

COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA INSUMOS AGRÍCOLAS Y USOS DE LOS MISMOS CAMPO TÉCNICO

La invención se refiere a la nutrición de las plantas y específicamente a la asociación, encapsulación, funcionalización, atrapamiento y recubrimiento de insumos agrícolas tales como
5 nutrientes.

ANTECEDENTES

La producción agrícola en todo el mundo se enfrenta a desafíos sin precedentes debido al cambio climático, el clima extremo, la resistencia a los patógenos de la erosión del suelo y la contaminación ambiental. Se proyecta que la población mundial alcance alrededor de 10 mil millones para 2050,
10 por lo que se espera que la demanda de alimentos aumente en un 60%. La tasa de aumento de rendimiento y fertilizantes (un insumo agrícola) con respecto a la relación rendimiento lograda por la revolución verde ha ido disminuyendo y se espera que el cambio climático perjudicial limite aún más la productividad de los cultivos y la calidad nutricional. Para aumentar el rendimiento y mejorar la calidad nutricional, las plantas requieren una nutrición equilibrada además del agua y la luz
15 solar. Sin embargo, los insumos agrícolas convencionales y su entrega son altamente ineficientes debido a la baja eficiencia de uso y liberación ambiental. Por lo tanto, se requieren formulaciones y composiciones más efectivas que puedan estimular el crecimiento de las plantas, aliviar el efecto negativo del estrés abiótico/biótico, administrar el ingrediente activo de manera eficiente a la planta en el momento adecuado en la cantidad y liberación correctas en respuesta a la señal de la
20 planta.

Los materiales renovables a base de biomasa se están explorando a nivel mundial debido a su importancia para una economía verde circular y la sostenibilidad. La quitina es el amino polisacárido natural más abundante. Está presente más abundantemente en crustáceos, insectos y hongos. La quitina y sus derivados están siendo considerados como un nuevo biomaterial funcional de alto
25 potencial en aplicaciones interdisciplinarias. Por ejemplo, el quitosano, un derivado desacetilado de la quitina, se utiliza en industrias/sectores como la medicina, el textil, la alimentación, la energía y el agua. Hasta la fecha, la aplicación traslacional de quitosano en la agricultura está poco explotada.

COMPENDIO

30 En un primer aspecto, la descripción proporciona métodos para modificar el quitosano para la formulación de nanopartículas basadas en quitosano.

En un segundo aspecto, la descripción proporciona nanopartículas a base de quitosano y métodos para prepararlas. Las nanopartículas a base de quitosano pueden incluir nitrógeno y/o un compuesto rico en nitrógeno y/o mezclas de compuestos tales como, de modo no taxativo, nitrato
35 de potasio, nitrato de calcio, nitrato de magnesio, nitrato de urea, nitrato de amonio de urea, nitrato de amonio, hidróxido de amonio, sulfato de amonio, urea-hidroxiapatita, aminoácidos tales como arginina, cistina, histidina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptófano, tirosina, valina, glutamina, ácido glutámico, glicina, prolina, taurina, ácido aspártico, serina y alanina.

En un tercer aspecto, la descripción proporciona un método para tratar una planta o una parte de la planta. El método para tratar la planta o parte de planta incluye la aplicación con una composición que comprende una nanopartícula a base de quitosano. La nanopartícula a base de quitosano puede estar en una solución, suspensión o formulación que tiene una forma física que puede ser sólida, líquida o en aerosol y se puede aplicar a cualquier parte de la planta que incluye una semilla, hoja, tallo, flor, fruto o raíz de una planta a lo largo de su ciclo de vida. El método puede incluir reemplazar una cantidad de un fertilizante o fertilizantes de nitrógeno tradicionales con una solución de una nanopartícula a base de quitosano.

En un cuarto aspecto, la nanopartícula a base de quitosano se puede usar como parte de un método para preparar un medio de crecimiento de plantas. Por ejemplo, el método puede incluir tratar el medio de crecimiento con una solución de nanopartículas a base de quitosano. El medio de crecimiento puede ser tierra, turba, musgo, residuos de madera, moho foliar, aserrín, corteza, bagazo, cáscara de arroz, arena, perlita, vermiculita, arcilla calcinada, poliestireno, resinas de urea formaldehído, agar o agarosa y líquidos hidropónicos, medio de cultivo de tejidos vegetales in vitro e in vivo utilizado para variedades de semillas/plantas híbridas, modificadas genéticamente o no modificadas genéticamente y combinaciones de estos.

Se proporcionan aspectos y modalidades adicionales en los dibujos, la descripción detallada y las reivindicaciones que anteceden.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Los siguientes dibujos se proporcionan para ilustrar determinadas modalidades descritas en la presente. Los dibujos son meramente ilustrativos y no pretenden limitar el alcance de las invenciones reivindicadas y no pretenden mostrar todas las características o modalidades potenciales de las invenciones reivindicadas. Los dibujos no están necesariamente dibujados a escala; en algunos casos, ciertos elementos del dibujo pueden ampliarse con respecto a otros elementos del dibujo con fines ilustrativos.

La Figura 1 es una representación de las caracterizaciones morfológicas de la formulación de quitosano líquido (TgA-TgE) obtenida mediante microscopía electrónica.

La Figura 2 es una representación de caracterizaciones morfológicas de la formulación de quitosano líquido (CTgA-CTgE) obtenida mediante microscopía electrónica.

La Figura 3 es una representación de la caracterización coloidal con referencia al tamaño hidrodinámico de la formulación de quitosano líquido (TgA-E y CTgA-CTgE) obtenida mediante dispersión dinámica de luz.

La Figura 4 es una representación de la caracterización coloidal con referencia al potencial zeta superficial de la formulación de quitosano líquido (TgA-E y CTgA-CTgE) obtenida mediante dispersión dinámica de luz.

La Figura 5 es una tabla que representa el pH y TKN de los lotes de nanopartículas a base de quitosano 1-7.

La Figura 6 es el análisis de longitud de onda UV de los lotes de nanopartículas a base de quitosano 1-7.

La Figura 7 es el análisis FTIR de la nanopartícula 1 basada en quitosano.

La Figura 8 es el análisis FTIR de la nanopartícula 2 basada en quitosano.

5 La Figura 9 es el análisis FTIR de la nanopartícula 3 basada en quitosano.

La Figura 10 es el análisis FTIR de la nanopartícula 4 basada en quitosano.

La Figura 11 es el análisis FTIR de la nanopartícula 5 basada en quitosano.

La Figura 12 es el análisis FTIR de la nanopartícula 6 basada en quitosano.

La Figura 13 es el análisis FTIR de la nanopartícula 7 basada en quitosano.

10 La Figura 14 es una gráfica de la fitotoxicidad de una formulación de nanopartícula a base de quitosano utilizada en un sistema hidropónico.

La Figura 15 es una gráfica de la calificación de vigor después de la aplicación de una formulación de nanopartícula a base de quitosano utilizada en un sistema hidropónico.

15 La Figura 16 es una gráfica de los cambios en el ancho de la planta después de la aplicación de una formulación de nanopartícula a base de quitosano utilizada en un sistema hidropónico.

La Figura 17 es una gráfica del peso del brote después de la aplicación de una formulación de nanopartícula a base de quitosano utilizada en un sistema hidropónico.

La Figura 18 es una gráfica del peso de la raíz después de la aplicación de una formulación de nanopartícula a base de quitosano utilizada en un sistema hidropónico.

20 La Figura 19A es un gráfico del peso total de la cosecha de maíz después de la aplicación foliar de múltiples formulaciones diferentes a diferentes parcelas de maíz.

La Figura 19B es un gráfico del porcentaje de nitrógeno presente en muestras de tejido foliar en la etapa V8 de crecimiento de maíz.

25 La Figura 20 es una gráfica de los efectos de una formulación de la nanopartícula a base de quitosano cuando se agrega al maíz plantado con fertilizantes de nitrógeno de acuerdo con las prácticas agrícolas estándar, y cuando se agrega al maíz plantado con fertilizantes de nitrógeno de acuerdo con las prácticas agrícolas estándar menos 40 libras (18,14kg) de nitrógeno aplicado al suelo.

30 La Figura 21 es una gráfica de los efectos de una formulación de la nanopartícula a base de quitosano con glifosato.

La Figura 22 es una gráfica de los efectos de una formulación de la nanopartícula a base de quitosano con 2,4-D.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

35 La siguiente descripción enumera diversos aspectos y modalidades de las invenciones descritas en la presente. No se pretende que ninguna modalidad particular defina el alcance de la invención. Más bien, las modalidades proporcionan ejemplos no taxativos de diversas composiciones y métodos que se incluyen dentro del alcance de las invenciones reivindicadas. La descripción debe

leerse desde la perspectiva de un experto en la técnica. Por lo tanto, la información que es bien conocida por el experto en la técnica no se incluye necesariamente.

Definiciones

Los siguientes términos y frases tienen los significados que se indican a continuación, a menos que se indique lo contrario en el presente documento. Esta descripción puede emplear otros términos y frases no definidos expresamente en la presente. Dichos otros términos y frases tendrán los significados que tendrían dentro del contexto de la presente descripción para los expertos en la técnica. En algunos casos, un término o frase se puede definir en singular o plural. En tales casos, se entiende que cualquier término en singular puede incluir su contraparte en plural y viceversa, a menos que se indique expresamente lo contrario.

Tal como se usa en el presente documento, las formas singulares "un", "una" y "el/la" incluyen referentes plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por ejemplo, la referencia a "un sustituyente" abarca un único sustituyente, así como dos o más sustituyentes y similares.

Tal como se usa en la presente, "por ejemplo", "por ejemplo", "tal como" o "que incluye" pretenden introducir ejemplos que aclaran aún más la materia más general. A menos que se indique expresamente lo contrario, dichos ejemplos se proporcionan solo como una ayuda para comprender las modalidades ilustradas en la presente descripción y no pretenden ser taxativos de ninguna manera. Estas frases tampoco indican ningún tipo de preferencia por la modalidad descrita.

Tal como se usa en la presente, "nanopartícula a base de quitosano" significa una partícula que comprende quitosano a la que se acopla, une, funcionaliza o encapsula una molécula que contiene nutrientes mediante enlaces intermoleculares o intramoleculares iónicos, no iónicos, no covalentes o covalentes, o está atrapada dentro de una matriz polimérica de quitosano. El nutriente en la molécula que contiene nutrientes puede ser nitrógeno. El nutriente puede ser cualquier macronutriente primario, macronutriente secundario o micronutriente. Dichos nutrientes incluyen fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg), azufre (S), hierro (Fe), zinc (Zn), cobre (Cu), manganeso (Mn), molibdeno (Mo), níquel (Ni) y boro (B) y combinaciones de estos.

Se han producido varias formulaciones para nanopartículas a base de quitosano y soluciones de nanopartículas a base de quitosano bajo la marca registrada alignN®.

Tal como se usa en la presente, "asociado con o asociación" significa moléculas que están unidas, acopladas, funcionalizadas, atrapadas, recubiertas, encapsuladas o unidas de otro modo. Dicha unión se puede lograr mediante enlace iónico, no iónico, no covalente o covalente.

Tal como se usa en la presente, "fertilizante de nitrógeno tradicional" significa cualquier sustancia agregada al suelo o directamente a las plantas que aumenta la disponibilidad de nitrógeno para la planta. Estos fertilizantes pueden ser granulares o líquidos. Los fertilizantes granulares son gránulos que se pueden esparcir alrededor de las plantas o transmitir a través de los campos. Los fertilizantes líquidos pueden ser absorbidos por las plantas cuando se aplican a través de sistemas

de riego o se rocían directamente sobre el follaje. Dichos fertilizantes tienen nitrógeno en una de varias formas, incluyendo amoníaco, amonio, urea y nitrato.

Tal como se usa en la presente, "fitotoxicidad" significa cualquier efecto adverso sobre el crecimiento, la fisiología o el metabolismo de las plantas causado por una sustancia química, tal como niveles elevados de fertilizantes, herbicidas, metales pesados o nanopartículas. Los efectos fitotóxicos generales incluyen la alteración del metabolismo de las plantas, la inhibición del crecimiento o la muerte de las plantas. Los cambios en el metabolismo y el crecimiento de las plantas son el resultado de la alteración del funcionamiento fisiológico, incluida la inhibición de la fotosíntesis, la absorción de agua y nutrientes, la división celular o la germinación de las semillas.

La asociación y la liberación lenta de nutrientes es un método para equilibrar las necesidades nutricionales de las plantas. Una de esas necesidades nutricionales es el nitrógeno en forma de amina, nitrato, amonio y amoníaco. La asociación de compuestos de nitrógeno que tienen grupos funcionales químicos como amina, nitrato, amoníaco, amonio o cualquiera o todos estos tales como, de modo no taxativo, nitrato de potasio, nitrato de calcio, nitrato de magnesio, nitrato de urea, nitrato de amoníaco de urea, nitrato de amonio, hidróxido de amonio, sulfato de amonio, urea-hidroxiapatita, aminoácidos tales como arginina, cistina, histidina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptófano, tirosina, valina, glutamina, ácido glutámico, glicina, prolina, taurina, ácido aspártico, serina y alanina, y todas las combinaciones posibles de estos, es una forma de liberar nitrógeno en cantidades eficaces para la utilización del crecimiento vegetal. Hay varios beneficios del uso de quitosano como agente de asociación de nitrógeno. El primer beneficio es que el polímero de quitosano es bioseguro y biodegradable. El polímero de quitosano tiene un origen biológico y se ha utilizado para la inmovilización de enzimas para alimentos y en aplicaciones de biosensores. El quitosano se puede cosechar de hongos, camarones, cangrejos, langostas o cualquier combinación de estas fuentes. Un segundo beneficio, en comparación con los recubrimientos inorgánicos como los recubrimientos de azufre, es la ausencia de grietas. Las grietas en el recubrimiento causan una liberación inmediata del nutriente recubierto al entrar en contacto con el agua. La liberación inmediata del nutriente anula el propósito de la asociación, que es liberar lentamente el nutriente. Un tercer beneficio del polímero de quitosano es la salud general del suelo. El polímero de quitosano da como resultado una menor acidificación del suelo. La acidificación del suelo puede ser perjudicial para especies vegetales específicas. Los recubrimientos como el azufre reducen el pH del suelo. Además, los microbios del suelo son una parte importante de la salud del suelo. Los polímeros sintéticos no pueden ser metabolizados por los microbios del suelo.

Las modalidades incluyen nanopartículas a base de quitosano. En determinadas modalidades, las nanopartículas a base de quitosano comprenden nitrógeno en la estructura de amina y/o nitrato y/o amoníaco y/o amonio. El nitrógeno puede estar asociado, acoplado, adherido o asociado por/en las nanopartículas a base de quitosano. En modalidades particulares, el nitrógeno se encuentra en forma de amina, nitrato, amonio y/o amoníaco se puede seleccionar de nitrato de potasio, nitrato

de calcio, nitrato de magnesio, nitrato de urea, nitrato de amoníaco de urea, nitrato de amonio, hidróxido de amonio, sulfato de amonio, urea-hidroxiapatita, aminoácidos tales como arginina, cistina, histidina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptófano, tirosina, valina, glutamina, ácido glutámico, glicina, prolina, taurina, ácido aspártico, serina, alanina y todas las combinaciones de estos.

En determinadas modalidades, las nanopartículas a base de quitosano pueden comprender al menos 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 85, 90 o 95% (p/v) de nitrógeno. En modalidades particulares, al menos 50, 55, 60, 65, 70, 75, 85, 90 o 95% del nitrógeno se encuentra en la forma química de la amina y/o nitrato, amonio y/o amoníaco. En determinadas modalidades, las nanopartículas a base de quitosano pueden comprender aproximadamente 19,87% (p/v) de nitrógeno. En determinadas modalidades, las nanopartículas a base de quitosano pueden comprender aproximadamente 15,64% (p/v) de nitrógeno.

En determinadas modalidades, las nanopartículas a base de quitosano pueden comprender al menos 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 85, 90 o 95% (p/p) de nitrógeno. En modalidades particulares, al menos 50, 55, 60, 65, 70, 75, 85, 90 o 95% del nitrógeno se encuentra en la forma química de la amina y/o nitrato y/o amoníaco y/o amonio. En determinadas modalidades, las nanopartículas a base de quitosano pueden comprender aproximadamente 16,15% (p/p) de nitrógeno. En determinadas modalidades, las nanopartículas a base de quitosano pueden comprender aproximadamente 13,37% (p/p) de nitrógeno.

En determinadas modalidades, las nanopartículas a base de quitosano pueden comprender al menos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 o 40 % (p/v) de nitrógeno total, y al menos 5, 10, 15, 20, 25 o 30% de nitrógeno de urea, y al menos 1, 5, 10, 15 o 20% de nitrógeno de sulfato de amonio. En determinadas modalidades, las nanopartículas a base de quitosano pueden comprender quitosano = 0,3%, nitrógeno total (p/v) = 15,64%, sulfato de amonio total (con enlazador) = 19,06%, N en urea = 11,65%, N en AS = 3,99%, S en AS = 4,62%, sulfato = 13,84, sorbato de potasio: 0,01%,

En determinadas modalidades, las nanopartículas a base de quitosano pueden comprender al menos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 o 40 % (p/v) de nitrógeno total, y al menos 5, 10, 15, 20, 25 o 30% de nitrógeno de urea, y al menos 1, 5, 10, 15 o 20% de nitrógeno de sulfato de amonio.

En determinadas modalidades, las nanopartículas a base de quitosano pueden comprender quitosano = 0,2%, nitrógeno total (p/v) = 19,87%, sulfato de amonio total (con enlazador) = 37,7%, N en urea = 11,96%, N en AS = 7,91%, S en AS = 9,1%, sulfato = 27,4, sorbato de potasio: 0,01%,

En una modalidad, el proceso para formar las nanopartículas a base de quitosano comienza con el polímero de quitosano. La fuente de quitosano puede ser hongos, camarones, cangrejos, langostas o calamares, o una mezcla de ellos. En determinadas modalidades, el quitosano tiene un grado de desacetilación (DDA): >80%, MW: <110 KDa. En modalidades particulares, el DDA es > 85%. La DDA puede ser del 90%. El DDA puede ser > 95%. En modalidades particulares, el DDA es

aproximadamente 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100%.

- Antes de su uso para la formulación de nanopartículas, el quitosano debe disolverse en una solución. Medio de disolución: agua ácida que tiene rangos de pH entre 1 y 6,5 o que tiene un pH < 1, < 2, < 3, < 4, < 5, < 5,5. El ácido utilizado puede ser cualquier ácido. En modalidades particulares, el ácido utilizado es uno o una combinación del ácido que incluye uno o más de ácido acético, ácido cítrico, ácido láctico, ácido málico, ácido tartárico, ácido fórmico, ácido acetilsalicílico, ácido oxálico, ácido succínico, ácido benzoico, ácido fólico, ácido pirúvico, ácido butírico, ácido propiónico, ácido caproico, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, ácido fluorhídrico, ácido perclórico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yódico, ácido húmico, ácido fúlvico, aminoácido, ácidos nucleicos (ADN y ARN), ácido bórico, ácido crómico, ácido cianúrico, ácido hialurónico, ácido arsénico y ácido carboxílico, y peróxido de hidrógeno y dióxido de carbono. Para disolver el quitosano, la solución ácida acuosa se puede mantener a una temperatura entre aproximadamente 68 y aproximadamente 212 grados F. En modalidades particulares, la temperatura se mantiene a aproximadamente 68, 72, 82, 92, 201, 112, 122, 132, 142, 152, 162, 172, 182, 192, 202 o 212 grados F. Durante todo el período de reacción, la solución se puede mantener en agitación a rpm entre aproximadamente 50 y aproximadamente 2500 rpm. Después de completar la reacción, típicamente entre 0,3 y 4 horas, la solución se filtró a través de malla 200 (74 micras) seguido de más de malla 635 (<20 micras). En la solución filtrada, se agregan agentes antimicrobianos tales como, de modo no taxativo, sorbato de potasio (0,1% v/v). En determinados casos, tal como se describe a continuación, se agrega un potenciador de acoplamiento tal como tripolifosfato de sodio y/o sulfato de amonio en la solución antes de la adición de agentes antimicrobianos.
- En una modalidad, la reacción se lleva a cabo con soluciones específicas preparadas de acuerdo con uno y/o todos los procedimientos en el Ejemplo 1 a la temperatura entre 68 y 250 grados F. Durante todo el período de reacción, la solución se mantuvo en agitación a 400 rpm para la uniformidad de las sustancias. Después de completar la reacción, típicamente entre 0,3 y 4 horas, la solución se filtró a través de malla 200 (74 micras) seguido de más de malla 635 (<20 micras).
- El % de nitrógeno en la solución final se mantuvo entre 0,1% y 100%, específicamente entre 18-24% usando el compuesto y/o mezcla de compuestos descritos anteriormente.
- En determinadas modalidades, las nanopartículas a base de quitosano pueden formarse en presencia de y/o cargarse con nitrógeno en el formo de amina y/o nitrato y/o amoníaco y/o amonio. El nitrógeno puede estar al menos parcialmente asociado por/en las nanopartículas a base de quitosano. En modalidades particulares, el nitrógeno en forma de amina, nitrato, amonio y/o amoníaco se puede seleccionar de nitrato de potasio, nitrato de calcio, nitrato de magnesio, nitrato de urea, nitrato de amoníaco de urea, nitrato de amonio, sulfato de amonio, hidróxido de amonio, urea-hidroxiapatita, aminoácidos tales como arginina, cistina, histidina, leucina, lisina, metionina,

treonina, triptófano, tirosina, valina, glutamina, ácido glutámico, glicina, prolina, taurina, ácido aspártico, serina, alanina y combinaciones de estos.

> 95% de las partículas pueden estar en forma esférica, casi esférica o pequeños fragmentos lineales que tienen un tamaño entre 0,1 nm y 8 micras. (Por medición TEM). 0,1 nm y 10 micras con índice de polidispersidad entre 0,01 y 0,99 (por medición DLS). El potencial zeta superficial osciló entre +5 y 70 mV (medido por DLS).

- Las modalidades incluyen métodos para tratar una planta o parte del pantalón con cualquiera de las composiciones descritas en la presente. La parte de planta puede ser cualquier parte de planta que incluye, de modo no taxativo, una semilla, hoja, tallo, flor, fruto o raíz de una planta. Los ejemplos de especies de partes de plantas incluyen, de modo no taxativo, cereales tales como trigo, maíz o maíz, cebada, centeno, avena; canola, algodón, berenjena, lechuga, sorgo, soja, arroz, colza, remolacha azucarera, caña de azúcar, uvas, legumbres, lentejas, girasoles, alfalfa, frutos cítricos; frutas de hueso; nueces de árbol, cacahuetes; café; té; fresas; césped; verduras, tales como tomates, papas, cucurbitáceas y lechuga.
- Las modalidades de métodos para tratar una planta o parte de una planta pueden incluir agregar una nanopartícula a base de quitosano junto con la aplicación de un insumo agrícola tradicional o reemplazar la totalidad o una parte de un insumo agrícola tradicional. El reemplazo de un insumo agrícola con una nanopartícula a base de quitosano puede reemplazar entre 0% y 100% de la cantidad total del insumo agrícola con una nanopartícula a base de quitosano como se describe en la presente. En algunas modalidades, el porcentaje de insumo agrícola que se reemplaza es de aproximadamente 0, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 100. En algunas modalidades, la cantidad de nitrógeno que se reemplaza es 25%. En algunas modalidades, el insumo agrícola que se reemplaza es nitrógeno. En algunas modalidades, el porcentaje de nitrógeno que se reemplaza es de aproximadamente 0, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 100. En algunas modalidades, el nitrógeno total aplicado se redujo en aproximadamente 25% con la adición de la formulación de nanopartículas a base de quitosano con un rendimiento estadísticamente igual. Otra forma de afirmar esto es que la cantidad total de nitrógeno utilizada en la nanopartícula con bajo contenido de nitrógeno más la nanopartícula a base de quitosano fue del 75% del nitrógeno utilizado en la nanopartícula con alto contenido de nitrógeno con el mismo rendimiento. El reemplazo de otro insumo agrícola con la nanopartícula a base de quitosano comienza con la eliminación de un porcentaje del otro insumo agrícola. En algunas modalidades, el porcentaje de insumo agrícola que se elimina es de aproximadamente 0, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 100 por ciento. En algunas modalidades, el insumo agrícola que se elimina es nitrógeno. En algunas modalidades, el porcentaje de nitrógeno que se elimina es de aproximadamente 0, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 100 por ciento. Además de la eliminación de un insumo agrícola como el nitrógeno, el reemplazo del insumo agrícola como el nitrógeno requiere que se agregar o aplicar una cantidad de nitrógeno en la nanopartícula a base

de quitosano a la planta o parte de la planta. En algunas modalidades, el porcentaje de nitrógeno en la nanopartícula a base de quitosano que se agregará es aproximadamente 0, 1, 2, 3, 4, 5, 5,5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 o 50 de la cantidad de insumo agrícola, tal como nitrógeno, que se eliminó. En algunas modalidades, el porcentaje de la nanopartícula a base de quitosano que se va a agregar es de aproximadamente 5,5 por ciento de la cantidad de nitrógeno eliminado.

El reemplazo de un insumo agrícola con una nanopartícula a base de quitosano puede reemplazar entre el 1% y el 100% de la cantidad total del insumo agrícola con una nanopartícula a base de quitosano. En algunas modalidades, el insumo agrícola se agrega a un sistema hidropónico. En algunas modalidades, el porcentaje de insumo agrícola que se reemplaza es de aproximadamente 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 100. En algunas modalidades, la cantidad de insumos agrícolas que se reemplazan es del 70%. En algunas modalidades, el insumo agrícola que se reemplaza es nitrógeno. En algunas modalidades, el porcentaje de nitrógeno que se reemplaza es aproximadamente 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 100. En algunas modalidades, el nitrógeno total aplicado se redujo en aproximadamente 70% con la adición de la formulación de nanopartículas a base de quitosano con un rendimiento de biomasa estadísticamente igual. Otra forma de afirmar esto es que la cantidad total de nitrógeno utilizada en la nanopartícula con bajo contenido de nitrógeno más la nanopartícula a base de quitosano fue del 30% del nitrógeno utilizado en la nanopartícula con alto contenido de nitrógeno con el mismo rendimiento. El reemplazo de otro insumo agrícola con la nanopartícula a base de quitosano comienza con la eliminación de un porcentaje del otro insumo agrícola. En algunas modalidades, el porcentaje de insumo agrícola que se elimina es de aproximadamente 0, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 100 por ciento. En algunas modalidades, el insumo agrícola que se elimina es nitrógeno. En algunas modalidades, el porcentaje de nitrógeno que se elimina es de aproximadamente 0, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 100 por ciento. En algunas modalidades, la cantidad de nitrógeno que se elimina es del 70 por ciento. Además de la eliminación de un insumo agrícola como el nitrógeno, el reemplazo del insumo agrícola como el nitrógeno requiere que se agregue o aplique una cantidad de nitrógeno en la nanopartícula a base de quitosano a la planta o parte de la planta. En algunas modalidades, el porcentaje de nitrógeno en la nanopartícula a base de quitosano que se agregará es aproximadamente 0, 1, 2, 3, 4, 5, 5,5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 o 50 de la cantidad de insumo agrícola, tal como nitrógeno, que se eliminó. En algunas modalidades, el porcentaje de la nanopartícula a base de quitosano que se va a agregar es de aproximadamente 8,4 por ciento de la cantidad de nitrógeno eliminado.

El reemplazo del insumo agrícola, tal como nitrógeno, con las nanopartículas a base de quitosano, tal como se describe en la presente, reemplaza una mayor cantidad de insumo agrícola, tal como nitrógeno, con una menor cantidad de la nanopartícula a base de quitosano. Típicamente, un campo tiene de 0 a 200 kg de nitrógeno aplicado a un campo de maíz. La reducción de nitrógeno puede ser de aproximadamente 15 a 25 por ciento. En algunas modalidades, por ejemplo, 88,5

kg/acre se reduce en 18,14 kg para una reducción del 20%. En modalidades particulares, por ejemplo, un campo de maíz que tradicionalmente se fertiliza al modificar 68,04 kg/acre de nitrógeno en el suelo podría reemplazarse al modificar 49,90 kg/acre de nitrógeno en el suelo y rociar las plantas con una nanopartícula a base de quitosano rociada a 5 l/acre. Esta es una
 5 reducción del 27% en la cantidad total de nitrógeno aplicado a las plantas. En esta modalidad, las plantas que reciben el aerosol de nanopartículas a base de quitosano crecen igual o más que las plantas que recibieron la cantidad total de fertilizante de nitrógeno.

En un segundo ejemplo, la solución de nanopartículas a base de quitosano se usa en un sistema hidropónico. La adición de nutrientes se agrega al fluido hidropónico. En un ambiente alto en
 10 nitrógeno, se agrega nitrógeno a la solución hidropónica para que cada planta tenga un promedio de 105,50 mg de N aplicado y el ambiente bajo en nitrógeno reciba un promedio de 24,99 mg de nitrógeno por planta. El bajo contenido de nitrógeno también recibe 6,73 +/- 0,1 mg de nitrógeno por planta a partir de una nanopartícula a base de quitosano en un aerosol foliar. Esta es una eliminación del 76% del nitrógeno hidropónico, donde el 8,4% del nitrógeno eliminado se
 15 reemplaza con la nanopartícula a base de quitosano mediante aplicación foliar.

En determinadas modalidades, la nanopartícula a base de quitosano se utiliza junto con un fertilizante de nitrógeno tradicional. La nanopartícula a base de quitosano se agrega encima o junto con un fertilizante nitrogenado tradicional. En un ejemplo, la adición de composiciones de nanopartículas a base de quitosano dio como resultado un aumento del 7% en el porcentaje de
 20 rendimiento.

Se utilizan varios tipos de insumos agrícolas de nitrógeno, y la nanopartícula a base de quitosano puede reemplazar cualquiera de ellos. Cuando la composición, o la nanopartícula a base de quitosano, se utiliza para reemplazar la totalidad o una parte de un insumo agrícola, tal como nitrógeno, el uso de la nanopartícula a base de quitosano da como resultado rendimientos que son
 25 estadísticamente iguales o mayores que el rendimiento producido con insumos agrícolas tradicionales, tales como nitrógeno. La composición, o la nanopartícula a base de quitosano, se puede utilizar en cualquier tipo de entorno de cultivo. Los entornos de cultivo incluyen la agricultura tradicional con cultivos cultivados en el suelo, en sistemas hidropónicos, en invernaderos, en agricultura ambiental controlada (CEA) o en sistemas acuapónicos. En algunas modalidades, la
 30 composición, o nanopartícula basada en quitosano.

La nanopartícula a base de quitosano se puede aplicar a las plantas en cualquier método utilizado para administrar insumos agrícolas, tal como nitrógeno. Los métodos de aplicación para cultivos de campo incluyen aplicación en el suelo, pulverizaciones (por ejemplo, pulverizaciones foliares) e inyección en agua. Las aplicaciones en el suelo se realizan mezclando la nanopartícula a base de
 35 quitosano en el suelo en uno cualquiera o en una combinación de métodos que incluyen radiodifusión, revestimiento superior, colocación, perforación, revestimiento lateral, colocación de bandas y aplicación de pellets. Los aerosoles foliares colocan la nanopartícula a base de quitosano en el follaje de las plantas en crecimiento. Algunos nutrientes son fácilmente absorbidos por las

hojas, especialmente cuando se disuelven en agua. Los aerosoles foliares se pueden aplicar a través de aparatos portátiles, aparatos transportados en mochila, pulverizadores, aplicadores, aplicaciones aéreas, tales como desde un avión o vehículos aéreos no tripulados (UAV). La nanopartícula a base de quitosano también se puede aplicar a través de inyección en una fuente de agua. Esto puede ser a través de sistemas de riego, sistemas de goteo o sistemas de rociadores. Los métodos de aplicación para sistemas hidropónicos y/o aeropónicos y/o geopónicos incluyen la inyección en el medio de crecimiento líquido y/o a base de gel, o la aplicación foliar a través de un sistema de pulverización o nebulización.

La nanopartícula a base de quitosano se puede aplicar en cualquier etapa de preparación del suelo o crecimiento de la planta. En algunas modalidades, la nanopartícula a base de quitosano se puede aplicar en la etapa emergente. En algunas modalidades, la nanopartícula a base de quitosano se puede aplicar a una parte de la planta en cualquier punto durante la etapa vegetativa del crecimiento de la planta. En algunas modalidades, la nanopartícula a base de quitosano se puede aplicar a una parte de la planta en la etapa reproductiva del crecimiento de la planta. En algunas modalidades, la nanopartícula a base de quitosano se puede aplicar a recubrimientos de semillas. En modalidades, la nanopartícula a base de quitosano se aplica al suelo antes de la plantación. En algunas modalidades, la nanopartícula a base de quitosano se aplica al suelo durante la etapa de crecimiento. En algunas modalidades, la nanopartícula a base de quitosano se aplica al suelo durante la etapa de maduración. En algunas modalidades, la nanopartícula a base de quitosano se aplica al suelo durante la etapa de latencia. En algunas modalidades, la nanopartícula a base de quitosano se aplica en cualquier combinación de lo anterior. En una modalidad, la nanopartícula a base de quitosano que se aplica se aplica al menos en dos puntos de tiempo diferentes. En una modalidad, la nanopartícula a base de quitosano que se aplica se aplica al menos en tres puntos de tiempo diferentes. En una modalidad, la nanopartícula a base de quitosano que se aplica se aplica al menos en cuatro puntos de tiempo diferentes. En una modalidad, la nanopartícula a base de quitosano que se aplica se aplica al menos en cinco puntos de tiempo diferentes. En una modalidad, la nanopartícula a base de quitosano que se aplica se aplica al menos en seis puntos de tiempo diferentes. Otras modalidades incluyen el uso de la nanopartícula a base de quitosano en combinación con otros insumos agrícolas. Dichos insumos agrícolas incluyen macronutrientes primarios tales como nitrógeno, fósforo y potasio; macronutrientes secundarios tales como calcio, magnesio y azufre; micronutrientes tales como hierro, zinc, cobre, manganeso y boro; herbicidas; insecticidas; fungicidas; nematocidas; reguladores del crecimiento vegetal (PGR) tales como auxinas, citoquininas, giberelinas y etileno; y tratamientos de semillas.

Otras modalidades incluyen métodos para tratar un medio de crecimiento de plantas con cualquiera de las composiciones descritas en la presente. El medio de crecimiento de plantas puede comprender uno o más de suelo, turba, musgo, residuo de madera, moho foliar, aserrín, corteza, bagazo, cáscara de arroz, arena, perlita, vermiculita, arcilla calcinada, poliestireno, resinas de urea formaldehído, agar o agarosa, cultivo/medio de crecimiento de tejidos vegetales in vitro e in vivo

y líquidos y sustancias hidropónicas utilizados para aeroponía y geoponía. Los métodos para tratar los medios de crecimiento de plantas pueden incluir enmiendas del suelo, adiciones a medios sólidos o adiciones a medios líquidos como los que se encuentran en los sistemas hidropónicos.

Una primera modalidad proporciona una composición que comprende: quitosano y al menos 1% (p/p) de nitrógeno.

En una segunda modalidad, la composición de la modalidad 1 tiene el nitrógeno a entre aproximadamente 11% (p/p) y aproximadamente 25% (p/p).

En una tercera modalidad, la composición de la modalidad 1 tiene al menos 50% del nitrógeno en la forma química de amina y/o nitrato y/o amoníaco.

En una cuarta modalidad, la composición de la modalidad 3 comprende una nanopartícula de quitosano y un compuesto rico en nitrógeno y/o mezcla de compuestos seleccionados del grupo que consiste en nitrato de potasio, nitrato de calcio, nitrato de magnesio, nitrato de urea, nitrato de urea y amoníaco, nitrato de amonio, hidróxido de amonio, sulfato de amonio, urea-hidroxiapatita, aminoácidos tales como arginina, cistina, histidina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptófano, tirosina, valina, glutamina, ácido glutámico, glicina, prolina, taurina, ácido aspártico, serina y alanina.

En una quinta modalidad, la composición de la modalidad 1 tiene el quitosano presente entre aproximadamente 0,01% y aproximadamente 4% (p/v).

En una sexta realización, la composición de la realización 1 y la adición de un potenciador de acoplamiento.

En una séptima modalidad, la composición de la modalidad 6 donde el potenciador de acoplamiento es tripolifosfato de sodio y/o sulfato de amonio.

Una octava modalidad es un método para producir nanopartículas de quitosano. El método incluye disolver quitosano en agua ácida. Cuando el agua se vuelve ácida mediante un ácido seleccionado del grupo de ácido acético, ácido nítrico, ácido sulfúrico, ácido clorhídrico y combinaciones de estos. Las nanopartículas se forman a partir del quitosano disuelto.

En una novena modalidad, el método de acuerdo con la modalidad 8 donde se agrega un potenciador de acoplamiento al quitosano disuelto.

En una décima modalidad, el método de acuerdo con la modalidad 9 donde el potenciador de acoplamiento es tripolifosfato de sodio y/o sulfato de amonio.

En una undécima modalidad, el método de acuerdo con la modalidad 8, donde el compuesto rico en nitrógeno y/o la mezcla de compuestos se selecciona del grupo que consiste en nitrato de potasio, nitrato de calcio, nitrato de magnesio, nitrato de urea, nitrato de urea y amoníaco, nitrato de amonio, sulfato de amonio, urea-hidroxiapatita, aminoácidos tales como arginina, cistina, histidina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptófano, tirosina, valina, glutamina, ácido glutámico, glicina, prolina, taurina, ácido aspártico, serina y alanina se agregan al quitosano disuelto.

En una duodécima modalidad, el método de acuerdo con la modalidad 11, donde las nanopartículas comprenden quitosano y compuesto rico en nitrógeno y/o mezcla de compuestos.

En una decimotercera modalidad, el método de acuerdo con la modalidad 12, donde las nanopartículas comprenden al menos 1% (p/p) de nitrógeno.

- 5 En una decimocuarta modalidad, el método de acuerdo con la modalidad 13, donde el nitrógeno está presente entre aproximadamente 11% (p/p) y aproximadamente 25% (p/p).

En una decimoquinta modalidad, el método de acuerdo con la modalidad 11, donde el quitosano está presente entre aproximadamente 0,01% y aproximadamente 4% (p/v).

- 10 Una decimosexta modalidad es un método para tratar una planta o una parte de planta, el método comprende tratar la planta o parte de planta con una composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-7.

En una decimoséptima modalidad, el método de acuerdo con la modalidad 16, donde la parte de la planta se selecciona del grupo que consta de una semilla, hoja, tallo, flor o raíz de una planta.

- 15 En una decimooctava modalidad, el método de acuerdo con la modalidad 17 se pone en práctica cuando se utiliza una cantidad determinada de la composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-7 en lugar de una cantidad determinada de un fertilizante tradicional y produce un rendimiento igual o mejor.

- 20 En una decimonovena modalidad, el método de acuerdo con la modalidad 18 se pone en práctica cuando una cantidad determinada de la composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-7 está entre aproximadamente 250 mL por acre y aproximadamente 30 litros por acre aplicada en una pulverización foliar y se usa en lugar de entre aproximadamente 0 kilogramos por acre y aproximadamente 150 kilogramos por acre de unidades de nitrógeno aplicadas mediante fertilizante de nitrógeno tradicional.

- 25 En una vigésima modalidad, el método de acuerdo con la reivindicación 19 se practica donde la cantidad determinada de la composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-7 es de aproximadamente 5 litros por acre aplicado en una pulverización foliar y se usa en lugar de aproximadamente 18,14 kilogramos por acre de fertilizante de nitrógeno tradicional.

- 30 Una vigésimo primera modalidad es un método para preparar un medio de crecimiento vegetal donde el método comprende tratar el medio de crecimiento con una composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-7.

En una vigésimo segunda modalidad, el método de acuerdo con la modalidad 18, donde el medio de crecimiento es suelo, turba, musgo, residuo de madera, moho de hojas, aserrín, corteza, bagazo, cáscara de arroz, arena, perlita, vermiculita, arcilla calcinada, poliestireno, resinas de urea formaldehído y líquidos hidropónicos y combinaciones de estos.

- 35 En una vigésima tercera modalidad, el método de acuerdo con la modalidad 18 donde el porcentaje de la composición utilizada está entre aproximadamente 4 por ciento y aproximadamente 12 por ciento del fertilizante de nitrógeno tradicional eliminado.

En una vigésimo cuarta modalidad, el método de acuerdo con la modalidad 25 donde el porcentaje de la composición utilizada es aproximadamente 8,4 por ciento del fertilizante de nitrógeno tradicional eliminado.

En una vigésimo quinta modalidad, el método de acuerdo con la modalidad 18, donde el nitrógeno total utilizado se reduce entre aproximadamente 0 por ciento y aproximadamente 80 por ciento.

En una vigésimo sexta modalidad, el método de acuerdo con la modalidad 25, donde el nitrógeno total utilizado se reduce en aproximadamente 70 por ciento.

En una vigésimo séptima modalidad, el método de la reivindicación 25, donde el nitrógeno total utilizado se reduce en aproximadamente un 76 por ciento.

En una vigésimo octava modalidad, se agrega una nanopartícula a base de quitosano junto con una cantidad estándar de fertilizante tradicional.

En una vigésimo novena modalidad, la nanopartícula a base de quitosano de la modalidad 28 da como resultado una mejora en el rendimiento de entre aproximadamente 0% y aproximadamente 80%.

En una trigésima modalidad, la nanopartícula a base de quitosano de la modalidad 29 da como resultado una mejora en el rendimiento de aproximadamente 7%.

Ejemplo 1

Preparación de quitosano utilizando varios ácidos

[Ácido acético] Se cargó un agua libre de gérmenes o esterilizada en autoclave en el tanque que tenía una velocidad de agitación de 400 rpm. Cuando la temperatura alcanza entre 68 y 194 grados F, se agregaron escamas de quitosano (0,1 - 5% p/v) que tenían 80% de DDA pero no menos de 75% de DDA. La fuente de quitosano puede ser hongo, camarón, cangrejo o langosta o una mezcla de ellos. Además, las variantes de quitosano pueden ser alfa, beta o gamma o una mezcla de ellas. Después de remojar los copos con agua, se agregó ácido acético entre 0,3% y 1,9% (v/v). La temperatura y la agitación se mantuvieron constantemente a lo largo de la reacción durante hasta 4 horas. Al final, cuando los copos se volvieron invisibles para la solución, se filtró con una unidad de filtración de malla 200 seguida de una de malla <635. La temperatura de la solución se enfrió a 77 grados F y se agregó una solución de sorbato de potasio (0,01-1% v/v) y se mezcló bien usando agitación.

[Ácido acético + NaTPP] Se cargó un agua libre de gérmenes o esterilizada en autoclave en el tanque que tenía una velocidad de agitación de 400 rpm. Cuando la temperatura alcanza entre 68 y 194 grados F, se agregaron escamas de quitosano (0,1 - 5% p/v) que tenían 80% de DDA pero no menos de 75% de DDA. La fuente de quitosano puede ser hongo, camarón, cangrejo o langosta o una mezcla de ellos. Además, las variantes de quitosano pueden ser alfa, beta o gamma o una mezcla de ellas. Después de remojar los copos con agua, se agregó ácido acético entre 0,3% y 1,9% (v/v). Cuando los copos se volvieron invisibles para la solución, se agregó una solución de tripolifosfato de sodio (0,001 - 1% v/v o v/p). La temperatura y la agitación se mantuvieron constantemente a lo largo de la reacción durante hasta 4 horas. Al final, la solución se filtró con

mallá 200 seguida de una unidad de filtración de mallá <635. La temperatura de la solución se enfrió a 77 grados F, y se agregó una solución de sorbato de potasio (0,01 - 1% v/v) y se mezcló bien usando agitación.

[Ácido acético + sulfato de amonio] Se cargó un agua libre de gérmenes o esterilizada en autoclave en el tanque con una velocidad de agitación de 400 rpm. Cuando la temperatura alcanza entre 68 y 194 grados F, se agregaron escamas de quitosano (0,1 - 5% p/v) que tenían 80% de DDA pero no menos de 75% de DDA. La fuente de quitosano puede ser hongo, camarón, cangrejo o langosta o una mezcla de ellos. Además, las variantes de quitosano pueden ser alfa, beta o gamma o una mezcla de ellas. Después de remojar los copos con agua, se agregó ácido acético entre 0,3% y 1,9% (v/v). Cuando los copos se volvieron invisibles para la solución, se agregó una solución de sulfato de amonio (0,001 - 1% v/v o v/p). La temperatura y la agitación se mantuvieron constantemente a lo largo de la reacción durante hasta 4 horas. Al final, la solución se filtró con mallá 200 seguida de una unidad de filtración de mallá <635. La temperatura de la solución se enfrió a 77 grados F, y se agregó una solución de sorbato de potasio (0,01 - 1% v/v) y se mezcló bien usando agitación.

[Ácido nítrico + ácido acético] Se cargó un agua libre de gérmenes o esterilizada en autoclave en el tanque que tenía una velocidad de agitación de 400 rpm. Cuando la temperatura alcanza entre 68 y 194 grados F, se agregaron escamas de quitosano (0,1 - 5% p/v) que tenían 80% de DDA pero no menos de 75% de DDA. La fuente de quitosano puede ser hongo, camarón, cangrejo o langosta o una mezcla de ellos. Además, las variantes de quitosano pueden ser alfa, beta o gamma o una mezcla de ellas. Después del remojo de las escamas con agua, se agregó ácido acético y ácido nítrico con una relación de 1: 1, 1:2, 2:1 y una fuerza ácida v/v total entre 0,3% y 1,9%. La temperatura y la agitación se mantuvieron constantemente a lo largo de la reacción durante hasta 4 horas. Al final, cuando los copos se volvieron invisibles para la solución, se filtró con una unidad de filtración de mallá 200 seguida de una de mallá <635. La temperatura de la solución se enfrió a 77 grados F, y se agregó una solución de sorbato de potasio (1% v/v) y se mezcló bien usando agitación.

[Ácido nítrico + ácido acético + NaTPP] Se cargó un agua libre de gérmenes o esterilizada en autoclave en el tanque que tenía una velocidad de agitación de 400 rpm. Cuando la temperatura alcanza entre 68 y 194 grados F, se agregaron escamas de quitosano (0,1 - 5% p/v) que tenían 80% de DDA pero no menos de 75% de DDA. La fuente de quitosano puede ser hongo, camarón, cangrejo o langosta o una mezcla de ellos. Además, las variantes de quitosano pueden ser alfa, beta o gamma o una mezcla de ellas. Después del remojo de las escamas con agua, se agregó ácido acético y ácido nítrico con una relación de 1:1, 1:2, 2:1 y una fuerza ácida v/v total entre 0,3% y 1,9%. Cuando los copos se volvieron invisibles para la solución, se agregó una solución de tripolifosfato de sodio (0,001 - 1% v/v o v/p). La temperatura y la agitación se mantuvieron constantemente a lo largo de la reacción durante hasta 4 horas. Al final, la solución se filtró con mallá 200 seguida de una unidad de filtración de mallá <635. La temperatura de la solución se

enfrió a 77 grados F, y se agregó una solución de sorbato de potasio (0,01 - 1% v/v) y se mezcló bien usando agitación.

[Ácido nítrico + ácido acético + sulfato de amonio] Se cargó un agua libre de gérmenes o esterilizada en autoclave en el tanque que tenía una velocidad de agitación de 400 rpm. Cuando la temperatura alcanza entre 68 y 194 grados F, se agregaron escamas de quitosano (0,1 - 5% p/v) que tenían 80% de DDA pero no menos de 75% de DDA. La fuente de quitosano puede ser hongo, camarón, cangrejo o langosta o una mezcla de ellos. Además, las variantes de quitosano pueden ser alfa, beta o gamma o una mezcla de ellas. Después del remojo de las escamas con agua, se agregó ácido acético y ácido nítrico con una relación de 1:1, 1:2, 2:1 y una fuerza ácida v/v total entre 0,3% y 1,9%. Cuando los copos se volvieron invisibles para la solución, se agregó una solución de sulfato de amonio (0,001 - 1% v/v o v/p). La temperatura y la agitación se mantuvieron constantemente a lo largo de la reacción durante hasta 4 horas. Al final, la solución se filtró con malla 200 seguida de una unidad de filtración de malla <635. La temperatura de la solución se enfrió a 77 grados F, y se agregó una solución de sorbato de potasio (0,01 - 1% v/v) y se mezcló bien usando agitación.

[Ácido nítrico + NaTPP] Se cargó un agua libre de gérmenes o esterilizada en autoclave en el tanque que tenía una velocidad de agitación de 400 rpm. Cuando la temperatura alcanza entre 68 y 194 grados F, se agregaron escamas de quitosano (0,1 - 5% p/v) que tenían 80% de DDA pero no menos de 75% de DDA. La fuente de quitosano puede ser hongo, camarón, cangrejo o langosta o una mezcla de ellos. Además, las variantes de quitosano pueden ser alfa, beta o gamma o una mezcla de ellas. Después de remojar los copos con agua, se agregó ácido nítrico entre 0,3% y 1,9% (v/v). Cuando los copos se volvieron invisibles para la solución, se agregó una solución de tripolifosfato de sodio (0,001 - 1% v/v o v/p). La temperatura y la agitación se mantuvieron constantemente a lo largo de la reacción durante hasta 4 horas. Al final, la solución se filtró con malla 200 seguida de una unidad de filtración de malla <635. La temperatura de la solución se enfrió a 77 grados F, y se agregó una solución de sorbato de potasio (0,01 - 1% v/v) y se mezcló bien usando agitación.

[Ácido nítrico + sulfato de amonio] Se cargó un agua libre de gérmenes o esterilizada en autoclave en el tanque con una velocidad de agitación de 400 rpm. Cuando la temperatura alcanza entre 68 y 194 grados F, se agregaron escamas de quitosano (0,1 - 5% p/v) que tenían 80% de DDA pero no menos de 75% de DDA. La fuente de quitosano puede ser hongo, camarón, cangrejo o langosta o una mezcla de ellos. Además, las variantes de quitosano pueden ser alfa, beta o gamma o una mezcla de ellas. Después de remojar los copos con agua, se agregó ácido nítrico entre 0,3% y 1,9% (v/v). Cuando los copos se volvieron invisibles para la solución, se agregó una solución de sulfato de amonio (0,001 - 1% v/v o v/p). La temperatura y la agitación se mantuvieron constantemente a lo largo de la reacción durante hasta 4 horas. Al final, la solución se filtró con malla 200 seguida de una unidad de filtración de malla <635. La temperatura de la solución se

enfrió a 77 grados F, y se agregó una solución de sorbato de potasio (0,01 - 1% v/v) y se mezcló bien usando agitación.

[Ácido nítrico] Se cargó un agua libre de gérmenes o esterilizada en autoclave en el tanque que tenía una velocidad de agitación de 400 rpm. Cuando la temperatura alcanza entre 68 y 194 grados F, se agregaron escamas de quitosano (0,1 - 5% p/v) que tenían 80% de DDA pero no menos de 75% de DDA. La fuente de quitosano puede ser hongo, camarón, cangrejo o langosta o una mezcla de ellos. Además, las variantes de quitosano pueden ser alfa, beta o gamma o una mezcla de ellas. Después de remojar los copos con agua, se agregó ácido nítrico entre 0,3% y 1,9% (v/v). La temperatura y la agitación se mantuvieron constantemente a lo largo de la reacción durante hasta 4 horas. Al final, cuando los copos se volvieron invisibles para la solución, se filtró con una unidad de filtración de malla 200 seguida de una de malla <635. La temperatura de la solución se enfrió a 77 grados F y se agregó una solución de sorbato de potasio (0,01-1% v/v) y se mezcló bien usando agitación.

[Ácido clorhídrico] Se cargó un agua libre de gérmenes o esterilizada en autoclave en el tanque con una velocidad de agitación de 400 rpm. Cuando la temperatura alcanza entre 68 y 194 grados F, se agregaron escamas de quitosano (0,1 - 5% p/v) que tenían 80% de DDA pero no menos de 75% de DDA. La fuente de quitosano puede ser hongo, camarón, cangrejo o langosta o una mezcla de ellos. Además, las variantes de quitosano pueden ser alfa, beta o gamma o una mezcla de ellas. Después de remojar los copos con agua, se agregó ácido clorhídrico entre 0,3% y 1,9% (v/v). La temperatura y la agitación se mantuvieron constantemente a lo largo de la reacción durante hasta 4 horas. Al final, cuando los copos se volvieron invisibles para la solución, se filtró con una unidad de filtración de malla 200 seguida de una de malla <635. La temperatura de la solución se enfrió a 77 grados F y se agregó una solución de sorbato de potasio (0,01-1% v/v) y se mezcló bien usando agitación.

[Ácido clorhídrico + NaTPP] Se cargó un agua libre de gérmenes o esterilizada en autoclave en el tanque con una velocidad de agitación de 400 rpm. Cuando la temperatura alcanza entre 68 y 194 grados F, se agregaron escamas de quitosano (0,1 - 5% p/v) que tenían 80% de DDA pero no menos de 75% de DDA. La fuente de quitosano puede ser hongo, camarón, cangrejo o langosta o una mezcla de ellos. Además, las variantes de quitosano pueden ser alfa, beta o gamma o una mezcla de ellas. Después de remojar los copos con agua, se agregó ácido clorhídrico entre 0,3% y 1,9% (v/v). Cuando los copos se volvieron invisibles para la solución, se agregó una solución de tripolifosfato de sodio (0,001 - 1% v/v o v/p). La temperatura y la agitación se mantuvieron constantemente a lo largo de la reacción durante hasta 4 horas. Al final, la solución se filtró con malla 200 seguida de una unidad de filtración de malla <635. La temperatura de la solución se enfrió a 77 grados F, y se agregó una solución de sorbato de potasio (0,01 - 1% v/v) y se mezcló bien usando agitación.

[Ácido clorhídrico + sulfato de amonio] Se cargó un agua libre de gérmenes o esterilizada en autoclave en el tanque con una velocidad de agitación de 400 rpm. Cuando la temperatura alcanza

entre 68 y 194 grados F, se agregaron escamas de quitosano (0,1 - 5% p/v) que tenían 80% de DDA pero no menos de 75% de DDA. La fuente de quitosano puede ser hongo, camarón, cangrejo o langosta o una mezcla de ellos. Además, las variantes de quitosano pueden ser alfa, beta o gamma o una mezcla de ellas. Después de remojar los copos con agua, se agregó ácido clorhídrico entre 0,3% y 1,9% (v/v). Cuando los copos se volvieron invisibles para la solución, se agregó una solución de sulfato de amonio (0,001 - 1% v/v o v/p). La temperatura y la agitación se mantuvieron constantemente a lo largo de la reacción durante hasta 4 horas. Al final, la solución se filtró con malla 200 seguida de una unidad de filtración de malla <635. La temperatura de la solución se enfrió a 77 grados F, y se agregó una solución de sorbato de potasio (0,01 - 1% v/v) y se mezcló bien usando agitación.

[Ácido sulfúrico] Se cargó un agua libre de gérmenes o esterilizada en autoclave en el tanque que tenía una velocidad de agitación de 400 rpm. Cuando la temperatura alcanza entre 68 y 194 grados F, se agregaron escamas de quitosano (0,1 - 5% p/v) que tenían 80% de DDA pero no menos de 75% de DDA. La fuente de quitosano puede ser hongo, camarón, cangrejo o langosta o una mezcla de ellos. Además, las variantes de quitosano pueden ser alfa, beta o gamma o una mezcla de ellas. Después de remojar los copos con agua, se agregó ácido sulfúrico entre 0,3% y 1,9% (v/v). La temperatura y la agitación se mantuvieron constantemente a lo largo de la reacción durante hasta 4 horas. Al final, cuando los copos se volvieron invisibles para la solución, se filtró con una unidad de filtración de malla 200 seguida de una de malla <635. La temperatura de la solución se enfrió a 77 grados F y se agregó una solución de sorbato de potasio (0,01-1% v/v) y se mezcló bien usando agitación.

[Ácido sulfúrico + NaTPP] Se cargó un agua libre de gérmenes o esterilizada en autoclave en el tanque con una velocidad de agitación de 400 rpm. Cuando la temperatura alcanza entre 68 y 194 grados F, se agregaron escamas de quitosano (0,1 - 5% p/v) que tenían 80% de DDA pero no menos de 75% de DDA. La fuente de quitosano puede ser hongo, camarón, cangrejo o langosta o una mezcla de ellos. Además, las variantes de quitosano pueden ser alfa, beta o gamma o una mezcla de ellas. Después de remojar los copos con agua, se agregó ácido sulfúrico entre 0,3% y 1,9% (v/v). Cuando los copos se volvieron invisibles para la solución, se agregó una solución de tripolifosfato de sodio (0,001 - 1% v/v o v/p). La temperatura y la agitación se mantuvieron constantemente a lo largo de la reacción durante hasta 4 horas. Al final, la solución se filtró con malla 200 seguida de una unidad de filtración de malla <635. La temperatura de la solución se enfrió a 77 grados F, y se agregó una solución de sorbato de potasio (0,01 - 1% v/v) y se mezcló bien usando agitación.

[Ácido sulfúrico + sulfato de amonio] Se cargó un agua libre de gérmenes o esterilizada en autoclave en el tanque que tenía una velocidad de agitación de 400 rpm. Cuando la temperatura alcanza entre 68 y 194 grados F, se agregaron escamas de quitosano (0,1 - 5% p/v) que tenían 80% de DDA pero no menos de 75% de DDA. La fuente de quitosano puede ser hongo, camarón, cangrejo o langosta o una mezcla de ellos. Además, las variantes de quitosano pueden ser alfa,

beta o gamma o una mezcla de ellas. Después de remojar los copos con agua, se agregó ácido sulfúrico entre 0,3% y 1,9% (v/v). Cuando los copos se volvieron invisibles para la solución, se agregó una solución de sulfato de amonio (0,001 - 1% v/v o v/p). La temperatura y la agitación se mantuvieron constantemente a lo largo de la reacción durante hasta 4 horas. Al final, la solución se filtró con malla 200 seguida de una unidad de filtración de malla <635. La temperatura de la solución se enfrió a 77 grados F, y se agregó una solución de sorbato de potasio (0,01 - 1% v/v) y se mezcló bien usando agitación.

[Ácido nítrico + ácido acético + ácido clorhídrico + ácido sulfúrico] Se cargó un agua libre de gérmenes o esterilizada en autoclave en el tanque con una velocidad de agitación de 400 rpm. Cuando la temperatura alcanza entre 68 y 194 grados F, se agregaron escamas de quitosano (0,1 - 5% p/v) que tenían 80% de DDA pero no menos de 75% de DDA. La fuente de quitosano puede ser hongo, camarón, cangrejo o langosta o una mezcla de ellos. Además, las variantes de quitosano pueden ser alfa, beta o gamma o una mezcla de ellas. Después del remojo de los copos con agua, se agregó ácido acético, ácido nítrico, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico con una relación de 1:1:0:0, 1:0:1:0, 1:0:0:1, 1:1:1:0, 1:1:2:0, 1:1:1:1, 1:1:1:2 y una fuerza ácida v/v total entre 0,3% y 1,9%. La temperatura y la agitación se mantuvieron constantemente a lo largo de la reacción durante hasta 4 horas. Al final, cuando los copos se volvieron invisibles para la solución, se filtró con una unidad de filtración de malla 200 seguida de una de malla <635. La temperatura de la solución se enfrió a 77 grados F, y se agregó una solución de sorbato de potasio (1% v/v) y se mezcló bien usando agitación.

[Ácido nítrico + ácido acético + ácido clorhídrico + ácido sulfúrico + NaTPP] Se cargó un agua libre de gérmenes o esterilizada en autoclave en el tanque con una velocidad de agitación de 400 rpm. Cuando la temperatura alcanza entre 68 y 194 grados F, se agregaron escamas de quitosano (0,1 - 5% p/v) que tenían 80% de DDA pero no menos de 75% de DDA. La fuente de quitosano puede ser hongo, camarón, cangrejo o langosta o una mezcla de ellos. Además, las variantes de quitosano pueden ser alfa, beta o gamma o una mezcla de ellas. Después del remojo de los copos con agua, se agregó ácido acético, ácido nítrico, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico con una relación de 1:1:0:0, 1:0:1:0, 1:0:0:1, 1:1:1:0, 1:1:2:0, 1:1:1:1, 1:1:1:2 y una fuerza ácida v/v total entre 0,3% y 1,9%. Cuando los copos se volvieron invisibles para la solución, se agregó una solución de tripolifosfato de sodio (0,001 - 1% v/v o v/p). La temperatura y la agitación se mantuvieron constantemente a lo largo de la reacción durante hasta 4 horas. Al final, la solución se filtró con malla 200 seguida de una unidad de filtración de malla <635. La temperatura de la solución se enfrió a 77 grados F, y se agregó una solución de sorbato de potasio (0,01 - 1% v/v) y se mezcló bien usando agitación.

[Ácido nítrico + ácido acético + ácido clorhídrico + ácido sulfúrico + sulfato de amonio] Se cargó un agua libre de gérmenes o esterilizada en autoclave en el tanque con una velocidad de agitación de 400 rpm. Cuando la temperatura alcanza entre 68 y 194 grados F, se agregaron escamas de quitosano (0,1 - 5% p/v) que tenían 80% de DDA pero no menos de 75% de DDA. La fuente de

quitosano puede ser hongo, camarón, cangrejo o langosta o una mezcla de ellos. Además, las variantes de quitosano pueden ser alfa, beta o gamma o una mezcla de ellas. Después del remojo de los copos con agua, se agregó ácido acético, ácido nítrico, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico con una relación de 1:1:0:0, 1:0:1:0, 1:0:0:1, 1:1:1:0, 1:1:2:0, 1:1:1:1, 1:1:1:2 y una fuerza ácida v/v total entre 0,3% y 1,9%. Cuando los copos se volvieron invisibles para la solución, se agregó una solución de sulfato de amonio (0,001 - 1% v/v o v/p). La temperatura y la agitación se mantuvieron constantemente a lo largo de la reacción durante hasta 4 horas. Al final, la solución se filtró con malla 200 seguida de una unidad de filtración de malla <635. La temperatura de la solución se enfrió a 77 grados F, y se agregó una solución de sorbato de potasio (0,01 - 1% v/v) y se mezcló bien usando agitación.

EJEMPLO 2

Varias de las soluciones de quitosano anteriores se prepararon utilizando quitosano de dos fuentes diferentes. Estas fuentes se designan Tg y CTg. Se utilizaron Tg y CTg para crear nanopartículas a base de quitosano utilizando los procedimientos identificados anteriormente para producir los siguientes productos.

TgA = nanopartículas a base de quitosano de fuente Tg preparadas con ácido acético.

TgB = nanopartículas a base de quitosano de fuente de Tg preparadas con ácido acético y tripolifosfato de sodio.

TgC = nanopartículas a base de quitosano de fuente Tg preparadas con ácido acético y ácido nítrico.

TgD = nanopartículas a base de quitosano de fuente Tg preparadas con ácido acético, ácido nítrico y tripolifosfato de sodio.

TgE = nanopartículas a base de quitosano de fuente Tg preparadas con ácido nítrico y tripolifosfato de sodio.

CTgA = nanopartículas a base de quitosano de fuente de CTg preparadas con ácido acético.

CTgB = nanopartículas a base de quitosano de fuente de CTg preparadas con ácido acético y tripolifosfato de sodio.

CTgC = nanopartículas a base de quitosano de fuente CTg preparadas con ácido acético y ácido nítrico.

CTgD = nanopartículas a base de quitosano de fuente de CTg preparadas con ácido acético, ácido nítrico y tripolifosfato de sodio.

CTgE = nanopartículas a base de quitosano de fuente de CTg preparadas con ácido nítrico y tripolifosfato de sodio.

La formulación y los intermedios se caracterizaron para las caracterizaciones fisicoquímicas. La morfología física (forma y tamaño) se caracterizó utilizando el microscopio electrónico de transmisión o de barrido (Figuras 1 y 2). La(s) solución(es) resultante(s) obtenida(s) para el quitosano de origen Tg tenía (n) > 95% de partículas en forma esférica, casi esférica o pequeños fragmentos lineales que tenían un tamaño entre 0,1 nm y 5 micrómetros. Más específicamente, el

tamaño deseado obtenido y utilizado para el desarrollo adicional de la formulación fue inferior a 0,5 micras, se utilizó para el desarrollo adicional de la formulación y/u otro uso agrícola para el crecimiento, la estimulación, la germinación y el propósito de mejora de los rasgos de los cultivos. De manera similar, la solución resultante obtenida para el quitosano de origen CTg tenía la estructura física con forma esférica y los rangos de tamaño entre 0,1 nm y 8 micras. Más específicamente, el tamaño obtenido entre 0,1 nm y 200 nm se utilizó como parámetro de selección para la administración al cultivo con fines de crecimiento, estimulación, germinación y mejora de rasgos.

La estabilidad dinámica y el tamaño hidrodinámico en la solución se caracterizaron utilizando la dispersión dinámica de la luz o DLS. Las nanopartículas se sometieron a dispersión dinámica de la luz (DLS) y se analizaron para determinar el promedio Z, la intensidad, el número y la polidispersidad (PDI) (Figura 3). Las soluciones resultantes tenían rangos entre 0,1 nm y 10 micras con un índice de polidispersidad entre 0,01 y 0,99. Además, el potencial zeta superficial de las soluciones resultantes caracterizadas por DLS (Figura 4), osciló entre +5 y 70 mV. El principal factor determinante para el potencial zeta fue la concentración de quitosano y el pH de la solución. Una mayor concentración de quitosano y un pH más bajo produjeron un mayor potencial zeta.

EJEMPLO 3

Se evaluó la capacidad de las diversas nanopartículas a base de quitosano generadas en los Ejemplos 1 y 2 para cargar nitrógeno y/o compuesto rico en nitrógeno y/o mezcla de compuestos tales como, de modo no taxativo, nitrato de potasio, nitrato de calcio, nitrato de magnesio, nitrato de urea, urea, nitrato de urea y amoníaco, nitrato de amonio, sulfato de amonio, hidróxido de amonio, urea-hidroxiapatita, aminoácidos tales como arginina, cistina, histidina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptófano, tirosina, valina, glutamina, ácido glutámico, glicina, prolina, taurina, ácido aspártico, serina y alanina. La asociación y la liberación lenta de nutrientes es un método para equilibrar las necesidades nutricionales de las plantas. Se prepararon y evaluaron varias soluciones.

Preparación de soluciones de quitosano

Preparación para la solución A: Solución de quitosano en ácido acético

Paso 1. Tomar 150 mL de agua en un vaso de precipitados de 250 mL. Paso 2. Encender el agitador de cabezal superior a temperatura ambiente a 300 RPM. El agitador estaba continuamente encendido a través del proceso hasta que dice que el agitador se DETIENE. Paso 3. Después de 3 minutos del paso 2, agregar 8 gramos de copos de quitosano. Paso 4. Después de 7 minutos del paso 3, agregar 8 mL de ácido acético glacial al 99,7 %. Paso 5. Después de la disolución completa de la escama (después de 17 minutos después del paso 4), agregar 50 mL de agua. Paso 6. Después de 10 minutos del paso 5, el agitador se detuvo. Paso 7. Filtrar la solución con filtro de tamaño de malla 200. El volumen total de la solución fue de 210 mL y 104,335 g/100 mL. El % calculado del quitosano de la solución es del 3,8% (p/v). El pH de la solución es de 3,88.

Preparación para la solución B: Solución de quitosano en HCL

Paso 1. Tomar 150 mL de agua en un vaso de precipitados de 250 mL. Paso 2. Encender el agitador de cabezal superior a temperatura ambiente a 300 RPM. El agitador estaba continuamente encendido a través del proceso hasta que dice que el agitador se DETIENE. Paso 3 Después de 3 minutos del paso 2, agregar una escama de quitosano de 8 gramos. Paso 4. Después de 7 minutos del paso 3, agregar 8 mL de HCL al 35,4%. Paso 5. Después de la disolución completa de la escama (después de 85 minutos después del paso 4), agregar 50 mL de agua. Paso 6. Después de 26 minutos del paso 5, el agitador se detuvo. Paso 7. Filtrar la solución con filtro de tamaño de malla 200. El volumen total de la solución en mL fue de 222,096 mL a 105,37 gramos/100 mL. El % CS calculado de la solución fue del 3,6 % (p/v) con un pH de la solución de 0,66.

Preparación para la solución C: Solución de quitosano en ácido nítrico

Paso 1. Tomar 800 mL de agua en un vaso de precipitados de 2000 mL. Paso 2. Encender el agitador de cabezal superior a temperatura ambiente a 600 RPM. El agitador estaba continuamente encendido a través del proceso hasta que dice que el agitador se DETIENE. Paso 3. Después de 2 minutos del paso 2, agregar 20 gramos de copos de quitosano. Paso 4. Después de 5 minutos del paso 3, agregar 20 mL de ácido nítrico al 69,71 %. Paso 5. Después de la disolución completa de las escamas (después de 110 minutos después del paso 4), agregar 100 mL de agua. Paso 6. Después de 14 minutos del paso 5, el agitador se detuvo. Paso 7. Después de 10 minutos del paso 6, agregar 80 mL de agua para completar la solución hasta 1000 mL. Paso 8. Filtrar la solución con filtro de tamaño de malla 200. El volumen total de la solución en mL fue de 1000 mL en 100,686 gramos/100 mL. El % CS calculado de la solución es 2 % (p/v) con un pH de la solución a 0,84.

Preparación para la solución D: Solución de quitosano en ácido acético

Paso 1. Tomar 800 mL de agua en un vaso de precipitados de 2000 mL. Paso 2. Encender el agitador de cabezal superior a temperatura ambiente a 600 RPM. El agitador estaba continuamente encendido a través del proceso hasta que dice que el agitador se DETIENE. Paso 3. Después de 4 minutos del paso 2, agregar 20 gramos de copos de quitosano. Paso 4. Después de 10 minutos del paso 3, agregar 20 mL de ácido acético glacial al 99,7 %. Paso 5. Después de la disolución completa de la escama (después de 10 minutos después del paso 4). Paso 6. Después de 17 minutos del paso 5, el agitador se detuvo. Paso 7. Después de 10 minutos del paso 6, agregar 180 mL de agua para completar la solución hasta 1000 mL. Paso 8. Filtrar la solución con filtro de tamaño de malla 200. El volumen total de la solución en mL fue de 1000 mL a 100,472 gramos/100 mL. El % CS calculado de la solución fue del 2 % (p/v) con un pH de la solución de 3,91.

Preparación de la solución E: Solución de quitosano en H₂SO₄

La solución de H₂SO₄ no funcionó, ya que el quitosano no se disolvió en la solución, esto terminó efectivamente el experimento y la solución de H₂SO₄ no se utilizó en ninguna producción de asociación.

Preparación para la solución F: Solución de quitosano en HCL

Paso 1. Tomar 800 mL de agua en un vaso de precipitados de 2000 mL. Paso 2. Encender el agitador de cabezal superior a temperatura ambiente a 600 RPM. El agitador estaba continuamente encendido a través del proceso hasta que dice que el agitador se DETIENE. Paso 3. Después de 2 minutos del paso 2, agregar 20 gramos de copos de quitosano. Paso 4. Después de 6 minutos del

5 paso 3, agregar 20 mL de HCL al 35,4 %. Paso 5. Después de la disolución completa de las escamas (después de 44 minutos después del paso 4), agregar 100 mL de agua. Paso 6. Después de 12 minutos del paso 5, el agitador se detuvo. Paso 7. Después de 10 minutos del paso 6, se agregaron 80 mL de agua hasta completar 1000 mL y se mezcló minuciosamente. Paso 8. Filtrar la solución con filtro de tamaño de malla 200. El volumen total de la solución en mL fue de 1000 mL a 100,328

10 gramos/100 mL. El % CS calculado de la solución fue del 2 % (p/v) con un pH de la solución de 1,09.

Preparación del potenciador de acoplamiento - Solución de sulfato de amonio (AS)

Paso 1. Tomar 0,200 gramos de sulfato de amonio en matraz aforado de 50 mL de capacidad. Paso 2. Agregar 30 mL de agua. Paso 3. Agitar la solución: la solución resultante se vuelve

15 transparente. Paso 4. Enrasar a 50 mL con 20 mL de agua. El volumen total de la solución en mL fue de 50 mL; 49,764 g. El % AS calculado de la solución fue 0,4% p/v. El N % calculado de la solución fue de 0,0856% p/v. El S % calculado de la solución fue 0,0980% p/v. El pH de la solución fue de 5,75.

Preparación del potenciador de acoplamiento - Solución de polifosfato trisódico (TPP)

20 Paso 1. Tomar 0,200 gramos en matraz aforado de 50 mL de capacidad. Paso 2. Agregar 30 mL de agua. Paso 3. Agitar la solución: la solución resultante se vuelve transparente. Paso 4. Completar el volumen a 50 mL con 20 mL de agua. El volumen total de la solución en mL fue de 50 mL; 49,821 g. El % TP calculado de la solución fue 0,4 % p/v. El P% calculado de la solución fue 0,101%. El pH de la solución fue de 9,76.

25 Formulación de la urea asociada

Nanopartícula n.º 1 a base de quitosano

Paso 1. Tomar un vaso de precipitados de 2000 mL. Paso 2. Agregar 175 mL de solución A. Paso 3. Arrancar el agitador de cabeza, se continuó a través del proceso hasta que dice stop. Paso 4. Después de 5 minutos del paso 3, agregar 100 mL de agua. Paso 5. Después de 6 minutos del

30 paso 4, agregar 100 gramos de urea. Paso 6. Después de 13 minutos del paso 5, agregar 100 gramos de urea. Paso 7. Después de 1 minuto del paso 6, agregar 50 mL de agua. Paso 8. Después de 8 minutos del paso 7, agregar 50 mL de agua. Paso 9. Después de 10 minutos del paso 8, agregar 135 gramos de urea. Paso 10. Después de 9 minutos del paso 9, agregar 175 solución B. Paso 11. Después de 18 minutos del paso 10, agregar 25 mL de agua. Paso 12. Después de 52

35 minutos del paso 11, agregar 10 mL de solución de sulfato de amonio (0,1 gramos en 10 mL o 1% p/v). Paso 12. Después de 15 minutos del paso 12, el agitador se detuvo. La solución completa hasta 1000 mL usando 125 mL de agua. Paso 13. Filtrar la solución con filtro de tamaño de malla 200. Paso 14. La solución está lista para su uso posterior/análisis de prueba de control de calidad,

almacenada en una botella de 1 L. El método resultó en la asociación de quitosano de los nutrientes, con la solución que tiene urea: 43,5 % (p/v), N % p/v: 20,01 (calculado); 18,24% (analizado por TKN), Sulfato de amonio: 0,01 (p/v), quitosano: 1,29 % (p/v), ácido acético: 0,7 % (v/v), HCl: 0,7 % (v/v), pH: 3,67. Peso (gramo/100 mL): 110,832 gramo

5 **Nanopartícula basada en quitosano # 2**

Paso 1. Tomar un vaso de precipitados de 2000 mL. Paso 2. Agregar 200 mL de solución D. Paso 3. Se puso en marcha el agitador de cabeza, se continuó a través del proceso hasta que dice stop. Paso 4. Después de 3 minutos del paso 3, agregar 200 mL de agua destilada. Paso 5. Después de 5 minutos del paso 4, agregar 100 gramos de urea. Paso 6. Después de 7 minutos del paso 5, 10 agregar 100 gramos de urea. Paso 7. Después de 5 minutos del paso 6, agregar 100 gramos de urea. Paso 8. Después de 8 minutos del paso 7, agregar 135 gramos de urea. Paso 9. Después de 10 minutos del paso 8, agregar 100 solución F. Paso 10. Después de 13 minutos del paso 9, agregar 100 solución F. Paso 11. Después de 19 minutos del paso 10, agregar 75 mL de agua. Paso 12. Después de 5 minutos del paso 11, agregar 25 mL de solución de sulfato de amonio (0,1 gramos 15 en 25 mL de agua o 0,4% p/v). Paso 13. Después de 15 minutos del paso 12, el agitador se detuvo. La solución fue de 1 L. Paso 14. Filtrar la solución con filtro de tamaño de malla 200. Paso 15. La solución está lista para su uso posterior/análisis de prueba de control de calidad, almacenada en una botella de 1 L. Este ejemplo del método dio como resultado la asociación de quitosano de los nutrientes, con la solución que tiene urea: 43,5 % (p/v), N % p/v: 20,01 (calculado); 18,05 20 (analizado por TKN), Sulfato de amonio: 0,01 (p/v), quitosano: 0,8 % (p/v), ácido acético: 0,4% (v/v), HCl Ácido: 0,4 % (v/v), pH: 4, y un peso (gramo/100 mL): 110,622 gramos.

Nanopartícula basada en quitosano # 3

Paso 1. Tomar un vaso de precipitados de 2000 mL. Paso 2. Agregar 200 mL de agua. Paso 3. Se 25 puso en marcha el agitador de cabeza, se continuó a través del proceso hasta que dice stop. Paso 4. Después de 2 minutos del paso 3, agregar 200 mL de solución D. Paso 5. Después de 5 minutos del paso 4, agregar 100 gramos de urea. Paso 6. Después de 3 minutos del paso 5, agregar 100 gramos de urea. Paso 7. Después de 6 minutos del paso 6, agregar 100 gramos de urea. Paso 8. Después de 11 minutos del paso 7, agregar 135 gramos de urea. Paso 9. Después de 10 minutos del paso 8, agregar la solución 200 C. Paso 10. Después de 50 minutos del paso 9, agregar solución 30 de sulfato de amonio (0,1 gramos en 25 mL de agua o 0,4% p/v). Paso 11. Después de 35 minutos del paso 10, el agitador se detuvo. La solución se enrasó hasta 1000 mL, mediante la adición de 60 mL de agua. Paso 12. Filtrar la solución con filtro de tamaño de malla 200. Paso 13. La solución está lista para su uso posterior/análisis de prueba de control de calidad, almacenada en una botella de 1 L. Este ejemplo del método dio como resultado la asociación de quitosano de los nutrientes, 35 con la solución que tiene; Urea: 43,5 % (p/v), N % p/v: 20,1 (calculado); 18,17 (analizado por TKN), Sulfato de amonio: 0,01% (p/v), quitosano: 0,8 % (p/v), ácido acético: 0,4 (v/v), Ácido nítrico: 0,4 (v/v), un pH:3,22 y un peso (gramo/100 mL): 110,622 gramos.

Nanopartícula basada en quitosano # 4

Paso 1. Tomar un vaso de precipitados de 1000 mL. Paso 2. Agregar 300 mL de agua. Paso 3. Arrancar el agitador magnético, se continuó a través del proceso hasta que dice detenerse. Paso 4. Después de 07 minutos del paso 3, agregar 100 gramos de urea. Paso 5. Después de 4 minutos del paso 4, agregar 100 gramos de urea. Paso 6. Después de 2 minutos del paso 5, agregar 100
 5 gramos de urea. Paso 7. Después de 4 minutos del paso 6, agregar 135 gramos de urea. Paso 8. Después de 15 minutos del paso 7 (la solución no se disolvió completamente como los semicristales que aparecen en el fondo del vaso de precipitados) y se detuvo el agitador. Paso 9. Después del paso 8, tomar otro vaso de precipitado de 2 L por separado y agregar 200 mL de solución C y encienda el agitador superior. Paso 10. Después de 2 minutos del paso 9, agregar la solución semi
 10 disuelta de urea (preparada en el paso 7) transferir a la solución C. Paso 11. Después de 3 minutos del paso 10, agregar 100 mL de agua. Paso 12. Después de 17 minutos del paso 11, agregar 50 mL de agua. Paso 13. Después de 8 minutos del paso 12, agregar solución de sulfato de amonio (0,1 gramos en 25 mL de agua o 0,4% p/v). Paso 14. Después de 25 minutos del paso 13, el agitador se detuvo. La solución se enrasó hasta 1000 mL para que se agregaran 25 mL de agua.
 15 Paso 15. Filtrar la solución con filtro de tamaño de malla 200. Paso 16. La solución está lista para su uso posterior/análisis de prueba de control de calidad, almacenada en una botella de 1 L. Este ejemplo del método dio como resultado la asociación de quitosano de los nutrientes, con la solución que tiene; Urea: 43,5 % (p/v), N % p/v: 20,01 (calculado); 18,42 (analizado por TKN), Sulfato de amonio: 0,01 (p/v), quitosano: 0,4 % (p/v) de ácido nítrico: 0,4 % (v/v), pH: 2,87 y peso
 20 (gramo/100 mL): 110,586 gramos.

Nanopartícula basada en quitosano # 5

Paso 1. Tomar un vaso de precipitados de 2000 mL. Paso 2. Agregar 200 mL de solución D. Paso 3. Se puso en marcha el agitador de cabeza, se continuó a través del proceso hasta que dice stop. Paso 4. Después de 2 minutos del paso 3, agregar 200 mL de agua. Paso 5. Después de 4 minutos
 25 del paso 4, agregar 100 gramos de urea. Paso 6. Después de 4 minutos del paso 5, agregar 100 gramos de urea. Paso 7. Después de 12 minutos del paso 6, agregar 100 gramos de urea. Paso 8. Después de 11 minutos del paso 7, agregar 135 gramos de urea. Paso 9. Después de 13 minutos del paso 8, agregar la solución 200 C. Paso 10. Después de 25 minutos del paso 9, agregar la solución de TPP (0,1 gramos de TPP en 25 mL de agua o 0,4% p/v). Paso 11. Después de 20
 30 minutos del paso 10, el agitador se detuvo. La solución se enrasó mediante la adición de 80 mL de agua. Paso 12. Filtrar la solución con filtro de tamaño de malla 200. Este ejemplo del método dio como resultado la asociación de quitosano de los nutrientes, con la solución que tiene; Urea: 43,5 % (p/v), N % p/v: 20,01 (calculado); 18,06 (analizado por TKN), TPP: 0,01% (p/v), quitosano: 0,8 % (p/v), ácido acético: 0,4% (v/v), Ácido Nítrico: 0,4 % (v/v), pH: 3,14, y un peso
 35 (gramo/100 mL): 110,726 gramos.

Nanopartícula basada en quitosano # 6

Paso 1. Tomar un vaso de precipitados de 1000 mL. Paso 2. Agregar 400 mL de agua. Paso 3. Se puso en marcha el agitador magnético (cabezal inferior), se continuó con el proceso hasta que

dice stop. Paso 4. Después de 5 minutos del paso 3, agregar 100 gramos de urea. Paso 5. Después de 9 minutos del paso 4, agregar 100 gramos de urea. Paso 6. Después de 4 minutos del paso 5, agregar 100 gramos de urea. Paso 7. Después de 12 minutos del paso 6, agregar 135 gramos de urea. Paso 8. Después de 30 minutos del paso 7 (la solución no se disolvió completamente, aparecieron cristales en el fondo del vaso de precipitados) y se detuvo el agitador. Paso 9. Tomar otro vaso de precipitados de 2 L de volumen separado y agregar 200 mL de solución C. Se encendió el agitador superior. Paso 10. Después de 4 minutos del paso 9, agregar la solución de urea semi disuelta (preparada en el paso 7) transferir a la solución C. Paso 11. Paso 12. Después de 1 minuto del paso 10, agregar 50 mL de agua. Paso 13. Después de 15 minutos del paso 11, agregar la solución de TPP (0,1 gramos en 25 mL de agua o 0,4% p/v). Paso 14. Después de 20 minutos del paso 12, el agitador se detuvo. Paso 15. La solución se enrasó hasta 1000 mL agregando 25 mL de agua. Paso 16. Filtrar la solución con filtro de tamaño de malla 200. Este ejemplo del método dio como resultado la asociación de quitosano de los nutrientes, con la solución que tiene; Urea: 43,5% (p/v), N % p/v: 20,01 (calculado); 17,9 (analizado por TKN), TPP: 0,01% (p/v), quitosano: 0,4% (p/v), ácido nítrico: 0,4% (v/v), pH 2,88, Peso (gramo/100 mL): 110,506 gramos.

Nanopartícula basada en quitosano # 7

Paso 1. Tomar un vaso de precipitados de 1000 mL. Paso 2. Agregar 400 mL de agua. Paso 3. Arrancar el agitador magnético, se continuó a través del proceso hasta que dice detenerse. Paso 4. Después de 5 minutos del paso 3, agregar 100 gramos de urea. Paso 5. Después de 10 minutos del paso 4, agregar 100 gramos de urea. Paso 6. Después de 20 minutos del paso 5, agregar 100 gramos de urea. Paso 7. Después de 10 minutos del paso 6, agregar 135 gramos de urea. Paso 8. Después de 305 minutos del paso 7 (la solución no se disolvió completamente como los semicristales que aparecen en el fondo del vaso de precipitados) y se detuvo el agitador. Paso 9. Tomar otro vaso de precipitados de 2 L por separado y agregar 200 mL de solución D e iniciar el agitador superior. Paso 10. Después de 2 minutos del paso 9, agregar la solución de urea semi disuelta (preparada en el paso 8) transferir a la solución D. Paso 11. Después de 3 minutos del paso 10, agregar 25 mL de agua. Paso 12. Después de 11 minutos del paso 11, agregar solución de sulfato de amonio (0,1 gramos en 25 mL de agua o 0,4% p/v). Paso 13. Después de 26 minutos del paso 12, el agitador se detuvo y la solución se enrasó hasta 1000 mL agregando 50 mL de agua. Paso 14. Filtrar la solución con filtro de tamaño de malla 200. Este ejemplo del método dio como resultado la asociación de quitosano de los nutrientes, con la solución que tiene; Urea: 43,5 % (p/v), N % p/v : 20,01 (calculado); 18,19 (analizado por TKN), Sulfato de amonio: 0,01% (p/v), quitosano: 0,4 % (p/v), ácido acético: 0,4 % (v/v), pH : 4,76 y peso (gramo/100 mL): 110,29 gramos.

Agente de acoplamiento, como glutaraldehído, genipina, epiclorhidrina, tripolifosfato o tripolifosfato de sodio, hexametáfosfato de sodio, polifosfatos. Los sulfatos tales como sulfato de amonio, sulfato de dextrano, etilendiamina, ácido tartárico, urea, trimetáfosfato de sodio son agentes químicos o compuestos que facilitan la asociación entre las moléculas de quitosano, lo que

resulta en la creación de una red o estructura tridimensional que se puede utilizar junto con o en combinación con quitosano y quitosano que contiene nanopartículas de nitrógeno.

Agente de estabilidad: Los posibles adyuvantes/agentes de estabilidad incluyen - Tensioactivos:

Tensioactivos no iónicos (por ejemplo, poliglucósidos de alquilo), tensioactivos aniónicos (por

5 ejemplo, sulfonatos de alquilo), tensioactivos catiónicos (por ejemplo, alquilaminas)

Emulsionantes: Derivados de polietilenglicol (PEG) Ésteres de sorbitán (por ejemplo, serie Tween)

Esparcidores/pegatinas: Tensioactivos de organosilicona, esparcidores a base de ácidos grasos

(por ejemplo, aceites de semillas metilados), Penetrantes: Concentrados de aceite de cultivo,

aceites de semillas metilados. Agentes amortiguadores: Sulfato de amonio, dihidrogenofosfato de

10 potasio, agentes de compatibilidad: Alcohol polivinílico, ácido poliacrílico; agentes antiespumantes:

Antiespumantes a base de silicona, antiespumantes a base de polietilenglicol; ajustadores de pH:

Hidróxido de amonio, ácido fosfórico, hidróxido de sodio, ácido cítrico; Espesantes: Goma guar,

goma acacia, goma xantana; Humectantes: Glicerol, El propilenglicol se puede usar con solución

de quitosano, nanopartícula de quitosano y quitosano, combinación de nitrógeno para mejorar su

15 estabilidad y mejorar la entrega a las partes de las plantas.

El análisis de pH (Figura 5) se realizó de acuerdo con los protocolos estándar para el agua potable

como lo describe la EPA de los Estados Unidos. El análisis de nitrógeno total de Kjeldahl (TKN)

(Figura 5) se realizó de acuerdo con el método 1688 de la Oficina de Agua de la EPA de EE. UU.

El análisis UV-Vis (Figura 6) se realizó de acuerdo con OPPTS 830,7050. El análisis de FTIR (Figuras

20 7-13) se realizó en y de acuerdo con el manual para el Agilent-Cary 630.

Se produjeron múltiples formulaciones utilizando los métodos descritos anteriormente. La Tabla 1

y Tabla 2 muestran las concentraciones de cada componente de la composición o nanopartícula a

base de quitosano. Las Tablas 1 y 2 también detallan las características físicas de cada

nanopartícula basada en quitosano, tales como EC, densidad, viscosidad, potencial zeta y tamaño

25 de partícula.

Tabla 1

Sr. N.º	Exp. Código	N% p/v * (*sr 64-94 tiene p/p)	N% p/p	Quitosano% p/v	Relación de quitosano a nitrógeno	Fuente de nitrógeno	Potenciador de acoplamiento	% del potenciador de acoplamiento
1	AN1101	20,01	18,191	1,29	0,064	Urea	Sulfato de amonio	0,01

2	AN1101R1	20,01	18,191	1,27	0,063	Urea	Sulfato de amonio	0,01
3	AN1117	20,01	18,191	1	0,050	Urea	Sulfato de amonio	0,01
4	AN1119	20,01	18,191	1	0,050	Urea	Sulfato de amonio	0,01
5	AN1102	20,01	18,191	0,8	0,040	Urea	Sulfato de amonio	0,01
6	AN1103	20,01	18,191	0,8	0,040	Urea	Sulfato de amonio	0,01
7	AN1105	20,01	18,191	0,8	0,040	Urea	Polifosfato trisódico	0,01
8	AN1118	20,01	18,191	0,8	0,040	Urea	Sulfato de amonio	0,01
9	AN1114	20,01	18,191	0,45	0,022	Urea	Sulfato de amonio	0,01
10	AN1104	20,01	18,191	0,4	0,020	Urea	Sulfato de amonio	0,01
11	AN1106	20,01	18,191	0,4	0,020	Urea	Polifosfato trisódico	0,01
12	AN1107	20,01	18,191	0,4	0,020	Urea	Sulfato de amonio	0,01
13	AN1108	20,01	18,191	0,4	0,020	Urea	Polifosfato trisódico	0,01
14	AN1104R1	20,01	18,191	0,4	0,020	Urea	Sulfato de amonio	0,01
15	AN1104R2	20,01	18,191	0,4	0,020	Urea	Polifosfato trisódico	0,01
16	AN1115	20,01	18,191	0,4	0,020	Urea	Sulfato de amonio	0,01
17	AN1111	20,01	18,358	0,3	0,015	Urea	Sulfato de amonio	0,01
18	AN1111R1	20,01	18,191	0,3	0,015	Urea	Sulfato de amonio	0,01
19	AN1112	20,01	18,191	0,3	0,015	Urea	Sulfato de amonio	0,01

20	AN1113	20,01	18,191	0,3	0,015	Urea	Sulfato de amonio	0,01
21	AN1113R1	20,01	18,191	0,3	0,015	Urea	Sulfato de amonio	0,01
22	AN1109	20,01	18,358	0,2	0,010	Urea	Sulfato de amonio	0,01
23	AN1110	20,01	18,358	0,2	0,010	Urea	Sulfato de amonio	0,01
24	AN1120	20,01	18,027	0,2	0,010	Urea	Sulfato de amonio	0,01
25	AN1121	19,87	16,558	0,2	0,010	Urea + Sulfato de amonio	Sulfato de amonio	37,70
26	AN1132	19,87	16,154	0,2	0,010	Urea + Sulfato de amonio	Sulfato de amonio	37,70
27	AN1131	20,01	18,191	0,2	0,010	Urea	Sulfato de amonio	0,01
28	AN1113L1	20,01	18,191	0,3	0,015	Urea	Sulfato de amonio	0,01
29	AN1113L2	20,01	18,191	0,3	0,015	Urea	Sulfato de amonio	0,01
30	AN1113L3	20,01	18,191	0,3	0,015	Urea	Sulfato de amonio	0,01
31	AN1113L4	20,01	18,358	0,3	0,015	Urea	Sulfato de amonio	0,01
32	AN1113L5	20,01	18,358	0,3	0,015	Urea	Sulfato de amonio	0,01
33	AN1120L5	20,01	18,027	0,2	0,010	Urea	Sulfato de amonio	0,01
34	AN1121L5	19,87	16,287	0,2	0,010	Urea + Sulfato de amonio	Sulfato de amonio	37,7
35	AN1122	20,01	NA	0,3	0,015	Urea	Sulfato de amonio	0,01
36	AN1123	20,01	NA	0,3	0,015	Urea	Sulfato de amonio	3,01

37	AN1127	20,01	NA	0,3	0,015	Urea	Sulfato de amonio	0,01
38	AN1128	20,01	NA	0,3	0,015	Urea	Sulfato de amonio	0,01
39	AN1129	20,01	18,19	0,3	0,015	Urea	Sulfato de amonio	0,01
40	AN1130	20,01	18,19	0,3	0,015	Urea	Sulfato de amonio	0,01
41	AN1124A	20,01	NA	0,3	0,015	Urea	NA	NA
42	AN1124B	20,01	NA	0,3	0,015	Urea	Sulfato de amonio	0,01
43	AN1124C	20,03	NA	0,3	0,015	Urea	Sulfato de amonio	0,1
44	AN1124D	20,12	NA	0,3	0,015	Urea	Sulfato de amonio	0,5
45	AN1124E	20,22	NA	0,3	0,015	Urea	Sulfato de amonio	1
46	AN1124F	20,43	NA	0,3	0,015	Urea	Sulfato de amonio	2
47	AN1124G	20,65	NA	0,3	0,015	Urea	Sulfato de amonio	3
48	AN1124H	20,86	NA	0,3	0,014	Urea	Sulfato de amonio	4
49	AN1124I	21,07	NA	0,3	0,014	Urea	Sulfato de amonio	5
50	AN1124J	22,13	NA	0,3	0,014	Urea	Sulfato de amonio	10
51	AN1124K	24,26	NA	0,3	0,012	Urea	Sulfato de amonio	20
52	AN1124L	26,38	NA	0,3	0,011	Urea	Sulfato de amonio	30
53	AN1125A	20,01	NA	0,3	0,015	Urea	NA	NA
54	AN1125B	20,01	NA	0,3	0,015	Urea	Polifosfato trisódico	0,001
55	AN1125C	20,01	NA	0,3	0,015	Urea	Polifosfato trisódico	0,01

56	AN1125D	20,01	NA	0,3	0,015	Urea	Polifosfato trisódico	0,1
57	AN1125E	20,01	NA	0,3	0,015	Urea	Polifosfato trisódico	0,5
58	AN1125F	20,01	NA	0,3	0,015	Urea	Polifosfato trisódico	1
59	AN1126A	5	NA	0,3	0,060	Urea	Sulfato de amonio	0,01
60	AN1126B	10	NA	0,3	0,030	Urea	Sulfato de amonio	0,01
61	AN1126C	15	NA	0,3	0,020	Urea	Sulfato de amonio	0,01
62	AN1126D	20,01	NA	0,3	0,015	Urea	Sulfato de amonio	0,01
63	AN1133	20,01	18,191	0,3	0,015	Urea	Sulfato de amonio	0,01
64	E23291	20	20	0,3	0,015	Urea	Sulfato de amonio	0,01
65	E23293	15,65	15,65	0,3	0,019	Urea + Sulfato de amonio	Sulfato de amonio	19,05
66	E23294	20	20	0,8	0,040	Urea	Sulfato de amonio	0,01
67	E23297	6,66	6,66	0,8	0,120	Urea	Sulfato de amonio	0,01
68	EZ1241121	20	20	0,3	0,015	Urea	Sulfato de amonio	0,01
69	EZ1241122	20	20	1,6	0,080	Urea	Sulfato de amonio	0,01
70	EZ1241123	15,65	15,65	0,3	0,019	Urea + Sulfato de amonio	Sulfato de amonio	19,05
71	EZ1241124	13,94	13,94	1,6	0,115	Urea + Sulfato de amonio	Sulfato de amonio	16,87
72	EZ1241125	8,29	8,29	0,3	0,036	Sulfato de amonio	Sulfato de amonio	39,48

73	EZ1241187	2,19	2,19	9	4,110	Urea	Sulfato de amonio	0,01
74	EZ1241188	5	5	7,8	1,560	Urea	Sulfato de amonio	0,01
75	EZ1241189	10	10	5,76	0,576	Urea	Sulfato de amonio	0,01
76	EZ12411810	15	15	3,68	0,245	Urea	Sulfato de amonio	0,01
77	EZ224261	20	20	0,3	0,015	Urea	Sulfato de amonio	0,01
78	EZ224252	20	20	1,6	0,080	Urea	Sulfato de amonio	0,01
79	EZ2241293	15,65	15,65	0,3	0,019	Urea + Sulfato de amonio	Sulfato de amonio	19,05
80	EZ224274	13,94	13,94	1,6	0,115	Urea + Sulfato de amonio	Sulfato de amonio	16,87
81	EZ2241245	8,29	8,29	0,3	0,036	Sulfato de amonio	Sulfato de amonio	39,48
82	EZ224286	2,19	2,19	9	4,110	Urea	Sulfato de amonio	0,01
83	EZ224217	5	5	7,8	1,560	Urea	Sulfato de amonio	0,01
84	EZ2241308	10	10	5,76	0,576	Urea	Sulfato de amonio	0,01
85	EZ2241319	15	15	3,68	0,245	Urea	Sulfato de amonio	0,01
86	EUL242161	20	20	0,3	0,015	Urea	Sulfato de amonio	0,01
87	EUL242192	20	20	1,6	0,080	Urea	Sulfato de amonio	0,01
88	EUL242273	15,65	15,65	0,3	0,019	Urea + Sulfato de amonio	Sulfato de amonio	19,05

89	EUL242284	13,94	13,94	1,6	0,115	Urea + Sulfato de amonio	Sulfato de amonio	16,87
90	EUL242285	8,29	8,29	0,3	0,036	Sulfato de amonio	Sulfato de amonio	39,48
91	EUL24316	2,19	2,19	9	4,110	Urea	Sulfato de amonio	0,01
92	EUL24317	5	5	7,8	1,560	Urea	Sulfato de amonio	0,01
93	EUL24318	10	10	5,76	0,576	Urea	Sulfato de amonio	0,01
94	EUL242299	15	15	3,68	0,245	Urea	Sulfato de amonio	0,01

Sr. N.º	Exp. Código	% ácido acético glacial	HCl %	% de ácido nítrico	pH	EC (mS/cm)	Densidad (g/cm)	Viscosidad (cp)	Potencial Zeta (mV)	Tamaño de partículas por DLS (número)
1	AN1101	0,7	0,7	0	3,67	NA	1,10	NA	NA	NA
2	AN1101R1	0,63	0,63	0	3,61	NA	1,10	NA	NA	NA
3	AN1117	0,8	0	0	4,6	NA	1,10	NA	NA	NA
4	AN1119	0,8	0,8	0	2,51	NA	1,10	NA	NA	NA
5	AN1102	0,4	0,4	0	4	NA	1,10	NA	NA	NA
6	AN1103	0,4	0	0,4	3,22	NA	1,10	NA	NA	NA
7	AN1105	0,4	0	0,4	3,14	NA	1,10	NA	NA	NA
8	AN1118	0	0,8	0	2,57	NA	1,10	NA	NA	NA
9	AN1114	0,15	0,25	0,15	3,48	NA	1,10	NA	NA	NA
10	AN1104	0	0	0,4	2,87	NA	1,10	NA	NA	NA
11	AN1106	0	0	0,4	2,88	NA	1,10	NA	NA	NA
12	AN1107	0,4	0	0	4,76	NA	1,10	NA	NA	NA
13	AN1108	0,4	0	0	4,74	NA	1,10	NA	NA	NA
14	AN1104R1	0	0	0,4	2,86	NA	1,10	NA	NA	NA
15	AN1104R2	0	0	0,4	2,86	NA	1,10	NA	NA	NA

16	AN1115	0	0,5	0	2,86	NA	1,10	NA	NA	NA
17	AN1111	0,15	0,15	0	4,4	NA	1,09	NA	NA	NA
18	AN1111R1	0,15	0,15	0	4,42	NA	1,10	NA	NA	NA
19	AN1112	0,15	0,15	0	4,35	NA	1,10	NA	NA	NA
20	AN1113	0,15	0,25	0	3,59	NA	1,10	NA	NA	NA
21	AN1113R1	0,15	0,25	0	3,45	NA	1,10	NA	NA	NA
22	AN1109	0,20 0	0,00 0	0,00 0	4,92 0	NA	1,09 0	NA	NA	NA
23	AN1110	0,20 0	0,00 0	0,00 0	6,33 0	NA	1,09 0	NA	NA	NA
24	AN1120	0,40 0	0,80 0	0,00 0	2,37 0	NA	1,11 0	NA	NA	NA
25	AN1121	0,00 0	0,20 0	0,00 0	3,80 0	NA	1,20 0	NA	NA	NA
26	AN1132	0,00 0	0,20 0	0,00 0	3,79 0	156,31 0	1,23 0	5,22 0	9,30 0	321,30 0
27	AN1131	0,4	0,8	0	2,4	7,54	1,10	3,19	NA	NA
28	AN1113L1	0,15	0,25	0	3,51	NA	1,10	NA	NA	NA
29	AN1113L2	0,15	0,25	0	3,5	NA	1,10	NA	NA	NA
30	AN1113L3	0,15	0,24	0	3,43	1,82	1,10	NA	NA	NA
31	AN1113L4	0,15	0,24	0	3,51	1,84	1,09	NA	NA	NA
32	AN1113L5	0,15	0,24	0	3,5	1,83	1,09	NA	53,9 5	50,7
33	AN1120L5	0,4	0,8	0	2,31	7,59	1,11	NA	29,5 9	93,26
34	AN1121L5	0	0,2	0	3,77	155,16	1,22	NA	9,96	518,6
35	AN1122	0,15	0,15	0	2,81	3,46	NA	NA	NA	NA
36	AN1123	0,15	0,15	0	4,52	27,55	NA	NA	NA	NA
37	AN1127	0,23	0,15	0	5,13	NA	NA	NA	15,7 7	68,54
38	AN1128	0,15	0,15	0	4,54	NA	NA	NA	NA	NA
39	AN1129	0,15	0,24	0	3,36	1,84	1,10	5,43	57,7	40,82
40	AN1130	0,38	0,24	0	4,39	1,59	1,10	5,43	NA	NA
41	AN1124A	0,15	0,15	0	4,51	1,34	NA	NA	NA	NA
42	AN1124B	0,15	0,15	0	4,34	1,33	NA	NA	NA	NA
43	AN1124C	0,15	0,15	0	4,42	2,2	NA	NA	NA	NA
44	AN1124D	0,15	0,15	0	4,44	6,36	NA	NA	NA	NA

45	AN1124E	0,15	0,15	0	4,45	11,03	NA	NA	NA	NA
46	AN1124F	0,15	0,15	0	4,44	19,4	NA	NA	NA	NA
47	AN1124G	0,15	0,15	0	4,43	27,4	NA	NA	NA	NA
48	AN1124H	0,15	0,15	0	4,45	33,96	NA	NA	NA	NA
49	AN1124I	0,15	0,15	0	4,46	39,99	NA	NA	NA	NA
50	AN1124J	0,15	0,15	0	4,35	65,02	NA	NA	NA	NA
51	AN1124K	0,15	0,15	0	4,41	92,64	NA	NA	11,7 1	80,79
52	AN1124L	0,15	0,15	0	4,45	102,52	NA	NA	5,14	49,46
53	AN1125A	0,15	0,15	0	4,62	1,43	NA	NA	NA	NA
54	AN1125B	0,15	0,15	0	4,34	1,27	NA	NA	NA	NA
55	AN1125C	0,15	0,15	0	4,32	1,35	NA	NA	NA	NA
56	AN1125D	0,15	0,15	0	4,71	1,67	NA	NA	NA	NA
57	AN1125E	0,15	0,15	0	5,84	4,13	NA	NA	NA	NA
58	AN1125F	0,15	0,15	0	6,96	6,96	NA	NA	NA	NA
59	AN1126A	0,15	0,15	0	3,53	1,59	NA	NA	30,3 7	48,04
60	AN1126B	0,15	0,15	0	3,81	1,55	NA	NA	NA	NA
61	AN1126C	0,15	0,15	0	4,11	1,48	NA	NA	NA	NA
62	AN1126D	0,15	0,15	0	4,47	1,4	NA	NA	NA	NA
63	AN1133	0,15	0,32	0	3,48	2,52	1,10	6,94	NA	NA
64	E23291	0,15	0,15	0	3,55	1,9	1,11	8,05 2	55,2	91,07
65	E23293	0,15	0,15	0	4,01	128,76	1,18	6,43 1	10,9 2	258,9
66	E23294	0,4	0,4	0	3,65	2,97	1,12	29,4 5	57,0 1	114,5
67	E23297	0,4	0,4	0	3,49	3,27	1	18,5 4	63,1 4	153,8
68	EZ1241121	NA	NA	NA	4,53	1,08	1,11	1,96 7	50,6	165,6
69	EZ1241122	NA	NA	NA	5	2,74	1,12	3,76 6	47,0 8	227,5
70	EZ1241123	NA	NA	NA	4,65	128,69	1,17	2,32 1	3,92	173,1
71	EZ1241124	NA	NA	NA	4,82	119,62	1,16	3,64 6	9,07	323,1

72	EZ1241125	NA	NA	NA	4,67	263	1,22	2,59 7	8,23	175,8
73	EZ1241187	NA	NA	NA	4,33	11,19	1,05 1	21,5	49,3	278,1
74	EZ1241188	NA	NA	NA	4,47	10,44	1,06 3	16,9 5	47,1 4	228,2
75	EZ1241189	NA	NA	NA	4,57	7,89	1,07 5	8,99 8	45,9 2	217,2
76	EZ1241181 0	NA	NA	NA	4,81	5,83	1,10	7,19 8	46,3	345,6
77	EZ224261	NA	NA	NA	4,84	1,83	1,11	1,88 9	46,9 8	124
78	EZ224252	NA	NA	NA	4,97	3,42	1,11	3,96	48,2 8	142,6
79	EZ2241293	NA	NA	NA	4,69	133,04	1,17	2,53 7	8,03	396
80	EZ224274	NA	NA	NA	4,75	121,71	1,15	3,71	10,2 7	626,2
81	EZ2241245	NA	NA	NA	4,63	267,42	1,22	2,73 5	9,97	194,3
82	EZ224286	NA	NA	NA	4,3	10,62	1,04	21,1 5	43,2 9	205,7
83	EZ224217	NA	NA	NA	4,37	9,8	1,06	19,6 2	38,6 1	180,1
84	EZ2241308	NA	NA	NA	4,59	7,98	1,08	12,9	40,4 6	231,7
85	EZ2241319	NA	NA	NA	4,76	5,7	1,09	7,99	41,3 8	240,5
86	EUL242161	NA	NA	NA	5,02	1,68	1,11	1,54	36,6 6	140,5
87	EUL242192	NA	NA	NA	5,53	3,86	1,12	2,3	37,7	131,4
88	EUL242273	NA	NA	NA	5,08	134,37	1,17	2,24	2,46	157,4
89	EUL242284	NA	NA	NA	5,41	120,77	1,16	2,5	5,38	106,8
90	EUL242285	NA	NA	NA	5,29	259,38	1,22	2,32	2,54	170,4
91	EUL24316	NA	NA	NA	5,04	12,33	1,06	4,72	34,6 6	74,56

92	EUL24317	NA	NA	NA	5,11	11,18	1,07	4,19	34,1 7	233,2
93	EUL24318	NA	NA	NA	5,26	9,04	1,09	3,37	34,2	176,9
94	EUL242299	NA	NA	NA	5,44	6,52	1,15	2,59	32,6	153,7

Tabla 2

Ejemplo 4: Aplicación y usos de las nanopartículas de quitosano y/o quitosano/nitrógeno

- 5 El quitosano resultante y/o los productos de nanopartículas a base de quitosano o mezclas de productos obtenidos como resultado de los Ejemplos anteriores se usaron para los efectos multidimensionales en plantas tales como crecimiento, protección y nutrición. Los efectos multidimensionales en las plantas se obtuvieron aplicando el producto resultante de los Ejemplos anteriores sobre el gránulo de fertilizante, la superficie de la semilla, mezclando en el suelo,
- 10 insertando en el suelo, exponiendo la raíz y/o exponiendo las hojas. La tasa de aplicación osciló entre 0,01% y 50% v/p o v/v. Además, los productos resultantes de los Ejemplos anteriores se usaron para mezclarse con otros agroquímicos para funcionar como promotor del crecimiento, simbionte, nutriente, agente de protección contra patógenos o plantas no deseadas para efectos sinérgicos.
- 15 Los efectos multidimensionales en las plantas se estudiaron en varios experimentos. Los experimentos utilizaron una formulación de quitosano al 2% o 3%.
Se produjo una formulación de quitosano al 2% AN1136 (Tablas 1 y 2) de acuerdo con el siguiente procedimiento.
Comenzar vertiendo 200 mL de agua en un vaso de precipitados de 500 mL de capacidad,
- 20 asegurando una medición precisa. Encender el agitador magnético ajustado a temperatura ambiente (26,4 °C) y programado para funcionar a 300 rotaciones por minuto (RPM). Mantener la agitación continua durante todo el procedimiento hasta que se indique lo contrario. Dejar que el agua se agite durante 5 minutos para establecer un ambiente uniforme dentro del vaso de precipitados. Después de este tiempo, introducir cuidadosamente 5 gramos de copos de quitosano
- 25 en el agua de agitación. Después de la adición de copos de quitosano, continuar agitando durante 15 minutos adicionales para facilitar su dispersión e interacción con las moléculas de agua. En este punto, agregar 5 mL de ácido clorhídrico (HCl) al 37% a la solución. Observar atentamente la solución, dejando suficiente tiempo (aproximadamente 60 minutos) para que los copos de quitosano se disuelvan completamente en el medio líquido, asegurando una mezcla y disolución
- 30 exhaustivas. Una vez que se logre la disolución completa, introducir 40 mL adicionales de agua en la solución, manteniendo el proceso de agitación para garantizar la homogeneidad. Continuar agitando la solución con el agua recién agregada durante 15 minutos adicionales para garantizar una mezcla y un equilibrio adecuados. Después del período de agitación, desactivar el agitador magnético. Para compensar cualquier pérdida de volumen durante el proceso, ajustar el volumen

de la solución a 250 mL agregando 5 mL de agua. Asegurarse de mezclar bien para lograr una solución uniforme. Para eliminar cualquier materia particulada o impurezas restantes, filtrar la solución con un filtro de tamaño de malla 200 (74 micras), permitiendo que solo pase la porción líquida mientras retiene los residuos sólidos.

Sr. N.º	Parámetro	Resultados
1	pH	0,72
2	Conductividad (mS/cm)	51,74
3	Densidad (g/cm ³)	1,0
4	Viscosidad (cps)	71,09
5	% de quitosano	2
6	HCL % (v/v)	2

Tabla 3

5

Se prepara una Solución Precursora de Nitrógeno. Comenzar seleccionando un vaso de precipitados de 2000 mL, asegurándose de que esté limpio y seco, listo para usar en el experimento. Medir cuidadosamente 490 mL de agua, usando un cilindro graduado, y verterlo en el vaso de precipitados elegido. Transferir el vaso de precipitados preparado que contiene el agua medida a un aparato agitador superior. Asegurarse de que el aparato esté configurado y calibrado correctamente y establecer la velocidad de agitación en 300 revoluciones por minuto (RPM). Además, asegurarse de que la temperatura ambiente se mantenga a 25 °C, proporcionando un ambiente óptimo para el experimento. Después de dejar que el agua se agite durante 5 minutos, introducir gradualmente 260 gramos de la fuente de nitrógeno, que en este caso es urea. Agregar la urea lentamente al agua de agitación, asegurando una distribución y disolución uniformes dentro de la solución. Una vez que se haya agregado la urea, permitir que la solución continúe agitando durante un período prolongado de 120 minutos, proporcionando tiempo suficiente para que la urea se disuelva completamente y se integre en el agua. Después de la disolución de la urea, agregar 377 gramos de sulfato de amonio a la solución. De manera similar a la adición de urea, introducir el sulfato de amonio gradualmente, permitiendo que se disuelva y se disperse uniformemente dentro de la solución. Después de dejar que la solución se agite durante 120 minutos adicionales después de la adición de sulfato de amonio, observar cuidadosamente la solución para determinar si el sulfato de amonio se ha disuelto por completo. Asegurarse de mezclar y disolver a fondo inspeccionando visualmente la solución para detectar cualquier partícula sólida restante. Una vez que se confirme la disolución, detener el aparato agitador superior, deteniendo el proceso de agitación. Asegurarse de que el agitador esté completamente apagado para evitar cualquier agitación innecesaria de la solución. Para verificar el volumen final de la solución, medirlo con una

10

15

20

25

probeta o matraz aforado. Lo ideal es que el volumen medir aproximadamente 900 mL, lo que indica la finalización exitosa del experimento y la preparación precisa de la solución.

Sr. N.º	Parámetro	Resultados
1	pH	5,64
2	Conductividad (mS/cm)	143,90
3	Densidad (g/cm ³)	1,25
4	Viscosidad (cps)	3,88

Tabla 4

- Una vez preparadas las soluciones precursoras de quitosano y nitrógeno. Se prepara la solución de nanopartículas a base de quitosano.
- 5 Seleccionar un vaso de precipitados de 2000 mL limpio y seco para que sirva como recipiente para el experimento. Usando un instrumento de medición preciso, como un cilindro de medición de 1000 mL, medir cuidadosamente 900 mL de la solución precursora de nitrógeno. Verter este volumen medido de la solución en el vaso de precipitados preparado, asegurando la precisión en la medición para lograr resultados consistentes. Una vez que la solución precursora de nitrógeno se agrega al vaso de precipitados, transferir el vaso de precipitados a un aparato agitador superior. Asegurarse de que el aparato esté correctamente configurado y calibrado y establecer la velocidad de agitación en 300 rotaciones por minuto (RPM). Mantener la temperatura ambiente para proporcionar un ambiente óptimo para el experimento. Después de dejar que la solución se agite durante 30 minutos, se procede a agregar 100 mL de una solución de quitosano al 2% a la solución precursora de nitrógeno en agitación. Introducir lentamente la solución de quitosano en la solución de agitación, asegurando una mezcla completa y una distribución uniforme dentro del vaso de precipitados. Después de la adición de la solución de quitosano, permitir que la solución continúe agitando durante un período prolongado de 3 horas, proporcionando tiempo suficiente para que se produzcan reacciones o interacciones entre los componentes de la solución. Después de este tiempo, detener el agitador superior para detener el proceso de agitación. Para determinar el volumen final de la solución, medirlo con un instrumento de medición adecuado, asegurando la precisión de la medición. Idealmente, el volumen medido debe ser de aproximadamente 1000 mL, lo que indica la finalización exitosa del experimento y la preparación adecuada de la solución.
- 15 Proceder a filtrar la solución utilizando una unidad de filtración de malla 200. Este proceso de filtración debe tardar aproximadamente 18 segundos en completarse, eliminando de manera efectiva cualquier partícula o impureza más grande presente en la solución. Después de la filtración inicial, repetir el proceso de filtración utilizando una unidad de filtración de 5 micrómetros. Este paso de filtración secundario refina aún más la solución, eliminando partículas más pequeñas y asegurando un mayor nivel de pureza. El proceso de filtración con la unidad de 5 micras debe tardar aproximadamente 20 segundos en completarse. Una vez que se filtra la solución, transferirla
- 20
- 25
- 30

a un recipiente de almacenamiento adecuado, como una botella de polietileno de alta densidad (HDPE), asegurándose de que esté bien sellada para evitar la contaminación. Almacenar la solución filtrada a una temperatura de 20 °C hasta su uso posterior.

Sr. N.º	Parámetro	Resultados
1	Quitosano % (p/v)	0,2
2	HCL % (v/v)	0,2
3	Urea % (p/v)	26
4	N en urea % (p/v)	11,96
5	Sulfato de amonio % (p/v)	37,7
6	N en sulfato de amonio % (p/v)	7,91
7	Azufre en Sulfato de Amonio % (p/v)	9,1
8	Sulfato en Sulfato de Amonio % (p/v)	27,4
9	Nitrógeno total % (p/v)	19,87

Tabla 5

5

Parámetro de prueba	Unidad	Valor	Dev. Std.
pH		3,81	
EC	mS/cm	159,37	
Viscosidad	cps	5,35	
Densidad	g/cm ³	1,23	
Nitrógeno (TKN)	%	19,87	
Azufre	%	9,1	
Quitosano	%	0,2	
Tamaño hidrodinámico (por número)	nm	422,2	16,57
Tamaño hidrodinámico (por intensidad)	nm	491,5	25,13
Tamaño hidrodinámico (por media Z)	nm	454,8	10,3
Potencial Zeta por DLS	mV	9,857	0,4218

Tabla 6

Se produjo una formulación de quitosano al 3% EZ2241293 (Tablas 1 y 2) de acuerdo con el siguiente procedimiento.

La formulación comienza con la preparación de una solución intermedia. Esto comienza con la preparación de la solución madre de origen N (p/p). Primero, preparar un vaso de precipitados de vidrio de 2000 mL de capacidad colocándolo cuidadosamente en la balanza para garantizar una medición precisa. Tomar nota de su peso inicial. Con precisión, verter 400 gramos de agua en el vaso de precipitados, asegurándose de que la medición sea exacta. Una vez agregada el agua, activar el agitador aéreo, ajustándolo a una velocidad de rotación constante de 300 RPM. Asegurarse de que la temperatura de la solución permanezca estable a 25 °C durante todo este proceso. Agregar gradualmente 435 gramos de urea a la solución de agitación, teniendo cuidado de mantener una velocidad de mezcla constante. Dejar que la solución se mezcle a fondo durante 3 horas, manteniendo la velocidad de agitación a 300 RPM y la temperatura a 25 °C. Esto garantiza la integración completa de la urea en la solución. Al finalizar el proceso de agitación, detener cuidadosamente el funcionamiento del agitador superior. Determinar el peso final de la solución. Medir el peso del vaso de precipitados que contiene la solución, observando cualquier cambio con respecto a su peso inicial. Se debe registrar el peso final, indicando la incorporación exitosa de la Urea a la solución, resultando un peso total de 833 gramos. Para refinar la solución, proceder a filtrarla a través de una malla con un tamaño de malla de 200. Este paso garantiza la eliminación de cualquier impureza o partícula no disuelta. La composición (p/p) de esta solución intermedia es urea: 52,09%, y Nitrógeno: 23,96%. La Tabla 3 detalla las características de la solución.

Sr. N.º	Parámetro	Resultados
1	pH (antes de ajustar)	8,29
2	Conductividad (mS/cm) (antes de ajustar)	0,10
3	Conductividad (mS/cm) (después de ajustar)	1,18
4	Densidad (g/cm ³)	1,13
5	Viscosidad (cps)	1,96

Tabla 7

El segundo es la preparación de una solución madre de sulfato de amonio (p/p). Comenzar seleccionando un vaso de precipitados de 1000 mL seco y prístino, asegurándose de que esté libre de residuos o contaminantes. Colocar el vaso de precipitados meticulosamente en la báscula para preparar las medidas precisas. Verter cuidadosamente 290 gramos de agua en el vaso de precipitados limpio, ejerciendo precisión para lograr una medición precisa. Con el agua agregada, iniciar el agitador aéreo, configurándolo para que gire a una velocidad constante de 300 RPM. Mantener una temperatura estable de 25 °C durante todo este proceso para garantizar condiciones óptimas para la mezcla. Introducir 210 gramos de sulfato de amonio en la solución de agitación, incorporándolo metódicamente para garantizar una dispersión completa. Dejar que la solución se

- mezcle armoniosamente durante 3 horas, manteniendo la velocidad de agitación a 300 RPM y la temperatura a 25 °C. Al finalizar el ciclo de agitación, desconectar cuidadosamente el agitador superior, deteniendo el proceso de mezcla de forma controlada. Usar la báscula para medir el peso del vaso de precipitados que contiene la solución, observando cualquier desviación de su peso inicial. El peso final registrado debe reflejar la incorporación exitosa del sulfato de amonio, lo que resulta en un peso total de 498,09 gramos. Para refinar aún más la solución, continuar con el proceso de filtración utilizando una malla con un tamaño de malla de 200. Este paso sirve para eliminar cualquier impureza o partícula no disuelta. La composición (p/p) de la solución madre de amonio es sulfato de amonio: 42%, azufre: 10,18 %, nitrógeno: 8,90 % sulfato: 30,5 %.

Sr. N.º	Parámetro	Resultados
1	pH	4,91
2	Conductividad (mS/cm)	266,73
3	Densidad (g/cm ³)	1,23
4	Viscosidad (cps)	2,74

Tabla 8

- La preparación de la nanopartícula a base de quitosano EZ2244810 utiliza las soluciones madre preparadas anteriormente y procede de la siguiente manera. Comenzar pesando meticulosamente el vaso de vidrio de 1000 mL de capacidad. Agregar 486,32 gramos de fuente de N de urea en el vaso de precipitados. Para ajustar el pH al nivel deseado de 3,57, introducir cuidadosamente aproximadamente 0,7 mL de Ácido Clorhídrico (HCl), asegurando una mezcla completa para lograr uniformidad en la distribución del pH. De manera similar, prepare otro vaso de precipitados de vidrio de 1000 mL de capacidad tarando la balanza, asegurando mediciones precisas para los pasos posteriores. En este vaso preparado, agregar 453,48 gramos de fuente de N de sulfato de amonio, manteniendo la precisión durante todo el proceso. Usar un papel de pesaje separado, tarando la máquina de pesaje para garantizar una medición precisa, preparándose para la adición de 0,1 gramos de sorbato de potasio, asegurando una medición precisa para cada componente. Prepare un vaso de precipitados de vidrio de 20 mL de capacidad por separado tarando la báscula y agregando 7,5 gramos de agua, manteniendo la precisión en la medición. Pesar el vaso de precipitados de vidrio de 2000 mL de capacidad, tarar la báscula y agregar 30 gramos de solución de Zale-2 de la pasta. Colocar el vaso de precipitados debajo del agitador suspendido, ajustarlo para que gire a 300 RPM y mantener una temperatura constante de 25 °C. Después de 15 minutos de agitación, introducir 486,32 gramos de fuente de N de urea en la solución, asegurando una distribución uniforme a través de una mezcla suave. Treinta minutos después, agregar 453,48 gramos de fuente de N de sulfato de amonio a la solución, manteniendo el proceso de agitación para una incorporación uniforme. Posteriormente, introducir 0,1 gramos de sorbato de potasio sólido en la solución después de otros 30 minutos, asegurando

- una mezcla completa para la homogeneidad. Después de 5 minutos adicionales, agregar 30 gramos de agua a la solución, manteniendo el proceso de agitación para garantizar una integración completa. Continuar agitando la solución durante un total de 3 horas, dejando tiempo suficiente para que todos los componentes se disuelvan e interactúen por completo. Al finalizar el
- 5 ciclo de agitación, detener cuidadosamente el agitador, deteniendo el proceso de mezcla de forma controlada. Medir el peso final de la solución, que debe ascender a 991 gramos, con 8,42 gramos adicionales contabilizados como pérdida por transferencia de solución. Proceder a filtrar la solución utilizando una unidad de filtración de malla 200, con un tiempo de filtración de aproximadamente 10 segundos, asegurando la eliminación de impurezas o partículas no
- 10 disueltas. Refinar aún más la solución filtrándola a través de una unidad de filtración de 5 micrómetros, con un tiempo de filtración de aproximadamente 13 segundos, mejorando la pureza y la claridad de la solución. Después de la filtración, pesar nuevamente la solución para determinar su peso final, que ahora debería ser de aproximadamente 982,5 gramos, con 9 gramos adicionales contabilizados como pérdida de solución durante la filtración. Almacenar la
- 15 solución purificada en un frasco de HDPE de 1000 mL, asegurando un sellado adecuado para mantener su integridad hasta su uso posterior.

Sr. N.º	Parámetro	Resultados
1	Color	Ámbar
2	pH	4,51
3	Conductividad (mS/cm)	131,14
4	Densidad (g/cm ³)	1,17
5	Viscosidad (cps)	2,52

Tabla 9

- La composición final (p/p) de la nanopartícula a base de quitosano EZ2241293 es quitosano = 0,3%, nitrógeno total (p/v) = 15,64%, sulfato de amonio total (con enlazador) = 19,06%, N en urea = 11,65%, N en AS = 3,99%, S en AS = 4,62%, sulfato = 13,84, sorbato de potasio: 0,01%, y Con. HCL (usar como mantenimiento del pH de la solución de urea): 700 microlitros.

- Se realizó un primer experimento en un ambiente hidropónico. La lechuga se cultivó en un sistema hidropónico para evaluar el efecto de una nanopartícula a base de quitosano, EZ2241293 (véanse las Tablas 1 y 2), sobre la lechuga.

- El experimento incluyó cinco parámetros probados. Un control positivo, que fue alto en nitrógeno (105,50 mg de nitrógeno aplicado por planta) agregado al medio de crecimiento, y una pulverización foliar de agua. Se agregó un control negativo, que era bajo en nitrógeno (24,99 mg de nitrógeno aplicado por planta) al medio de crecimiento, y una pulverización de agua. El
- 30 rociado de agua utilizado en estos dos controles es para eliminar la posibilidad de que el agua rociada en las hojas tenga un efecto en las plantas. Se utilizó un control comercial para simular

- una pulverización foliar como está disponible actualmente y se agregó nitrógeno bajo (24,99 mg de nitrógeno aplicado por planta) al medio de crecimiento y una pulverización foliar de urea. Se utilizó un segundo control comercial para simular una pulverización foliar alternativa como la disponible actualmente y se agregó nitrógeno bajo (24,99 mg de nitrógeno aplicado por planta)
- 5 al medio de crecimiento, y una pulverización foliar de urea y sulfato de amonio. La formulación probada fue una nanopartícula a base de quitosano con 15,65% en peso de nitrógeno, 0,3% en peso de quitosano para una relación de nitrógeno a quitosano de 0,019. La nanopartícula a base de quitosano se agregó a una pulverización foliar y se aplicó a $6,73 \pm 0,1$ de nitrógeno por planta.
- 10 La nanopartícula a base de quitosano tuvo un efecto positivo en las plantas, lo que resultó en un mayor ancho de la planta, mayor peso de los brotes, mayor vigor, mayor peso de las raíces y menor fitotoxicidad. Los aerosoles foliares a menudo tienen un efecto adverso en las plantas, ya que las sustancias en los aerosoles dañan o queman las hojas. La nanopartícula a base de quitosano tiene una puntuación de fitotoxicidad mínima estadísticamente similar a la del control
- 15 positivo de alto nitrógeno en los medios hidropónicos y el control negativo de bajo nitrógeno en los medios hidropónicos. (Figura 14) Por el contrario, una pulverización foliar de urea y sulfato de amonio tiene una calificación de fitotoxicidad estadísticamente más alta. La baja calificación de fitotoxicidad de la nanopartícula a base de quitosano demuestra que una pulverización foliar con la nanopartícula a base de quitosano produce menos daño a una planta que una pulverización
- 20 foliar a base de urea y sulfato de amonio. El efecto del nitrógeno en las plantas se puede medir de varias maneras. Para el estudio hidropónico con lechuga, el vigor de la planta es un parámetro que muestra el efecto del nitrógeno y la nanopartícula a base de quitosano. (Figura 15). Las plantas muestran mayor vigor con el mayor nivel de nitrógeno en los medios hidropónicos, que con el menor nivel de nitrógeno en los medios hidropónicos. La adición de la
- 25 nanopartícula a base de quitosano constituye la diferencia entre los niveles altos y bajos de nitrógeno en los medios hidropónicos. En otras palabras, el vigor de las plantas de lechuga que recibieron la nanopartícula a base de quitosano es estadísticamente equivalente al vigor de las plantas de lechuga que recibieron el alto nivel de nitrógeno en el medio hidropónico. La anchura de la planta es otro parámetro que identifica el efecto de la nanopartícula a base de quitosano.
- 30 (Figura 16). Las plantas muestran mayor ancho con el mayor nivel de nitrógeno en los medios hidropónicos, que el menor nivel de nitrógeno en los medios hidropónicos. La adición de la nanopartícula a base de quitosano constituye la diferencia entre los niveles altos y bajos de nitrógeno en los medios hidropónicos. En otras palabras, el ancho de las plantas de lechuga que recibieron la nanopartícula a base de quitosano es estadísticamente equivalente al ancho de las
- 35 plantas de lechuga que recibieron el alto nivel de nitrógeno en el medio hidropónico. Los controles comerciales no fueron mejores que el control negativo. (Figura 17). Las plantas muestran un mayor peso de los brotes con el mayor nivel de nitrógeno en los medios hidropónicos, que el menor nivel de nitrógeno en los medios hidropónicos. La adición de la

nanopartícula a base de quitosano constituye la diferencia entre los niveles altos y bajos de nitrógeno en los medios hidropónicos. En otras palabras, el peso de los brotes de las plantas de lechuga que recibieron la nanopartícula a base de quitosano es estadísticamente equivalente al peso de los brotes de las plantas de lechuga que recibieron el alto nivel de nitrógeno en el medio hidropónico. Los controles comerciales no fueron mejores que el control negativo. Otro parámetro para medir el efecto del nitrógeno es el peso de la raíz. Las raíces se expanden y buscan nitrógeno y otros nutrientes. (Figura 18). Los niveles altos y bajos de nitrógeno en los medios hidropónicos son estadísticamente equivalentes. La nanopartícula a base de quitosano da como resultado un aumento en el peso de la raíz de las plantas de lechuga, lo que indica que las plantas de lechuga que recibieron la nanopartícula a base de quitosano están beneficiando a las plantas de lechuga.

Varias características de crecimiento mostraron que reemplazar el nitrógeno con un menor volumen de nanopartículas basadas en quitosano dio como resultado rendimientos de biomasa que eran al menos iguales al rendimiento de biomasa del control de alto nitrógeno. Esto significa que las plantas recibieron tanto beneficio de una menor cantidad de nitrógeno asociado con una nanopartícula a base de quitosano como el beneficio del alto contenido de nitrógeno. El alto contenido de nitrógeno proporcionó 105,50 mg de nitrógeno por planta. El bajo contenido de nitrógeno proporcionó 24,99 mg de nitrógeno por planta. La nanopartícula a base de quitosano agregó 6,73 +/- 0,1 mg de nitrógeno por planta. Por lo tanto, la nanopartícula a base de quitosano y el bajo nitrógeno hidropónico en conjunto proporcionaron 31,72 mg de nitrógeno a la planta, o una reducción del 70% en la cantidad de nitrógeno total aplicado a cada planta. En otras palabras, 80,51 mg de nitrógeno eliminado se reemplazaron por 6,73 +/- 0,1 mg de nitrógeno o el 8,4% del nitrógeno eliminado del nitrógeno alto se reemplazó por el nitrógeno en la nanopartícula a base de quitosano con un beneficio equivalente.

El segundo experimento fue un estudio de campo, donde se utilizó la nanopartícula a base de quitosano en un aerosol foliar. Este estudio fue un estudio replicado de parcelas pequeñas fuera de temporada realizado en Florida.

Las plantas de maíz se sembraron en parcelas que se modificaron con una tasa alta de nitrógeno, a 68,04 kg/acre de nitrógeno) o baja de nitrógeno a 49,90 kg/acre de nitrógeno). Hubo un control con alto contenido de nitrógeno (68,04 kg/acre de nitrógeno) y un control con bajo contenido de nitrógeno (49,90 kg/acre de nitrógeno). Se pulverizaron tres formulaciones diferentes de nanopartículas a base de quitosano en las diferentes gráficas, lo que resultó en una gráfica con alto contenido de nitrógeno y una con bajo contenido de nitrógeno para cada nanopartícula a base de quitosano. (Figura 19A). La formulación de nanopartículas a base de quitosano fue AN1132 = 0,2 % de quitosano, 12% de N de urea, 8% de N de sulfato de amonio. Se utilizó quitosano LMW. Las formulaciones se pulverizaron en las parcelas a 5 L/acre. Esto da como resultado un peso de nitrógeno de aproximadamente 1 kg/acre. Por lo tanto, los 18,14 kg/acre de nitrógeno que se eliminaron del nitrógeno alto al nitrógeno bajo se reemplazaron en el nitrógeno bajo con 1 kg/acre.

El rendimiento para al menos algunas de las formulaciones de nanopartículas basadas en quitosano fue al menos estadísticamente igual al rendimiento del nitrógeno alto. Por lo tanto, el nitrógeno se redujo en aproximadamente un 25% del nitrógeno alto al nitrógeno bajo con la adición de la formulación de nanopartículas a base de quitosano con un rendimiento estadísticamente igual.

- 5 Otra forma de afirmar esto es que la cantidad total de nitrógeno utilizada en la nanopartícula con bajo contenido de nitrógeno más la nanopartícula a base de quitosano fue de aproximadamente el 75% del nitrógeno utilizado en la nanopartícula con alto contenido de nitrógeno con el mismo rendimiento. Además, el nitrógeno en la formulación de nanopartículas a base de quitosano reemplazó alrededor de 5,5% del nitrógeno eliminado del nitrógeno bajo. El bajo nitrógeno más
- 10 la nanopartícula a base de quitosano AN1132 dio como resultado niveles más altos de nitrógeno en las hojas en la etapa V8 que en el control de alto nitrógeno o bajo nitrógeno. (Figura 19B).

- Un tercer experimento fue la adición de una nanopartícula a base de quitosano a los campos de maíz fertilizados con nitrógeno de acuerdo con las prácticas de fertilización estándar aceptadas. Se realizaron ensayos en Nebraska, Kansas y Ohio. Los tamaños de las parcelas fueron de
- 15 aproximadamente 10x45 pies, con 5 réplicas por tratamiento. Los parámetros de prueba incluyeron parcelas con un control no tratado, es decir, no se agregó fertilizante de nitrógeno ni composición de nanopartículas a base de quitosano; parcelas de nitrógeno estándar, es decir, parcelas fertilizadas con nitrógeno de acuerdo con los estándares agrícolas; nitrógeno estándar más solución de nanopartículas a base de quitosano AN1113 pulverizada a 5 L/acre en dos puntos
- 20 durante el crecimiento; bajo nitrógeno, nitrógeno que se agrega a 18,14 kg / acre menos que el nitrógeno estándar; y solución de nanopartículas a base de quitosano AN1113 pulverizada a 5 L/acre en dos puntos durante el crecimiento. En todos los ensayos, el nitrógeno total aplicado en el escenario de nanopartículas a base de quitosano + bajo nitrógeno fue entre un 15 y un 25% menos de nitrógeno que el estándar del cultivador.

- 25 El nitrógeno se aplicó de acuerdo con las definiciones de tratamiento en la Tabla 10. Para la tasa base estándar de nitrógeno, se utilizaron tasas de nitrógeno representativas de las prácticas estándar de los productores locales para el potencial de rendimiento promedio, utilizando el mínimo del rango aceptable.

Tabla 10. Definiciones de tratamiento				
	Descripción	Aplicación A: Nitrógeno a través del fertilizante tradicional aplicado al suelo	Solicitud B: V5-V-6 Foliar	Solicitud B: V5-V-6 Foliar
1	Verificar	Ninguno	-	-
2	N Estándar	Tasa estándar N	-	-

3	Estándar N + Split Foliar (10L)	Tasa estándar N	5 L/acre AN1113	5 L/acre AN1113
4	N reducido	Estándar menos 18,14 kg N	-	-
5	Reducido N + Split Foliar (10L)	Estándar menos 18,14 kg N	5 L/acre AN1113	5 L/acre AN1113

Tabla 10

La adición de la nanopartícula a base de quitosano al nitrógeno estándar dio como resultado un aumento del 7% en el rendimiento (Figura 20). La adición de la nanopartícula a base de quitosano al nitrógeno bajo dio como resultado rendimientos equivalentes al rendimiento de nitrógeno estándar.

Las formulaciones de nanopartículas a base de quitosano también se pueden utilizar junto con otros insumos agrícolas, por ejemplo, utilizados con herbicidas. Se realizaron experimentos con múltiples herbicidas para determinar cualquier efecto sinérgico y cualquier efecto antagonista. Se realizaron experimentos con dos herbicidas, glifosato y 2,4-D. El glifosato no mostró evidencia estadística de antagonismo cuando se usó con soluciones de nanopartículas a base de quitosano. (Figura 21). El experimento de glifosato involucró la prueba de siete cultivos diferentes de trigo, maíz, raigrás, mostaza, girasol, melón y frijoles. Cada cultivo se probó al tener una condición no tratada, una condición de glifosato y una solución de nanopartículas a base de quitosano junto con glifosato. Hubo una separación estadística entre la afección no tratada y el glifosato, y entre la afección no tratada y la solución de nanopartículas a base de quitosano junto con el glifosato. No hubo separación estadística entre la condición de glifosato y la solución de nanopartículas a base de quitosano junto con la condición de glifosato.

2,4-D no mostró evidencia estadística de antagonismo cuando se usó con soluciones de nanopartículas basadas en quitosano. (Figura 22). El experimento 2,4-D involucró la prueba de cuatro cultivos diferentes de mostaza, girasol, melón y frijoles. Cada cultivo se probó teniendo una condición no tratada, una condición de 2,4-D y una solución de nanopartículas a base de quitosano junto con 2,4-D. Hubo una separación estadística entre la condición no tratada y el 2,4-D, y entre la condición no tratada y la solución de nanopartículas a base de quitosano junto con 2,4-D. No hubo separación estadística entre la condición de 2,4-D y la solución de nanopartículas a base de quitosano junto con la condición de 2,4-D.

La invención se ha descrito con referencia a diversas modalidades y técnicas específicas y preferidas. Sin embargo, se entiende que se pueden realizar muchas variaciones y modificaciones sin dejar de estar dentro del espíritu y el alcance de la invención.

NOVEDAD DE LA INVENCION

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende: quitosano y al menos 1% (p/p) de nitrógeno.
- 5 2. La composición de la reivindicación 1, donde el nitrógeno está entre aproximadamente 11% (p/p) y aproximadamente 25% (p/p).
3. La composición de la reivindicación 1, en donde al menos 50% del nitrógeno se encuentra en la forma química de amina y/o nitrato y/o amoníaco.
- 10 4. La composición de la reivindicación 3, donde la composición comprende una nanopartícula de quitosano y un compuesto rico en nitrógeno y/o una mezcla de compuestos seleccionados del grupo que consiste en nitrato de potasio, nitrato de calcio, nitrato de magnesio, nitrato de urea, nitrato de urea y amoníaco, nitrato de amonio, sulfato de amonio, hidróxido de amonio, urea-
15 hidroxapatita, aminoácidos tales como arginina, cistina, histidina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptófano, tirosina, valina, glutamina, ácido glutámico, glicina, prolina, taurina, ácido aspártico, serina y alanina.
5. La composición de la reivindicación 1, donde el quitosán está presente entre
20 aproximadamente 0,01% y aproximadamente 4% (p/v).
6. La composición de la reivindicación 1, que comprende además un potenciador de acoplamiento.
- 25 7. La composición de la reivindicación 6, donde el potenciador de acoplamiento es tripolifosfato de sodio y/o sulfato de amonio.
8. Un método para producir nanopartículas de quitosano, donde el método comprende:
 disolver quitosano en agua ácida, donde el agua se vuelve ácida mediante un ácido
 seleccionado del grupo de ácido que incluye uno o más de ácido acético, ácido cítrico, ácido
 láctico, ácido málico, ácido tartárico, ácido fórmico, ácido acetilsalicílico, ácido oxálico, ácido
 succínico, ácido benzoico, ácido fólico, ácido pirúvico, ácido butírico, ácido propiónico, ácido
 caproico, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, ácido fluorhídrico,
 ácido perclórico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido clorhídrico, ácido bromico, ácido
 yódico, ácido húmico, ácido fúlvico, aminoácidos, ácidos nucleicos (ADN y ARN), ácido
 bórico, ácido crómico, ácido cianúrico, ácido hialurónico, ácido arsénico y ácido carboxílico, y
 combinaciones de estos; y formar nanopartículas a partir del quitosano disuelto.

9. El método de acuerdo con la reivindicación 8, en donde se agrega un potenciador de acoplamiento al quitosano disuelto.

10. El método de acuerdo con la reivindicación 9, en donde el potenciador de acoplamiento es tal como Glutaraldehído, Genipina, Epiclorhidrina, Tripolifosfato o tripolifosfato de sodio, Hexametafosfato de Sodio, Polifosfatos. Sulfatos como sulfato de amonio, sulfato de dextrano, etilendiamina, ácido tartárico, urea, trimetafosfato de sodio.

11. El método de la reivindicación 8, en donde se agregan adyuvantes para mejorar la estabilidad del quitosano.

12. El método de la reivindicación 11, en donde los adyuvantes son Tensioactivos: Tensioactivos no iónicos (por ejemplo, poliglucósidos de alquilo), tensioactivos aniónicos (por ejemplo, sulfonatos de alquilo), tensioactivos catiónicos (por ejemplo, alquilaminas) Emulsionantes: Derivados de polietilenglicol (PEG) Ésteres de sorbitán (por ejemplo, serie Tween) Esparcidores/pegatinas: Tensioactivos de organosilicona, esparcidores a base de ácidos grasos (por ejemplo, aceites de semillas metilados), Penetrantes: Concentrados de aceite de cultivo, aceites de semillas metilados. Agentes amortiguadores: Sulfato de amonio, ácido fosfórico, acetato de sodio, dihidrógeno fosfato de potasio, agentes de compatibilidad: Alcohol polivinílico, ácido poliacrílico; agentes antiespumantes: Antiespumantes a base de silicona, antiespumantes a base de polietilenglicol; ajustadores de pH: Hidróxido de amonio, ácido cítrico, ácido clorhídrico, hidróxido de sodio; Espesantes: Goma guar, goma xantana, goma arábica; humectantes: Glicerol, propilenglicol.

13. El método de acuerdo con la reivindicación 8, donde el compuesto rico en nitrógeno y/o la mezcla de compuestos se selecciona del grupo que consiste en nitrato de potasio, nitrato de calcio, nitrato de magnesio, nitrato de urea, nitrato de urea y amoníaco, hidróxido de amonio, nitrato de amonio, sulfato de amonio, urea-hidroxiapatita, aminoácidos tales como arginina, cistina, histidina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptófano, tirosina, valina, glutamina, ácido glutámico, glicina, prolina, taurina, ácido aspártico, serina y alanina se agregan al quitosano disuelto.

14. El método de acuerdo con la reivindicación 13, en donde las nanopartículas comprenden quitosano y compuesto rico en nitrógeno y/o mezcla de compuestos.

35

15. El método de acuerdo con la reivindicación 14, en donde las nanopartículas comprenden al menos 1% (p/p) de nitrógeno.

16. El método de acuerdo con la reivindicación 15, donde el nitrógeno está presente entre aproximadamente 11% (p/p) y aproximadamente 25% (p/p).

17. , El método de acuerdo con la reivindicación 13, en donde el quitosano está presente
5 entre aproximadamente 0,01% y aproximadamente 4% (p/v).

18. Un método para tratar una planta o una parte de una planta, el método comprende tratar la planta o parte de la planta con una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-7.
10

19. El método de acuerdo con la reivindicación 18, en donde la parte de la planta se selecciona del grupo que consta de una semilla, hoja, tallo, flor o raíz de una planta.

20. El método de acuerdo con la reivindicación 19, donde se utiliza una cantidad
15 predeterminada de la composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-7 en lugar de un porcentaje de un fertilizante de nitrógeno tradicional y produce un rendimiento igual o mejor.

21. El método de acuerdo con la reivindicación 20, en donde la cantidad predeterminada de
20 la composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-7 está entre aproximadamente ,250 litros por acre y aproximadamente 30 litros por acre aplicada en una pulverización foliar y se usa en lugar de entre aproximadamente 0 kilogramos por acre y aproximadamente 150 kilogramos de unidades de nitrógeno aplicadas por acre de un fertilizante de nitrógeno tradicional.

22. El método de acuerdo con la reivindicación 21, en donde la cantidad predeterminada de
25 la composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-7 es de aproximadamente 5 litros por acre aplicada en una pulverización foliar usando un equipo que puede generar un tamaño de gota entre 0,0001 a 2 mm y se usa en lugar de aproximadamente 18,14 kilogramos
30 de unidades de nitrógeno por acre aplicado a través de fertilizante de nitrógeno tradicional.

23. Un método para preparar un medio de crecimiento de plantas, donde el método comprende tratar el medio de crecimiento con una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-7.
35

24. El método de acuerdo con la reivindicación 23, en donde el medio de crecimiento es suelo, turba, musgo, residuo de madera, moho foliar, aserrín, corteza, bagazo, cáscara de arroz, arena, perlita, vermiculita, arcilla calcinada, poliestireno, resinas de urea formaldehído, agar o

agarosa, cultivo/medio de crecimiento de tejido vegetal in vitro e in vivo, y líquidos hidropónicos, medio para aeropónico y geopónico y combinaciones de estos.

25. El método de acuerdo con la reivindicación 18, en donde el porcentaje de la composición
5 utilizada está entre aproximadamente 2 por ciento y aproximadamente 7 por ciento del
fertilizante de nitrógeno tradicional eliminado.

26. El método de acuerdo con la reivindicación 25, en donde el porcentaje de la composición
utilizada es aproximadamente 5,4 por ciento del fertilizante de nitrógeno tradicional eliminado.
10

27. El método de acuerdo con la reivindicación 18, en donde el nitrógeno total utilizado se
reduce entre aproximadamente 50 por ciento y aproximadamente 90 por ciento.

28. El método de acuerdo con la reivindicación 27, en donde el nitrógeno total utilizado se
15 reduce en aproximadamente 70 por ciento.

29. Un método para tratar una parte de la planta, el método comprende tratar la planta o
parte de la planta con una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-7
junto con una cantidad estándar de fertilizante tradicional.

30. El método de la reivindicación 29, en donde el tratamiento con la composición da como
20 resultado una mejora en el rendimiento de entre aproximadamente 0% y aproximadamente
80%.

31. El método de la reivindicación 29, en donde el tratamiento con la composición da como
resultado una mejora en el rendimiento de aproximadamente 7%.

25

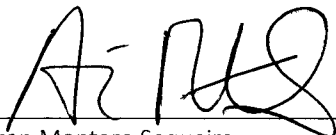
RESUMEN

En la presente se describen composiciones que comprenden quitosano y al menos 1% (p/v) de nitrógeno. En determinados casos, al menos el 50% del nitrógeno está en forma química de amina y/o nitrato y/o amoníaco. También se describen en la presente métodos para producir nanopartículas de quitosano al disolver el quitosano en agua ácida, donde el agua se vuelve ácida mediante un ácido seleccionado del grupo de ácido acético, ácido nítrico, ácido sulfúrico, ácido clorhídrico y combinaciones de estos; y formar nanopartículas a partir del quitosano disuelto. Se describe además el tratamiento de plantas o partes de plantas con las composiciones descritas en la presente.

POA FOR INTELLECTUAL PROPERTY

Yo, Aaron Montero Sequeira actuando en nombre y representación de TIDAL VISION PRODUCTS, con domicilio en 3710 Irongate Road Bellingham, WA 98226 (US), por el presente nombra a la Dra. Mónica Wolf Wasserman, identificada con C. C. No. 51.711.267 y/o al Dr. Jesús M. Méndez Bermúdez, identificado con C. C. No. 13.491.525, miembros de la firma WOLF • MENDEZ • ABOGADOS ASOCIADOS, con domicilio en la Carrera 7 # 113-43 Oficina 806 Torre Samsung, Bogotá D.C. - Colombia, como sus representantes legales, para que actúen conjunta o separadamente al propósito de recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales. En desarrollo de dicha calidad los representantes, o los apoderados que ellos designen, podrán recabar de las autoridades administrativas, trámites de solicitudes de patente, en especial de la patente No. PCT/US2024/028440 en Colombia a cuyo efecto les faculta para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al objeto indicado y en fin tomar todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de nuestros intereses con todas las demás facultades legales necesarias. Este poder comprende además las facultades de recibir, desistir, transigir, conciliar, comprometer, sustituir en todo o en parte, revocar sustituciones y ratificar actuaciones anteriores hechas en calidad de Agentes Oficiosos.

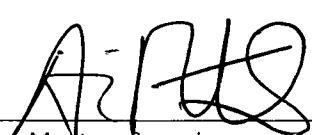
Dado y firmado el 19 de noviembre del 2025.



Aaron Montero Sequeira

The undersigned, Aaron Montero Sequeira acting on behalf of TIDAL VISION PRODUCTS, with domicile in 3710 Irongate Road Bellingham, WA 98226 (US), hereby appoints Dr. Mónica Wolf Wasserman, identified with Citizenship Card No. 51.711.267 and/or Dr. Jesús M. Méndez Bermúdez, identified with Citizenship Card No. 13.491.525, attorneys at law of the firm WOLF • MENDEZ • ABOGADOS ASOCIADOS domiciled in Carrera 7 #113-43 Office 806 Torre Samsung, Bogotá D.C. - Colombia, as our legal representatives, so that either or both said attorneys may act for the purpose of receiving notifications and to appoint attorneys to act in and out of court. In such capacity the representatives, or the attorneys by them appointed, may request from the administrative authorities filing patent applications in particular patent application No. PCT/US2024/028440 in Colombia for which they are empowered to take before said authorities all the necessary steps for the purposes indicated, and to take any other measures that may be deemed conducive to the safeguard of our interests, with all necessary legal faculties to receive, withdrawal, compromise, transact, conciliate, substitute in all or in part, to revoke substitutions and ratify acts done as attorney de facto.

Given and signed on November 19, 2025.



Aaron Montero Sequeira

CORPORATE SEAL
TO BE AFFIXED

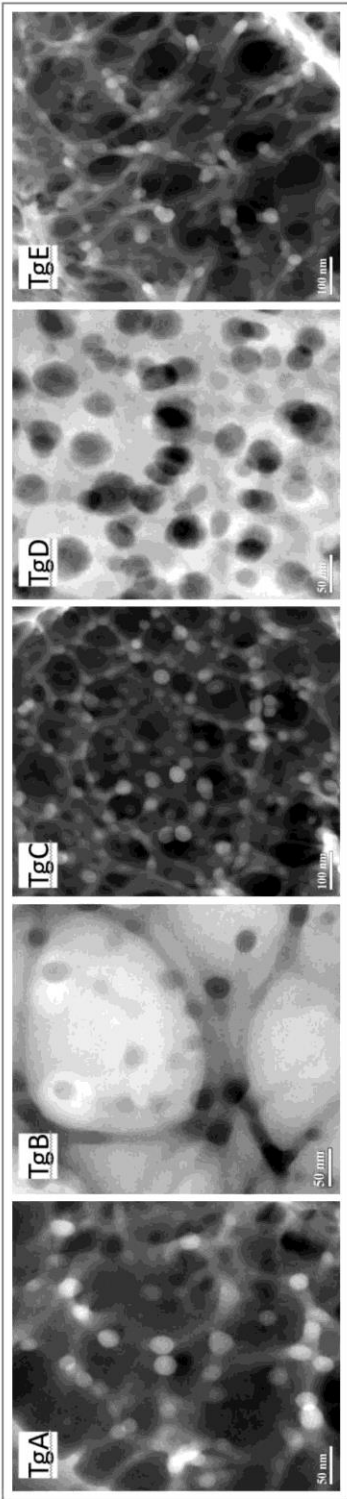


Fig. 1

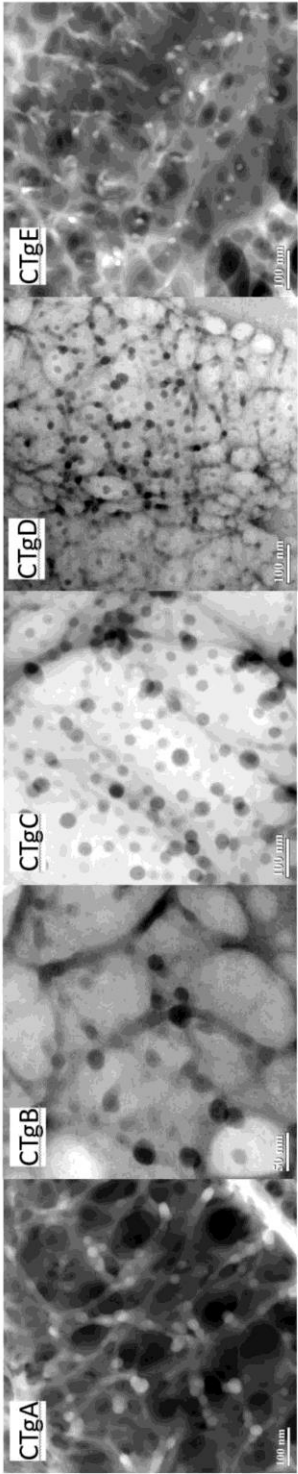


Fig. 2

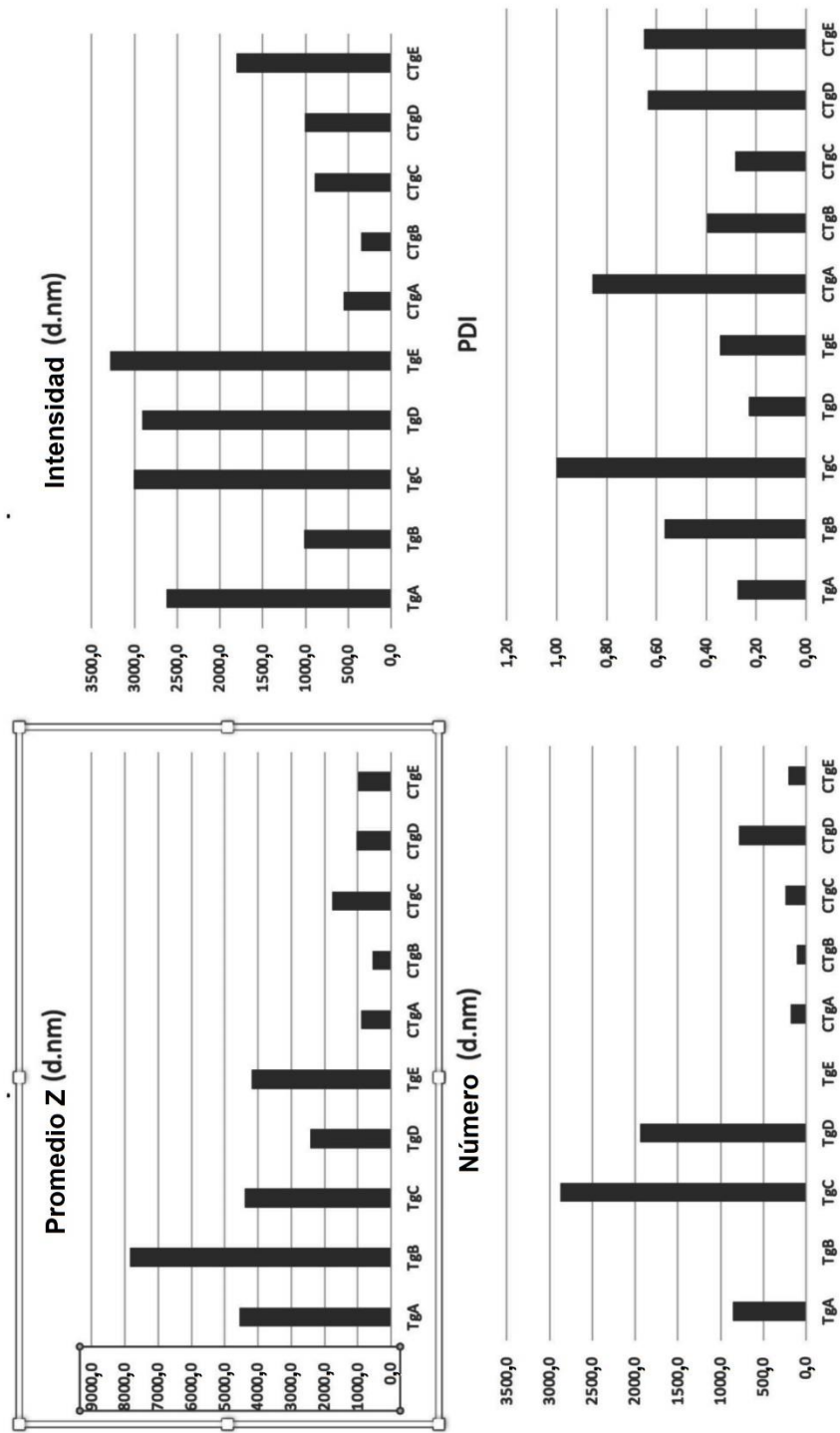


Fig. 3

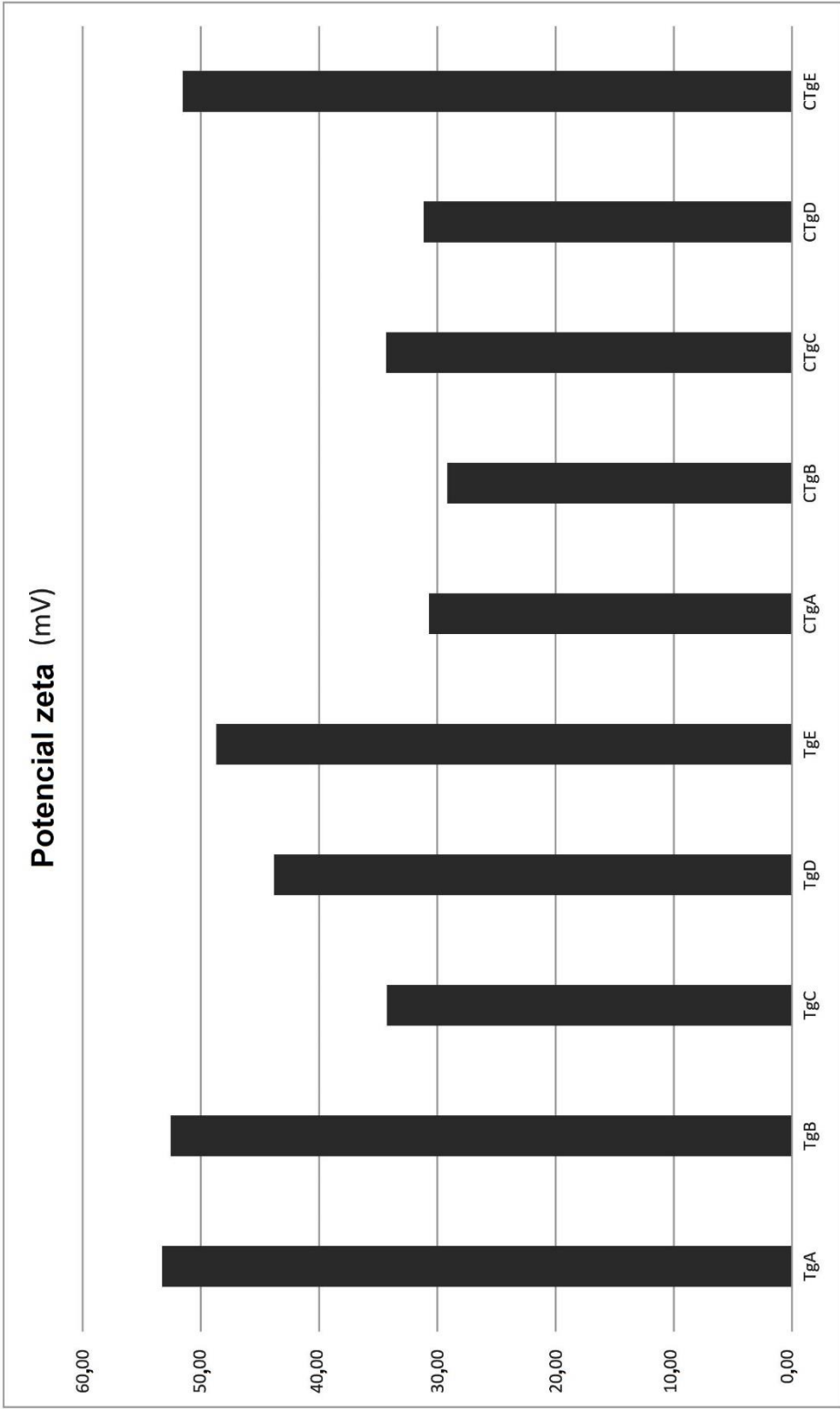


Fig. 4

Alinear lote #	pH	KN% (w/v)
1	3,67	18,24
2	4	18,05
3	3,22	18,17
4	2,87	18,42
5	3,14	18,06
6	2,88	17,9
7	4,76	18,19
CS (soln D)	3,6	18,41
Fuente de N	18,75	

EN fuente= Urea

Fig. 5

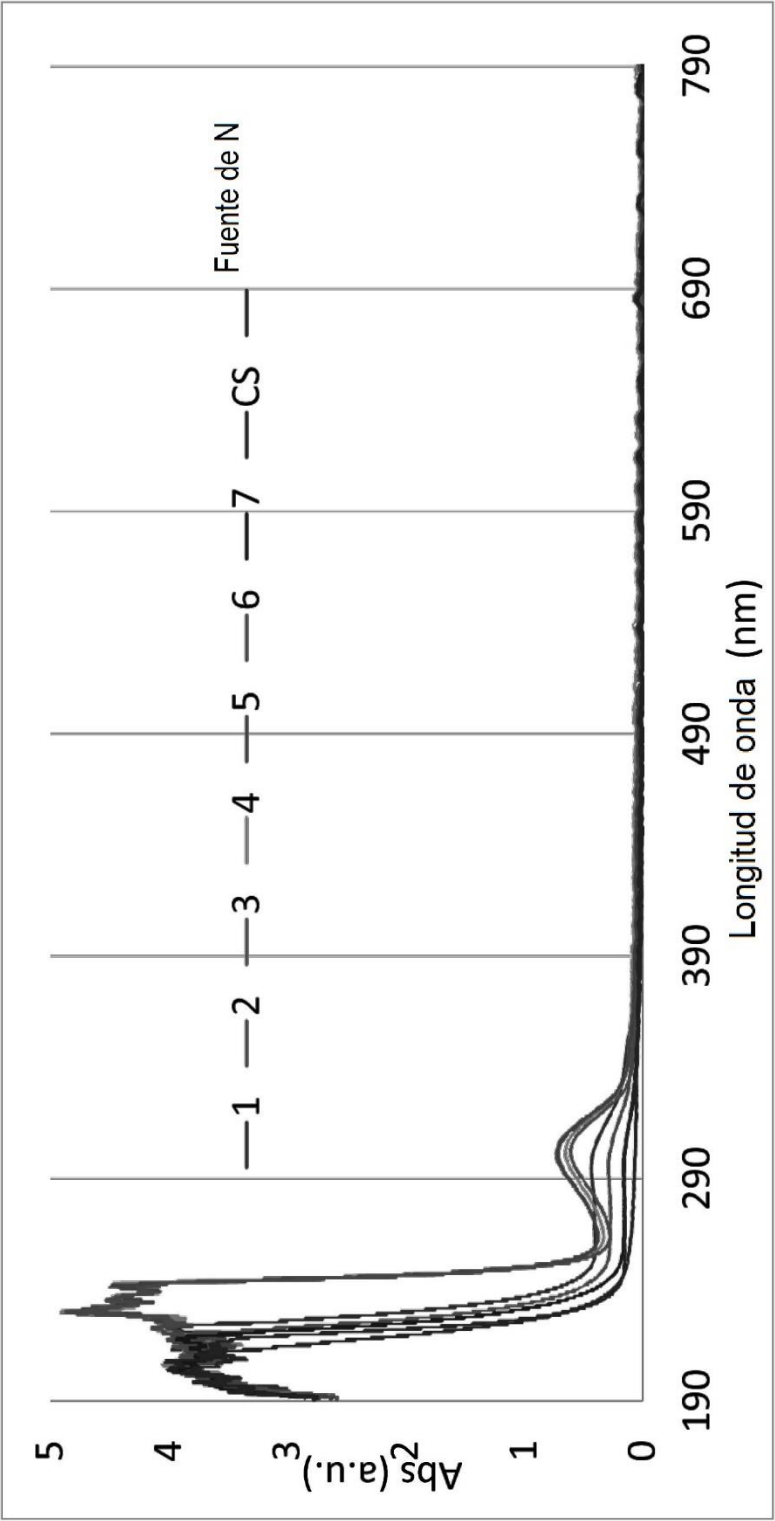


Fig. 6

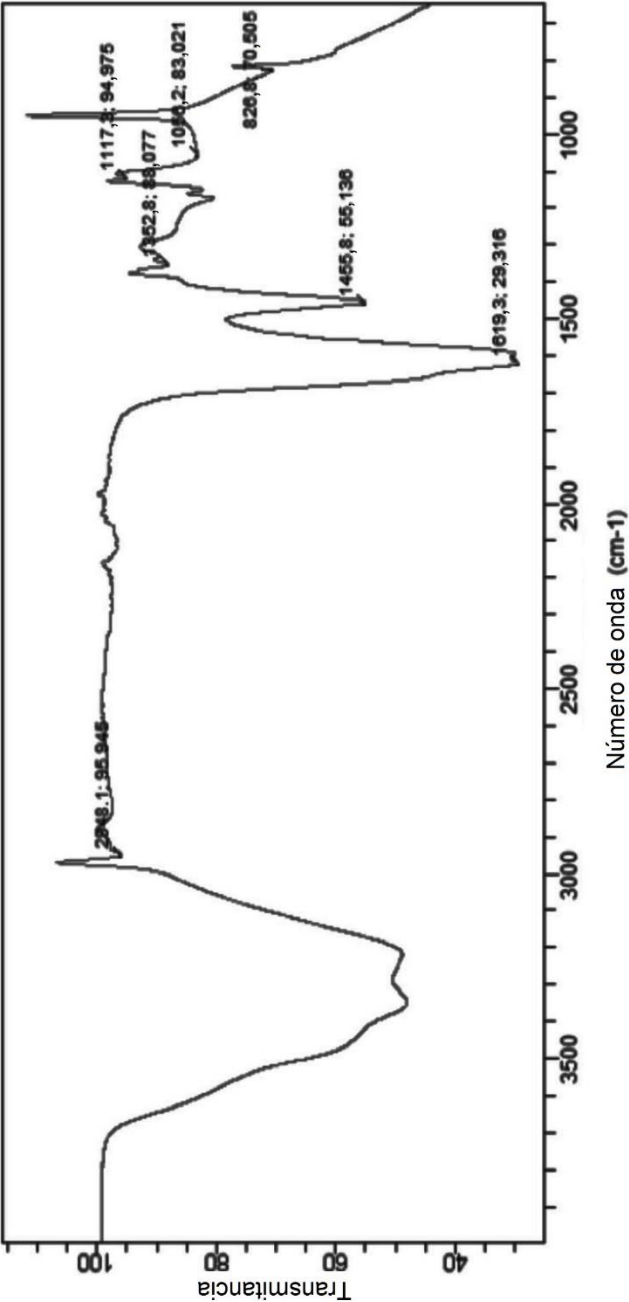


Fig. 7

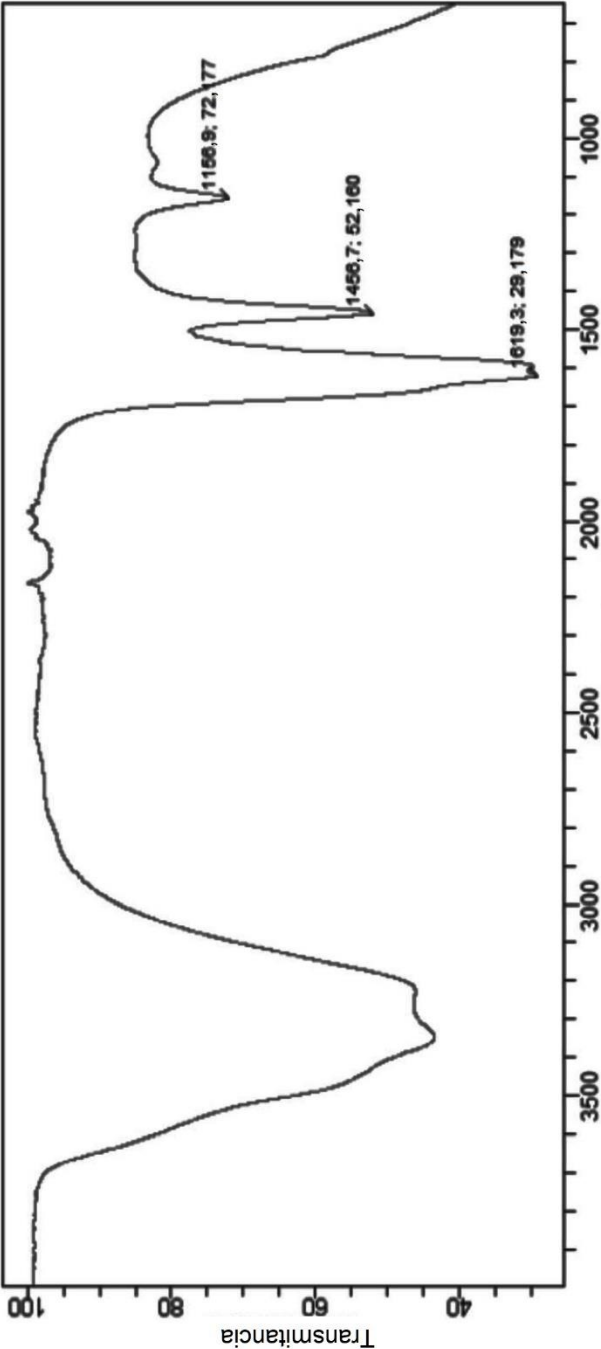
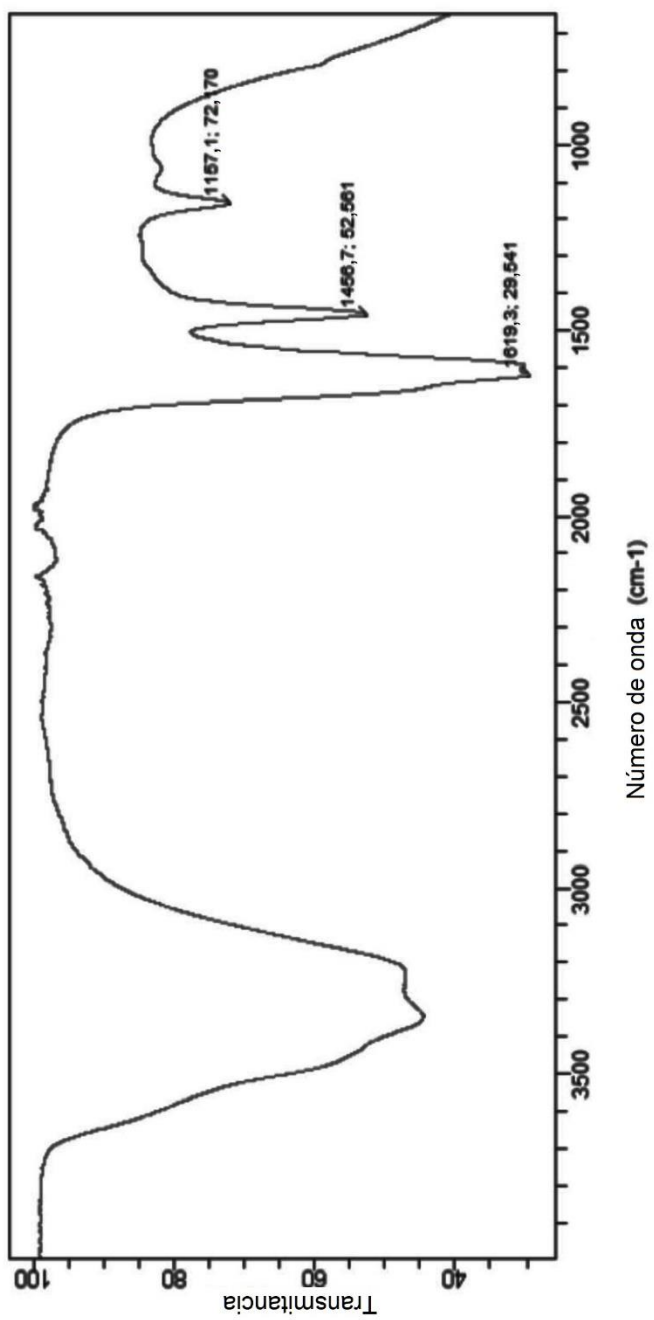


Fig. 8
Número de onda (cm-1)

**Fig. 9**

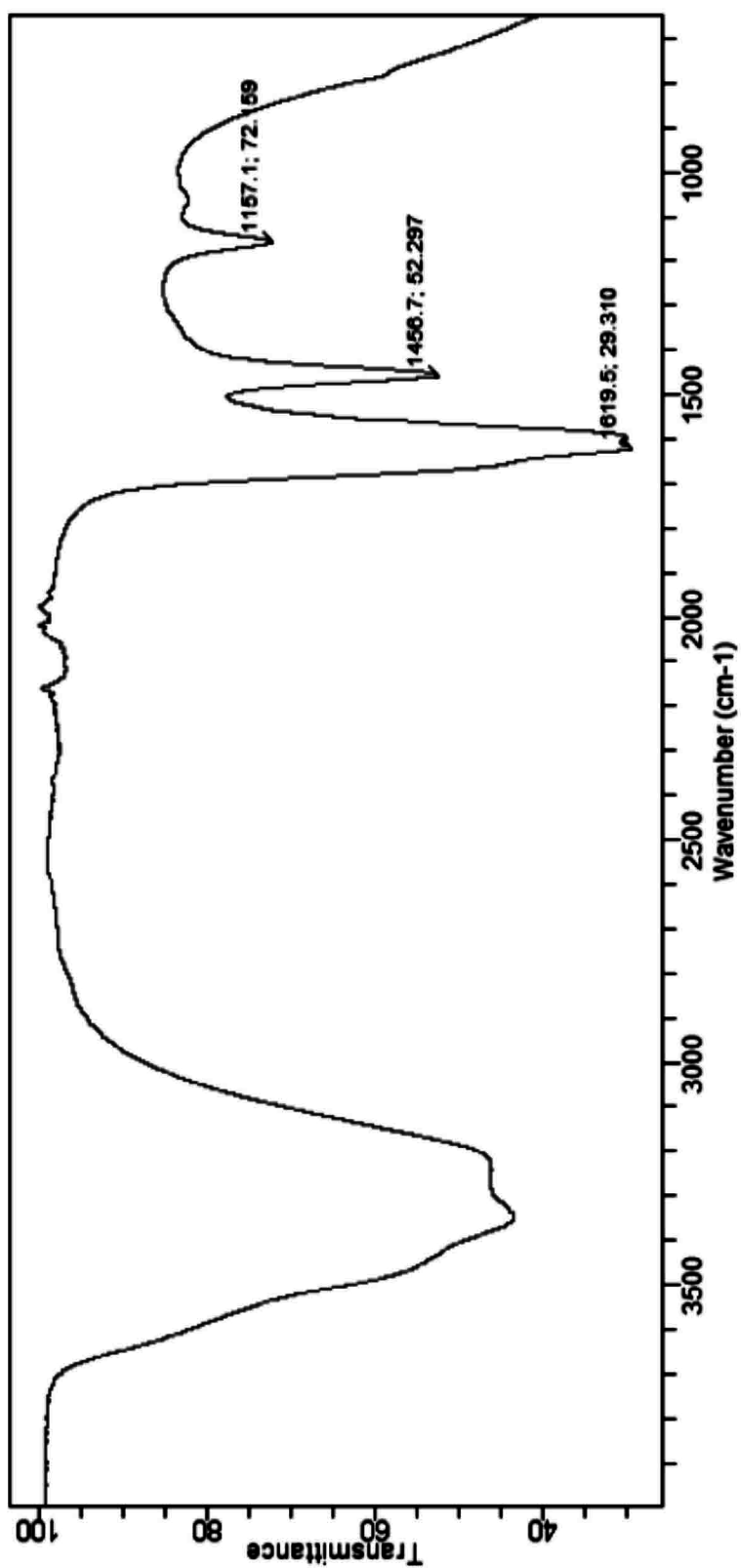


Fig. 10

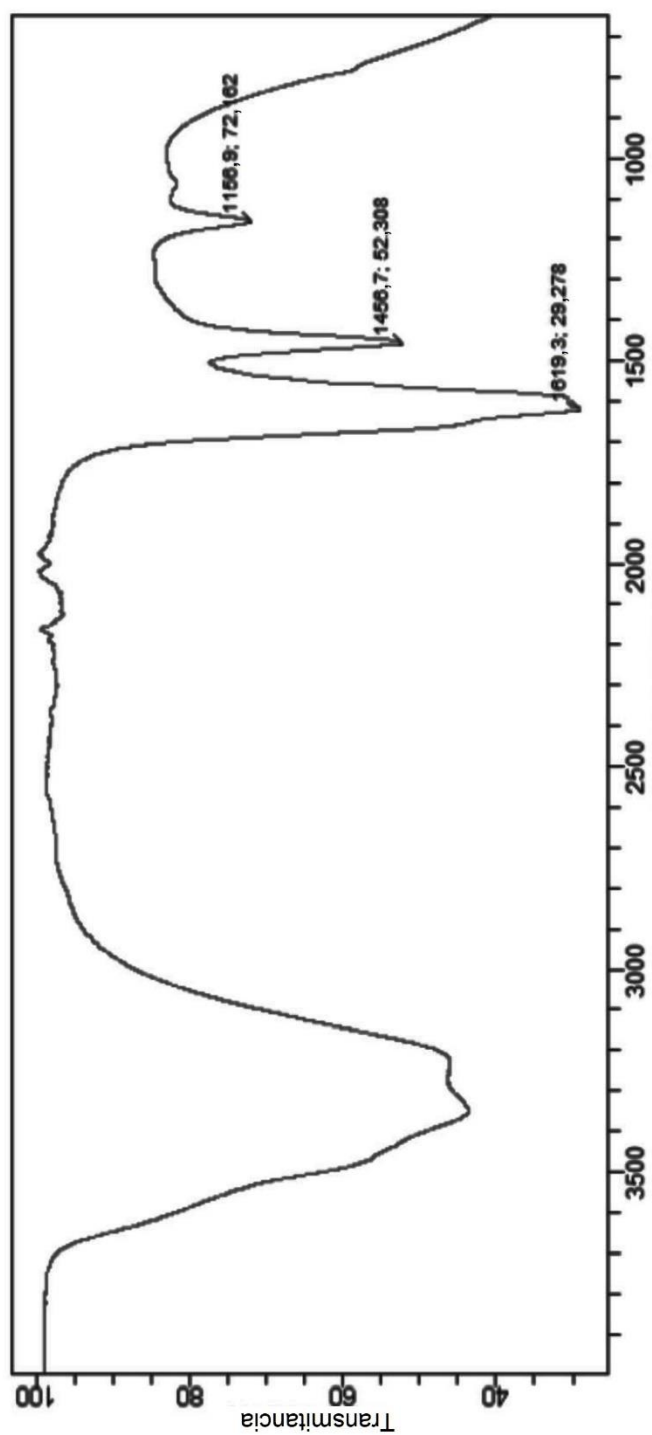
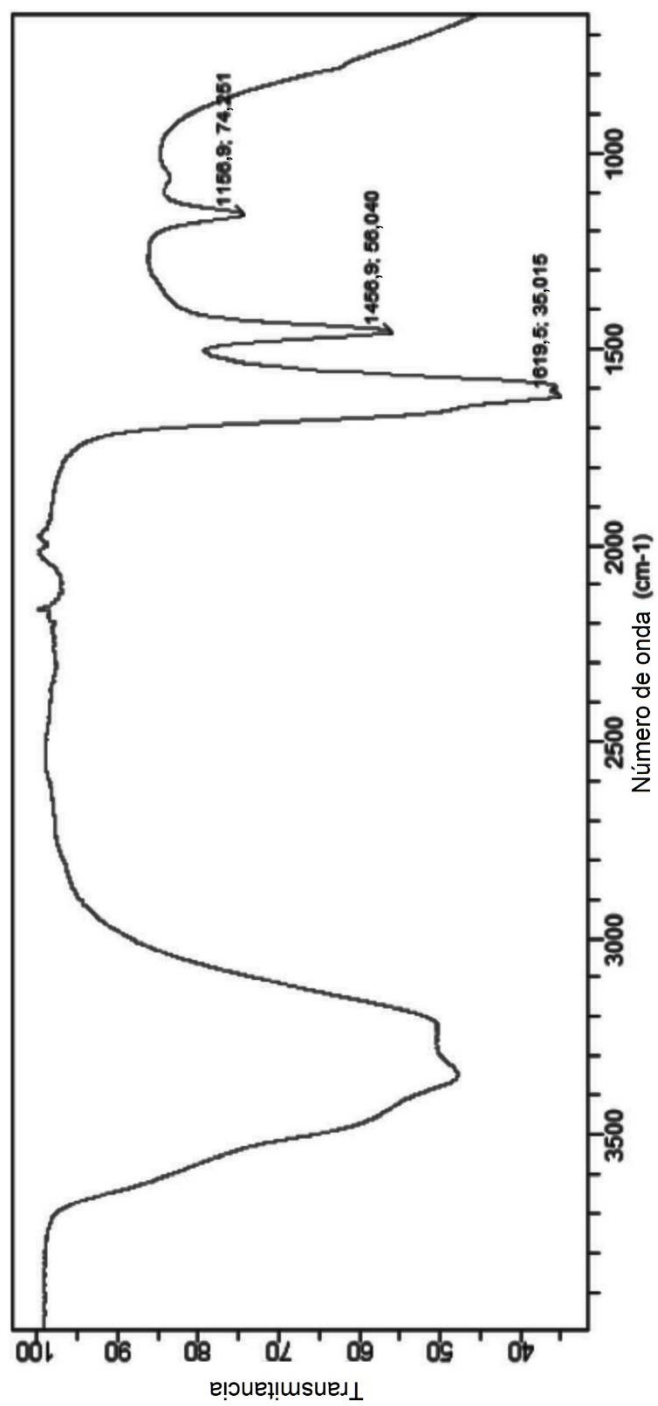
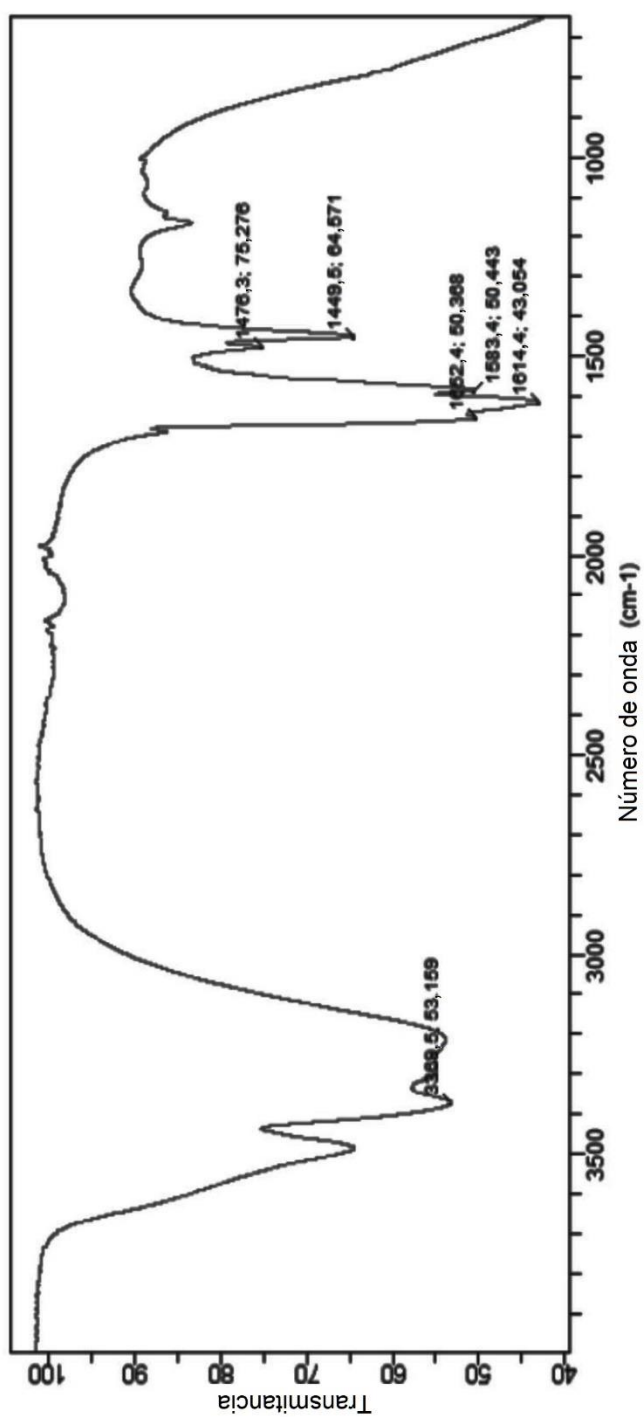


Fig. 11

**Fig. 12**

**Fig. 13**

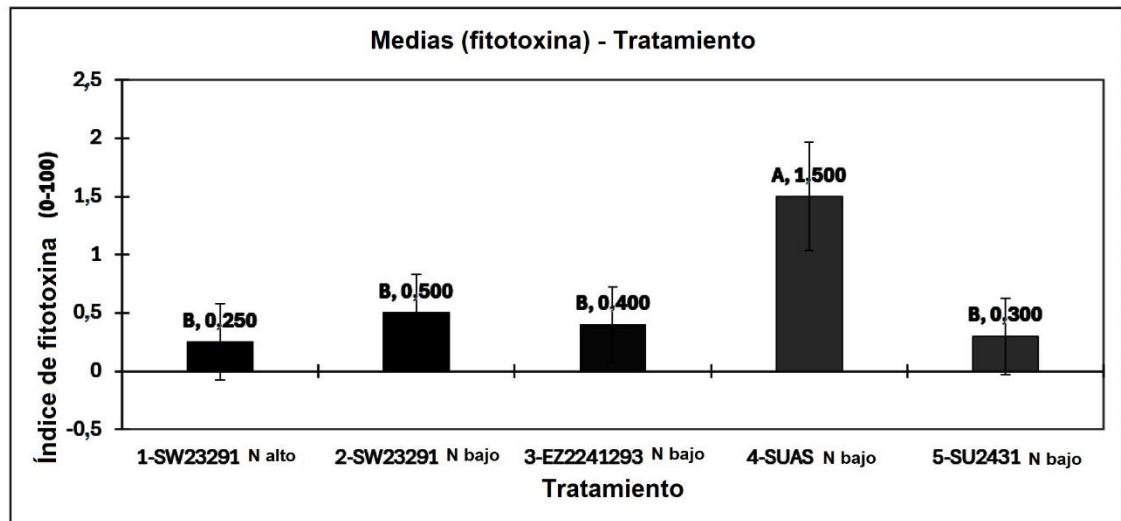


Fig. 14

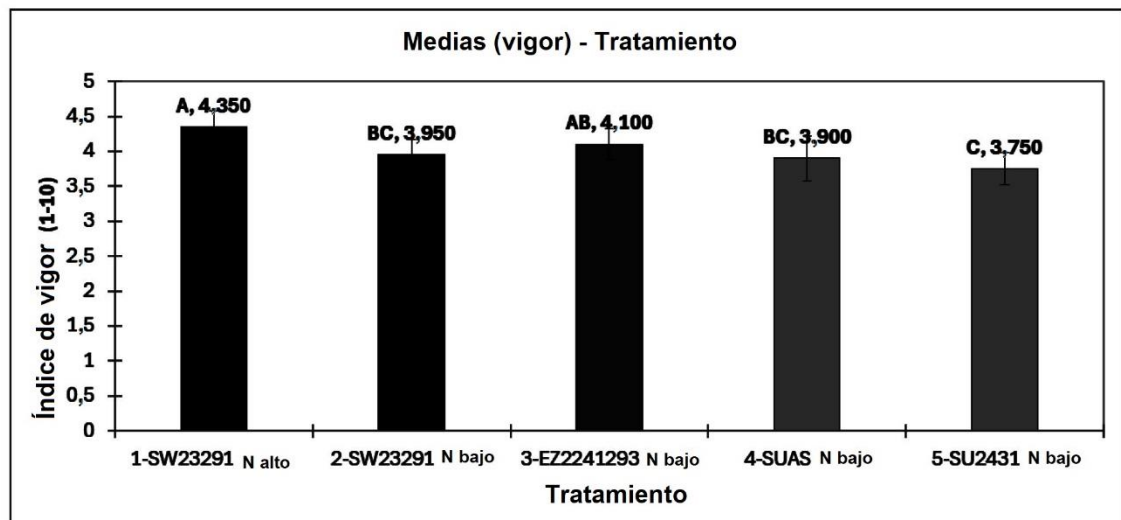


Fig.15

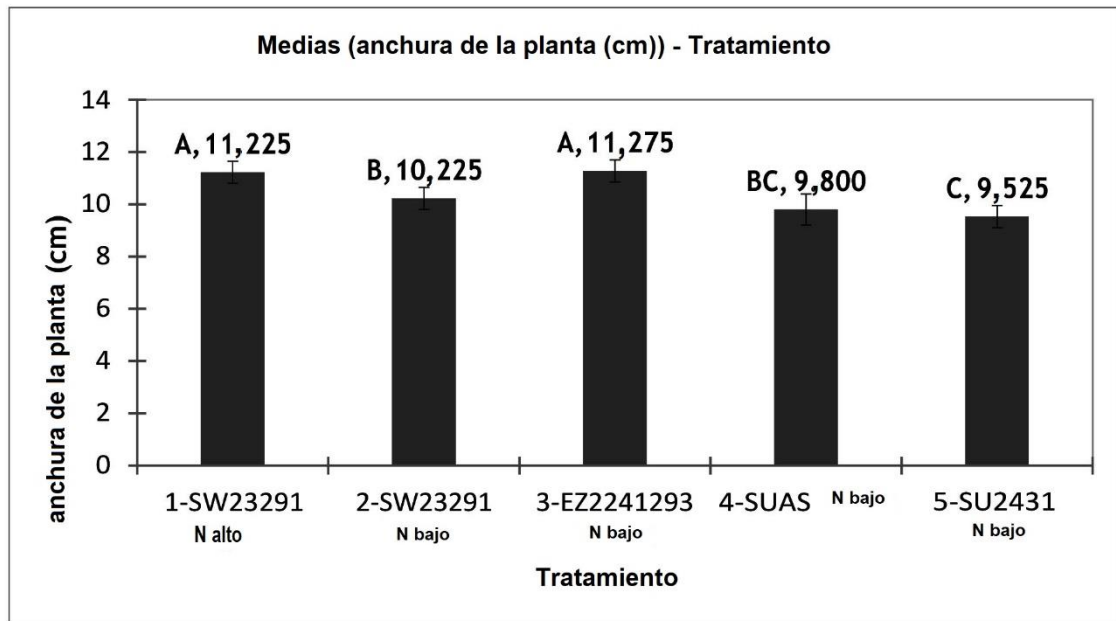


Fig. 16

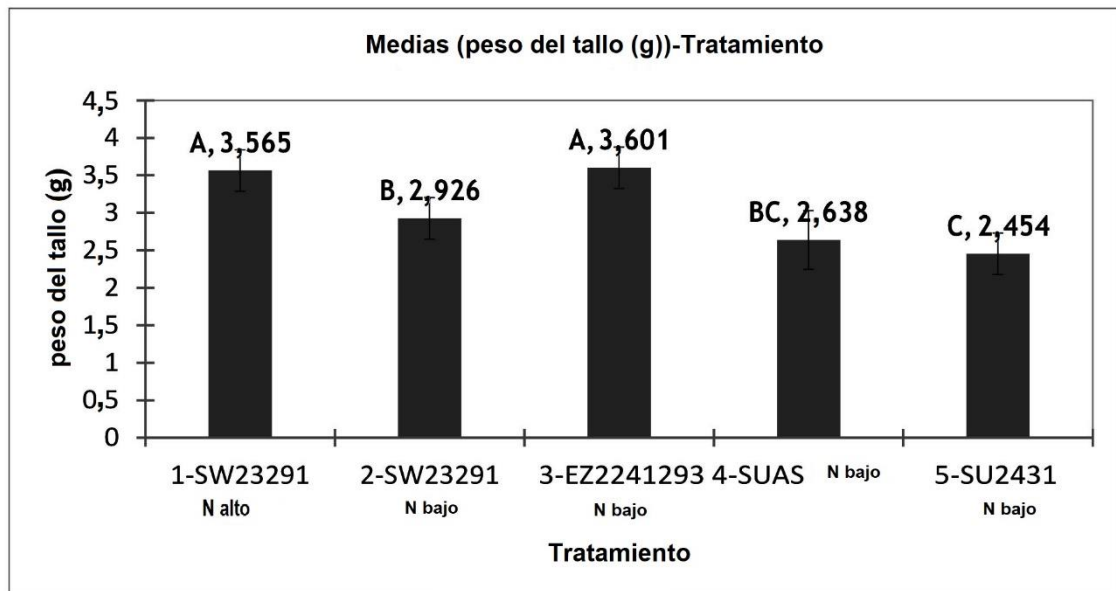


Fig. 17

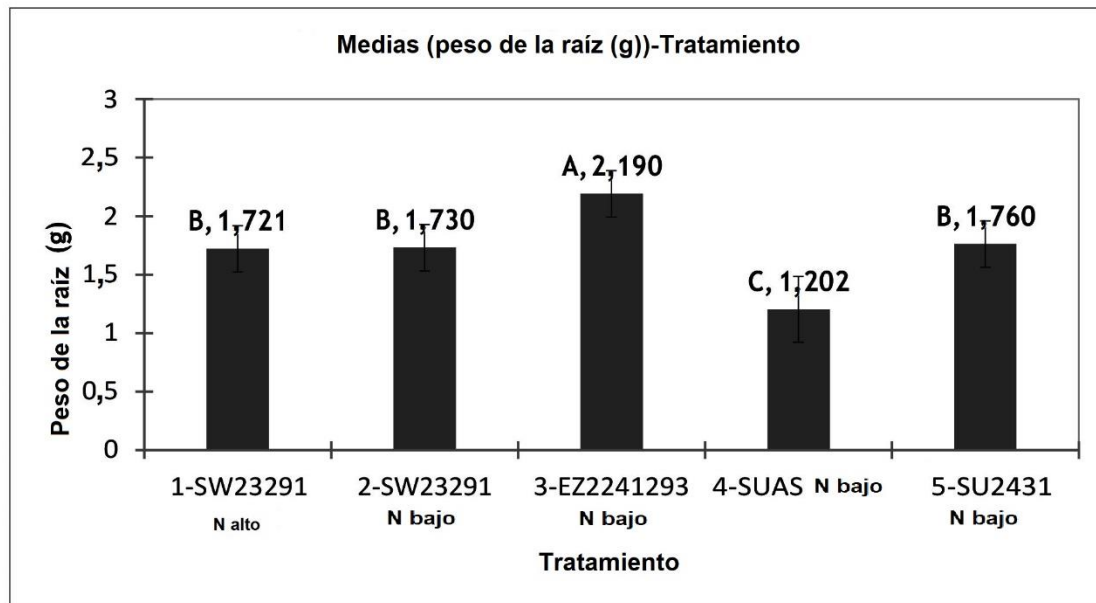


Fig. 18

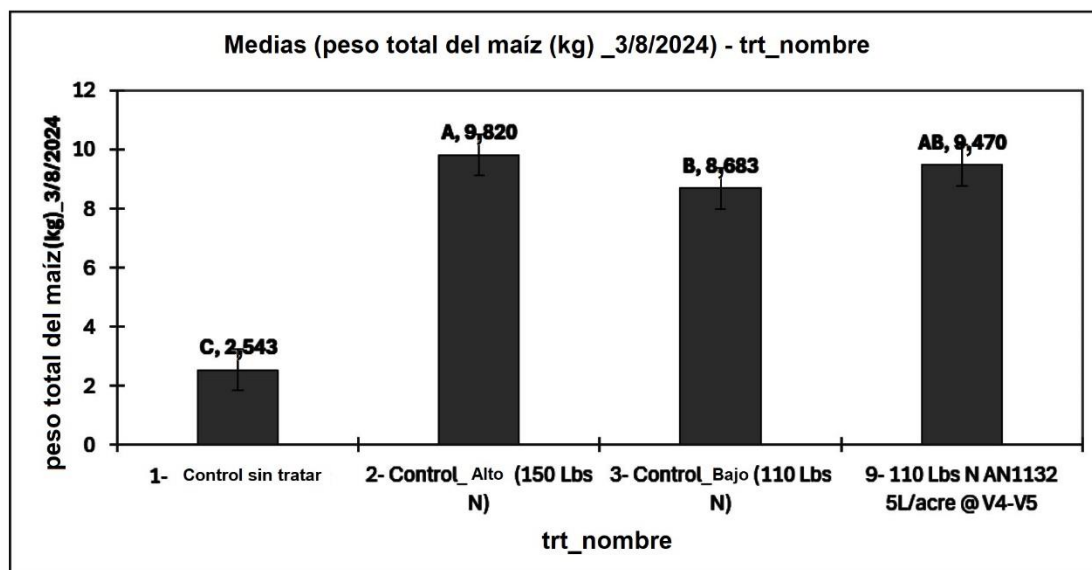


Fig 19A

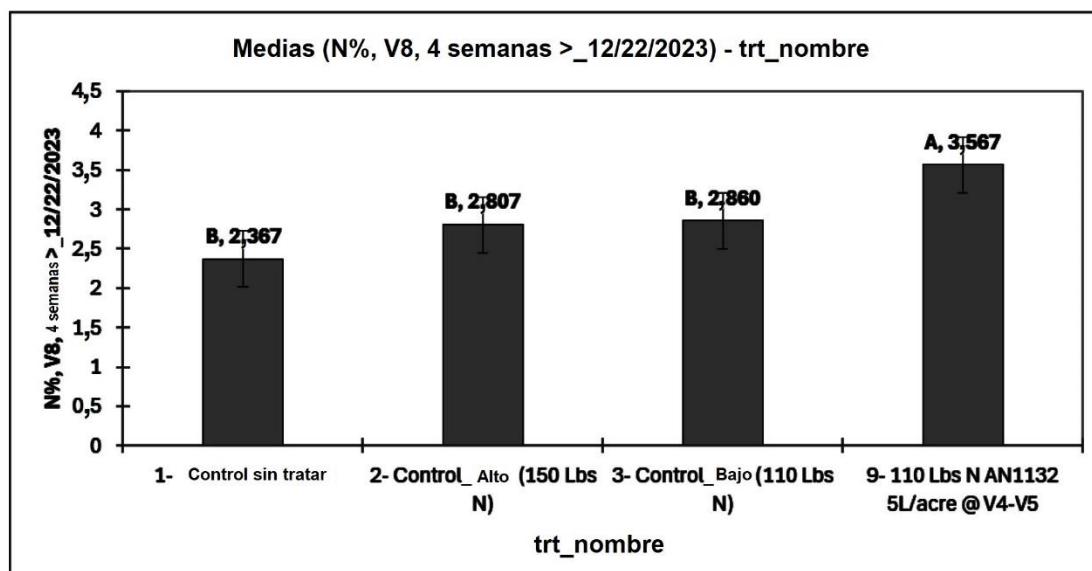


Fig. 19B

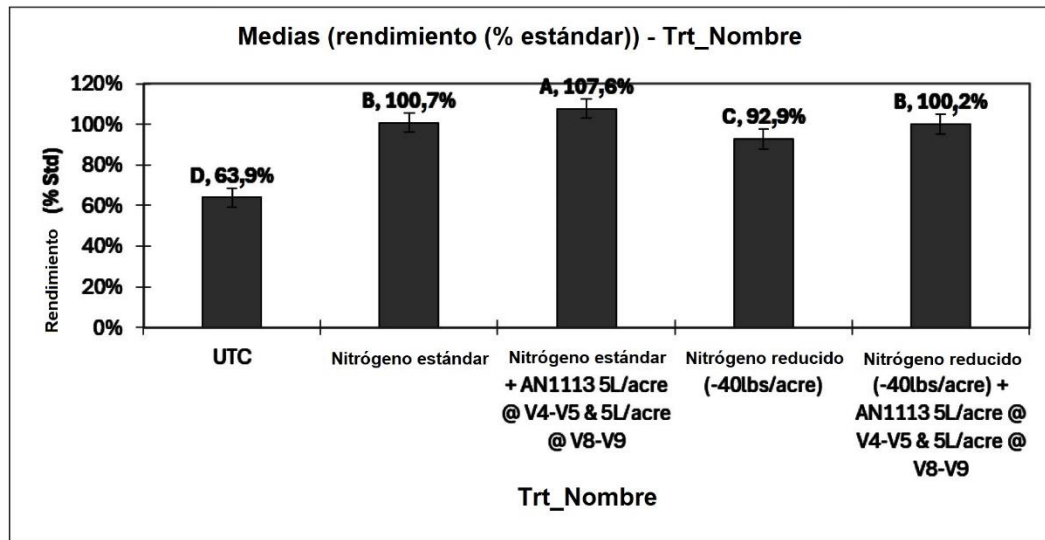


Fig. 20

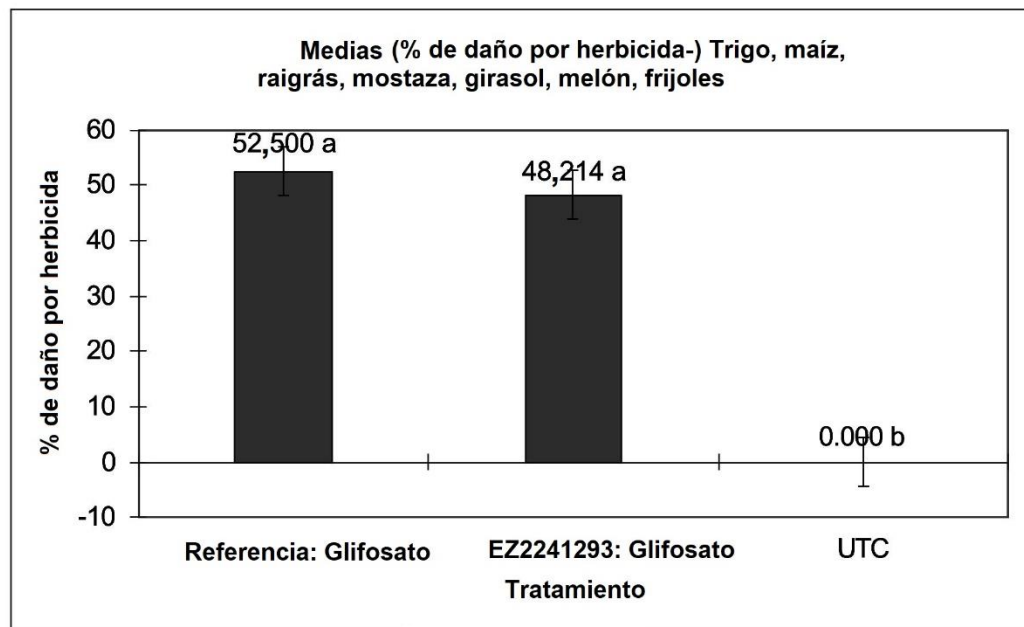


Fig. 21

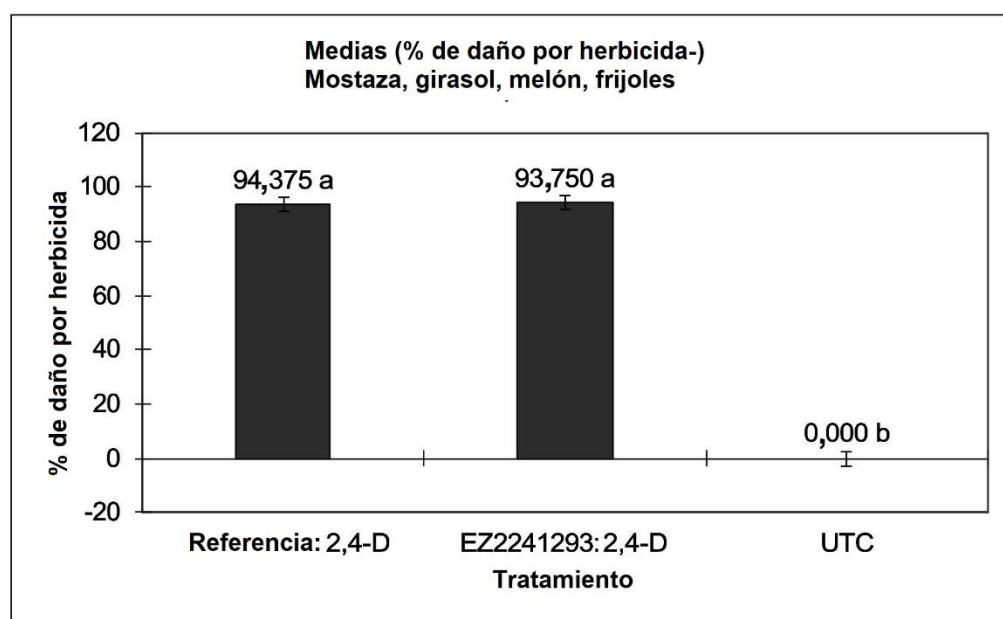


Fig. 22

(12) International Application Status Report

Received at International Bureau: 27 May 2024 (27.05.2024)

Information valid as of: 25 September 2024 (25.09.2024)

Report generated on: 11 September 2025 (11.09.2025)

(10) Publication number:

WO2024/233710

(43) Publication date:

14 November 2024 (14.11.2024)

(26) Publication language:

English (EN)

(21) Application Number:

PCT/US2024/028440

(22) Filing Date:

08 May 2024 (08.05.2024)

(25) Filing language:

English (EN)

(31) Priority number(s):

63/501,190 (US)

202311032522 (IN)

(31) Priority date(s):

10 May 2023 (10.05.2023)

08 May 2023 (08.05.2023)

(31) Priority status:

(51) International Patent Classification:

C05G 5/10 (2020.01); **C08B 37/08** (2006.01); **B82Y 30/00** (2011.01); **C05C 9/00** (2006.01); **C05G 3/80** (2020.01); **C05G 3/90** (2020.01)

(71) Applicant(s):

TIDAL VISION PRODUCTS [US/US]; 3710 Irongate Road Bellingham, WA 98226 (US) *(for all designated states)*

(72) Inventor(s):

RALIYA, Ramesh; c/o Tidal Vision Products 3710 Irongate Road Bellingham, WA 98226 (US)

CHENG, Yuan; c/o Tidal Vision Products 3710 Irongate Road Bellingham, WA 98226 (US)

MAL, Prakash; c/o Tidal Vision Products 3710 Irongate Road Bellingham, WA 98226 (US)

DIMEGLIO, Anthony; c/o Tidal Vision Products 3710 Irongate Road Bellingham, WA 98226 (US)

HAMMILL, Kevin; c/o Tidal Vision Products 3710 Irongate Road Bellingham, WA 98226 (US)

MAHENDER; c/o Tidal Vision Products 3710 Irongate Road Bellingham, WA 98226 (US)

(74) Agent(s):

PETTY, Gray E.; PATENT LAW WORKS LLP 4516 South 700 East, Suite 290 Salt Lake City, UT 84107 (US)

(54) Title (EN): COMPOSITIONS AND METHODS FOR AGRI-INPUTS AND USES THEREOF

(54) Title (FR): COMPOSITIONS ET PROCÉDÉS POUR INTRANTS AGRICOLES ET LEURS UTILISATIONS

(57) Abstract:

(EN): Disclosed herein are compositions comprising chitosan and at least 1% (w/v) nitrogen. In certain cases, at least 50% of the nitrogen is in chemical form of amine and/or nitrate and/or ammonia. Also disclosed herein are methods of producing chitosan nanoparticles by dissolving chitosan in acidic water, where the water is made acidic by an acid selected from the group of acetic acid, nitric acid, sulfuric acid, hydrochloric acid, and combinations thereof; and forming nanoparticles from the dissolved chitosan. Further disclosed is the treatment of plants or plant parts with the compositions disclosed herein.

(FR): La présente invention concerne des compositions contenant du chitosane et au moins 1 % (p/v) d'azote. Dans certains cas, au moins 50 % de l'azote est sous forme chimique d'amine et/ou de nitrate et/ou d'ammoniac. La présente invention porte également sur des procédés de production de nanoparticules de chitosane par dissolution du chitosane dans de l'eau acide, l'eau étant rendue acide par un acide choisi dans le groupe de l'acide acétique, de l'acide nitrique, de l'acide sulfurique, de l'acide chlorhydrique et de leurs combinaisons, et par la constitution de nanoparticules à partir du chitosane dissous. Le traitement de plantes ou de parties de plantes à l'aide des compositions selon la présente invention est également divulgué.

International search report:

Received at International Bureau: 25 September 2024 (25.09.2024) [US]

International Report on Patentability (IPRP) Chapter II of the PCT:

Not available

(81) Designated States:

AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW

European Patent Office (EPO) : AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR

African Intellectual Property Organization (OAPI) : BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG

African Regional Intellectual Property Organization (ARIPO) : BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW

Eurasian Patent Organization (EAPO) : AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM



DOCUMENT MADE AVAILABLE UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

International application number:	PCT/US2024/028440
International filing date:	08 May 2024 (08.05.2024)
Document type:	Certified copy of priority document
Document details:	Country/Office: IN
	Number: 202311032522
	Filing date: 08 May 2023 (08.05.2023)
Date of receipt at the International Bureau:	30 September 2025 (30.09.2025)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a),(b) or (b-bis)

CERTIFICATE OF AVAILABILITY OF A CERTIFIED PATENT DOCUMENT IN A DIGITAL LIBRARY

The International Bureau certifies that a copy of the patent application indicated below has been available to the WIPO Digital Access Service since the date of availability indicated, and that the patent application has been available to the indicated Office(s) as of the date specified following the relevant Office code:

Document details: Country/Office: IN

Filing date: 08 May 2023 (08.05.2023)

Application number: 202311032522

Date of availability of document: 29 Sep 2025 (29.09.2025)

The following offices* can retrieve this document by using the access code:

AR, AT, AU, BE, BR, CA, CL, CN, CO, CU, DK, EA, EE, EM, EP, ES, FI, GB, GE, IB, IE, IL, IT, JP, KH, KR, LT, LV, MA, MC, MX, NL, NO, NZ, PE, PL, SE, SK, US, UY

Date of issue of this certificate: 29 Sep 2025 (29.09.2025)

*The list of offices is as on the date of issue of this certificate. Please visit DAS website for the latest list of offices.



INTELLECTUAL
PROPERTY INDIA

पेटेंट/डिजाइन/व्यापार
चिह्न/भौगोलिक उपदर्शन



भारत सरकार

GOVERNMENT OF INDIA

वाणिज्य एवं उद्योग मंत्रालय

MINISTRY OF COMMERCE & INDUSTRY

पेटेंट कार्यालय

THE PATENT OFFICE

जिस किसी से संबन्धित हो

TO WHOMSOEVER IT MAY CONCERN

मैं, अधोहस्ताक्षरी जो पेटेंट अधिनियम, 1970 की धारा 73(3) के तहत महानियंत्रक एकत्र, अभिकल्प एवं व्यापार चिह्न की ओर से प्रमाणपत्र हस्ताक्षर व जारी करने के लिए प्राधिकृत अधिकारी हूँ एतद्वारा यह प्रमाणित करता/ती हूँ कि निम्नलिखित पेटेंट आवेदन के संबंध में फाइल दस्तावेज(जों) की सही प्रतिलिपि इसके साथ संलग्न है।

I, the undersigned, being an officer duly authorized to sign and issue the certificate on behalf of the Controller General of Patents, Designs and Trademarks in accordance with the provisions of Section 73(3) of the Patents Act, 1970, hereby certify that annexed hereto is a True Copy of the document(s) as filed in connection with the following Patent Application:

क) आवेदन संख्या/ a) Application Number: 202311032522

ख) फाइल करने की तारीख/ b) Date of Filing: 08th May, 2023

ग) अनुरोधित दस्तावेज(जों) का नाम/ c) Name of the document(s) requested:

1) Application Form-1

2) Provisional Specification

3) Drawings

filed on 08th May, 2023 (As per e-filing record)

यह प्रमाणपत्र पेटेंट अधिनियम, 1970 की धारा 147(1) के अधीन मुझमें निहित शक्तियों के तहत जारी किया गया है। This certificate is issued under the powers vested in me U/S 147(1) of The Patents Act, 1970.

दिनांक/ Dated this 29th day of September 2025.

नियंत्रक पेटेंट व डिजाइन/ Controller of Patents and Designs

(प्राधिकृत हस्ताक्षरी/ Authorised Signatory)

FORM 1 THE PATENTS ACT, 1970 (39 of 1970) & The Patents Rules, 2003 APPLICATION FOR GRANT OF PATENT <i>[See section 7,54 & 135 and rule 20(1)]</i>				(FOR OFFICE USE ONLY) Application No.: Filing Date: Amount of Fees Paid: CBR No: Signature:			
1. APPLICANT'S REFERENCE / IDENTIFICATION NO. (AS ALLOTTED BY OFFICE)							
2. TYPE OF APPLICATION							
Ordinary (✓)		Convention ()		PCT-NP ()			
Divisional ()	Patent of Addition ()	Divisional ()	Patent of Addition ()	Divisional ()	Patent of Addition ()		
3A. APPLICANT(S)							
NAME		NATIONALITY	COUNTRY OF RESIDENCE	ADDRESS			
Tidal Vision Products		US	US	3710 Iron Gate Rd, Bellingham, WA 98226, United States of America.			
3B. CATEGORY OF APPLICANT							
Natural Person ()			Other than Natural Person				
			Small Entity ()	Startup ()	Educational Institution(s) ()	Others (✓)	
4. INVENTOR(S)							
Are all the inventor(s) same as the applicant(s) named above?		Yes ()		No (✓)			
NAME		NATIONALITY	COUNTRY OF RESIDENCE	ADDRESS			
RALIYA, Ramesh		IN	IN	Apt. 1003 - B6 Waterlilly, Ahmedabad - 382421, Gujarat, India.			
5. TITLE OF THE INVENTION: COMPOSITIONS AND METHODS FOR AGRI-INPUTS AND USES THEREOF							
6. AUTHORIZED REGISTERED PATENT AGENT(S)			IN/PA No.	1325			
			Name	Tarun Khurana			
			Mobile No.	9810617992			
			IN/PA No.	1609			
			Name	Meenakshi			
			Mobile No.	9910307992			
			IN/PA No.	1722			
			Name	Abhishek Pandurangi			
			Mobile No.	9920866540			
			IN/PA No.	2066			
			Name	Antony David			
			Mobile No.	9884411536			
IN/PA No.	2553						

	Name	Tapan Shah
	Mobile No.	8130473066
	IN/PA No.	2194
	Name	Mita N Sheikh
	Mobile No.	9920659185
	IN/PA No.	2660
	Name	Dhakshina Moorthy C
	Mobile No.	7093004694
	IN/PA No.	3609
	Name	Shashi Kant Verma
	Mobile No.	9560024888
	IN/PA No.	3617
	Name	Swapnil Mahadeo Sanap
	Mobile No.	8149497652
	IN/PA No.	3616
	Name	Shubhangi Shivnath Dhakane
	Mobile No.	8149497652
	IN/PA No.	2230
	Name	Dr. Padmapriya V.
	Mobile No.	9789076871
	IN/PA No.	3567
	Name	Ghag Sneha Vijay Hema
	Mobile No.	9619932948
	IN/PA No.	2773
	Name	Kuldeep Singh
	Mobile No.	9891199936
	IN/PA No.	2275
	Name	Monomayee Mukherjee
	Mobile No.	8910700172
	IN/PA No.	2967
	Name	S. Govindhaswamy @ Manikandan
	Mobile No.	9962167221
	IN/PA No.	3431
	Name	Priya Chauhan
	Mobile No.	9410997524
7. ADDRESS FOR SERVICE OF APPLICANT IN INDIA	Name	KHURANA & KHURANA, Advocates and IP Attorneys
	Postal Address	E-13, UPSIDC, Site-IV, Behind Grand Venice, Kasna Road, Greater Noida 201310, UP, National Capital Region, India.
	Telephone No.	0120- 4296878/4909201
	Mobile No.	9810617992
	Fax No.	0120- 4516201
	E-mail ID	info@khuranaandkhurana.com docket@khuranaandkhurana.com
8. IN CASE OF APPLICATION CLAIMING PRIORITY OF APPLICATION FILED IN CONVENTION COUNTRY, PARTICULARS OF CONVENTION APPLICATION		

Country	Application No.	Filing Date	Name of Applicant	Title of Invention	IPC (as classified in the convention country)
-	-	-	-	-	-

9. IN CASE OF PCT NATIONAL PHASE APPLICATION, PARTICULARS OF INTERNATIONAL APPLICATION FILED UNDER PATENT CO-OPERATION TREATY (PCT)

International Application No.	International filing date as allotted by the receiving office
-	-

10. IN CASE OF DIVISIONAL APPLICATION FILED UNDER SECTION 16, PARTICULARS OF ORIGINAL (FIRST) APPLICATION

Original (First) Application No.	Date of filing of Original (First) Application
Nil	Nil

11. IN CASE OF PATENT OF ADDITION FILED UNDER SECTION 54, PARTICULARS OF MAIN APPLICATION OR PATENT

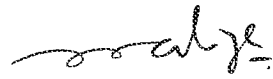
Main Application/Patent No.	Date of filing of Main Application
Nil	Nil

12. DECLARATIONS

(i) Declarations by Inventor(s)

We, the above named inventor(s) is/are the true & first inventor(s) for this invention and declare that the applicant(s) herein is/are my/our assignee.

Signature
Name(s)


RALIYA, Ramesh

(ii) Declaration by the Applicant(s) in the convention country

We, the Applicant(s) in the convention country declare that the applicant (s) herein is/are my/our assignee or legal representative.

Date:

Signature:

Name(s)

(iii) Declaration by the Applicant(s)

I/We hereby declare(s) that

- ✓ I am /We are in possession of the above mentioned invention.
- ✓ Provisional Specification relating to the invention is filed with this application.
- ☒ The invention as disclosed in the specification uses the biological material from India and the necessary permission from the competent authority shall be submitted by me/us before the grant of patent to me/us.
- ✓ There is no lawful ground of objection to the grant of patent to me/us.
- ✓ I am/we are the true & first inventor(s).
- ✓ I am / we are the assignee or legal representative of true & first Inventors.
- ☒ The application or each of applications, particulars of which are given in para 8, was the first application in

convention country / countries in respect of my/our invention.

☒ We claim priority from the above mentioned application(s) filed in convention country/countries and state that no application for protection in respect of the invention has been made in a convention country before that date by me/us or by any person from which I/We derive the title.

☒ Our application is based on International application under Patent Cooperation Treaty as mentioned in para 9.

☒ The application is divided out of my/our application particulars of which are given in para -10 and pray that this application may be treated as deemed to have been filed on N/A under section 16 of the Act.

☒ The said invention is an improvement in or modification of the invention particulars of which are given in para 11.

13. Following are the attachments with the application: (General Requirements)

a. Form 2

Item	Details	Fee	Remarks
Provisional Specification	No. of pages: 25		
No. of Claim(s)	No. of claims: 17 and No. of pages: 3		
Abstract	No. of pages: 1		
No. of Drawing(s)	No. of pages: 12 No. of drawings: 13		

b. Provisional specification (in conformation with the international application)/as amended before the International Preliminary Examination Authority (IPEA), as applicable (2 copies).

c. Sequence listing in electronic form

d. Drawings (in conformation with the international application)/as amended before the International Preliminary Examination Authority (IPEA), as applicable (2 copies).

e. Priority document(s) or a request to retrieve the priority document(s) from DAS (Digital Access Service) if the applicant had already requested the office of first filing to make the priority document(s) available to DAS.

f. Translation of priority document/Specification/International Search Report/International Preliminary Report on Patentability.

g. Statement and Undertaking on Form 3

h. Declaration of Inventorship on Form 5

i. Power of Authority

j. Official fee Rs. _____ Cheque No. _____ Bank _____

I/We declare that to the best of my/our knowledge, information and belief the fact and matters stated herein are correct and I/We request that a patent may be granted to me/us for the said invention.

Dated this: 08th day of May, 2023

Signature



Name of the signatory **TARUN KHURANA[IN/PA-1325]**
AGENT FOR THE APPLICANT
Khurana & Khurana, Advocates and IP Attorneys

To,
The Controller of Patents,
The Patent Office, at Delhi

FORM 2 THE PATENTS ACT, 1970 (39 of 1970) & The Patent Rules, 2003 PROVISIONAL SPECIFICATION (See sections 10 & rule 13)		
1. TITLE OF THE INVENTION COMPOSITIONS AND METHODS FOR AGRI-INPUTS AND USES THEREOF		
2. APPLICANT (S)		
NAME	NATIONALITY	ADDRESS
Tidal Vision Products	US	3710 Iron Gate Rd, Bellingham, WA 98226, United States of America.
3. PREAMBLE TO THE DESCRIPTION		
PROVISIONAL SPECIFICATION The following specification describes the invention.		

TECHNICAL FIELD

[0001] The invention relates to plant nutrition and specifically to encapsulation of nutrients.

5 BACKGROUND

[0002] Agricultural production across the globe is facing unprecedented challenges due to climate change, extreme weather, soil erosion pathogen resistance and environmental pollution. Global population is projected to reach about 10 billion by 2050, thus the demand for food is expected to increase by 60%. The rate of increase of yield and fertilizer (an agri-input) to yield ratio achieved by the green revolution has been declining and detrimental climate change is expected to further limit crop productivity and nutritional quality. To increase yield and improve nutritional quality, plants require balanced nutrition in addition to water and sunlight. However, conventional agri-inputs and their delivery are highly inefficient due to low use efficiency and environmental release. Therefore, more-effective formulations and compositions which can stimulate plant growth, alleviate the negative effect of abiotic/biotic stress, deliver active ingredient efficiently to the plant at the right time in right quantity and release in response to plant's signal are required.

[0003] Biomass-based renewable materials are being explored globally due to their importance for a circular green economy and sustainability. Chitin is the most abundant natural amino polysaccharide. It is present most abundantly in crustaceans, insects, and fungi. Chitin and its derivatives are being considered as a new functional biomaterial of high potential in interdisciplinary applications. For instance, chitosan, a deacetylated derivative of chitin, is being used in industries/sectors such as medicine, textile, food, energy, and water. To date, translational application of chitosan in agriculture is under exploited.

SUMMARY

[0004] In a first aspect, the disclosure provides methods of modifying chitosan for the formulation of chitosan-based nanoparticles.

[0005] In a second aspect, the disclosure provides chitosan-based nanoparticles. The chitosan based nanoparticles may encapsulate nitrogen and/or nitrogen rich compound and/or mixture of compounds such as but not limited to potassium nitrate, calcium nitrate, magnesium nitrate, urea nitrate, urea ammonia
5 nitrate, ammonium nitrate, ammonium sulfate, Urea-hydroxyapatite, amino acids such as arginine, cystine, histidine, leucine, lysine, methionine, threonine, tryptophan, tyrosine, valine, glutamine, glutamic acid, glycine, proline, taurine, aspartic acid, serine, and alanine.

[0006] Further aspects and embodiments are provided in the foregoing
10 drawings, detailed description and claims.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

[0007] The following drawings are provided to illustrate certain embodiments described herein. The drawings are merely illustrative, and are not
15 intended to limit the scope of claimed inventions and are not intended to show every potential feature or embodiment of the claimed inventions. The drawings are not necessarily drawn to scale; in some instances, certain elements of the drawing may be enlarged with respect to other elements of the drawing for purposes of illustration.

20 [0008] Figure 1 is a depiction of Morphological characterizations of the liquid chitosan formulation (TgA-TgE) obtained by Electron Microscopy.

[0009] Figure 2 is a depiction of Morphological characterizations of the liquid chitosan formulation (CTgA-CTgE) obtained 2 by Electron Microscopy.

[00010] Figure 3 is a depiction of Colloidal characterization with reference
25 to hydrodynamic size of the liquid chitosan formulation (TgA- E and CTgA-CTgE) obtained by Dynamic Light Scattering.

[00011] Figure 4 is a depiction of Colloidal characterization with reference to surface zeta potential of the liquid chitosan formulation (TgA- E and CTgA-CTgE) obtained by Dynamic Light Scattering.

30 [00012] Figure 5 is a table depicting the pH and TKN of Align N Batches 1-7.

[00013] Figure 6 is the UV wavelength analysis of Align N Batches 1-7.

[00014] Figure 7 is the FTIR analysis of Align N 1.

[00015] Figure 8 is the FTIR analysis of Align N 2.

[00016] Figure 9 is the FTIR analysis of Align N 3.

5 [00017] Figure 10 is the FTIR analysis of Align N 4.

[00018] Figure 11 is the FTIR analysis of Align N 5.

[00019] Figure 12 is the FTIR analysis of Align N 6.

[00020] Figure 13 is the FTIR analysis of Align N 7.

10 DETAILED DESCRIPTION

[00021] The following description recites various aspects and embodiments of the inventions disclosed herein. No particular embodiment is intended to define the scope of the invention. Rather, the embodiments provide non-limiting examples of various compositions, and methods that are included within the scope of the claimed inventions. The description is to be read from the perspective of one of ordinary skill in the art. Therefore, information that is well known to the ordinarily skilled artisan is not necessarily included.

Definitions

[00022] The following terms and phrases have the meanings indicated below, unless otherwise provided herein. This disclosure may employ other terms and phrases not expressly defined herein. Such other terms and phrases shall have the meanings that they would possess within the context of this disclosure to those of ordinary skill in the art. In some instances, a term or phrase may be defined in the singular or plural. In such instances, it is understood that any term in the singular may include its plural counterpart and vice versa, unless expressly indicated to the contrary.

[00023] As used herein, the singular forms “a,” “an,” and “the” include plural referents unless the context clearly dictates otherwise. For example, reference to “a substituent” encompasses a single substituent as well as two or more substituents, and the like.

[00024] As used herein, “for example,” “for instance,” “such as,” or “including” are meant to introduce examples that further clarify more general subject matter. Unless otherwise expressly indicated, such examples are provided only as an aid for understanding embodiments illustrated in the present disclosure, and are not meant to be limiting in any fashion. Nor do these phrases indicate any kind of preference for the disclosed embodiment.

[00025] Encapsulation and slow release of nutrients is one method for balancing the nutritional needs of plants. One such nutritional need is nitrogen in the form of amine, nitrate and ammonia. Encapsulation of nitrogen compounds having chemical functional groups as amine, nitrate, ammonia, or any one or all of these such as but not limited to potassium nitrate, calcium nitrate, magnesium nitrate, urea nitrate, urea ammonia nitrate, ammonium nitrate, ammonium sulfate, Urea-hydroxyapatite, amino acids such as arginine, cystine, histidine, leucine, lysine, methionine, threonine, tryptophan, tyrosine, valine, glutamine, glutamic acid, glycine, proline, taurine, aspartic acid, serine and alanine is a way of releasing nitrogen in effective amounts for plant growth utilization. There are several benefits of the use of chitosan as a urea-encapsulating/embedding agent. The first benefit is that the chitosan polymer is bio-safe and biodegradable. The chitosan polymer has a biological origin, and has been used for immobilization of enzymes for food, and in biosensing applications. Chitosan can be harvested from fungus, shrimp, crab, lobster, or any combination of these sources. A second benefit compared to inorganic coatings such as sulfur coatings is the absence of cracks. Cracks in the coating cause an immediate release of the coated nutrient upon contact with water. Immediate release of the nutrient defeats the purpose of the encapsulation, which is to slowly release the nutrient. A third benefit of the chitosan polymer coating is the overall health of the soil. The chitosan polymer results in lowered acidification of the soil. Acidification can of the soil can be detrimental to specific plant species. Coatings such as sulfur lower the pH of the soil. Additionally, the soil microbes are an important part of soil health. Synthetic polymers cannot be metabolized by soil microbes.

[00026] Embodiments include chitosan-based nanoparticles. In certain embodiments the chitosan-based nanoparticles comprise nitrogen in the form of amine and/or nitrate and/or ammonia. The nitrogen may be encapsulated by/in the chitosan-based nanoparticles. In particular embodiments, the nitrogen in the form of amine, nitrate, and/or ammonia may be selected potassium nitrate, calcium nitrate, magnesium nitrate, urea nitrate, urea ammonia nitrate, ammonium nitrate, ammonium sulfate, urea-hydroxyapatite, amino acids such as arginine, cystine, histidine, leucine, lysine, methionine, threonine, tryptophan, tyrosine, valine, glutamine, glutamic acid, glycine, proline, taurine, aspartic acid, serine, alanine, and combination thereof.

[00027] In certain embodiments, the chitosan-based nanoparticles may comprise at least 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 85, 90, or 95% (w/v) nitrogen. In particular embodiments wherein at least 50, 55, 60, 65, 70, 75, 85, 90, or 95% of the nitrogen is in the chemical form of the amine and/or nitrate and/or ammonia.

[00028] In one embodiment, the encapsulation process begins with the chitosan polymer. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. In certain embodiments the chitosan has a Degree of DeAcetylation (DDA): >80%, MW: <110 KDa. In particular embodiments the DDA is > 85%. The DDA may be 90%. The DDA may be > 95%. In particular embodiments the DDA is about 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, or 100%.

[00029] Prior to usage for the formulation of nanoparticles, the chitosan must be dissolved in a solution. Dissolution medium: acidic water having pH ranges between 1 and 5.5, or having a pH < 1, < 2, < 3, < 4, < 5, < 5.5. The acid used may be any acid. In particular embodiments the acid used is one of or a combination of the acids including nitric acid and/or acetic acid and/or hydrochloric acid and/or sulfuric acid. To dissolve the chitosan, the aqueous acidic solution may be kept at temperature between about 68 and about 212 degrees F. In particular embodiments, the temperatures is kept at about 68, 72, 82, 92, 101, 112, 122, 132, 142, 152, 162, 172, 182, 192, 202, or 212 degrees F.

During the entire reaction period the solution may be kept stirring at rpms between about 50 and about 2500 rpm. After completion of the reaction, typically between 0.3 and 4 hours, the solution was filtered through 200 mesh (74 micron) followed by more than 635 mesh (<20 micron). In the filtered solution,
5 antimicrobial agents such as but not limited to potassium sorbate are added (0.1% v/v). In certain cases, as described below a linker such as sodium tripolyphosphate and/or ammonium sulfate is added in the solution before the addition of antimicrobial agents.

[00030] In one embodiment, the reaction is carried out with specific
10 solutions prepared in accordance with one and/or all of the procedures in Example 1 at the temperature between 68 and 250 degrees F. During the entire reaction period the solution was kept stirring at 400 rpm for uniformity of the substances. After completion of the reaction, typically between 0.3 and 4 hours, the solution was filtered through 200 mesh (74 micron) followed by more than 635 mesh (<20
15 micron). The nitrogen % in the final solution was maintained between 0.1% and 100%, specifically between 18-24% using the compound and/or mixture of compounds described above.

[00031] In certain embodiments, the chitosan nanoparticles may be formed in the presence of and or loaded with nitrogen in the form of amine and/or nitrate
20 and/or ammonia. The nitrogen may be encapsulated by/in the chitosan-based nanoparticles. In particular embodiments, the nitrogen in the form of amine, nitrate, and/or ammonia may be selected potassium nitrate, calcium nitrate, magnesium nitrate, urea nitrate, urea ammonia nitrate, ammonium nitrate, ammonium sulfate, urea-hydroxyapatite, amino acids such as arginine, cystine,
25 histidine, leucine, lysine, methionine, threonine, tryptophan, tyrosine, valine, glutamine, glutamic acid, glycine, proline, taurine, aspartic acid, serine, alanine, and combination thereof.

[00032] > 95% particles were in the spherical, nearly spherical shape or small linear fragments having size between 0.1 nm and 8 microns. (By TEM
30 measurement). 0.1 nm and 10 microns with polydispersity index between 0.01 to 0.99 (by DLS measurement). Surface zeta potential ranged between +5 and 70

mV (measured by DLS). N%: 18-24 Application onto the seed surface, mixing in the soil, exposing root and/or exposing leaves. The application rate ranged between 0.01% to 50% v/w or v/v.

[00033] Embodiments include methods of treating a plant or part with any of the compositions described herein. The plant part may be any plant part including, but not limited to a seed, leaf, stem, flower, or root of a plant. Examples species of plant parts include, but are not limited to cereals such as wheat, barley, rye, oat; canola, cotton, eggplant, lettuce, sorghum, soybean, rice, oil seed rape, sugar beet, sugarcane, grapes, lentils, sunflowers, alfalfa, pome 5 fruits; stone fruits; peanuts; coffee; tea; strawberries; turf; vegetables, such as tomatoes, potatoes, cucurbits and lettuce.

[00034] Further embodiments include methods of treating a plant growth medium with any of the compositions described herein. Plant growth medium may comprise one or more of soil, peat, moss, wood residue, leaf mold, sawdust, bark, bagasse, rice hull, sand, perlite, vermiculite, calcinated clay, polystyrene, 15 urea formaldehyde resins, and hydroponic liquids.

Example 1

Preparation of chitosan using various acids

[00035] [Acetic Acid] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 20 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, acetic acid between 0.3% and 1.9% (v/v) was added. The temperature 25 and agitation was maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, when the flakes became invisible to the solution, it was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cooled down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (0.01 30 -1% v/v) and mixed well using agitation.

[00036] [Acetic Acid + NaTPP] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be
5 fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, acetic acid between 0.3% and 1.9% (v/v) was added. When the flakes became invisible to the solution, a solution of sodium tripolyphosphate (0.001 - 1% v/v or v/w) was added. The temperature and
10 agitation was maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, the solution was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cooled down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (0.01 - 1% v/v) and mixed well using agitation.

[00037] [Acetic Acid + Ammonium Sulphate] A germ free or autoclaved
15 water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the
20 soaking of the flakes with water, acetic acid between 0.3% and 1.9% (v/v) was added. When the flakes became invisible to the solution, a solution of Ammonium Sulphate (0.001 - 1% v/v or v/w) was added. The temperature and agitation was maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, the solution was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The
25 solution temperature was cooled down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (0.01 - 1% v/v) and mixed well using agitation.

[00038] [Nitric Acid + Acetic Acid] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80%
30 DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan

variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, acetic acid and nitric acid having a ratio of 1:1, 1:2, 2:1 and a total v/v acid strength between 0.3% and 1.9% was added. The temperature and agitation were maintained constantly throughout the reaction for up to 4
5 hours. At the end, when the flakes became invisible to the solution, it was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cool down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (1% v/v) and mixed well using agitation.

[00039] [Nitric Acid + Acetic Acid + NaTPP] A germ free or autoclaved
10 water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the
15 soaking of the flakes with water, acetic acid and nitric acid having a ratio of 1:1, 1:2, 2:1 and a total v/v acid strength between 0.3% and 1.9% was added. When the flakes became invisible to the solution, a solution of sodium tripolyphosphate (0.001 - 1% v/v or v/w) was added. The temperature and agitation were maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, the
20 solution was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cooled down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (0.01 - 1% v/v) and mixed well using agitation.

[00040] [Nitric Acid + Acetic Acid + Ammonium Sulphate] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm.
25 When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, acetic acid and nitric acid
30 having a ratio of 1:1, 1:2, 2:1 and a total v/v acid strength between 0.3% and 1.9% was added. When the flakes became invisible to the solution, a solution of

ammonium sulphate (0.001 - 1% v/v or v/w) was added. The temperature and agitation were maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, the solution was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cooled down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (0.01 - 1% v/v) and mixed well using agitation.

5 [00041] [Nitric Acid + NaTPP] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, nitric acid between 0.3% and 1.9% (v/v) was added. When the flakes became invisible to the solution, a solution of sodium tripolyphosphate (0.001 - 1% v/v or v/w) was added. The temperature and agitation was maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, the solution was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cooled down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (0.01 - 1% v/v) and mixed well using agitation.

15 [00042] [Nitric Acid + Ammonium sulphate] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, nitric acid between 0.3% and 1.9% (v/v) was added. When the flakes became invisible to the solution, a solution of ammonium sulphate (0.001 - 1% v/v or v/w) was added. The temperature and agitation were maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, the solution was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cooled down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (0.01 - 1% v/v) and mixed well using agitation.

[00043] [Nitric Acid] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, nitric acid between 0.3% and 1.9% (v/v) was added. The temperature and agitation were maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, when the flakes became invisible to the solution, it was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cooled down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (0.01 -1% v/v) and mixed well using agitation.

[00044] [Hydrochloric Acid] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, hydrochloric acid between 0.3% and 1.9% (v/v) was added. The temperature and agitation were maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, when the flakes became invisible to the solution, it was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cooled down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (0.01 -1% v/v) and mixed well using agitation.

[00045] [Hydrochloric Acid + NaTPP] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, hydrochloric acid between 0.3% and 1.9% (v/v) was

added. When the flakes became invisible to the solution, a solution of sodium tripolyphosphate (0.001 - 1% v/v or v/w) was added. The temperature and agitation were maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, the solution was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cooled down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (0.01 - 1% v/v) and mixed well using agitation.

[00046] [Hydrochloric Acid + Ammonium sulphate] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, hydrochloric acid between 0.3% and 1.9% (v/v) was added. When the flakes became invisible to the solution, a solution of ammonium sulphate (0.001 - 1% v/v or v/w) was added. The temperature and agitation were maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, the solution was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cooled down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (0.01 - 1% v/v) and mixed well using agitation.

[00047] [Sulfuric Acid] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, sulfuric acid between 0.3% and 1.9% (v/v) was added. The temperature and agitation were maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, when the flakes became invisible to the solution, it was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution

temperature was cooled down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (0.01 -1% v/v) and mixed well using agitation.

[00048] [Sulfuric Acid + NaTPP] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, sulfuric acid between 0.3% and 1.9% (v/v) was added. When the flakes became invisible to the solution, a solution of sodium tripolyphosphate (0.001 - 1% v/v or v/w) was added. The temperature and agitation were maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, the solution was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cooled down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (0.01 - 1% v/v) and mixed well using agitation.

[00049] [Sulfuric Acid + Ammonium Sulphate] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, sulfuric acid between 0.3% and 1.9% (v/v) was added. When the flakes became invisible to the solution, a solution of ammonium sulphate (0.001 - 1% v/v or v/w) was added. The temperature and agitation were maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, the solution was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cooled down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (0.01 - 1% v/v) and mixed well using agitation.

[00050] [Nitric Acid + Acetic Acid + Hydrochloric Acid + Sulfuric Acid] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan

flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, acetic acid, nitric acid, hydrochloric acid, sulfuric acid having a ratio of 1:1:0:0, 1:0:1:0, 1:0:0:1, 1:1:1:0, 1:1:2:0, 1:1:1:1, 1:1:1:2 and a total v/v acid strength between 0.3% and 1.9% was added. The temperature and agitation was maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, when the flakes became invisible to the solution, it was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cool down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (1% v/v) and mixed well using agitation.

[00051] [Nitric Acid + Acetic Acid + Hydrochloric Acid + Sulfuric Acid + NaTPP] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, acetic acid, nitric acid, hydrochloric acid, sulfuric acid having a ratio of 1:1:0:0, 1:0:1:0, 1:0:0:1, 1:1:1:0, 1:1:2:0, 1:1:1:1, 1:1:1:2 and a total v/v acid strength between 0.3% and 1.9% was added. When the flakes became invisible to the solution, a solution of sodium tripolyphosphate (0.001 - 1% v/v or v/w) was added. The temperature and agitation were maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, the solution was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cooled down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (0.01 - 1% v/v) and mixed well using agitation.

[00052] [Nitric Acid + Acetic Acid + Hydrochloric Acid + Sulfuric Acid + Ammonium Sulphate] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or

lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, acetic acid, nitric acid, hydrochloric acid, sulfuric acid having a ratio of 1:1:0:0, 1:0:1:0, 1:0:0:1, 1:1:1:0, 1:1:2:0, 1:1:1:1, 1:1:1:2 and a total v/v acid strength
5 between 0.3% and 1.9% was added. When the flakes became invisible to the solution, a solution of ammonium sulphate (0.001 - 1% v/v or v/w) was added. The temperature and agitation were maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, the solution was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cooled down to 77 degree
10 F, and a solution of potassium sorbate was added (0.01 - 1% v/v) and mixed well using agitation.

EXAMPLE 2

[00053] Various of the above chitosan solutions were prepared using chitosan from two different sources. These sources are designated Tg and CTg.
15 Tg and CTg were used to create chitosan-based nanoparticles using the above identified procedures to yield the following products

TgA = Tg source chitosan-based nanoparticles prepared with acetic acid.

TgB = Tg source chitosan-based nanoparticles prepared with acetic acid and sodium tripolyphosphate.

20 TgC = Tg source chitosan-based nanoparticles prepared with acetic acid and nitric acid.

TgD = Tg source chitosan-based nanoparticles prepared with acetic acid, nitric acid, and sodium tripolyphosphate.

25 TgE = Tg source chitosan-based nanoparticles prepared with nitric acid and sodium tripolyphosphate.

CTgA = CTg source chitosan-based nanoparticles prepared with acetic acid.

CTgB = CTg source chitosan-based nanoparticles prepared with acetic acid and sodium tripolyphosphate.

30 CTgC = CTg source chitosan-based nanoparticles prepared with acetic acid and nitric acid.

CTgD = CTg source chitosan-based nanoparticles prepared with acetic acid, nitric acid, and sodium tripolyphosphate.

CTgE = CTg source chitosan-based nanoparticles prepared with nitric acid and sodium tripolyphosphate.

5 [00054] The formulation and intermediates were characterized for the physicochemical characterizations. The physical morphology (shape and size) was characterized using the transmission or scanning electron microscope (Figures 1 and 2). Resultant solution/s obtained for the Tg sourced chitosan had > 95% particles were in the spherical, nearly spherical shape or small linear fragments
10 having size between 0.1 nm and 5 microns. More specifically, the desired size obtained and utilized for further formulation development was less than 0.5 micron was used for further formulation development and/or other agricultural use for crop growth, stimulation, germination, and trait improvement purpose. Similarly, resultant solution obtained for the CTg sourced chitosan had the
15 physical structure as spherical shape and size ranges between 0.1 nm and 8 microns. More specifically the size obtained between 0.1 nm and 200 nm was used as a selection parameter for the delivery to the crop for growth, stimulation, germination, and trait improvement purposes.

The dynamic stability and hydrodynamic size in the solution was characterized
20 using the dynamic light scattering or DLS the nanoparticles were subjected to dynamic light scattering (DLS) and analyzed for Z average, Intensity, Number, and Polydispersity (PDI) (Figure 3). Resultant solutions had ranges between 0.1 nm and 10 microns with polydispersity index between 0.01 to 0.99. Furthermore, the surface zeta potential of the resultant solutions characterized by DLS (Figure
25 4) and it ranged between +5 and 70 mV. The major determinant factor for zeta potential was chitosan concentration and pH of the solution. Higher chitosan concentration and lower pH yielded higher zeta potential.

EXAMPLE 3

The ability of the various chitosan-based nanoparticles generated in Examples 1
30 and 2 to load nitrogen and/or nitrogen rich compound and/or mixture of compounds such as but not limited to potassium nitrate, calcium nitrate,

magnesium nitrate, urea nitrate, urea, urea ammonia nitrate, ammonium nitrate, ammonium sulfate, Urea-hydroxyapatite, amino acids such as arginine, cystine, histidine, leucine, lysine, methionine, threonine, tryptophan, tyrosine, valine, glutamine, glutamic acid, glycine, proline, taurine, aspartic acid, serine and alanine was tested. Encapsulation and slow release of nutrients is one method for balancing the nutritional needs of plants. Several solutions were prepared and tested.

Preparation of chitosan solutions

[00055] Preparation for solution A: Chitosan solution in Acetic Acid

10 [00056] Step 1. Take 150 ml water in a 250 mL beaker. Step 2. Turn on Top head stirrer at room temperature at 300 RPM. The stirrer was continuously ON through the process until it says stirrer STOP. Step 3. After 3 minutes of step 2, Add 8 gram chitosan flake. Step 4. After 7 minutes of step 3, Add 8 mL of 99.7 % Glacial Acetic Acid. Step 5. After complete dissolution of the flake (after 17 minutes after step 4), add 50 mL water. Step 6. After 10 minutes of step 5, The stirrer stopped. Step 7. Filter the solution with 200 mesh size filter. The total volume of the solution was 210 mL and 104.335 g/100 mL. The calculated % of the Chitosan of the solution is 3.8% (w/v). The pH of the solution is 3.88.

[00057] Preparation for solution B: Chitosan solution in HCL

20 [00058] Step 1. Take 150 ml water in 250 mL beaker. Step 2. Turn on Top head stirrer at room temperature at 300 RPM. The stirrer was continuously ON through the process until it says stirrer STOP. Step 3 After 3 minutes of step 2, Add 8 gram chitosan flake. Step 4. After 7 minutes of the step 3, Add 8 mL of 35.4 % HCL. Step 5. After complete dissolution of the flake (after 85 minutes after step 4), added 50 mL water. Step 6. After 26 minutes of the step 5, The stirrer stopped. Step 7. Filter the solution with 200 mesh size filter. The total volume of the solution in mL was 222.096 mL at 105.37 Gram/100 mL. The calculated % CS of the solution was 3.6 % (w/v) with a pH of the solution at 0.66.

30

[00059] Preparation for solution C: Chitosan solution in Nitric Acid

[00060] Step 1. Take 800 ml water in 2000 mL beaker. Step 2. Turn on Top head stirrer at room temperature at 600 RPM. The stirrer was continuously ON through the process until it says stirrer STOP. Step 3. After 2 minutes of step 2, Add 20 gram chitosan flake. Step 4. After 5 minutes of the step 3, Add 20 mL of 69.71 % Nitric Acid. Step 5. After complete dissolution of the flake (after 110 minutes after step 4), added 100 mL water. Step 6. After 14 minutes of the step 5, The stirrer stopped. Step 7. After 10 minutes of step 6, add 80 ml of water to make up the solution to 1000 mL. Step 8. Filter the solution with 200 mesh size filter. The total volume of the solution in mL was 1000 mL at 100.686 Gram/100 mL. The calculated % CS of the solution is 2 % (w/v) with a pH of the solution at 0.84.

[00061] Preparation for solution D: Chitosan solution in Acetic Acid

[00062] Step 1. Take 800 ml water in 2000 mL beaker. Step 2. Turn on Top head stirrer at room temperature at 600 RPM. The stirrer was continuously ON through the process until it says stirrer STOP. Step 3. After 4 minutes of step 2, Add 20 gram chitosan flake. Step 4. After 10 minutes of the step 3, Add 20 mL of 99.7 % Glacial Acetic Acid. Step 5. After complete dissolution of the flake (after 10 minutes after step 4). Step 6. After 17 minutes of the step 5, The stirrer was stopped. Step 7. After 10 minutes of the step 6, Add water 180 ml to make up the solution to 1000 mL. Step 8. Filter the solution with 200 mesh size filter. The total volume of the solution in mL was 1000 ML at 100.472 Gram/100 mL. The calculated % CS of the solution was 2 % (w/v) with a pH of the solution at 3.91.

[00063] Preparation for solution E: Chitosan solution in H_2SO_4

[00064] The H_2SO_4 solution did not work, as the chitosan did not dissolve in solution, this effectively terminated the experiment, and the H_2SO_4 solution was not used in any encapsulation production.

[00065] Preparation for solution F: Chitosan solution in HCL

[00066] Step 1. Take 800 ml water in 2000 mL beaker. Step 2. Turn on Top head stirrer at room temperature at 600 RPM. The stirrer was continuously ON through the process until it says stirrer STOP. Step 3. After 2 minutes of step 2, Add 20 gram chitosan flake. Step 4. After 6 minutes of the step 3, Add 20 mL of

35.4 % HCL. Step 5. After complete dissolution of the flake (after 44 minutes after step 4), added 100 mL water. Step 6. After 12 minutes of the step 5, The stirrer stopped. Step 7. After 10 minutes of the step 6, Added 80 mL water to make up to 1000 mL and mixed thoroughly. Step 8. Filter the solution with 200
5 mesh size filter. The total volume of the solution in mL was 1000 mL at 100.328 Gram/100 mL. The calculated % CS of the solution was 2% (w/v) with a pH of the solution at 1.09.

[00067] Preparation of Linker - Ammonium sulphate (AS) solution

[00068] Step 1. Take 0.200 gram ammonium sulphate in 50 mL capacity
10 volumetric flask. Step 2. Add 30 mL water. Step 3. Vortex the solution – resultant solution becomes clear. Step 4. Make up the volume to 50 mL using 20 mL water. The total volume of the solution in mL was 50 mL; 49.764 g. The calculated % AS of the solution was 0.4 % w/v. The calculated N % of the solution was 0.0856% w/v. The calculated the S % of the solution was 0.0980% w/v. The pH
15 of the solution was 5.75.

[00069] Preparation of Linker - Tri sodium Polyphosphate (TPP) solution

[00070] Step 1. Take 0.200 gram in 50 mL capacity volumetric flask. Step
2. Add 30 mL water. Step 3. Vortex the solution – resultant solution becomes
20 clear. Step 4. Make up the volume to 50 mL using 20 mL water. The total volume of the solution in mL was 50 mL; 49.821 g. The calculated % TP of the solution was 0.4 % w/v. The calculated P% of the solution was 0.101%. The pH of the solution was 9.76.

[00071] Formulation of the Encapsulated Urea

25 **[00072] Align N # 1**

[00073] Step 1. Take 2000 mL beaker. Step 2. Add 175 mL solution A.
Step 3. Start over head stirrer, it was continued through the process until it says stop. Step 4. After 5 minutes of the step 3, add 100 mL water. Step 5. After 6
minutes of the step 4, add 100 gram urea. Step 6. After 13 minutes of the step 5,
30 add 100 gram urea. Step 7. After 1 minutes of the step 6, add 50 mL water. Step 8. After 8 minutes of the step 7, add 50 mL water. Step 9. After 10 minutes of the

step 8, add 135 gram urea. Step 10. After 9 minutes of the step 9, add 175 solution B. Step 11. After 18 minutes of step 10, add 25 mL water. Step 12. After 52 minutes of the step 11, add 10 mL Ammonium sulphate solution (0.1 gram in 10 mL or 1% w/v). Step 12. After 15 minutes of the step 12, stirrer was stopped. The solution makes up to 1000 mL using 125 mL water. Step 13. Filter the solution with 200 mesh size filter. Step 14. Solution is ready for further use/ QC testing analyses, stored in 1 L bottle. The method resulted in chitosan encapsulation of the nutrients, with the solution having Urea: 43.5 % (w/v), N % w/v: 20.01 (calculated); 18.24% (analysed by TKN), Ammonium sulphate: 0.01 (w/v), Chitosan: 1.29 % (w/v), Acetic Acid: 0.7 % (v/v), HCl: 0.7 % (v/v), pH: 3.67. Weight (gram/100 mL): 110.832 gram

[00074] **Align N # 2**

[00075] Step 1. Take 2000 mL beaker. Step 2. Add 200 mL solution D. Step 3. Started over head stirrer, it was continued through the process until it says stop. Step 4. After 3 minutes of the step 3, add 200 mL distil water. Step 5. After 5 minutes of the step 4, add 100 gram urea. Step 6. After 7 minutes of the step 5, add 100 gram urea. Step 7. After 5 minutes of the step 6, add 100gram urea. Step 8. After 8 minutes of the step 7, add 135 gram urea. Step 9. After 10 minutes of the step 8, add 100 solution F. Step 10. After 13 minutes of the step 9, add 100 solution F. Step 11. After 19 minutes of step 10, add 75 mL water. Step 12. After 5 minutes of the step 11, add 25 mL Ammonium sulphate solution (0.1 gram in 25 mL water or 0.4% w/v). Step 13. After 15 minutes of the step 12, stirrer was stopped. The solution was 1 L. Step 14. Filter the solution with 200 mesh size filter. Step 15. Solution is ready for further use/ QC testing analyses, stored in 1 L bottle. This example of the method resulted in chitosan encapsulation of the nutrients, with the solution having, Urea: 43.5 % (w/v), N % w/v: 20.01 (calculated); 18.05 (analysed by TKN), Ammonium sulphate: 0.01 (w/v), Chitosan: 0.8 % (w/v), Acetic Acid: 0.4 % (v/v), HCl Acid: 0.4 % (v/v), pH: 4, and a Weight (gram/100 mL): 110.622 gram.

[00076] **Align N # 3**

[00077] **Step 1.** Take 2000 mL beaker. Step 2. Add 200 mL water. Step 3. Started over head stirrer, it was continued through the process until it says stop. Step 4. After 2 minutes of the step 3, add 200 mL solution D. Step 5. After 5 minutes of the step 4, add 100 gram urea. Step 6. After 3 minutes of the step 5, add 100 gram urea. Step 7. After 6 minutes of the step 6, add 100 gram urea. Step 8. After 11 minutes of the step 7, add 135 gram urea. Step 9. After 10 minutes of the step 8, add 200 solution C. Step 10. After 50 minutes of the step 9, add Ammonium sulphate solution (0.1 gram in 25 mL water or 0.4% w/v). Step 11. After 35 minutes of the step 10, stirrer was stopped. The solution was made up to 1000 mL, by adding 60 mL water. Step 12. Filter the solution with 200 mesh size filter. Step 13. Solution is ready for further use/ QC testing analyses, stored in 1 L bottle. This example of the method resulted in chitosan encapsulation of the nutrients, with the solution having; Urea: 43.5 % (w/v), N % w/v: 20.1 (calculated); 18.17 (analysed by TKN), Ammonium sulphate: 0.01% (w/v), Chitosan: 0.8 % (w/v), Acetic Acid: 0.4 (v/v), Nitric Acid: 0.4 (v/v), a pH:3.22, and a Weight (gram/100 mL): 110.622 gram.

[00078] **Align N # 4**

[00079] **Step 1.** Take 1000 mL beaker. Step 2 Add 300 mL water. Step 3. Start magnetic stirrer, it was continued through the process until it says stop. Step 4. After 07 minutes of the step 3, add 100 gram urea. Step 5. After 4 minutes of the step 4, add 100 gram urea. Step 6. After 2 minutes of the step 5, add 100 gram urea. Step 7. After 4 minutes of the step 6, add 135 gram urea. Step 8. After 15 minutes of the step 7 (solution was not completely dissolved like semi crystals appearing bottom of the beaker), and stirrer stop. Step 9. After step 8, Take another separate 2 L beaker and added 200 mL solution C and started overhead stirrer. Step 10. After 2 minutes of step 9, add semi dissolve solution of urea (prepared in the step 7) transfer into solution C. Step 11. After 3 minutes of step 10, add 100 mL water. Step 12. After 17 minutes of step 11, add 50 mL water. Step 13. After 8 minutes of the step 12, added ammonium sulphate solution (0.1 gram in 25 mL water or 0.4% w/v). Step 14. After 25 minutes of the step 13, stirrer was stopped. The solution was make up to 1000 mL for that 25 mL water

was added. Step 15. Filter the solution with 200 mesh size filter. Step 16. Solution is ready for further use/ QC testing analyses, stored in 1 L bottle. This example of the method resulted in chitosan encapsulation of the nutrients, with the solution having; Urea: 43.5 % (w/v), N % w/v: 20.01 (calculated); 18.42 (analysed by TKN), Ammonium sulphate: 0.01 (w/v), Chitosan: 0.4 % (w/v) Nitric Acid: 0.4% (v/v), pH: 2.87, and Weight (gram/100 mL): 110.586 gram.

[00080] Align N # 5

[00081] Step 1. Take 2000 mL beaker. Step 2. Add 200 mL solution D. Step 3. Started over head stirrer, it was continued through the process until it says stop. Step 4. After 2 minutes of the step 3, add 200 mL water. Step 5. After 4 minutes of the step 4, add 100 gram urea. Step 6. After 4 minutes of the step 5, add 100 gram urea. Step 7. After 12 minutes of the step 6, add 100gram urea. Step 8. After 11 minutes of the step 7, add 135 gram urea. Step 9. After 13 minutes of the step 8, add 200 solution C. Step 10. After 25 minutes of the step 9, add TPP solution (0.1 gram TPP in 25 mL water or 0.4% w/v). Step 11. After 20 minutes of the step 10, stirrer was stopped. The solution was made up to 1000 mL by adding 80 mL water. Step 12. Filter the solution with 200 mesh size filter. This example of the method resulted in chitosan encapsulation of the nutrients, with the solution having; Urea: 43.5 % (w/v), N % w/v: 20.01 (calculated); 18.06 (analysed by TKN), TPP: 0.01% (w/v), Chitosan: 0.8 % (w/v), Acetic Acid: 0.4 % (v/v), Nitric Acid: 0.4 % (v/v), pH: 3.14, and a Weight (gram/100 mL): 110.726 gram.

[00082] Align N # 6

[00083] Step 1. Take 1000 mL beaker. Step 2. Add 400 mL water. Step 3. Started magnetic (bottom head) stirrer, it was continued through the process until it says stop. Step 4. After 5 minutes of the step 3, add 100 gram urea. Step 5. After 9 minutes of the step 4, add 100 gram urea. Step 6. After 4 minutes of the step 5, add 100 gram urea. Step 7. After 12 minutes of the step 6, add 135 gram urea. Step 8. After 30 minutes of the step 7 (solution was not completely dissolved, crystals were appearing at bottom of the beaker), and stirrer stop. Step 9. Take another separate 2 L volume beaker and added 200 mL solution C. The overhead

stirrer was started. Step 10. After 4 minutes of step 9, added urea semi dissolve solution (prepared in step 7) transfer into solution C. Step 11. Step 12. After 1 minutes of step 10, add 50 mL water. Step 13. After 15 minutes of the step 11, add TPP solution (0.1 gram in 25 mL water or 0.4% w/v). Step 14. After 20 minutes of the step 12, stirrer was stopped. Step 15. The solution was made up to 1000 mL by adding 25 mL water. Step 16. Filter the solution with 200 mesh size filter. This example of the method resulted in chitosan encapsulation of the nutrients, with the solution having; Urea: 43.5 % (w/v), N % w/v: 20.01 (calculated); 17.9 (analysed by TKN), TPP: 0.01 % (w/v), Chitosan: 0.4% (w/v), Nitric Acid: 0.4% (v/v), pH 2.88, Weight (gram/100 mL): 110.506 gram.

[00084] Align N # 7

[00085] Step 1. Take 1000 mL beaker. Step 2. Add 400 mL water. Step 3. Start magnetic stirrer, it was continued through the process until it says stop. Step 4. After 5 minutes of the step 3, add 100 gram urea. Step 5. After 10 minutes of the step 4, add 100 gram urea. Step 6. After 20 minutes of the step 5, add 100 gram urea. Step 7. After 10 minutes of the step 6, add 135 gram urea. Step 8. After 305 minutes of the step 7 (solution was not completely dissolved like semi crystals appearing bottom of the beaker), and stirrer stop. Step 9. Take another separate 2L beaker and added 200 mL solution D, and started overhead stirrer. Step 10. After 2 minutes of step 9, add urea semi dissolve solution (prepared in the step 8) transfer into solution D. Step 11. After 3 minutes of step 10, add 25 mL water. Step 12. After 11 minutes of the step 11, add ammonium sulphate solution (0.1 gram in 25 mL water or 0.4% w/v). Step 13. After 26 minutes of the step 12, stirrer was stopped and the solution was made up to 1000 mL by adding 50 mL water. Step 14. Filter the solution with 200 mesh size filter. This example of the method resulted in chitosan encapsulation of the nutrients, with the solution having; Urea: 43.5 % (w/v), N % w/v : 20.01 (calculated); 18.19 (analysed by TKN), Ammonium sulphate: 0.01 % (w/v), Chitosan: 0.4 % (w/v), Acetic Acid: 0.4 % (v/v), pH : 4.76, and Weight (gram/100 mL): 110.29 gram.

[00086] pH analysis (Figure 5) was performed according to standard protocols for drinking water as described by the United States EPA. Total

Kjendahl Nitrogen (TKN) analysis (Figure 5) was performed in accordance with method 1688 of the U. S. EPA Office of Water. The UV-Vis analysis (Figure 6) was performed according to OPPTS 830.7050. The FTIR analysis (Figures 7-13) was performed on and according to the manual for the Agilent-Cary 630.

5 **Example 4: Application and uses of the chitosan and/or chitosan/nitrogen**

nanoparticles The resultant chitosan and/or chitosan loaded nitrogen nanoparticle products or mixtures of products obtained as a result of the above Examples were used for the multidimensional effects on plants such as growth, protection, and nutrition. The multidimensional effects on plants were obtained by applying the
10 resultant product of the above Examples onto the seed surface, mixing in the soil, exposing root and/or exposing leaves. The application rate ranged between 0.01% to 50% v/w or v/v. Furthermore, the resultant products of the above Examples were used to mix with other agrochemicals to act as growth promoter, symbiont, nutrient, protection agent against pathogens or non-desired plants for synergistic
15 effects.

[00087] The invention has been described with reference to various specific and preferred embodiments and techniques. Nevertheless, it is understood that many variations and modifications may be made while remaining within the spirit and scope of the invention.

20

We Claim:

1. A composition comprising: chitosan and at least 1% (w/v) nitrogen.
- 5 2. The composition of claim 1, wherein at least 50% of the nitrogen is in the chemical form of amine and/or nitrate and/or ammonia.
3. The composition of claim 2, wherein the composition comprises nanoparticle of chitosan and a nitrogen rich compound and/or mixture of
10 compounds selected from the group consisting of potassium nitrate, calcium nitrate, magnesium nitrate, urea nitrate, urea ammonia nitrate, ammonium nitrate, ammonium sulfate, urea-hydroxyapatite, amino acids such as arginine, cystine, histidine, leucine, lysine, methionine, threonine, tryptophan, tyrosine, valine, glutamine, glutamic acid, glycine, proline, taurine, aspartic acid, serine and
15 alanine.
4. The composition of claim 1, wherein the chitosan is present at between about 0.01% and about 1.5% (w/v).
- 20 5. The composition of claim 1, further comprising a linker.
6. The composition of claim 5, where the linker is sodium tripolyphosphate and/or ammonium sulfate.
- 25 7. A method of producing chitosan nanoparticles, the method comprising:
 dissolving chitosan in acidic water, where the water is made acidic by an acid selected from the group of acetic acid, nitric acid, sulfuric acid, hydrochloric acid, and combinations thereof; and
 forming nanoparticles from the dissolved chitosan.

30

8. The method according to claim 7, wherein a linker is added to the dissolved chitosan.

9. The method according to claim 8, wherein the linker is sodium
5 tripolyphosphate and/or ammonium sulfate.

10. The method according to claim 7, wherein nitrogen rich compound and/or mixture of compounds selected from the group consisting of potassium nitrate, calcium nitrate, magnesium nitrate, urea nitrate, urea ammonia nitrate, ammonium
10 nitrate, ammonium sulfate, urea-hydroxyapatite, amino acids such as arginine, cystine, histidine, leucine, lysine, methionine, threonine, tryptophan, tyrosine, valine, glutamine, glutamic acid, glycine, proline, taurine, aspartic acid, serine and alanine is/are added the dissolved chitosan.

11. The method according to claim 10, wherein the nanoparticles comprise
15 chitosan and nitrogen rich compound and/or mixture of compounds.

12. The method according to claim 11, wherein the nanoparticles comprise at
least 1% (w/v) nitrogen.

20 13. The method according to claim 11, wherein the chitosan is present at between about 0.01% and about 1.5% (w/v).

14. A method of treating a plant or a plant part, the method comprising
25 treating the plant or plant part with a composition according to any of claims 1-7.

15. The method according to claim 14, wherein the plant part is selected from the group consisting of a seed, leaf, stem, flower, or root of a plant.

30 16. A method of preparing a plant growth medium, the method comprising treating the growth medium with a composition according to any of claims 1-7.

17. The method according to claim 16, wherein the growth medium is soil, peat, moss, wood residue, leaf mold, sawdust, bark, bagasse, rice hull, sand, perlite, vermiculite, calcinated clay, polystyrene, urea formaldehyde resins, and hydroponic liquids, and combinations thereof.

5

For Tidal Vision Products



Tarun Khurana

Regd. Patent Agent [IN/PA-1325]

10

Dated: 08th May, 2023

ABSTRACT

**COMPOSITIONS AND METHODS FOR AGRI-INPUTS AND USES
THEREOF**

5 Disclosed herein are compositions comprising: chitosan and at least 1% (w/v)
nitrogen. In certain cases, at least 50% of the nitrogen is in chemical form of
amine and/or nitrate and/or ammonia. Also disclosed herein are methods of
producing chitosan nanoparticles by dissolving chitosan in acidic water, where the
water is made acidic by an acid selected from the group of acetic acid, nitric acid,
10 sulfuric acid, hydrochloric acid, and combinations thereof; and forming
nanoparticles from the dissolved chitosan. Further disclosed is the treatment of
plants or plant parts with the compositions disclosed herein.

For Tidal Vision Products



15

Tarun Khurana

Regd. Patent Agent [IN/PA-1325]

Dated: 08th May, 2023

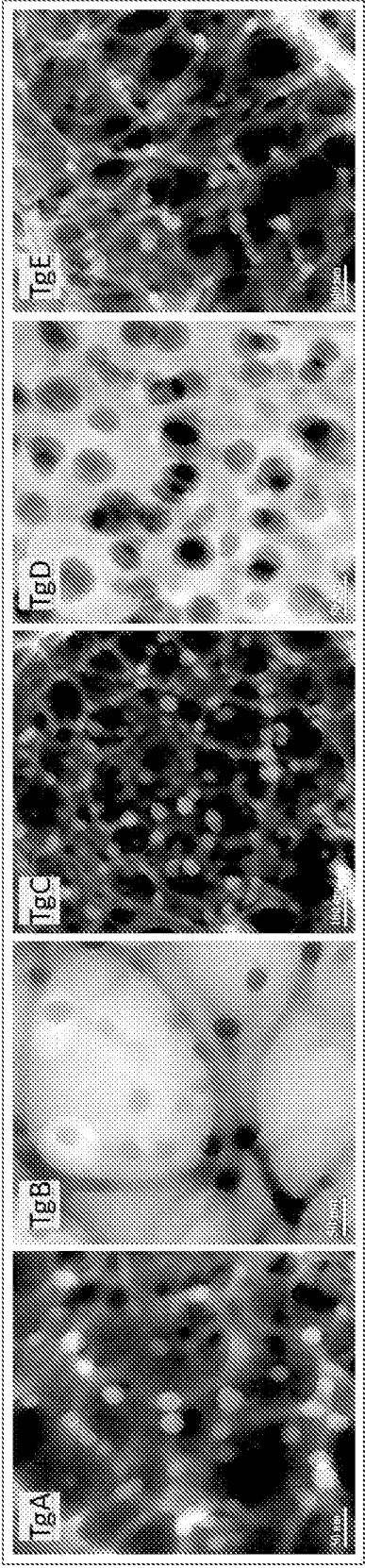


Fig. 1

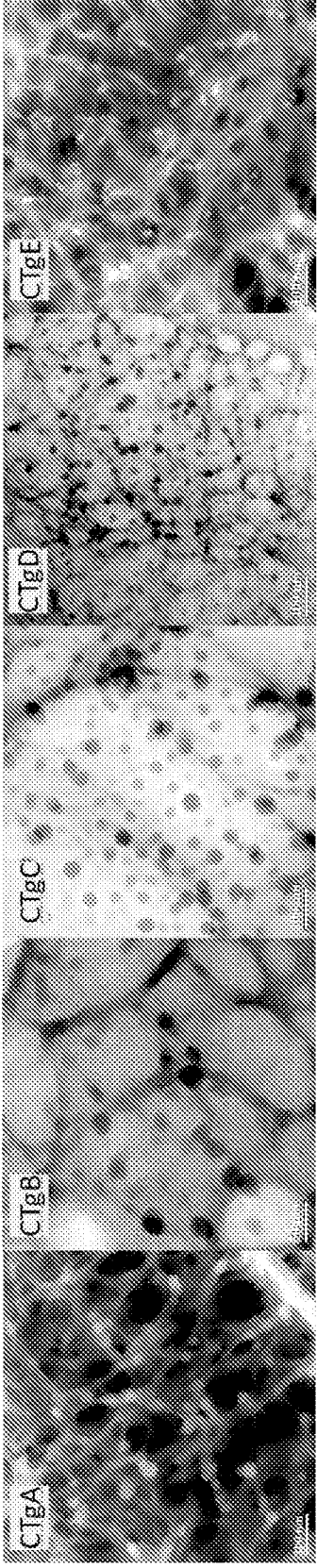


Fig. 2

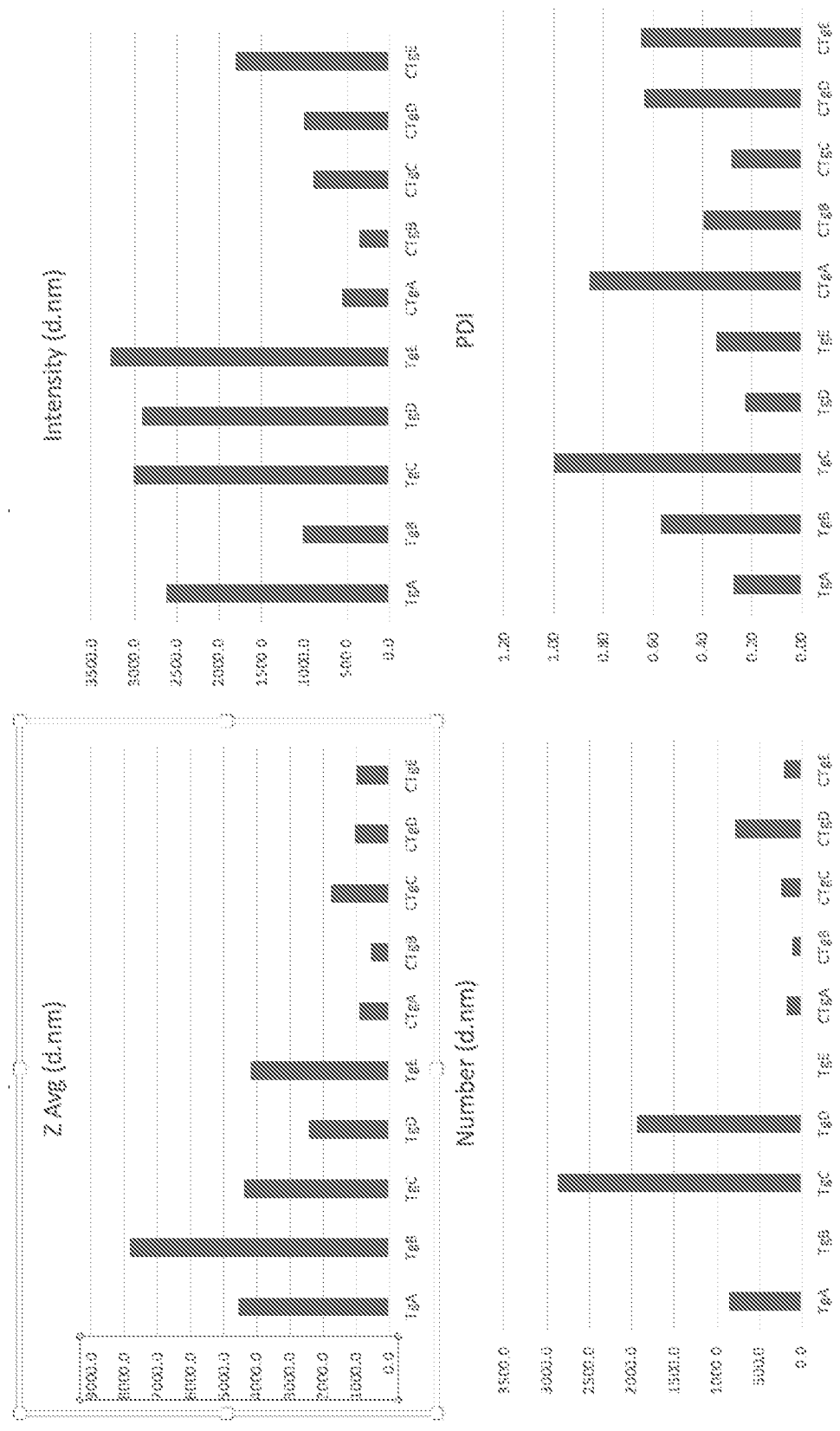


Fig. 3

[Signature]

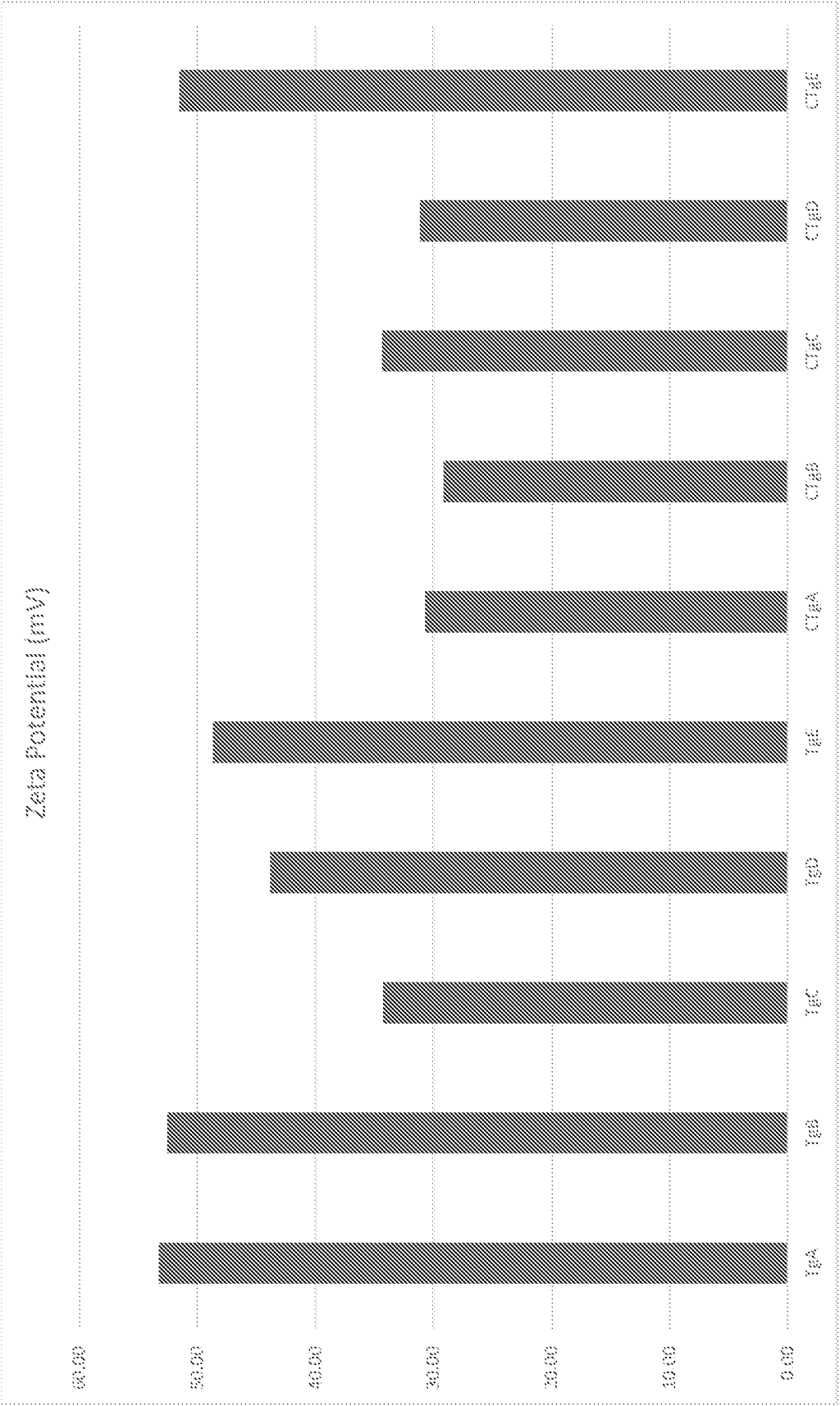


Fig. 4

5
6
7
8

Tarun Khurana
Regd. Patent Agent [IN/PA-1325]
Dated: 08th May, 2023

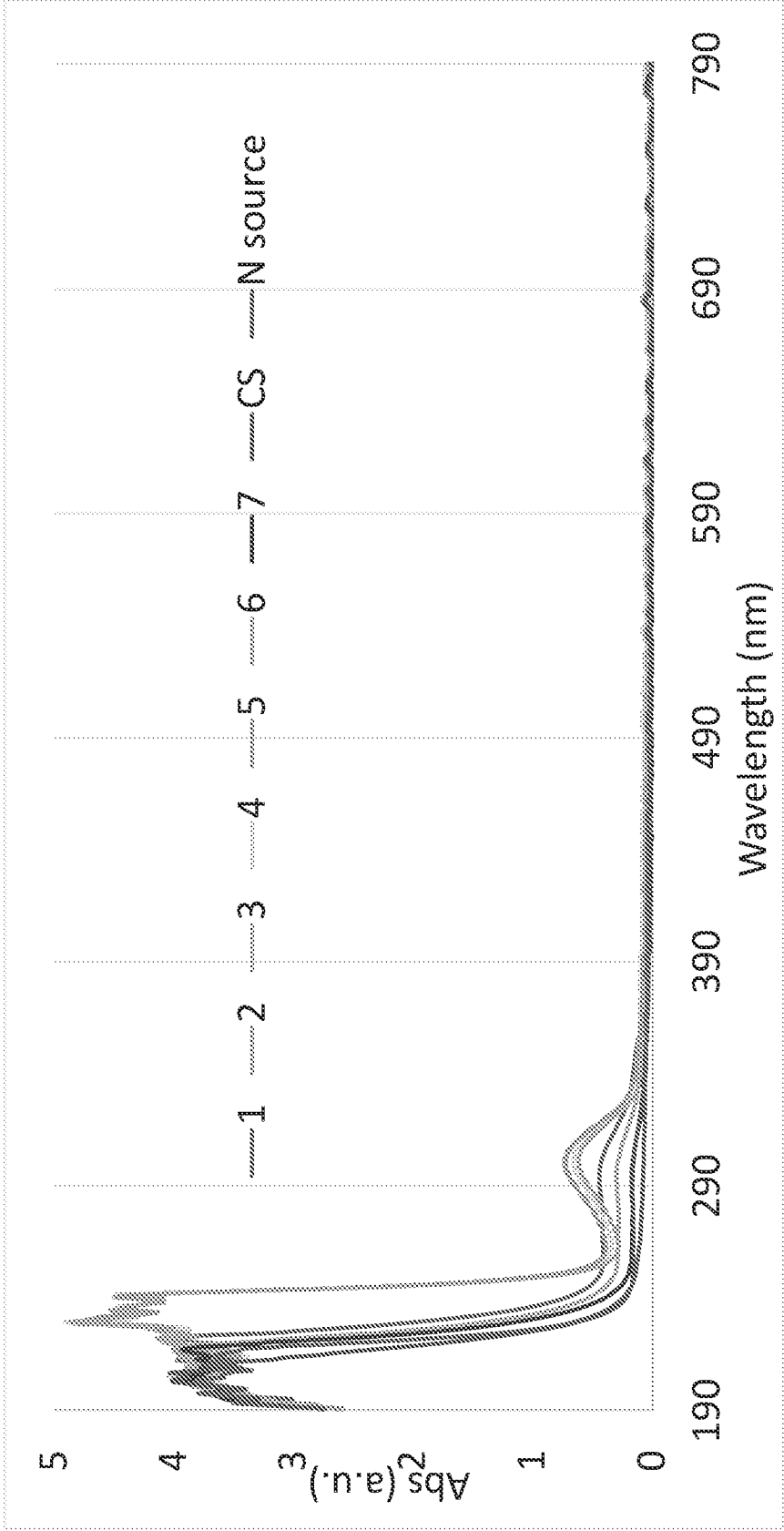


Fig. 6

[Signature]

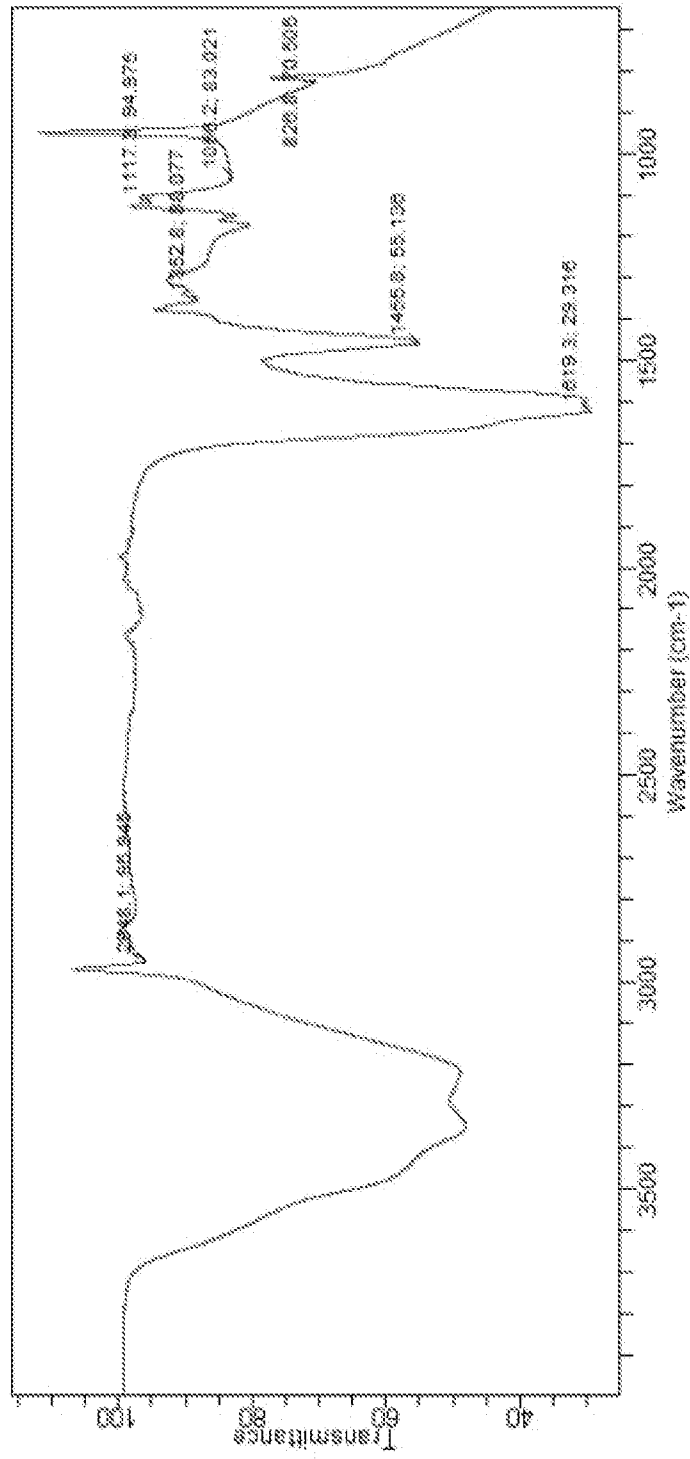


Fig. 7

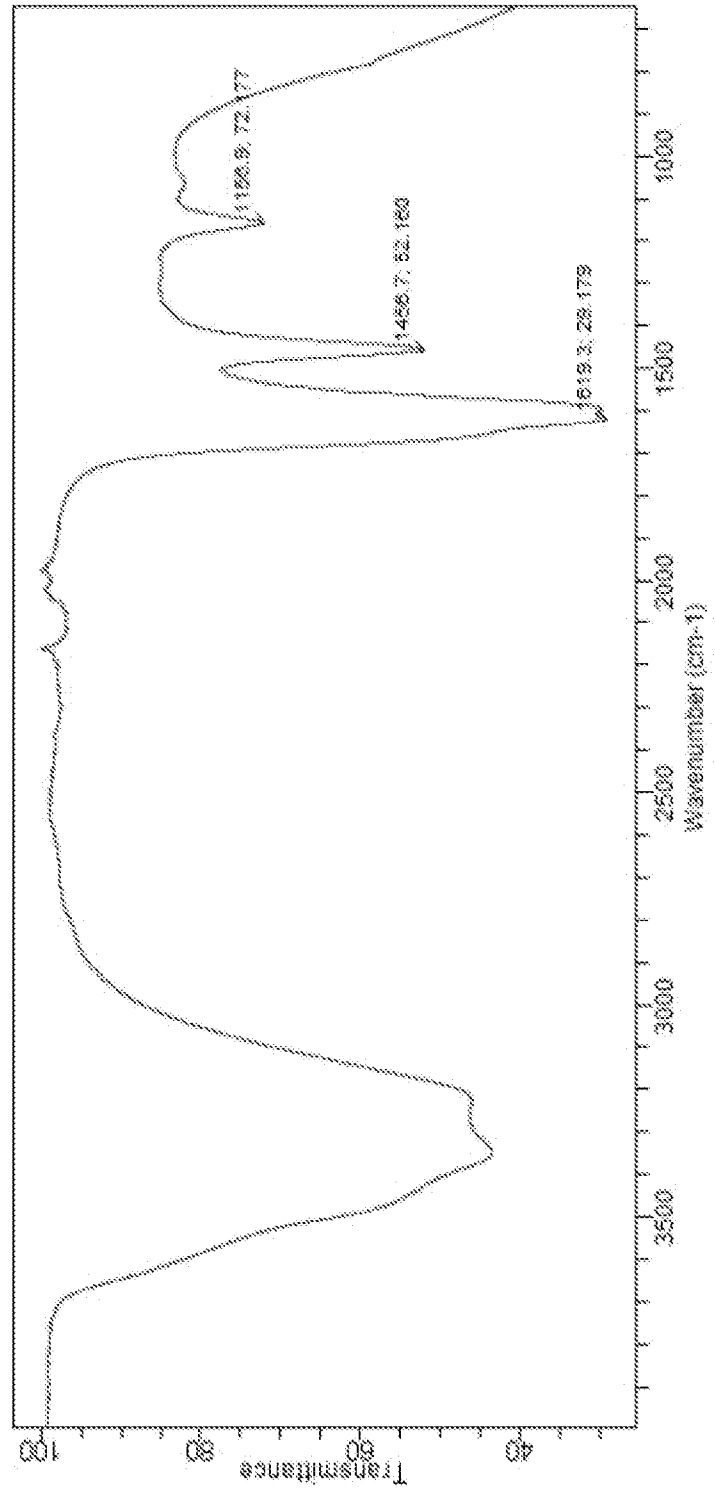


Fig. 8

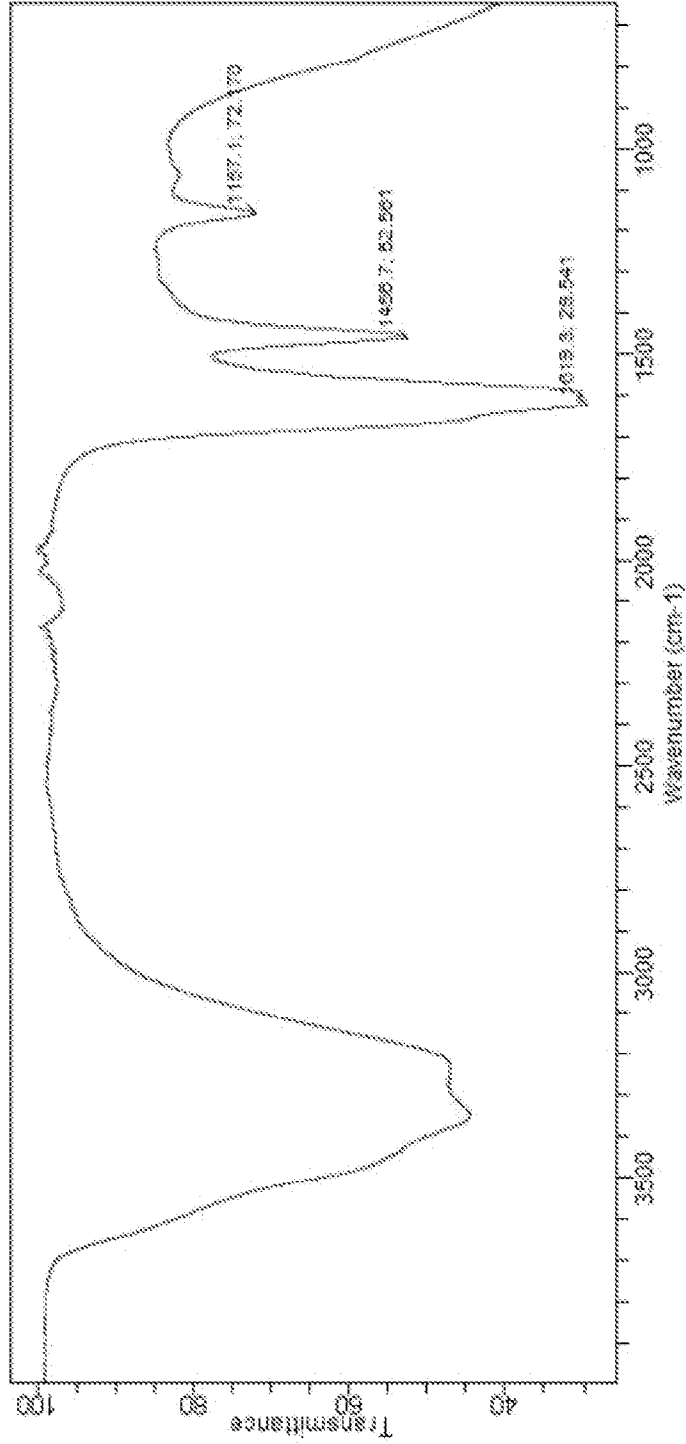


Fig. 9

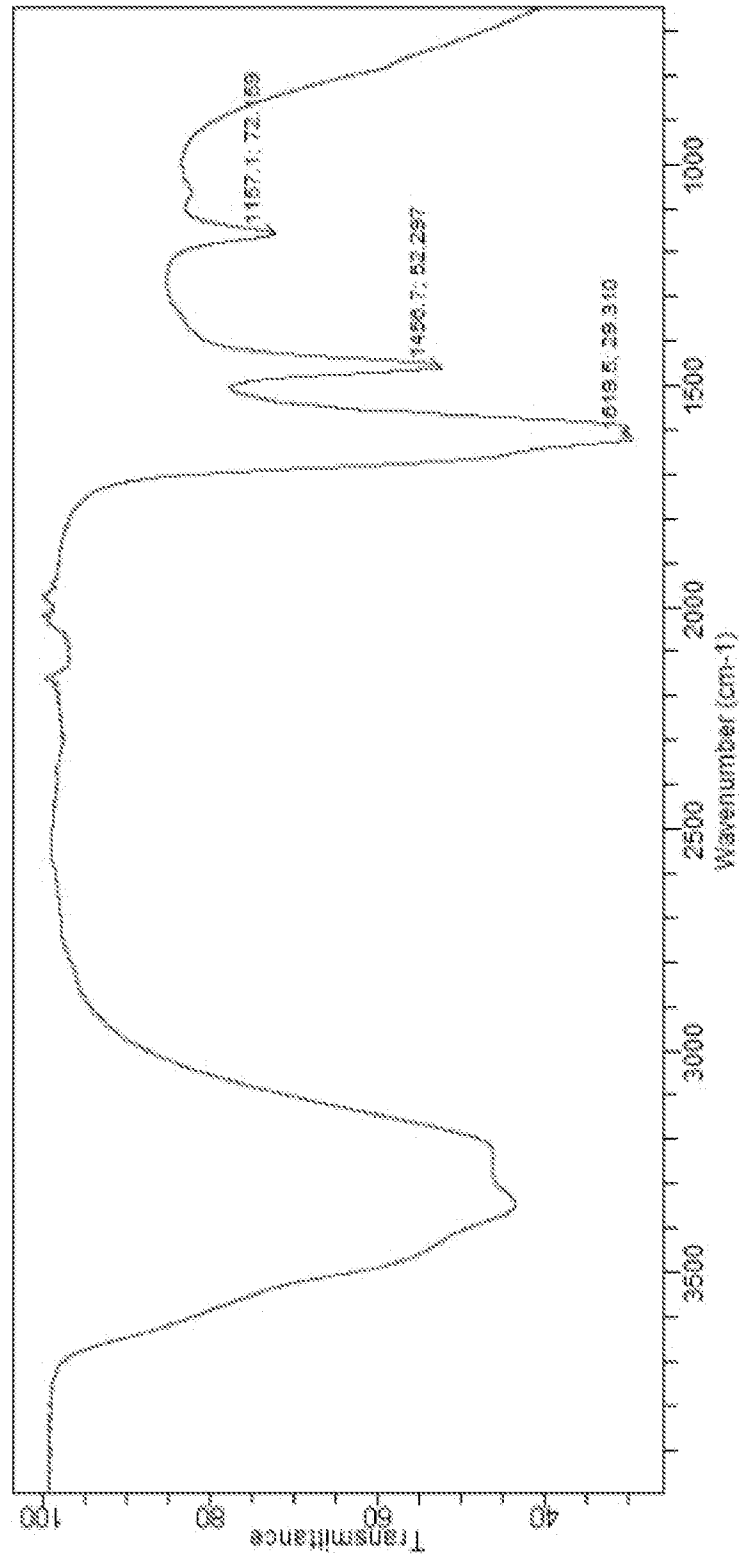


Fig. 10

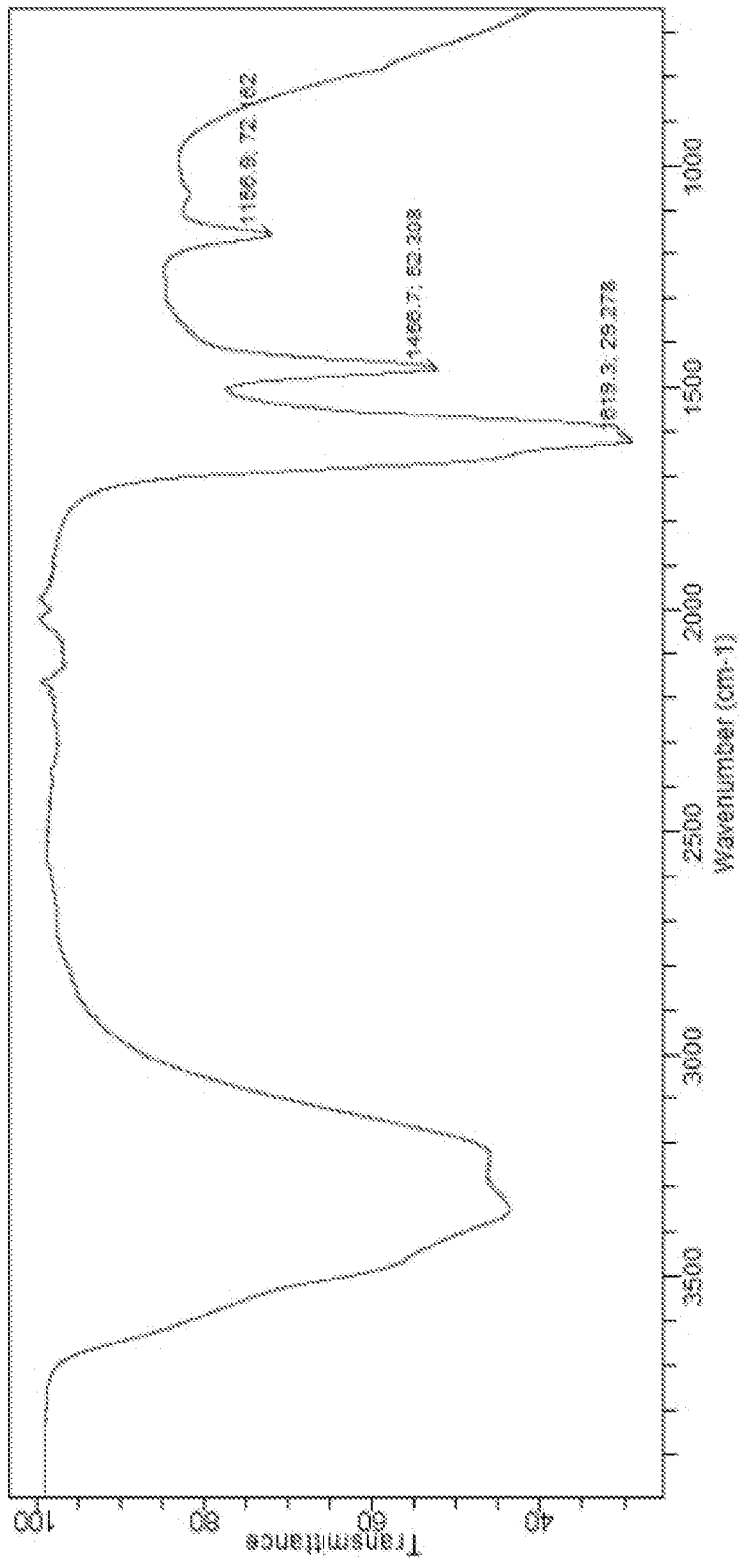


Fig. 11

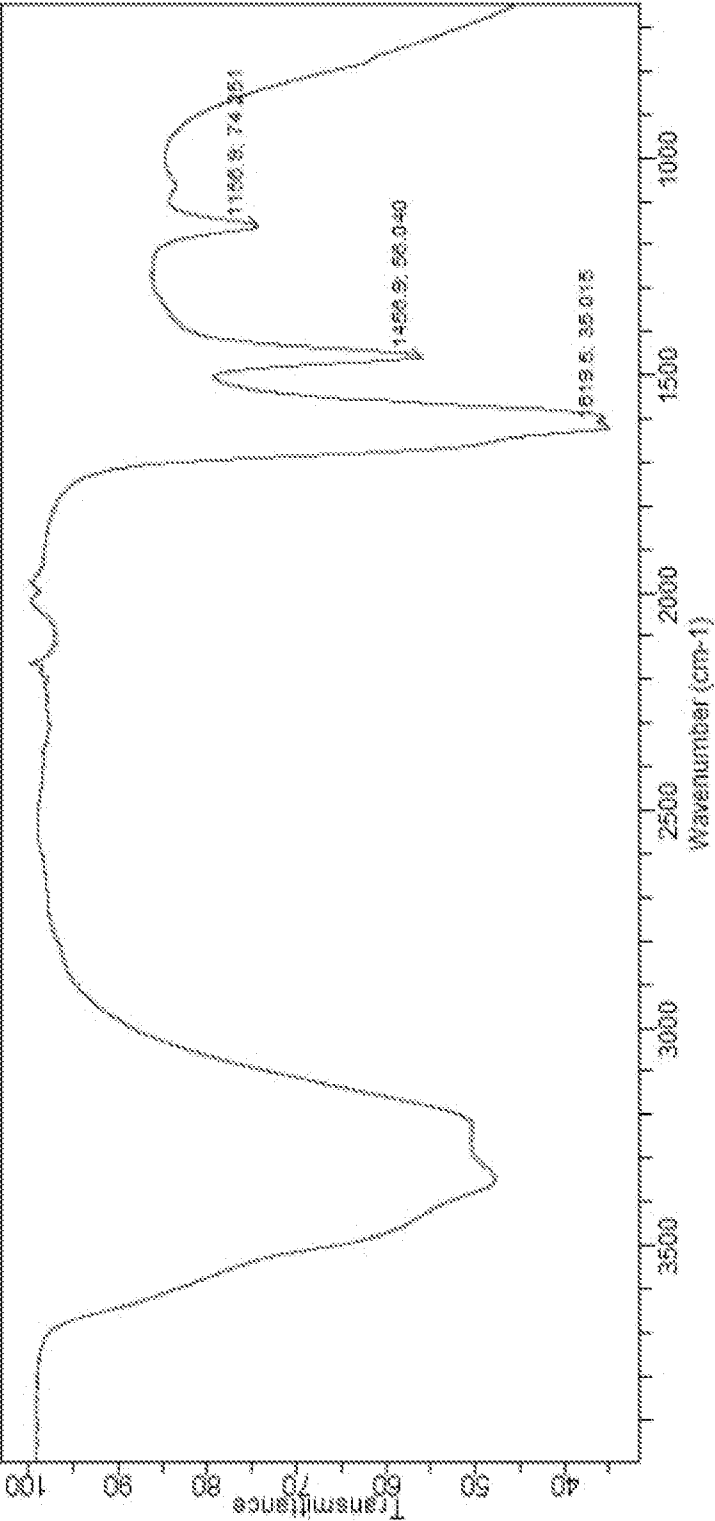


Fig. 12

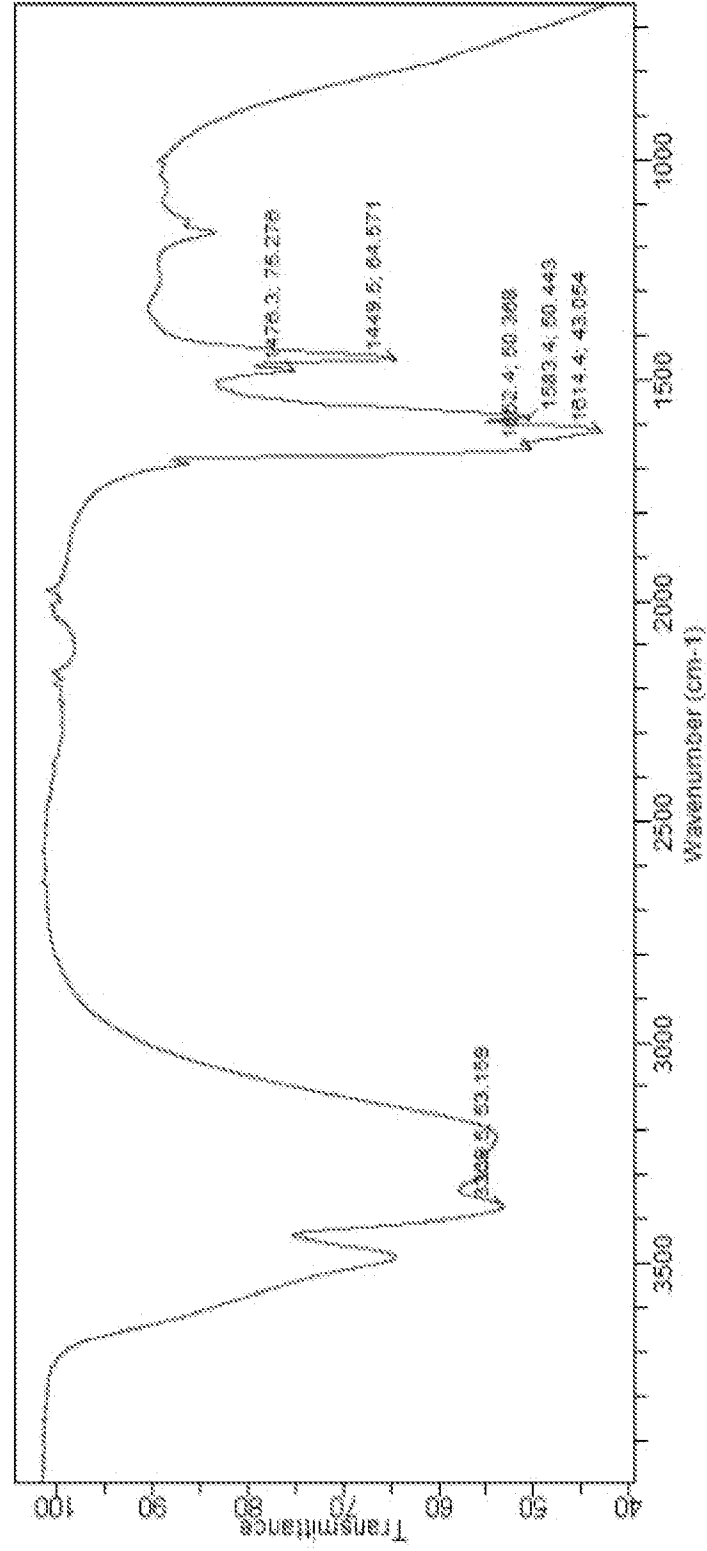


Fig. 13

[Signature]



DOCUMENT MADE AVAILABLE UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

International application number:	PCT/US2024/028440
International filing date:	08 May 2024 (08.05.2024)
Document type:	Certified copy of priority document
Document details:	Country/Office: US
	Number: 63/501,190
	Filing date: 10 May 2023 (10.05.2023)
Date of receipt at the International Bureau:	18 September 2025 (18.09.2025)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a),(b) or (b-bis)

1375129

THE UNITED STATES OF AMERICA

TO ALL TO WHOM THESE PRESENTS SHALL COME:

UNITED STATES DEPARTMENT OF COMMERCE

United States Patent and Trademark Office

September 17, 2025

THIS IS TO CERTIFY THAT ANNEXED HERETO IS A TRUE COPY FROM THE RECORDS OF THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE OF THOSE PAPERS OF THE BELOW IDENTIFIED PATENT APPLICATION THAT MET THE REQUIREMENTS TO BE GRANTED A FILING DATE.

APPLICATION NUMBER: *63/501,190*

FILING DATE: *May 10, 2023*

RELATED PCT APPLICATION NUMBER: *PCT/US2024/028440*

THE COUNTRY CODE AND NUMBER OF YOUR PRIORITY APPLICATION, TO BE USED FOR FILING ABROAD UNDER THE PARIS CONVENTION, IS *US63/501,190*



Certified by

Cole Morgan Smead

ACTING DIRECTOR OF THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

UNITED STATES PROVISIONAL PATENT APPLICATION

of

Ramesh Raliya

for

Compositions and Methods for Agri-Inputs and Uses Thereof

Compositions and Methods for Agri-Inputs and Uses Thereof

TECHNICAL FIELD

[0001] The invention relates to plant nutrition and specifically to encapsulation of nutrients.

BACKGROUND

[0002] Agricultural production across the globe is facing unprecedented challenges due to climate change, extreme weather, soil erosion pathogen resistance and environmental pollution. Global population is projected to reach about 10 billion by 2050, thus the demand for food is expected to increase by 60%. The rate of increase of yield and fertilizer (an agri-input) to yield ratio achieved by the green revolution has been declining and detrimental climate change is expected to further limit crop productivity and nutritional quality. To increase yield and improve nutritional quality, plants require balanced nutrition in addition to water and sunlight. However, conventional agri-inputs and their delivery are highly inefficient due to low use efficiency and environmental release. Therefore, more-effective formulations and compositions which can stimulate plant growth, alleviate the negative effect of abiotic/biotic stress, deliver active ingredient efficiently to the plant at the right time in right quantity and release in response to plant's signal are required.

[0003] Biomass-based renewable materials are being explored globally due to their importance for a circular green economy and sustainability. Chitin is the most abundant natural amino polysaccharide. It is present most abundantly in crustaceans, insects, and fungi. Chitin and its derivatives are being considered as a new functional biomaterial of high potential in interdisciplinary applications. For instance, chitosan, a deacetylated derivative of chitin, is being used in industries/sectors such as medicine, textile, food, energy, and water. To date, translational application of chitosan in agriculture is under exploited.

SUMMARY

[0004] In a first aspect, the disclosure provides methods of modifying chitosan for the formulation of chitosan-based nanoparticles.

[0005] In a second aspect, the disclosure provides chitosan-based nanoparticles. The chitosan based nanoparticles may encapsulate nitrogen and/or nitrogen rich compound and/or mixture of compounds such as but not limited to potassium nitrate, calcium nitrate, magnesium nitrate, urea nitrate, urea ammonia nitrate, ammonium nitrate, ammonium sulfate, Urea-hydroxyapatite, amino acids such as arginine, cystine, histidine, leucine, lysine, methionine, threonine, tryptophan, tyrosine, valine, glutamine, glutamic acid, glycine, proline, taurine, aspartic acid, serine, and alanine.

[0006] Further aspects and embodiments are provided in the foregoing drawings, detailed description and claims.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

[0007] The following drawings are provided to illustrate certain embodiments described herein. The drawings are merely illustrative, and are not intended to limit the scope of claimed inventions and are not intended to show every potential feature or embodiment of the claimed inventions. The drawings are not necessarily drawn to scale; in some instances, certain elements of the drawing may be enlarged with respect to other elements of the drawing for purposes of illustration.

[0008] Figure 1 is a depiction of Morphological characterizations of the liquid chitosan formulation (TgA-TgE) obtained by Electron Microscopy.

[0009] Figure 2 is a depiction of Morphological characterizations of the liquid chitosan formulation (CTgA-CTgE) obtained 2 by Electron Microscopy.

[00010] Figure 3 is a depiction of Colloidal characterization with reference to hydrodynamic size of the liquid chitosan formulation (TgA- E and CTgA-CTgE) obtained by Dynamic Light Scattering.

[00011] Figure 4 is a depiction of Colloidal characterization with reference to surface zeta potential of the liquid chitosan formulation (TgA- E and CTgA-CTgE) obtained by Dynamic Light Scattering.

[00012] Figure 5 is a table depicting the pH and TKN of Align N Batches 1-7.

[00013] Figure 6 is the UV wavelength analysis of Align N Batches 1-7.

[00014] Figure 7 is the FTIR analysis of Align N 1.

[00015] Figure 8 is the FTIR analysis of Align N 2.

[00016] Figure 9 is the FTIR analysis of Align N 3.

[00017] Figure 10 is the FTIR analysis of Align N 4.

[00018] Figure 11 is the FTIR analysis of Align N 5.

[00019] Figure 12 is the FTIR analysis of Align N 6.

[00020] Figure 13 is the FTIR analysis of Align N 7.

DETAILED DESCRIPTION

[00021] The following description recites various aspects and embodiments of the inventions disclosed herein. No particular embodiment is intended to define the scope of the invention. Rather, the embodiments provide non-limiting examples of various compositions, and methods that are included within the scope of the claimed inventions. The description is to be read from the perspective of one of ordinary skill in the art. Therefore, information that is well known to the ordinarily skilled artisan is not necessarily included.

Definitions

[00022] The following terms and phrases have the meanings indicated below, unless otherwise provided herein. This disclosure may employ other terms and phrases not expressly defined herein. Such other terms and phrases shall have the meanings that they would possess within the context of this disclosure to those of ordinary skill in the art. In some instances, a term or phrase may be defined in the singular or plural. In such instances, it is understood that any term in the singular may include its plural counterpart and vice versa, unless expressly indicated to the contrary.

[00023] As used herein, the singular forms “a,” “an,” and “the” include plural referents unless the context clearly dictates otherwise. For example, reference to “a substituent” encompasses a single substituent as well as two or more substituents, and the like.

[00024] As used herein, “for example,” “for instance,” “such as,” or “including” are meant to introduce examples that further clarify more general subject matter. Unless otherwise expressly indicated, such examples are provided only as an aid for understanding embodiments illustrated in the present disclosure, and are not meant to be limiting in any fashion. Nor do these phrases indicate any kind of preference for the disclosed embodiment.

[00025] Encapsulation and slow release of nutrients is one method for balancing the nutritional needs of plants. One such nutritional need is nitrogen in the form of amine, nitrate and ammonia. Encapsulation of nitrogen compounds having chemical functional groups as amine, nitrate, ammonia, or any one or all of these such as but not limited to potassium nitrate, calcium nitrate, magnesium nitrate, urea nitrate, urea ammonia nitrate, ammonium nitrate, ammonium sulfate, Urea-hydroxyapatite, amino acids such as arginine, cystine, histidine, leucine, lysine, methionine, threonine, tryptophan, tyrosine, valine, glutamine, glutamic acid, glycine, proline, taurine, aspartic acid, serine and alanine is a way of releasing nitrogen in effective amounts for plant growth utilization. There are several benefits of the use of chitosan as a urea-encapsulating/embedding agent. The first benefit is that the chitosan polymer is bio-safe and biodegradable. The chitosan polymer has a biological origin, and has been used for immobilization of enzymes for food, and in biosensing applications. Chitosan can be harvested from fungus, shrimp, crab, lobster, or any combination of these sources. A second benefit compared to inorganic coatings such as sulfur coatings is the absence of cracks. Cracks in the coating cause an immediate release of the coated nutrient upon contact with water. Immediate release of the nutrient defeats the purpose of the encapsulation, which is to slowly release the nutrient. A third benefit of the chitosan polymer coating is the overall health of the soil. The chitosan polymer results in lowered acidification of the soil. Acidification of the soil can be detrimental to specific plant species. Coatings such as sulfur lower the pH of the soil. Additionally, the soil microbes are an important part of soil health. Synthetic polymers cannot be metabolized by soil microbes.

[00026] Embodiments include chitosan-based nanoparticles. In certain embodiments the chitosan-based nanoparticles comprise nitrogen in the form of amine and/or nitrate and/or

ammonia. The nitrogen may be encapsulated by/in the chitosan-based nanoparticles. In particular embodiments, the nitrogen in the form of amine, nitrate, and/or ammonia may be selected potassium nitrate, calcium nitrate, magnesium nitrate, urea nitrate, urea ammonia nitrate, ammonium nitrate, ammonium sulfate, urea-hydroxyapatite, amino acids such as arginine, cystine, histidine, leucine, lysine, methionine, threonine, tryptophan, tyrosine, valine, glutamine, glutamic acid, glycine, proline, taurine, aspartic acid, serine, alanine, and combination thereof.

[00027] In certain embodiments, the chitosan-based nanoparticles may comprise at least 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 85, 90, or 95% (w/v) nitrogen. In particular embodiments wherein at least 50, 55, 60, 65, 70, 75, 85, 90, or 95% of the nitrogen is in the chemical form of the amine and/or nitrate and/or ammonia.

[00028] In one embodiment, the encapsulation process begins with the chitosan polymer. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. In certain embodiments the chitosan has a Degree of DeAcetylation (DDA): >80%, MW: <110 KDa. In particular embodiments the DDA is > 85%. The DDA may be 90%. The DDA may be > 95%. In particular embodiments the DDA is about 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, or 100%.

[00029] Prior to usage for the formulation of nanoparticles, the chitosan must be dissolved in a solution. Dissolution medium: acidic water having pH ranges between 1 and 5.5, or having a pH < 1, < 2, < 3, < 4, < 5, < 5.5. The acid used may be any acid. In particular embodiments the acid used is one of or a combination of the acids including nitric acid and/or acetic acid and/or hydrochloric acid and/or sulfuric acid. To dissolve the chitosan, the aqueous acidic solution may be kept at temperature between about 68 and about 212 degrees F. In particular embodiments, the temperature is kept at about 68, 72, 82, 92, 101, 112, 122, 132, 142, 152, 162, 172, 182, 192, 202, or 212 degrees F. During the entire reaction period the solution may be kept stirring at rpms between about 50 and about 2500 rpm. After completion of the reaction, typically between 0.3 and 4 hours, the solution was filtered through 200 mesh (74 micron) followed by more than 635 mesh (<20 micron). In the filtered solution, antimicrobial agents such as but not limited to potassium sorbate are added (0.1% v/v). In certain cases, as described below a linker such as sodium tripolyphosphate and/or ammonium sulfate is added in the solution before the addition of antimicrobial agents.

[00030] In one embodiment, the reaction is carried out with specific solutions prepared in accordance with one and/or all of the procedures in Example 1 at the temperature between 68 and 250 degrees F. During the entire reaction period the solution was kept stirring at 400 rpm for uniformity of the substances. After completion of the reaction, typically between 0.3 and 4 hours, the solution was filtered through 200 mesh (74 micron) followed by more than 635 mesh (<20 micron). The nitrogen % in the final solution was maintained between 0.1% and 100%, specifically between 18-24% using the compound and/or mixture of compounds described above.

[00031] In certain embodiments, the chitosan nanoparticles may be formed in the presence of and or loaded with nitrogen in the form of amine and/or nitrate and/or ammonia. The nitrogen may be encapsulated by/in the chitosan-based nanoparticles. In particular embodiments, the nitrogen in the form of amine, nitrate, and/or ammonia may be selected potassium nitrate, calcium nitrate, magnesium nitrate, urea nitrate, urea ammonia nitrate, ammonium nitrate, ammonium sulfate, urea-hydroxyapatite, amino acids such as arginine, cystine, histidine, leucine, lysine, methionine, threonine, tryptophan, tyrosine, valine, glutamine, glutamic acid, glycine, proline, taurine, aspartic acid, serine, alanine, and combination thereof.

[00032] > 95% particles were in the spherical, nearly spherical shape or small linear fragments having size between 0.1 nm and 8 microns. (By TEM measurement). 0.1 nm and 10 microns with polydispersity index between 0.01 to 0.99 (by DLS measurement). Surface zeta potential ranged between +5 and 70 mV (measured by DLS). N%: 18-24 Application onto the seed surface, mixing in the soil, exposing root and/or exposing leaves. The application rate ranged between 0.01% to 50% v/w or v/v.

[00033] Embodiments include methods of treating a plant or part with any of the compositions described herein. The plant part may be any plant part including, but not limited to a seed, leaf, stem, flower, or root of a plant. Examples species of plant parts include, but are not limited to cereals such as wheat, barley, rye, oat; canola, cotton, eggplant, lettuce, sorghum, soybean, rice, oil seed rape, sugar beet, sugarcane, grapes, lentils, sunflowers, alfalfa, pome fruits; stone fruits; peanuts; coffee; tea; strawberries; turf; vegetables, such as tomatoes, potatoes, cucurbits and lettuce.

[00034] Further embodiments include methods of treating a plant growth medium with any of the compositions described herein. Plant growth medium may comprise one or more of soil,

peat, moss, wood residue, leaf mold, sawdust, bark, bagasse, rice hull, sand, perlite, vermiculite, calcinated clay, polystyrene, urea formaldehyde resins, and hydroponic liquids.

Example 1

Preparation of chitosan using various acids

[00035] [Acetic Acid] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, acetic acid between 0.3% and 1.9% (v/v) was added. The temperature and agitation was maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, when the flakes became invisible to the solution, it was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cooled down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (0.01 - 1% v/v) and mixed well using agitation.

[00036] [Acetic Acid + NaTPP] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, acetic acid between 0.3% and 1.9% (v/v) was added. When the flakes became invisible to the solution, a solution of sodium tripolyphosphate (0.001 - 1% v/v or v/w) was added. The temperature and agitation was maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, the solution was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cooled down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (0.01 - 1% v/v) and mixed well using agitation.

[00037] [Acetic Acid + Ammonium Sulphate] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were

added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, acetic acid between 0.3% and 1.9% (v/v) was added. When the flakes became invisible to the solution, a solution of Ammonium Sulphate (0.001 - 1% v/v or v/w) was added. The temperature and agitation was maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, the solution was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cooled down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (0.01 - 1% v/v) and mixed well using agitation.

[00038] [Nitric Acid + Acetic Acid] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, acetic acid and nitric acid having a ratio of 1:1, 1:2, 2:1 and a total v/v acid strength between 0.3% and 1.9% was added. The temperature and agitation were maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, when the flakes became invisible to the solution, it was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cool down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (1% v/v) and mixed well using agitation.

[00039] [Nitric Acid + Acetic Acid + NaTPP] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, acetic acid and nitric acid having a ratio of 1:1, 1:2, 2:1 and a total v/v acid strength between 0.3% and 1.9% was added. When the flakes became invisible to the solution, a solution of sodium tripolyphosphate (0.001 - 1% v/v or v/w) was added. The temperature and agitation were maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, the solution was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cooled down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (0.01 - 1% v/v) and mixed well using agitation.

[00040] [Nitric Acid + Acetic Acid + Ammonium Sulphate] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, acetic acid and nitric acid having a ratio of 1:1, 1:2, 2:1 and a total v/v acid strength between 0.3% and 1.9% was added. When the flakes became invisible to the solution, a solution of ammonium sulphate (0.001 - 1% v/v or v/w) was added. The temperature and agitation were maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, the solution was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cooled down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (0.01 - 1% v/v) and mixed well using agitation.

[00041] [Nitric Acid + NaTPP] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, nitric acid between 0.3% and 1.9% (v/v) was added. When the flakes became invisible to the solution, a solution of sodium tripolyphosphate (0.001 - 1% v/v or v/w) was added. The temperature and agitation was maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, the solution was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cooled down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (0.01 - 1% v/v) and mixed well using agitation.

[00042] [Nitric Acid + Ammonium sulphate] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, nitric acid between 0.3% and 1.9% (v/v) was added. When the flakes became invisible to the solution, a solution of ammonium sulphate (0.001 - 1% v/v or v/w) was added. The temperature and agitation were maintained constantly throughout the reaction

for up to 4 hours. At the end, the solution was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cooled down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (0.01 - 1% v/v) and mixed well using agitation.

[00043] [Nitric Acid] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, nitric acid between 0.3% and 1.9% (v/v) was added. The temperature and agitation were maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, when the flakes became invisible to the solution, it was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cooled down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (0.01 -1% v/v) and mixed well using agitation.

[00044] [Hydrochloric Acid] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, hydrochloric acid between 0.3% and 1.9% (v/v) was added. The temperature and agitation were maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, when the flakes became invisible to the solution, it was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cooled down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (0.01 -1% v/v) and mixed well using agitation.

[00045] [Hydrochloric Acid + NaTPP] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, hydrochloric acid between 0.3% and 1.9% (v/v) was added. When the flakes became invisible to the solution, a solution of sodium tripolyphosphate (0.001 - 1% v/v or v/w)

was added. The temperature and agitation were maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, the solution was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cooled down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (0.01 - 1% v/v) and mixed well using agitation.

[00046] [Hydrochloric Acid + Ammonium sulphate] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, hydrochloric acid between 0.3% and 1.9% (v/v) was added. When the flakes became invisible to the solution, a solution of ammonium sulphate (0.001 - 1% v/v or v/w) was added. The temperature and agitation were maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, the solution was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cooled down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (0.01 - 1% v/v) and mixed well using agitation.

[00047] [Sulfuric Acid] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, sulfuric acid between 0.3% and 1.9% (v/v) was added. The temperature and agitation were maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, when the flakes became invisible to the solution, it was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cooled down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (0.01 - 1% v/v) and mixed well using agitation.

[00048] [Sulfuric Acid + NaTPP] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the

flakes with water, sulfuric acid between 0.3% and 1.9% (v/v) was added. When the flakes became invisible to the solution, a solution of sodium tripolyphosphate (0.001 - 1% v/v or v/w) was added. The temperature and agitation were maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, the solution was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cooled down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (0.01 - 1% v/v) and mixed well using agitation.

[00049] [Sulfuric Acid + Ammonium Sulphate] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, sulfuric acid between 0.3% and 1.9% (v/v) was added. When the flakes became invisible to the solution, a solution of ammonium sulphate (0.001 - 1% v/v or v/w) was added. The temperature and agitation were maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, the solution was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cooled down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (0.01 - 1% v/v) and mixed well using agitation.

[00050] [Nitric Acid + Acetic Acid + Hydrochloric Acid + Sulfuric Acid] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, acetic acid, nitric acid, hydrochloric acid, sulfuric acid having a ratio of 1:1:0:0, 1:0:1:0, 1:0:0:1, 1:1:1:0, 1:1:2:0, 1:1:1:1, 1:1:1:2 and a total v/v acid strength between 0.3% and 1.9% was added. The temperature and agitation was maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, when the flakes became invisible to the solution, it was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cool down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (1% v/v) and mixed well using agitation.

[00051] [Nitric Acid + Acetic Acid + Hydrochloric Acid + Sulfuric Acid + NaTPP] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, acetic acid, nitric acid, hydrochloric acid, sulfuric acid having a ratio of 1:1:0:0, 1:0:1:0, 1:0:0:1, 1:1:1:0, 1:1:2:0, 1:1:1:1, 1:1:1:2 and a total v/v acid strength between 0.3% and 1.9% was added. When the flakes became invisible to the solution, a solution of sodium tripolyphosphate (0.001 - 1% v/v or v/w) was added. The temperature and agitation were maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, the solution was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cooled down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (0.01 - 1% v/v) and mixed well using agitation.

[00052] [Nitric Acid + Acetic Acid + Hydrochloric Acid + Sulfuric Acid + Ammonium Sulphate] A germ free or autoclaved water was charged to the tank having agitation speed of 400 rpm. When the temperature reaches between 68 and 194 degrees F, chitosan flakes (0.1 - 5% w/v) having 80% DDA but not less than 75% DDA were added. The source of chitosan can be fungus, shrimp, crab or lobster or a mixture of them. Furthermore, the chitosan variants can be alpha, beta or gamma or a mixture of them. Following the soaking of the flakes with water, acetic acid, nitric acid, hydrochloric acid, sulfuric acid having a ratio of 1:1:0:0, 1:0:1:0, 1:0:0:1, 1:1:1:0, 1:1:2:0, 1:1:1:1, 1:1:1:2 and a total v/v acid strength between 0.3% and 1.9% was added. When the flakes became invisible to the solution, a solution of ammonium sulphate (0.001 - 1% v/v or v/w) was added. The temperature and agitation were maintained constantly throughout the reaction for up to 4 hours. At the end, the solution was filtered with 200 mesh followed by <635 mesh filtration unit. The solution temperature was cooled down to 77 degree F, and a solution of potassium sorbate was added (0.01 - 1% v/v) and mixed well using agitation.

EXAMPLE 2

[00053] Various of the above chitosan solutions were prepared using chitosan from two different sources. These sources are designated Tg and CTg. Tg and CTg were used to create chitosan-based nanoparticles using the above identified procedures to yield the following products

TgA = Tg source chitosan-based nanoparticles prepared with acetic acid.

TgB = Tg source chitosan-based nanoparticles prepared with acetic acid and sodium tripolyphosphate.

TgC = Tg source chitosan-based nanoparticles prepared with acetic acid and nitric acid.

TgD = Tg source chitosan-based nanoparticles prepared with acetic acid, nitric acid, and sodium tripolyphosphate.

TgE = Tg source chitosan-based nanoparticles prepared with nitric acid and sodium tripolyphosphate.

CTgA = CTg source chitosan-based nanoparticles prepared with acetic acid.

CTgB = CTg source chitosan-based nanoparticles prepared with acetic acid and sodium tripolyphosphate.

CTgC = CTg source chitosan-based nanoparticles prepared with acetic acid and nitric acid.

CTgD = CTg source chitosan-based nanoparticles prepared with acetic acid, nitric acid, and sodium tripolyphosphate.

CTgE = CTg source chitosan-based nanoparticles prepared with nitric acid and sodium tripolyphosphate.

[00054] The formulation and intermediates were characterized for the physicochemical characterizations. The physical morphology (shape and size) was characterized using the transmission or scanning electron microscope (Figures 1 and 2). Resultant solution/s obtained for the Tg sourced chitosan had > 95% particles were in the spherical, nearly spherical shape or small linear fragments having size between 0.1 nm and 5 microns. More specifically, the desired size obtained and utilized for further formulation development was less than 0.5 micron was used for further formulation development and/or other agricultural use for crop growth, stimulation, germination, and trait improvement purpose. Similarly, resultant solution obtained for the CTg sourced chitosan had the physical structure as spherical shape and size ranges between 0.1 nm and 8 microns. More specifically the size obtained between 0.1 nm and 200 nm was used as a selection parameter for the delivery to the crop for growth, stimulation, germination, and trait improvement purposes.

The dynamic stability and hydrodynamic size in the solution was characterized using the dynamic light scattering or DLS the nanoparticles were subjected to dynamic light scattering (DLS) and analyzed for Z average, Intensity, Number, and Polydispersity (PDI) (Figure 3). Resultant solutions had ranges between 0.1 nm and 10 microns with polydispersity index between 0.01 to 0.99. Furthermore, the surface zeta potential of the resultant solutions characterized by DLS (Figure 4) and it ranged between +5 and 70 mV. The major determinant factor for zeta potential was chitosan concentration and pH of the solution. Higher chitosan concentration and lower pH yielded higher zeta potential.

EXAMPLE 3

The ability of the various chitosan-based nanoparticles generated in Examples 1 and 2 to load nitrogen and/or nitrogen rich compound and/or mixture of compounds such as but not limited to potassium nitrate, calcium nitrate, magnesium nitrate, urea nitrate, urea, urea ammonia nitrate, ammonium nitrate, ammonium sulfate, Urea-hydroxyapatite, amino acids such as arginine, cystine, histidine, leucine, lysine, methionine, threonine, tryptophan, tyrosine, valine, glutamine, glutamic acid, glycine, proline, taurine, aspartic acid, serine and alanine was tested. Encapsulation and slow release of nutrients is one method for balancing the nutritional needs of plants. Several solutions were prepared and tested.

Preparation of chitosan solutions

[00055] Preparation for solution A: Chitosan solution in Acetic Acid

[00056] Step 1. Take 150 ml water in a 250 mL beaker. Step 2. Turn on Top head stirrer at room temperature at 300 RPM. The stirrer was continuously ON through the process until it says stirrer STOP. Step 3. After 3 minutes of step 2, Add 8 gram chitosan flake. Step 4. After 7 minutes of step 3, Add 8 mL of 99.7 % Glacial Acetic Acid. Step 5. After complete dissolution of the flake (after 17 minutes after step 4), add 50 mL water. Step 6. After 10 minutes of step 5, The stirrer stopped. Step 7. Filter the solution with 200 mesh size filter. The total volume of the solution was 210 mL and 104.335 g/100 mL. The calculated % of the Chitosan of the solution is 3.8% (w/v). The pH of the solution is 3.88.

[00057] Preparation for solution B: Chitosan solution in HCL

[00058] Step 1. Take 150 ml water in 250 mL beaker. Step 2. Turn on Top head stirrer at room temperature at 300 RPM. The stirrer was continuously ON through the process until it says stirrer STOP. Step 3 After 3 minutes of step 2, Add 8 gram chitosan flake. Step 4. After 7 minutes of the step 3, Add 8 mL of 35.4 % HCL. Step 5. After complete dissolution of the flake (after 85 minutes after step 4), added 50 mL water. Step 6. After 26 minutes of the step 5, The stirrer stopped. Step 7. Filter the solution with 200 mesh size filter. The total volume of the solution in mL was 222.096 mL at 105.37 Gram/100 mL. The calculated % CS of the solution was 3.6 % (w/v) with a pH of the solution at 0.66.

[00059] **Preparation for solution C: Chitosan solution in Nitric Acid**

[00060] Step 1. Take 800 ml water in 2000 mL beaker. Step 2. Turn on Top head stirrer at room temperature at 600 RPM. The stirrer was continuously ON through the process until it says stirrer STOP. Step 3. After 2 minutes of step 2, Add 20 gram chitosan flake. Step 4. After 5 minutes of the step 3, Add 20 mL of 69.71 % Nitric Acid. Step 5. After complete dissolution of the flake (after 110 minutes after step 4), added 100 mL water. Step 6. After 14 minutes of the step 5, The stirrer stopped. Step 7. After 10 minutes of step 6, add 80 ml of water to make up the solution to 1000 mL. Step 8. Filter the solution with 200 mesh size filter. The total volume of the solution in mL was 1000 mL at 100.686 Gram/100 mL. The calculated % CS of the solution is 2 % (w/v) with a pH of the solution at 0.84.

[00061] **Preparation for solution D: Chitosan solution in Acetic Acid**

[00062] Step 1. Take 800 ml water in 2000 mL beaker. Step 2. Turn on Top head stirrer at room temperature at 600 RPM. The stirrer was continuously ON through the process until it says stirrer STOP. Step 3. After 4 minutes of step 2, Add 20 gram chitosan flake. Step 4. After 10 minutes of the step 3, Add 20 mL of 99.7 % Glacial Acetic Acid. Step 5. After complete dissolution of the flake (after 10 minutes after step 4). Step 6. After 17 minutes of the step 5, The stirrer was stopped. Step 7. After 10 minutes of the step 6, Add water 180 ml to make up the solution to 1000 mL. Step 8. Filter the solution with 200 mesh size filter. The total volume of the solution in mL was 1000 ML at 100.472 Gram/100 mL. The calculated % CS of the solution was 2 % (w/v) with a pH of the solution at 3.91.

[00063] **Preparation for solution E: Chitosan solution in H₂SO₄**

[00064] The H₂SO₄ solution did not work, as the chitosan did not dissolve in solution, this effectively terminated the experiment, and the H₂SO₄ solution was not used in any encapsulation production.

[00065] **Preparation for solution F: Chitosan solution in HCL**

[00066] Step 1. Take 800 ml water in 2000 mL beaker. Step 2. Turn on Top head stirrer at room temperature at 600 RPM. The stirrer was continuously ON through the process until it says stirrer STOP. Step 3. After 2 minutes of step 2, Add 20 gram chitosan flake. Step 4. After 6 minutes of the step 3, Add 20 mL of 35.4 % HCL. Step 5. After complete dissolution of the flake (after 44 minutes after step 4), added 100 mL water. Step 6. After 12 minutes of the step 5, The stirrer stopped. Step 7. After 10 minutes of the step 6, Added 80 mL water to make up to 1000 mL and mixed thoroughly. Step 8. Filter the solution with 200 mesh size filter. The total volume of the solution in mL was 1000 mL at 100.328 Gram/100 mL. The calculated % CS of the solution was 2% (w/v) with a pH of the solution at 1.09.

[00067] **Preparation of Linker - Ammonium sulphate (AS) solution**

[00068] Step 1. Take 0.200 gram ammonium sulphate in 50 mL capacity volumetric flask. Step 2. Add 30 mL water. Step 3. Vortex the solution – resultant solution becomes clear. Step 4. Make up the volume to 50 mL using 20 mL water. The total volume of the solution in mL was 50 mL; 49.764 g. The calculated % AS of the solution was 0.4 % w/v. The calculated N % of the solution was 0.0856% w/v. The calculated the S % of the solution was 0.0980% w/v. The pH of the solution was 5.75.

[00069] **Preparation of Linker - Tri sodium Polyphosphate (TPP) solution**

[00070] Step 1. Take 0.200 gram in 50 mL capacity volumetric flask. Step 2. Add 30 mL water. Step 3. Vortex the solution – resultant solution becomes clear. Step 4. Make up the volume to 50 mL using 20 mL water. The total volume of the solution in mL was 50 mL; 49.821 g. The calculated % TP of the solution was 0.4 % w/v. The calculated P% of the solution was 0.101%. The pH of the solution was 9.76.

[00071] Formulation of the Encapsulated Urea

[00072] **Align N # 1**

[00073] Step 1. Take 2000 mL beaker. Step 2. Add 175 mL solution A. Step 3. Start over head stirrer, it was continued through the process until it says stop. Step 4. After 5 minutes of the step 3, add 100 mL water. Step 5. After 6 minutes of the step 4, add 100 gram urea. Step 6. After 13 minutes of the step 5, add 100 gram urea. Step 7. After 1 minutes of the step 6, add 50 mL water. Step 8. After 8 minutes of the step 7, add 50 mL water. Step 9. After 10 minutes of the step 8, add 135 gram urea. Step 10. After 9 minutes of the step 9, add 175 solution B. Step 11. After 18 minutes of step 10, add 25 mL water. Step 12. After 52 minutes of the step 11, add 10 mL Ammonium sulphate solution (0.1 gram in 10 mL or 1% w/v). Step 12. After 15 minutes of the step 12, stirrer was stopped. The solution makes up to 1000 mL using 125 mL water. Step 13. Filter the solution with 200 mesh size filter. Step 14. Solution is ready for further use/ QC testing analyses, stored in 1 L bottle. The method resulted in chitosan encapsulation of the nutrients, with the solution having Urea: 43.5 % (w/v), N % w/v: 20.01 (calculated); 18.24% (analysed by TKN), Ammonium sulphate: 0.01 (w/v), Chitosan: 1.29 % (w/v), Acetic Acid: 0.7 % (v/v), HCl: 0.7 % (v/v), pH: 3.67. Weight (gram/100 mL): 110.832 gram

[00074] **Align N # 2**

[00075] Step 1. Take 2000 mL beaker. Step 2. Add 200 mL solution D. Step 3. Started over head stirrer, it was continued through the process until it says stop. Step 4. After 3 minutes of the step 3, add 200 mL distil water. Step 5. After 5 minutes of the step 4, add 100 gram urea. Step 6. After 7 minutes of the step 5, add 100 gram urea. Step 7. After 5 minutes of the step 6, add 100gram urea. Step 8. After 8 minutes of the step 7, add 135 gram urea. Step 9. After 10 minutes of the step 8, add 100 solution F. Step 10. After 13 minutes of the step 9, add 100 solution F. Step 11. After 19 minutes of step 10, add 75 mL water. Step 12. After 5 minutes of the step 11, add 25 mL Ammonium sulphate solution (0.1 gram in 25 mL water or 0.4% w/v). Step 13. After 15 minutes of the step 12, stirrer was stopped. The solution was 1 L. Step 14. Filter the solution with 200 mesh size filter. Step 15. Solution is ready for further use/ QC testing analyses, stored in 1 L bottle. This example of the method resulted in chitosan encapsulation of the nutrients, with the solution having, Urea: 43.5 % (w/v), N % w/v: 20.01 (calculated); 18.05 (analysed by TKN), Ammonium sulphate: 0.01 (w/v), Chitosan: 0.8 % (w/v), Acetic Acid: 0.4 % (v/v), HCl Acid: 0.4 % (v/v), pH: 4, and a Weight (gram/100 mL): 110.622 gram.

[00076] **Align N # 3**

[00077] **Step 1.** Take 2000 mL beaker. Step 2. Add 200 mL water. Step 3. Started over head stirrer, it was continued through the process until it says stop. Step 4. After 2 minutes of the step 3, add 200 mL solution D. Step 5. After 5 minutes of the step 4, add 100 gram urea. Step 6. After 3 minutes of the step 5, add 100 gram urea. Step 7. After 6 minutes of the step 6, add 100 gram urea. Step 8. After 11 minutes of the step 7, add 135 gram urea. Step 9. After 10 minutes of the step 8, add 200 solution C. Step 10. After 50 minutes of the step 9, add Ammonium sulphate solution (0.1 gram in 25 mL water or 0.4% w/v). Step 11. After 35 minutes of the step 10, stirrer was stopped. The solution was made up to 1000 mL, by adding 60 mL water. Step 12. Filter the solution with 200 mesh size filter. Step 13. Solution is ready for further use/ QC testing analyses, stored in 1 L bottle. This example of the method resulted in chitosan encapsulation of the nutrients, with the solution having; Urea: 43.5 % (w/v), N % w/v: 20.1 (calculated); 18.17 (analysed by TKN), Ammonium sulphate: 0.01% (w/v), Chitosan: 0.8 % (w/v), Acetic Acid: 0.4 (v/v), Nitric Acid: 0.4 (v/v), a pH:3.22, and a Weight (gram/100 mL): 110.622 gram.

[00078] **Align N # 4**

[00079] Step 1. Take 1000 mL beaker. Step 2 Add 300 mL water. Step 3. Start magnetic stirrer, it was continued through the process until it says stop. Step 4. After 07 minutes of the step 3, add 100 gram urea. Step 5. After 4 minutes of the step 4, add 100 gram urea. Step 6. After 2 minutes of the step 5, add 100 gram urea. Step 7. After 4 minutes of the step 6, add 135 gram urea. Step 8. After 15 minutes of the step 7 (solution was not completely dissolved like semi crystals appearing bottom of the beaker), and stirrer stop. Step 9. After step 8, Take another separate 2 L beaker and added 200 mL solution C and started overhead stirrer. Step 10. After 2 minutes of step 9, add semi dissolve solution of urea (prepared in the step 7) transfer into solution C. Step 11. After 3 minutes of step 10, add 100 mL water. Step 12. After 17 minutes of step 11, add 50 mL water. Step 13. After 8 minutes of the step 12, added ammonium sulphate solution (0.1 gram in 25 mL water or 0.4% w/v). Step 14. After 25 minutes of the step 13, stirrer was stopped. The solution was make up to 1000 mL for that 25 mL water was added. Step 15. Filter the solution with 200 mesh size filter. Step 16. Solution is ready for further use/ QC testing analyses, stored in 1 L bottle. This example of the method resulted in chitosan encapsulation of the nutrients, with the solution having; Urea: 43.5 % (w/v), N % w/v: 20.01 (calculated); 18.42 (analysed by TKN), Ammonium sulphate: 0.01 (w/v), Chitosan: 0.4 % (w/v) Nitric Acid: 0.4% (v/v), pH: 2.87, and Weight (gram/100 mL): 110.586 gram.

[00080] **Align N # 5**

[00081] Step 1. Take 2000 mL beaker. Step 2. Add 200 mL solution D. Step 3. Started over head stirrer, it was continued through the process until it says stop. Step 4. After 2 minutes of the step 3, add 200 mL water. Step 5. After 4 minutes of the step 4, add 100 gram urea. Step 6. After 4 minutes of the step 5, add 100 gram urea. Step 7. After 12 minutes of the step 6, add 100gram urea. Step 8. After 11 minutes of the step 7, add 135 gram urea. Step 9. After 13 minutes of the step 8, add 200 solution C. Step 10. After 25 minutes of the step 9, add TPP solution (0.1 gram TPP in 25 mL water or 0.4% w/v). Step 11. After 20 minutes of the step 10, stirrer was stopped. The solution was made up to 1000 mL by adding 80 mL water. Step 12. Filter the solution with 200 mesh size filter. This example of the method resulted in chitosan encapsulation of the nutrients, with the solution having; Urea: 43.5 % (w/v), N % w/v: 20.01 (calculated); 18.06 (analysed by TKN), TPP: 0.01% (w/v), Chitosan: 0.8 % (w/v), Acetic Acid: 0.4 % (v/v), Nitric Acid: 0.4 % (v/v), pH: 3.14, and a Weight (gram/100 mL): 110.726 gram.

[00082] **Align N # 6**

[00083] Step 1. Take 1000 mL beaker. Step 2. Add 400 mL water. Step 3. Started magnetic (bottom head) stirrer, it was continued through the process until it says stop. Step 4. After 5 minutes of the step 3, add 100 gram urea. Step 5. After 9 minutes of the step 4, add 100 gram urea. Step 6. After 4 minutes of the step 5, add 100 gram urea. Step 7. After 12 minutes of the step 6, add 135 gram urea. Step 8. After 30 minutes of the step 7 (solution was not completely dissolved, crystals were appearing at bottom of the beaker), and stirrer stop. Step 9. Take another separate 2 L volume beaker and added 200 mL solution C. The overhead stirrer was started. Step 10. After 4 minutes of step 9, added urea semi dissolve solution (prepared in step 7) transfer into solution C. Step 11. Step 12. After 1 minutes of step 10, add 50 mL water. Step 13. After 15 minutes of the step 11, add TPP solution (0.1 gram in 25 mL water or 0.4% w/v). Step 14. After 20 minutes of the step 12, stirrer was stopped. Step 15. The solution was made up to 1000 mL by adding 25 mL water. Step 16. Filter the solution with 200 mesh size filter. This example of the method resulted in chitosan encapsulation of the nutrients, with the solution having; Urea: 43.5 % (w/v), N % w/v: 20.01 (calculated); 17.9 (analysed by TKN), TPP: 0.01 % (w/v), Chitosan: 0.4% (w/v), Nitric Acid: 0.4% (v/v), pH 2.88, Weight (gram/100 mL): 110.506 gram.

[00084] **Align N # 7**

[00085] Step 1. Take 1000 mL beaker. Step 2. Add 400 mL water. Step 3. Start magnetic stirrer, it was continued through the process until it says stop. Step 4. After 5 minutes of the step 3, add 100 gram urea. Step 5. After 10 minutes of the step 4, add 100 gram urea. Step 6. After 20 minutes of the step 5, add 100 gram urea. Step 7. After 10 minutes of the step 6, add 135 gram urea. Step 8. After 305 minutes of the step 7 (solution was not completely dissolved like semi crystals appearing bottom of the beaker), and stirrer stop. Step 9. Take another separate 2L beaker and added 200 mL solution D, and started overhead stirrer. Step 10. After 2 minutes of step 9, add urea semi dissolve solution (prepared in the step 8) transfer into solution D. Step 11. After 3 minutes of step 10, add 25 mL water. Step 12. After 11 minutes of the step 11, add ammonium sulphate solution (0.1 gram in 25 mL water or 0.4% w/v). Step 13. After 26 minutes of the step 12, stirrer was stopped and the solution was made up to 1000 mL by adding 50 mL water. Step 14. Filter the solution with 200 mesh size filter. This example of the method resulted in chitosan encapsulation of the nutrients, with the solution having; Urea: 43.5 % (w/v), N % w/v : 20.01 (calculated); 18.19 (analysed by TKN), Ammonium sulphate: 0.01 % (w/v), Chitosan: 0.4 % (w/v), Acetic Acid: 0.4 % (v/v), pH : 4.76, and Weight (gram/100 mL): 110.29 gram.

[00086] pH analysis (Figure 5) was performed according to standard protocols for drinking water as described by the United States EPA. Total Kjendahl Nitrogen (TKN) analysis (Figure 5) was performed in accordance with method 1688 of the U. S. EPA Office of Water. The UV-Vis analysis (Figure 6) was performed according to OPPTS 830.7050. The FTIR analysis (Figures 7-13) was performed on and according to the manual for the Agilent-Cary 630.

Example 4: Application and uses of the chitosan and/or chitosan/nitrogen nanoparticles The resultant chitosan and/or chitosan loaded nitrogen nanoparticle products or mixtures of products obtained as a result of the above Examples were used for the multidimensional effects on plants such as growth, protection, and nutrition. The multidimensional effects on plants were obtained by applying the resultant product of the above Examples onto the seed surface, mixing in the soil, exposing root and/or exposing leaves. The application rate ranged between 0.01% to 50% v/w or v/v. Furthermore, the resultant products of the above Examples were used to mix with other agrochemicals to act as growth promoter, symbiont, nutrient, protection agent against pathogens or non-desired plants for synergistic effects.

[00087] The invention has been described with reference to various specific and preferred embodiments and techniques. Nevertheless, it is understood that many variations and modifications may be made while remaining within the spirit and scope of the invention.

WHAT IS CLAIMED IS:

1. A composition comprising: chitosan and at least 1% (w/v) nitrogen.
2. The composition of claim 1, wherein at least 50% of the nitrogen is in the chemical form of amine and/or nitrate and/or ammonia.
3. The composition of claim 2, wherein the composition comprises nanoparticle of chitosan and a nitrogen rich compound and/or mixture of compounds selected from the group consisting of potassium nitrate, calcium nitrate, magnesium nitrate, urea nitrate, urea ammonia nitrate, ammonium nitrate, ammonium sulfate, urea-hydroxyapatite, amino acids such as arginine, cystine, histidine, leucine, lysine, methionine, threonine, tryptophan, tyrosine, valine, glutamine, glutamic acid, glycine, proline, taurine, aspartic acid, serine and alanine.
4. The composition of claim 1, wherein the chitosan is present at between about 0.01% and about 1.5% (w/v).
5. The composition of claim 1, further comprising a linker.
6. The composition of claim 5, where the linker is sodium tripolyphosphate and/or ammonium sulfate.
7. A method of producing chitosan nanoparticles, the method comprising:
 - dissolving chitosan in acidic water, where the water is made acidic by an acid selected from the group of acetic acid, nitric acid, sulfuric acid, hydrochloric acid, and combinations thereof; and
 - forming nanoparticles from the dissolved chitosan.
8. The method according to claim 7, wherein a linker is added to the dissolved chitosan.
9. The method according to claim 8, wherein the linker is sodium tripolyphosphate and/or ammonium sulfate.

10. The method according to claim 7, wherein nitrogen rich compound and/or mixture of compounds selected from the group consisting of potassium nitrate, calcium nitrate, magnesium nitrate, urea nitrate, urea ammonia nitrate, ammonium nitrate, ammonium sulfate, urea-hydroxyapatite, amino acids such as arginine, cystine, histidine, leucine, lysine, methionine, threonine, tryptophan, tyrosine, valine, glutamine, glutamic acid, glycine, proline, taurine, aspartic acid, serine and alanine is/are added the dissolved chitosan.

11. The method according to claim 10, wherein the nanoparticles comprise chitosan and nitrogen rich compound and/or mixture of compounds.

12. The method according to claim 11, wherein the nanoparticles comprise at least 1% (w/v) nitrogen.

13. , The method according to claim 11, wherein the chitosan is present at between about 0.01% and about 1.5% (w/v).

14. A method of treating a plant or a plant part, the method comprising treating the plant or plant part with a composition according to any of claims 1-7.

15. The method according to claim 14, wherein the plant part is selected from the group consisting of a seed, leaf, stem, flower, or root of a plant.

16. A method of preparing a plant growth medium, the method comprising treating the growth medium with a composition according to any of claims 1-7.

17. The method according to claim 16, wherein the growth medium is soil, peat, moss, wood residue, leaf mold, sawdust, bark, bagasse, rice hull, sand, perlite, vermiculite, calcinated clay, polystyrene, urea formaldehyde resins, and hydroponic liquids, and combinations thereof.

ABSTRACT

Disclosed herein are compositions comprising: chitosan and at least 1% (w/v) nitrogen. In certain cases, at least 50% of the nitrogen is in chemical form of amine and/or nitrate and/or ammonia. Also disclosed herein are methods of producing chitosan nanoparticles by dissolving chitosan in acidic water, where the water is made acidic by an acid selected from the group of acetic acid, nitric acid, sulfuric acid, hydrochloric acid, and combinations thereof; and forming nanoparticles from the dissolved chitosan. Further disclosed is the treatment of plants or plant parts with the compositions disclosed herein.

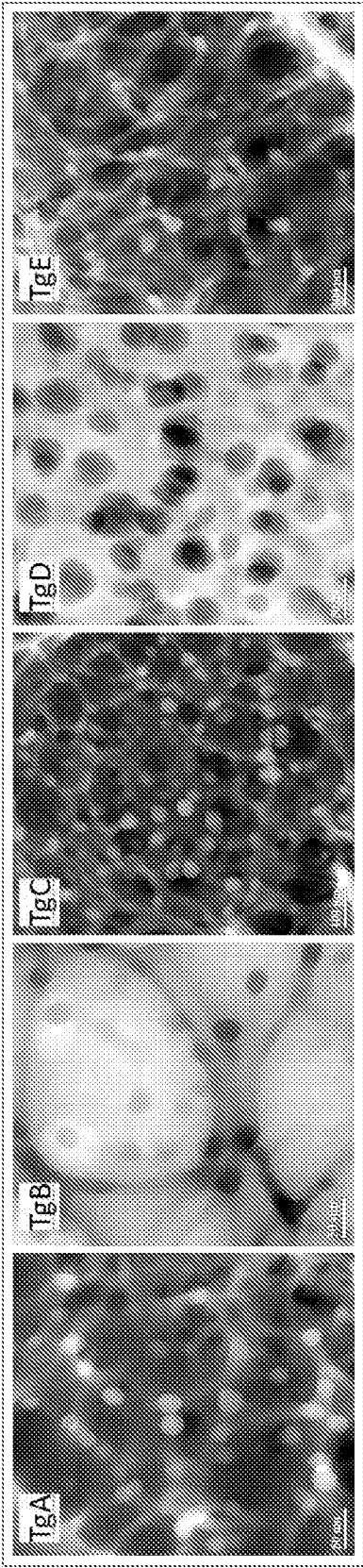


Fig. 1

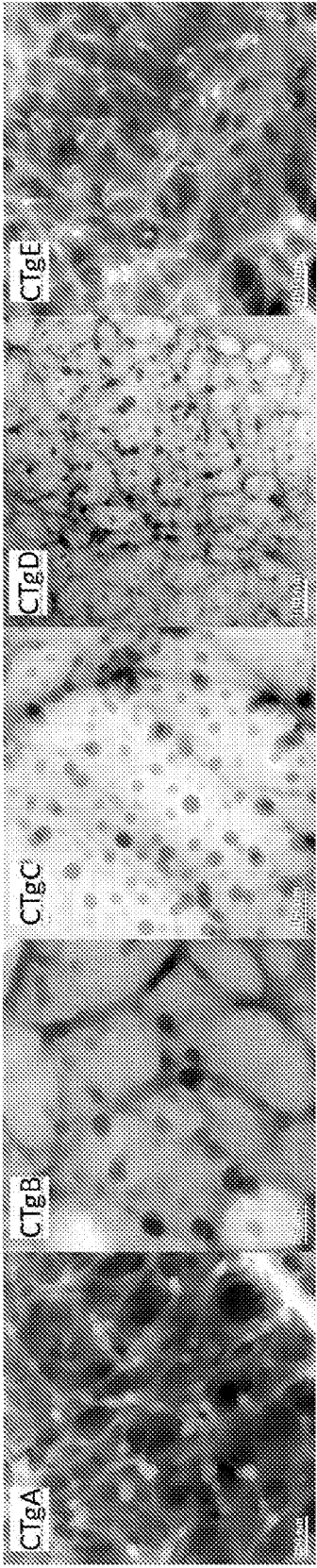


Fig. 2

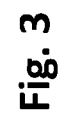


Fig. 3

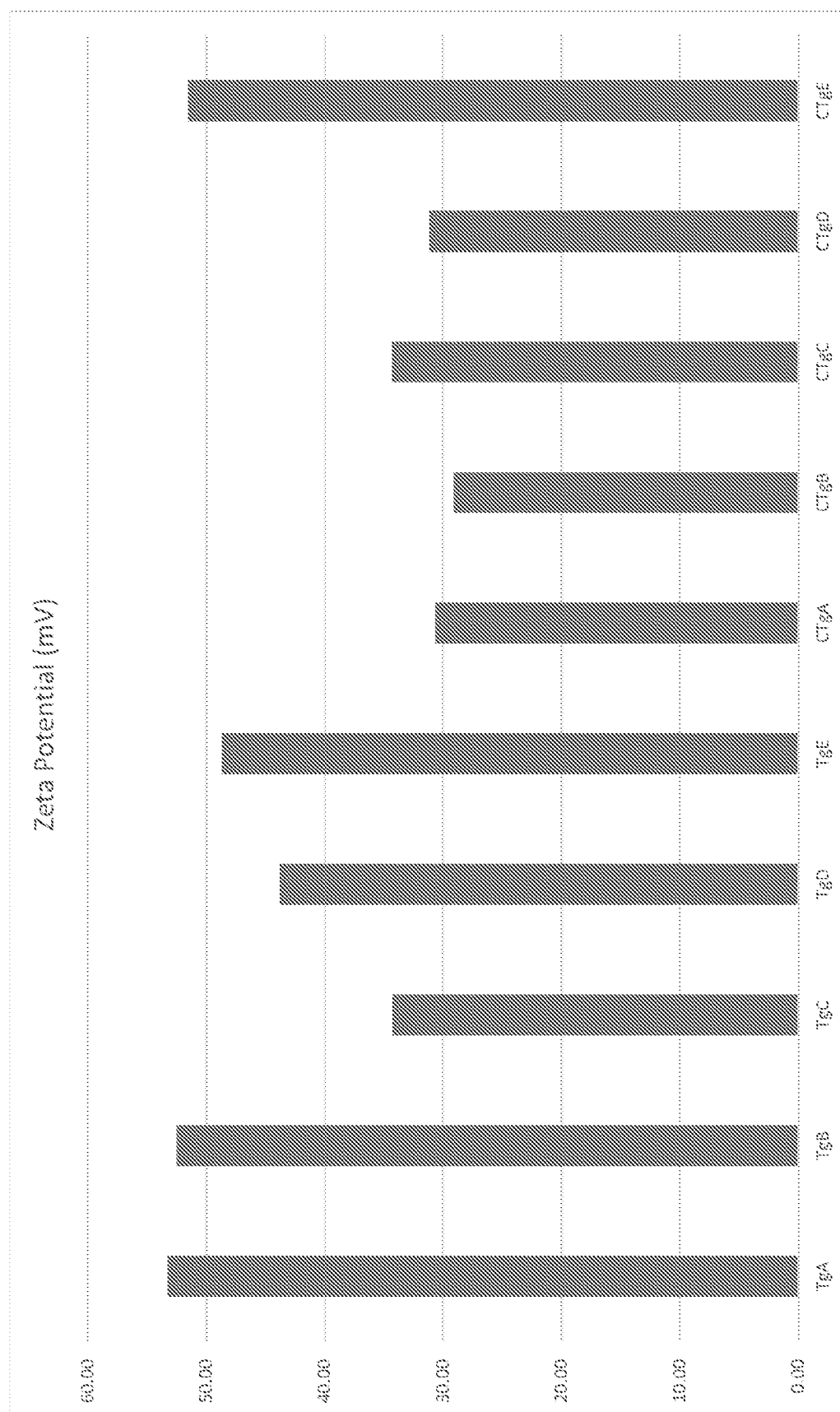


Fig. 4

Align Batch #	pH	TKN% (w/v)
1	3.67	18.24
2	4	18.05
3	3.22	18.17
4	2.87	18.42
5	3.14	18.06
6	2.88	17.9
7	4.76	18.19
CS (soln D)	4.05	0.31
N source	8.75	18.41
TBA = To be analysed		
N source = Urea		

Fig. 5

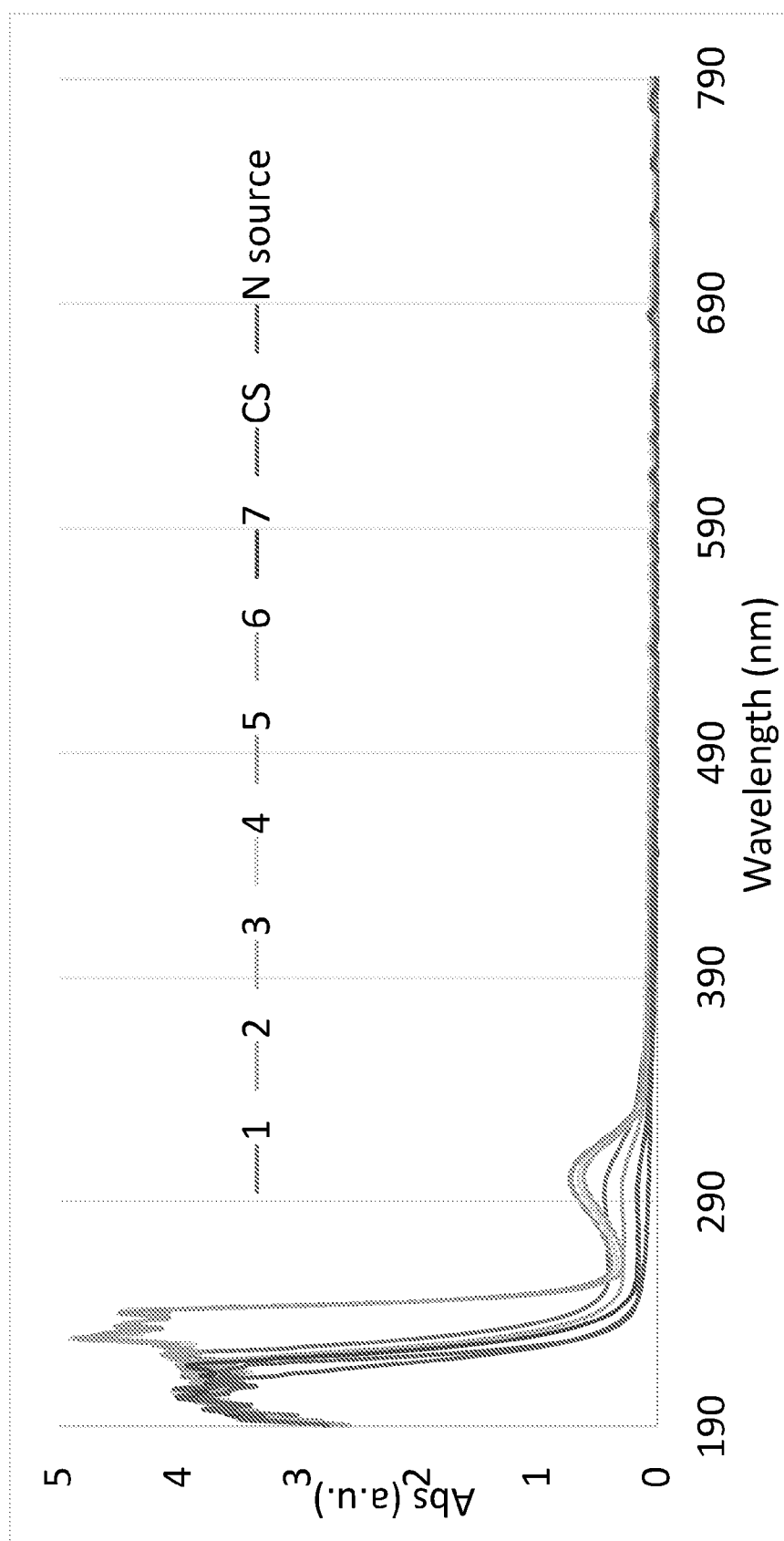


Fig. 6

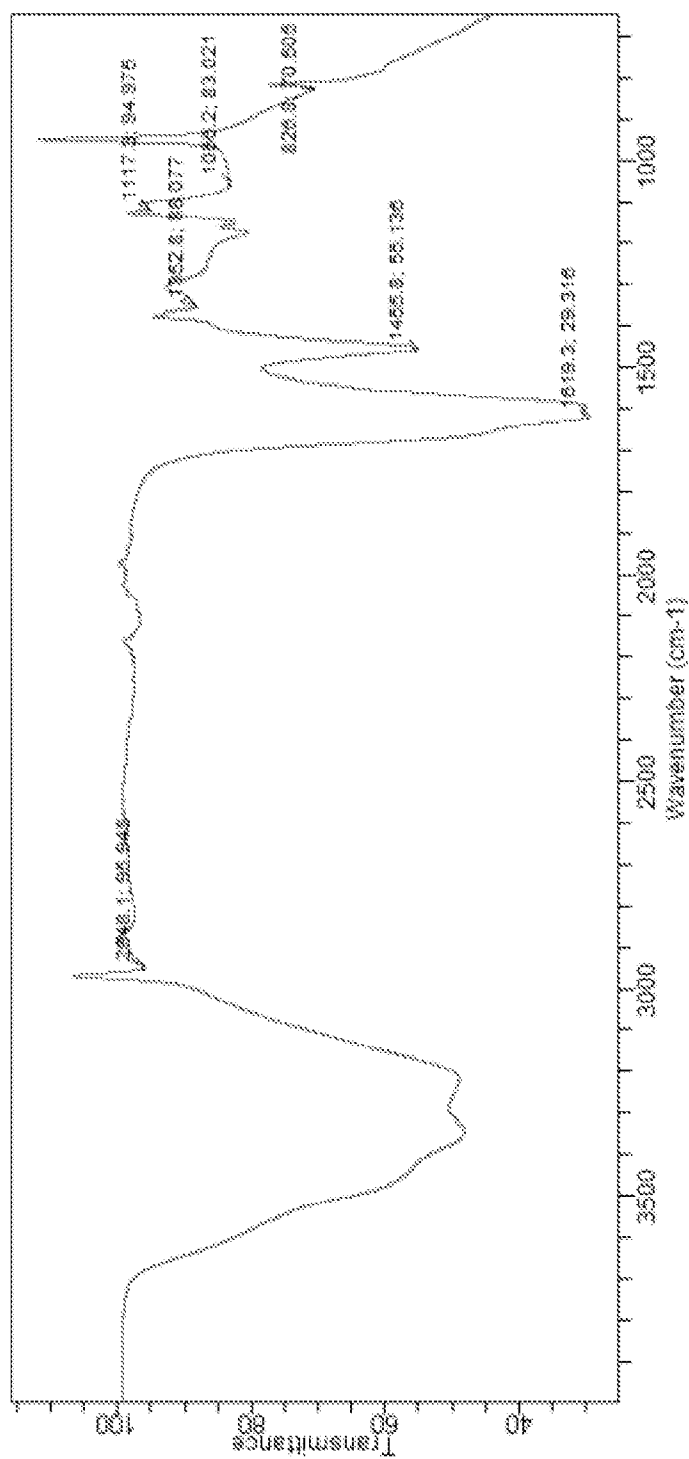


Fig. 7

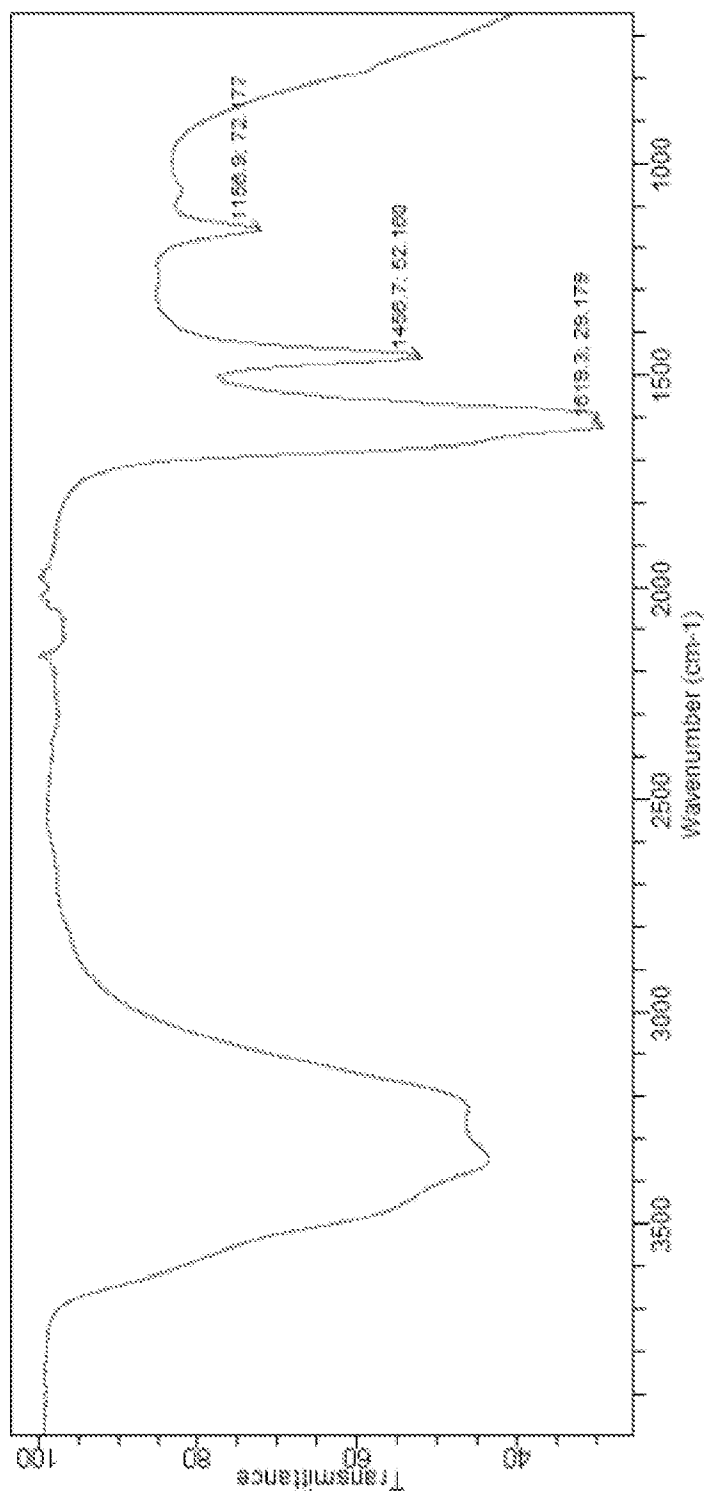


Fig. 8

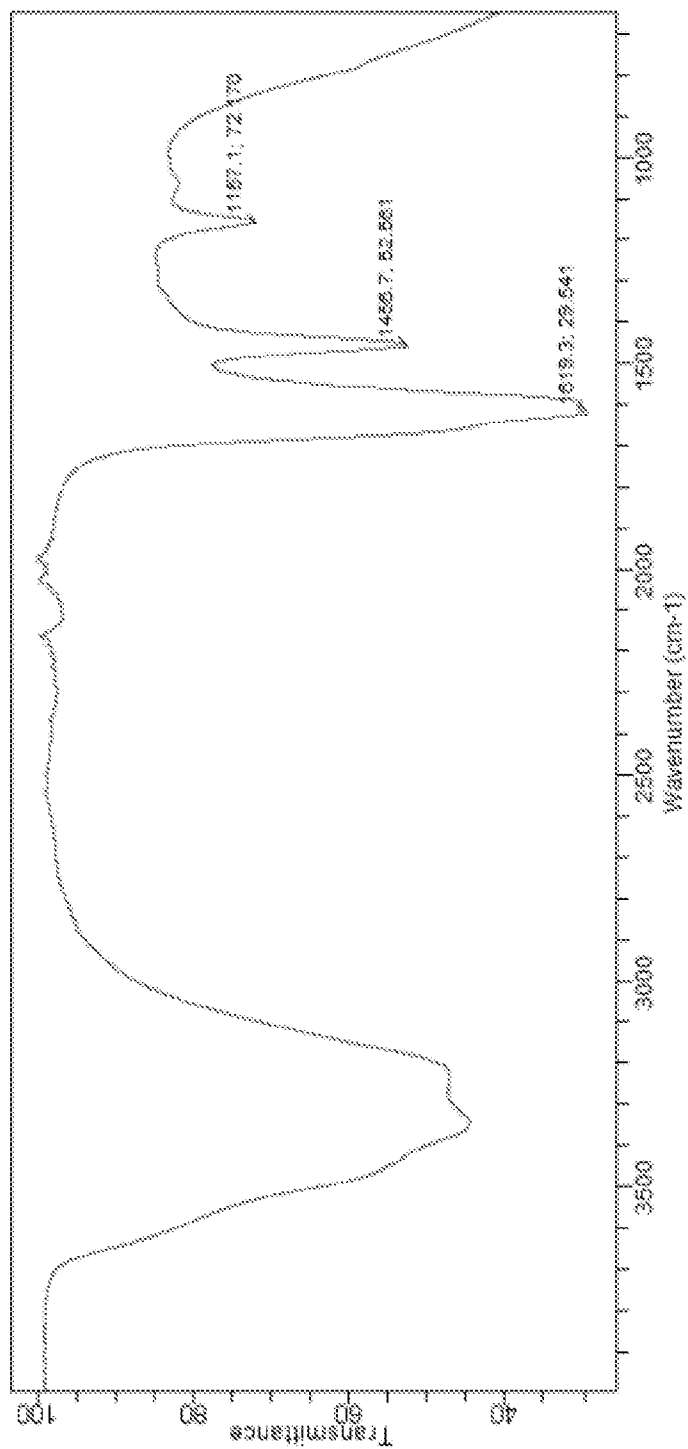


Fig. 9

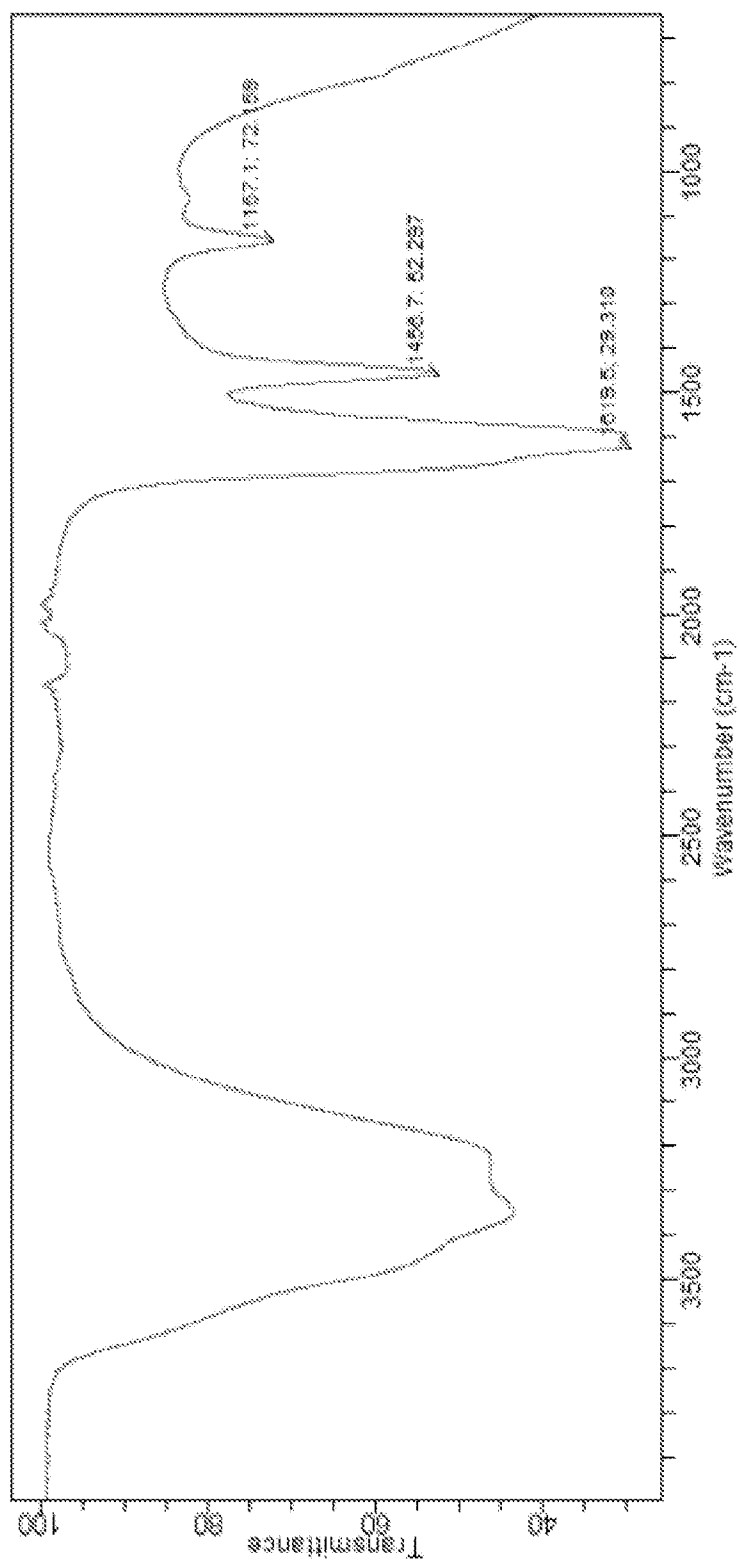


Fig. 10

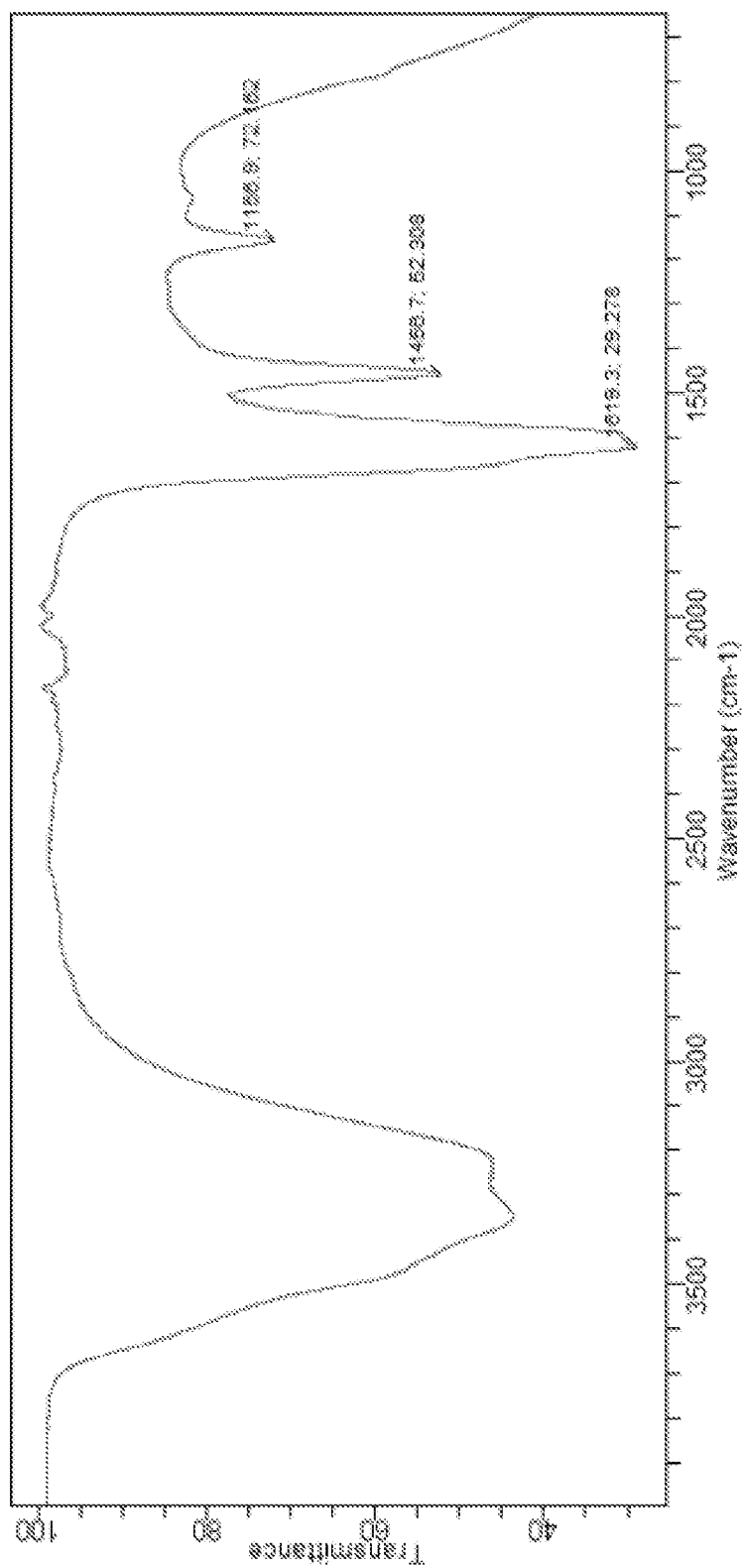


Fig. 11

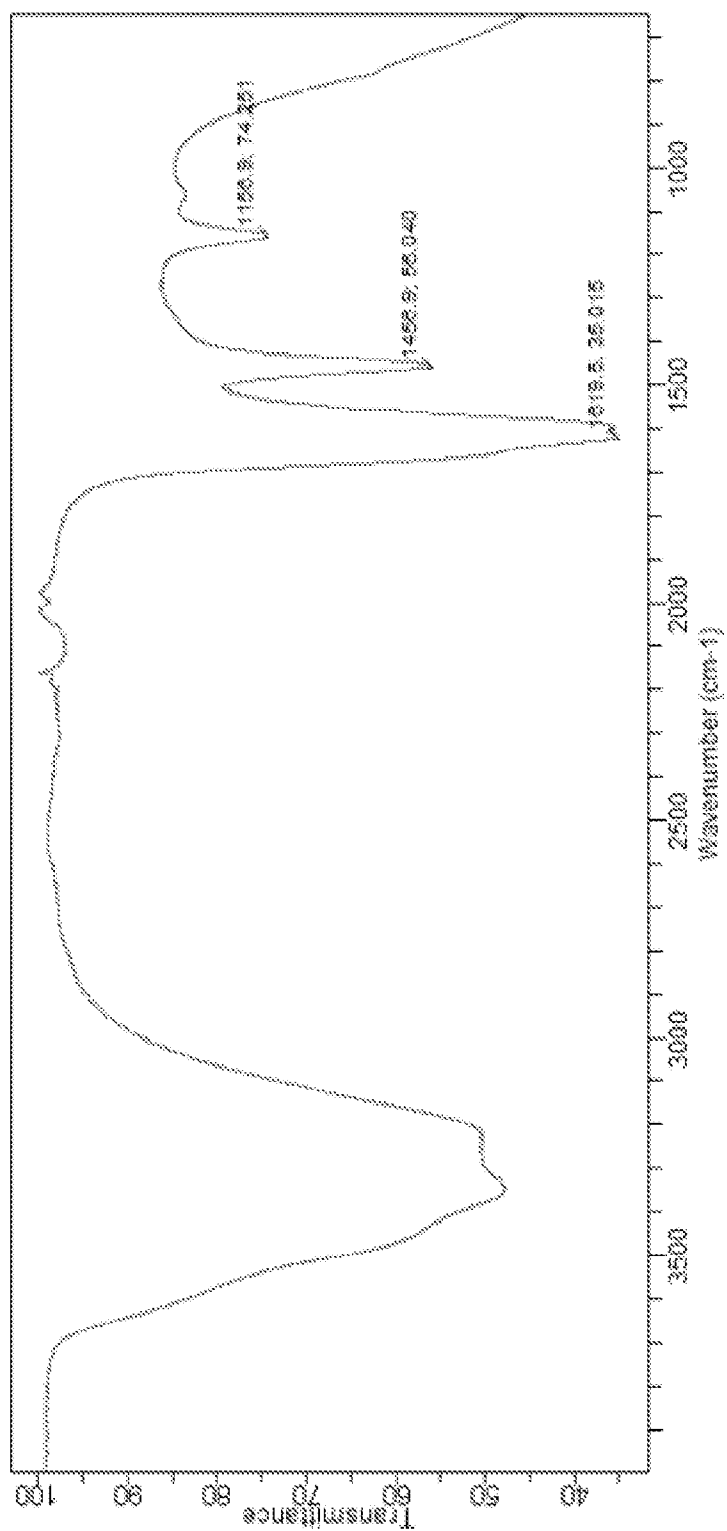


Fig. 12

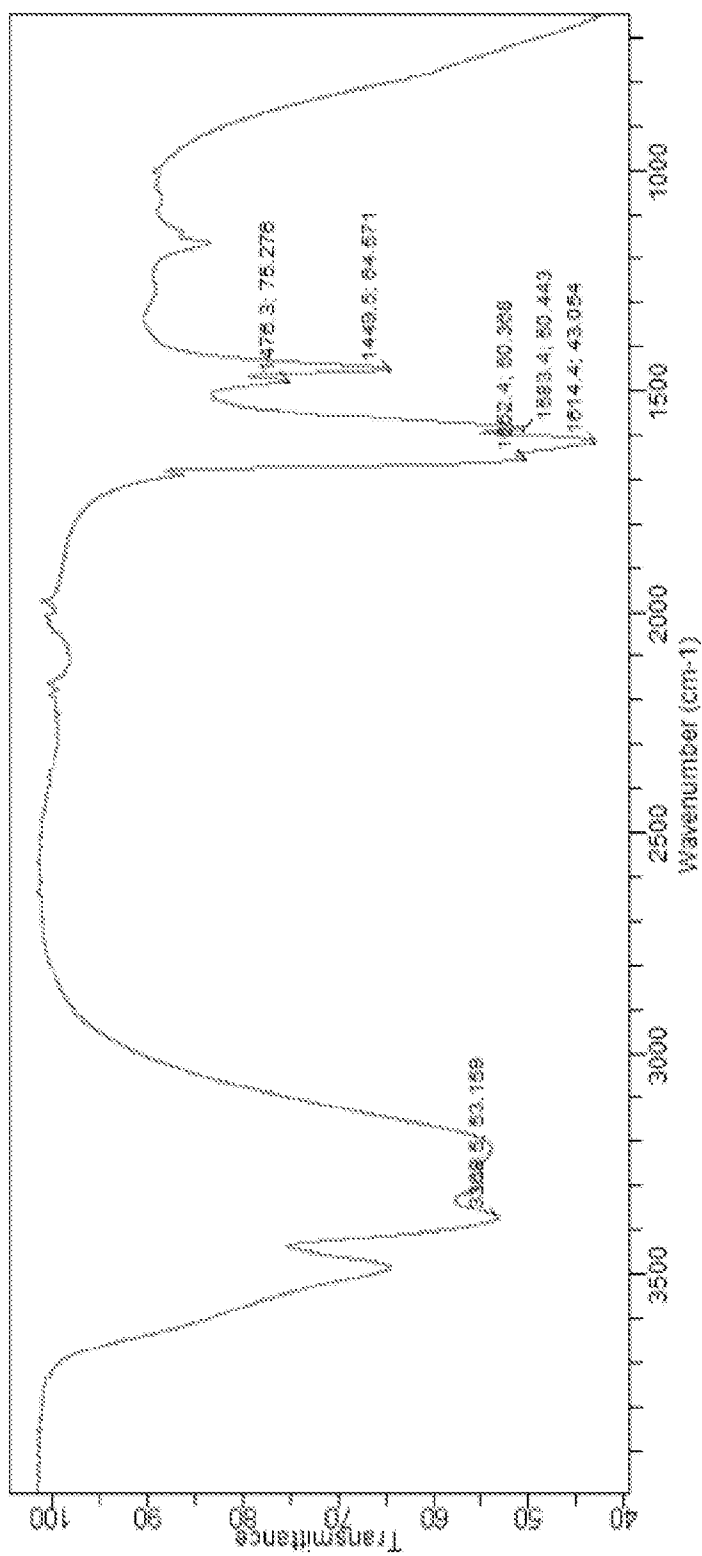


Fig. 13

Under the Paperwork Reduction Act of 1995, no persons are required to respond to a collection of information unless it contains a valid OMB control number.

Application Data Sheet 37 CFR 1.76		Attorney Docket Number	10860-10105 PR
		Application Number	
Title of Invention	Compositions and Methods for Agri-Inputs and Uses Thereof		
The application data sheet is part of the provisional or nonprovisional application for which it is being submitted. The following form contains the bibliographic data arranged in a format specified by the United States Patent and Trademark Office as outlined in 37 CFR 1.76. This document may be completed electronically and submitted to the Office in electronic format using the Electronic Filing System (EFS) or the document may be printed and included in a paper filed application.			

Secrecy Order 37 CFR 5.2:

☐	Portions or all of the application associated with this Application Data Sheet may fall under a Secrecy Order pursuant to 37 CFR 5.2 (Paper filers only. Applications that fall under Secrecy Order may not be filed electronically.)
--------------------------	---

Inventor Information:

Inventor 1 Remove				
Legal Name				
Prefix	Given Name	Middle Name	Family Name	Suffix
	Ramesh		Raliya	
Residence Information (Select One) ☐ US Residency ☒ Non US Residency ☐ Active US Military Service				
City	Ahmedabad	Country of Residence ⁱ	IN	
Mailing Address of Inventor:				
Address 1		c/o Tidal Vision Products		
Address 2		3710 Iron Gate Rd		
City	Bellingham	State/Province	WA	
Postal Code	98226	Country ⁱ	US	
All Inventors Must Be Listed - Additional Inventor Information blocks may be generated within this form by selecting the Add button. Add				

Correspondence Information:

Enter either Customer Number or complete the Correspondence Information section below. For further information see 37 CFR 1.33(a).	
☐ An Address is being provided for the correspondence Information of this application.	
Customer Number	93219
Email Address	docketing@patentlawworks.net Add Email Remove Email

Application Information:

Title of the Invention	Compositions and Methods for Agri-Inputs and Uses Thereof		
Attorney Docket Number	10860-10105 PR	Small Entity Status Claimed ☒	
Application Type	Provisional		
Subject Matter	Utility		
Total Number of Drawing Sheets (if any)	12	Suggested Figure for Publication (if any)	

Under the Paperwork Reduction Act of 1995, no persons are required to respond to a collection of information unless it contains a valid OMB control number.

Application Data Sheet 37 CFR 1.76	Attorney Docket Number	10860-10105 PR
	Application Number	
Title of Invention	Compositions and Methods for Agri-Inputs and Uses Thereof	

Filing By Reference:

Only complete this section when filing an application by reference under 35 U.S.C. 111(c) and 37 CFR 1.57(a). Do not complete this section if application papers including a specification and any drawings are being filed. Any domestic benefit or foreign priority information must be provided in the appropriate section(s) below (i.e., "Domestic Benefit/National Stage Information" and "Foreign Priority Information").

For the purposes of a filing date under 37 CFR 1.53(b), the description and any drawings of the present application are replaced by this reference to the previously filed application, subject to conditions and requirements of 37 CFR 1.57(a).

Application number of the previously filed application	Filing date (YYYY-MM-DD)	Intellectual Property Authority or Country

Publication Information:☐ Request Early Publication (Fee required at time of Request 37 CFR 1.219)

☐ **Request Not to Publish.** I hereby request that the attached application not be published under 35 U.S.C. 122(b) and certify that the invention disclosed in the attached application **has not and will not** be the subject of an application filed in another country, or under a multilateral international agreement, that requires publication at eighteen months after filing.

Representative Information:

Representative information should be provided for all practitioners having a power of attorney in the application. Providing this information in the Application Data Sheet does not constitute a power of attorney in the application (see 37 CFR 1.32). Either enter Customer Number or complete the Representative Name section below. If both sections are completed the customer Number will be used for the Representative Information during processing.

Please Select One:	☒ Customer Number	☐ US Patent Practitioner	☐ Limited Recognition (37 CFR 11.9)
Customer Number	93219		

Domestic Benefit/National Stage Information:

This section allows for the applicant to either claim benefit under 35 U.S.C. 119(e), 120, 121, 365(c), or 386(c) or indicate National Stage entry from a PCT application. Providing benefit claim information in the Application Data Sheet constitutes the specific reference required by 35 U.S.C. 119(e) or 120, and 37 CFR 1.78.

When referring to the current application, please leave the "Application Number" field blank.

Prior Application Status			Remove
Application Number	Continuity Type	Prior Application Number	Filing or 371(c) Date (YYYY-MM-DD)
Additional Domestic Benefit/National Stage Data may be generated within this form by selecting the Add button.			Add

Under the Paperwork Reduction Act of 1995, no persons are required to respond to a collection of information unless it contains a valid OMB control number.

Application Data Sheet 37 CFR 1.76		Attorney Docket Number	10860-10105 PR
		Application Number	
Title of Invention	Compositions and Methods for Agri-Inputs and Uses Thereof		

Foreign Priority Information:

This section allows for the applicant to claim priority to a foreign application. Providing this information in the application data sheet constitutes the claim for priority as required by 35 U.S.C. 119(b) and 37 CFR 1.55. When priority is claimed to a foreign application that is eligible for retrieval under the priority document exchange program (PDX)ⁱ the information will be used by the Office to automatically attempt retrieval pursuant to 37 CFR 1.55(i)(1) and (2). Under the PDX program, applicant bears the ultimate responsibility for ensuring that a copy of the foreign application is received by the Office from the participating foreign intellectual property office, or a certified copy of the foreign priority application is filed, within the time period specified in 37 CFR 1.55(g)(1).

Application Number	Country ⁱ	Filing Date (YYYY-MM-DD)	Access Code ⁱ (if applicable)

Additional Foreign Priority Data may be generated within this form by selecting the **Add** button.

Statement under 37 CFR 1.55 or 1.78 for AIA (First Inventor to File) Transition Applications

☐ This application (1) claims priority to or the benefit of an application filed before March 16, 2013 and (2) also contains, or contained at any time, a claim to a claimed invention that has an effective filing date on or after March 16, 2013.

NOTE: By providing this statement under 37 CFR 1.55 or 1.78, this application, with a filing date on or after March 16, 2013, will be examined under the first inventor to file provisions of the AIA.

Application Data Sheet 37 CFR 1.76		Attorney Docket Number	10860-10105 PR
		Application Number	
Title of Invention	Compositions and Methods for Agri-Inputs and Uses Thereof		

Authorization or Opt-Out of Authorization to Permit Access:

When this Application Data Sheet is properly signed and filed with the application, applicant has provided written authority to permit a participating foreign intellectual property (IP) office access to the instant application-as-filed (see paragraph A in subsection 1 below) and the European Patent Office (EPO) access to any search results from the instant application (see paragraph B in subsection 1 below).

Should applicant choose not to provide an authorization identified in subsection 1 below, applicant **must opt-out** of the authorization by checking the corresponding box A or B or both in subsection 2 below.

NOTE: This section of the Application Data Sheet is **ONLY** reviewed and processed with the **INITIAL** filing of an application. After the initial filing of an application, an Application Data Sheet cannot be used to provide or rescind authorization for access by a foreign IP office(s). Instead, Form PTO/SB/39 or PTO/SB/69 must be used as appropriate.

1. Authorization to Permit Access by a Foreign Intellectual Property Office(s)

A. Priority Document Exchange (PDX) - Unless box A in subsection 2 (opt-out of authorization) is checked, the undersigned hereby **grants the USPTO authority** to provide the European Patent Office (EPO), the Japan Patent Office (JPO), the Korean Intellectual Property Office (KIPO), the State Intellectual Property Office of the People's Republic of China (SIPO), the World Intellectual Property Organization (WIPO), and any other foreign intellectual property office participating with the USPTO in a bilateral or multilateral priority document exchange agreement in which a foreign application claiming priority to the instant patent application is filed, access to: (1) the instant patent application-as-filed and its related bibliographic data, (2) any foreign or domestic application to which priority or benefit is claimed by the instant application and its related bibliographic data, and (3) the date of filing of this Authorization. See 37 CFR 1.14(h)(1).

B. Search Results from U.S. Application to EPO - Unless box B in subsection 2 (opt-out of authorization) is checked, the undersigned hereby **grants the USPTO authority** to provide the EPO access to the bibliographic data and search results from the instant patent application when a European patent application claiming priority to the instant patent application is filed. See 37 CFR 1.14(h)(2).

The applicant is reminded that the EPO's Rule 141(1) EPC (European Patent Convention) requires applicants to submit a copy of search results from the instant application without delay in a European patent application that claims priority to the instant application.

2. Opt-Out of Authorizations to Permit Access by a Foreign Intellectual Property Office(s)

☐ A. Applicant **DOES NOT** authorize the USPTO to permit a participating foreign IP office access to the instant application-as-filed. If this box is checked, the USPTO will not be providing a participating foreign IP office with any documents and information identified in subsection 1A above.

☐ B. Applicant **DOES NOT** authorize the USPTO to transmit to the EPO any search results from the instant patent application. If this box is checked, the USPTO will not be providing the EPO with search results from the instant application.

NOTE: Once the application has published or is otherwise publicly available, the USPTO may provide access to the application in accordance with 37 CFR 1.14.

Under the Paperwork Reduction Act of 1995, no persons are required to respond to a collection of information unless it contains a valid OMB control number.

Application Data Sheet 37 CFR 1.76	Attorney Docket Number	10860-10105 PR
	Application Number	
Title of Invention	Compositions and Methods for Agri-Inputs and Uses Thereof	

Applicant Information:

Providing assignment information in this section does not substitute for compliance with any requirement of part 3 of Title 37 of CFR to have an assignment recorded by the Office.			
Applicant 1			Remove
If the applicant is the inventor (or the remaining joint inventor or inventors under 37 CFR 1.45), this section should not be completed. The information to be provided in this section is the name and address of the legal representative who is the applicant under 37 CFR 1.43; or the name and address of the assignee, person to whom the inventor is under an obligation to assign the invention, or person who otherwise shows sufficient proprietary interest in the matter who is the applicant under 37 CFR 1.46. If the applicant is an applicant under 37 CFR 1.46 (assignee, person to whom the inventor is obligated to assign, or person who otherwise shows sufficient proprietary interest) together with one or more joint inventors, then the joint inventor or inventors who are also the applicant should be identified in this section.			
Clear			
☒ Assignee	☐ Legal Representative under 35 U.S.C. 117	☐ Joint Inventor	
☐ Person to whom the inventor is obligated to assign.		☐ Person who shows sufficient proprietary interest	
If applicant is the legal representative, indicate the authority to file the patent application, the inventor is:			
Name of the Deceased or Legally Incapacitated Inventor:			
If the Applicant is an Organization check here. ☒			
Organization Name	Tidal Vision Products		
Mailing Address Information For Applicant:			
Address 1	3710 Iron Gate Rd		
Address 2			
City	Bellingham	State/Province	WA
Country	US	Postal Code	98226
Phone Number		Fax Number	
Email Address			
Additional Applicant Data may be generated within this form by selecting the Add button. Add			

Assignee Information including Non-Applicant Assignee Information:

Providing assignment information in this section does not substitute for compliance with any requirement of part 3 of Title 37 of CFR to have an assignment recorded by the Office.

Under the Paperwork Reduction Act of 1995, no persons are required to respond to a collection of information unless it contains a valid OMB control number.

Application Data Sheet 37 CFR 1.76	Attorney Docket Number	10860-10105 PR
	Application Number	
Title of Invention	Compositions and Methods for Agri-Inputs and Uses Thereof	

Assignee 1

Complete this section if assignee information, including non-applicant assignee information, is desired to be included on the patent application publication. An assignee-applicant identified in the "Applicant Information" section will appear on the patent application publication as an applicant. For an assignee-applicant, complete this section only if identification as an assignee is also desired on the patent application publication.

[Remove](#)If the Assignee or Non-Applicant Assignee is an Organization check here. ☐

Prefix	Given Name	Middle Name	Family Name	Suffix

Mailing Address Information For Assignee including Non-Applicant Assignee:

Address 1				
Address 2				
City		State/Province		
Country ¹		Postal Code		
Phone Number		Fax Number		
Email Address				

Additional Assignee or Non-Applicant Assignee Data may be generated within this form by selecting the Add button.

[Add](#)**Signature:**[Remove](#)

NOTE: This Application Data Sheet must be signed in accordance with 37 CFR 1.33(b). **However, if this Application Data Sheet is submitted with the INITIAL filing of the application and either box A or B is not checked in subsection 2 of the "Authorization or Opt-Out of Authorization to Permit Access" section, then this form must also be signed in accordance with 37 CFR 1.14(c).**

This Application Data Sheet **must** be signed by a patent practitioner if one or more of the applicants is a **juristic entity** (e.g., corporation or association). If the applicant is two or more joint inventors, this form must be signed by a patent practitioner, **all** joint inventors who are the applicant, or one or more joint inventor-applicants who have been given power of attorney (e.g., see USPTO Form PTO/AIA/81) on behalf of **all** joint inventor-applicants.

See 37 CFR 1.4(d) for the manner of making signatures and certifications.

Signature	/Daniel J. Morath, Ph.D./			Date (YYYY-MM-DD)	2023-05-10
First Name	Daniel J.	Last Name	Morath, Ph.D.	Registration Number	55,896

Additional Signature may be generated within this form by selecting the Add button.

[Add](#)

Under the Paperwork Reduction Act of 1995, no persons are required to respond to a collection of information unless it contains a valid OMB control number.

Application Data Sheet 37 CFR 1.76		Attorney Docket Number	10860-10105 PR
		Application Number	
Title of Invention	Compositions and Methods for Agri-Inputs and Uses Thereof		

This collection of information is required by 37 CFR 1.76. The information is required to obtain or retain a benefit by the public which is to file (and by the USPTO to process) an application. Confidentiality is governed by 35 U.S.C. 122 and 37 CFR 1.14. This collection is estimated to take 23 minutes to complete, including gathering, preparing, and submitting the completed application data sheet form to the USPTO. Time will vary depending upon the individual case. Any comments on the amount of time you require to complete this form and/or suggestions for reducing this burden, should be sent to the Chief Information Officer, U.S. Patent and Trademark Office, U.S. Department of Commerce, P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450. DO NOT SEND FEES OR COMPLETED FORMS TO THIS ADDRESS. **SEND TO: Commissioner for Patents, P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450.**

Privacy Act Statement

The Privacy Act of 1974 (P.L. 93-579) requires that you be given certain information in connection with your submission of the attached form related to a patent application or patent. Accordingly, pursuant to the requirements of the Act, please be advised that: (1) the general authority for the collection of this information is 35 U.S.C. 2(b)(2); (2) furnishing of the information solicited is voluntary; and (3) the principal purpose for which the information is used by the U.S. Patent and Trademark Office is to process and/or examine your submission related to a patent application or patent. If you do not furnish the requested information, the U.S. Patent and Trademark Office may not be able to process and/or examine your submission, which may result in termination of proceedings or abandonment of the application or expiration of the patent.

The information provided by you in this form will be subject to the following routine uses:

1. The information on this form will be treated confidentially to the extent allowed under the Freedom of Information Act (5 U.S.C. 552) and the Privacy Act (5 U.S.C. 552a). Records from this system of records may be disclosed to the Department of Justice to determine whether the Freedom of Information Act requires disclosure of these records.
2. A record from this system of records may be disclosed, as a routine use, in the course of presenting evidence to a court, magistrate, or administrative tribunal, including disclosures to opposing counsel in the course of settlement negotiations.
3. A record in this system of records may be disclosed, as a routine use, to a Member of Congress submitting a request involving an individual, to whom the record pertains, when the individual has requested assistance from the Member with respect to the subject matter of the record.
4. A record in this system of records may be disclosed, as a routine use, to a contractor of the Agency having need for the information in order to perform a contract. Recipients of information shall be required to comply with the requirements of the Privacy Act of 1974, as amended, pursuant to 5 U.S.C. 552a(m).
5. A record related to an International Application filed under the Patent Cooperation Treaty in this system of records may be disclosed, as a routine use, to the International Bureau of the World Intellectual Property Organization, pursuant to the Patent Cooperation Treaty.
6. A record in this system of records may be disclosed, as a routine use, to another federal agency for purposes of National Security review (35 U.S.C. 181) and for review pursuant to the Atomic Energy Act (42 U.S.C. 218(c)).
7. A record from this system of records may be disclosed, as a routine use, to the Administrator, General Services, or his/her designee, during an inspection of records conducted by GSA as part of that agency's responsibility to recommend improvements in records management practices and programs, under authority of 44 U.S.C. 2904 and 2906. Such disclosure shall be made in accordance with the GSA regulations governing inspection of records for this purpose, and any other relevant (i.e., GSA or Commerce) directive. Such disclosure shall not be used to make determinations about individuals.
8. A record from this system of records may be disclosed, as a routine use, to the public after either publication of the application pursuant to 35 U.S.C. 122(b) or issuance of a patent pursuant to 35 U.S.C. 151. Further, a record may be disclosed, subject to the limitations of 37 CFR 1.14, as a routine use, to the public if the record was filed in an application which became abandoned or in which the proceedings were terminated and which application is referenced by either a published application, an application open to public inspections or an issued patent.
9. A record from this system of records may be disclosed, as a routine use, to a Federal, State, or local law enforcement agency, if the USPTO becomes aware of a violation or potential violation of law or regulation.



ELECTRONIC ACKNOWLEDGEMENT RECEIPT

APPLICATION #
63/501,190

RECEIPT DATE / TIME
05/10/2023 01:05:50 PM ET

ATTORNEY DOCKET #
10860-10105 PR

Title of Invention

Compositions and Methods for Agri-Inputs and Uses Thereof

Application Information

APPLICATION TYPE Utility - Provisional Application under
35 USC 111(b)

PATENT # -

CONFIRMATION # 5654

FILED BY DANIEL MORATH

PATENT CENTER # 62067610

FILING DATE -

CUSTOMER # 93219

FIRST NAMED INVENTOR Ramesh Raliya

CORRESPONDENCE ADDRESS -

AUTHORIZED BY DANIEL MORATH

Documents

TOTAL DOCUMENTS: 3

DOCUMENT	PAGES	DESCRIPTION	SIZE (KB)
10098 PR 2023-05-10 - Application Data Sheet - SIGNED.pdf	8	Application Data Sheet	2174 KB
10105 PR 2023-05-10 - Specification-APP.TEXT.docx	26	Application body structured text document	54 KB
Warning: At least one claim appears to contain more than one sentence. Please review and revise if necessary. Bookmarks were found and have been removed. Text decorations have been removed.			
10105 PR 2023-05-10 - Drawings.pdf	12	Drawings-only black and white line drawings	6067 KB

Warning: The attached file contains comments or annotations. Comments are not recommended and may cause processing problems with the document.

Digest

DOCUMENT	MESSAGE DIGEST(SHA-512)
10098 PR 2023-05-10 - Application Data Sheet - SIGNED.pdf	1B3125129B4A20068EF3283D4E4EC11806B5F67C303DA03267 BF55B4BCF609C2A8FF37AE6C7EBAB8CFABCE51B45101C895 62781966EAFE45F4B6D1C1656710B
10105 PR 2023-05-10 - Specification-APP.TEXT.docx	1AD797632F2382F217B2172C5688ACF07EB1DAD49BE664701 B9600DCBE3352F948D7A56A1974ED95CAAD072DF684F1461B E2C319D16B5033E51C582EA2A86BE1
10105 PR 2023-05-10 - Drawings.pdf	99CAA40418BDBEA45FDE5325D3AD6490E8F841EEDC3F160D 3C03C1AB5385A36CB9C43DD1216FE5971BD4706977E852435 9FE9B10EC2F5A44F428D22C658C2B8B

This Acknowledgement Receipt evidences receipt on the noted date by the USPTO of the indicated documents, characterized by the applicant, and including page counts, where applicable. It serves as evidence of receipt similar to a Post Card, as described in MPEP 503.

New Applications Under 35 U.S.C. 111

If a new application is being filed and the application includes the necessary components for filing date (see 37 CFR 1.53(b)-(d) and MPEP 506), a Filing Receipt (37 CFR 1.54) will be issued in due course and the date shown on this Acknowledgement Receipt will establish the filing date of the application.

National Stage of an International Application under 35 U.S.C. 371

If a timely submission to enter the national stage of an international application is compliant with the conditions of 35 U.S.C. 371 and other applicable requirements a Form PCT/DO/EO/903 indicating acceptance of the application as a national stage submission under 35 U.S.C. 371 will be issued in addition to the Filing Receipt, in due course.

New International Application Filed with the USPTO as a Receiving Office

If a new international application is being filed and the international application includes the necessary components for an international filing date (see PCT Article 11 and MPEP 1810), a Notification of the International Application Number and of the International Filing Date (Form PCT/RO/105) will be issued in due course, subject to prescriptions concerning national security, and the date shown on this Acknowledgement Receipt will establish the international filing date of the application.