (Figure 5d), rough domains are forming, arranged in different directions. This therefore explains the better mechanical properties of the composite containing 2 wt.% modified with montmorillonite than those of the other hybrids (with 1% or 3% clay by mass). Therefore, it appears that the P3HB modification with 10% of PU and 2% by mass Cloisite 30B results in the most favorable mechanical properties compared to the properties of the other manufactured materials.

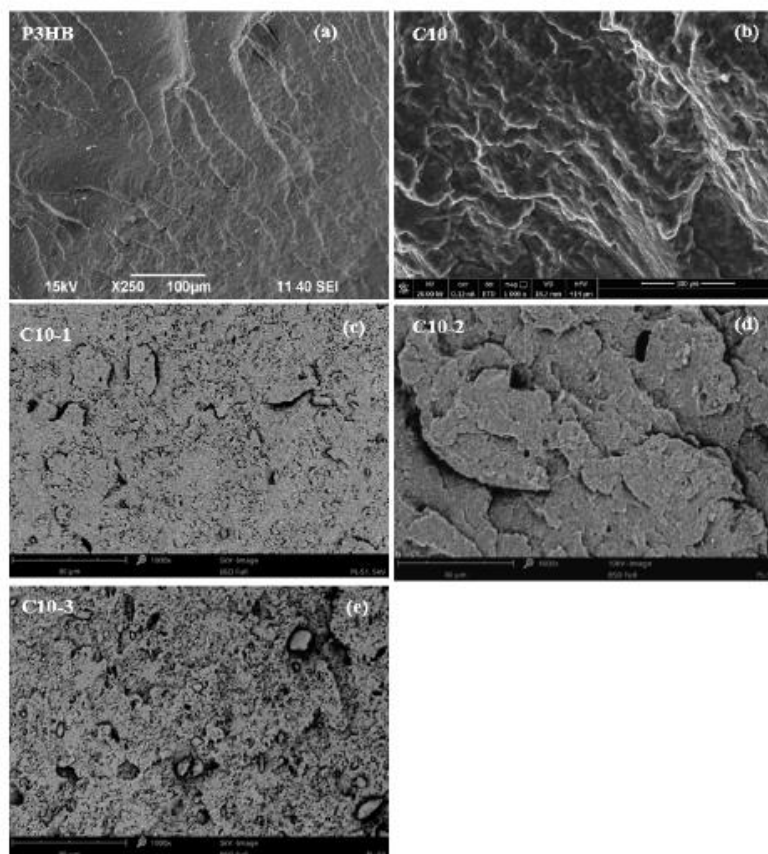


Figure 5. SEM micrographs of P3HB (a) and its polymer biocomposition containing 10 wt.% polyurethane (P3HB-PU, C10) (b), and nanobiocomposites with 10 wt.% PU and 1 wt.% (c), 2 wt.% (d), and 3 wt. % of Cloisite 30B (e) (C10-1, C10-2, and C10-3, respectively).

3.4. Mechanical Properties the Obtained Hybrid Nanobiocomposites

Based on the obtained mechanical test results, plots were prepared showing the influence of the organic nanoclay content on the Charpy impact strength (Figure 6a), Shore hardness (Figure 6b), tensile strength (Figure 6c), and relative elongation at break (Figure 5d) of the prepared polymer nanobiocomposites compared to the P3HB-PU (C10) polymer composition and the native P3HB.

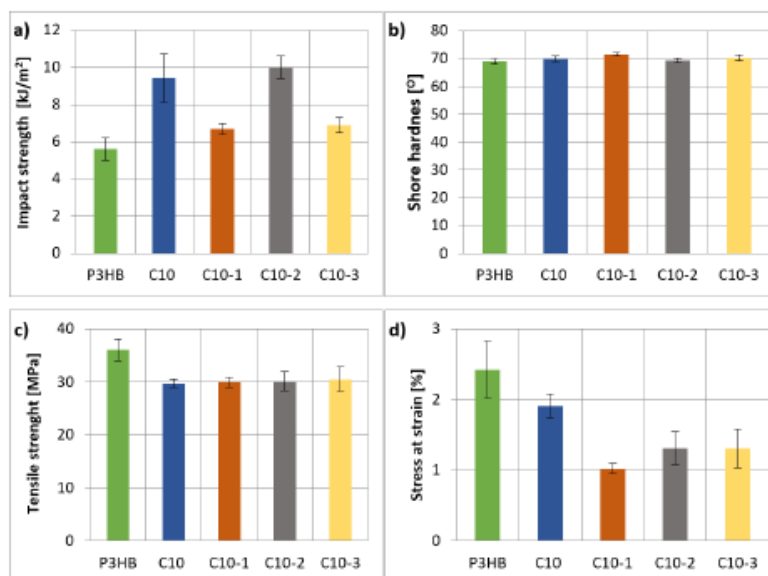


Figure 6. Graphs of the (a) impact strength, (b) hardness, (c) tensile strength, and (d) relative elongation at break of the extruded products—P3HB, P3HB-PU (C10) polymer composition, and polymer nanobiocomposites with 1, 2, and 3 wt.% Cloisite 30B (C10-1, C10-2, and C10-3, respectively).

The impact strength value of all obtained polymer nanobiocomposites (Figure 6a) is much higher than that of the native P3HB, but not always higher than that of the P3HB-PU composition [42]. The nanobiocomposite containing 2 wt.% has the highest impact strength, higher than C10 about 6%. Compared to the native P3HB, the increase in the impact strength was approximately 80%.

The hardness of the produced polymer nanobiocomposites (Figure 6b) depends on the amount of organic nanoclay introduced. The nanobiocomposite containing 1% by mass Cloisite 30B had the highest hardness (71.5°), and it is higher than the hardness of the P3HB-PU (C10) composition and the native P3HB. Adding 2% by mass Cloisite 30B makes the nanobiocomposite (C10-1) have the lowest hardness, equal to the hardness of the native P3HB. The introduction of 3% by mass, Cloisite 30B (C10-3), causes a slight increase in the hardness to the level of the P3HB-PU polymer composition (C10). The presence of the polyurethane modifier and the nano-additive does not make the rigid structure of P3HB more flexible; therefore, the addition of the aromatic linear polyurethane and the nano-additive did not reduce the hardness of the obtained polymer nanobiocomposites.

Based on the graph presented in Figure 6c, it can be concluded that all produced nanobiocomposites based on P3HB with linear aromatic polyurethane are characterized by lower tensile strength values compared to the native P3HB. Both the P3HB-PU (C10) polymer composition and the nanobiocomposites have a tensile strength of approximately 30 MPa, which is a 1/6 decrease compared to 36 MPa for native P3HB. Paşcu et al. obtained similar results [43]. The value of tensile strength is still very good and acceptable for the intended application.

In the case of the relative elongation at break (Figure 6d), it can be seen that P3HB modified with linear aromatic polyurethane (C10) has a reduced value of this parameter. The introduction of Cloisite 30B causes the relative elongation at break to decrease even more, especially for C10-1. An increase in the nano-additive content causes an increase

in the relative elongation at break to a constant level of 1.3%, independent of the amount of additive.

3.5. Thermal Properties of the Obtained Nanobiocomposites

The thermal stabilities of the produced hybrid polymer nanobiocomposites, the native P3HB, and of that composed with PU were determined using thermogravimetric analysis. The results of the analysis are presented in Table 2. The temperature of the onset decomposition of all nanobiocomposites, as well as the temperature of 5 and 10% weight loss, are much higher than of the native P3HB and comparable to that of the P3HB-PU composition.

Table 2. Interpretation of the TG and DTG curves of the native P3HB, the one biocomposed with PU, and hybrid nanobiocomposites with PU and Cloisite 30B obtained at a heating rate of 5 °C/min in a nitrogen atmosphere.

Sample	T _{on} (°C)	T _{5%} (°C)	T _{10%} (°C)	T _{50%} (°C)	T _{max} (°C)	Residue at 600 °C (%)
P3HB	221.1	236.2	245.6	281.2	295.7	1.70
C10	252.1	268.8	295.1	295.6	294.5	2.82
C10-1	252.2	272.8	292.5	293.3	293.7	1.38
C10-2	254.8	273.5	295.2	284.5	295.2	1.97
C10-3	252.3	272.3	294.8	283.8	293.3	2.59

T_{on}—temperature of the onset decomposition. T_{5%}—temperature of the 5wt% of the mass lost. T_{max}—temperature of the fastest decomposition.

The introduction of clays and increasing their amount do not significantly affect the thermal stability of the obtained nanobiocomposites, and the values of the onset decomposition temperatures for all tested samples are similar. The temperature of the maximum decomposition rate of P3HB is close to the temperature of the maximum decomposition rate of the prepared compositions and is in the range of 293–295 °C. The residual mass of the analyzed polymer mixtures at a temperature of 600 °C increases with the increase in the amount of Cloisite 30B added and does not exceed 3% by mass. The preparation of P3HB-based hybrid polymer nanobiocomposites with aromatic linear polyurethane and organomodified montmorillonite increases slightly the thermal stability of the obtained materials compared to that of the P3HB-PU composition.

Thermal stability is an important parameter to consider in order to determine the processing temperature (extrusion, injection) of synthetic and biodegradable thermoplastic polymer matrices [44]. In this context, our hybrid nanobiocomposites containing polyurethane chains and organically modified montmorillonite can be processed at higher temperatures, up to a maximum of about 252 °C.

3.6. Thermal Parameters from DSC Measurements

The data collected from the DSC analysis are shown in Table 3. The data are shown in a rising temperature order, with consecutive numerals when the transition is of the same kind. It can be observed that T_g—glass transition temperature, T_m—melting temperature, and T_{cc}—cold crystallization temperature. Additionally, the crystallization temperature (T_c) and its enthalpy (ΔH_c) were evaluated from the cooling run.

The heating of PU allowed us to observe one glass transition with T_g = 38.4 °C and one melting point at 54.9 °C [24]. The DSC measurements of P3HB indicated one glass transition with T_g 5.5 °C and two melting points during heating at the temperatures of 157.5 °C and 167.8 °C. The additive of 10% by mass of PU (blend C10) resulted in the presence of two glass transitions; one was shifted below the T_g of P3HB and the second below the T_g of PU. Additionally, the C10 composition showed two melting points, i.e., two-phase systems created the interpenetrating polymer networks. P3HB and PU interact by hydrogen bonds, whose presence was confirmed by FTIR analysis, and it was also discussed in our previous paper [24]. It is the system with the least tendency to crystallize,

which is proved both with the crystallization enthalpy from the cooling rate (Table 3) and the most intensive cold crystallization measured by the generated heat of the process.

Table 3. Thermal characteristics of P3HB, PU, P3HB-PU (C10) polymer composition, and polymer nanobiocomposites with 1, 2, and 3 wt.% Cloisite 30B (C10-1, C10-2, and C10-3, respectively) upon heating the samples at 10 °C/min after prior cooling at the same rate.

Sample	T _{g1} , (°C)	ΔC _p , (J·g ^{−1} ·°C ^{−1})	T _{g2} , (°C)	ΔC _p , (J·g ^{−1} ·°C ^{−1})	T _{m1} , (°C)	ΔH _{fl} , (J·g ^{−1})	T _{cc} , (°C)	ΔH _{cc} , (J·g ^{−1})	T _{m2} , (°C)	T _{m3} , (°C)	ΔH _f , (J·g ^{−1})	T _c , (°C)	ΔH _c , (J·g ^{−1})
P3HB	—	—	5.5	0.148	—	—	89.9	−4.76	157.5	167.8	97.4	85.7	−78.6
PU	−38.4	0.145	—	—	54.9	111.3	—	—	—	—	—	23.9	−124.5
C10	−42.9	0.045	−2.9	0.086	24.2	1.35	40.5	−24.4	153.8	166.7	82.1	63.5	−43.8
C10-1	−26.2	0.079	—	—	21.9	0.37	79.9	−8.22	139.3	155.3	79.7	59.8	−59.2
C10-2	−45.0	0.050	—	—	23.5	2.18	84.8	−9.62	147.7	162.0	75.2	66.4	−56.7
C10-3	−43.8	0.039	—	—	44.4	1.47	85.7	−12.1	148.5	162.3	77.5	70.2	−58.1

The addition of the Cloisite 30B in all tested concentrations facilitates the crystallization process (higher heat of this phase transition) and acts like a compatibilizer, which is proven by the disappearance of the glass transition characteristic for the P3HB. For better clarity, the chosen thermal curves are shown in Figure 7. Figure 7 shows the dependence of the experimental heat flow rate of P3HB and the P3HB-PU composition on the temperature obtained based on the heating rate of 10 °C·min^{−1} at the temperature range from −90 °C to 230 °C, after the previous cooling at the same rate at the temperature range from 230 °C to −90 °C.

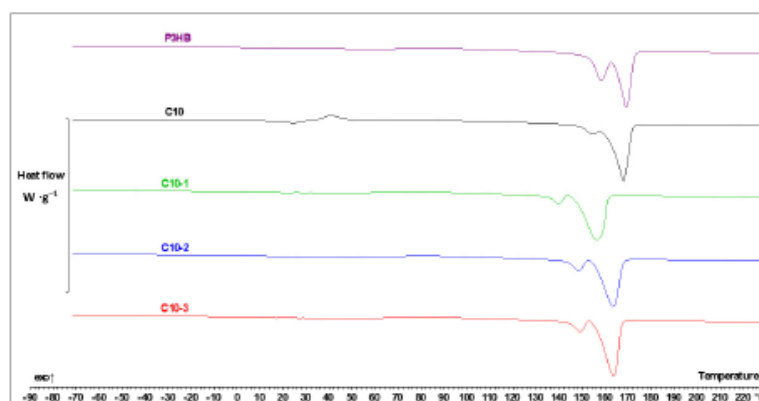


Figure 7. DSC thermal curves of P3HB, P3HB-PU (C10) polymer composition, and polymer nanobiocomposites with 1, 2, and 3 wt.% Cloisite 30B (C10-1, C10-2, and C10-3, respectively) upon heating the samples at 10 °C/min after prior cooling at the same rate.

The C10-1 composite (Figure 7) is very interesting; the glass transition temperature is placed at −26.2 °C, which is between the T_g of P3HB and the T_g of PU. It means that they are a thermodynamically compatible components of the obtained hybrid polymer nanobiocomposite.

Other thermal effects for the Cloisite-enriched samples can be explained by comparison with the P3HB matrix. It is worth noting that cold crystallization in the C10-1 composition, as well as the other nanocomposites, occurs with a lower intensity and at a higher temperature than in the case of the C10 composition. This is presented in Figure 7.

A higher amount of Cloisite 30B caused the glass transition temperature to be close to that of the neat PU, and the melting enthalpy of PU phase was 4–5 times higher than that in the case of C10-1 (nanocomposite with 1% of Cloisite 30B). The 2 and 3% by mass

nano-additive also act less efficiently as a nucleation agent, which is again proved by the crystallization enthalpy from the cooling run (Table 2) and the heat of the cold crystallization (Figure 7). This expectedly leads to the higher heat of fusion in the P3HB melting region. It has to be noted though that Cloisite 30B speeds up the formation of the crystalline phase, but the total heat of the fusion of the P3HB part in the C10 sample is slightly higher than in the C10-1, C10-2, and C10-3 samples. In this case, polymers crystallize faster, but to a slightly lower extent.

The introduction of 1% of the organophilic modifier decreases the glass transition temperature of P3HB. It is connected with the nanofiller distribution in the polymer composition matrix. In the C10-1 sample containing smaller amounts of Cloisite30B, clusters and agglomerates (micrograph in 5c) of nanoparticles are visible as well as their separation from the composite matrix. In the case of samples with 2 and 3% by mass nanofiller (SEM micrographs in Figure 5d,e), a uniform distribution of the nanofiller results in a further decrease in the glass transition temperature and a lower tendency to crystallization and better mechanical properties.

3.7. Biodegradability of P3HB and Its Composition and Hybrid Nanocomposites

Based on the respirometric biochemical oxygen demand test performed for 28 days, it was found that the native P3HB has a biodegradability degree of 63.21%. This result is very good and suggests the high susceptibility of this material to biodegradation. The obtained degree of biodegradation also confirms that this material is classified as a biodegradable polymer. The biodegradability of the composition containing 90% by mass of P3HB and 10% by mass of linear polyurethane containing aromatic rings (C10) was also tested. The study showed that the introduction of polyurethane material into the composition reduced the biodegradability to 49.36% (Table 4). This was due to the fact that the aromatic structures derived from MDI, which are very difficult to biodegrade, were introduced into the polymer system. Composites obtained on the basis of P3HB containing a linear polyurethane with aromatic rings and layered nanoaluminosilica were characterized by lower values of the degree of biodegradation. The introduction of 10% by mass polyurethane and 1% by mass of the nanoclay Cloisite 30B resulted in a reduction in this parameter from 63.21% to 44.22%. The content of carbon in the tested samples is similar (Tables 4 and 5), i.e., other factors have an impact on the rate of biodegradation. This is mainly due to two factors. The first one is related to the introduction into the composite of a polyurethane material obtained on the basis of a linear polyether polyol and aromatic MDI isocyanate. Both structures are very durable, both chemically and biologically. Therefore, it can be assumed that they are not subject to biodegradation processes, which significantly reduces the degree of biodegradation. The second factor influencing the reduction in biodegradation is the use of a nanofiller in the form of organomodified montmorillonite. The presence of an inorganic nanofiller dispersed in the P3HB matrix further inhibited the biodegradability of this material in the process. This relationship was confirmed by subsequent samples in which the Cloisite 30B content increased from 1% by mass up to 3% by mass (every 1% by mass). The increase in the amount of nanofiller gradually reduced the biodegradation from 44.22% to 38.62%, which had the highest share of nanofiller.

Table 4. Measured values of the biochemical oxygen demand of the tested samples and determined values of the theoretical oxygen demand and the degree of biodegradation.

Sample	Sample Mass (g)	TOD (mg/L)	Determined BOD (mg/L)	BOD of Sample (mg/L)	D _t —Degree of Biodegradability (%)
P3HB	0.25	49.84	60.00	31.50	63.21
C10	0.15	84.08	70.00	41.50	49.36
C10-1	0.25	50.20	50.70	22.20	44.22
C10-2	0.23	54.31	50.60	22.10	40.70
C10-3	0.24	51.79	48.50	20.00	38.62

Table 5. The share of individual elements in the composites calculated on the basis of the chemical structure of the components and determined on the basis of elemental analysis.

Sample	C (%)		H (%)		O (%)	Si (%)	N (%)	
	Calculated	Determined	Calculated	Determined	Calculated	Calculated	Calculated	Determined
P3HB	55.81	55.95	6.98	6.93	37.24	0.00	0.00	0.79
C10	55.65	55.62	7.15	7.07	36.40	0.00	0.80	0.82
C10-1	55.60	55.40	6.99	7.04	36.55	0.47	0.42	0.83
C10-2	55.04	55.04	6.92	7.02	36.71	0.93	0.42	0.80
C10-3	54.48	54.73	6.85	6.99	36.87	1.40	0.42	0.76

3.8. In Vitro Cytotoxicity Studies

To assess the biocompatibility of the studied materials, we used two human cell lines: BJ skin fibroblasts and immortalized HaCaT keratinocytes. BJs are normal cells from the skin of neonatal males with a long lifespan in comparison to other normal human fibroblast cell lines. HaCaTs are immortalized cells that have a few advantages over primary keratinocytes. Donor variability, a short culture lifetime, and variations between passages are the negative features of the latter. Therefore, HaCaT keratinocytes was our choice due to their lower variability compared to primary keratinocytes, long-term growth in cultures, and no spontaneous tumorigenic properties [45]. Studies showed that BJ fibroblasts and HaCaT keratinocytes are appropriate and excellent tools for toxicity assessment [46].

The tested materials showed a rather low cytotoxicity against the studied cell lines. After 24 h incubation, changes in cell adhesion and shape were observed only in the areas of the P3HB, C10, and C10-1 samples (Figure 8), which allows us to determine that these changes were slight according to the guidelines of the U.S. Pharmacopeial Convention (Table 6). The C10-2 and C10-3 materials demonstrated a higher impact: mild and moderate reactivity was observed, respectively, against both cell lines.

Table 6. Reactivity grades for the direct contact test according to the U.S. Pharmacopeial Convention [33].

Grade	Reactivity	Description of Reactivity Zone
0	None	No detectable zone around or under specimen
1	Slight	Some malformed or degenerated cells under specimen
2	Mild	Zone limited to area under specimen and less than 0.45 cm beyond specimen
3	Moderate	Zone extends 0.45–1.0 cm beyond specimen
4	Severe	Zone extends more than 1.0 cm beyond specimen

The microscopic observations showed that all tested materials caused a decrease in the confluence of cells located under the samples. A stronger effect was visible in the case of samples C10-2 and C10-3, which additionally caused the shrinkage and loss of adhesion of fibroblasts. Comparing both cell lines, it can be concluded that the fibroblast cells were more sensitive (Figure 8). The absorbance measurements reflected the previously obtained results. The most biocompatible material was the P3HB sample, which did not induce statistically significant changes in the cell viability of both lines compared to the non-treated controls. The first signs of toxicity appeared after the incubation of cells with the C10 sample. The 10% addition of polyurethane turned out to increase toxicity, but to a very small extent. Fibroblast viability decreased only by about 22% and that of HaCaTs by 11% (Figure 9).

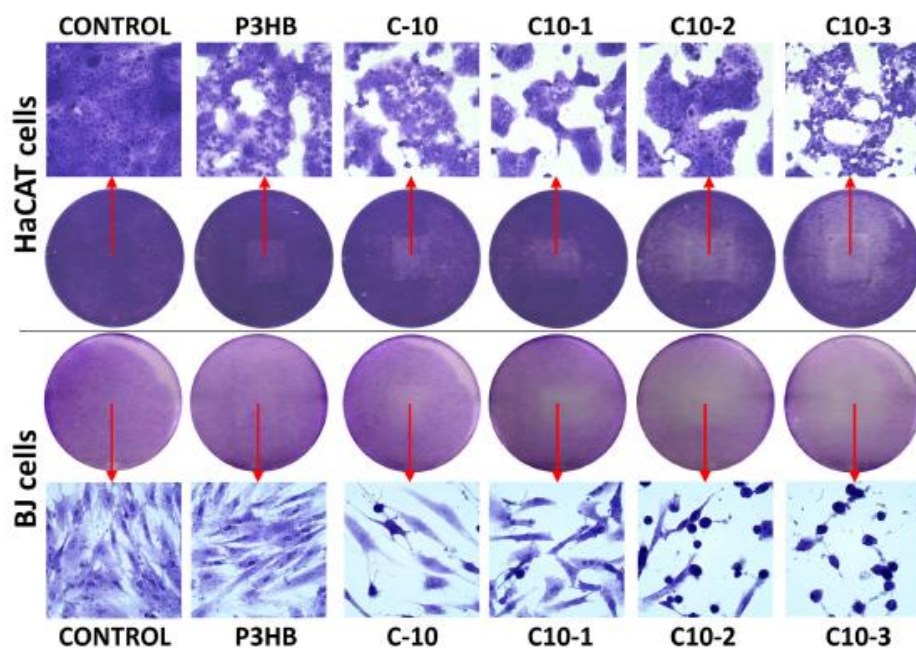


Figure 8. Microscopic images of human fibroblasts (BJs) and immortalized keratinocytes (HaCaTs) stained with crystal violet after 24 h incubation with the studied materials. Round images present the plate wells containing the stained cells, with brighter parts indicating the localization of the samples. The top and bottom rows show cells from the central parts of the reactivity zones.

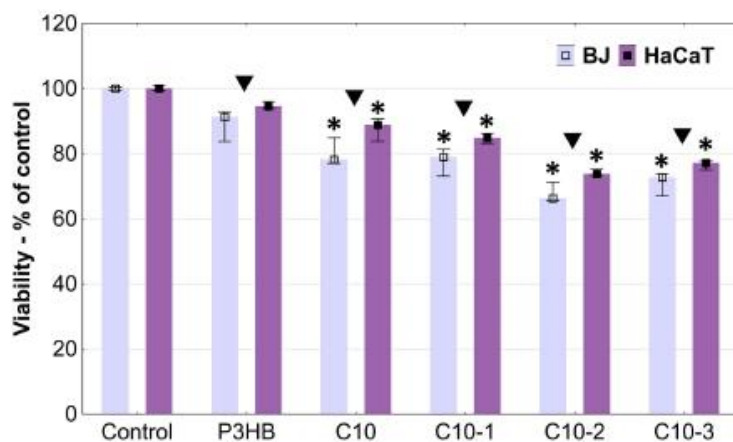


Figure 9. The viability of normal human fibroblasts (BJs) and immortalized human keratinocytes (HaCaTs) after 24 h incubation with the studied samples, estimated with the direct contact assay. Results are expressed as medians. The lower (25%) and upper (75%) quartile ranges are presented as whiskers. Asterisk * indicates differences between the control and samples ($p < 0.05$, Kruskal-Wallis test). Symbol ▼ means significant differences between cell lines for a particular sample ($p < 0.05$, Mann-Whitney U test).

P3BH is considered as a biocompatible, non-toxic material that can be used in medicine [47]. Wu et al. indicated that P3HB after extraction and purification with ethanol can be used to make scaffolds by 3D printing. Biocompatibility assessed with HaCaT epidermal cells, confirmed the results of our studies—P3HB was not cytotoxic, did not self-degrade, and allowed a high homogenous cell proliferation of HaCaT cells [48]. It is known that MDI, used in polyurethane synthesis, is not highly biocompatible and its presence may cause skin sensitization [49]. Also, our previous study indicated the toxic action of MDI included in polyurethanes against BJ and HaCaT cells [50]. Therefore, the lowering of the viability of the studied cells was predictable. The addition of Cloisite to the C10 samples caused a further decrease in cell viability, proportional to its concentration. C10-1 decreased BJ and HaCaT cell viability to 79% and 84%, respectively, while C10-2 to 66% and 74%, respectively. The cells incubated with C10-3 had a higher viability compared to C10-2, but only slightly (73% and 77% for BJ and HaCaTs, respectively). The real-time high throughput analyses of exposed cellular systems confirmed that Cloisite 30B induced significant toxic effects, with time-dependent decreases in BEAS-2B human lung epithelial cell viability and alterations in the cell morphology upon exposure [51]. Maisanaba et al. studied the cytotoxicity of Cloisite 30B against a human intestinal Caco-2 cell line after 24 or 48 h exposure with neutral red or tetrazolium salt reduction assays. They showed that Cloisite 30B induced toxic effects at 3.91 µg/mL [52].

Each of the tested materials was significantly more active towards normal fibroblast cells than keratinocytes. Keratinocytes are characterized by a higher resistance due to the fact that they constitute the first barrier separating the organism from environmental factors. A slightly higher sensitivity of fibroblasts compared to keratinocytes, including the immortalized HaCaT line, has also been observed by others [46].

4. Conclusions

Hybrid polymer nanobiocomposites were prepared by using natural aliphatic polyester as the matrix, polyurethane with aromatic rings as the modifier, and organomodified montmorillonite as the nano-additive.

The produced hybrid biocomposites had an exfoliated structure, identified by SAXS technique, which leads us to expect better properties of the obtained materials. Nanobiocomposites containing 10% of PU and 2% by mass of Cloisite 30B showed the best mechanical properties, i.e., the highest impact strength (IS) and unchanged hardness compared to the native P3HB and the P3HB-PU polymer composition. The increase in IS attained 80% in comparison with that of the unmodified P3HB. The hybrid nanocomposites were less brittle and had only a slightly smaller tensile strength value, which was still quite high.

A FTIR analysis of the tested materials revealed the characteristic bands of both the polyester matrix and the aromatic polyurethane and confirmed the formation of an interpenetrating polymer network structure, explaining further the increase in the impact strength of the polymeric matrix.

The SEM micrographs of the hybrid nanobiocomposites with 2 wt.% Cloisite 30B and 10 wt.% PU showed a uniform distribution of the nanofiller and the formation of rough domains, arranged in different directions, explaining the better mechanical properties. The SEM micrograph of the native P3HB showed a slightly wavy and glassy surface, typical of brittle polymers, without an elongated structure.

The thermal properties of the P3HB-based hybrid polymer nanobiocomposites with aromatic linear polyurethane and organomodified montmorillonite are comparable to the thermal stability of the P3HB-PU composition.

The presence of PU and Cloisite 30B resulted in a reduction in the biodegradability degree due to their durable structures, both chemically and biologically. Preliminary cytotoxicity studies showed that the P3HB-based hybrid polymer nanobiocomposites with aromatic linear polyurethane and organomodified montmorillonite, which have more favorable physicochemical properties, have a minimally lower biocompatibility than that of P3HB, but still at a satisfactory and acceptable level. Therefore, the obtained materials

can be considered for applications connected with the contact with the human body. This issue requires further in-depth studies.

Author Contributions: Conceptualization, B.K. and I.Z.; data curation, B.K., J.P.-S., M.B., M.K. (Miroslava Kovářová), D.H., M.K. (Maciej Kisiel), Ł.U. and W.F.; formal analysis, I.Z., B.K. and Ł.U.; investigation B.K.; methodology, I.Z. and B.K.; supervision, I.Z. and V.S.; validation, I.Z.; visualization, B.K.; writing—original draft, B.K.; writing—review and editing, I.Z. and B.K. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: The manuscript was financed by the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Poland within the program “Regional Excellence Initiative” (RID/SP/0032/2024/01). A part of this research was funded by programme RP CPS/2024_28_002 by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic.

Data Availability Statement: The original contributions presented in the study are included in the article, further inquiries can be directed to the corresponding authors.

Acknowledgments: The authors would like to thank Marek Pyda for providing Cloisite 30B. X-ray analysis was made in the Laboratory of Spectrometry, Faculty of Chemistry, Rzeszow University of Technology and was financed by the UPB budget.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

- Howarth, G. Polyurethanes, polyurethane dispersions and polyureas: Past, present and future. *Surf. Coatings Int. B Coatings Trans.* **2003**, *86*, 111–118. [\[CrossRef\]](#)
- Szycher, M.; Siciliano, A.A.; Reed, A.M. Polyurethanes in medical devices. *Med. Des. Mat.* **1991**, *1*, 18–25.
- Krol, P. *Linear Polyurethanes: Synthesis Methods, Chemical Structures, Properties and Applications*; Brill Academic Publishers: Leiden, The Netherlands, 2008.
- Ismail, E.A.; Motawie, A.M.; Sadek, E.M. Synthesis and characterization of polyurethane coatings based on soybean oil–polyester polyols. *Egypt J. Pet.* **2011**, *20*, 1–8. [\[CrossRef\]](#)
- Zia, K.M.; Zuber, M.; Saif, M.J.; Jawaid, M.; Mahmood, K.; Shahid, M.; Ahmad, M.N. Chitin based polyurethanes using hydroxyl terminated polybutadiene, part III: Surface characteristics. *Int. J. Biol. Macromol.* **2013**, *62*, 670–676. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Zia, K.M.; Bhatti, H.N.; Ahmad Bhatti, I. Methods for polyurethane and polyurethane composites, recycling and recovery: A review. *React. Funct. Polym.* **2007**, *67*, 675–692. [\[CrossRef\]](#)
- Ionescu, M. *Chemistry and Technology of Polyols for Polyurethanes*; Rapra Technology: Shrewsbury, UK; Polymer International: Shawbury, UK, 2007; Volume 56.
- Rafiee, Z.; Keshavarz, V. Synthesis and characterization of polyurethane/microcrystalline cellulose bionanocomposites. *Prog. Org. Coatings* **2015**, *86*, 190–193. [\[CrossRef\]](#)
- Prisacariu, C. *Polyurethane Elastomers: From Morphology to Mechanical Aspects*; Springer Science & Business Media: Berlin/Heidelberg, Germany, 2011.
- Chattopadhyay, D.K.; Raju, K.V.S.N. Structural engineering of polyurethane coatings for high performance applications. *Prog. Polym. Sci.* **2007**, *32*, 352–418. [\[CrossRef\]](#)
- Zia, K.M.; Arjum, S.; Zuber, M.; Mujahid, M.; Jamil, T. Synthesis and molecular characterization of chitosan based polyurethane elastomers using aromatic diisocyanate. *Int. J. Biol. Macromol.* **2014**, *66*, 26–32. [\[CrossRef\]](#)
- Akindoyo, J.O.; Beg, M.D.H.; Ghazali, S.; Islam, M.R.; Jeyaratnam, N.; Yuvaraj, A.R. Polyurethane types, synthesis and applications—A review. *RSC Adv.* **2016**, *6*, 114453–114482. [\[CrossRef\]](#)
- Lelah, M.D.; Cooper, S.I. *Polyurethane in Medicine*; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 1986; pp. 35–71.
- Hung, K.-C.; Tseng, C.-S.; Dai, L.-G.; Hsu, S. Water-based polyurethane 3D printed scaffolds with controlled release function for customized cartilage tissue engineering. *Biomaterials* **2016**, *83*, 156–168. [\[CrossRef\]](#)
- Poussard, L.; Burel, E.; Couvrecelle, J.-P.; Merhi, Y.; Tabrizian, M.; Bunel, C. Hemocompatibility of new ionic polyurethanes: Influence of carboxylic group insertion modes. *Biomaterials* **2004**, *25*, 3473–3483. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Wang, J.-H.; Yao, C.-H.; Chuang, W.-Y.; Young, T.-H. Development of biodegradable polyesterurethane membranes with different surface morphologies for the culture of osteoblasts. *J. Biomed. Mater. Res.* **2000**, *51*, 761–770. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Zhou, B.; Hu, Y.; Li, J.; Li, B. Chitosan/phosvitin antibacterial films fabricated via layer-by-layer deposition. *Int. J. Biol. Macromol.* **2014**, *64*, 402–408. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Wang, Y.; Hong, Q.; Chen, Y.; Lian, X.; Xiong, Y. Surface properties of polyurethanes modified by bioactive polysaccharide-based polyelectrolyte multilayers. *Colloids Surf. B Biointerfaces* **2012**, *100*, 77–83. [\[CrossRef\]](#)
- Solanki, A.; Mehta, J.; Thakore, S. Structure–property relationships and biocompatibility of carbohydrate crosslinked polyurethanes. *Carbohydr. Polym.* **2014**, *110*, 338–344. [\[CrossRef\]](#)

20. Solanki, A.; Thakore, S. Cellulose crosslinked pH-responsive polyurethanes for drug delivery: α -hydroxy acids as drug release modifiers. *Int. J. Biol. Macromol.* **2015**, *80*, 683–691. [\[CrossRef\]](#)
21. Kara, F.; Aksoy, E.A.; Yuksekdağ, Z.; Hacırcı, N.; Aksoy, S. Synthesis and surface modification of polyurethanes with chitosan for antibacterial properties. *Carbohydr. Polym.* **2014**, *112*, 39–47. [\[CrossRef\]](#)
22. Baheiraei, N.; Yeganeh, H.; Ai, J.; Gharibi, R.; Azami, M.; Faghihi, F. Synthesis, characterization and antioxidant activity of a novel electroactive and biodegradable polyurethane for cardiac tissue engineering application. *Mater. Sci. Eng. C* **2014**, *44*, 24–37. [\[CrossRef\]](#)
23. Gao, Z.; Peng, J.; Zhong, T.; Sun, J.; Wang, X.; Yue, C. Biocompatible elastomer of waterborne polyurethane based on castor oil and polyethylene glycol with cellulose nanocrystals. *Carbohydr. Polym.* **2012**, *87*, 2068–2075. [\[CrossRef\]](#)
24. Krzykowska, B.; Czerniecka-Kubicka, A.; Białkowska, A.; Bakar, M.; Kovarova, M.; Sedlarik, V.; Hanusova, D.; Zarzyka, I. Biopolymer Compositions Based on Poly(3-hydroxybutyrate) and Linear Polyurethanes with Aromatic Rings—Preparation and Properties Evaluation. *Polymers* **2024**, *16*, 1618. [\[CrossRef\]](#)
25. PN-EN ISO 527:1998; Plastics—Determination of Mechanical Properties in Static Tension—General Principles. Polish Standards Institution: Warszawa, Poland, 1998.
26. PN-EN ISO 6506-1:2006; Metallic Materials—Brinell Hardness Test—Part 1: Test Method. Polish Standards Institution: Warszawa, Poland, 2006.
27. PN-EN ISO 527-1; Determination of Mechanical Properties under Static Stretching. Polish Standards Institution: Warszawa, Poland, 2013.
28. ISO 8256-A-4; Plastics—Determination of Tensile-Impact Strength. ISO: Geneva, Switzerland, 2004.
29. ISO 17556:2012; Plastics—Determination of the Ultimate Aerobic Biodegradability of Plastic Materials in Soil by Measuring the Oxygen Demand in Respirometer or the Amount of Carbon Dioxide Evolved. ISO: Geneva, Switzerland, 2012.
30. ISO 11274; Soil Quality—Determination of the Water Retention Characteristics—Laboratory Methods. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2019.
31. ISO 10390; Soil Quality—Determination of pH. ISO: Geneva, Switzerland, 2021.
32. Park, J.-C.; Park, B.J.; Lee, D.H.; Suh, H.; Kim, D.-G.; Kwon, O.-H. Evaluation of the cytotoxicity of polyetherurethane (PU) film containing zinc diethyldithiocarbamate on various cell lines. *Yonsei Med. J.* **2002**, *43*, 518–526. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
33. US Pharmacopeia. Chapter 87: Biological Reactivity Test, In Vitro. Available online: https://www.drugfuture.com/pharmacopeia/usp32/pub/data/v32270/usp32nf27s0_c87.html (accessed on 13 August 2024).
34. ISO 10993-12; Biological Evaluation of Medical Devices-Part 12: Sample Preparation and Reference Materials. ISO: Geneva, Switzerland, 2021.
35. García-Quiles, L.; Cuello, A. F.; Castell, P. Sustainable Materials with Enhanced Mechanical Properties Based on Industrial Polyhydroxyalkanoates Reinforced with Organomodified Sepiolite and Montmorillonite. *Polymers* **2019**, *11*, 696. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
36. Jost, V.; Kopitzky, R. Blending of Polyhydroxybutyrate-co-valerate with Polylactic Acid for Packaging Applications—Reflections on Miscibility and Effects on the Mechanical and Barrier Properties. *Chem. Biochem. Eng. Q.* **2015**, *29*, 221–246. [\[CrossRef\]](#)
37. Jin, P.; Pang, A.; Yang, R.; Guo, X.; He, J.; Zhai, J. Study on Mechanical Properties of Polyurethane Cross-Linked P(E-co-T)/PEG Blended Polyether Elastomer. *Polymers* **2022**, *14*, 5419. [\[CrossRef\]](#)
38. Yeo, J.C.C.; Muiruri, J.K.; Thitsartarn, W.; Li, Z.; He, C. Recent advances in the development of biodegradable PHB-based toughening materials: Approaches, advantages and applications. *Mater. Sci. Eng. C* **2018**, *92*, 1092–1116. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
39. Abbasi, M.; Pokhrel, D.; Coats, E.R.; Guho, N.M.; McDonald, A.G. Effect of 3-Hydroxyvalerate Content on Thermal, Mechanical, and Rheological Properties of Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) Biopolymers Produced from Fermented Dairy Manure. *Polymers* **2022**, *14*, 4140. [\[CrossRef\]](#)
40. Iron, R.; Mehdikhani, M.; Naghashzargar, E.; Karbasi, S.; Semnani, D. Effects of nano-bioactive glass on structural, mechanical and bioactivity properties of Poly (3-hydroxybutyrate) electrospun scaffold for bone tissue engineering applications. *Mater. Tech.* **2019**, *34*, 540–548. [\[CrossRef\]](#)
41. Corre, Y.M.; Bruzaud, S.; Audic, J.L.; Grohens, Y. Morphology and functional properties of commercial polyhydroxyalkanoates: A comprehensive and comparative study. *Polym. Test.* **2012**, *31*, 226–235. [\[CrossRef\]](#)
42. Botana, A.; Mollo, M.; Eisenberg, P.; Torres Sanchez, R.M. Effect of modified montmorillonite on biodegradable PHB nanocomposites. *Appl. Clay Sci.* **2010**, *47*, 263–270. [\[CrossRef\]](#)
43. Paşcu, E.I.; Stokes, J.; McGuinness, G.B. Electrospun composites of PHBV, silk fibroin and nano-hydroxyapatite for bone tissue engineering. *Mater. Sci. Eng. C* **2013**, *33*, 4905–4916. [\[CrossRef\]](#)
44. Chandar, J.V.; Shanmugan, S.; Mutharasu, D.; Azlan, A.A. Poly (3-hydroxybutyrate-co-15 mol% 3hydroxyhexanoate)/ZnO nanocomposites by solvent casting method: A study of optical, surface, and thermal properties. *Mater. Res. Express* **2017**, *4*, 015301. [\[CrossRef\]](#)
45. Colombo, I.; Sangiovanni, E.; Maggio, R.; Mattozzi, C.; Zava, S.; Corbett, Y.; Fumagalli, M.; Carlino, C.; Corsetto, P.A.; Scacabarozzi, D.; et al. HaCaT Cells as a Reliable In Vitro Differentiation Model to Dissect the Inflammatory/Repair Response of Human Keratinocytes. *Mediat. Inflamm.* **2017**, *2017*, 7435621. [\[CrossRef\]](#)

46. Hoh, A.; Maier, K. Comparative Cytotoxicity Test with Human Keratinocytes, HaCaT Cells, and Skin Fibroblasts to Investigate Skin-Irritating Substances. In *Cell and Tissue Culture Models in Dermatological Research*; Bernd, A., Bereiter-Hahn, J., Hevert, F., Holzmann, H., Eds.; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 1993; pp. 341–347. [\[CrossRef\]](#)
47. Freier, T.; Kunze, C.; Nischan, C.; Kramer, S.; Sternberg, K.; Saß, M.; Hopt, U.T.; Schmitz, K.-P. In vitro and in vivo degradation studies for development of a biodegradable patch based on poly(3-hydroxybutyrate). *Biomaterials* **2002**, *23*, 2649–2657. [\[CrossRef\]](#)
48. García-Cerna, S.; Sánchez-Pacheco, U.; Meneses-Acosta, A.; Rojas-García, J.; Campillo-Illanes, B.; Segura-González, D.; Peña-Malacara, C. Evaluation of Poly-3-Hydroxybutyrate (P3HB) Scaffolds Used for Epidermal Cells Growth as Potential Biomatrix. *Polymers* **2022**, *14*, 4021. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
49. Hamada, H.; Isaksson, M.; Bruze, M.; Engfeldt, M.; Liljelind, L.; Axelsson, S.; Jönsson, B.; Tinnerberg, H.; Zimerson, E. Dermal uptake study with 4,4'-diphenylmethane diisocyanate led to active sensitization. *Contact Dermat.* **2012**, *66*, 101–105. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
50. Król, P.; Uram, L.; Król, B.; Pielichowska, K.; Walczak, M. Study of chemical, physico-mechanical and biological properties of 4,4'-methylenebis(cyclohexyl isocyanate)-based polyurethane films. *Mater. Sci. Eng. C* **2018**, *93*, 483–494. [\[CrossRef\]](#)
51. Wagner, A.; Eldawud, R.; White, A.; Agarwal, S.; Stueckle, T.A.; Sierros, K.A.; Rojanasakul, Y.; Gupta, R.K.; Dinu, C.Z. Toxicity evaluations of nanoclays and thermally degraded byproducts through spectroscopical and microscopical approaches. *Biochim. Biophys. Acta BBA-Gen. Subj.* **2017**, *1861*, 3406–3415. [\[CrossRef\]](#)
52. Maisanaba, S.; Gutiérrez-Praena, D.; Pichardo, S.; Moreno, F.J.; Jordá, M.; Cameán, A.M.; Aucojo, S.; Jcs, Á. Toxic effects of a modified montmorillonite clay on the human intestinal cell line Caco-2. *J. Appl. Toxicol.* **2014**, *34*, 714–725. [\[CrossRef\]](#)

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

8.5. Publikacja [D5] – Załącznik 5

B. Krzykowska, A. Fajdek-Bieda, A. Jakubus, J. Kostrzewa, A. Białkowska, M. Kisiel, Š. Dvořáčková, W. Frącz, I. Zarzyka, Bio-based poly(3-Hydroxybutyrate) and Polyurethane Blends: Preparation, Properties Evaluation and Structure Analysis, Materials, 18, 1914, (2025).
<https://doi.org/10.3390/ma18091914>

Autor	%
B. Krzykowska	60
A. Fajdek-Bieda	5
A. Jakubus	5
J. Kostrzewa	5
A. Białkowska	5
M. Bakar	5
W. Frącz	5
M. Kisiel	5
I. Zarzyka	5

Article

Bio-Based Poly(3-hydroxybutyrate) and Polyurethane Blends: Preparation, Properties Evaluation and Structure Analysis

Beata Krzykowska ^{1,*}, Anna Fajdek-Bieda ², Aneta Jakubus ³, Joanna Kostrzewa ³, Anita Białkowska ⁴, Maciej Kisiel ⁵, Štěpánka Dvořáková ⁶, Wiesław Frącz ⁷ and Iwona Zarzyka ^{1,*}

¹ Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, Rzeszów University of Technology, Powstańców Warszawy 6, 35-959 Rzeszów, Poland

² Department of Medical Analytics, Faculty of Health Sciences, The Jacob of Paradies University in Gorzów Wielkopolski, Chopina 52, 66-400 Gorzów Wielkopolski, Poland; abieda@ajp.edu.pl

³ Faculty of Technology, Jacob of Paradies University, 66-400 Gorzów Wielkopolski, Poland; jakubusaneta@wp.pl (A.J.); kostrzewa_joanna@wp.pl (J.K.)

⁴ Faculty of Mechanic, Radom University, Stasieckiego 54, 26-600 Radom, Poland; a.bialkowska@uthrad.pl

⁵ Department of Industrial and Materials Chemistry, Faculty of Chemistry, Rzeszów University of Technology, Powstańców Warszawy 6, 35-959 Rzeszów, Poland; m.kisiel@prz.edu.pl

⁶ Department of Machining and Assembly, Technical University of Liberec, Studentská 1402/2, 460 01 Liberec, Czech Republic; stepanka.dvorakova@tul.cz

⁷ Department of Material Forming and Processing, Rzeszów University of Technology, Powstańców Warszawy 8, 35-959 Rzeszów, Poland; wf@prz.edu.pl

* Correspondence: b.krzykowska@prz.edu.pl (B.K.); izarzyka@prz.edu.pl (I.Z.); Tel.: +48-0178651762 (I.Z.)

Abstract: The present work deals with polymer blends produced from poly(3-hydroxybutyrate), P3HB and polyurethane. Linear polyurethane (PU) was here synthesized by reacting polypropylene glycol with 4,4'-diphenylmethane diisocyanate, and was used in amounts of 5, 10 and 15 wt. %. The polymers were melt-mixed using a twin-screw extruder after prior premixing. The obtained blends were tested by differential scanning calorimetry analysis (DSC), Fourier transformation infrared spectroscopy (FTIR), and scanning electron microscopy (SEM) with energy dispersive X-ray analysis (EDX). Their thermal and mechanical properties, including impact resistance, hardness, tensile and flexural properties, were also determined, and the surface topography and roughness were analyzed. FTIR analysis of the prepared blends confirmed the interactions of PU with the P3HB matrix via hydrogen bonding. Analysis of the surface topography of the samples showed that the higher the PU content, the greater the regularity and homogeneity of the surface structure. The roughness of the P3HB blend containing 5 wt. % PU was the greatest. SEM images of the fracture surfaces of the blend samples explain the mechanism of the improvement of their mechanical properties. The obtained polymer blends were characterized by significantly lower hardness, and better impact strength and relative elongation at break compared to native P3HB. The DSC results confirm a decrease in the glass transition, melting and crystallization temperatures with increasing amounts of PU in the blends. The lower melting temperature and the higher degradation temperature of the resulted blends than native P3HB make the processing conditions easier, and prevent the degradation of the material. The best mechanical and thermal properties were shown by blends containing 10 wt. % of PU.

Keywords: polymer blends; polyhydroxyalkanoates; polyurethanes; structure-properties relationship; thermal stability; mechanical properties; structure



Academic Editor: Dinesh Agrawal

Received: 21 February 2025

Revised: 22 March 2025

Accepted: 15 April 2025

Published: 23 April 2025

Citation: Krzykowska, B.; Fajdek-Bieda, A.; Jakubus, A.; Kostrzewa, J.; Białkowska, A.; Kisiel, M.; Dvořáková, Š.; Frącz, W.; Zarzyka, I. Bio-Based Poly(3-hydroxybutyrate) and Polyurethane Blends: Preparation, Properties Evaluation and Structure Analysis. *Materials* 2025, 18, 1914. <https://doi.org/10.3390/ma18091914>

Copyright: © 2025 by the authors.

Licencee MDPI, Basel, Switzerland.

This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

One of the biggest problems of the current era is recycling and reducing the amount of plastic materials; for this reason, many scientists are developing completely biodegradable, non-toxic and nature-friendly polymeric materials. The biopolymers being produced as biodegradable and biosynthesizable polymeric materials help to level the amount of petroleum-derived plastics currently being produced, which take at least 100 years to decompose. The group of biopolymers is very broad, and there are many types of biopolymers that match traditional plastics in their properties. After modification, these polymers often have significantly better properties than the original raw material or plastics [1–3].

Poly(hydroxyalkanoates) (PHAs) are natural biopolymers belonging to the biopolyester and the aliphatic polyester groups. They are used for the intracellular storage of excess carbon and energy by microorganisms [4–8]. Poly(3-hydroxybutyrate) (P3HB) is one of the most widespread, widely studied and deeply described microbial biopolymers belonging to the PHA family [9,10]. It is produced and stored by some bacteria during times when the microorganism has insufficient food, and when unfavorable environmental conditions arise [11–13]. This compound is the most commonly synthesized PHA. When it is separated from cells, P3HB has a crystalline structure, and owes its remarkable crystallinity to its linear chain structure. P3HB belongs to the group of semicrystalline polymers with two phases, crystalline and amorphous, with their degree of crystallinity reaching up to 80% [14,15]. Its structure (Figure 1) is characterized by the presence of an ester functional group and a methyl side substituent that is responsible for some of the properties of P3HB.

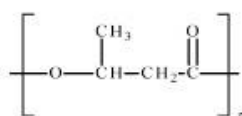


Figure 1. Structure of poly(3-hydroxybutyrate).

This biopolymer can be produced from sugars, vegetable oils and fatty acids [11,16]. Its production is also possible as a result of continuous bacterial fermentation processes and various varieties of batch culture [17,18].

P3HB has many similar properties to polypropylene and PHAs, such as non-toxicity, UV resistance, biocompatibility, hydrophobicity, and thermoplasticity. In contrast, its own properties, different from PHAs, can include stability under harsh conditions, high oxygen impermeability and biodegradability under almost any environmental conditions [19,20]. The compound also has high barrier properties, and is soluble in hydrocarbons with chlorine in their structure, including chloroform, while it is insoluble in water, and shows poor acid resistance. The disadvantages of P3HB include the difficulty of recovery and high cost of obtaining this polymer, as well as its brittleness, low deformability, low degradation temperature, and the release of an unpleasant odor during processing [21,22].

In order to modify the thermal, mechanical, and some of the functional properties of P3HB, it can be mixed with other polymers, such as other polyhydroxyalkanoates, polycaprolactone and natural polymers, e.g., alginate, cellulose and chitosan. In this way, polymer compositions that are still biodegradable are produced [23–25]. Mixing P3HB with chitosan causes a decrease in the degree of crystallinity of P3HB and a decrease in the melting and glass transition temperature. The addition of chitosan contributed to increasing the hydrophilic properties of the obtained material, and improved P3HB's physico-mechanical properties [26,27].

Polyurethanes are rarely used to modify the properties of P3HB except for in our works [28]. The polyurethanes were used to modify the properties P3HB, and more often to modify copolymers P3HB, poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHBV).

In turn, Olkhov et al. used P3HB to modify the properties of polyamide [29]. The resulting blends were characterized by biodegradability, higher thermal than P3HB and lower crystallinity degree. Moreover, the diffusion mobility of water increases exponentially with the increase in the content of hydrophilic polyamide in the system.

Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)/thermoplastic polyurethane composites were prepared by solution blending combined with melt processing by Wang et al. The incorporation of thermoplastic polyurethane decreased the blend crystallinity and increased the initial degradation temperature by 5 °C, and the elongation-at-break was increased by 225% compared with PHBV [30].

Martínez-Abad et al. described that the presence of thermoplastic polyurethane did not affect the crystallinity of the PHBV. They observed a gradual decrease in the modulus of elasticity and tensile strength with increasing polyurethane content in the blends. The barrier properties and the biodegradability of PHBV were maintained [31].

Panaitecu et al. [32] modified the properties of PHBV with two polyurethane elastomers containing poly(epsilon-caprolactone) and poly(epsilon-caprolactone)/poly(butylene adipate) as the soft segment and the hard segment. The addition of 5–15 wt. % PU elastomers did not significantly influence the thermal stability of these blends, but decreased the crystallization temperature of PHBV (up to 9 °C) and the crystallinity degree by about 4–5%. The tensile strength and modulus of blends remained close to those of neat PHBV, but elongation at break increased up to 70%.

Frone et al. [33] modified P3HB with microfibrillated cellulose and a thermoplastic polyurethane containing biodegradable segments (described in [32]) via two routes—using a master batch and by direct mixing. The modifiers improved the thermal stability of PH3B (13 °C) and slightly decreased its melt viscosity, improving the melt processability. PU modifiers delayed the degradation of the P3HB composites.

There have also been studies wherein P3HB was used to modify the properties of polyurethanes. Saha et al. [34] synthesized PUs from castor oil and poly(3-hydroxybutyrate)diol using hexamethylene diisocyanate as a crosslinking agent. The presence of P3HB significantly increased the tensile strength, stiffness and crystallinity of the resulting PUs compared to neat CO-based PU.

In this study, in order to modify the properties of P3HB, polymer blends were produced with the use of a linear polyurethane based on diphenylmethane 4,4'-diisocyanate and polypropylene glycol with a molar mass of 400 g. The polyurethane was dosed at 5, 10 and 15 wt. % relative to the polymer blends. The effects of the presence and amount of polyurethane on the miscibility of the components, morphology, surface roughness, and thermal and mechanical properties of the polymer blends were investigated.

2. Materials and Methods

2.1. Materials

P3HB was supplied by Biomer (Krailling, Germany); its average molecular weight was $M_w = 443,900 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ and its dispersity index was $(M_w/M_n)^{-1} = 5.72$; the P3HB melt flow index was 0.11 at 180 °C and 2.16 kg. 4,4'-diphenylmethane diisocyanate (MDI) and dibutyltin dilaurate (DBTL) were supplied by Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, USA), the 400 g molar weight polypropylene glycol (PPG400) by Sigma-Aldrich and the acetone by Chemsolute (Renningen, Germany).

Synthesis of Linear Polyurethanes

The synthesis of polyurethane (Figure 2) was conducted in nitrogen. The molar ratio of isocyanate groups to hydroxyl groups of glycol was 1:1.08. The catalyst was used at the amount of 0.003 mol/mol PPG400. The synthesis procedure is described in [28].

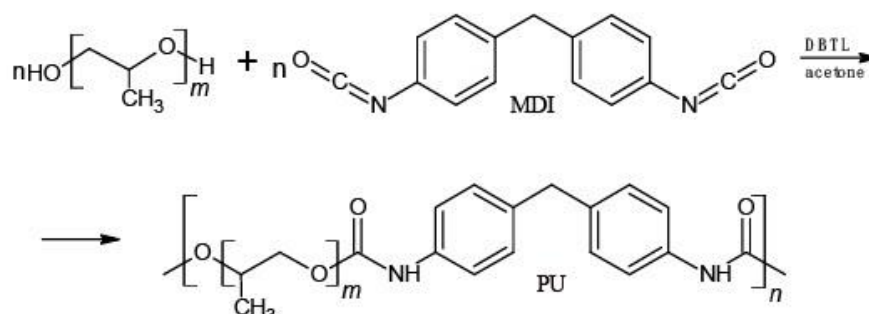


Figure 2. Synthesis scheme of polyurethane, where $m \approx 7$, $n \approx 27$.

2.2. Methods

2.2.1. Manufacturing Technology of Polymer Blends

P3HB-PU blends were extruded using a ZAMAK RES-2P12A Explorer twin-screw extruder (ZAMAK Mercator company, Skawina, Poland). Polymer blends containing P3HB and a modifier, in the form of a linear polyurethane, were produced using PU in amounts of 5, 10 and 15 wt. %, as shown in Table 1.

Table 1. Compositions of extruded blends.

P3HB Content [wt. %]	PU Content, [wt. %]	Sample Determination
95	5	C5
90	10	C10
85	15	C15

The PU was dissolved in acetone, and the solution was homogenized with P3HB by mixing in a drum mixer (ERY Food Machinery, Warsaw, Poland). The homogenization process lasted 20 min and was carried out at room temperature. Then, the homogenized mixture was placed into a vacuum dryer to remove acetone. Finally, the mixture was fed into a co-rotating twin-screw extruder and the extrusion process was carried out under the conditions shown in Table 2. The speed of screws in the extrusion line was 40 rpm and the screw diameter was 12.5 mm, while the $L:D^{-1}$ ratio was 24. After cooling in a cooling bath, the melt was pelleted and dried at 60 °C for more than 2 h.

Table 2. Extruder heating zone temperatures in the extrusion of polymer blends.

Sample	T_8 [°C]	T_7 [°C]	T_6 [°C]	T_5 [°C]	T_4 [°C]	T_3 [°C]	T_2 [°C]	T_1 [°C]
C5	160	160	160	160	160	160	155	140
C10	160	160	160	160	160	160	158	155
C15	156	156	156	156	156	160	153	149

2.2.2. Mechanical Tests

A Zwick Z030 (ZwickRoell, Ulm, Germany) testing machine was utilized to assess the tensile properties of the prepared blends. The uniaxial tensile test was conducted according to EN ISO 527-1 [35] for molded specimens with a dumbbell shape. The specimens were produced using the following injection parameters:

- Injection speed— $50 \text{ cm}^3/\text{s}$;
- Mold temperature (T_f)— 50°C ;
- Injection pressure (p_d)—350–390 bar;
- Dwell time (T_d)—30 s.

Each sample series comprised 7 specimens for subsequent statistical analysis. From the test results, Young's modulus (E), tensile strength (σ_M), and relative elongation at maximum tensile stress (ϵ_M) were evaluated. The data were processed statistically, with the arithmetic mean ($\bar{x}$), standard deviation (s), and coefficient of variation (V) being calculated.

A Brinell hardness test of the blends was performed in accordance with EN ISO 2039-1 [36], specifically in zone A of the sample (Figure 3), intended for the uniaxial tensile test. Each specimen series contained seven samples, and statistical analysis was conducted.



Figure 3. Zones of the hardness test specimen: A—measuring zone, B—gripping zone.

An impact tensile test was also conducted on the blend samples. The impact tensile strength was determined in accordance with [37], using a CEAST 9050 pendulum hammer (Illinois Tool Works Inc., Glenview, IL, USA), with uniaxial tensile test paddles employed for the procedure. The specimen geometry was adjusted according to the standard, with notches milled for entire specimen batches. Each series consisted of 7 specimens, and statistical analysis was performed as well.

2.2.3. Roughness Measurements

The samples were visually assessed using an Olympus DSX 1000 microscope (Olympus Corporation, Tokyo, Japan). The surface was assessed using a non-contact measurement method, which was necessary due to the softness of the material being tested. This is because the use of a stylus tip could lead to damage to the surface of the samples. Measurements were taken on a panoramic image composed of four images with a total area of $2891 \mu\text{m} \times 2156 \mu\text{m}$. The LEXT application dedicated to the DSX series was used for the analysis. The length of the measurement section was approximately $2900 \mu\text{m}$. The roughness profiles were determined in accordance with [38].

A surface roughness profile is a line that describes microscopic irregularities on the surface of a material. It is the result of a roughness measurement, which assesses differences in height on the surface along a specific line. This profile provides information about surface properties such as smoothness, roughness or texture, which is important in many industrial and engineering applications.

Arithmetic mean roughness (R_a): This is the most commonly used parameter that measures the average absolute value of the deviation of the profile from the centerline in a given section. R_a gives an overall assessment of surface roughness.

Profile maximum height (R_z): This is the sum of the height of the highest peak and the deepest valley in a section. R_z is more sensitive to single high irregularities than R_a .

Average peak height (R_p): This is the average height of the peaks above the centerline.

Average depth of valleys (R_v): This is the average depth of the valleys below the centerline.

Roughness profile width (R_{sm}): This is the average distance between adjacent roughness peaks.

Root mean square deviation (R_q): Defines the square root of the mean of the squared $Z(x)$ values within the sampling length.

Mean height (R_c): Represents the average value of the height of profile elements measured over the sampling length.

The interpretation of the roughness profile can be performed as follows:

- Smooth surface. Low R_a , low R_z —the surface is generally flat and even;
- Rough surface. High R_a , high R_z —the surface has many irregularities and a large variation in height;
- Characteristic profile. Specific values of R_p , R_v and R_{sm} can indicate specific manufacturing features such as cutting, chemical treatment, abrasion, etc.

2.3. Analytical Methods

2.3.1. HT-GPC Chromatography

To determine the molar mass of linear polyurethane, an HT-GPC 220 chromatograph (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) was used, which has a detection set-up that allows refractive index detection and viscosity detection. Samples were first dissolved in dimethylformamide (DMF) (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA) and then separation and detection were performed at 50 °C using DMF. The flow rate was 1 mL/min and the injected sample volume was 100 μ L. Polystyrene standards (12 standards) in the range 580 kDa–271 Da were selected to calibrate the GPC. The polyurethanes were characterized by determining M_n —number average molar mass, M_w —weight average molar mass, M_p —molar mass at peak maximum and DI—degree of dispersion. The results obtained can be found in Table 3.

Table 3. Results of molar masses and degrees of dispersion of the polyurethane obtained.

M_n [g/mol]	M_w [g/mol]	M_p [g/mol]	DI [–]
7612	17,588	28,132	2.31

2.3.2. FTIR Spectra

In investigating the interactions of the blend components, FTIR spectra of the P3HB, PU, and P3HB-PU blend in ATR form were performed with the use of an ALPHA FT-IR spectrometer (Bruker, Shanghai, China) in the wave number range 400–4000 cm^{-1} , with a resolution of 2 cm^{-1} .

2.3.3. Scanning Electron Microscopy

The morphology of the polymer blends obtained was studied using a JEOL type JSM-6490 LV (JEOL Ltd., Tokyo, Japan) scanning electron microscope with a dispersion analyzer of X-ray energy for micro-area chemical analysis. The samples were first subjected to freezing in liquid nitrogen, after which they were broken with a hammer and the fracture surfaces of the samples were examined. In order to obtain an SEM image, their surfaces were sprayed with a thin metallic layer, which prevents the accumulation of surface charges hindering or even preventing the observation of the surface. The samples prepared in this way were coated with a layer of gold about 10 nm thick using a JEOL JFC-1300 (JEOL Ltd., Tokyo, Japan) gold sputtering machine, resulting in microphotographs showing the morphology along with the surface structure.

2.3.4. EDS

The distribution of elements in the polymer biocomposites was analyzed using an Energy Dispersive Spectroscopy (EDS) detector integrated into an Axia ChemisSEM Scanning Electron Microscope (SEM) from ThermoFisher Scientific (Waltham, MA, USA). The electron beam source used was a tungsten filament. Prior to analysis, the samples were sputter-coated with a 0.1 μm thick gold layer to enhance conductivity. The analysis was conducted at a magnification of $250\times$ and a voltage of 30 kV.

2.3.5. Thermogravimetric Analysis

Thermogravimetric (TG) analysis of P3HB and the resulting polymer blends was conducted using a Mettler Toledo AG—TGA/SDTA851e (Mettler-Toledo International Inc., Columbus, OH, USA) thermogravimetric analyzer. The samples were heated at a rate of 5 $^{\circ}\text{C}$ per minute over a temperature range of 25 $^{\circ}\text{C}$ to 400 $^{\circ}\text{C}$. Measurements were performed in both nitrogen and air atmospheres. The following parameters were determined:

- Temperature at the onset of decomposition (T_{on});
- Half-mass loss temperature ($T_{50\%}$);
- Degradation temperatures at 10% and 5% mass loss ($T_{10\%}$, $T_{5\%}$);
- Temperature of the fastest decomposition (T_{max});
- Residue at 400 $^{\circ}\text{C}$.

2.3.6. Differential Scanning Calorimetry

The temperature dependence of the heat flow rate was determined using a differential scanning calorimeter (DSC822e, Mettler Toledo, Columbus, OH, USA). All analyses were conducted under a nitrogen atmosphere with a constant flow rate of approximately 50 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. The experiments were performed over a temperature range from -90 $^{\circ}\text{C}$ to 195 $^{\circ}\text{C}$. The accuracy of the specific heat measurements was approximately 3%. The measurements were conducted at a cooling rate of 10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ and a heating rate of 10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. The first heating cycle was performed to erase the thermal history of the samples, while the second heating cycle was used to evaluate the properties of the samples. The results were compared based on the second heating run.

2.3.7. Water Contact Angle (WCA)

An OCA 15 optical goniometer equipped with a module for the automatic dosing of measuring drops from Data Physics was used, according to the PN-EN 828 standard [39]. The contact angle is the angle formed by the tangent to the surface of the measuring drop deposited on the surface of a solid, at the point of contact between the three phases of solid, liquid, and gas. Measurements were made at room temperature. The drop contours were made using the SCA20U computer software Version 6.1 and the contact angle was calculated. Ten measurements were taken for each blend tested, and the arithmetic mean of all measurements was taken as the final result. The mean values of contact angles are shown with a 95% confidence limit.

3. Results and Discussion

The disadvantages of ‘double-green’ P3HB are its brittleness and low thermal stability, and therefore, its difficult processing conditions. In the present study, a linear polyurethane obtained by reacting polypropylene glycol with a molar mass of 400 g with MDI (Figure 2) was used to improve the properties of P3HB. The molar mass of M_w PU is 17,588 g (Table 3). To modify the properties of P3HB, PU was used at 5, 10 and 15 wt. % (Table 1). The prepared polymer blends were melt-mixed using a twin-screw extruder. P3HB was processed in a

similar manner. In sequence, the miscibility, structure, roughness and surface morphology of the polymer blends were investigated.

3.1. Blend Characterization by FTIR Spectroscopy

FTIR characterization was performed to investigate the possible interactions and compatibility between the components of the blends [40]. The FTIR spectra of the prepared P3HB-PU blends were compared with the individual FTIR spectra of P3HB and PU. The observed differences and similarities in the bands of the polymer blends are presented in Figure 4. The characteristic bands of virgin P3HB were observed, confirming the structure of the blend's matrix. Notably, a strong ester bond band, originating from the valence vibrations of the C=O bonds, appeared at 1721 cm^{-1} . Additionally, asymmetric and symmetric C-O bond vibration bands of the ester group were identified at 1262 cm^{-1} and 1129 cm^{-1} , respectively. Furthermore, asymmetric and symmetric C-H bond vibration bands of the methyl and methylene groups were found at 2973 , 2929 , and 2856 cm^{-1} [41,42].

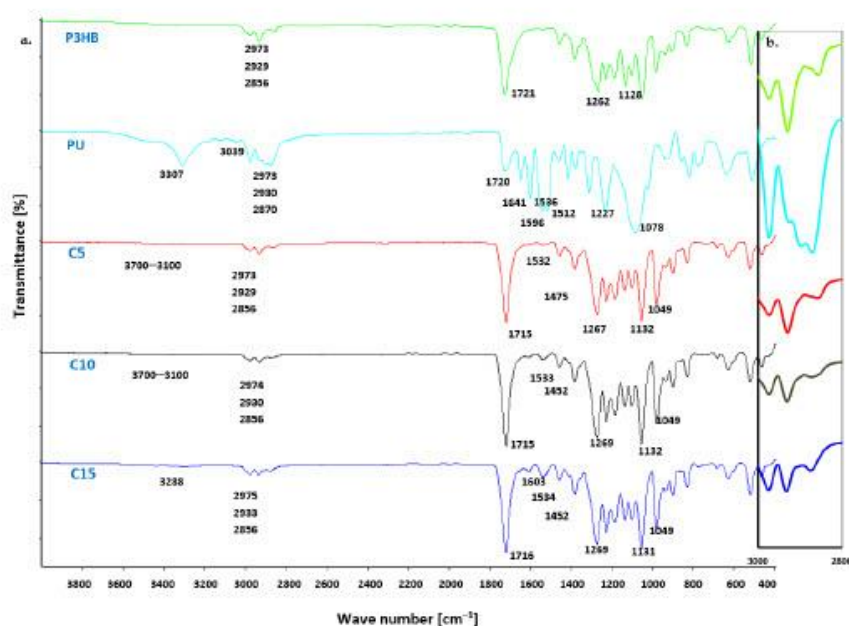


Figure 4. (a) FTIR spectra of P3HB, PU and P3HB-PU blends containing 5, 10 and 15 wt. % PU (designated C5, C10 and C15) and (b) magnified image of the region $2800\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$.

In the FTIR spectrum of PU, a valence vibration band of the N-H bond from the urethane group ($-\text{NH}-\text{COO}-$) was observed in the $3600\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$ range. This broad and fuzzy band indicates the presence of hydrogen bonds in the polyurethane. The C-H bonds of PU methylene groups exhibited a single broad band at 2973 , 2930 , and 2870 cm^{-1} , while a C-H bond vibration band of the phenyl ring appeared at around 3039 cm^{-1} . The C=O bond vibrations of the $-\text{NH}-\text{COO}-$ urethane group were observed at 1720 cm^{-1} , and a characteristic deformation vibration band of the N-H bond of polyurethane appeared at 1596 cm^{-1} . Additionally, characteristic backbone bands of the aromatic ring were visible at 1641 , 1536 , 1512 , and 1475 cm^{-1} . Bands of asymmetric and symmetric C-O and C-N bonds of the $-\text{NH}-\text{COO}-$ groups were visible at 1227 and 1078 cm^{-1} [43]. FTIR analysis of the PU confirmed the correct progression of the polyaddition reaction during PU synthesis.

The spectra of the blends containing varying amounts of PU showed both similarities and differences (Figure 4). These spectra also differed in terms of peak intensity and range when compared to the peaks present in the spectrum of the pure polyester (P3HB) and the PU modifier alone.

In the FTIR spectra of all P3HB-PU blends (Figure 4), a low-intensity band was observed in the range of $3700\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$. This band's intensity increased with the increasing PU content in the blends. In contrast, a diffuse band in the $2800\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ range showed variable intensity, depending on the amount of PU present. In the blend containing 10 wt. % PU, this band was much smaller compared to those of pure PU or P3HB. However, the intensity of the band was comparable in samples containing 5 wt. % and 15 wt. % PU.

Additionally, a band at 1715 cm^{-1} appeared in all blend spectra, which was attributed to the stretching vibrations of the C=O bonds from the P3HB carbonyl group and the -NH-COO- group of the PU modifier. The carbonyl group band was shifted to lower wavenumber values, from 1721 to 1715 cm^{-1} . The observed shift can be attributed to hydrogen bonds; therefore, all C=O groups of P3HB are apparently connected by hydrogen bonds, since neither component can be observed at higher wavenumbers attributed to free C=O groups [44]. Moreover, it should be noted that the lowest intensity of this band was shown by the blend containing 5 wt. % PU (blend C5), which indicates the presence of carbonyl group interactions in the components. There was a bending vibration band of N-H urethane bonds, at a wave number of 1603 cm^{-1} , which was characterized by low intensity due to the formation of intermolecular hydrogen bonds between the P3HB and PU [45,46].

The intensity of the band at 1715 cm^{-1} was variable and dependent on the amount of PU in the polymer system, with the highest intensity observed for the sample containing 15 wt. % PU. This suggests that specific interactions were most prominent in the sample modified with 15 wt. % PU.

Additional characteristic bands were identified and analyzed. Typical asymmetric and symmetric C-O vibrational bands of esters and urethanes appeared at wave numbers of 1269 cm^{-1} , 1132 cm^{-1} , and 1049 cm^{-1} . FTIR spectral analysis of the prepared polymer blends and their individual components confirmed the interaction between PU and the P3HB matrix. This indicates that the PU modifier successfully interacted with the P3HB, influencing the properties of the resulting blends.

3.2. Analysis of Topography and Roughness of Manufactured Polymer Blends

Figure 5 shows the surface topographies of the samples, namely, native P3HB and the polymer blends with PU added at 5, 10 and 15 wt. %. The analysis of the topographies showed that the surface of the P3HB sample is relatively flat, suggesting minimal surface disruption. For the C5, C10 and C15 samples with 5%, 10% and 15 wt. % PU, there is a noticeable change in the surface topography, characterized by a higher proportion of protuberances, which are particularly pronounced on sample C5 with the addition of 5 wt. % PU (Figure 5).

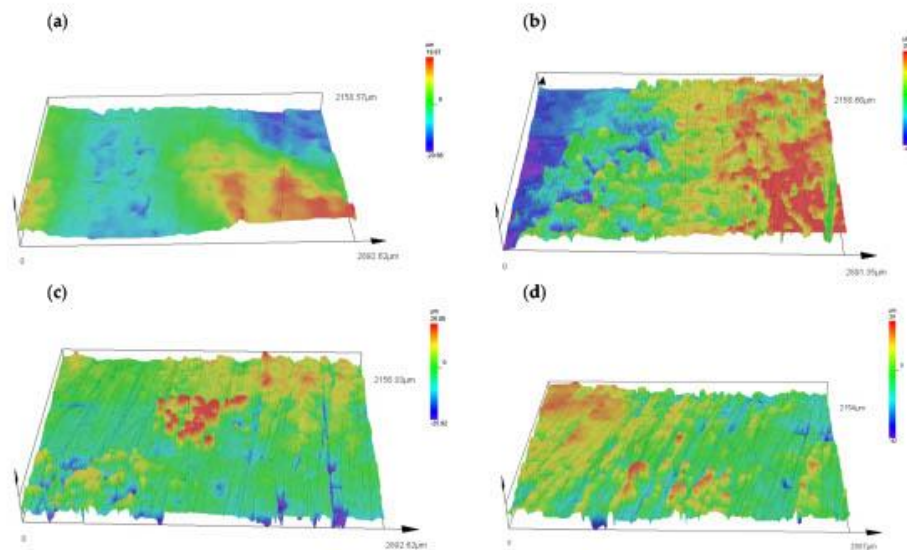


Figure 5. Surface topography of samples with (a) P3HB; (b) C5; (c) C10 and (d) C15.

The surface of sample C5 shows a significant amount of protrusion, indicating a significant change in surface topography. These protuberances are clearly visible and suggest an intense disruption of the surface structure compared to sample P3HB. The change in topography of sample C10 is still noticeable, but appears to be less intense compared to sample P3HB. The surface shows moderate disturbance, suggesting some stabilization of the roughness structure. The surface of sample C15 shows similar changes in topography as in sample C5.

The surface of sample P3HB (Figure 5a) is relatively smooth, with a small roughness range of ~ -20 to ~ 20 μm . This suggests minimal structural disturbances and a homogeneous surface. The addition of 5 wt. % PU (sample C5, Figure 5b) leads to a significant increase in roughness, with a roughness range of ~ -40 to ~ 30 μm . Prominent prominences and depressions are observed, indicating intense surface disturbances. This may be due to the inhomogeneous distribution of PU in the P3HB matrix, which leads to local structural stresses. In sample C10 (Figure 5c), containing 10 wt. % PU, the surface topography shows some smoothing compared to C5. The roughness is in the range of ~ -20 to ~ 26 μm , suggesting the partial stabilization of the structure. This may be due to the better compatibility of P3HB and PU at this modifier content, which reduces the occurrence of sharp surface irregularities. Sample C15 (Figure 5d), containing 15 wt. % PU, again shows a larger range of irregularities (~ -40 to ~ 30 μm), but the surface structure seems more regular and homogeneous compared to C5. This may suggest that the higher PU content leads to a more even distribution of the polyurethane phase, which reduces local stresses and results in a more coherent surface structure.

Visual examination with an Olympus DSX 1000 microscope allowed a detailed analysis of the surface topography of the samples. The results suggest that the modifying additive significantly affects the surface structure, particularly at 5 wt. % PU additive, where the greatest changes are observed. The non-contact measurement method proved to be suitable for this type of material, allowing an accurate assessment of the topography without the risk of surface damage. Further analysis can focus on the impacts of these topographical changes on the mechanical and performance properties of the samples tested.

The surface roughness of the specimens was measured in five designated directions, as shown in the photographs of the specimens. The results of the measurements are illustrated in Figure 6, which show the roughness profiles.

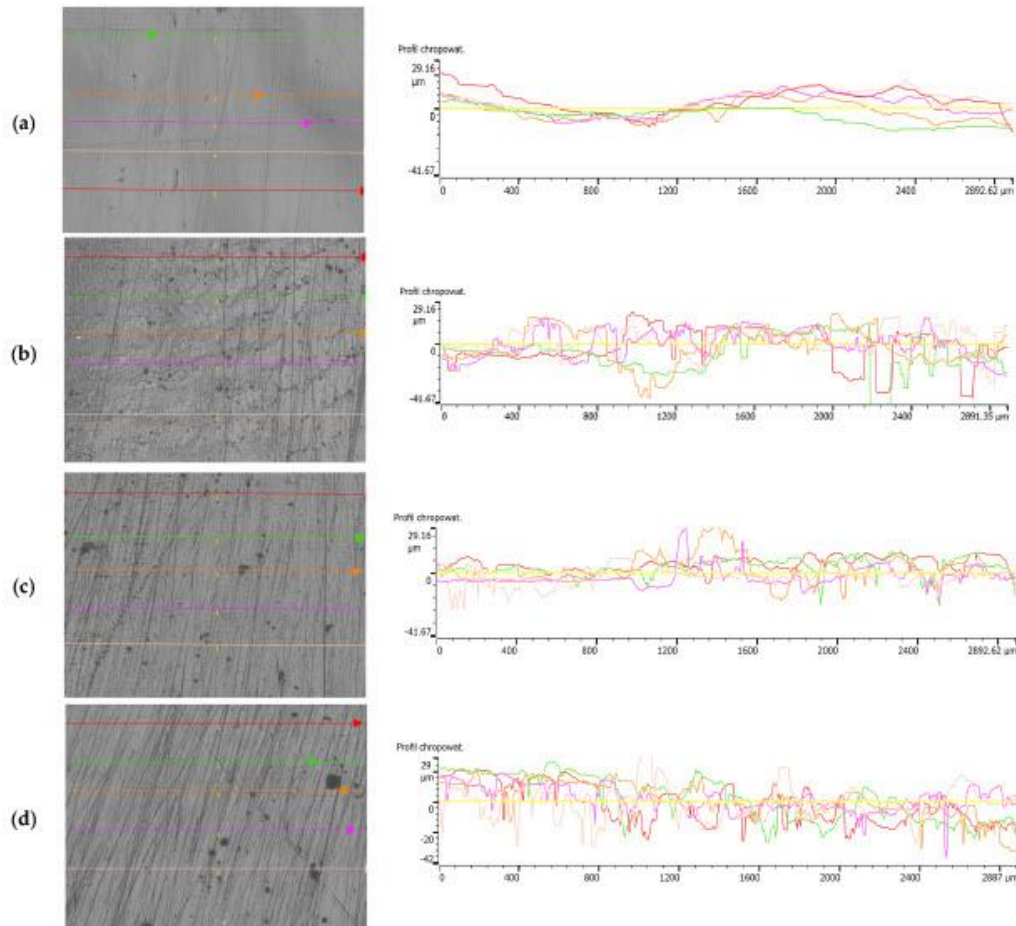


Figure 6. Surface of samples: (a) P3HB, (b) C5, (c) C10 and (d) C15, with lines marking the roughness measurement locations and roughness profiles.

Table 4 shows a summary of the surface roughness parameters for P3HB and its blends using different percentages of PU content—5%, 10%, 15 wt. %. Parameters such as R_p , R_v , R_z , R_c , R_a , R_q and R_{sm} are tabulated, and their average values for each group are calculated. The P3HB samples show relatively low values for the roughness parameters. These results serve as a benchmark for comparison with the modified samples. The values of R_a and R_q suggest that the surface is relatively smooth, and the high value of R_{sm} indicates a large distance between roughness peaks. In the case of C5 samples containing 5 wt. % PU, we observed a significant increase in all roughness parameters. The increases in R_v and R_z are particularly pronounced, which indicate greater valley depths and higher overall roughness heights. This is significant evidence of the significant modifying effect of

5 wt. % PU on the surface structure. When P3HB is modified with 10 wt. % PU, the values of the roughness parameters are higher than for the unmodified samples, but lower than for the C5 samples. These increases are particularly evident for the parameters R_p , R_v and R_z , suggesting a moderate increase in surface roughness. For the modification of P3HB with 15 wt. % PU, the results show a further increase in roughness compared to the P3HB and C10 samples, but they do not reach the extreme level as with 5 wt. % PU. The mean distance between peaks (R_{sm}) is the lowest in this group, suggesting a more regular and dense roughness structure.

Table 4. Roughness parameters of P3HB and its blends with 5, 10 and 15 wt. % PU, designated as C5, C10 and C15, respectively.

Sample	R_p [μm]	R_v [μm]	R_z [μm]	R_c [μm]	R_a [μm]	R_q [μm]	R_{sm} [μm]
P3HB	11.0	10.1	21.2	15.9	4.6	5.4	1400.9
C5	20.6	35.7	56.3	25.0	9.1	11.7	348.9
C10	18.0	20.3	38.3	15.2	4.2	5.9	312.5
C15	19.2	30	49.4	21.6	6.4	8.4	221.8

The most significant increase in roughness parameters was observed when P3HB was modified with 5 wt. % PU. This suggests that this level of modification has the strongest effect on the surface structure. At 10% and 15 wt. % PU, the polymer blend samples show higher parameter values than for unmodified samples, but the increase in roughness is not as drastic as for C5.

An increase in the proportion of PU in the polymer blend results in an increase in surface roughness parameters, but this is not a linear increase. The values of R_v and R_z are particularly sensitive to changes, which can be crucial in applications requiring specific surface properties. The R_{sm} value decreases with increasing amounts of polyurethane modifier, indicating a more regular and dense roughness structure at higher modification levels.

Further research could focus on the effects of these parameters on the functional properties of the materials, such as abrasion resistance, adhesion or surface chemical reactions, allowing a more complete understanding of the effects of the modifications on the functionality of the materials.

3.3. Analysis of Contact Angle and Surface Roughness of Polyurethanes with PU Additive

As part of the conducted research, the surface topography of natural P3HB and polymer blends with the addition of polyurethane (PU) in amounts of 5%, 10%, and 15% by weight was analyzed. The aim of the study was to determine the effects of PU addition on the surface structure of the materials, and to examine how roughness changes depending on the concentration of the additive. Simultaneously, contact angle analysis was performed to assess the influence of the microstructure on surface wettability.

The P3HB sample exhibited an average contact angle of 72.14° (95% CI), indicating its hydrophobic nature. The surface structure of this material was relatively smooth and homogeneous (Table 5), as confirmed by the roughness analysis performed using the Olympus DSX 1000 microscope. The absence of distinct protrusions and depressions suggests a stable chemical structure, likely due to the regular distribution of ester bonds in the P3HB polymer. The homogeneous structure of P3HB limits liquid adsorption, contributing to the high stability of wettability.

Table 5. Effect of polyurethane (PU) additive on wetting angles and surface characteristics of the P3HB-PU blends.

Sample	Average Wetting Angle (°)	Surface Characteristics
P3HB	72.14	Smooth, homogeneous structure
C5 (5% PU)	54.13	High roughness, pronounced irregularities
C10 (10% PU)	58.17	Moderate roughness, more balanced texture
C15 (15% PU)	62.23	Greater uniformity, more stable surface

The addition of 5% PU caused a significant increase in surface roughness, visible as distinct irregularities and protrusions. The average contact angle was 54.13° (95% CI), suggesting increased hydrophilicity compared to P3HB. The pronounced irregularities in surface topography may result from non-uniform PU dispersion, leading to local variations in surface energy distribution (Table 5). The chemical properties of PU, including the presence of carbonyl and hydroxyl groups, may have promoted interactions with water, further enhancing wettability.

For the C10 sample, the average contact angle was 58.17° (95% CI). The surface roughness was still considerable, but exhibited a more balanced pattern compared to the C5 sample. The increase in PU concentration led to the partial homogenization of the surface, possibly due to better phase compatibility between PU and P3HB. The stabilization of the contact angle can be explained by an increased number of hydrogen-bonding interactions between PU and P3HB, reducing the contrast between hydrophilic and hydrophobic surface areas.

The highest PU content (15%) resulted in a further increase in the contact angle to 62.23° (95% CI). Topography analysis showed greater surface uniformity, with fewer distinct protrusions and depressions than in the C5 and C10 samples (Table 5). The improved PU dispersion may result from a higher number of intermolecular interactions, such as hydrogen bonds between urethane segments, stabilizing the surface structure. The increase in surface hydrophobicity at higher PU concentrations may be due to a greater presence of hydrophobic PU segments, reducing water contact with the surface.

The relationship between surface roughness and the contact angle indicates that microstructural irregularities in the C5 sample led to a decrease in the contact angle, which can be explained by a local increase in surface energy due to PU aggregation. In contrast, a higher PU content (C10 and C15) stabilized the surface, reducing its heterogeneity and leading to a moderate increase in hydrophobicity.

Chemically, this effect can be explained by changes in the hydrogen bonding network and differences in the distribution of hydrophilic and hydrophobic segments. At lower PU concentrations (C5), hydrophilic interactions dominated due to the presence of polar carbonyl and urethane groups. At higher PU concentrations (C15), the increased number of hydrophobic segments (from PU) led to greater hydrophobicity and a more stable surface.

These findings are particularly relevant for applications in biomedical engineering and protective coatings, where controlling surface wettability is crucial for material interactions with the environment.

3.4. Mechanical Properties of Polymer Blends

The results of the mechanical tests of the obtained P3HB-PU blends are shown in Figure 7 shows the impact tensile strength (IS) of P3HB samples as a function of polyurethane (PU) content. It can be noted that the impact strength (IS) increased with increasing PU content. The maximum IS value was exhibited by the blend containing 5 wt. % PU and was higher by approximately 20% than that of the virgin P3HB matrix. The de-

crease in IS at a higher PU content can be attributed to the absence of interactions between the P3HB and PU, but also the saturation of the modifier leading to phase separation and a decrease in the impact strength [47]. However, the lowest IS value was shown by the blend based on 15 wt. % PU, and was comparable to that of the P3HB matrix.

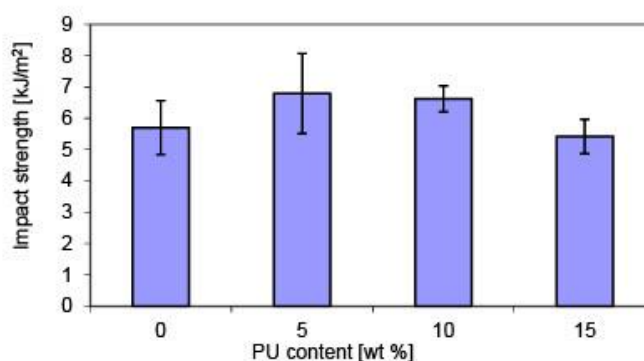


Figure 7. Effect of polyurethane (PU) content on the impact tensile strength of P3HB-PU blends.

The improvement in impact resistance of P3HB/PU blends can be attributed to the formation of interpenetrating polymer networks with good homogeneity and increased reinforcement. An improvement in the tensile strength of the P3HB blend with 5 wt. % PU has been reported in another study [48]. Feng et al. observed the enhancement of impact strength in blends of polylactide and polyurethane [49].

However, as shown in Figure 8, the tensile strength (TS) exhibited a slightly different trend in connection with PU content. The addition of PU led to a decrease in the TS of blends due to the presence of flexible PU chains. It turns out that the highest TS (over 35 MPa) was recorded for blends containing 10 wt. % PU. However, an increase in the PU content to 15 wt. % caused a decrease in the TS of about 31 MPa. An intermediate value of about 32.5 MPa was recorded with 5 wt. % PU. The tensile strength of pure P3HB was approx. 13% higher than that of the latter blend. Wang et al. [50] showed that the tensile strength and elastic modulus blends of polylactide-thermoplastic polyurethane were sensitive to the volume fraction of polyurethane. Polylactide played a dominant role in the tensile strengths of those composites. It is well known that the miscibility and the compatibility between the blend components, i.e., poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate) and thermoplastic polyurethane, have a significant effect not only on the tensile strength, but also on other performance properties and blend processability [51]. However, it seems that the compatibility between poly(3-hydroxybutyrate) and polyurethane appears to be limited, but could be increased. It has been reported that the crystallization temperature and crystallinity of PHBV decreased due to the presence of PU, leading to some specific interactions between the two components [32].

The relative elongation at break (Figure 9) showed an opposite trend to tensile strength (Figure 8). The maximum value was also obtained for 10 wt. % PU, and the lowest value for both 5% and 15 wt. % PU content. The elongation at break for the blends was higher than that of virgin P3HB. The presence of the greatest content of PU in a blend with P3HB caused a decrease in elongation at break, similarly to polylactide/polyurethane blends, as reported by Feng et al. [49].

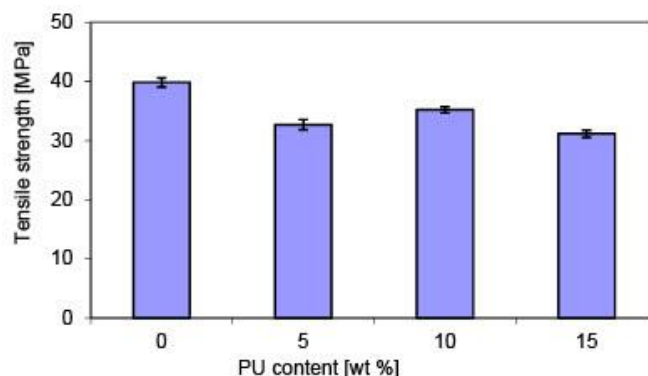


Figure 8. Tensile strength of P3HB-PU blends as a function of PU content.

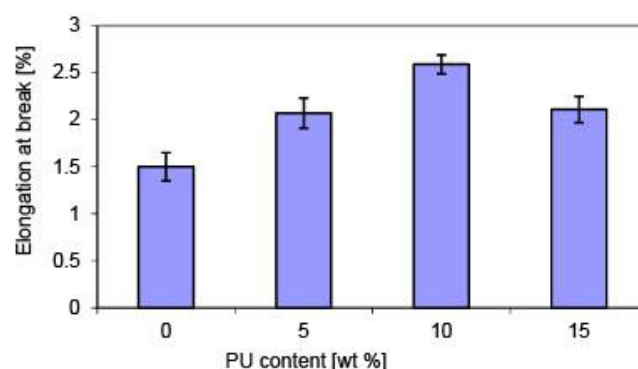


Figure 9. Effect of PU content on the relative elongation at breaks of P3HB-PU blends.

As shown in Figure 10, the stress-strain curves (a) of P3HB containing 5–15 wt. % polyurethane (designated C5–C15) were lower than those of the virgin matrix (P3HB). Furthermore, it can be noted that the slopes of the curves from 0 are also lower for the P3HB/PU blends than for the virgin matrix, confirming the increase in flexibility and ductility of the former. The energy to break of the blends (b), as determined by the areas under the different curves, increased for all blends containing polyurethane. A maximum improvement in fracture energy of ~75% compared to the virgin matrix was obtained with the blend prepared with 10 wt. % polyurethane. The increase in elongation at break and energy at break can be attributed to the existence of continuous and dispersed phases and interfacial adhesion [31]. However, Wang et al. [30] explained the significant increase in the elongation at break of the polyester matrix via the ductility and good toughness of polyurethane. Similar results were reported elsewhere [31].

A decrease in Young's modulus was observed with increasing PU content in the P3HB matrix (Figure 11). Its value decreased from about 3150 MPa at 5 wt. % PU to about 2700 MPa at 15 wt. % PU. The significant reduction in Young's modulus of about 40% for the blend containing 5 wt. % PU compared to pure P3HB can be attributed to the increase in compositional flexibility induced by the polymer modifier chains. Additionally, an increase in the free volume in the blend can also explain the decrease in the modulus and, with it, the stiffness of the blends.

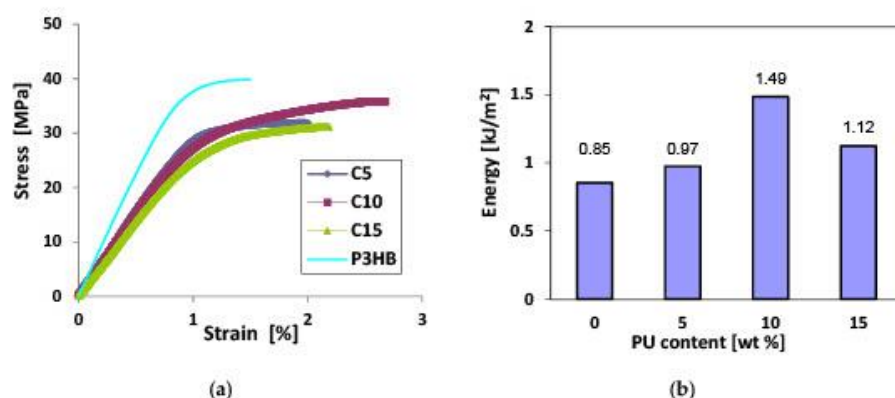


Figure 10. Stress–strain curves of P3HB containing polyurethane content (a) and energy to break of P3HB/PU (b) as a function of polyurethane content.

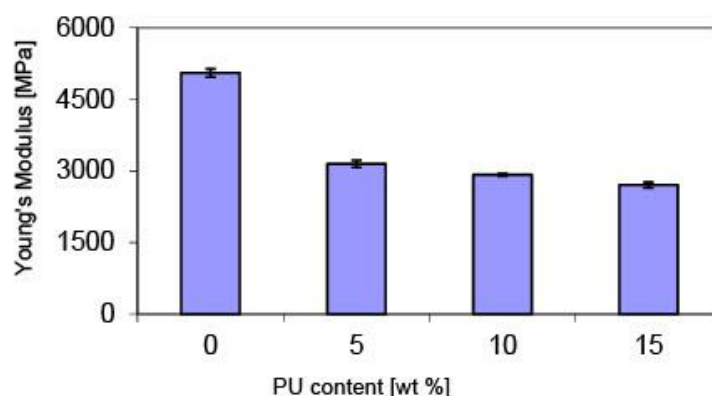


Figure 11. Effect of PU content on the Young's modulus of the P3HB–PU blends.

The hardness tests were carried out using the ball press method, and the results are presented in Figure 12. As expected, and following the trend of Young's modulus (Figure 10), the hardness decreased with increasing PU content, reaching the lowest value of 78 N/mm² with a modifier content of 15 wt. %. This can be attributed to the increase in flexibility of the blends. The reduction in blend hardness can be related to the flexible polymer chains.

In this study, bending tests were also carried out for the blends containing different amounts of polyurethane. As shown in Figure 13, the flexural strength (a) showed a similar trend to that of the flexural modulus, but it was different from that of the tensile strength (Figure 8). It decreased from 67 MPa for the pure matrix to about 53 MPa and 46 MPa for the blends that contained 10 wt. % PU and 15 wt. % PU, respectively. The reduction in some mechanically resistant properties has been reported for P3HB/PCL [52] and P3HB/PLA [53] blends. For example, the decrease in tensile strength was attributed to the formation of two phases with poor miscibility [53].

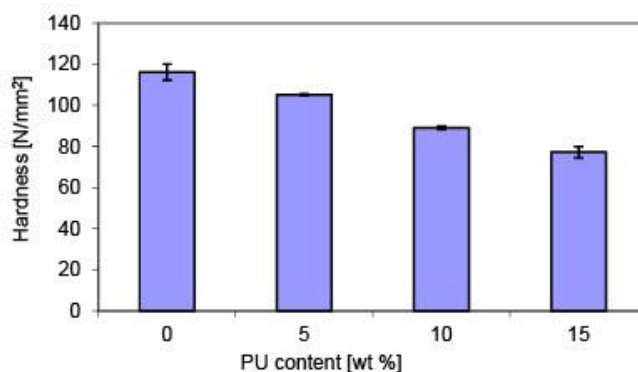


Figure 12. Hardness of P3HB–PU blends as a function of PU content.

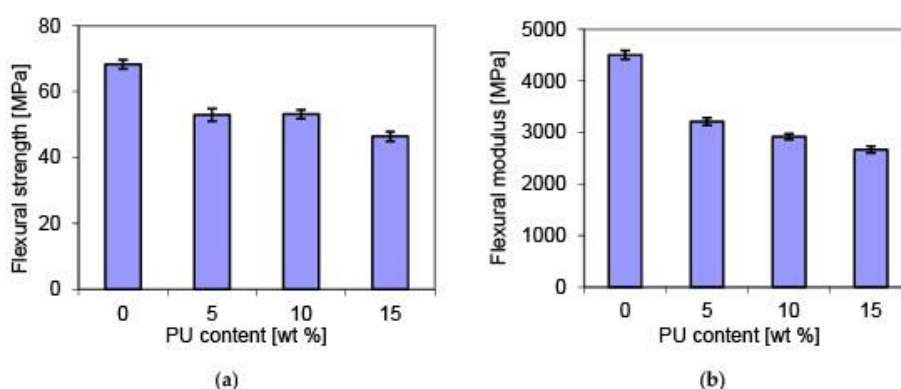


Figure 13. Dependence of the flexural strength (a) and flexural modulus (b) of the P3HB–PU blends on PU content.

3.5. Morphology and Element Composition of Polymer Blends

Figure 14 shows surface microstructures of P3HB and C5, together with elemental maps. The determination of the chemical composition of the surfaces of the polymer variants studied was carried out by energy dispersive X-ray scattering (EDS). The yellow, red, and blue dots represent the detected carbon, oxygen, and nitrogen elements, respectively, while the black area indicates the absence of a specific element. Table 6 shows the results of the elemental analysis of the P3HB, C5, C10 and C15 polymer blends. Based on the analysis of the data obtained from the EDS tests and summarized in Table 5, slight changes in the chemical composition of the analyzed samples are evident. Correspondingly, for nitrogen, there is an increase in weight content from 5% in the P3HB sample to 5.6% at 15 wt. % PU (C15). The carbon content changes from a value of 51.0% (P3HB) to 43.5 (C5), 43.2% (C10), and 42.4% (C15). The oxygen content, on the other hand, decreases from 44.0% (P3HB) to 43.5% (C5), 43.2% (C10) and 42.4% (C15). An increasing trend can be observed as a polynomial function of the nitrogen content of the samples analyzed. In the case of carbon, there is a linear increase in the elemental content, while in the case of oxygen, there is a linear decrease in the elemental content by mass.

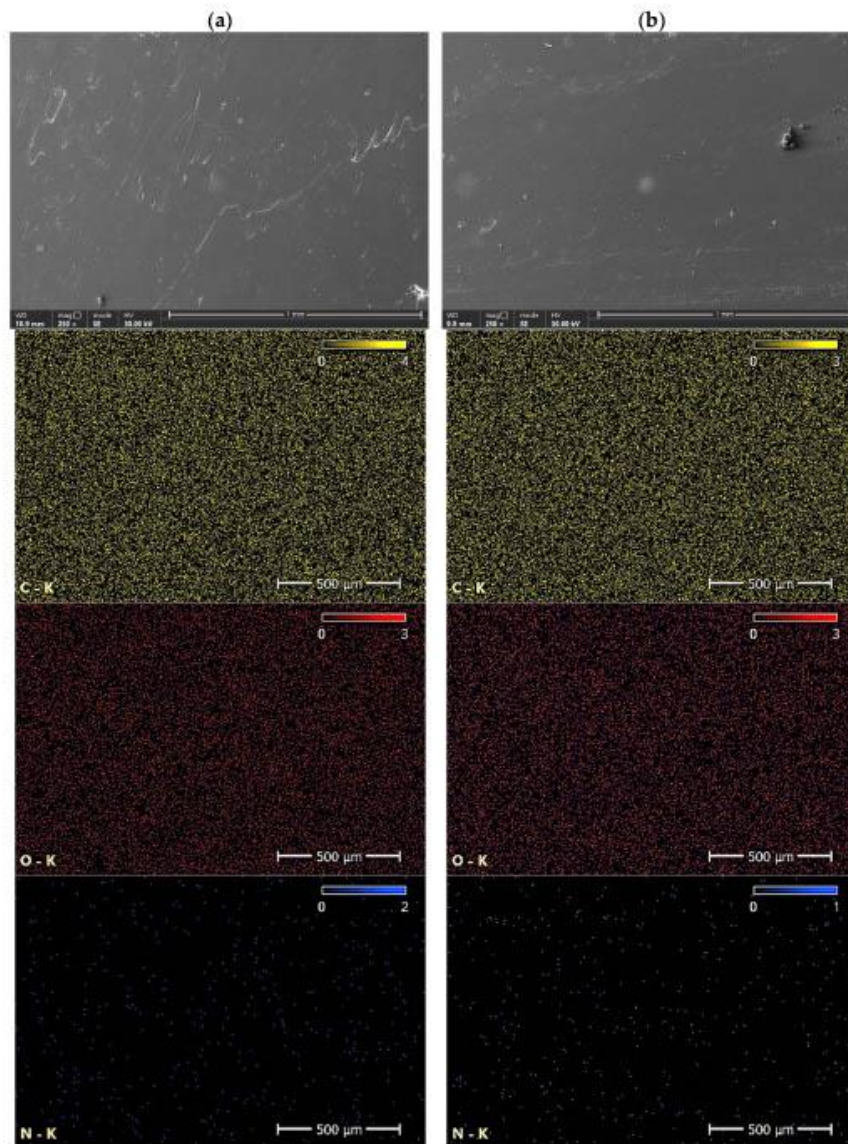


Figure 14. Microstructure with elemental maps of the samples: (a) P3HB, (b) C5.

In Figure 15, for better visualization, the weight contents of the elements are presented as a function of the increasing content of the PU modifier. Although EDS is a semi-quantitative characterization tool, and its spectrum merely provides a measure of specific elements in the selected area [54], the present results indicate that with an increasing amount of modifier, the concentrations of nitrogen and carbon also increase (Figure 15).

Table 6. EDS analysis of P3HB microspheres and their blend with PU 5, 10 and 15 wt. % of PU, designated as C5, C10 and C15, respectively.

Sample	Element	Atomic %	Atomic % Error	Weight %	Weight % Error
P3HB	N	5.0	0.7	5.1	0.8
	C	51.0	0.3	44.1	0.3
	O	44.0	0.5	50.8	0.5
C5	N	5.1	0.8	5.1	0.8
	C	51.4	0.3	44.6	0.3
	O	43.5	0.5	50.3	0.5
C10	N	5.3	0.7	5.5	0.7
	C	51.5	0.3	44.5	0.3
	O	43.2	0.5	49.9	0.5
C15	N	5.6	0.8	5.7	0.8
	C	52.0	0.3	45.2	0.3
	O	42.4	0.5	49.1	0.6

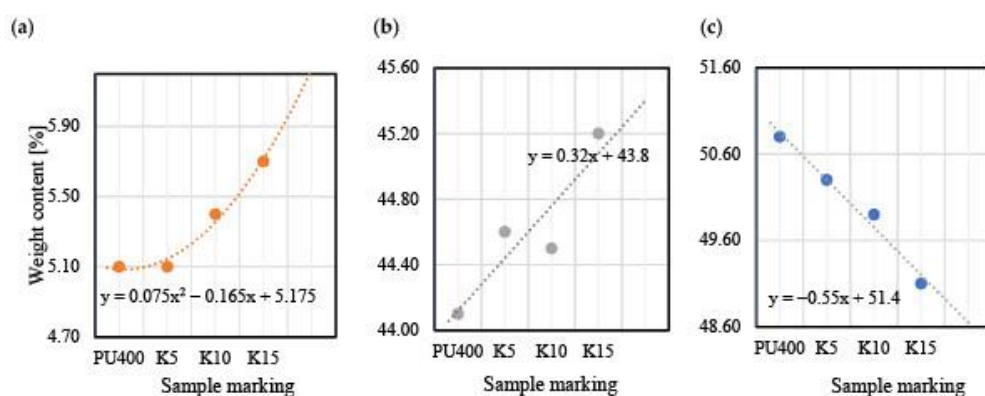
**Figure 15.** Weight content of elements as a function of increasing hardener content: (a) nitrogen; (b) carbon; (c) oxygen.

Figure 16 shows SEM micrographs of the fracture surfaces of P3HB containing different amounts of PU (5 wt. %, 10 wt. % or 15 wt. %, designated C5, C10 and C15, respectively) based on MDI and short-chain polypropylene diol with a molecular weight of 400 g/mol. The images of the samples have been used to explain the mechanisms of interaction of the polyurethane, thus determining the mechanical properties of the tested blends.

As shown in Figure 15, the fracture surface of the native P3HB was slightly wavy and glassy, suggesting the presence of a regular crack propagation path. P3HB itself has a semi-crystalline structure, which is related to the structure of the macromolecule. The areas of brittle fracture visible in the image are arranged almost unidirectionally. The introduction of the polyurethane modifier causes an apparent disruption in the continuity of the P3HB matrix structure, which disturbs the crystallization of P3HB. We note the rough, unidirectionally aligned crystalline domains can be seen on all micrographs of blends containing polyurethane. Crystallization between PU macromolecules is hindered for spherical reasons. PU has two large aromatic rings separated by a methylene group. The domains noticeable in the photographs cannot come from PU itself or P3HB itself, because they are not present in the micrograph of native P3HB. This indicates an interaction of the biopolymer matrix with the polymeric modifier, resulting in the spread of the interacting

P3HB chains and the formation of rough domains preceded by wavy areas of the matrix. The linear, spatially small P3HB chain interacts, via hydrogen bonds of the C=O carbonyl groups, with the N-H groups from PU. This results in the formation of ordered adducts between P3HB and PU. The glassy interleavings characteristic of P3HB are thus separated by the crystalline regions of the adducts formed. The increased amount of PU projects their uneven distribution in the matrix, with a high probability of producing additional ordered domains between the chains of the modifier itself. Noticeable disentanglement of the glassy breakthroughs characteristic of P3HB is observed, and they are separated by PU-derived crystalline areas with wavy structure fragments. Their presence explains the elasticizing effect of PU. This explains the reduction in hardness and increase in strength of PU-modified blends. However, the introduction of 5 wt. % and 10 wt. % PU (C5 and C10) results in a uniform disruption of the continuity of the P3HB matrix, and a higher amount of PU (15 wt. %) implies the aforementioned occurrence of unevenly distributed rough areas in the presented breakthrough blend. This may explain the improvement in the discussed mechanical properties of the blends containing 5 wt. % (C5) and 10 wt. % (C10) PU, and the worsening of the properties of the blend containing the highest amount (i.e., 15 wt. % (C15)) of the PU modifier. In the case of the blend containing the highest amount of PU, we see the unfavorable agglomeration of the PU, and the rough areas are arranged differently and unevenly. This may be related to the uneven absorption of energy by this sample when a destructive force is applied during the test, which determines the worse properties of the samples compared to those containing 5% and 10 wt. % PU. Advantageously, the most uniform disruption of the continuity of the P3HB structure in the form of crystalline domains can be seen on the micrograph of the sample containing 10 wt. % PU, which explains the best properties of this blend.

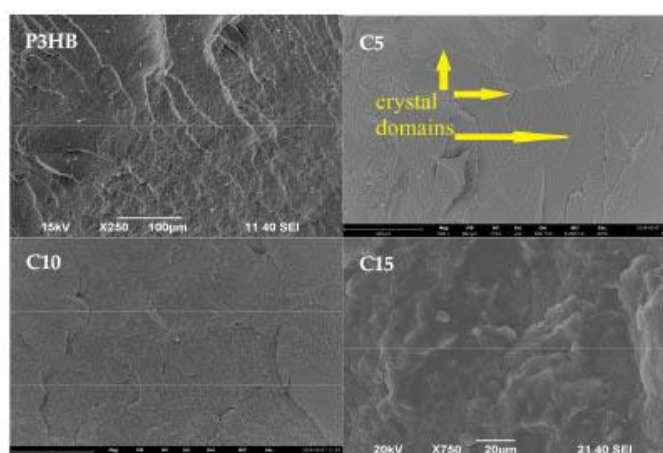


Figure 16. SEM photomicrographs of P3HB and its blends with PU in the amount of 5, 10, 15 wt. %, indicated as C5, C10 and C15, respectively.

3.6. Thermal Properties of Polymer Blends

In order to check the thermal stability of the resulted blends, thermogravimetric analysis was performed. The interpretations of obtained results are presented in Table 7. The TG analysis of the blends shows a thermal stability of the blends that is higher than that of the native P3HB.

Table 7. The interpretation of TG and DTG curves of pure P3HB and its blends with PU following a heating rate of $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ in a nitrogen and air atmosphere.

Sample	T _{on} [°C]	T _{5%} [°C]	T _{10%} [°C]	T _{50%} [°C]	T _{max} [°C]	Residue at 400 °C [%]
nitrogen						
P3HB	221.1	236.2	245.6	281.2	291.7	1.41
C5	250.2	271.9	277.1	290.0	293.4	1.33
C10	251.2	275.2	281.5	295.2	293.7	1.52
C15	244.0	273.3	280.5	283.8	292.2	1.58
air						
P3HB	255.1	264.6	269.1	281.3	283.4	0.84
C5	255.6	264.1	268.3	279.3	281.4	2.24
C10	255.4	265.6	269.1	279.6	281.9	4.36
C15	255.8	264.3	268.3	279.1	280.9	6.01

The temperature at the beginning of the decomposition (T_{on}) of the blends containing 5 and 10 wt. % PU was almost 30 °C higher than that of pure P3HB, while the T_{on} of blend C15 was higher, but only by 23 °C. However, the temperatures corresponding to different weight losses of the polymer blends C5, C10 and C15 were also significantly increased compared to pure PH3B. The increase was by more than 35 °C compared to P3HB (236.2 °C). The increase in degradation temperature resulted from the presence of a more thermally stable component. A similar effect was observed in the cases of PHBV and thermoplastic polyurethane [30] and polyamide and P3HB [55]. The best improvement in thermal and mechanical properties has been observed for blends C5 and C10. The results regarding the thermal stability of the blends are consistent with the mechanical properties described earlier.

Under oxidation conditions (air atmosphere), the blends did not show any improvement in thermal stability compared to native P3HB (Table 7). All samples showed one-step degradation, while their T_{on} temperature values were similar, equaling 255 °C. The T_{on} temperature was about 4 °C higher in the case of C10 than during degradation in the nitrogen atmosphere. In turn, the temperatures of 5 wt. %, 10 wt. % and 50% were higher during degradation in nitrogen as an inert gas, and the values were about 7 to 11 °C higher in the case of nanocomposites. Similar observations have been made by other authors, e.g., Tidjani et al. for polypropylene-graft-maleic anhydride-nanocomposite [56], or Perepelkin et al. for aromatic fiber [57].

The DSC data of virgin P3HB, PU and their blends are presented in Figure 17 and Table 8. The qualitative thermal analysis of blends identified the glass transition (T_g), cold crystallization and melting temperatures. PU showed a glass transition region and very low melting region, indicating PU is an amorphous material. Similarly, the P3HB thermogram showed glass transition and melting regions characteristic of semi-crystalline materials. The analysis of the glass transition region upon heating allowed us to determine the change of heat capacity (ΔC_p) and the value of T_g. The analysis of melting area indicated the heat of fusion (ΔH_f) and the beginning of melting T_{m1}(onset), T_{m2}(onset) and T_{m3}(onset). A clear trend was observed for all tested blend samples. It is seen that all the glass transition temperatures of the blends were similar and set in the range of 0.4 °C, so the differences can be considered as negligible. This confirms that the increase in the amount of PU added showed a very limited influence on the T_g values of the samples. The T_g of blends was decreased compared to the T_g of P3HB. This indicates the plasticizing effect of PU. A

similar dependence was observed by Wang et al. [58] when P3HB was plasticized with dioctyl (*o*-)phthalate, dioctyl sebacate, and acetyl tributyl citrate.

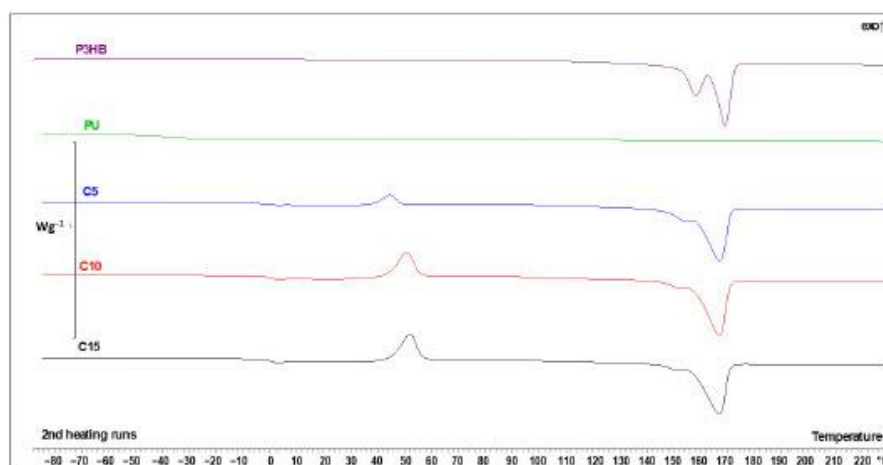


Figure 17. DSC thermal curves of P3HB, PU and the polymer blend with 5, 10 and 15 wt. % PU (C5, C10 and C15, respectively) upon heating at $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ after prior cooling at the same rate.

Table 8. DSC results of P3HB, PU and their blends C5, C10 and C15 containing 5, 10 and 15 wt. % PU, respectively, upon heating the samples at the heating rate of $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ after prior cooling at the same rate.

Sample	T_{g1} ($^{\circ}\text{C}$)	ΔC_p ($\text{J}\cdot\text{g}^{-1}\cdot^{\circ}\text{C}^{-1}$)	T_{g2} ($^{\circ}\text{C}$)	ΔC_p ($\text{J}\cdot\text{g}^{-1}\cdot^{\circ}\text{C}^{-1}$)	T_{co} ($^{\circ}\text{C}$)	ΔH_{co} ($\text{J}\cdot\text{g}^{-1}$)	T_{m1} ($^{\circ}\text{C}$)	ΔH_{m1} ($\text{J}\cdot\text{g}^{-1}$)	T_{m2} ($^{\circ}\text{C}$)	T_{m3} ($^{\circ}\text{C}$)	ΔH_f ($\text{J}\cdot\text{g}^{-1}$)	T_{cr} ($^{\circ}\text{C}$)	ΔH_{cr} ($\text{J}\cdot\text{g}^{-1}$)
P3HB	—	—	5.5	0.148	89.9	−4.76	—	—	157.5	167.8	97.4	85.7	−78.6
PU	−38.7	0.517	—	—	—	—	131.6	0.38	—	—	—	44.3	−0.38
C5	—	—	−0.5	0.205	44.5	−30.3	—	—	152.9	165.3	86.0	66.7	−55.5
C10	—	—	−0.6	0.414	50.9	−55.9	—	—	150.9	165.4	81.0	58.4	−24.8
C15	—	—	−0.9	0.424	52.1	−56.3	—	—	150.4	165.3	76.3	63.7	−19.9

The increase in the PU content is, however, important in the case of crystallinity considerations. For the sample with 5 wt. % of PU, the sample had a greater tendency to form a crystalline state during cooling. This is evidenced by both the crystallization enthalpy ΔH_c and the change in the specific heat ΔC_p in the glass transition process (the higher the ΔC_p , the greater the fraction of amorphous phase, thus the smaller the crystalline fraction). Interestingly, there was no relevant difference in the cold crystallization process between C10 and C15 samples, but still, a lower PU content facilitated crystallization upon cooling, making the material more crystalline.

The PU sample showed a very-low-intensity melting process at around $130\text{ }^{\circ}\text{C}$, which is not visible in the C5–15 samples. Due to the low content of PU in those specimens, this can be considered as expected. The melting of P3HB is reflected in the mixtures of P3HB and PU, with lower melting enthalpies ΔH_f with the decrease in P3HB content and slight shifts in the melting temperatures T_{m2} and T_{m3} to lower values due to PU addition, which has lower melting point and acts like some sort of contaminant. This is a typical behavior of P3HB, as also observed by Garcia-Garcia et al. via a decrease in the melting temperature for blends of P3HB and polycaprolactone [24].

Overall, there is a clear tendency towards a drop in crystallinity, and a tendency to crystallize during cooling with the increase in the PU content, what is partially compensated

by cold crystallization. The glass transition temperature is influenced by PU addition, but with the limited possibility of the control of the T_g with changes in the PU concentration. Also, the melting of the native P3HB occurs at higher temperatures than in the mixtures due to the contamination-like action of the PU in the samples.

4. Conclusions

- New polymer blends based on poly(3-hydroxybutyrate) were prepared using linear polyurethane (PU) in amounts of 5, 10 and 15 wt. %. The polyurethane was synthesized by reacting 4,4'-diphenylmethane diisocyanate with polypropylene glycols with a molecular weight of 400 g. The preparation of bio-based blends was possible via direct mixing in a co-rotating twin screw extruder;
- The FTIR analysis confirmed the interaction between the components of the blends and their compatibility due to the formation of intermolecular hydrogen bonds between the P3HB and PU chains. The intensity of the interactions depended on the amount of PU in the polymer blend. The strongest interactions took place in the sample with 15 wt. % PU;
- It was observed that the most significant increase in surface roughness parameters occurred when P3HB was modified with 5 wt. % PU with respect to native P3HB, i.e., the strongest effect on the surface structure. An increase in the share of PU in the polymer blend resulted in an increase in surface roughness parameters, but this was not a linear increase. The surface of the blend had a more regular and dense roughness structure at higher levels of modification by PU;
- SEM measurements of the fracture surface of the blends subjected to destruction have allowed us to explain the mechanism of action of the polyurethane modifier applied on the mechanical properties of the blends. The introduction of the polyurethane modifier caused a disruption in the continuity of the polyester matrix structure. It caused the formation of rough domains separated by wavy areas resulting from the elasticizing effect of polyurethane, and this explains the decrease in hardness and increase in impact strength and elongation at break, especially for blends containing 5 and 10% PU by mass;
- The new P3HB-based blends exhibited a higher degradation temperature compared to the native P3HB. The polymer blend with 10 wt. % PU4 showed the largest difference in degradation temperature, which was 30 °C. The thermal stability of the rest of the blends was a bit worse, but still better than that of native P3HB;
- The thermal analysis of the heat parameters showed a decrease in the glass transition, melting and crystallization temperatures with increasing amounts of polyurethane in the blends. The decrease in the melting point of the blends is desired because the melting point of the native P3HB is not much higher than its decomposition temperature. The highest difference between the melting point and degradation temperature was measured for the blend with 10 wt. % polyurethane. The lower melting temperature of the resulting blends compared to native P3HB helped to improve the processing conditions and prevented the degradation of the material;
- The conducted tests prove the positive influence of polyurethane in the P3HB matrix on the thermal and mechanical properties of the prepared blends.

Author Contributions: Conceptualization, B.K.; methodology, B.K.; formal analysis, B.K., A.F.-B., A.J., J.K. and A.B.; investigation, B.K., M.K., Š.D. and W.F.; data curation, A.F.-B., A.J., J.K., A.B., M.K., Š.D. and W.F.; writing—original draft preparation, B.K.; writing—review and editing, I.Z.; supervision, I.Z. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Poland within the programme “Regional Excellence Initiative” grant number RID/SP/0032/2024/01.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: The original contributions presented in this study are included in the article. Further inquiries can be directed to the corresponding authors.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Riseh, R.S.; Skorik, Y.; Thakur, V.K.; Pour, M.M.; Tamanadar, E.; Noghibi, S.S. Encapsulation of plant biocontrol bacteria with alginate as a main polymer material. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 11165. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
2. Wang, Q.; Xu, Y.; Xu, P.; Yang, W.; Chen, M.; Dong, W.; Ma, P. Crystallization of microbial polyhydroxyalkanoates: A review. *Int. J. Biol. Macromol.* **2022**, *209*, 330–343. [\[CrossRef\]](#)
3. Pour, M.M.; Riseh, R.S.; Ranjbar-Karimi, R.; Hassarisaadi, M.; Rahdar, A.; Bairo, F. Microencapsulation of bacillus velezensis using alginate-gum polymers enriched with TiO₂ and SiO₂ nanoparticles. *Micromachine* **2022**, *13*, 1423. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
4. Vroman, I.; Tighzert, L. Biodegradable Polymers. *Materials* **2009**, *2*, 307–344. [\[CrossRef\]](#)
5. Sirohi, R.; Gaur, V.K.; Pandey, A.K.; Sim, S.; Kumar, S. Harnessing fruit waste for poly-3-hydroxybutyrate production. *Bioresour. Technol.* **2021**, *326*, 124734. [\[CrossRef\]](#)
6. Silva, L.; Taciro, M.; Ramos, M.M.; Carter, J.; Pradella, J.; Gomez, J. Poly-3-hydroxybutyrate (P3HB) production by bacteria from xylose, glucose and sugarcane bagasse hydrolysate. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **2004**, *31*, 245–254. [\[CrossRef\]](#)
7. Junyu, Z.; Shishatskaya, E.; Volova, T.; Silva, L.F.; Chen, G. Polyhydroxyalkanoates (PHAs) for therapeutic applications. *Mater. Sci. Eng. C* **2018**, *86*, 144–150. [\[CrossRef\]](#)
8. Dalton, B.; Bhagabati, P.; De Micco, J.; Padamati, R.B.; O'Connor, K. A Review on Biological Synthesis of the Biodegradable Polymers Polyhydroxyalkanoates and the Development of Multiple Applications. *Catalysts* **2022**, *12*, 319. [\[CrossRef\]](#)
9. Chena, L.; Wang, M. Production and evaluation of biodegradable composites based on PHB-PHV copolymer. *Biomaterials* **2002**, *23*, 2631–2639. [\[CrossRef\]](#)
10. Lopez-Arenas, T. Analysis of the fermentation strategy and its impact on the economics of the production process of PHB (polyhydroxybutyrate). *Comput. Chem. Eng.* **2017**, *12*, 140–150. [\[CrossRef\]](#)
11. McAdam, B.; Fournet, M.B.; McDonald, P.; Mojicevic, M. Production of Polyhydroxybutyrate (PHB) and Factors Impacting Its Chemical and Mechanical Characteristics. *Polymers* **2020**, *12*, 2908. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
12. Rao, U.; Ravichandran, S.; Sehgal, P. Biosynthesis and Biocompatibility of P(3HB-Co-4HB) produced by *Cupriavidus necator* from spent palm oil. *Biochem. Eng. J.* **2010**, *49*, 13–20. [\[CrossRef\]](#)
13. Bharti, S.; Swetha, G. Need for Bioplastics and Role of Biopolymer PHB: A Short Review. *J. Pet. Environ. Biotechnol.* **2016**, *7*, 272. [\[CrossRef\]](#)
14. Alves, M.I.; Macagnan, K.L.; Rodrigues, A.A.; Assis, D.A.; Torres, M.M.; Oliveira, P.D.; Moreira, A. Poly(3-hydroxybutyrate)-P(3HB): Review of Production Process Technology. *Ind. Biotechnol.* **2017**, *13*, 191–208. [\[CrossRef\]](#)
15. Chodak, I. Polyhydroxyalkanoates: Origin Properties and Applications. In *Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources*; Gandini, W.M.N., Ed.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2008; pp. 451–477. [\[CrossRef\]](#)
16. Tokiwa, Y.; Ugwu, C.U. Biotechnological production of (R)-3-hydroxybutyric acid monomer. *J. Biotechnol.* **2007**, *132*, 264–272. [\[CrossRef\]](#)
17. Chandani, N.; Mazumder, P.; Bhattacharjee, A. Production of Polyhydroxybutyrate (Biopolymer) by *Bacillus Tequilensis* NCS-3 Isolated from Municipal Waste Areas of Silchar. *Int. J. Sci. Res.* **2014**, *12*, 198–203.
18. Jiang, Y.; Marang, L.; Kleerebezem, R.; Muijzer, G.; Loosdrecht, M. Polyhydroxybutyrate Production from Lactate Using a Mixed Microbial Culture. *Biotechnol. Bioeng.* **2011**, *108*, 2022–2035. [\[CrossRef\]](#)
19. Sudesh, K.; Abe, H.; Doi, Y. Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: Biological polyesters. *Prog. Polym. Sci.* **2000**, *25*, 1503–1555. [\[CrossRef\]](#)
20. Liu, Q.; Zhang, H.; Deng, B.; Zhao, X. Poly(3-hydroxybutyrate) and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate): Structure, property, and fiber. *Int. J. Polym. Sci.* **2014**, *2014*, 374368. [\[CrossRef\]](#)
21. Ariffin, H. Determination of multiple thermal degradation mechanisms of poly(3-hydroxybutyrate). *Polym. Degrad. Stab.* **2008**, *93*, 1433–1439. [\[CrossRef\]](#)
22. Lim, J.; You, M.; Li, J.; Li, Z. Emerging bone tissue engineering via Polyhydroxyalkanoate (PHA)-based scaffolds. *Mater. Sci. Eng. C* **2017**, *79*, 917–929. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

23. Zdiri, K.; Cayla, A.; Elamri, A.; Erard, A.; Salaun, F. Alginate-Based Bio-Composites and Their Potential Applications. *J. Funct. Biomater.* **2022**, *13*, 117. [\[CrossRef\]](#)
24. Garcia-Garcia, D.; Rayón, E.; Carbonell-Verdu, A.; Lopez-Martinez, J.; Balart, R. Improvement of the compatibility between poly(3-hydroxybutyrate) and poly(ϵ -caprolactone) by reactive extrusion with dicumyl peroxide. *Eur. Polym. J.* **2017**, *86*, 41–57. [\[CrossRef\]](#)
25. Ribeiro, P.L.L.; Figueiredo, T.V.B.; Moura, L.E.; Druzian, J.I. Chemical modification of cellulose nanocrystals and their application in thermoplastic starch (TPS) and poly(3-hydroxybutyrate) (P3HB) nanocomposites. *Polym. Adv. Technol.* **2019**, *30*, 573–583. [\[CrossRef\]](#)
26. Sukhanova, A.A.; Murzova, A.E.; Boyandin, A.N.; Kiselev, E.G.; Sukovaty, A.G.; Kuzmin, A.P.; Shabanov, A.V. Poly-3-hydroxybutyrate/chitosan composite films and nonwoven mats. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, *165*, 2947–2956. [\[CrossRef\]](#)
27. Gregory, D.A.; Taylor, C.S.; Fricker, A.T.R.; Santosh, E.A.; Tetali, S.V.; Haycock, J.W.; Roy, I. Polyhydroxyalkanoates and their advances for biomedical applications. *Trends Mol. Med.* **2022**, *28*, 331–342. [\[CrossRef\]](#)
28. Krzykowska, B.; Czerniecka-Kubicka, A.; Białkowska, A.; Bakar, M.; Kovářová, M.; Sedlář, V.; Hanusova, D.; Zarzyka, I. Biopolymer Compositions Based on Poly(3-hydroxybutyrate) and Linear Polyurethanes with Aromatic Rings—Preparation and Properties Evaluation. *Polymers* **2024**, *16*, 1618. [\[CrossRef\]](#)
29. Olkhov, A.A.; Markin, V.S.; Kosenko, R.Y.; Gol'dshtrakh, M.A.; Iordanskii, A.L. Influence of the film forming procedure on the interaction in polyhydroxybutyrate–polyurethane blends. *Russ. J. Appl. Chem.* **2015**, *88*, 308–313. [\[CrossRef\]](#)
30. Wang, S.; Xiang, H.; Wang, R.; Peng, C.; Zhou, Z.; Zhu, M. Morphology and properties of renewable poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) blends with thermoplastic polyurethane. *Polym. Eng. Sci.* **2014**, *54*, 1113–1119. [\[CrossRef\]](#)
31. Martínez-Abad, A.; Gonzalez-Ausejo, J.; María Lagaron, J.; Cabedo, L. Biodegradable poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)/thermoplastic polyurethane blends with improved mechanical and barrier performance. *Polym. Degrad. Stab.* **2016**, *132*, 52–61. [\[CrossRef\]](#)
32. Panaiteșcu, D.M.; Melinte, V.; Frone, A.N.; Nicolae, C.A.; Gabor, A.R.; Capră, L. Influence of Biobased Polyurethane Structure on Thermal and Mechanical Properties of Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)–Polyurethane Blends. *J. Polym. Environ.* **2023**, *31*, 1584–1597. [\[CrossRef\]](#)
33. Frone, A.N.; Panaiteșcu, D.M.; Gabor, A.R.; Nicolae, C.-A.; Ghiurea, M.; Bradu, C. Poly(3-hydroxybutyrate) Modified with Thermoplastic Polyurethane and Microfibrillated Cellulose: Hydrolytic Degradation and Thermal and Mechanical Properties. *Polymers* **2024**, *16*, 3606. [\[CrossRef\]](#)
34. Saha, P.; Khomlaem, C.; Aloui, H.; Kim, B.S. Biodegradable Polyurethanes Based on Castor Oil and Poly (3-hydroxybutyrate). *Polymers* **2021**, *13*, 1387. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
35. PN-EN ISO 527-1:2020-01; Plastics—Determination of Mechanical Properties by Static Tension. The Polish Committee for Standardization: Warsaw, Poland, 2020.
36. ISO 2039-1:2001; Plastics—Determination of Hardness. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2001.
37. EN ISO 8256: 2004; Determination of Impact Strength. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2004.
38. ISO 21920-2:2021; Surface Texture: Profile Method—Terms, Definitions and Surface Texture Parameters. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2021.
39. EN 828:2013; Adhesives—Wettability—Determination by Measurement of Contact Angle and Surface Free Energy of Solid Surface. European Standards: Brussels, Belgium, 2013.
40. Jin, P.; Pang, A.; Yang, R.; Guo, X.; He, J.; Zhai, J. Study on Mechanical Properties of Polyurethane Cross-Linked P(E-co-T)/PEG Blended Polyether Elastomer. *Polymers* **2022**, *14*, 5419. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
41. Alm Mustafa, W.; Schubert, D.W.; Grishchuk, S.; Sebastian, J.; Grun, G. Chemical Synthesis of Atactic Poly-3-hydroxybutyrate (a-P3HB) by Self-Polycondensation: Catalyst Screening and Characterization. *Polymers* **2024**, *16*, 1655. [\[CrossRef\]](#)
42. Huang, H.; Hu, Y.; Zhang, J.; Sato, H.; Zhang, H.; Noda, I.; Ozaki, Y. Miscibility and Hydrogen-Bonding Interactions in Biodegradable Polymer Blends of Poly(3-hydroxybutyrate) and a Partially Hydrolyzed Poly(vinyl alcohol). *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 19175–19183. [\[CrossRef\]](#)
43. Naureen, B.; Haseeb, A.S.M.A.; Basirun, W.I.; Muhamad, F. Synthesis and degradation of 3D biodegradable polyurethane foam scaffolds based on poly (propylene fumarate) and poly[(R)-3-hydroxybutyrate]. *Mater. Today Commun.* **2021**, *28*, 102536. [\[CrossRef\]](#)
44. Lejardi, A.; Etxeberria, A.; Meaurio, E.; Sarasua, J.-R. Novel poly(vinyl alcohol)-g-poly(hydroxy acid) copolymers: Synthesis and characterization. *Polymer* **2012**, *53*, 50–59. [\[CrossRef\]](#)
45. Yeo, J.C.C.; Muiruri, J.K.; Thitsartarn, W.; Li, Z.; He, C. Recent advances in the development of biodegradable PHB-based toughening materials: Approaches, advantages and applications. *Mater. Sci. Eng. C* **2018**, *92*, 1092–1116. [\[CrossRef\]](#)

46. Abbasi, M.; Pokhrel, D.; Coats, E.R.; Guho, N.M.; McDonald, A.G. Effect of 3-Hydroxyvalerate Content on Thermal, Mechanical, and Rheological Properties of Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) Biopolymers Produced from Fermented Dairy Manure. *Polymers* **2022**, *14*, 4140. [\[CrossRef\]](#)
47. García-García, D.; Fenollar, O.; Fombuena, V.; López-Martínez, J.; Balart, R. Improvement of Mechanical Ductile Properties of Poly (3-hydroxybutyrate) by Using Vegetable Oil Derivatives. *Macromol. Mater. Eng.* **2017**, *302*, 1600330. [\[CrossRef\]](#)
48. Kızılkowska, B.; Czerniecka-Kubicka, A.; Białkowska, A.; Bakar, M.; Hęclik, K.; Dobrowolski, L.; Longosz, M.; Zarzyka, I. Polymer Biocompositions and Nanobiocomposites Based on P3HB with Polyurethane and Montmorillonite. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 17405. [\[CrossRef\]](#)
49. Feng, F.; Zhao, X.; Ye, L. Structure and Properties of Ultradrawn Polylactide /Thermoplastic Polyurethane Elastomer Blends. *J. Macromol. Sci. Part B* **2011**, *50*, 1500–1507. [\[CrossRef\]](#)
50. Wang, F.; Ji, Y.; Chen, C.; Zhang, G.; Chen, G. Tensile properties of 3D printed structures of polylactide with thermoplastic polyurethane. *J. Polym. Res.* **2022**, *29*, 320. [\[CrossRef\]](#)
51. Sun, X.M.; Zhong, L.H.; Lan, X.P.; Tan, G.Y. The compatibility of poly (3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate) and thermoplastic polyurethane blends. *Adv. Mater. Res.* **2013**, *815*, 552–557. [\[CrossRef\]](#)
52. Ivorra-Martínez, J.; Verdu, I.; Fenollar, O.; Sanchez-Nacher, L.; Balart, R.; Quiles-Carrillo, L. Manufacturing and properties of binary blend from bacterial polyester poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) and poly (caprolactone) with improved toughness. *Polymers* **2020**, *12*, 1118. [\[CrossRef\]](#)
53. Zhu, C.; Chen, Q. Polyhydroxyalkanoate-based biomaterials for applications in biomedical engineering. In *Advanced Healthcare Materials*; Wiley: Hoboken, NJ, USA, 2014; Chapter 12; pp. 439–464.
54. Lai, J.-Y.; Li, Y.-T.; Cho, C.-H.; Yu, T.-C. Nanoscale modification of porous gelatin scaffolds with chondroitin sulfate for corneal stromal tissue engineering. *Int. J. Nanomed.* **2012**, *7*, 1101–1114. [\[CrossRef\]](#)
55. Olkhov, A.A.; Pankova, Y.N.; Goldshtrakh, M.A.; Kosenko, R.Y.; Markin, V.S.; Ischenko, A.A.; Iordanskiy, A.L. Structure and properties of films based on blends of polyamide–polyhydroxybutyrate. *Inorg. Mater. Appl. Res.* **2016**, *7*, 471–477. [\[CrossRef\]](#)
56. Tidjani, A.; Wald, O.; Pohl, M.-M.; Hentschel, M.-P.; Scharfel, B. Polypropylene-graft-maleic anhydride-nanocomposites: I—Characterization and thermal stability of nanocomposites produced under nitrogen and in air. *Polym. Degrad. Stab.* **2003**, *82*, 82133–82140. [\[CrossRef\]](#)
57. Perepelkin, K.E.; Malan'ina, O.B.; Basko, M.O.; Makarova, M.A.; Oprits, Z.G. Thermal degradation of thermostable aromatic fibers in air and nitrogen medium. *Fibre Chem.* **2005**, *37*, 196–198. [\[CrossRef\]](#)
58. Wang, L.; Zhu, W.; Wang, X.; Chen, X.; Chen, G.-Q.; Xu, K. Processability modifications of poly(3-hydroxybutyrate) by plasticizing, blending, and stabilizing. *J. Appl. Polym. Sci.* **2008**, *107*, 166–173. [\[CrossRef\]](#)

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

9. DOROBEK NAUKOWY

I. Działalność w Kole Naukowym Studentów Chemii Esprit w latach 2007-2009. Rezultaty uzyskane w ramach Koła Naukowego:

1. B. Lichołat (Krzykowska), B. Niemiec, Hydroksyalkilowanie oksalamidu węglanem etylenu, Materiały XXIX Ogólnopolskiej Szkoły Chemii, Janów Lubelski (2008);
2. B. Lichołat (Krzykowska), B. Niemiec, Hydroksyalkilowanie oksalamidu węglanem propylenu, Materiały XXX Ogólnopolskiej Szkoły Chemii, Murzasichle (2009);
3. B. Lichołat (Krzykowska), B. Niemiec, Otrzymywanie i właściwości pianek poliuretanowych z udziałem produktów hydroksyalkilowania oksalamidu węglanami alkilenowymi, Materiały XXX Ogólnopolskiej Szkoły Chemii, Murzasichle (2009)
4. B. Lichołat (Krzykowska), B. Niemiec, Reakcje oksalamidu z węglanem etylenu, Prace Kół Naukowych PRz 2007/2008, Rzeszów 2009, str. 75-88;
5. B. Lichołat (Krzykowska), B. Niemiec, Reakcje oksalamidu z węglanem propylenu - budowa i właściwości produktów, Prace Kół Naukowych PRz 2009/2010, Rzeszów 2011, str. 189-201;
6. B. Lichołat (Krzykowska), B. Niemiec, Otrzymywanie i właściwości pianek poliuretanowych otrzymanych z udziałem produktów hydroksyalkilowania oksalamidu węglanami alkilenowymi, Prace Kół Naukowych PRz 2009/2010, Rzeszów 2011, str. 173-187.

II. Po zatrudnieniu od 10.2021 w Katedrze Chemii Organicznej Wydziału Chemicznego Politechniki Rzeszowskiej

Publikacje:

1. Zarzyka I., Czerniecka-Kubicka A., Hęclik K., Dobrowolski D., Krzykowska B., Białkowska A., Bakar M., **Biobased poly(3-hydroxybutyrate) composites with addition of aliphatic polyurethane based on polypropylene glycols**, *Acta of Bioengineering and Biomechanic*, 24(1), 75-89 (2022). <https://doi.org/10.37190/ABB-01987-2021-02>
2. Krzykowska B., Czerniecka-Kubicka A., Białkowska A., Bakar M., Kovarova M., Sedlarik V., Zarzyka I., **Polymer/layered clay/polyurethane nanocomposites: P3HB hybryde nanobiocomposites - preparation and properties evaluation**, *Nanomaterials*, 13, 225 (2023). <https://doi.org/10.3390/nano13020225>
3. Krzykowska B., Czerniecka-Kubicka A., Białkowska A., Bakar M., Hęclik K., Dobrowolski L., Longosz M., Zarzyka I., **Polymer biocompositions and hybrid polymer nanobiocomposites**

- based on P3HB with an aliphatic polyurethane and organically modified montmorillonite, *Int. J. Mol. Sci.* 2023, 24, 17405. <https://doi.org/10.3390/ijms242417405>
4. Krzykowska B., Czerniecka-Kubicka A., Białkowska A., Bakar M., Kovarova M., Sedlarik V., Hanusova D., Zarzyka I., **Biopolymer Compositions Based on Poly(3-hydroxybutyrate) and Linear Polyurethanes with Aromatic Rings-Preparation and Properties Evaluation**, *Polymers*, 16(12), 1618 (2024). <https://doi.org/10.3390/polym16121618>
 5. Krzykowska B., Uram Ł., Frącz W., Kovářová W., Sedlařík V., Hanusova D., Kisie M., Paciorek-Sadowska J., Borowicz M., Zarzyka I., **Polymer bionanocomposites based on P3BH/polyurethane matrix with organomodified montmorillonite –mechanical and thermal properties, biodegradability and cytotoxicity**, *Polymers* 2024, 16(18), 2681. <https://doi.org/10.3390/polym16182681>
 6. Zarzyka I., Krzykowska B., D., Hęclik K., Frącz W., Janowski G., Bąk Ł., Klepka T., Bieniaś J., Ostapiuk M., Tor-Świątek A., Drożdziel-Jurkiewicz M., Kuciej M., Tomczyk A., Falkowska A., **Modification of poly(3-hydroxybutyrate) (P3HB) with a linear polyurethane modifier and organic nanofiller**, *Materials*, 17(22), 5542 (2024). <https://doi.org/10.3390/ma17225542>
 7. Krzykowska B., Fajdek-Bieda A., Jakubus A., Kostrzewa J., Białkowska A., Kisiel M., Dvořáčková Š., Frącz W., Zarzyka I., **Bio-Based Poly(3-hydroxybutyrate) and Polyurethane Blends: Preparation, Properties Evaluation and Structure Analysis**, *Materials*, 18(9),1914 (2025). <https://doi.org/10.3390/ma18091914>
 8. Zarzyka I., Krzykowska B., D., Hęclik K., Frącz W., Janowski G., Bąk Ł., Klepka T., Bieniaś J. Ostapiuk M., Tor-Świątek A., Drożdziel-Jurkiewicz M., Paciorek-Sadowska J., Borowicz M., Kuciej M., Tomczyk A., Falkowska A., **Novel Research on Selected Mechanical and Environmental Properties of the Polyurethane-Based P3HB Nanobiocomposites**, *Materials*, 18, 2664, (2025). <https://doi.org/10.3390/ma18112664>
 9. Zarzyka I., Krzykowska B., D., Hęclik K., Frącz W., Janowski G., Bąk Ł., Klepka T., Bieniaś J. Ostapiuk M., Tor-Świątek A., Drożdziel-Jurkiewicz M., Białkowska A., Kuciej M., Tomczyk A., Falkowska A., **New biodegradable polyester-polyurethane biocompositions enriched by urea**, *Materials*, ID 3743395, zaakceptowana do druku, (2025).

Rozdziały w monografiach:

Krzykowska B., Zarzyka I., Czerniecka-Kubicka A., **Bionanocomposites based on poly(3-hydroxybutyrate) matrix modified with aliphatic polyurethane and nanoclay**, rozdz. w monografii, *Modern Polymeric Materials for environmental applications*, Vol. 8, Iss. 1, Kraków, ISBN 978-83-966714-0-0, str. 249-258 (2023).

Udział w konferencjach:

1. Krzykowska B., Zarzyka I., **Polymer blends of poly(3-hydroxybutyrate) and aliphatic polyurethanes based on hexamethylene diisocyanate and polyethylene glycols**, *POLYMAT 2022 - SILESIAN MEETINGS ON POLYMER MATERIALS*, Zabrze 15-17.03.2022, poster
2. Krzykowska B., Zarzyka I., Czerniecka-Kubicka A., **Bionanocomposites based on the poly(3-hydroxybutyrate) matrix modified with aliphatic polyurethanes**, 8th INTERNATIONAL SEMINAR ON MODERN POLYMERIC MATERIALS FOR ENVIRONMENTAL APPLICATIONS - MPM20, Kraków, 17-19.05.2023, komunikat
3. Krzykowska B., Longosz M., Czerniecka-Kubicka A., Zarzyka I., **Hybrydowe nanobiokompozyty polimerowe na osnowie P3HB z alifatycznym modyfikatorem poliuretanowym**, X Konferencja Naukowa "INNOWACJE W PRAKTYCE", Arena Lublin, 15-16.06.2023, komunikat
4. Krzykowska B., Longosz M., Czerniecka-Kubicka A., Zarzyka I., **Kompozycje polimerowe kwasu poli(3-hidroksymasłowego) z alifatycznym modyfikatorem poliuretanowym**, X Konferencja Naukowa "INNOWACJE W PRAKTYCE", Arena Lublin, 15-16.06.2023, poster
5. Krzykowska B., Frącz W., Zarzyka I., **Nanobiokompozyty polimerowe na osnowie kwasu poli(3-hidroksy-masłowego) z alifatycznym modyfikatorem poliuretanowym i glinokrzemianem warstwowym**, XI Konferencja Naukowa "INNOWACJE W PRAKTYCE", Arena Lublin, 6-7.06.2024, poster
6. Krzykowska B., Czerniecka-Kubicka A., Longosz M., Zarzyka I., Kovářová M., **Polymer compositions of poly(3-hydroxybutyrate) with an aliphatic polyurethane modified**, Plastko, Zlin, 16.04.2024, poster
7. Krzykowska B., Czerniecka-Kubicka A., Hęćlik K., Zarzyka I., **Kompozycje biopolimerowe kwasu poli(3-hidroksymasłowego) i liniowych poliuretanów z pierścieniami aromatycznymi – wytwarzanie i ocena właściwości**, Kongres Młodej Nauki, 11-13.07.2024, Gdańsk, komunikat
8. Krzykowska B., Zarzyka I., **Hybrydowe nanobiokompozyty polimerowe na osnowie P3HB z modyfikatorem poliuretanowym i glinokrzemianem warstwowym**, Kongres Młodej Nauki, 11-13.07.2024, Gdańsk, poster
9. Frącz W., Krzykowska B., Zarzyka I., Klepka T., Janowski G., Bąk Ł., **Processing problems of polymer compositions of poly(3-hydroxybutyrate), P3HB with polyurethanes modifiers**, *PRO-TECH-MA 2024, International Scientific Conference, 18-19th September 2024*, poster
10. Krzykowska B., Zarzyka I., Frącz W., Janowski G., Bąk Ł., **Biodegradable polymer compositions based on poly(3-hydroxybutyrate) and aliphatic linear polyurethanes**, Silesian Meetings on Polymer Materials" POLYMAT2025 held in Zabrze on 29 May, 2025, poster

11. Krzykowska B., Frącz W., Zarzyka I., **Wpływ rodzaju termoplastycznego poliuretanu na właściwości biokompozycji poliestrowo-poliuretanowych**, X Konferencja Naukowa "INNOWACJE W PRAKTYCE", Arena Lublin, 5-6.06.2024, komunikat
12. Krzykowska B., Frącz W., Zarzyka I., **Biodegradowalny granulat do wytwarzania artykułów ogrodnich**, X Konferencja Naukowa "INNOWACJE W PRAKTYCE", Arena Lublin, 5-6.06.2024, poster

Udział realizacji projektów

1. Projekt „**Nanokompozyty polimerowe na osnowie kwasu poli(3-hydroksymasłowego)**” finansowany przez Narodową Agencję Wymiany Akademickiej w ramach umowy. **PPN/BCZ/2019/1/00063/U/00001** dotyczącej wymiany bilateralnej z Czechami. 1.01.2020-31.12.2022 - wykonawca
2. Inkubator 4.0 „**Blendy polimerowe na bazie kwasu poli(3-hydroksymasłowego)**” 1.05.2022-31.10.2022 - wykonawca
3. Projekt w ramach konkursu „VIA Express do sukcesu” – akceleracja rynkowych pomysłów w ramach Politechnicznej Sieci VIA CARPATIA im. Prezydenta RP Lecha Kaczyńskiego, **PHAgro – biodegradowalny granulat do produkcji jednorazowych artykułów ogrodnich**, 1.06-15.11.2024 – wykonawca

Patenty

1. Zarzyka I., Krzykowska B., **Blendy polimerowe na osnowie kwasu poli(3-hydroksymasłowego) i aromatycznego poliuretanu, sposób wytwarzania tej blendy i zastosowanie**, PL247035(B1), 28.04.2025.
2. Zarzyka I., Krzykowska B., Dobrowolski D., Hęćlik K., **Biokompozyt polimerowy na osnowie kwasu poli(3-hydroksymasłowego), sposób wytwarzania tego kompozytu oraz jego zastosowanie**, PL247041(B1), 28.04.2025.

Zgłoszenia patentowe

1. Zarzyka I., Krzykowska B., D., Hęćlik K., Frącz W., Janowski G., Bąk Ł., Klepka T., Bieniaś J., Ostapiuk M., Tor-Świątek A., Drożdżel-Jurkiewicz M., Kuciej M., Tomczyk A., Falkowska A., **Nanokompozyt polimerowy oraz sposób wytwarzania nanokompozytu polimerowego**, zgłoszenie patentowe, **P.447204, 21.12.2023.**
2. Klepka T., Zarzyka I., Krzykowska B., Frącz W., Janowski G., Bąk Ł., Kuciej M. **Biodegradowalna kompozycja polimerowa**, zgłoszenie patentowe **P.450353, 26.11.2024.**
3. Klepka T., Zarzyka I., Krzykowska B., Frącz W., Janowski G., Bąk Ł., Kuciej M., **Sposób wytwarzania biodegradowalnej kompozycji polimerowej**, zgłoszenie patentowe **P.450354, 26.11.2024.**

Nagrody

1. Brązowy medal za poster na X Konferencja Naukowa "INNOWACJE W PRAKTYCE", Arena Lublin, 15-16.06.2023: Kompozycje polimerowe kwasu poli(3-hydroksymasłowego) z alifatycznym modyfikatorem poliuretanowym. Krzykowska B., Longosz M., Czerniecka-Kubicka A., Zarzyka I.
2. Srebrny medal na międzynarodowej wystawie wynalazczości „International Exhibition of Inventions and Technology – InnoWings” za wynalazek: Hybryde polymer nanobiocomposites based on poly(3-hydroxybutyrate) – production and application, 7.06.2024, Lublin, Zarzyka I., Krzykowska B., Hęclik K., Frącz W., Janowski G., Bąk Ł.
3. Złoty medal na wystawie wynalazków International Intellectual Property, Invention, Innovation and Technology Exposition (IPITEx 2025) oraz nagroda specjalna National Research Council of Thailand za wynalazek „Polymer nanocomposite based on poly(3-hydroxybutyrate), method of production and use”, P.447204, 01.2025, Bangkok, Klepka T., Bienias J. Ostapiuk M., Tor-Świątek A., Drożdziel-Jurkiewicz M., Zarzyka I., Krzykowska B., D., Hęclik K., Frącz W., Janowski G., Bąk Ł., Kuciej M., Tomczyk A., Falkowska A.
4. Złoty medal na międzynarodowej wystawie wynalazczości „International Exhibition of Inventions and Technology – InnoWings” za wynalazek: Biodegradable polymer composition, 6.06.2025, Lublin, Zarzyka I., Krzykowska B., Frącz W., Janowski G., Bąk Ł.

10. OŚWIADCZENIA DOTYCZĄCE UDZIAŁU PROCENTOWEGO WSPÓŁAUTORÓW W TWORZENIU ARTYKUŁÓW

10.1. PUBLIKACJA [D1]

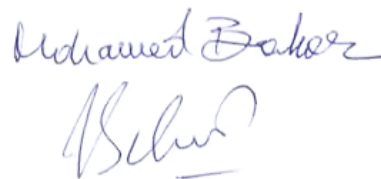
A. Białkowska, B. Krzykowska, I. Zarzyka, M. Bakar, V. Sedlařík, M. Kovářová, A. Czerniecka-Kubicka, Polymer/Layered Clay/Polyurethane Nanocomposites: P3HB Hybride Nanobiocomposites - Preparation and Properties Evaluation, *Nanomaterials*, 13, 225 (2023). <https://doi.org/10.3390/nano13020225> [IF=4,4]

OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że w publikacji: A. Białkowska, B. Krzykowska, I. Zarzyka, M. Bakar, V. Sedlařík, M. Kovářová, A. Czerniecka-Kubicka, Polymer/Layered Clay/Polyurethane Nanocomposites: P3HB Hybride Nanobiocomposites - Preparation and Properties Evaluation, Nanomaterials, 13, 225 (2023). <https://doi.org/10.3390/nano13020225>

mój udział stanowił 5% i był związany z nadzorowaniem redagowania manuskryptu.

Mahomed Bakar

The image shows a handwritten signature in blue ink. The signature is written in a cursive style, with the first name 'Mahomed' and the last name 'Bakar' clearly legible. There is a second, more stylized signature below it, which appears to be 'Bakar'.

prof. dr hab. inż. Iwona Zarzyka
Katedra Chemii Organicznej
Wydział Chemiczny
Politechnika Rzeszowska im. Ignacego Łukasiewicza
Al. Powstańców Warszawy 6
35-959 Rzeszów

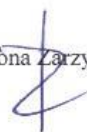
Rzeszów, 29.04.2024

OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że w publikacji: A. Białkowska, B. Krzykowska, I. Zarzyka, M. Bakar, V. Sedlařík, M. Kovářová, A. Czerniecka-Kubicka, Polymer/Layered Clay/Polyurethane Nanocomposites: P3HB Hybride Nanobiocomposites - Preparation and Properties Evaluation, Nanomaterials, 13, 225 (2023). <https://doi.org/10.3390/nano13020225> [IF=4,4]

mój udział stanowił 10% i był związany z nadzorowaniem prowadzonych badań i publikacji manuskryptu.

Iwona Zarzyka



prof. Ing. Vladimír Sedlářík, Ph.D.
Centre of Polymer Systems
Tomas Bata University in Zlín
tr. T. Bati 5678,
76001 Zlín
Czech Republic

Zlín, 19.07.2024

STATEMENT

I declare that in the publication:

B. Krzykowska, A. Czerniecka-Kubicka, A. Białkowska, M. Bakar, M. Kovarova, V. Sedlářík, I. Zarzyka, **Polymer/layered clay/polyurethane nanocomposites: P3HB hybride nanobiocomposites - preparation and properties evaluation**, *Nanomaterials*, 13, 225 (2023). <https://doi.org/10.3390/nano13020225>

my share was 5% and was related to the mechanical tests of composites.

Signature



dr hab. inż. Anita Białkowska, prof. URad.
Katedra Podstaw Konstrukcji Maszyn i Materiałoznawstwa
Uniwersytet Radomski
Wydział Mechaniczny
Stasieckiego 54
26-600 Radom,

Radom, 28.04.2025

OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że w publikacji: A. Białkowska, B. Krzykowska, I. Zarzyka, M. Bakar, V. Sedlařík, M. Kovářová, A. Czerniecka-Kubicka, Polymer/Layered Clay/Polyurethane Nanocomposites: P3HB Hybride Nanobiocomposites - Preparation and Properties Evaluation, Nanomaterials, 13, 225 (2023). <https://doi.org/10.3390/nano13020225>

mój udział stanowił 10% i był związany z wykonaniem analizy zdjęć z skaningowego mikroskopu elektronowego badanych materiałów oraz przygotowaniem opisu do manuskryptu publikacji.


Anita Białkowska

Dr. Ing. Miroslava Kovářová
Centre of Polymer Systems
Tomas Bata University in Zlin
tr. T. Bati 5678,
76001 Zlin
Czech Republic

Zlin, 19.07.2024

STATEMENT

I declare that in the publication:

B. Krzykowska, A. Czerniecka-Kubicka, A. Białkowska, M. Bakar, M. Kovarova, V. Sedlarik, I. Zarzyka, **Polymer/layered clay/polyurethane nanocomposites: P3HB hybride nanobiocomposites - preparation and properties evaluation**, *Nanomaterials*, 13, 225 (2023). <https://doi.org/10.3390/nano13020225>

my share was 5% and was related to the SEM measurements of composites.

Signature



10.2. PUBLIKACJA [D2]

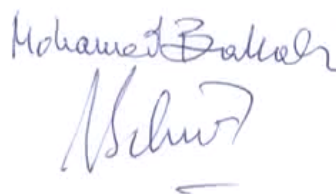
B. Krzykowska, A. Czerniecka-Kubicka, A. Białkowska, M. Bakar, K. Hęclik, L. Dobrowolski, M. Longosz, I. Zarzyka, Polymer biocompositions and hybrid polymer nanobiocomposites based on P3HB with an aliphatic polyurethane and organically modified montmorillonite, *Int. J. Mol. Sci.*, 24, 17405 (2023). <https://doi.org/10.3390/ijms242417405>

OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że w publikacji: B. Krzykowska, A. Czerniecka-Kubicka, A. Białkowska, M. Bakar, K. Hęclik, L. Dobrowolski, M. Longosz, I. Zarzyka, Polymer biocompositions and hybrid polymer nanobiocomposites based on P3HB with an aliphatic polyurethane and organically modified montmorillonite, Int. J. Mol. Sci., 24, 17405 (2023). <https://doi.org/10.3390/ijms242417405>

mój udział stanowił 5% i był związany z nadzorowaniem redagowania manuskryptu.

Mahomed Bakar

Handwritten signature of Mohamed Bakar in blue ink, consisting of two lines of cursive script.

dr inż. Karol Hęclik
Katedra Biotechnologii i Bioinformatyki
Wydział Chemiczny
Politechnika Rzeszowska im. Ignacego Łukasiewicza
Al. Powstańców Warszawy 12
35-959 Rzeszów

Rzeszów, 28.02.2025

OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że w publikacji:

B. Krzykowska, A. Czerniecka-Kubicka, A. Białkowska, M. Bakar, K. Hęclik, L. Dobrowolski,
M. Longosz, I. Zarzyka, Polymer biocompositions and hybrid polymer nanobiocomposites
based on P3HB with an aliphatic polyurethane and organically modified montmorillonite,
Int. J. Mol. Sci., 24, 17405 (2023). <https://doi.org/10.3390/ijms242417405>

mój udział stanowił 5% i był związany z wykonaniem części syntez poliuretanu.

Karol Hęclik



dr. inż. Lucjan Dobrowolski
Katedra biotechnologii i Bioinformatyki
Wydział Chemiczny
Politechnika Rzeszowska im. Ignacego Łukasiewicza
Al. Powstańców Warszawy 12
35-959 Rzeszów

Rzeszów, 28.02.2025

OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że w publikacji: B. Krzykowska, A. Czerniecka-Kubicka, A. Białkowska, M. Bakar, K. Hęćlik, L. Dobrowolski, M. Longosz, I. Zarzyka, Polymer biocompositions and hybrid polymer nanobiocomposites based on P3HB with an aliphatic polyurethane and organically modified montmorillonite, Int. J. Mol. Sci., 24, 17405 (2023). <https://doi.org/10.3390/ijms242417405>

mój udział stanowił 5% i był związany z wykonaniem części syntez poliuretanu.

Lucjan Dobrowolski



mgr. inż. Michał Longosz
39-100 Ropczyce, ul. Parkowa 21/3

Rzeszów, 28.02.2025

OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że w publikacji: B. Krzykowska, A. Czerniecka-Kubicka, A. Białkowska, M. Bakar, K. Hęclik, L. Dobrowolski, M. Longosz, I. Zarzyka, Polymer biocompositions and hybrid polymer nanobiocomposites based on P3HB with an aliphatic polyurethane and organically modified montmorillonite, Int. J. Mol. Sci., 24, 17405 (2023). <https://doi.org/10.3390/ijms242417405>

mój udział stanowił 5% i był związany z wykonaniem części syntez poliuretanu.

Michał Longosz


prof. dr hab. inż. Iwona Zarzyka
Katedra Chemii Organicznej
Wydział Chemiczny
Politechnika Rzeszowska im. Ignacego Łukasiewicza
Al. Powstańców Warszawy 6
35-959 Rzeszów

Rzeszów, 29.04.2024

OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że w publikacji: B. Krzykowska, A. Czerniecka-Kubicka, A. Białkowska, M. Bakar, K. Hęclik, L. Dobrowolski, M. Longosz, I. Zarzyka, Polymer biocompositions and hybrid polymer nanobiocomposites based on P3HB with an aliphatic polyurethane and organically modified montmorillonite, Int. J. Mol. Sci., 24, 17405 (2023).
<https://doi.org/10.3390/ijms242417405>

mój udział stanowił 10% i był związany z nadzorowaniem prowadzonych badań i publikacji manuskryptu.

Iwona Zarzyka


dr hab. inż. Anita Białkowska, prof. URad.
Katedra Podstaw Konstrukcji Maszyn i Materiałoznawstwa
Uniwersytet Radomski
Wydział Mechaniczny
Stasieckiego 54
26-600 Radom,

Radom, 28.04.2025

OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że w publikacji: B. Krzykowska, A. Czerniecka-Kubicka, A. Białkowska, M. Bakar, K. Hęćlik, L. Dobrowolski, M. Longosz, I. Zarzyka, Polymer biocompositions and hybrid polymer nanobiocomposites based on P3HB with an aliphatic polyurethane and organically modified montmorillonite, Int. J. Mol. Sci., 24, 17405 (2023). <https://doi.org/10.3390/ijms242417405>

mój udział stanowił 5% i był związany z wykonaniem analizy mikrografii nanokompozytów uzyskanych przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego.


Anita Białkowska

10.3. PUBLIKACJA [D3]

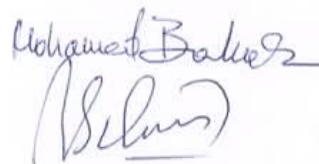
B. Krzykowska, A. Czerniecka-Kubicka, A. Białkowska, M. Bakar, M. Kovářová, V. Sedlařík, D. Hanusova, I. Zarzyka, Biopolymer Compositions Based on Poly(3-hydroxybutyrate) and Linear Polyurethanes with Aromatic Rings - Preparation and Properties Evaluation, *Polymers*, 16, 1618 (2024). <https://doi.org/10.3390/polym16121618>

OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że w publikacji: B. Krzykowska, A. Czerniecka-Kubicka, A. Białkowska, M. Bakar, M. Kovářová, V. Sedlářík, D. Hanusova, I. Zarzyka, Biopolymer Compositions Based on Poly(3-hydroxybutyrate) and Linear Polyurethanes with Aromatic Rings - Preparation and Properties Evaluation, *Polymers*, 16, 1618 (2024). <https://doi.org/10.3390/polym16121618>

mój udział stanowił 5% i był związany z nadzorowaniem redagowania manuskryptu.

Mahomed Bakar

Handwritten signature of Mohamed Bakar in black ink, consisting of a stylized cursive script.

Dr. Ing. Miroslava Kovářová
Centre of Polymer Systems
Tomas Bata University in Zlín
tr. T. Bati 5678,
76001 Zlín
Czech Republic

Zlín, 29.04.2025

STATEMENT

I declare that in the publication:

B. Krzykowska, A. Czerniecka-Kubicka, A. Białkowska, M. Bakar, M. Kovářová, V. Sedlařík, D. Hanusova, I. Zarzyka, Biopolymer Compositions Based on Poly(3-hydroxybutyrate) and Linear Polyurethanes with Aromatic Rings - Preparation and Properties Evaluation, Polymers, 16, 1618 (2024). <https://doi.org/10.3390/polym16121618>

my share was 5% and was related to the SEM measurements of compositions.

Signature



prof. Ing. Vladimír Sedlářík, Ph.D.
Centre of Polymer Systems
Tomas Bata University in Zlín
tr. T. Bati 5678,
76001 Zlín
Czech Republic

Zlín, 19.07.2024

STATEMENT

I declare that in the publication:

B. Krzykowska, A. Czerniecka-Kubicka, A. Białkowska, M. Bakar, M. Kovarova, V. Sedlářík, D. Hanusova, I. Zarzyka, **Biopolymer Compositions Based on Poly(3-hydroxybutyrate) and Linear Polyurethanes with Aromatic Rings-Preparation and Properties Evaluation**, *Polymers*, 16(12), 1618 (2024). DOI:10.3390/polym16121618

my share was 5% and was related to the mechanical tests of compositions.

Signature



prof. dr hab. inż. Iwona Zarzyka

Rzeszów, 29.04.2024

Katedra Chemii Organicznej

Wydział Chemiczny

Politechnika Rzeszowska im. Ignacego Łukasiewicza

Al. Powstańców Warszawy 6

35-959 Rzeszów

OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że w publikacji: B. Krzykowska, A. Czerniecka-Kubicka, A. Białkowska, M. Bakar, M. Kovářová, V. Sedlářík, D. Hanusova, I. Zarzyka, Biopolymer Compositions Based on Poly(3-hydroxybutyrate) and Linear Polyurethanes with Aromatic Rings - Preparation and Properties Evaluation, Polymers, 16, 1618 (2024). <https://doi.org/10.3390/polym16121618>

mój udział stanowił 10% i był związany z nadzorowaniem prowadzonych badań i publikacji manuskryptu.

Iwona Zarzyka



Ing. Dominika Hanusova
Centre of Polymer Systems
Tomas Bata University in Zlin
tr. T. Bati 5678,
76001 Zlin
Czech Republic

Zlin, 29.04.2025

STATEMENT

I declare that in the publication:

B. Krzykowska, A. Czerniecka-Kubicka, A. Bialkowska, M. Bakar, M. Kovarova, V. Sedlarik, D. Hanusova, I. Zarzyka, **Biopolymer Compositions Based on Poly(3-hydroxybutyrate) and Linear Polyurethanes with Aromatic Rings-Preparation and Properties Evaluation**, *Polymers*, 16(12), 1618 (2024). DOI:10.3390/polym16121618
my share was 5% and was related to the composition's preparation.

Signature



dr hab. inż. Anita Białkowska, prof. URad.

Radom, 28.04.2025

Katedra Podstaw Konstrukcji Maszyn i Materiałoznawstwa

Uniwersytet Radomski

Wydział Mechaniczny

Stasieckiego 54

26-600 Radom,

OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że w publikacji: B. Krzykowska, A. Czerniecka-Kubicka, A. Białkowska, M. Bakar, M. Kovářová, V. Sedlářik, D. Hanusova, I. Zarzyka, Biopolymer Compositions Based on Poly(3-hydroxybutyrate) and Linear Polyurethanes with Aromatic Rings - Preparation and Properties Evaluation, Polymers, 16, 1618 (2024). <https://doi.org/10.3390/polym16121618>

mój udział stanowił 5% i był związany z wykonaniem analizy mikrografii kompozycji polimerowych uzyskanych przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego.


Anita Białkowska

10.4. PUBLIKACJA [D4]

B. Krzykowska, Ł. Uram, A. Białkowska, M. Bakar, M. Kovářová, V. Sedlařík, D. Hanusova, M. Kisiel, J. Paciorek-Sadowska, M. Borowicz, I. Zarzyka, Polymer bionanocomposites based on P3BH/polyurethane matrix with organomodified montmorillonite – mechanical and thermal properties, biodegradability and cytotoxicity, *Polymers*, 16, 2681 (2024).
<https://doi.org/10.3390/polym16182681>

dr. hab. Łukasz Uram, prof. PRz

Rzeszów, 28.02.2025

Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej

Wydział Chemiczny

Politechnika Rzeszowska im. Ignacego Łukasiewicza

Al. Powstańców Warszawy 12

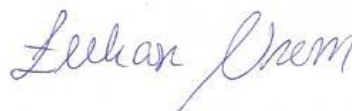
35-959 Rzeszów

OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że w publikacji: Krzykowska, Ł., Uram, A., Białkowska, M., Bakar, M., Kovářová, V., Sedlář, D., Hanusova, M., Kisiel, J., Paciorek-Sadowska, M., Borowicz, I., Zarzyka, Polymer bionanocomposites based on P3BH/polyurethane matrix with organomodified montmorillonite –mechanical and thermal properties, biodegradability and cytotoxicity, Polymers, 16, 2681 (2024). <https://doi.org/10.3390/polym16182681>

mój udział stanowił 5% i był związany z wykonaniem badań cytotoksyczności biokompozycji.

Łukasz Uram

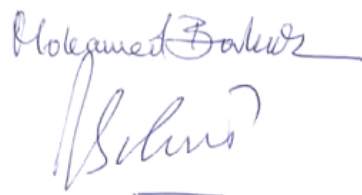


OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że w publikacji: B. Krzykowska, Ł. Uram, A. Białkowska, M. Bakar, M. Kovářová, V. Sedlářík, D. Hanusova, M. Kisiel, J. Paciorek-Sadowska, M. Borowicz, I. Zarzyka, Polymer bionanocomposites based on P3BH/polyurethane matrix with organomodified montmorillonite –mechanical and thermal properties, biodegradability and cytotoxicity, Polymers, 16, 2681 (2024). <https://doi.org/10.3390/polym16182681>

mój udział stanowił 5% i był związany z nadzorowaniem redagowania manuskryptu.

Mahomed Bakar

Handwritten signature of Mohamed Bakar in blue ink, consisting of a stylized first name and a surname.

prof. Ing. Vladimír Sedlařík, Ph.D.
Tomas Bata University in Zlín
Centre of Polymer Systems
třída Tomáše Bati 5678,
76001 Zlín
Czech Republic

In Zlín, April 29, 2025

STATEMENT

I declare that in the publication:

B. Krzykowska, Ł. Uram, A. Białkowska, M. Bakar, M. Kovářová, V. Sedlařík, D. Hanusova, M. Kisiel, J. Paciorek-Sadowska, M. Borowicz, I. Zarzyka, Polymer bionanocomposites based on P3BH/polyurethane matrix with organomodified montmorillonite – mechanical and thermal properties, biodegradability and cytotoxicity, Polymers, 16, 2681 (2024).
<https://doi.org/10.3390/polym16182681>

my share was 5% and was related to the mechanical tests of composites.



prof. Ing. Vladimír Sedlařík, Ph.D.
Director



Dr. Ing. Miroslava Kovářová
Centre of Polymer Systems
Tomas Bata University in Zlin
tr. T. Bati 5678,
76001 Zlín
Czech Republic

Zlín, 29.04.2025

STATEMENT

I declare that in the publication:

B. Krzykowska, Ł. Uram, A. Białkowska, M. Bakar, M. Kovářová, V. Sedlařík, D. Hanusova, M. Kisiel, J. Paciorek-Sadowska, M. Borowicz, I Zarzyka, Polymer bionano-composites based on P3BH/polyurethane matrix with organomodified montmorillonite – mechanical and thermal properties, biodegradability and cytotoxicity, Polymers, 16, 2681 (2024). <https://doi.org/10.3390/polym16182681>

my share was 5% and was related to the SEM measurements of composites.

Signature



dr. inż. Maciej Kisiel

Rzeszów, 29.04.2025

Katedra Technologii i Materiałoznastwa Chemicznego

Wydział Chemiczny

Politechnika Rzeszowska im. Ignacego Łukasiewicza

Al. Powstańców Warszawy 12

35-959 Rzeszów

OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że w publikacji: B. Krzykowska, Ł. Uram, A. Białkowska, M. Bakar, M. Kovářová, V. Sedlařík, D. Hanusova, M. Kisiel, J. Paciorek-Sadowska, M. Borowicz, I. Zarzyka, Polymer bionanocomposites based on P3BH/polyurethane matrix with organomodified montmorillonite –mechanical and thermal properties, biodegradability and cytotoxicity, Polymers, 16, 2681 (2024). <https://doi.org/10.3390/polym16182681>

mój udział stanowił 5% i był związany z wykonaniem pomiarów DSC biokompozytów.

Maciej Kisiel

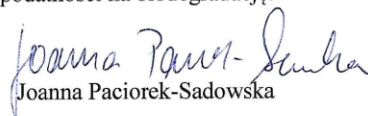
dr hab. inż. Paciorek-Sadowska Joanna, prof. UKW
Katedra Chemii i Technologii Poliuretanów
Wydział Inżynierii Materiałowej
Uniwersytet Kazimierza Wielkiego
ul. Chodkiewicza 30
85-064 Bydgoszcz

Bydgoszcz, 28.04.2025

OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że w publikacji: B. Krzykowska, Ł. Uram, A. Białkowska, M. Bakar, M. Kovářová, V. Sedlářík, D. Hanusova, M. Kisiel, J. Paciorek-Sadowska, M. Borowicz, I. Zarzyka, Polymer bionanocomposites based on P3BH/polyurethane matrix with organomodified montmorillonite –mechanical and thermal properties, biodegradability and cytotoxicity, Polymers, 16, 2681 (2024). <https://doi.org/10.3390/polym16182681>

mój udział stanowił 5% i był związany z wykonaniem pomiarów podatności na biodegradację.


Joanna Paciorek-Sadowska

dr inż. Marcin Borowicz
Katedra Chemii i Technologii Poliuretanów
Wydział Inżynierii Materiałowej
Uniwersytet Kazimierza Wielkiego
ul. Chodkiewicza 30
85-064 Bydgoszcz

Bydgoszcz, 28.04.2025

OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że w publikacji: B. Krzykowska, Ł. Źram, A. Białkowska, M. Bakar, M. Kovářová, V. Sedlařík, D. Hanusova, M. Kisiel, J. Paciorek-Sadowska, M. Borowicz, I. Zarzyka, Polymer bionanocomposites based on P3BH/polyurethane matrix with organomodified montmorillonite –mechanical and thermal properties, biodegradability and cytotoxicity, *Polymers*, 16, 2681 (2024). <https://doi.org/10.3390/polym16182681>

mój udział stanowił 5% i był związany z wykonaniem pomiarów podatności na biodegradację.

Marcin Borowicz



prof. dr hab. inż. Iwona Zarzyka

Rzeszów, 29.04.2024

Katedra Chemii Organicznej

Wydział Chemiczny

Politechnika Rzeszowska im. Ignacego Łukasiewicza

Al. Powstańców Warszawy 6

35-959 Rzeszów

OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że w publikacji: B. Krzykowska, Ł. Uram, A. Białkowska, M. Bakar, M. Kovářová, V. Sedlářík, D. Hanusova, M. Kisiel, J. Paciorek-Sadowska, M. Borowicz, I. Zarzyka, Polymer bionanocomposites based on P3BH/polyurethane matrix with organomodified montmorillonite –mechanical and thermal properties, biodegradability and cytotoxicity, *Polymers*, 16, 2681 (2024). <https://doi.org/10.3390/polym16182681>

mój udział stanowił 5% i był związany z nadzorowaniem prowadzonych badań i publikacji manuskryptu.

Iwona Zarzyka



dr hab. inż. Anita Białkowska, prof. URad.
Katedra Podstaw Konstrukcji Maszyn i Materiałoznawstwa
Uniwersytet Radomski
Wydział Mechaniczny
Stasieckiego 54
26-600 Radom,

Radom, 28.04.2025

OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że w publikacji: B. Krzykowska, Ł. Uram, A. Białkowska, M. Bakar, M. Kovářová, V. Sedlářík, D. Hanusova, M. Kisiel, J. Paciorek-Sadowska, M. Borowicz, I. Zarzyka, Polymer bionanocomposites based on P3BH/polyurethane matrix with organo-modified montmorillonite – mechanical and thermal properties, biodegradability and cytotoxicity, *Polymers*, 16, 2681 (2024). <https://doi.org/10.3390/polym16182681>

mój udział stanowił 5% i był związany z wykonaniem analizy mikrografii nanokompozytów uzyskanych przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego.


Anita Białkowska

.. Ing. Dominika Hanusova
Centre of Polymer Systems
Tomas Bata University in Zlin
tr. T. Bati 5678,
76001 Zlín
Czech Republic

Zlín, 29.04.2025

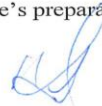
STATEMENT

I declare that in the publication:

B. Krzykowska, Ł. Uram, A. Białkowska, M. Bakar, M. Kovářová, V. Sedlářík, D. Hanusova, M. Kisiel, J. Paciorek-Sadowska, M. Borowicz, I. Zarzyka, Polymer bionano-composites based on P3BH/polyurethane matrix with organomodified montmorillonite – mechanical and thermal properties, biodegradability and cytotoxicity, *Polymers*, 16, 2681 (2024). <https://doi.org/10.3390/polym16182681>

my share was 5% and was related to the composite's preparation..

Signature



10.5. PUBLIKACJA [D5]

B. Krzykowska, A. Fajdek-Bieda, A. Jakubus, J. Kostrzewa, A. Białkowska, M. Kisiel, Š. Dvořáčková, W. Frącz, I. Zarzyka, Bio-based poly(3-Hydroxybutyrate) and Polyurethane Blends: Preparation, Properties Evaluation and Structure Analysis, *Materials*, 18, 1914 (2025).
<https://doi.org/10.3390/ma18091914>

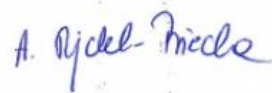
dr. hab. inż. Anna Fajdek-Bieda
Wydział Techniczny
Akademia im. Jakuba Z Paradyża
ul .F. Chopina 52
66-400 Gorzów Wielkopolski

Gorzów Wielkopolski, 28.04.2025

OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że w publikacji: B. Krzykowska, A. Fajdek-Bieda, A. Jakubus, J. Kostrzewa, A. Białkowska, M. Kisiel, Š. Dvořáková, W. Frącz, I. Zarzyka, Bio-based poly(3-Hydroxybutyrate) and Polyurethane Blends: Preparation, Properties Evaluation and Structure Analysis, *Materials*, **2025**, *18*, 1914. <https://doi.org/10.3390/ma18091914>

mój udział stanowił 5% i był związany z badaniem chropowatości.



Anna Fajdek-Bieda

dr. inż Aneta Jakubus

Gorzów Wielkopolski, 29.04.2025

Wydział Techniczny

Akademia im. Jakuba Z Paradyża

ul. F. Chopina 52

66-400 Gorzów Wielkopolski

OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że w publikacji: B. Krzykowska, A. Fajdek-Bieda, A. Jakubus, J. Kostrzewa, A. Białkowska, M. Kisiel, Š. Dvořáčková, W. Frącz, I. Zarzyka, Bio-based poly(3-Hydroxybutyrate) and Polyurethane Blends: Preparation, Properties Evaluation and Structure Analysis, *Materials*, **2025**, *18*, 1914. <https://doi.org/10.3390/ma18091914>

mój udział stanowił 5% i był związany z pomiarami topografii i chropowatości
wytworzonych mieszanek polimerowych



Aneta Jakubus

mgr. inż. Joanna Kostrzewa

Gorzów Wielkopolski, 29.04.2025

Wydział Techniczny

Akademia im. Jakuba Z Paradyża

ul .F. Chopina 52

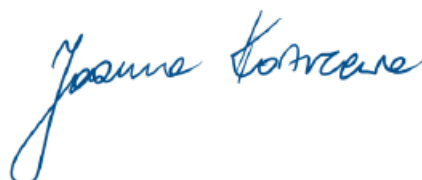
66-400 Gorzów Wielkopolski

OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że w publikacji: B. Krzykowska, A. Fajdek-Bieda, A. Jakubus, J. Kostrzewa, A. Białkowska, M. Kisiel, Š. Dvořáčková, W. Frącz, I. Zarzyka, Bio-based poly(3-Hydroxybutyrate) and Polyurethane Blends: Preparation, Properties Evaluation and Structure Analysis, *Materials*, **2025**, *18*, 1914. <https://doi.org/10.3390/ma18091914>

mój udział stanowił 5% i był związany z pomiarami SEM kompozycji polimerowych.

Joanna Kostrzewa



prof. dr hab. inż. Iwona Zarzyka
Katedra Chemii Organicznej
Wydział Chemiczny
Politechnika Rzeszowska im. Ignacego Łukasiewicza
Al. Powstańców Warszawy 6
35-959 Rzeszów

Rzeszów, 29.04.2024

OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że w publikacji: B. Krzykowska, A. Fajdek-Bieda, A. Jakubus, J. Kostrzewa, A. Białkowska, M. Kisiel, Š. Dvořáková, W. Frącz, I. Zarzyka, Bio-based poly(3-Hydroxybutyrate) and Polyurethane Blends: Preparation, Properties Evaluation and Structure Analysis, *Materials*, **2025**, *18*, 1914. <https://doi.org/10.3390/ma18091914>

mój udział stanowił 5% i był związany z nadzorowaniem prowadzonych badań i publikacji manuskryptu.

Iwona Zarzyka



dr hab. inż. Anita Białkowska, prof. URad.

Radom, 28.04.2025

Katedra Podstaw Konstrukcji Maszyn i Materiałoznawstwa

Uniwersytet Radmski

Wydział Mechaniczny

Stasieckiego 54

26-600 Radom,

OŚWIADCZENIE

Oświadczam iż mój udział w publikacji: B. Krzykowska, A. Fajdek-Bieda, A. Jakubus, J. Kostrzewa, A. Białkowska, M. Kisiel, Š. Dvořáčková, W. Frącz, I. Zarzyka, Bio-based poly(3-Hydroxybutyrate) and Polyurethane Blends: Preparation, Properties Evaluation and Structure Analysis, *Materials*, **2025**, *18*, 1914. <https://doi.org/10.3390/ma18091914>

mój udział stanowił 5% i był związany z pomocą wykonaniu analizy mikrografii kompozycji polimerowych uzyskanych przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego.



Anita Białkowska

dr. inż. Maciej Kisiel
Katedra Technologii i Materiałoznastwa Chemicznego
Wydział Chemiczny
Politechnika Rzeszowska im. Ignacego Łukasiewicza
Al. Powstańców Warszawy 12
35-959 Rzeszów

Rzeszów, 29.04.2025

OŚWIADCZENIE

Oświadczam iż mój udział w publikacji: B. Krzykowska, A. Fajdek-Bieda, A. Jakubus, J. Kostrzewa, A. Białkowska, M. Kisiel, Š. Dvořáčková, W. Frącz, I. Zarzyka, Bio-based poly(3-Hydroxybutyrate) and Polyurethane Blends: Preparation, Properties Evaluation and Structure Analysis, *Materials*, **2025**, *18*, 1914. <https://doi.org/10.3390/ma18091914>

mój udział stanowił 5% i był związany z wykonaniem pomiarów DSC biokompozytów.



Maciej Kisiel

doc. Ing. Štěpánka Dvořáčková, Ph.D.,
Department of Machining and Assembly,
Technical University of Liberec,
Studentská 1402/2,
460 01 Liberec 1,
Czech Republic,

Liberec, 29.04.2025

STATEMENT

I declare that in the publication: B. Krzykowska, A. Fajdek-Bieda, A. Jakubus, J. Kostrzewa, A. Białkowska, M. Kisiel, Š. Dvořáčková, W. Frącz, I. Zarzyka, Bio-based poly(3-Hydroxybutyrate) and Polyurethane Blends: Preparation, Properties Evaluation and Structure Analysis, *Materials*, **2025**, *18*, 1914. <https://doi.org/10.3390/ma18091914>

my share was 5% and was related to the mechanical tests of compositions.

Signature



dr hab. inż. Wiesław Frącz
Katedra Przeróbki Plastycznej
Wydział Mechaniczny
Politechnika Rzeszowska im. Ignacego Łukasiewicza
Al. Powstańców Warszawy 6
35-959 Rzeszów

Rzeszów, 29.04.2025

OŚWIADCZENIE

Oświadczam iż mój udział w publikacji: B. Krzykowska, A. Fajdek-Bieda, A. Jakubus, J. Kostrzewa, A. Białkowska, M. Kisiel, Š. Dvořáčková, W. Frącz, I. Zarzyka, Bio-based poly(3-Hydroxybutyrate) and Polyurethane Blends: Preparation, Properties Evaluation and Structure Analysis, *Materials*, **2025**, *18*, 1914. <https://doi.org/10.3390/ma18091914>

mój udział stanowił 5% i był związany z wykonaniem pomiarów właściwości mechanicznych badanych kompozycji polimerowych.


Wiesław Frącz