

Uticaoj pripreme hitozan gelova na natkritičnu impregnaciju sa timolom

STOJA L. MILOVANOVIĆ, Univerzitet u Beogradu,

Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd

MILICA M. PANTIĆ, Univerzitet u Mariboru,

Fakultet za hemiju i hemijsku tehnologiju, Maribor, Republika Slovenija

JASNA Z. IVANOVIĆ, Univerzitet u Beogradu,

Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd

IRENA T. ŽIŽOVIĆ, Univerzitet u Beogradu,

Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd

Originalni naučni rad

UDC: 615.454.1:678.741

U radu je ispitivana impregnacija različito pripremljenih hitozan gelova sa timolom pomoću natkritičnog ugljenik(IV)-oksida ($nkCO_2$) u cilju dobijanja novih materijala sa dodatom vrednošću bez upotrebe organskih rastvarača. Optimalni uslovi natkritične impregnacije (15 MPa, 35 °C i 24 h) su definisani na osnovu prethodno ispitane rastvorljivosti timola u $nkCO_2$. Za pripremu hidrogelova hitozana korišćeni su umreživači formaldehid i glutardialdehid. Dobijeni hidrogelovi hitozana su prevedeni u acetogelove, a potom sušeni na vazduhu ili pomoću $nkCO_2$ kako bi se dobili kserogelovi ili aerogelovi. Najbolji rezultati u pogledu morfologije i prinosa impregnacije sa timolom postignuti su za aerogel hitozana (11,30%) koji je dobijen umrežavanjem sa formaldehidom i sušenjem sa $nkCO_2$ na 15 MPa i 50 °C.

Ključne reči: hitozan gelovi, timol, natkritični ugljenik(IV)-oksid, natkritična impregnacija

1. UVOD

Timol je prirodni lipofilni monoterpenski fenol koji je u relativno velikoj meri zastupljen u etarskom ulju timijana i origana [1, 2]. Poznato je da timol ima jaku antibakterijsku, antigljivičnu, antiinflamatornu i antioksidativnu aktivnost [3]. Smeštanjem timola unutar polimernih nosača sprečava se njegova degradacija pod dejstvom vlage, pH, temperature, enzima i postiže se lakša distribucija do željenog mesta dejstva [4]. Hitozan je linearni polisaharid dobijen deacetilovanjem hitina koji se nalazi u egzoskeletu i kutikuli ljuskara i beskičmenjaka, kao i u ćelijskom zidu zelenih algi i gljiva [5]. Veliki industrijski i komercijalni interes za upotrebu hitozana posledica je ne samo prirodnog porekla, već i niza funkcionalnih svojstava i velikog broja potencijalnih primena (farmaceutska, tekstilna i papirna industrija itd.) [6]. Za primenu je možda od najvećeg značaja svojstvo rastvorljivosti hitozana u razblaženim rastvorima kiselina (pri $pH < 6$) i

mogućnost pripreme biokompatibilnih i biorazgradivih polimera [5]. Zbog brojnih mogućnosti za hemijsku i mehaničku obradu, netoksičnosti, antimikrobne aktivnosti, biokompatibilnosti, biodegradabilnosti [6, 7], velikog afiniteta prema ćelijskoj adheziji [7], kao i antioksidativne aktivnosti [8], hitozan ima veliki potencijal za primenu u biomedicini i farmaciji (za kontrolisano otpuštanje lekova, u inženjerstvo tkiva, kod lečenja rana, genske terapije itd.) [9].

Porozni gelovi hitozana se mogu dobiti kako konvencionalnim (npr. tehnikom izlivanja i uparavanja rastvarača) [10] tako i novijim postupcima pomoću ugljenik(IV)-oksida [11]. Ugljenik(IV)-oksid (CO_2) je pogodan za upotrebu jer je netoksičan, nezapaljiv, hemijski inertan, jeftin, lako dostupan i ima povoljne kritične parametre (31,1 °C i 7,38 MPa). Natkritični CO_2 ($nkCO_2$) ima veliku gustinu (sličnu tečnostima) što pozitivno utiče na njegovu moć rastvaranja. Difuzivnost i viskoznost $nkCO_2$ slična je gasovima, što omogućava njegovo lako prodiranje u poroznu strukturu čvrstog materijala. Sušenjem hitozan gelova sa $nkCO_2$ izbegava se kolaps pora i zadržava porozna tekstura vlažnog materijala [8]. Dobijeni aerogelovi su lagani porozni materijali sa velikom specifičnom površinom i otvorenim porama [8]. Hitozan aerogelovi su posebno

Adresa autora: Stoja Milovanović, Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd, Karneگیjeva 4

Rad primljen: 13.03.2015.

Rad prihvaćen: 03.04.2015.

pogodni za primenu u farmaceutskoj i prehrambenoj industriji obzirom da se za njihovo sušenje ne koriste organski rastvarači [12].

Impregnacija polimernih nosača tradicionalnim postupcima vrši tako što se bioaktivne supstance dodaju reakcionoj smeši tokom same sinteze polimera ili potapanjem polimera u rastvor koji sadrži supstance za impregnaciju.

Nedostaci ovih metoda su upotreba organskih rastvarača, neželjene reakcije ili degradacija supstanci kojima se polimer impregnira, nizak prinos impregnacije i nehomogena disperzija aktivne komponente u čvrstoj fazi. Danas postoji sve veće interesovanje za primenu natkritičnih fluida za impregnaciju polimera bioaktivnim supstancama [3].

Natkritična impregnacija (NKI) podrazumeva rastvaranje bioaktivne supstance u natkritičnom fluidu i kontakt rezultujućeg rastvora sa polimerom [3,13]. Najveće prednosti NKI u odnosu na konvencionalne postupke sa organskim rastvaračima su mogućnost rada na relativno niskim temperaturama, impregnacija polimera termolabilnim i hidrofobnim supstancama, mogućnost impregnacije velikog broja prirodnih i sintetskih polimera [3], kontrolisano punjenje i dubina penetracije bioaktivne supstance promenom gustine natkritičnog fluida (promenom temperature i pritiska) i vremena impregnacije, potpuno uklanjanje rastvarača, mogućnost rada u sredini bez kiseonika [14] i homogena raspodela bioaktivne supstance unutar matriksa polimera [15].

Ovaj rad predstavlja prvi izveštaj o mogućnostima natkritične impregnacije timola na gelove hitozana. Ispitan je uticaj pripreme hitozan gelova, pre svega tipa umreživača i načina sušenja, na morfologiju gelova i količinu impregniranog timola primenom nkCO_2 .

2. EKSPERIMENTALNI RAD

2.1. Materijali

Za sintezu ksero- i aerogelova korišćen je hitozan molekulske mase 310000-375000 g/mol (Sigma-Aldrich, Nemačka), glutardialdehid (25%, ACROS Organics, Belgija), formaldehid (36-38%, Lach-ner, Češka), sirćetna kiselina (Zorka Pharma, Srbija), aceton (Zorka Pharma, Srbija) i komercijalni CO_2 (čistoća 99%, Messer-Tehnogas, Srbija). Timol (čistoća > 99%, Sigma-Aldrich, Nemačka) je korišćen za proces NKI.

2.2. Metode

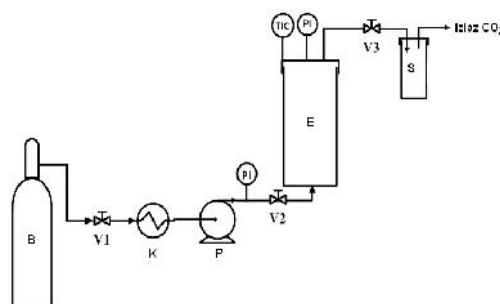
2.2.1. Priprema gelova hitozana

Rastvor hitozana u 0,1 M rastvoru sirćetne kiseline (1:100, w/w) mešan je magnetnom mešalicom (Age Magnetic Stirrer, VELP Scientifica) brzinom od 1000 o/min na sobnoj temperaturi tokom 5 h. Nakon toga je

postepeno ukapavan odgovarajući umreživač (formaldehid ili glutardialdehid) u cilju geliranja rastvora. Dobijeni hidrogelovi hitozana su prevedeni u acetogelove dodavanjem acetona i stajanjem na temperaturi od 8 °C u toku sedam dana.

Kserogelovi hitozana su dobijeni filtracijom acetogelova i sušenjem na vazduhu na sobnim uslovima do postizanja konstantne mase.

Aerogelovi hitozana su dobijeni sušenjem acetogelova pomoću nkCO_2 u posudi za rad pod visokim pritiscima (Autoclave Engineers Screening system, SAD) (slika 1).



Slika 1 - Šema laboratorijskog postrojenja Autoclave Engineers Screening System (B- boca sa CO_2 , K- kriostat, P- pumpe, E- ekstrakcioni sud, S- separator)

Acetogelovi su postavljeni na dno ekstraktora (E). Otvaranjem ventila V1 i V2, CO_2 se pumpom za tečnosti visokog pritiska (Milton Roy, Francuska) uvodi u ekstraktor koji je prethodno zagrejan do željene temperature. Nakon što se u sistemu dostigne željeni pritisak, ventili V1 i V2 se zatvaraju i sistem se drži na željenim uslovima određeno vreme (statičko sušenje) nakon koga sledi dekompresija otvaranjem ventila V3. Nakon ovog koraka, pristupa se dinamičkom sušenju sa konstantnim protokom nkCO_2 kroz sistem tokom određenog vremena.

Za dobijanje aerogelova, odabrane su tri metode sušenja.

Metoda I Natkritično sušenje acetogelova na 20 MPa i 40 °C se odvija u dva koraka: počinje se statičkim sušenjem u trajanju od 1 h sa dekompresijom od 2,5 MPa/min i nastavlja se dinamičkim sušenjem tokom 2 h koje se završava dekompresijom od 2,5 MPa/min.

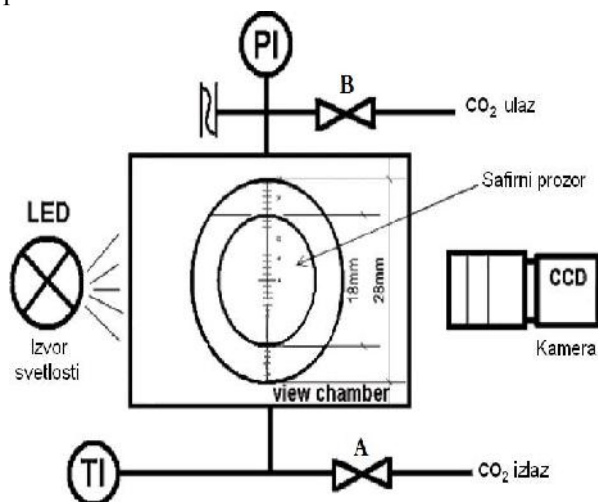
Metoda II Acetogelovi se suše na temperaturi od 50 °C i pritisku od 15 MPa u dva koraka: počinje se statičkim sušenjem u trajanju od 1 h i koje se završava dekompresijom od 2,5 MPa/min i nastavlja se dinamičkim sušenjem tokom 2 h i dekompresijom od 2,5 MPa/min.

Metoda III Acetogel hitozana se suši na temperaturi od 50 °C i pritisku od 15 MPa statičkom metodom 1 h nakon čega sledi brza dekompresija od

2,5 MPa/min. Ovaj postupak se ponavlja uzastopno 5 puta.

2.2.2. Natkritična impregnacija gelova hitozana

Natkritična impregnacija gelova hitozana timolom, statičkom metodom, je izvedena u ćeliji za rad pod visokim pritiscima (Eurotechnica, GmbH) koja je prikazana na slici 2.



Slika 2 - Šema ćelije za rad pod visokim pritiscima

Timol je, u staklenoj posudi, postavljen na dno suda, a gelovi hitozana, u poroznoj korpi, su postavljeni iznad timola. Nakon što je sud zatvoren i zagrejan, CO₂ je uveden pumpom za tečnosti visokog pritiska (Milton Roy, Francuska) sa vrha suda. Proces impregnacije je izveden sa odnosom gel:timol 1:1 na pritisaku 15 MPa, temperaturi 35 °C tokom 24 h, sa brzinom dekompresije od 0,3 MPa/min. Operativni uslovi za proces NKI su odabrani na osnovu prethodno ispitane rastvorljivosti timola u nkCO₂ [16].

Masa impregniranog timola (m_{Timol}) je određena gravimetrijski, na osnovu razlike masa gelova hitozana posle i pre impregnacije. Prinos impregnacije timola (I) je izračunat pomoću jednačine:

$$I(P, T, t) = \frac{m_{Timol}}{m_{Gel} + m_{Timol}} \cdot 100\% \quad (1)$$

gde je m_{Gel} - masa gela hitozana na početku procesa.

Važno je napomenuti da se u naučnoj literaturi, u oblasti impregnacije poroznih struktura pod visokim pritiscima, termin količina impregnirane supstance koristi za celu količinu supstance koja je ostala zarobljena u poroznoj strukturi bilo da se radi o adsorpciji u monosloju ili ne.

2.2.3. Karakterizacija gelova hitozana

Morfologija polimernih nosača je ispitana pomoću skenirajućeg elektronskog mikroskopa- FESEM (Mira3 XMU Tescan, Češka) pri naponu od 10 kV. Pre analize uzorci su presvučeni tankim slojem Au/Pd

(85/15) pomoću naparivača (Polaron SC502, Fisons Instruments, UK).

3. REZULTATI

3.1. Dobijanje ksero- i aerogelova hitozana

Ksero - i aerogelovi hitozana su dobijeni u tri koraka: (i) priprema hidrogela iz vodenog rastvora pomoću umreživača, (ii) priprema acetogela zamenom vode u hidrogelu i (iii) dobijanje ksero- ili aerogelova ekstrakcijom rastvarača iz gela. Ispitan je uticaj umreživača (formaldehid i glutardialdehid) vodenog rastvora hitozana na morfologiju ksero- i aerogelova (dobijenih sušenjem na vazduhu ili sa nkCO₂) i na njihovu impregnaciju timolom.

Nakon što su formirani hidrogelovi hitozana pomoću umreživača, voda u porama hidrogelova je zamenjena acetonom uz neznatnu kontrakciju gelova. Uklanjanje vode iz hidrogelova posebno je važno kod dobijanja aerogelova zbog malog afiniteta vode prema nkCO₂ [8].

Prilikom eliminacije tečnog rastvarača iz gela potrebno je izbeći kolaps već postojećih pora usled subsekventnog smanjivanja i pucanja suvog gela. Sušenje na vazduhu dovelo je do formiranja kserogelova koji nisu imali očuvanu strukturu hidrogela, za razliku od sušenja pomoću nkCO₂. Uslovi natkritičnog sušenja primenjeni u ovom radu su odabrani na osnovu ispitivanja sušenja acetogelova hitozana pomoću nkCO₂ [17]. Tokom sušenja dolazi do smanjenja zapremine gelova.

U zavisnosti od primenjenog umreživača dobijeni su ksero - i aerogelovi različite boje. Ksero- i aerogelovi pripremljeni sa formaldehidom su dobili naranđastu boju, dok su ksero- i aerogelovi pripremljeni pomoću glutardialdehida dobili braon boju.

Promena boje osušenih gelova hitozana, koji su dobijeni umrežavanjem kiselog rastvora hitozana formaldehidom i glutardialdehidom, je u skladu sa rezultatima istraživanja

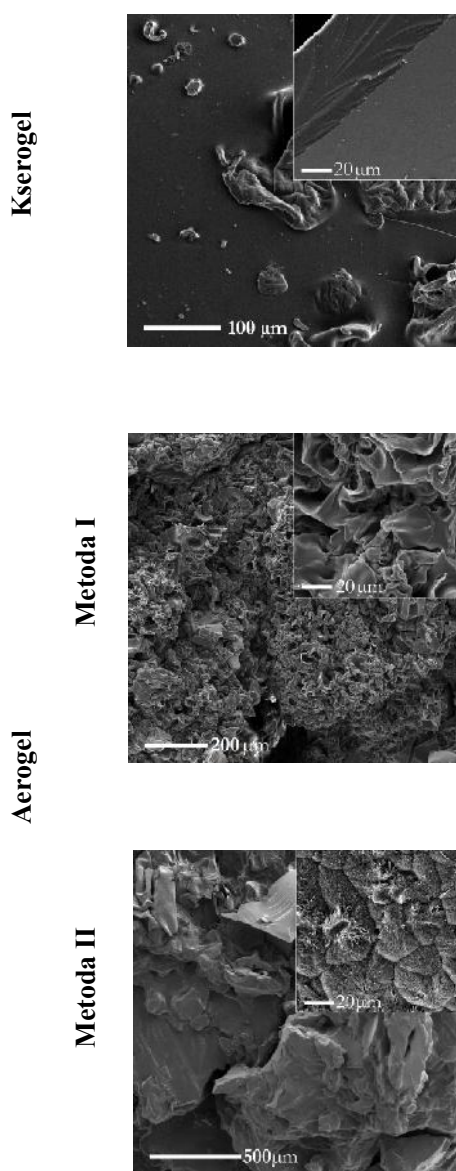
Ostrowska-Czubenko i saradnika [10], Chang i saradnika [18] i Monteiro i saradnika [19]. Boja gelova hitozana se povezuje sa koncentracijom umreživača formaldehida i glutardialdehida. Što je veći broj aldehidnih grupa umreživača, za formiranje gela hitozana, to će boja dobijenih gelova biti intenzivnija (boja može varirati od žute do braon) [19].

3.2. Karakterizacija gelova hitozana

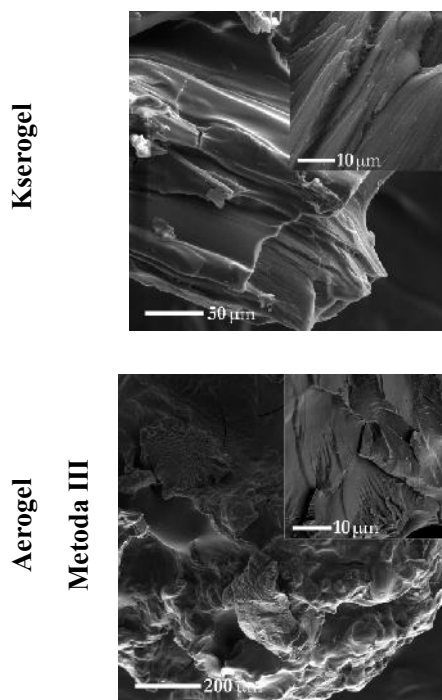
FESEM slike kserogela i aerogelova hitozana koji su umreženi formaldehidom i osušeni metodama I i II su prikazane na slici 3. Iz priloženog se vidi da je površina kserogelova uglavnom ravna, dok je kod aerogelova formirana 3D porozna struktura. Formiranje 3D strukture usled natkritičnog sušenja acetogela

se može objasniti na sledeći način: natkritičnim sušenjem, pod uticajem visoke rasvorljivosti nkCO_2 u tečnom rastvaraču gela (acetonu), dolazi do expandiranja tečne faze i curenja viška tečnosti iz gela; sadržaj CO_2 u porama gela raste sa vremenom dok se ne postignu natkritični uslovi za smešu nkCO_2 -rastvarač; na kraju, prisustvo natkritičnog fluida u porama bez tečne faze vodi do odsustva površinskog napona, čime se izbegava fenomen kolapsa pora gela [8].

FESEM slike ksero- i aerogela hitozana koji su umreženi glutardialdehidom i osušeni metodom III su prikazani na slici 4. Morfologija dobijenih gelova hitozana umreženih sa glutardialdehidom je slična.



Slika 3 - FESEM slike ksero- i aerogelova hitozana umreženih formaldehidom



Slika 4 - FESEM slike ksero- i aerogela hitozana umreženih glutardialdehidom

3.3. Rezultati natkritične impregnacije timola

Impregnacija sa nkCO_2 je proces kojim upravljaju fizičko-hemijska svojstva i interakcije koje se dešavaju između svih supstanci u procesu (bioaktivna supstanca, polimer, nkCO_2) [15]. Pored toga, veoma značajnu ulogu u procesu imaju operativni uslovi kao što su pritisak, temperatura, vreme, brzina dekompresije itd. [3,13]. Iz tog razloga je neophodno optimizovati sve pojedinačne korake pripreme gelova i odabira uslova impregnacije. Optimizovanje procesa NKI hitozan gelova timolom obuhvata: odabir uslova (pritisak, temperatura, vreme) koji će obezbediti optimalnu rastvorljivost timola u nkCO_2 i dovesti do velikog prinosa impregnacije i odabir metode za dobijanje suvih gelova hitozana (podrazumeva odabir umreživača za pripremu hidrogelova hitozana i odabir metode sušenja hidrogelova). Poznavanje podataka o rastvorljivosti aktivne komponente u natkritičnom fluidu je neophodno da bi se utvrdili optimalni procesni uslovi za projektovanje procesa [20] kako bi procesi sušenja, ekstrakcije ili impregnacije bili efikasni.

Varijacije rastvorljivosti rastvoraka sa promenom pritiska i temperature su veoma velike kako za tečne tako i za čvrste rastvorke [20] pa je izbor pritiska i temperature ključan za dati proces. Na osnovu prethodno ispitane rastvorljivosti timola u nkCO_2 [16] pritisak 15 MPa, temperatura 35 °C i vreme 24 h su odabrani kao optimalni za proces NKI gelova hitozana timolom.

Timol je uspešno impregniran u ksero- i aerogelove hitozana statičkom metodom pomoću nkCO_2 i dobijene vrednosti prinosa impregnacije su prikazane u tabeli 1.

Tabela 1. Rezultati prinosa impregnacije ksero- i aerogelova hitozana timolom

Umreživač	Metoda sušenja	I (%)
formaldehid	na vazduhu	3,76
	Metoda I	5,35
	Metoda II	11,30
glutaraldehid	na vazduhu	10,62
	Metoda III	10,82

Prinos impregnacije timola u kserogelove hitozana je zavasio od odabranog umreživača hidrogela, pa je za gel umrežen formaldehidom dobijen prinos 3,76% dok je za gel umrežen glutardialdehidom prinos impregnacije iznosio 10,62%, što je u skladu sa FESEM slikama i poroznijom strukturom gela umreženog glutardialdehidom.

Prinos impregnacije timola u aerogelove hitozana, osim što zavisi od odabranog umreživača hidrogela, zavisi i od metode sušenja. Prinos impregnacije aerogela, umreženog formaldehidom i osušenog metodom I je iznosio 5,35%, a osušenog metodom II je iznosio 11,30%. Prinos impregnacije aerogela hitozana koji je umrežen glutardialdehidom i osušen metodom III je iznosio 10,82%. Poređenjem dobijenih rezultata uočava se da su aerogelovi hitozana dali bolje rezultate sa većom količinom impregniranog timola nego kserogelovi hitozana. Takođe, poređenjem rezultata impregnacije aerogelova hitozana, koji su dobijeni različitim metodama natkričnog sušenja, može se zaključiti da su pritisak od 15 MPa i temperatura od 50 °C pogodniji za natkrično sušenje acetogela hitozana u cilju dobijanja visokog prinosa impregnacije.

Izbor umreživača i metode sušenja utiču na strukturu dobijenog polimera na takav način da je hitozan koji je umrežen formaldehidom i sušen sa nkCO_2 metodom II imao izraženu trodimenzionalnu strukturu i samim tim i veći prinos impregnacije (11,30%) u odnosu na aerogel hitozana umrežen glutardialdehidom. Hitozan kserogel koji je umrežen formaldehidom ima ravnu, vlaknastu površinu bez vidljivih pora što je rezultovalo najmanjim prinom impregnacije (3,76%). Ksero- i aerogel hitozana koji su umreženi glutaraldehidom su imali slične prinose impregnacije (10,62% i 10,82%). Ovi rezultati se slažu sa SEM slikama (slika 4) na kojima se može videti da ovi gelovi imaju veoma sličnu morfologiju.

U ovom radu, ksero- i aerogelovi hitozana su impregnirani timolom, na 15 MPa i 35 °C tokom 24 h statičkom metodom, sa prinom 3,76-11,30% koji je

zavasio od izbora umreživača vodenog rastvora hitozana (formaldehid ili glutardialdehid) i metode sušenja gelova (vazduh ili nkCO_2). U dostupnoj literaturi ne postoje podaci o NKI statičkom metodom timola na ksero- i aerogelove hitozana. Dias i saradnici [3] su impregnirali *N*-karboksibutilhitozan timolom na 20 MPa i 40°C tokom 3 h u sistemu sa mešanjem sa prinom 2,44%. Diez-Municio i saradnici [11] su impregnirali aerogelove hitozana (napravljenih nkCO_2 -sušenjem acetogelova na 7,4 MPa, 32 °C, tokom 2 h) laktulozom (sa kosolventom etanolom) dinamičkom metodom na 10 MPa i 60-100 °C tokom 1 h sa prinom 2,45-3,96%. Rezultati dobijeni u ovoj studiji su uporedivi sa navedenim literaturnim podacima.

4. ZAKLJUČAK

Predstavljeni rezultati su pokazali izvodljivost procesa impregnacije ksero- i aerogelova hitozana timolom pomoću nkCO_2 . Prinos impregnacije zavisi od izbora umreživača vodenog rastvora hitozana i metode sušenja acetogela. NkCO_2 -sušenje obezbeđuje stvaranje trodimenzionalne strukture gelova hitozana čime se postiže veći prinos impregnacije. Od ispitanih gelova, najveći prinos impregnacije je dobijen za aerogel osušen na 50 °C i 15 MPa koji je pripremljen umrežavanjem hidrogela sa formaldehidom (11,30%). Za kserogel i aerogel hitozana koji su dobijeni umrežavanjem glutardialdehidom postignuti su približni prinosi impregnacije (10,62% i 10,82%), što ukazuje da je dobijeni kserogel pogodan nosač u procesu NKI timola.

Rezultati ove studije su ukazali na veliki potencijal nkCO_2 za pripremu i impregnaciju hitozan gelova pogodnih za primenu u farmaciji i biomedicini.

5. ZAHVALNOST

Rad je finansiran od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije (projekat III45017).

NAPOMENA

Rad saopšten na Konferenciji 13th Young Researchers Conference Materials Science and Engineering, Belgrade, December 10-12, 2014.

LITERATURA

- [1] Delago, B., Food Microbiol., 21, p. 327-334, 2004.
- [2] Sokovic, M., Eur. J. Plant Pathol., 116, p. 211-224, 2006.
- [3] Dias, A.M.A., Int. J. Pharm., 408, p. 9-19, 2011.
- [4] Garcia-Gonzalez, C.A., J. Supercrit. Fluid, 66, p. 297-306, 2012.
- [5] Jovic, D., Hem. Ind., 55, p. 457-469, 2004.

- [6] Sing, A., B. Mater. Sci., 29, p. 233-238, 2006.
- [7] Rinki, K., Macromol. Symp., 277, p. 36-42, 2009.
- [8] Garcia-Gonzalez, C.A., Carbohydr. Polym., 86, p. 1425-1438, 2011.
- [9] Dash, M., Prog. Polym. Sci., 36, p. 981-1014, 2011.
- [10] Ostrowska-Czubenko, J., PCACD, 15, p. 147-156, 2011.
- [11] Diez-Municio, M., J. Supercrit. Fluid, 57, p. 73-79, 2011.
- [12] Franovich, M.A., Mater. Sci. Eng., 32, p. 961-968, 2012.
- [13] Kikic, I., Curr. Opin. Solid St. M., 7, p. 399-405, 2003.
- [14] de Souza, A.C., Carbohydr. Polym., 102, p. 830-837, 2014.
- [15] Cabezas, L.I., J. Supercrit. Fluid, 63, p. 155-160, 2012.
- [16] Milovanovic, S., J. Supercrit. Fluid, 84, p. 173-181, 2013.
- [17] Ozdemir, E., J. Supercrit. Fluid, 75, p. 120-127, 2013.
- [18] Chang, X., J. Phys. Chem. B, 112, p. 7721-7725, 2008.
- [19] Monteiro, O.A.C., Int. J. Biol. Macromol., 26, p. 119-128, 1999.
- [20] Adachi, Y., Fluid Phase Equilibr., 14, p. 147-156, 1983.

SUMMARY

OPTIMIZATION OF CHITOSAN GEL PREPARATION FOR SUPERCRITICAL IMPREGNATION OF THYMOL

The impregnation of differently prepared chitosan gels with thymol using supercritical carbon dioxide (scCO₂) was studied in order to obtain new materials with added value without the use of organic solvents. The optimum conditions of supercritical impregnation (15 MPa, 35 °C and 24 h) were defined based on previously investigated thymol solubility in scCO₂. Cross-linkers formaldehyde and glutardialdehyde were used to prepare chitosan hydrogels. The obtained hydrogels of chitosan were converted in acetogels and then dried with air or by using scCO₂ in order to obtain xerogels and aerogels. The best results, in terms of morphology and yield of impregnation with thymol, have been achieved for the aerogel of chitosan (11.30%) which was obtained with cross-linker formaldehyde and dried with scCO₂ at 15 MPa and 50 °C.

Key words: chitosan gels, thymol, supercritical carbon dioxide, supercritical impregnation