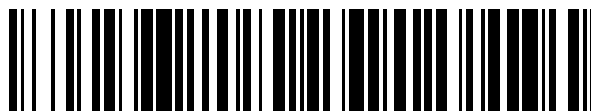


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 547 451**

51 Int. Cl.:

**C05D 3/00** (2006.01)

**C05G 3/08** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.02.2006** **E 06735550 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.07.2015** **EP 1851183**

54 Título: **Uso de polisulfuro de calcio, polisulfuro de potasio, tiosulfato de calcio y tiosulfato de magnesio como inhibidores de la ureasa**

30 Prioridad:

**22.02.2005 US 61508**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**06.10.2015**

73 Titular/es:

**TESSENDERLO KERLEY, INC. (100.0%)**  
**2255 N. 44TH STREET, SUITE 300**  
**PHOENIX, AZ 85008-3279, US**

72 Inventor/es:

**HOJJATIE, MICHAEL MASSOUD;**  
**LOCKHART, CONSTANCE LYNN FRANK;**  
**CLAPP, JOHN GARLAND y**  
**FAIRWEATHER, THOMAS DAVID**

74 Agente/Representante:

**UNGRÍA LÓPEZ, Javier**

**ES 2 547 451 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Uso de polisulfuro de calcio, polisulfuro de potasio, tiosulfato de calcio y tiosulfato de magnesio como inhibidores de la ureasa

5

**Campo de la invención**

La presente invención se dirige al perfeccionamiento de la eficacia de la urea y de los fertilizantes que contienen urea. En particular, la invención se dirige al uso de los inhibidores de la ureasa en combinación con fertilizantes que contienen urea para reducir significativamente las pérdidas potenciales de nitrógeno debido a la volatilización del amoníaco.

10

**Descripción de la técnica relacionada**

La urea, un sólido blanco cristalino que contiene un 46% de nitrógeno, es ampliamente utilizada en la industria agrícola como fertilizante nitrogenado. Se estima que la producción mundial de urea ha superado los 83 millones de toneladas en 2002-2003 y que tiene un valor de \$13,3 miles de millones. Comercialmente, se puede comprar urea fertilizante como perlas o como un material granulado. La urea puede ser aplicada al suelo como sólido o como una solución acuosa. La solución acuosa de urea puede también ser aplicada a ciertos cultivos como una pulverización foliar. El alto contenido en nitrógeno de la urea (46%) ayuda a reducir los costes de manipulación, almacenamiento y transporte con respecto a otras formas secas de nitrógeno. La urea, cuando se aplica apropiadamente, da como resultado incrementos en el rendimiento de los cultivos iguales a los de otras formas de nitrógeno en el fertilizante.

15

La urea contiene el mayor contenido en N de los fertilizantes granulares, emplea el mínimo de energía y crea el mínimo de polución durante su fabricación, y es el fertilizante de N seco más barato. Tradicionalmente, no se recomendaba el uso de urea para superficies de suelos sin labrar. Sin embargo, la estabilidad de la urea está recibiendo una mayor atención debido a un mayor aumento en la producción de cultivos sin labranza o con una labranza mínima. En la producción de cultivos sin labranza o con labranza mínima, se depositan los materiales fertilizantes sobre la superficie del suelo, contrariamente a la colocación en el suelo para las operaciones de lecho de semillas convencionales. Además, la mejor estabilidad de la urea tiene importantes implicaciones de eficacia del nitrógeno para la industria de los céspedes, donde se ponen los productos fertilizantes sobre la superficie del suelo y del césped.

20

El nitrógeno de la urea puede perderse en la atmósfera si la urea del fertilizante permanece sobre la superficie del suelo durante periodos prolongados de tiempo durante el clima cálido. La degradación de la urea puede comenzar a producirse tan pronto como se aplica al suelo. Típicamente, la urea no se degrada si el suelo está totalmente seco. Sin embargo, en presencia de la enzima ureasa y de una pequeña cantidad de humedad en el suelo, la urea normalmente se hidroliza a amoníaco y dióxido de carbono. Esto puede ocurrir en 2 a 4 días, más rápidamente sobre suelo de pH elevado y a una temperatura más alta.

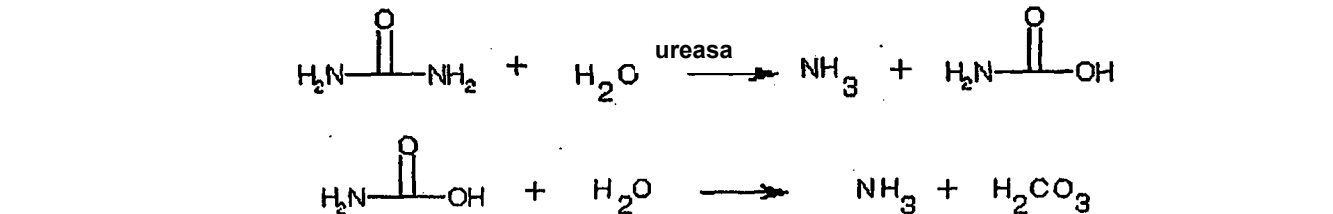
25

La ureasa, una metaloenzima dependiente del níquel, cataliza la hidrólisis de la urea a amoníaco y carbamato. El carbamato se hidroliza entonces espontáneamente para formar ácido carbónico y una segunda molécula de amoníaco. A pH fisiológico, el protón del ácido carbónico se disocia y las moléculas de amoníaco se equilibran con agua, con lo cual se protonan y se produce un aumento neto en el pH.

30

La ureasa, una metaloenzima dependiente del níquel, cataliza la hidrólisis de la urea a amoníaco y carbamato. El carbamato se hidroliza entonces espontáneamente para formar ácido carbónico y una segunda molécula de amoníaco. A pH fisiológico, el protón del ácido carbónico se disocia y las moléculas de amoníaco se equilibran con agua, con lo cual se protonan y se produce un aumento neto en el pH.

35



La velocidad de la hidrólisis catalizada es  $10^{14}$  veces la velocidad de la reacción no catalizada. Las ureasas dependientes de níquel se encuentran en una amplia gama de organismos diferentes; muchas han sido aisladas de diversas bacterias, hongos y plantas superiores.

40

La metaloenzima ureasa cataliza la hidrólisis de la urea a amoníaco y carbamato. Los estudios cristallográficos de rayos X de la enzima revelan que el sitio activo está compuesto por el centro diníquel separado en 3,5 Å. Los dos iones níquel están unidos mediante un puente formado por un grupo carboxilato de un residuo de lisina carbamylado y una molécula de agua o un ion hidróxido. La geometría alrededor de un ion níquel [Ni(1)] queda mejor descrita como piramidal cuadrada distorsionada con coordinación además de dos residuos de histidina de la proteína y una molécula de agua coordinada terminalmente; la posición está sólo parcialmente ocupada por una molécula de agua y se considera que es un probable candidato para unir urea en la catálisis. Una molécula de agua coordinada

45

La metaloenzima ureasa cataliza la hidrólisis de la urea a amoníaco y carbamato. Los estudios cristallográficos de rayos X de la enzima revelan que el sitio activo está compuesto por el centro diníquel separado en 3,5 Å. Los dos iones níquel están unidos mediante un puente formado por un grupo carboxilato de un residuo de lisina carbamylado y una molécula de agua o un ion hidróxido. La geometría alrededor de un ion níquel [Ni(1)] queda mejor descrita como piramidal cuadrada distorsionada con coordinación además de dos residuos de histidina de la proteína y una molécula de agua coordinada terminalmente; la posición está sólo parcialmente ocupada por una molécula de agua y se considera que es un probable candidato para unir urea en la catálisis. Una molécula de agua coordinada

50

La metaloenzima ureasa cataliza la hidrólisis de la urea a amoníaco y carbamato. Los estudios cristallográficos de rayos X de la enzima revelan que el sitio activo está compuesto por el centro diníquel separado en 3,5 Å. Los dos iones níquel están unidos mediante un puente formado por un grupo carboxilato de un residuo de lisina carbamylado y una molécula de agua o un ion hidróxido. La geometría alrededor de un ion níquel [Ni(1)] queda mejor descrita como piramidal cuadrada distorsionada con coordinación además de dos residuos de histidina de la proteína y una molécula de agua coordinada terminalmente; la posición está sólo parcialmente ocupada por una molécula de agua y se considera que es un probable candidato para unir urea en la catálisis. Una molécula de agua coordinada

55

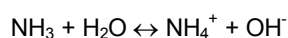
La metaloenzima ureasa cataliza la hidrólisis de la urea a amoníaco y carbamato. Los estudios cristallográficos de rayos X de la enzima revelan que el sitio activo está compuesto por el centro diníquel separado en 3,5 Å. Los dos iones níquel están unidos mediante un puente formado por un grupo carboxilato de un residuo de lisina carbamylado y una molécula de agua o un ion hidróxido. La geometría alrededor de un ion níquel [Ni(1)] queda mejor descrita como piramidal cuadrada distorsionada con coordinación además de dos residuos de histidina de la proteína y una molécula de agua coordinada terminalmente; la posición está sólo parcialmente ocupada por una molécula de agua y se considera que es un probable candidato para unir urea en la catálisis. Una molécula de agua coordinada

60

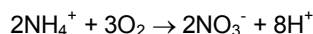
terminalmente, un residuo de aspartato adicionalmente ligado y dos residuos de histidina completan las esferas de coordinación del segundo ion níquel [Ni(2)], lo que da lugar a una geometría pseudooctaédrica para Ni(2). Los centros de níquel están en el estado diamagnético estable Ni(II); por lo tanto, el papel del Ni en la ureasa puede ser esencialmente catalítico sin involucrar necesariamente a la química redox (Mack, E. y Villars, D. S., J. Am. Chem. Soc., 45, 505-510, 1923; Karplus, P.A., Pearson, M.A. y Hausinger, R.P., Acc. Chem. Res., 30, 330-337, 1997).

Tras hidrólisis en condiciones básicas, la urea se convierte en carbonato de amonio  $[(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3]$ . El carbonato de amonio es inestable y se descompone en  $\text{NH}_3$ , agua y  $\text{CO}_2$ . Cuando la hidrólisis de la urea tiene lugar sobre la superficie del suelo, el  $\text{NH}_3$  puede escaparse a la atmósfera. Dicho escape a la atmósfera se denomina volatilización del amoníaco. Este tipo de pérdida de fertilizante nitrogenado no se produce si se ponen la urea o los materiales que contienen urea por debajo de la superficie del suelo, como en las operaciones típicas de lecho de semillas. La colocación directa de la urea por debajo de la superficie del suelo es la forma más segura para evitar la pérdida de nitrógeno por volatilización del amoníaco. También se minimizan las pérdidas de nitrógeno si hay lluvia poco después de una aplicación a la superficie o si se aplica agua de irrigación por encima.

Cuando se le pone en el ambiente del suelo, el amoníaco sufre además la siguiente reacción:



Muchos cultivos prefieren nitrato en lugar de amonio. Una vez formado el amonio, las pérdidas por volatilización no constituyen un factor y el nitrógeno puede ser utilizado para el crecimiento de los cultivos directamente o puede convertirse en nitrógeno de nitrato por los microorganismos del suelo. Esta conversión se produce rápidamente en presencia de bacterias y puede dar lugar a un exceso de nitrógeno de nitrato en el ambiente del suelo. Con objeto de prevenir esta rápida conversión, se han desarrollado inhibidores de la nitrificación para inhibir la actividad bacteriana. Por ejemplo, las bacterias Nitrosomas del suelo transforman el amoníaco en anión nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ), el cual a su vez es oxidado para formar un anión nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) por las bacterias Nitrobacter y Nitrosolobus, como se indica a continuación:



La velocidad de nitrificación es más rápida en suelos con valores de pH de entre 7 y 8 y disminuye al disminuir los valores de pH.

Los inhibidores de la ureasa evitan o reducen la transformación del nitrógeno amida de la urea en amoníaco. Ralentizan la velocidad de hidrólisis de la urea y reducen la volatilización del amoníaco. Los inhibidores de la nitrificación retrasan la oxidación del amoníaco disminuyendo la actividad de las bacterias del suelo responsables de la nitrificación.

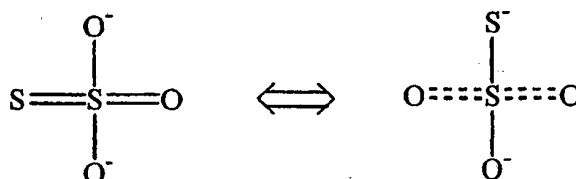
Se han promocionado numerosos productos como inhibidores de la nitrificación e inhibidores de la ureasa. Por ejemplo, la diciandiamida (DCD) y la 2-cloro-6-(triclorometil)piridina (nitrapirina) no son sino dos ejemplos de inhibidores de la nitrificación.

De forma similar, se han estudiado muchos compuestos, incluyendo compuestos orgánicos, materiales inorgánicos, iones metálicos, compuestos organofosforados y agentes químicos agrícolas, como inhibidores de la ureasa del suelo. (Bock, B. R. y D. E. Kissel, Ammonia Volatilization from Urea Fertilizers. Bulletin Y-206, National Fertilizer Development Center, TVA, Muscle Shoals, AL. 1988). Por ejemplo, se describe la inhibición de la ureasa en fertilizantes basados en urea por compuestos de fósforo en EP 119.494, EP 0.119.495, EP 0.119.487, WO/02/083697, WO/97/022568, Patente Estadounidense N° 5.883.297, Patente Estadounidense N° 5.698.003, Patente Estadounidense N° 4.824.783, Patente Estadounidense N° 4.696.693, Patente Estadounidense N° 4.676.822, Patente Estadounidense N° 4.629.491, Patente Estadounidense N° 4.624.695, Patente Estadounidense N° 4.618.691, Patente Estadounidense N° 4.540.428, Patente Estadounidense N° 4.539.037, Patente Estadounidense N° 4.537.614, Patente Estadounidense N° 4.530.714, Patente Estadounidense N° 4.518.413, Patente Estadounidense N° 4.517.007, Patente Estadounidense N° 4.517.004, Patente Estadounidense N° 4.517.003, Patente Estadounidense N° 4.517.002, Patente Estadounidense N° 4.932.992 y Patente Estadounidense N° 4.242.325.

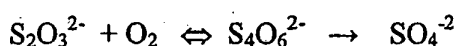
Un inhibidor de la ureasa de éxito comercial es preferiblemente (1) ambiental y toxicológicamente seguro en un conjunto razonable de condiciones de manipulación, (2) no fitotóxico, (3) altamente activo y específico para la enzima ureasa, (4) efectivo en cuanto a costes, (5) no volátil y compatible con una amplia gama de materiales fertilizantes y (6) con una movilidad similar a la de la urea. La triamida N-(n-butil)tioposfórica (NBPT) y el fosfato de 3,4-dimetilpirazol (DMPP) no son sino dos ejemplos de inhibidores de la ureasa. La NBPT está comercializada bajo la denominación comercial Agrotain® de Agrotain International, St. Louis, MO, y se piensa que es el único inhibidor de la ureasa actualmente comercializado en los Estados Unidos.

El ion tiosulfato,  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ , es un análogo estructural del ion  $\text{SO}_4^{2-}$  en el que un átomo de oxígeno está substituido por un átomo de S. Sin embargo, los dos átomos de azufre del tiosulfato no son equivalentes. Uno de los átomos de S

es un átomo de tipo sulfuro que da al tiosulfato sus propiedades reductoras y capacidades acomplejantes. El otro átomo de S está en un estado de oxidación de +6 y se comporta como un sulfato.



5 Los tiosulfatos se oxidan fácilmente a ditionato, luego a tetrationato y finalmente a sulfatos, según la siguiente secuencia:



10 Esta transformación hace a los tiosulfatos útiles como fertilizantes, especialmente en combinación con cationes tales como amonio, potasio, calcio y magnesio.

15 El tiosulfato es un importante intermediario en el ciclo microbiano del azufre en suelos y sedimentos (LeFaou, A., Rajagopal, B.S., Fauque, G., FEMS Microbial Review, 75, 351-382, 1990). Se ha sugerido (Sullivan, D. M., Havlin, J. L., Soil Sci. Soc. Am. J., 56, 957-960, 1992) que el tetrationato podría ser el inhibidor real de la ureasa del suelo por reacción con los grupos -SH de la ureasa de la judía sable para formar un derivado S-sulfo, como sigue:



25 El tiosulfato de amonio (ATS) ha sido utilizado conjuntamente con urea y productos fertilizantes que contienen urea con el fin de reducir la pérdida de nitrógeno. Por ejemplo, se ha sugerido que la adición de ATS a una solución fertilizante de urea y nitrato de amonio (UAN) puede ralentizar las velocidades de hidrólisis de la urea tras su aplicación al suelo (Sullivan, D.M. y Havlin, J. L., Soil Sci. Soc. Am. J., 56, 957-960, 1992). El ATS se oxida al tetrationato, y el tetrationato y minerales, tales como el Mn del suelo, ralentizan la hidrólisis de la urea. La ralentización de la velocidad de hidrólisis de la urea normalmente reduce la velocidad de volatilización del amoníaco (Sullivan, D.M. y Havlin, J. L., *ibid*, 56, 950-956, 1992).

30 Sin embargo, la actividad de inhibición de la ureasa del tiosulfato de amonio no es observada en todas las circunstancias. Por ejemplo, el ATS era ineficaz cuando se aplicaba sobre un mantillo vegetal, un rastrojo de trigo o un residuo de cultivo (Goos, R.J., 1987. Proceedings of the 17th N. Central Extension Industry Soil Fertility Workshop, 28-29 de octubre de 1987). Esto podría ser debido al mecanismo de la inhibición de la ureasa, que puede requerir la presencia de ciertos cationes metálicos. El tiosulfato de potasio (KTS) no mostró inhibición de la ureasa.

35 Además, estudios de incubación a 25°C con marga de William (Agriboroll típico) ilustraron que el ion tiosulfato inhibe la nitrificación (Goos, R. J. *ibid*, 49, 233-235, 1985). Un estudio independiente ilustró que la inclusión de un 5 por ciento en volumen de un ATS líquido de grado comercial en la UAN inhibía la nitrificación en un 51% en una incubación de 28 días (Goos, R.J., *ibid*, 49, 233-235, 1985). La adición de ATS y APP (polifosfato de amonio) a una mezcla fertilizante líquida con UAN reducía las pérdidas de amonio (Fairlie, T.J. y Goos, R. J., J. Fertilizer Issues, 3, 86-90, 1986).

45 Los efectos del contenido en agua del suelo (capacidad de campo y punto de marchitamiento), del tamaño de gótila del fertilizante líquido y de la adición de ATS a UAN sobre la hidrólisis de la urea en dos suelos (Loamy Sand y Vertic Haplaquolls) fueron estudiados por Goos y Fairlie (Fairlie, T.J. y Goos, R. J., Soil. Sci. Soc. Am. J., 52, 522-524(1988). Con la adición de ATS, la hidrólisis de la urea era más lenta en el punto de marchitamiento que la capacidad de campo en ambos suelos. El aumento del tamaño de gótila del fertilizante ralentizó aún más la hidrólisis de UAN.

50 Se vio que la combinación de polisulfuro de amonio (APS) con UAN no tenía ningún efecto sobre la nitrificación, mientras que la combinación de UAN y polifosfato de amonio (APP) mostró sólo un efecto débil. Sin embargo, el ATS ralentizó significativamente la nitrificación de UAN (Goos, R.J., Voss, R. P. y Fairlie, T.J., Sulfur in Agriculture, 10, 2-5, 1986).

55 La aplicación de tiosulfato al suelo inhibe la nitrificación del suelo. (Saad, O.A.L.O, Lehmann, S. y Conrad, R, Biol Fertl Soils, 21, 152-159, 1996). Sin embargo, la concentración de  $\text{NO}_3^-$  no se reduce. El tiosulfato se degradó en los suelos estudiados, en condiciones tanto aerobias como anaerobias. Se forma un intermediario tetrationato, pero se agota eventualmente. Este resultado estaba de acuerdo con la sugerencia de Janzen y Bettany (Janzen, H. H. y Bettany, J. R., Soil Sci. Soc. Am. J., 50, 803-806, 1986) de que el tetrationato, más que el tiosulfato, puede ser el

inhibidor efectivo de la nitrificación. También confirmó que la acumulación de  $\text{NO}_2^-$  estaba probablemente causada por inhibición de la oxidación.

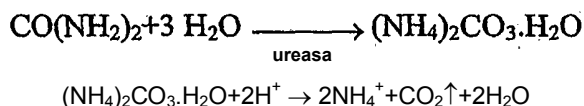
5 La aplicación de ATS al suelo es menos efectiva que la aplicación de dicianidamida (DCD) en la prevención de la nitrificación de una solución de urea en franjas o UAN (Goos, R. J. y Johnson, B.E., Commun. Soil Sci. Plant Anal., 23, 1105-1117, 1992). Sin embargo, la volatilización del amoníaco a partir de urea y mezclas de urea/ATS con suelo mostraron que el ATS no es un inhibidor efectivo de la ureasa. En lugar de ello, la reducción de la pérdida de amoníaco a partir de mezclas de urea/ATS, en comparación con la urea sola, parecía deberse primariamente a dilución de la urea y a algo de tamponación del pH a partir de la fuente de nitrógeno de pH neutro no volátil (ATS), a la acidez que el ATS puede formar tras la aplicación al suelo y al aumento en el calcio intercambiable (Kissel, D.E., Qafoku, N., Cabrera, M., University of Georgia, 1999).

15 Los nitratos y cloruros de Ca y Mg reducen la volatilización del amoníaco de los suelos tras aplicación superficial de urea. Los sulfatos de estos metales alcalinotérreos eran sólo ligeramente efectivos en la reducción de la volatilización del amoníaco. Esta reducción de la volatilización del amoníaco era el resultado de dos efectos: (1) precipitación de  $\text{CO}_3^{2-}$  por el  $\text{Ca}^{++}$ , evitando así la formación de carbonato de amonio volátil, y (2) depresión por calcio del pH del suelo por depresión de la disociación de los sistemas tampón  $\text{CaCO}_3/\text{Ca}(\text{OH})_2$  (Fenn, L.B., Taylor, R.M. y Matocha, J. E., Soil Sci. Soc. Am. J., 45, 776-781, 1981).

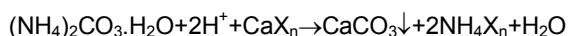
20 La disminución en el calcio y el magnesio intercambiables y solubles causada por precipitación de  $\text{CaCO}_3$  y  $\text{MgCO}_3$  se relaciona con la disminución en la pérdida de amoníaco a partir del nitrógeno aplicado al suelo (Fenn, L.B., Miyamoto, S., Soil Sci. Soc. Am. J., 45, 537-540, 1981).

25 El Ca intercambiable del suelo reacciona con carbonato de amonio  $[(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3]$  producido por hidrólisis de la urea para formar carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ). El carbonato de amonio puede elevar temporalmente el pH del suelo por encima de 9 en suelos tanto ácidos como calcáreos. La reacción del Ca soluble en la solución de suelo puede suprimir el aumento de pH inducido por carbonato de amonio. La precipitación de  $\text{CaCO}_3$  permite que el catión amonio ocupe de manera no competitiva los sitios de intercambio vaciados por los iones calcio. El amonio unido a un sitio de intercambio está protegido frente a la pérdida por volatilización. La adición de sales solubles de calcio a la urea puede reducir la volatilización del amoníaco en hasta un 90%.

35 El efecto del pH del suelo sobre la volatilización del amoníaco es mínimo a un pH bajo del suelo (aproximadamente 3,5), pero aumenta rápidamente al aumentar el pH hasta 8,5 (He, Z. L., Alva, A.K., Calvert, D. V. y Banks, D.J., Soil Science, 164, 750-758, 1999). La ureasa también cataliza la siguiente reacción:



40 En presencia de sales de calcio, el carbonato de calcio precipita como sigue:



45 En suelos ácidos, los valores iniciales del pH en presencia de Ca pueden ser demasiado bajos para la precipitación del  $\text{CaCO}_3$ . La hidrólisis inicial de la urea, por lo tanto, se producirá en un ambiente ácido fuerte. La precipitación del  $\text{CaCO}_3$  se produce sólo si el pH ha aumentado por encima de 7.

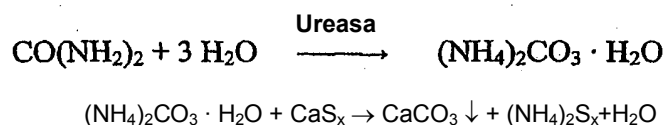
50 La precipitación del carbonato de calcio y la depresión resultante del pH del suelo reducen la velocidad de hidrólisis de la urea añadida y, por lo tanto, reducen la pérdida de amoníaco (Fenn, L.B., Matocha, J.E. y Wu, E. Soil Sci. Soc. Am. J., 45, 1129-1131, 1981).

Por otro lado, a elevado pH y en ausencia de sal de calcio:



60 En suelos con un pH mayor de 7, el equilibrio se desplaza hacia la izquierda debido a mayores concentraciones de  $\text{OH}^-$ , y se forma amoníaco gaseoso y se pierde por difusión hacia la atmósfera.

Se ha teorizado que el ion calcio puede reaccionar con el carbonato de amonio formado por hidrólisis de la urea tras catálisis con la enzima ureasa para precipitar carbonato de calcio y amonio (Fenn, L.B., Taylor, R.M. y Matocha, J.E., Soil Sci. Soc Am Journal, id.) según las siguientes rutas:



5 El cloruro de calcio mezclado con un fertilizante que contiene urea retrasa el inicio de la volatilización del amoníaco tras la aplicación del fertilizante y reduce la velocidad de pérdida de nitrógeno máxima (Sloan, J. J., Anderson, W. B., Commun. Soil Sci. Plant Anal., 26, 1995).

10 La lixiviación del nitrato hacia las aguas freáticas ha llamado la atención de los funcionarios de salud pública. Por lo tanto, es deseable la reducción de la velocidad de nitrificación. La nitrificación del amoníaco a nitrato introduce nitrato en el suelo, desde el cual el nitrato se lixivia después hacia las aguas freáticas próximas.

15 Las técnicas conocidas para mejorar la eficacia de suministro de nitrógeno de los fertilizantes de urea por reducción de la pérdida de nitrógeno debida a la volatilidad del amoníaco no reducen la velocidad de nitrificación. Por lo tanto, sigue habiendo necesidad de un método para mejorar la eficacia de suministro de nitrógeno para los fertilizantes de urea que minimice la producción de restos que contienen nitrógeno volátiles, tales como el amoníaco, y que reduzca la velocidad de nitrificación.

20 Se describe un dispositivo para un fertilizante de liberación lenta basado en amonio para alimentación de plantas de bajo nivel de nitratos que consiste en un cuerpo hueco con una abertura en EP 0.356.755. El cuerpo hueco está lleno del fertilizante de amonio.

25 Se describen agentes para mejorar la utilización del nitrógeno de los fertilizantes minerales y/u orgánicos que contienen urea en EP 1.183.220. Estos agentes comprendían compuestos de alquilo, arilo y aralquilamino.

La Patente Europea número 0.476.550 describe una bola de aditivos para el suelo para el suministro de nitrógeno libre de nitratos a plantas consistente en yeso para ralentizar la volatilización de la urea.

30 Se describen revestimientos poliméricos para la liberación controlada de fertilizantes en EP 0.357.687, WO/89/003,811, Patente Estadounidense N° 6.262.183 y Patente Estadounidense N° 5.435.821.

35 Se describe un fertilizante de urea revestido de azufre en la Patente Estadounidense N° 5.599.374, la Patente Estadounidense N° 4.676.821, la Patente Estadounidense N° 6.475.259, la Patente Estadounidense N° 5.653.782, la Patente Estadounidense N° 5.478.375, la Patente Estadounidense N° 5.423.897, la Patente Estadounidense N° 5.300.135, Estadounidense H1085 y la Patente Estadounidense 4.481.308.

Se describen fertilizantes de urea que contienen un inhibidor de la ureasa que contiene nitrato metálico en GB 2.285.803.

40 Se describe el uso de un material de revestimiento, unión y sellado, tal como aceite de palma, para un fertilizante de urea en GB 2.164.640.

45 Se describen el aceite de ricino y aceites deseados de plantas como inhibidores de la ureasa y de la nitrificación de fertilizantes nitrogenados en las Patentes Estadounidenses N° 6.315.807 y 4.932.991.

Se describe un inhibidor de la ureasa consistente en un compuesto hidroxitiol en JP 11/000.165.

50 Se describe el uso de compuestos heterocíclicos como inhibidores de la ureasa en WO/00/061.522 y en la Patente Estadounidense N° 4.954.156.

Se usa el ácido bórico o su sal como inhibidor antagonista de la ureasa con fertilizantes de urea en JP 59/151.900 y en la Patente Estadounidense N° 4.462.819.

55 Por lo tanto, aunque muchas técnicas son eficaces para reducir la volatilidad del amoníaco, existe una continua necesidad de un método para aumentar la eficacia del nitrógeno de los fertilizantes de urea de aplicación superficial y foliar reduciendo los efectos adversos de liberación de nitrógeno de la ureasa. Es decir, existe necesidad de un método de aumento de la eficacia de suministro de nitrógeno de los fertilizantes que contienen urea por inhibición de la catálisis por la ureasa de la hidrólisis de la urea a amoníaco y carbonato de amonio, el cual se convierte también en amoníaco.

60 **Descripción detallada de la invención**

La invención se dirige a un método para aumentar la eficacia de suministro de nitrógeno de los fertilizantes que contienen urea de aplicación superficial y foliar por inhibición de la acción catalítica de la ureasa sobre la hidrólisis de

la urea para formar amoníaco volátil. En particular, la invención se dirige a un método para inhibir el efecto catalítico de la ureasa mediante la aplicación de una cantidad inhibidora de la ureasa de polisulfuro de calcio, polisulfuro de potasio, tiosulfato de calcio, tiosulfato de magnesio o una mezcla de los mismos, junto con o poco después de la aplicación de un fertilizante que contiene urea. La invención también reduce la volatilidad de cualquier amoníaco o ion amonio que se forme.

Los inventores han descubierto que el polisulfuro de calcio, el polisulfuro de potasio, el tiosulfato de calcio, el tiosulfato de magnesio y sus mezclas, en las cantidades indicadas a continuación, son efectivos para inhibir el efecto catalítico de la ureasa sobre la hidrólisis de la urea a amoníaco. Por lo tanto, estos compuestos son efectivos para aumentar el suministro de nitrógeno o el índice de utilización de los fertilizantes que contienen urea por inhibición del efecto catalítico de la ureasa y por reducción de la volatilidad del amoníaco y de los iones amonio. Mientras que el uso de tiosulfato de calcio y tiosulfato de magnesio como fertilizante es conocido, los inventores han descubierto que el uso de estos compuestos, de polisulfuro de calcio, de polisulfuro de potasio y de sus mezclas, en combinación con fertilizantes que contienen urea es eficaz para inhibir la hidrólisis catalizada por ureasa. Este descubrimiento es inesperado y sorprendente considerando el hecho de que se ha visto que el tiosulfato de amonio no inhibe la actividad ureasa. Además, la presencia de iones tiosulfato proporciona el beneficio adicional de inhibición de la nitrificación.

Según el método de la invención, se aplica una cantidad inhibidora de la ureasa de polisulfuro de calcio, polisulfuro de potasio, tiosulfato de calcio, tiosulfato de magnesio o una mezcla de los mismos poco antes, junto con, o poco después, de la aplicación de un fertilizante que contiene urea. La cantidad inhibidora de la ureasa de estos compuestos es significativamente menor que la cantidad de, por ejemplo, tiosulfato de calcio o tiosulfato de magnesio usado como fertilizante.

Según el método de la invención, se aplican entre aproximadamente 0,45 y 4,5 kg (1 y 10 libras) de polisulfuro de calcio, polisulfuro de potasio, tiosulfato de calcio, tiosulfato de magnesio o una mezcla de los mismos por 45 kg (100 libras) de urea al suelo que se ha de fertilizar o al follaje de las plantas que se han de fertilizar. Preferiblemente, se aplican entre aproximadamente 1,13 y 4,5 kg (2,5 y 10 libras), y más preferiblemente entre aproximadamente 2,25 kg y 4,5 kg (5 y 10 libras), de polisulfuro de calcio, polisulfuro de potasio, tiosulfato de calcio, tiosulfato de magnesio o una mezcla de los mismos por 45 kg (100 libras) de urea.

Se puede aplicar el compuesto, o la mezcla de compuestos, inhibidor de la ureasa poco antes, junto con, o poco después, de la aplicación del fertilizante que contiene urea. Se puede aplicar el compuesto inhibidor de la ureasa en cualquier momento en relación con la aplicación de un fertilizante que contiene urea, siempre que la urea y el compuesto inhibidor de la ureasa permanezcan sin degradar o sin usar. El compuesto inhibidor de la ureasa es aplicado poco antes, junto con, o después, de la aplicación del fertilizante que contiene urea, ya que el compuesto está preferiblemente en contacto directo con la urea. Los expertos reconocen que cuanto más largo sea el período entre la aplicación del fertilizante que contiene urea y la aplicación del compuesto inhibidor de la ureasa según el método de la invención, menos efectivo será el método de la invención para aumentar la eficacia de suministro de nitrógeno. Periodos más largos entre la aplicación de la urea y la aplicación del compuesto inhibidor de la ureasa dan una mayor degradación de la urea por la ureasa, lo que da lugar a una menor eficacia de suministro. Preferiblemente, por lo tanto, el compuesto inhibidor de la ureasa es aplicado simultáneamente a, o inmediatamente antes o después de, la aplicación del fertilizante que contiene urea. Más preferiblemente, el compuesto inhibidor de la ureasa es administrado simultáneamente al fertilizante que contiene urea.

El método de la invención es adecuadamente usado con cualquier fertilizante que contenga urea. Los expertos reconocen que dichos fertilizantes pueden estar en forma de sólidos, tales como perlas o gránulos, o en solución acuosa. Cualquiera de tales fertilizantes que contienen urea puede ser eficazmente tratado según el método de la invención.

Los expertos reconocen que el polisulfuro de calcio, el tiosulfato de calcio, el polisulfuro de potasio y el tiosulfato de magnesio son sólidos libremente solubles en agua. Las soluciones acuosas de estos compuestos pueden ser adquiridas comercialmente. Por ejemplo, el polisulfuro de calcio puede ser adquirido como una solución acuosa al 28-29 por ciento en peso bajo la denominación comercial CaPS® de Tessenderlo Kerley, Inc. De forma similar, el tiosulfato de calcio puede ser adquirido como una solución acuosa al 24 por ciento en peso bajo la denominación comercial CaTs® de Tessenderlo Kerley, Inc., el polisulfuro de potasio puede ser adquirido como una solución acuosa al 30 por ciento en peso bajo la denominación comercial K-Sul® de Tessenderlo Kerley Inc., y el tiosulfato de magnesio puede ser adquirido como una solución acuosa al 22-23 por ciento en peso bajo la denominación comercial MagThio®, también de Tessenderlo Kerley, Inc.

Por lo tanto, es posible llevar a la práctica realizaciones preferidas de la invención aplicando una mezcla sólida homogénea o una solución acuosa de fertilizante e inhibidor de la ureasa. Las mezclas sólidas homogéneas y las soluciones acuosas son formas convenientes de asegurar que el fertilizante de urea y el inhibidor de la ureasa se aplican simultáneamente. Se pueden preparar las mezclas sólidas homogéneas de urea con cualquiera de los inhibidores de la ureasa simplemente mezclando perlas de urea, o cualquier forma sólida de urea, con un inhibidor de la ureasa sólido o mezclas de los mismos. De forma similar, también se preparan convenientemente soluciones

acuosas de urea con polisulfuro de calcio, tiosulfato de calcio, polisulfuro de potasio, tiosulfato de magnesio o sus mezclas para uso según una realización preferida de la invención.

Los siguientes ejemplos ilustran la invención.

5

**Ejemplo 1**

El Ejemplo 1 ilustra la capacidad de cuatro compuestos aditivos para reducir la volatilización del amoníaco a partir de urea aplicada al suelo. Los cuatro compuestos son tiosulfato de calcio líquido (CaTs®), tiosulfato de potasio (KTS®), tiosulfato de amonio (Thio-Sul®) y polisulfuro de calcio (todos ellos de Tessengerlo Kerley Inc.). Los líquidos tienen las siguientes concentraciones en soluciones acuosas: tiosulfato de calcio, CaTs®, 24 por ciento en peso; tiosulfato de potasio, KTS®, 50 por ciento en peso; tiosulfato de amonio, ATS, 59 por ciento en peso; y polisulfuro de calcio, CaPS®, 28-29 por ciento en peso.

Se añadió la cantidad de compuesto aditivo mostrada en la Tabla 1 más adelante a una solución de urea de grado reactivo que tenía una concentración de urea de 13.850 microgramos de nitrógeno por 2 ml, junto con la cantidad deseada de compuesto. Esta concentración de urea fue seleccionada para que fuese equivalente a un índice de aplicación de 45 kg (100 lbs) de nitrógeno por acre. Se aplicaron una muestra estándar que contenía sólo urea a la misma concentración y un blanco no fertilizado (2 ml de agua destilada) también al suelo.

Se calcularon las cantidades de compuesto aditivo para que aportaran la cantidad deseada de ese compuesto apropiada para la aplicación de una solución al 50 por ciento p/v de urea (es decir, 50 gramos de urea por 100 ml de agua) para suministrar 45 kg (100 lbs) de nitrógeno por acre. Se usó cada compuesto aditivo a un 5 y un 10 por ciento del volumen de la solución de urea. Los tratamientos eran, por lo tanto, equivalentes a la aplicación de 198 litros (52,3 galones estadounidenses) de solución de urea por acre junto con 9,9 litros (2,6 galones estadounidenses) de compuesto aditivo a índice bajo o 19,8 litros (5,2 galones estadounidenses) a índice alto.

Se trató el suelo y se realizaron las mediciones del amoníaco según el siguiente método. Se usaron recipientes de plástico con un diámetro de 4,2 cm para este estudio. Se llenó cada recipiente con 60 g de un suelo arenoso y se humedeció con 12 ml de agua hasta un 86% de su capacidad de retención de agua. Todos los tratamientos fueron aplicados en superficie en 2 ml de solución, llevando el nivel de humedad hasta la capacidad de campo.

Los recipientes fueron sellados con una cubierta estanca al aire y se purgaron continuamente a un ritmo de 400 cm<sup>3</sup> por minuto, la velocidad de flujo de aire mínima que producía resultados reproducibles. Se humidificó el aire antes de la introducción haciéndolo burbujear a través de agua destilada y pasándolo después a través de un tapón de algodón para eliminar las gotitas de humedad. Se recogió el amoníaco desprendido pasando el aire a través de 50 ml de ácido sulfúrico 0,5 M. Esto fue suficiente para recoger 3 veces la cantidad total de nitrógeno añadido, asegurando que la solución nunca se saturara con amoníaco. Se determinaron las cantidades de amoníaco recogidas en las soluciones de ácido sulfúrico por el método del azul de indofenol.

Se realizaron las mediciones del amoníaco a los 2 y 7 días después de la aplicación. Cada tratamiento fue repetido dos veces; los valores de la Tabla 1 representan la media de los valores observados. Se expresan las cantidades de amoníaco recogidas como porcentaje del total aplicado.

45

Tabla 1

	0-2 días	% Pérdida 3-7 días	Total	Reducción en la pérdida (%)
CaTs®, 5%	15,9	0,5	16,4	36,6
KTS®, 5%	22,7	2,6	25,3	2,1
Thio-Sul®, 5%	17,6	2,0	19,6	24,4
CaPS®, 5%	2,8	3,6	6,4	75,2
CaTs®, 10%	16,3	3,5	19,8	23,4
KTS®, 10%	22,7	3,0	25,7	0,6
Thio-Sul®, 10%	13,2	4,1	17,3	33,1
CaPS®, 10%	4,0	2,7	6,7	74,2
Blanco	0,0	0,0	0,0	
Sólo urea	22,0	3,9	25,9	

Estos resultados indican que el KTS no tenía ningún efecto significativo sobre la volatilización del amoníaco. Todos los demás productos reducían la pérdida de amoníaco, siendo el polisulfuro de calcio el más efectivo.

50

**Ejemplo 2**

La volatilización del amoníaco es un proceso dependiente del pH, con menos volatilización a valores de pH más bajos. Por lo tanto, se consideraron cuatro compuestos aditivos para determinar si estos compuestos reducen la volatilización por acidificación del suelo.

55



Se determinaron los valores de pH de las ocho soluciones de urea y compuesto aditivo, el blanco y las soluciones únicamente de urea preparadas y usadas en el Ejemplo 1 antes de comenzar el experimento y se determinaron los valores de pH del suelo al final de un período de 7 días. Los resultados son los siguientes:

5 Tabla 2

Tratamiento		pH de la solución	pH del suelo
1	CaTs®, 5%	7,1	7,6
2	KTS®, 5%	7,2	7,7
3	Thio-Sul®, 5%	7,7	7,6
4	CaPS®, 5%	10,5	7,5
5	CaTs®, 10%	7,4	7,5
6	KTS®, 10%	7,2	7,6
7	Thio-Sul®, 10%	7,7	7,5
8	CaPS®, 10%	10,8	7,5
9	Blanco		7,3
10	Patrón de urea	8,4	7,6

10 Como puede verse por los datos, el polisulfuro de calcio aumentaba el pH de la solución. Por lo tanto, se habría esperado que el polisulfuro de calcio aumentara la volatilización del amoníaco, ya que un mayor pH típicamente da lugar a una mayor volatilidad del amoníaco. Sin embargo, el polisulfuro de calcio era el más efectivo en reducir la volatilización. Los otros tres compuestos elevaron el pH de la solución ligeramente. Como el tiosulfato de potasio elevaba el pH de la solución en la menor cantidad, se habría esperado que fuera más efectivo contra la volatilización del amoníaco, considerando sólo el pH de la solución. Sin embargo, el tiosulfato de potasio era el compuesto menos efectivo contra la volatilización del amoníaco.

15 La capacidad de un compuesto dado para inhibir la volatilización no guardaba relación con el efecto del compuesto sobre el pH de la solución. Ningún compuesto tenía un efecto observable sobre el pH del suelo. Los efectos de estos compuestos aditivos sobre la volatilización, por lo tanto, no se debían a la acidificación del suelo, sino a la inhibición de la actividad ureasa.

20 **Ejemplo 3**

25 Se comparó la eficacia del polisulfuro de calcio como inhibidor de la ureasa e inhibidor de la volatilización del amonio con la eficacia del polisulfuro de potasio para ilustrar el papel del calcio en la inhibición de la ureasa con urea aplicada al suelo. Los dos productos eran líquidos: polisulfuro de calcio (CaPS) y polisulfuro de potasio (K-Sul®, de Tessenderlo Kerley Inc.). Las concentraciones de las soluciones son del 28 por ciento en peso y del 30 por ciento en peso, respectivamente.

30 Se añadió la cantidad de compuesto aditivo indicada en la siguiente Tabla 3 a una solución de urea de grado reactivo que tenía una concentración de urea de 13.850 microgramos de nitrógeno por 2 ml, junto con la cantidad deseada de compuesto. Se seleccionó esta concentración de urea para que fuera equivalente a un índice de aplicación de 45 kg (100 lbs) de nitrógeno por acre. También se aplicaron al suelo una muestra estándar que contenía únicamente urea a la misma concentración y un blanco no fertilizado (2 ml de agua destilada).

35 Se calcularon las cantidades de compuesto aditivo para que aportaran la cantidad deseada de ese compuesto apropiada para aplicación de una solución al 50 por ciento p/v de urea (es decir., 50 gramos de urea por 100 ml de agua) para suministrar 45 kg (100 lbs) de nitrógeno por acre. Se aplicaron la urea y los compuestos aditivos al suelo según el método descrito en el Ejemplo 1.

40 Se añadió una solución de polisulfuro de calcio a razón de un 1, 2, 4 y 8 por ciento del volumen de la solución de urea. Se añadió K-Sul® a razón de un 5 y un 10 por ciento del volumen de la solución de urea. Se realizaron las mediciones del amoníaco a los 2 y 7 días tras la aplicación. Se repitió dos veces cada tratamiento; los valores de la Tabla 3 representan los valores medios de los datos observados. Las cantidades de amoníaco recogidas son expresadas como porcentaje del total que se aplicó.

45 Tabla 3

	0-2 días	% perdido 3-7 días	Total	Reducción en la pérdida (%)
CaPS®, 1%	22,79	9,27	32,06	13,37
CaPS®, 2%	18,96	8,47	27,43	25,89
CaPS®, 4%	16,82	4,53	21,35	42,31
CaPS®, 8%	9,26	7,19	16,46	55,53
K-Sul®, 5%	18,72	6,86	25,58	30,89
K-Sul®, 10%	12,89	9,47	22,36	39,61
Patrón	25,56	11,45	37,01	

Blanco 0,00 0,00 0,00

Estos resultados indican que ambos productos reducían la pérdida de amoníaco, siendo el CaPS más efectivo. La volatilización es reducida por los compuestos inhibidores de la ureasa. La eficacia de ambos productos aumentaba con su concentración.

5

**Ejemplo 4**

Dado que la volatilización del amoníaco es un proceso dependiente del pH, con menos volatilización a valores de pH más bajos, se consideraron los dos compuestos aditivos del Ejemplo 3 para determinar si estos compuestos reducen la volatilización por acidificación del suelo. Se aplicaron los compuestos al suelo según el método descrito en el Ejemplo 1.

Se determinaron los valores del pH de las seis soluciones de urea y compuesto aditivo, del blanco y de las soluciones únicamente de urea preparadas y usadas en el Ejemplo 3 antes del inicio del experimento y se determinaron los valores del pH del suelo al final del período de 7 días. Los resultados son los siguientes:

15

Tabla 4

	pH de la solución	pH del suelo
CaPS®, 1%	9,9	7,4
CaPS®, 2%	10,0	7,5
CaPS®, 4%	10,4	7,3
CaPS®, 8%	10,6	7,3
K-Sul®, 5%	11,1	7,3
K-Sul®, 10%	11,4	7,3
Blanco		6,7
Patrón de urea	9,0	7,5

Ambos materiales aumentaban el pH de la solución y, por lo tanto, se habría esperado que aumentasen la volatilización. Sin embargo, ambos productos eran efectivos en la reducción de la volatilización, lo que indica inhibición de la ureasa.

La inhibición de la volatilización no guardaba relación con el efecto de los productos sobre el pH de la solución o del suelo. El efecto de estos productos sobre la volatilización no se debe, por lo tanto, a acidificación del suelo, sino a la inhibición de la actividad ureasa.

En ambos estudios, el polisulfuro de calcio era un agente más efectivo en la inhibición de la ureasa y la volatilización del amoníaco que los productos tiosulfato (tiosulfato de calcio y tiosulfato de potasio). También era un mejor inhibidor de la ureasa, cuando se comparó con otro polisulfuro, es decir, el polisulfuro de potasio (K-Sul®).

Aunque el polisulfuro de calcio aumenta el pH de la solución y, por lo tanto, se habría esperado que aumentara la volatilización, este producto era muy efectivo. Aunque los inventores no desean inclinarse por teoría alguna, la capacidad del polisulfuro de calcio para formar un complejo con el ion níquel en la ureasa, una enzima que contiene níquel, puede inhibir la actividad ureasa.

Las disminuciones en el calcio intercambiable y soluble precipitado como CaCO<sub>3</sub> se relacionan con la caída en las pérdidas de amoníaco en el nitrógeno aplicado (Fenn *et.al.*, 1981). Aunque los solicitantes no desean inclinarse por la teoría, estas relaciones podrían ser una causa de la eficacia del polisulfuro de calcio en la inhibición de la actividad ureasa.

Como comparación, el polisulfuro de amonio, que contiene un ion amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) en lugar de ion calcio (Ca<sub>2</sub><sup>+</sup>), mostró menos actividad de inhibición de la ureasa que el polisulfuro de calcio.

El tiosulfato de calcio era más efectivo que el tiosulfato de potasio en la inhibición de la ureasa y la inhibición de la volatilización del amoníaco, pero menos efectivo que el polisulfuro de calcio. El tiosulfato de calcio mostró más actividad que el polisulfuro de amonio.

**Ejemplo 5**

50

Los siguientes tratamientos fueron llevados a cabo para comparar la eficacia de los restos de calcio y magnesio en el tiosulfato de calcio (CaTs®) y el tiosulfato de magnesio (MagThio®) (ambas denominaciones comerciales de Tessenderlo Kerley, Inc.).

En cada tratamiento, se añadió la cantidad apropiada de producto a una solución de urea de grado reactivo y se llevó a 100 ml en matraces volumétricos. Se ajustaron las concentraciones para asegurarse de que los 2 ml de cada

55

solución aportaran 13.850 microgramos de nitrógeno junto con la cantidad requerida de producto para aportar el equivalente de un índice de aplicación de 45 kg (100 lbs) de nitrógeno por acre. Una muestra estándar contenía sólo urea y se trató un blanco no fertilizado con 2 ml de agua destilada.

5 Los índices de producto eran equivalentes a la aplicación de una solución al 50% p/v de urea para suministrar 45 kg (100 lbs) de nitrógeno por acre. El producto CaTs® fue añadido a razón de un 2,5, 5 y 10 por ciento del volumen de la solución de urea. El producto MagThio® fue añadido a razón de un 5 y 10 por ciento del volumen de la solución de urea.

10 Se aplicaron la solución de urea y o bien CaTs® o bien MagThio® al suelo según el método descrito en el Ejemplo 1. Se realizaron las mediciones del amoníaco a los 2 y 7 días después de la aplicación. Cada tratamiento fue repetido tres veces.

15 En la siguiente Tabla 5 se presentan los resultados de las pruebas. Las cantidades de amoníaco recogidas son expresadas como porcentaje del nitrógeno total que se aplicó.

Tabla 5

	% perdido 0-2 días	3-7 días	Total	Reducción en la pérdida (%)
CaTs® (2,5)	22,90	8,80	31,70	6,07
CaTs® (5)	20,50	7,20	27,70	17,93
CaTs® (10)	15,80	5,65	21,45	36,44
MagThio® (5)	22,60	8,00	30,60	9,33
MagThio® (10)	19,40	5,60	25,00	25,93
Urea	25,50	8,25	33,75	
Blanco	0,00	0,00	0,00	

20 Estos resultados indican que ambos productos reducían la pérdida de amoníaco, siendo CaTs® más efectivo. Tal como se esperaba, la eficacia de ambos productos aumentaba con la concentración.

25 Los expertos reconocen que la técnica de purga continua usada en los Ejemplos 1-5 aumenta substancialmente la velocidad de pérdida de amoníaco. Por lo tanto, los datos ni predicen ni reflejan la cantidad de amoníaco que podría perderse en el campo. Sin embargo, los datos sí ilustran la eficacia del método de la invención en la reducción de la pérdida de amoníaco.

30 Los expertos también reconocen que el método de ensayo para los ejemplos 1-5 es adecuado para productos aplicados como líquidos, pero no resultaría adecuado para productos aplicados como sólido. Por ejemplo, se requiere un área superficial mayor para asegurarse de que las cantidades de materiales usadas dan resultados reproducibles. Además, la solución líquida de urea tiene disponibilidad inmediata para la degradación por la ureasa, mientras que la urea sólida probablemente se disuelve a lo largo de un periodo de tiempo. Se aplicaron e ilustraron estas consideraciones en el Ejemplo 6.

35 **Ejemplo 6**

El Ejemplo 6 ilustra la eficacia en la reducción de la pérdida de amoníaco de mezclas sólidas homogéneas de fertilizante de urea con inhibidor de la ureasa. Cada recipiente de ensayo tenía 14 cm de diámetro. Se pusieron 600 gramos de suelo arenoso humedecido al 85 por ciento de capacidad de retención de agua alrededor de un pequeño vial. La profundidad del suelo resultante era de 2 pulgadas.

El pequeño vial en el suelo contenía 5 ml de ácido sulfúrico 1M para recoger el amoníaco volátil. La cantidad de ácido era suficiente para recoger un 50 por ciento del nitrógeno aplicado al suelo.

45 Se aplicaron las mezclas sólidas homogéneas descritas en la Tabla 6 al suelo en una cantidad equivalente a 45 ó 90 kg (100 ó 200 lbs) de nitrógeno por acre. También se preparó un blanco no fertilizado. Se realizó cada aplicación tres veces; los datos indicados en la Tabla 6 son la media de las tres operaciones.

Tabla 6

50

Producto	Descripción	%N
A	Urea	46,6
B	Urea + 2,31% en peso de CaTs®	45,6
C	Urea + 3,26% en peso de CaTs®	44,2
D	Urea + 7,82% en peso de CaTs®	42,3
E	Urea + 3,26% en peso de MagThio®	44,7
F	Urea + CaPS®	34,4

G	Blanco	
---	--------	--

Se aplicaron las mezclas sólidas homogéneas y se sellaron los recipientes durante siete días. Al final de ese período, se retiró el ácido de cada recipiente y se analizó cuantitativamente para determinar la cantidad de nitrógeno (amoníaco) recogida. En la Tabla 6 se indica el resultado de esos análisis. Se puso otra alícuota de ácido en el vial en el suelo y se selló de nuevo el recipiente. Se repitió esta técnica hasta que no se recogió amoníaco en el ácido. Como se muestra en la Tabla 7, no se recogió nitrógeno durante el cuarto período de siete días y se finalizó la prueba.

Tabla 7

Material	kg (lbs) de N por acre	Amoníaco recogido, mg						% de N aplicado	% de reducción
		Día							
		2	7	14	21	28	Total		
A	45 (100)	0,14	2,32	0,78	0,00	0,00	3,25	2,07	
A	90 (200)	0,31	4,86	4,31	0,47	0,00	9,94	3,17	
B	45 (100)	0,13	1,37	0,93	0,00	0,00	2,42	1,54	25,6
B	90 (200)	0,18	3,30	1,15	0,00	0,00	4,63	1,48	53,3
C	45 (100)	0,13	1,82	1,02	0,01	0,00	2,97	1,90	8,4
C	90 (200)	0,29	4,02	4,11	0,37	0,00	8,80	2,80	11,5
D	45 (100)	0,10	1,28	0,19	0,00	0,00	1,57	1,00	51,8
D	90 (200)	0,38	4,54	3,89	0,38	0,00	9,19	2,93	7,6
E	45 (100)	0,12	1,51		0,00	0,00	2,54	1,62	21,7
E	90 (200)	0,32	3,91	4,04	0,41	0,00	8,68	2,77	12,6
F	45 (100)	0,13	2,27	0,23	0,00	0,00	2,63	1,68	18,8
F	90 (200)	0,44	4,39	3,77	0,27	0,00	8,87	2,83	10,7
G	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		

Como puede verse por los datos de la Tabla 7, CaTs<sup>®</sup>, MagThio<sup>®</sup> y CaPS<sup>®</sup> eran efectivos en la reducción de la volatilización del amoníaco. Aunque la cantidad de N perdido era pequeña y las pérdidas se producían a lo largo de un período mayor que en los ejemplos líquidos, quedó claramente mostrada la eficacia de los inhibidores de la ureasa. Por ejemplo, el CaTs<sup>®</sup> era más efectivo a una concentración más alta que a una concentración más baja cuando la concentración de N era baja, mientras que a una mayor concentración de N la concentración más baja de CaTs<sup>®</sup> era más efectiva. Sin embargo, a ambos índices de adición de N la eficacia de los productos no aumentó al aumentar el índice de adición de CaTs<sup>®</sup>.

Por lo tanto, el Ejemplo 6 demuestra que el inhibidor de la ureasa sólido es eficaz para reducir la pérdida de nitrógeno a partir de urea sólida. Las proporciones de nitrógeno perdido durante el período de ensayo eran muy inferiores para la urea y los inhibidores de la ureasa sólidos con respecto a la urea y los inhibidores de la ureasa líquidos. Tal como se describe aquí, se espera tal resultado.

Como la pérdida de nitrógeno era relativamente baja, algunos de los resultados eran anómalos. Por ejemplo, para algunos inhibidores de la ureasa, el porcentaje de reducción de la pérdida de nitrógeno era mayor a una concentración más alta de nitrógeno, pero, para otros inhibidores, era cierto lo contrario. Además, la prueba de CaTs<sup>®</sup> al 3,26% en peso usaba diferente suelo al de las pruebas al 2,31% en peso y con un 7.82% de humedad. Por lo tanto, estos resultados no son directamente comparables entre sí o con los resultados de los Ejemplos 1-5. Sin embargo, los datos de la Tabla 7 ilustran la eficacia del inhibidor de la ureasa de la invención.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Uso de una cantidad inhibidora de la ureasa de un compuesto seleccionado entre el grupo consistente en polisulfuro de calcio, polisulfuro de potasio, tiosulfato de calcio, tiosulfato de magnesio y sus mezclas para inhibir la actividad ureasa sobre un fertilizante que contiene urea aplicado al suelo o al follaje, donde el compuesto es aplicado al suelo o al follaje.
- 10 2. El uso de la reivindicación 1, donde la conversión catalizada por ureasa del fertilizante que contiene urea a amoníaco está inhibida.
3. El uso de la reivindicación 1, donde la pérdida de nitrógeno del fertilizante que contiene urea está inhibida.
- 15 4. El uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde el fertilizante que contiene urea está en solución acuosa con el compuesto inhibidor de la ureasa.
5. El uso de la reivindicación 4, donde la solución es aplicada al follaje.
- 20 6. El uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde el fertilizante que contiene urea está en mezcla sólida homogénea con el compuesto inhibidor de la ureasa.
7. El uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde la cantidad de compuesto inhibidor de la ureasa es de entre aproximadamente 0,45 kg (1 libra) y aproximadamente 4,5 kg (10 libras) por 45 kg (100 libras) de urea.
- 25 8. El uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde la cantidad de compuesto inhibidor de la ureasa es de entre aproximadamente 1,13 kg (2,5 libras) y aproximadamente 4,5 kg (10 libras) por 45 kg (100 libras) de urea.
9. El uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde la cantidad de compuesto inhibidor de la ureasa es de entre aproximadamente 2,25 kg (5 libras) y aproximadamente 4,5 kg (10 libras) por 45 kg (100 libras) de urea.
- 30 10. Un método de reducción de la pérdida de nitrógeno a partir de un fertilizante que contiene urea aplicado al suelo o al follaje, consistente en aplicar al suelo o al follaje un compuesto seleccionado entre el grupo consistente en polisulfuro de calcio, polisulfuro de potasio, tiosulfato de calcio, tiosulfato de magnesio y sus mezclas, donde la cantidad del compuesto es de entre 0,45 kg (1 libra) y 4,5 kg (10 libras) por 45 kg (100 libras) de urea.
- 35 11. El método de la reivindicación 10, donde el fertilizante que contiene urea está en solución acuosa con el compuesto inhibidor de la ureasa.
12. El método de la reivindicación 11, donde la solución acuosa es aplicada al follaje.
- 40 13. El método de la reivindicación 10, donde el fertilizante que contiene urea está en una mezcla sólida homogénea con el compuesto inhibidor de la ureasa.
- 45 14. El método de la reivindicación 10, donde la cantidad del compuesto es de entre 1,13 kg (2,5 libras) y 4,5 kg (10 libras) por 45 kg (100 libras) de urea.
15. El método de la reivindicación 10, donde la cantidad del compuesto es de entre 2,25 kg (5 libras) y 4,5 kg (10 libras) por 45 kg (100 libras) de urea.