



(12)

## BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2020 00677**

(22) Data de depozit: **28/10/2020**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/08/2023** BOPI nr. **8/2023**

(41) Data publicării cererii:  
**29/04/2022** BOPI nr. **4/2022**

(73) Titular:  
• **INSTITUTUL NAȚIONAL DE  
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU  
CHIMIE ȘI PETROCHIMIE - ICECHIM,  
SPLAIUL INDEPENDENȚEI NR.202,  
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:  
• **OANCEA FLORIN, STR.PAȘCANI NR.5,  
BL.D 7, SC.E, ET.2, AP.45, SECTOR 6,  
BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **CONSTANTINESCU- ARUXANDEI DIANA,  
ȘOS.MIHAI BRAVU, NR.297, BL.15A, SC.A,  
ET.1, AP.5, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B,  
RO;**  
• **DIMITRIU LUMINIȚA, ALEEA BARAJULUI  
BICAZ, NR.9, BL.M31, SC.B, ET.2, AP.408,  
SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;**

• **LUPU CARMEN, INTRAREA BÂRSEI  
NR.5, BL.G 3, SC.A, ET.2, AP.24,  
SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **SOMOGHI RALUCA,  
STR. GH.GR.CANTACUZINO NR.208A,  
BL.133C, SC.A, ET.1, AP.4, PLOIEȘTI, PH,  
RO;**  
• **GHIUREA MARIUS,  
DRUMUL VALEA DOFTANEI, NR.47-51,  
BL.T2, SC.2, ET.1, AP.38, SECTOR 6,  
BUCUREȘTI, B, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:  
**KAMIS YOUSSEF Ș.A., "SYNERGISTIC  
EFFECT OF A NOVEL CHITOSAN/ SILICA  
NANOCOMPOSITES-BASED  
FORMULATION AGAINST GRAY MOLD OF  
TABLE GRAPES AND ITS POSSIBLE  
MODE OF ACTION", INTERNATIONAL  
JOURNAL OF BIOLOGICAL  
MACROMOLECULES, VOL. 141, 2019;  
US 20170164610 A1; CN 104016798 A;  
US 6514512 B1**

(54) **COMPOZIȚIE PELICULIZANTĂ CU APLICARE FOLIARĂ  
PE BAZĂ DE NANOMATERIALE SILICIOASE NATURAL  
ȘI PROCEDEU DE APLICARE**



# RO 135626 B1

1            Prezenta invenție se referă la o compoziție care are capacitatea ridicată de a forma  
2            pelicule pe suprafața frunzelor și/sau fructelor, pe bază de nanomateriale naturale silicioase,  
3            destinată utilizării în horticultură, pentru protecția arborilor, arbuștilor fructiferi și a viței-de-vie  
4            împotriva stresurilor biotice și abiotice și la un procedeu de aplicare a acestei compoziții.

5            Sunt cunoscute o serie întreagă de produse pe bază de nanomateriale naturale  
6            silicioase, diatomită, zeolit sau nano-argile, care sunt utilizate pentru protecția și nutriția  
7            plantelor cultivate. Produsele pe bază de argile, ca de exemplu caolin, sunt utilizate pentru  
8            protecția plantelor împotriva agenților patogeni și a dăunătorilor [Glenn & Puterka, *Partide*  
9            *films: a new technology for agriculture. Horticultural reviews*, 31, 1-44, 2005], ca și  
10            pentru protecția față de radiația solară excesivă [Brito ș.a., *Kaolin, an emerging tool to*  
11            *alleviate the effects of abiotic stresses on crop performance. Scientia Horticulturae*,  
12            250, 310-6, 2019], reducerea pierderilor de apă - anti-transpiranți [Mphande ș.a., *The*  
13            *potential of antitranspirants in drought management of arable crops: A review.*  
14            *Agricultural Water Management*, 236, 18, 2020] și pentru stimularea fotosintezei prin  
15            concentrarea locală a bioxidului de carbon [Garrido ș.a., *Influence of Foliar Kaolin*  
16            *Application and Irrigation on Photosynthetic Activity of Grape Berries. Agronomy-*  
17            *Basel* 9, 18, 2019]. Produsele pe bază de diatomită, care au un conținut între 85-96% bioxid  
18            de siliciu amorf,  $\text{SiO}_2 \times n\text{H}_2\text{O}$ , recunoscute pentru capacitatea lor de a limita dezvoltarea  
19            insectelor dăunătoare și a fungilor micotoxigeni în cerealele depozitate [Nkpay,  
20            *Diatomaceous earths as alternatives to chemical insecticides in stored grain. Insect*  
21            *Science*, 13, 421-9, 2006], s-au dovedit a avea o acțiune insecto-fungicide semnificativă și  
22            atunci când au fost aplicate foliar [Singh & Singh, *Laboratory and field studies*  
23            *demonstrating the insecticidal potențial of diatomaceous earth against wheat aphids*  
24            *in rice-wheat cropping system of Punjab (India). Cereai Research Communications*,  
25            44, 435-43, 2016]. Zeoliții naturali, aluminosilicați hidratați cu structură deschisă formați la  
26            contactul cenușilor piroclastice cu apa, sunt utilizați în agricultură ca ameliorator de sol  
27            [Mumpton, *La roca magica: uses of natural zeolites in agriculture and industry.*  
28            *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96, 3463-70, 1999] și pentru protecția  
29            părților aeriene ale plantelor de cultură [De Smedt ș.a., *Potential and actual uses of*  
30            *zeolites in crop protection. Pest Management Science*, 71, 1355-67, 2015]. Pentru că  
31            sunt produse naturale, aceste materiale minerale nanosilicioase, diatomită, zeoliții și  
32            nanoargilele, sunt permise pentru a fi utilizate pentru protecția și nutriția plantelor cultivate  
33            în sisteme de agricultură ecologică/organică [Korunic, *Diatomaceous earths, a group of*  
34            *natural insecticides. Journal of Stored Products Research*, 34, 87-97., 1998, Eroglu  
35            ș.a., *Applications of natural zeolites on agriculture and food production. Journal of the*  
36            *Science of Food and Agriculture* 97, 3487-99, 2017].

37            Pentru a fi eficiente aceste nanomateriale silicioase trebuie să formeze o peliculă  
38            care să acopere organele aeriene ale plantelor, frunze/foliaj și fructe, care se intenționează  
39            a fi protejate față de factorii de stres biotici și abiotici. Aceste organe ale plantelor de cultură  
40            sunt atât suprafețe hidrofobe, cât și suprafețe hidrofile. De exemplu, în cazul culturii de  
41            piersic, suprafețele fructelor sunt mai hidrofile decât cele ale frunzelor [Lalancette ș.a.,  
42            *Evaluation of hydrophobic and hydrophilic kaolin partide films for peach crop,*  
43            *arthropod and disease management. Pest Management Science* 61, 25-39, 2005]. În  
44            cazul viței de vie hidrofobicitatea fructelor este mai ridicată decât a frunzelor [Reddy,  
45            *Disguising the leaf surface. In. Recent advances in crop protection. Springer*, 91-101,  
46            2012]. Tipul de suprafață este definit de unghiul de contact al unei picături sesile care se  
47            sprijină pe o suprafața țintă. Suprafețele țintă, inclusiv cele specifice organelor aeriene ale

plantelor, sunt considerate hidrofile atunci când unghiul de contact al unei picături de apă este mai mic de  $90^\circ$  și considerat hidrofob atunci când unghiul de contact este mai mare de  $90^\circ$  [Kung ș.a., *Assessment and Interpretation of Surface Wettability Based on Sessile Droplet Contact Angle Measurement: Challenges and Opportunities. Advanced Materials Interfaces*, 6, 1900839, 2019, Bhushan & Jung, *Micro-and nanoscale characterization of hydrophobic and hydrophilic leaf surfaces. Nanotechnology M*, 2758, 2006]. Suspensiile de produse pe bază de nanomateriale silicioase naturale trebuie deci să aibă capacitatea de a acoperi și de a forma pelicule atât suprafețe hidrofobe, cât și suprafețe hidrofile, pentru a le proteja față de efectul factorilor de stres biotici și abiotici.

Aplicarea soluțiilor/suspensiilor apoase pe suprafețele hidrofobe este dificilă, deoarece prin însăși structura lor aceste suprafețe resping picăturile de soluții/suspensii apoase. Soluția cunoscută la această problemă este utilizarea unor agenți tensioactivi. Există o serie de dezavantaje ale acestei soluții cunoscute. Depunerile pe organele aeriene ale plantelor ale soluțiilor/suspensiilor apoase pulverizate, în care sunt incluși agenți tensioactivi pot fi prea subțiri și pot aluneca de pe suprafețele hidrofobe. În plus, aceleași soluții/suspensii apoase pot fi extrem de subțiri și cu o scurgere extrem de rapidă de suprafețele hidrofile co-țintite. Astfel, în ceea ce privește suprafețele hidrofile, agenții tensioactivi agricoli convenționali (dispersanți/agenți de dispersie) pot genera o supra-etalare a picăturilor pe suprafața organelor plantelor hidrofile și determină astfel scurgerea produselor de pe suprafețele tratate.

În cazul aplicării suspensiilor/soluțiilor lichide pe suprafețele hidrofile ale organelor aeriene ale plantelor, problemele tehnice sunt mai puține, deoarece aceste suprafețe sunt mai ușor umectabile. Principala problemă tehnică întâlnită în cazul aplicării prin pulverizare a lichidelor pe suprafețele hidrofile este fenomenul cunoscut sub numele de supra-umectare, care duce la supra-dispersie și la scurgerea pe sol a mai mult de două treimi din soluția/suspensia pulverizată pe organele aeriene ale plantelor. Una din soluțiile practice la această problemă este reducerea volumelor de aplicare/pulverizare. Dar această soluție a volumelor reduse are dezavantajul de a crește riscul acoperirii ne-uniforme/incomplete a întregului coronament tratat.

Aceste probleme tehnice sunt importante și în cazul formării peliculelor din particule de materiale naturale nanosilicioase. Există două tipuri de soluții tehnice utilizate în prezent pentru a îmbunătăți formarea peliculei de particule pe suprafețele țintă/organele aeriene ale plantelor. Una dintre acestea este de a îmbunătăți retenția soluțiilor/suspensiilor aplicate ca tratament pe suprafața organelor aeriene ale plantelor prin utilizarea substanțelor adezive. A doua soluție este utilizarea de agenți de dispersie pentru a îmbunătăți capacitatea de acoperire a soluțiilor/suspensiilor aplicate pe diferite tipuri de suprafețe specifice părților aeriene ale plantelor.

Brevetul **US 6514512 B1** revendică utilizarea nanomaterialelor silicioase naturale pentru formarea unei pelicule de particule pe suprafața organelor plantelor. Pelicula formată funcționează și ca suport pentru eliberarea treptată a unor ingrediente active cu rol de anti-dăunători și/sau de anti-fitopatogeni. Formularea include adezivi și dispersanți uzuali. Aceștia nu s-au dovedit însă suficienți de eficienți pe toate tipurile de suprafețe, așa cum este arătat și în cererea de brevet **EP 1924141 A2**.

Cererea de brevet **EP 1924141 A2** descrie o compoziție care cuprinde: (a) până la 99,80% în greutate sau mai puțin dintr-unul din nanomaterialele naturale silicioase; (b) agent de dispersie care are și caracteristici adezive și caracteristici de generator de peliculă, și opțional (c) cel puțin un agent de volumizare. Agentul de dispersie care are și caracteristici

# RO 135626 B1

1 adevize și caracteristici de generator de peliculă, este alcoolul polivinilic, cu masa moleculară  
2 de cel puțin 85 kDa. Alternativ, agentul de dispersie multifuncțional poate fi și un derivat de  
3 celuloză. Agenții generatori de volum revendicați sunt gelatină, poliacrilamide, poliacriilați,  
4 poliamine, clorură de polidialilmetilamoniu, dietilamina epiclorhidrinei.

5 Unul din dezavantajele alcoolului polivinilic și/sau ale derivaților de celuloză ca agenți  
6 multifuncționali, dispersanți, peliculizanți și adevizi, este tendința lor prea ridicată de a forma  
7 pelicule, care determină aglomerări și neuniformități ale peliculelor de particule din nano-  
8 materiale silicoase.

9 Un alt dezavantaj al utilizării nanomaterialelor silicoase naturale, diatomită, zeoliți sau  
10 nanoargile, pentru tratamentele foliare, este determinat de dificultatea aplicării lor pe scară  
11 largă. Pulberile de prăfuit nu permit o acoperire corespunzătoare a foliajelor pomilor fructiferi  
12 [Puterka ș.a., *Progress toward liquid formulations of particle films for insect and*  
13 *disease control in pear. Environmental Entomology, 29, 329-39, 2000, Glenn & Puterka,*  
14 *Particle films: a new technology for agriculture. Horticultural reviews, 31, 1-44, 2005]*  
15 și generează riscuri pentru sănătatea muncitorilor care aplică astfel de produse [Zhang ș.a.,  
16 *Perturbation of physiological systems by nanoparticles. Chemical Society Reviews,*  
17 *43, 3762-809, 2014].* Suspensiile de diatomită, zeolit sau caolin în apă sunt instabile și dificil  
18 de pulverizat. Aceste materiale naturale nanosilicioase au numeroase grupări hidroxil, care  
19 interacționează puternic prin legături de hidrogen și produc aglomerări care înfundă duzele  
20 de stropit. Este deci necesară dezvoltarea unor formulări ale materialelor naturale nano-  
21 silicioase care să formeze suspensii (relativ) stabile în apă, cu caracteristici de curgere care  
22 să facă posibilă aplicarea prin pulverizare.

23 Una din soluțiile tehnice pentru această problemă este cea de hidrofobizare (parțială)  
24 a nanomaterialelor silicioase naturale hidrofile. Procedeu prezentat în brevetul **US 6514512**  
25 **B1** reduce numărul de grupări libere hidroxil (Si-OH) transformându-le în legături siloxanice  
26 (Si-O-Si) prin sinterizare/calcinare și prin adăugarea pe suprafața exterioară calcinată a unor  
27 materiale alese din grupul constând din titații organici, zirconat organic, fluide siliconice  
28 modificate și/sau acizi grași și săruri ale acestora. Cererea de brevet **US 2017164610 A1** se  
29 referă la un produs pe bază de diatomită modificată prin silanizare. Silanizarea se realizează  
30 prin reacția cu un silan cu formula  $R_nSiX_{4-n}$ , în care n este egal cu 0-3, R este o grupare  
31 funcțională organică, iar X este o grupare hidrolizabilă. Silanul revendicat este clorură de 3-  
32 (trimetoxisilil) propildimetil-octadecil amoniu. Prin silanizare diatomita își îmbunătățește  
33 sensibil suspendabilitatea în apă, permițând o mai bună aplicare prin stropire. Datorită  
34 folosirii unui produs chimic de sinteză, procedeul nu este însă compatibil cu sistemele de  
35 agricultură ecologică/organică. În cazul aplicării aceste soluții de silanizare se pierde unul  
36 din avantajele importante ale diatomitei, respectiv acceptarea ei ca produs permis pentru  
37 agricultura ecologică/organică.

38 O altă soluție este folosirea agenților tensioactivi și/sau a pseudo-emulgatorilor.  
39 Brevetul **EP 1885184 B1** prezintă o compoziție de materiale naturale nanosilicioase a căror  
40 dispersabilitate a fost crescută prin: purificare prin flotare; reducerea dimensiunii particulelor  
41 până la 3 μm; depunerea pe suprafața particulelor a unor surfactanți, de preferință alchil-  
42 fenoli etoxilați. Cererea de brevet **US 2012172222 A1** descrie o compoziție care include 95-  
43 99,9% zeoliți și 0,1-5% aditivi care conferă caracteristici îmbunătățite ale dispersibilității într-  
44 un mediu apos. Aditivii sunt: homopolimerii sau copolimeri acrilici în dispersie apoasă sau  
45 sărurile acestora, lignosulfonat de sodiu sau amestecuri de componente, cum ar fi sarea de  
46 sodiu a acidului sulfonat-diizopropilnaftalenic, acidul naftalensulfonic și alcoolii primari  
47 etoxilați. Și în aceste cazuri utilizarea produselor chimice de sinteză face ca produsul rezultat  
48 să nu fie compatibil cu sistemele de agricultură organică, pierzându-se unul din avantajele  
49 materialelor silicioase naturale.

Un dezavantaj general al tuturor formulelor cunoscute de produse cu aplicare foliară pe bază de nanomateriale naturale silicioase este faptul că aceste produse se depun în cantitate redusă pe dosul frunzelor. Stimularea fotosintezei de către nanomaterialele naturale silicioase este datorată capacității acestor materiale de a lega reversibil și de a concentra bioxidul de carbon [Mphande ș.a., *The potential of antitranspirants in drought management of arable crops: A review. Agricultural Water Management*, **236**, **18**, **2020**]. Dar densitatea stomatelor este diferită pe partea inferioară frunzelor la plantele dicotiledonate [Vaten & Bergmann, 2012, Marchi ș.a., *Mechanisms of stomatal development: an evolutionary view. EvoDevo*, **3**, **11**, **2008**], iar majoritatea plantele horticole perene (pomi fructiferi, vița-de-vie), cărora le sunt destinate tratamentele cu produse formatoare de peliculă de particule sunt dicotiledonate.

Este de asemenea, necesar din punct de vedere practic ca formulările acestor materiale naturale nanosilicioase să nu se limiteze la a fi aplicabile prin pulverizare, ci să determine și creșterea selectivității față de organismele non-țintă. Acțiunea de protecție a foliajului plantelor față de agenții dăunători nu este determinată de compoziția chimică, ci de caracteristicile fizice, respectiv de capacitatea ridicată de absorbție a acestor materiale naturale silicioase, cu un raport foarte mare suprafață-volum [Korunic, 1998, Nakhli ș.a., 2017]. Acest raport mare suprafață-volum, rezultat ca urmare a existenței diferitelor tipuri de nanostructuri poroase în componența diatomitei, zeoliților și a nanoargilelor, favorizează absorbția lipidelor din cuticula insectelor, reducând eficacitatea acesteia ca barieră de permeabilitate pentru apă [Korunic, *Diatomaceous earths, a group of natural insecticides. Journal of Stored Products Research*, **34**, **87-97**, **1998**, De Smedt ș.a., *Potential and actual uses of zeolites in crop protection. Pest Management Science*, **71**, **1355-67**, **2015**]. Efectul abraziv amplifică distrugerea cuticulei insectelor și accelerează deshidratarea acestora. Apa eliberată din insecte este reținută de grupările hidrofile din componența porilor nanomaterialelor silicioase. O acțiune desicantă similară este implicată și în efectul de limitare a dezvoltării fungilor [De Smedt ș.a., *Potential and actual uses of zeolites in crop protection. Pest Management Science*, **71**, **1355-67**, **2015**].

Efectul de deshidratare se produce însă și asupra frunzelor și insectelor benefice - prădători din familia *Coccinellidae* de exemplu: [Ulrichs ș.a., *Efficacy of neem and diatomaceous earth against cowpea aphids and their deleterious effect on predating Coccinellidae. Journal of Applied Entomology*, **125**, **571 -5**, **2001**]. Deci sunt necesare formulări prin care să crească selectivitatea acțiunii desicante a nanomaterialelor naturale silicioase. În cazul plantelor, stresul hidric suplimentar indus de acțiunea acestor materiale naturale nanosilicioase ar putea fi compensat de o eliberare mai accelerată a siliciului solubil din astfel de structuri. Siliciul solubil (acid ortosilicic  $H_4SiO_4$  și dimerii/trimerii săi) care s-ar elibera din nanomaterialele silicioase are o acțiune de biostimulant pentru plante [Savvas & Ntatsi, *Biostimulant activity of silicon in horticulture. Scientia Horticulturae* **196**, **66-81**, **2015**] și ar putea determina creșterea toleranței la stresul hidric. Nanomaterialele silicioase eliberează însă lent siliciul solubil [Duboc ș.a., *Silicon Availability from Chemically Diverse Fertilizers and Secondary Raw Materials. Environmental Science & Technology* **53**, **5359-68**, **2019**], iar pentru a accelera această eliberare sunt necesare procedee de activare care să nu afecteze posibilitatea de a certifica pentru agricultura ecologică produsele rezultate.

Principala problemă tehnică pe care o rezolvă această invenție este de a realiza o compoziție de produs pe bază de nanomateriale naturale silicioase cu aplicare foliară care să formeze o peliculă continuă pe frunze.

# RO 135626 B1

1 Un obiect al acestei invenții este acela de a descrie o compoziție pe bază de mate-  
riale nanosilicioase, diatomită și zeolit, care să formeze suspensii (relativ) stabile în apă, cu  
3 caracteristici de curgere care să facă posibilă aplicarea prin pulverizare.

Un alt obiect al acestei invenții este acela de a obține o compoziție pe bază de  
5 materiale nanosilicioase, diatomită și zeolit, care să elibereze lent siliciul solubil, în special  
acid silicic  $H_4SiO_4$ , care să fie stabilizat, pentru a preveni policondensarea/polimerizarea sa  
7 și a menține efectul de biostimulant pentru plante.

Un alt obiect al acestei invenții este acela de a obține o compoziție prin care se  
9 amplifică efectul de biostimulant pentru plante al siliciului și se crește concomitent  
selectivitatea pentru insectele utile, prădători din familia *Coccinellidae*.

11 Un alt obiect al acestei invenții este acela de a dezvolta un procedeu de aplicare care  
să favorizeze formarea de pelicule de particule de nanomateriale, atât pe partea inferioară,  
13 cât și pe cea superioară a frunzelor.

Compoziția, conform invenției, este alcătuită din: 82-84 g nanomaterial natural silicios  
15 măcinat umed la moară coloidală până la 10 microni, 12-15 g nanoparticule de chitosan pe  
care s-au grefat 120-150 mg de acid ferulic, 2-3 g lecitină, 11-12 mg nanoparticule seleniu,  
17 restul până la 100 g fiind apă reziduală.

Nanochitosanul pe care s-a grefat acidul ferulic provine din chitosan fungal, cu masa  
19 moleculară de 200-220 kDa și cu un grad de deacetilare de 85-90%, care a fost activat cu  
acid ascorbic și apă oxigenată, în raport masic de 500:17:108, și pe care s-a grefat acid  
21 ferulic, în sinteză în flux, la temperatura de 45°C și la un raport al fluxurilor de 1 ml de soluție  
1% chitosan în acid acetic 2% la 0,1 ml de acid ferulic în soluție alcoolică de 96%.

23 Procedeu de aplicare, conform invenției implică aplicarea unei suspensii de 1% din  
compoziția conform invenției, într-o normă de stropire care variază între 400 și 600 L/ha,  
25 prin utilizarea unor dispozitive de stropire electrostatice, care generează picături de  
80-120 microni în diametru, încărcate prin aplicarea unui câmp electric pulsatoriu de 4 kV.

27 Avantajele compoziției și a procedurii conform invenției sunt următoarele:

29 - compoziția formează o peliculă continuă de (nano)particule pe frunze datorită  
efectului pelicologen al chitosanului;

31 - materialul silicios natural este menținut în suspensie datorită efectului emulgator al  
chitosanului grefat cu acid ferulic și al lecitinei;

33 - compoziția pulverizată se distribuie uniform pe toată suprafața frunzei, inclusiv pe  
partea inferioară a frunzelor, acolo unde densitatea stomatelor este mai ridicată la frunzele  
dicotiledonate;

35 - aderența la diferitele tipuri de suprafețe este sensibil îmbunătățită datorită caracterului  
amfifil al nanochitosanului grefat cu polifenoli;

37 - solubilitatea chitosanului în apă este semnificativ mărită, datorită grefării acidului  
ferulic;

39 - este facilitată eliberarea siliciului solubil din nanomaterialele silicioase naturale,  
diatomită, zeoliți, nanoargile, datorită măririi suprafeței și a grupărilor Si-OH libere, prin  
41 măcinare umedă în mori cu bile;

43 - stresul hidric care rezultă din destabilizarea cuticulei plantelor este compensat prin  
adăugarea unor ingrediente active care să determine o compensare a efectelor stresului  
hidric, respectiv chitosan (**Sajid ș.a., *Chitosan-based foliar application modulated the***  
45 ***yield and biochemical attributes of peach (Prunus persica L.) ev. Early Grand. Bulletin***  
**of the National Research Centre, 44, 1-11, 2020) și seleniu (Ahmad ș.a., *Selenium (Se)***  
47 ***improves drought tolerance in crop plants-a myth or fact?, Journal of the Science of***  
**Food and Agriculture, 96, 372-80, 2016), care-și adaugă efectul la cel al siliciului solubil;**

- seleniul (Se) este adăugat sub formă de nano-seleniu zerovalent, care are avantajul de a fi mai puțin toxic și de a elibera lent formele de seleniu bioactiv [Constantinescu-Aruxandei ș.a., <i>Selenium analysis and speciation in dietary supplements based on next-generation selenium ingredients. Nutrients</i> , <b>10</b> , 1466, 2018];	1
- aplicarea compoziției care conține și Se întârzie eliberarea compușilor volatili atractanți pentru insectele prădătoare, datorită interferării cu metabolismul poliaminelor [Turakainen ș.a., <i>Impact of selenium enrichment on seed potato tubers. Agricultural and Food Science</i> <b>17</b> , 278-88, 2008] implicate în generarea unor astfel de compuși atractanți [Ozawa ș.a., <i>Exogenous polyamines elicit herbivore-induced volatiles in lima bean leaves: involvement of calcium, H2O2 and Jasmonic acid. Plant and cell physiology</i> , <b>50</b> , 2183-99, 2009], iar întârzierea eliberării compușilor volatili atractanți pentru insectele prădătoare (de exemplu: coccinelide), reduce expunerea acestora la produsele care conțin nanomateriale silicioase desicante;	3
- produsele realizate conform invenției sunt multifuncționale, având și o activitate de biostimulant de creștere, datorită eliberării treptate de siliciu solubil, și o acțiune de matrice de eliberare retard a nutrienților cationici, datorită grupărilor anionice de pe suprafață.	5
Un efect suplimentar al siliciului solubil este cel de activare echilibrată a căilor metabolice implicate în mecanismele de apărare [Van Bockhaven ș.a., <i>Towards establishing broad-spectrum disease resistance in plants: silicon leads the way. Journal of Experimental Botany</i> , <b>64</b> , 1281-93, 2012], care este sinergică cu cea exercitată de formele active de seleniu [Emam ș.a., <i>Effect of selenium and silicon on yield quality of rice plant grown under drought stress. Australian Journal of Crop Science</i> , <b>8</b> , 596, 2014] și de chitosan [Pichyangkura & Chadchawan, <i>Biostimulant activity of chitosan in horticulture. Scientia Horticulturae</i> , <b>196</b> , 49-65, 2015] și determină creșterea toleranței plantelor la factorii de stres biotici și abiotici și la activarea metabolismului secundar și acumularea de compuși bioactivi în fructe [du Jardin, <i>Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. Scientia Horticulturae</i> , <b>196</b> , 3-14, 2015].	7
În continuare se prezintă exemple de realizare care ilustrează invenția fără a o limita.	9
<b>Exemplul 1</b>	11
În recipientul de măcinat de 250 ml din oțel inox, al unei mori cu bile (de exemplu, P100 Retsch, Verder Scientific, Haan, Germania) s-au adăugat 84 g de diatomită (Adamclisi, Constanța), 15 bile de inox de 20 mm și 75 ml apă, în recipientul de 250 al unei mori cu bile (de exemplu, P100 Retsch, Verder Scientific). S-au amestecat intermitent timp de 10 min - 1 min prin măcinare, 1 min pauză, timp efectiv de măcinare 5 min. După cele 10 min de măcinare intermitentă, materialul nanosilicios și apa s-a trecut cantitativ într-o coloană de reacție de 250 ml. După umplerea coloanei de reacție, prin aceasta s-au trecut, cu ajutorul unei pompe peristaltice, 300 ml soluție 5% de nanoparticule de chitosan grefat cu acid ferulic. S-a continuat trecerea la un debit de 15 ml/min prin coloană până când toată cantitatea de nanochitosan este reținută în masa de diatomită - fapt reliefat de lipsa absorbției la 330 nm, lungime de undă specifică pentru complexul chitosan - acid ferulic. Nano-chitosanul pe care s-a grefat acidul ferulic provine din chitosan fungal, cu masa moleculară de 200-220 kDa și cu un grad de deacetilare de 85-90%, care a fost activat cu acid ascorbic și apă oxigenată, în raport masic de 500:17:108, și pe care s-a grefat acid ferulic, în sinteză în flux, la temperatura de 45°C și la un raport al fluxurilor de 1 ml de soluție 1% chitosan în acid acetic 2% la 0,1 ml de acid ferulic în soluție alcoolică de 96%. Peste patul de nanomaterial silicios/diatomită din coloana de reacție, în care s-a reținut nanochitosanul grefat cu acid ferulic, s-au adăugat, cu o pompă peristaltică, la un debit de 3 ml/min, 150 ml de soluție	13
	15
	17
	19
	21
	23
	25
	27
	29
	31
	33
	35
	37
	39
	41
	43
	45
	47

# RO 135626 B1

1 1 mM selenit de sodiu. Apariția unei culori cărămizii ilustrează formarea nanoparticulelor de  
2 seleniu zerovalent. Pasta formată de materialul natural nanosilicios, chitosanul cuplat cu acid  
3 ferulic și nanoseleniu s-a uscat timp de 4 h la 80°C (la etuvă, de exemplu: F115, Binder,  
4 Tuttlingen, Germania). După cele 4 h s-au luat cele circa 100 g material uscat și s-au  
5 amestecat treptat cu 150 ml soluție alcoolică care conține 2,8 g de lecitină-lecitină cu o  
6 balanță hidrofil-lipofilă HLB de 4 (de exemplu: Yelikin<sup>®</sup>, Archer Daniels Midland, Decatur, IL,  
7 SUA). Apoi are loc granularea pe sită, iar produsul rezultat este uscat timp de 4-5 h - de  
8 exemplu: într-un uscător cu tăvi la presiune normală și la temperatură de maximum 60°C.

9 Conținutul de siliciu total și seleniu total s-a determinat în probe prin ICP-OES (sistem  
10 Optima 2100 DV, Perkin Elmer, Waltham, MA, SUA). S-au determinat valori de 542 ± 42,5  
11 mg/g Si și 10,32 ± 1,17 mg/g Se. Distribuția dimensiunii nanoparticulelor de seleniu s-a  
12 determinat prin folosirea tehnicii non-invazive de împrăștiere a luminii laser de fundal  
13 (Zetasizer Nano ZS, Malvern Instruments, Malvern, Marea Britanie). S-a determinat o distri-  
14 buție de nanoparticule hibride cu dimensiuni cuprinse între 52 și 104 nm. Populația de nano-  
15 particule este omogenă, cu un diametru dominant de 84 nm, volum de maximum de 35,4%.  
16 Stabilitatea nanoparticulelor a fost estimată prin determinarea potențialului zeta, prin elec-  
17 troforeză capilară cuplată cu măsurarea mobilității particulelor prin efect Doppler (Zetasizer  
18 Nano ZS). S-a determinat o valoare de - 34 ± 8,7 mV, valoare care indică o bună stabilitate  
19 a populației de nanoparticule de seleniu zerovalent.

## Exemplul 2

21 Se procedează la fel ca în exemplul 1, cu următoarele diferențe. Se folosește zeolit  
22 natural (Rupea, Brașov); se iau 86 g de produs, iar soluția de chitosan este de 4%. S-au  
23 determinat, în final, valori de 368,2 ± 27,4 mg/ml Si și 9,4 ± 1,28 mg/ml Se, pentru conținutul  
24 în siliciu total și seleniu total, cu o distribuție de nanoparticule de Se de dimensiuni cuprinse  
25 între 62 și 136 nm. Populația de nanoparticule este omogenă, cu un diametru dominant de  
26 92 nm, volum maxim de 27,2%.

## Exemplul 3

27 Se procedează la fel ca în exemplul 1, cu următoarele diferențe. S-a folosit argilă  
28 caolinoasă (Tibrinu, Negru Vodă, Constanța). S-au luat 85 g produs, grame de produs, iar  
29 soluția de chitosan este de 4%. S-au determinat în final valori de 308,5 ± 54,42 mg/ml Si și  
30 9,6 ± 1,82 mg/ml Se, pentru conținutul în siliciu total și seleniu total, cu o distribuție de  
31 nanoparticule de Se de dimensiuni cuprinse între 82 și 123 nm. Populația de nanoparticule  
32 este omogenă, cu un diametru dominant de 98 nm, volum maxim de 23,3%.

## Exemplul 4

35 S-au testat produsele realizate conform exemplului 1 și exemplului 2, comparativ cu  
36 un produs care are doar zeolit foliar în compoziția sa. S-au tratat arbori de piersic, soi  
37 Catherine Sel 1, amplasați la SCA Constanța (Valul lui Traian), Lat. 44°, 10'38,05" N, Lon  
38 28°C, 29', 4,54", pe un sol cu deficit semnificativ de seleniu [Oancea ș.a., 2014]. Tratamentul  
39 s-a aplicat la sfârșitul lunii mai. La 14 zile de la tratament s-a determinat pe frunzele arborilor  
40 tratați: fotosinteza netă, transpirația, concentrația de CO<sub>2</sub> substomatal, intensitatea radiației  
41 active fotosintetice și temperatura (la nivelul frunzei). Determinările au fost efectuate cu un  
42 sistem portabil LCproT Advance (ADC Bioscientific, Herts, UK). Rezultatele sunt prezentate  
43 în tabelul 1 de mai jos, ca medie a determinărilor pe 10 frunze. Rezultatele demonstrează  
44 că, în urma aplicării compozițiilor rezultate din exemplul 1 și exemplul 2, procesul de  
45 fotosinteză de la piersic este îmbunătățit, datorită optimizării temperaturii la nivelul frunzei  
46 și creșterii concentrației de CO<sub>2</sub> substomatal.



# RO 135626 B1

*Efectul compozițiilor dezvoltate conform exemplul 1 și exemplul 2,  
aplicate ca tratament foliar la frunzele de piersic, asupra unor caracteristici  
specifice fotosintezei*

1

3

Tabelul 1

Parametru fiziologic	Martor netratat cu nanomateriale silicioase	Compoziție de referință - produs comercial zeolit	Compoziție conform exemplul 1	Compoziție conform exemplul 2
Radiația activă fotosintetic ( $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	1306 $\pm$ 57a	1208 $\pm$ 34b	1245 $\pm$ 42ab	1264 $\pm$ 38ab
Temperatura frunzei ( $^{\circ}\text{C}$ )	34,8 $\pm$ 0,7a	33,7 $\pm$ 0,8ab	32,6 $\pm$ 0,7b	32,4 $\pm$ 0,6b
Transpirație ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	4,72 $\pm$ 0,35a	4,63 $\pm$ 0,27a	4,41 $\pm$ 0,32ab	4,22 $\pm$ 0,24b
Conductanță stomatală ( $\text{mmol CO}_2 \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	0,301 $\pm$ 0,02a	0,262 $\pm$ 0,01b	0,245 $\pm$ 0,01c	0,232 $\pm$ 0,02c
Fotosinteza netă ( $\text{mmol CO}_2 \text{m}^{-1}\text{s}^{-1}$ )	14,3 $\pm$ 0,8ab	13,4 $\pm$ 0,7b	14,9 $\pm$ 0,7a	15,3 $\pm$ 0,5a
Concentrație $\text{CO}_2$ substomatal	562 $\pm$ 52ab	508 $\pm$ 47a	582 $\pm$ 39a	628 $\pm$ 32a

5

7

9

11

13

15

17

19

# RO 135626 B1

## Revendicări

1

3

1. Compoziție peliculizantă cu aplicare foliară pe bază de nanomateriale silicioase naturale și chitosan, **caracterizată prin aceea că**, este constituită din: 82...84 părți în greutate nanomaterial natural silicios măcinat umed într-o moară coloidală până la 10 microni, 12...15 părți în greutate nanoparticule de chitosan pe care s-au grefat 120...150 mg de acid ferulic, 2...3 părți în greutate lecitină, 11...12 mg nanoparticule seleniu, restul până la 100 părți în greutate fiind apă reziduală.

9

2. Compoziție peliculizantă cu aplicare foliară, conform revendicării 1, **caracterizată prin aceea că**, pe nanoparticulele de chitosan cu dimensiunea de 10 microni provenite din chitosan fungal cu masa moleculară de 200...220 kDa și un grad de deacetilare de 85...90% activat cu acid ascorbic și apă oxigenată într-un raport masic 500:17:108, s-a grefat acid feluric în sinteză în flux la o temperatură de 45°C și la un raport al fluxurilor de 1 parte soluție 1% chitosan în acid acetic 2% la 0,1 părți acid ferulic în soluție alcoolică de 9%, părțile fiind exprimate în volum.

11

13

15

17

19

21

3. Procedeu de aplicare al compoziției peliculizantă cu aplicare foliară pe bază de nanomateriale silicioase naturale, conform invenției, **caracterizat prin aceea că**, se aplică o suspensie de 1% din compoziția conform revendicării 1, într-o normă de stropire care variază între 400 și 600 L/ha, prin utilizarea unor dispozitive de stropire electrostatice, care generează picături de 80...120 microni în diametru, încărcate prin aplicarea unui câmp electric pulsatoriu de 4 kV.



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM  
Tipărit la Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci  
sub comanda nr. 343/2023