

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 018 908**

51 Int. Cl.:

G01N 31/22 (2006.01)

G01N 33/84 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.01.2020** **PCT/IB2020/050250**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.07.2020** **WO20148640**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.01.2020** **E 20702381 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.03.2025** **EP 3911948**

54 Título: **Composiciones y métodos de análisis de suelos**

30 Prioridad:

15.01.2019 US 201962792542 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.05.2025

73 Titular/es:

PRECISION PLANTING LLC (100.00%)
23207 Townline Road
Tremont, IL 61568, US

72 Inventor/es:

PETROSKI, RICHARD y
NELSON, RACHEL

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 3 018 908 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

Composiciones y métodos de análisis de suelos

Referencias cruzadas a solicitudes relacionadas

5 Esta solicitud es una solicitud internacional PCT que reivindica el beneficio de la Solicitud de Patente Provisional de los Estados Unidos No. 62/792542, presentada el 15 de enero de 2019.

Antecedentes

El análisis del suelo de los campos agrícolas permite a un agricultor saber si hay suficientes cantidades de nutrientes en el suelo para plantar. Si uno o más nutrientes son deficientes, entonces el nutriente se puede agregar al suelo.

10 Típicamente, las muestras de suelo se obtienen a través de un sistema de bolsa y etiqueta en el que las muestras de suelo se obtienen de múltiples ubicaciones en un campo, se colocan en una bolsa, se etiquetan con la información de dónde se tomó la muestra de suelo en el campo, y luego se envían a un laboratorio para su análisis. Esto lleva tiempo, y el productor debe esperar los resultados de la prueba antes de poder tomar medidas.

15 Las pruebas de suelo actuales suelen ser laboriosas en el sentido de que las muestras de suelo se secan primero hasta obtener una humedad objetivo y luego se muelen para proporcionar un suelo seco de tamaño de partícula uniforme para la prueba. Esto añade tiempo de procesamiento y costes al procedimiento de prueba.

Hay muchas pruebas de suelo estandarizadas disponibles hoy en día, como la medición del pH con un medidor de pH y la medición de los nutrientes del suelo por espectroscopia atómica. Estas pruebas, sin embargo, fueron diseñadas para pruebas de laboratorio y no son adecuadas para un sistema de muestreo de suelo sobre la marcha.

20 Sería deseable analizar muestras de suelo sobre la marcha con pruebas de suelo que puedan proporcionar resultados mientras están en el campo.

Breve resumen

25 La invención proporciona en un primer aspecto un método para medir el pH de una lechada de suelo tal como se define en la reivindicación 1; el método comprende: a) la obtención de un extracto de suelo; b) añadir verde de bromocresol y amarillo de nitrazina en una proporción en peso de verde de bromocresol a amarillo de nitrazina de 0.11 a 100:1 al extracto del suelo para formar una mezcla; y c) medición de la absorbancia de la mezcla.

La invención proporciona en un segundo aspecto un método para medir el pH tampón de una lechada de suelo tal como se define en la reivindicación 7; el método comprende: a) obtener de un extracto de suelo; b) añadir un tampón al extracto del suelo; c) añadir rojo de metilo y azul de bromotimol en una proporción molar de 25:1 a 50:1 al tampón y al extracto del suelo para formar una mezcla; y d) medir de la absorbancia de la mezcla.

30 La presente invención no se limita expresamente a su uso con muestreo de suelo en cualquier ubicación particular, sino que puede usarse en cualquier ubicación.

Descripción detallada

35 Las características y beneficios de la invención se ilustran y describen en este documento haciendo referencia a realizaciones ejemplares ("ejemplo"). Esta descripción de realizaciones ejemplares está destinada a ser leída en relación con los dibujos adjuntos, que deben considerarse parte de la descripción escrita completa. De acuerdo con lo anterior, la divulgación expresa no debe limitarse a tales realizaciones ejemplares que ilustren alguna posible combinación no limitativa de características que puedan existir solas o en otras combinaciones de características.

40 Tal como se usa en todo el texto, los rangos divulgados en este documento se utilizan como abreviatura para describir todos y cada uno de los valores que se encuentran dentro del rango. Cualquier valor dentro del rango se puede seleccionar como el término del rango. En caso de conflicto entre una definición de la presente divulgación y la de una referencia citada, prevalecerá la presente divulgación.

45 Las composiciones y métodos que se describen a continuación se pueden utilizar con sistemas de muestreo de suelo sobre la marcha, tales como los descritos en la Publicación de Patentes de EE.UU. No. US2018/0124992, o en la Solicitud de EE. UU. No. 62/696,271, presentada el 10 de julio de 2018; 62/729,623, presentada el 11 de septiembre de 2018; y 62/745,606, presentada el 15 de octubre de 2018. Además, las pruebas y los métodos se pueden utilizar en un laboratorio. Cuando se utiliza en sistemas sobre la marcha, es deseable obtener resultados en un corto período de tiempo (más corto que las pruebas de laboratorio tradicionales) para que se puedan analizar múltiples muestras mientras se atraviesa el campo. Esto permite al productor ajustar las tasas de aplicación de nutrientes en tiempo real.

50 En una realización, los métodos siguientes se pueden utilizar en un sistema de análisis colorimétrico. Esto permite minimizar el equipo de prueba.

Prueba de pH

En el método del primer aspecto, tal como se define en la reivindicación 1, el pH se prueba utilizando una combinación de verde de bromocresol (2,6-dibromo-4-[7-(3,5-dibromo-4-hidroxi-2-metil-fenil)-9,9-dioxo-8-oxa-9λ6-tiabicclo[4.3.0]nona-1,3,5-trien-7-il]-3-metil-fenol, verde de bromocresol 3,3',5,5'-tetrabromo-m-cresolsulfonftaleína, CAS 76-60-8) con amarillo nitrazina de la sal disódica del ácido 2-(2,4-dinitrofenilazo)-1-hidroxinaftaleno-3,6-disulfónico, amarillo de nitrazol, de la sal disódica del ácido 2-(2,4-dinitrofenilazo)naftol-3,6-disulfónico, CAS 5423-07-4). En una realización, el pH se prueba utilizando una composición que incluye un extracto de suelo y verde de bromocresol y amarillo de nitrazina en una proporción en peso de verde de bromocresol a amarillo de nitrazina de 0.1:1 a 100:1. En otras realizaciones, se prueba el pH mediante el cual la relación en peso de verde de bromocresol a amarillo de nitrazina es de 0.2:1 a 20:1. En una realización, el pH se prueba utilizando una composición indicadora que tiene 0.01 % en peso a 0.02 % en peso de bromocresol verde, 0.0125 % en peso a 0.025 % en peso Amarillo de nitrazina, y un líquido. Un ejemplo no limitativo del líquido es el agua, pero se pueden utilizar otros líquidos.

En una realización, la composición del indicador se añade en una cantidad de 40 a 120 µl por ml de extracto de suelo. En esta cantidad, la absorbancia a 615 nm se incrementa o maximiza En una realización, la máquina de absorbancia es un espectrofotómetro Agilent Cary 100 UV-Vis. En una realización, el color se desarrollará después de mezclar en unos 10 segundos después de mezclar.

El extracto de suelo puede prepararse de la siguiente manera. La tierra tomada directamente del suelo se puede utilizar sin necesidad de secarlo y molerlo primero. Una muestra de suelo se puede mezclar en una proporción de peso 1:2 a peso con un líquido, como agua, para formar una suspensión. En otras realizaciones, una relación en peso de suelo a líquido es de 1:5. A continuación, la suspensión se mezcla con un agente floculante. Ejemplos de agente floculante incluyen, pero no se limitan a, cloruro de calcio, poliacrilamida, poliacrilamida catiónica, poliacrilamida aniónica, cloruro de polidilildimetil amonio (PDADMAC), copolímero de epíclorohidrina/dimetilamina (ECH/DMA), quitosano y cloruros de polialuminio. En una realización, el agente floculante es cloruro de calcio. En otra realización, el agente floculante es una combinación de poliacrilamida y cloruro de calcio, en otra realización, el agente floculante es poliacrilamida. La cantidad de agente floculante varía según el tipo de agente floculante elegido, La cantidad de agente floculante se puede elegir para eliminar materiales orgánicos y/o reducir o eliminar la turbidez. En una realización, se utiliza una solución de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.017 M, Alternativamente, se puede utilizar el anhídrido u otros hidratos de cloruro de calcio. En una realización, una concentración molar para el cloruro de calcio es de 0.005 M a 0.1 M. La lechada del suelo se mezcla con el agente floculante en una proporción de volumen de 4: 1 lechada del suelo:agente floculante. En otras realizaciones, una relación de volumen de lodo a agente floculante es de 10:1. En otra realización, la solución de cloruro de calcio puede ser reemplazada por una solución de poliacrilamida 0.025 % en peso. En una realización, la poliacrilamida puede tener un peso molecular promedio de 5,000,000 a 6,000,000 (CAS 9003-05-8). Se pueden utilizar otros agentes floculantes en cantidades que proporcionen la misma cantidad de floculación que las soluciones de cloruro de calcio o poliacrilamida anteriores. La lechada del suelo y el agente floculante se centrifugan para formar el extracto del suelo.

Para convertir las lecturas de absorbancia a pH, se puede obtener una correlación empírica de la siguiente manera.

Las muestras de suelo se preparan como para pruebas de laboratorio típicas mediante secado, trituración y filtrado hasta un tamaño de partícula inferior a 2 mm. Se preparan varias muestras para proporcionar un número suficiente para generar una curva de calibración. El suelo se mezcla en una proporción de peso con agua durante 5 minutos, y el pH se mide con una sonda de pH (un electrodo de pH Ross Ultra™ Orion™ modelo 8103BNUWP). Cada una de estas muestras de suelo se procesa con el método anterior de mezcla con el agente floculante, centrifugado, agregando la composición del indicador y luego midiendo la absorbancia. Los resultados se registran en un gráfico de correlación y se obtiene un gráfico de correlación.

Se puede obtener una curva de calibración y utilizarla con el gráfico de correlaciones. Se mide la absorbancia de la solución de agente floculante antes de agregar la composición del indicador para establecer una lectura en blanco. A continuación, se añade la composición del indicador (como se ha descrito anteriormente) a esta muestra y se vuelve a medir la absorbancia. La diferencia en las lecturas de absorbancia se utiliza para una curva de calibración. Esto proporcionará el pH del agente floculante, como el cloruro de calcio. Esta calibración se puede realizar según sea necesario, por ejemplo, una vez al día. La curva de calibración se utiliza para ajustar el gráfico de correlaciones.

Prueba de pH tampón

En el método del segundo aspecto, tal como se define en la reivindicación 7, el pH del tampón se prueba utilizando una combinación de rojo de metilo (ácido 2-[[4-(dimetilamino)fenil]diazenil]benzoico) con azul de bromotimol, (4,4'-(1,1-dióxido-3H-2,1-benzoxatíole-3,3-diil)bis(2-isopropil-3-metilfenol), CAS 76-59-5). En una realización, el pH tampón se mide utilizando una composición que incluye rojo de metilo y azul de bromotimol en una proporción molar de 20:1 a 30:1. En otras realizaciones, se prueba el pH del tampón en el que la relación molar del rojo de metilo y el azul de bromotimol es de 25:1. La solución indicadora mixta se puede hacer tomando un indicador de rojo de metilo al 1 % en agua y mezclándolo con azul de bromotimol al 0.04 % en una mezcla de agua/etanol 90/10 para obtener una concentración final de rojo de metilo al 0.5 %, azul de bromotimol al 0.02 % en una solución de agua/etanol al 95/5 en peso.

En algunas realizaciones, el tampón se añade al extracto del suelo antes de añadir el rojo de metilo y el azul de bromotimol. El extracto del suelo se puede preparar como se describió anteriormente para la lechada del suelo. La lechada del suelo se puede combinar con una solución tampón en una relación de volumen de 4:1 de lechada a tampón. En una realización, la relación de volumen es de 1:1 a 10:1. En una realización, la solución tampón es tampón Sikora. El tampón Sikora está disponible en GFS Chemicals de Powell, Ohio, y es aproximadamente 85.6 % agua, 13.7 % cloruro de potasio, 0.278 % de amina de trietanol y resto menores. Opcionalmente, se puede añadir un agente floculante (como se ha descrito anteriormente, por ejemplo, utilizando poliacrilamida como se ha descrito anteriormente) y centrifugar para formar un filtrado.

En una realización, la composición del indicador se añade en una cantidad de 60 a 120 µl por ml de filtrado. En esta cantidad, la absorbancia a 617 nm se incrementa o maximiza. En una realización, la máquina de absorbancia es un espectrofotómetro Agilent Cary 100 UV-Vis. En una realización, el color se desarrollará después de mezclar en unos 10 segundos después de mezclar.

Para convertir las lecturas de absorbancia en pH tampón, se puede obtener una correlación empírica de la siguiente manera.

Las muestras de suelo se preparan como para pruebas típicas de laboratorio mediante secado, trituración y filtrado hasta un tamaño de partícula inferior a 2 mm. Se preparan varias muestras para proporcionar un número suficiente para generar una curva de calibración. El suelo se mezcla en una proporción de peso con agua durante 5 minutos, y el pH del tampón SNIP (Shoemaker, McLean y Pratt) se mide con una sonda de pH (un electrodo de pH Orion™ 8103BNUWP Ross Ultra™) utilizando el procedimiento estándar de laboratorio para el pH del tampón. Cada una de estas muestras de suelo se procesa con el método anterior de mezcla con el tampón (por ejemplo, tampón Sikora), centrifugado, adición de la composición del indicador y luego medición de la absorbancia. Los resultados se registran en un gráfico de correlación y se obtiene un gráfico de correlación.

Se puede obtener una curva de calibración y utilizarla con el gráfico de correlación. Se mide la absorbancia de la lechada del suelo antes de agregar la composición del indicador para establecer una lectura en blanco. A continuación, se añade la composición del indicador (como se ha descrito anteriormente) a esta muestra y se vuelve a medir la absorbancia. La diferencia en las lecturas de absorbancia se utiliza para una curva de calibración. Esto proporcionará el pH del tampón (por ejemplo, tampón Sikora). Esta calibración se puede realizar según sea necesario, por ejemplo, una vez al día. La curva de calibración se utiliza para ajustar el gráfico de correlación.

Los siguientes análisis y composiciones adicionales se describen, pero no se reivindican.

Análisis de Potasio

El potasio se puede analizar utilizando una combinación de reactivos que incluyen tetrafenilborato de sodio, tetraborato de sodio y un poliol (como el glicerol). En una realización, una primera solución contiene de 60 mm a 100 mm (o 2 % en peso a 3.5 % en peso) de tetrafenilborato de sodio en la solución, o alrededor de 87.7 mm (o 3 % en peso) de borato de tetrafenilo de sodio. Una segunda solución contiene tetraborato de sodio a 0.85 mm a 1 mm (o alrededor de 0.938 mm) y de 0.25 M a 0.4 M (o aproximadamente 0.327 M) de glicerol. En una realización, la composición contiene aproximadamente 87.7 mm (aproximadamente 3 en peso) de tetrafenilborato de sodio, aproximadamente 0.938 mm de tetraborato de sodio decahidratado y 0.327 M (aproximadamente 2.4 o 2.38 en peso) de glicerol. Opcionalmente, la primera solución y la segunda solución se pueden preparar como una sola solución.

El extracto de suelo se puede preparar de la siguiente manera. La tierra tomada directamente del suelo se puede utilizar sin necesidad de secarlo y molerlo primero. Una muestra de suelo se puede mezclar en una proporción de peso a peso de 1:2 con un líquido, como agua, para formar una suspensión. En otras realizaciones, una relación en peso de suelo a líquido es de 1:1 a 1:5. A continuación, la suspensión puede extraerse con un extractante, como el ácido nítrico. En una realización, la concentración de ácido nítrico es de 0.005 a 0.2 M. En una realización, una relación de volumen de extractante a lodo del suelo es de 4:1. En otras realizaciones, la relación de volumen es de 1:1 a 10:1. Un beneficio de usar cualquiera de estos extractantes es que se puede obtener un tiempo de extracción más corto, como 20 segundos o menos o 10 segundos o menos. Esto permite un procesamiento más rápido mientras se realizan pruebas sobre la marcha.

Opcionalmente, se puede añadir un agente floculante (como se ha descrito anteriormente, por ejemplo, utilizando poliacrilamida como se ha descrito anteriormente, por ejemplo, a 0.01 % en peso) y centrifugar para formar un filtrado.

Opcionalmente, se puede agregar una base, como el hidróxido de litio, antes o después de la centrifugación para eliminar los materiales que interfieren, en otras realizaciones, se puede usar hidróxido de sodio. En una realización, una concentración de litio o hidróxido de sodio es de 0.05 a 0.2 M.

A continuación, se centrifuga el extracto. Se añade una cantidad suficiente de base para eliminar los materiales que interfieren.

En una realización, la base se añade después de la extracción. En una realización, el extracto antes de la base se añade y la concentración de potasio se diluye de 25 a 35 veces mediante la adición de la base, la primera solución, la segunda solución y agua opcional.

5 A continuación, el extracto se mezcla con el tetrafenilborato de sodio, el tetraborato de sodio decahidrato y el reactivo de glicerol. En una realización, la primera solución se mezcla con el extracto con una relación en peso de extracto a borato de tetrafenilo de 2:1 a 1:1, opcionalmente 1.5:1. En una realización, la segunda solución se mezcla con el extracto en una proporción en peso de tetraborato de sodio a extracto de 3:1 a 6:1, opcionalmente 5.4:1. En esta cantidad, la absorbancia a 420 nm se incrementa o maximiza. En una realización, el color se desarrollará después de mezclar en unos 10 segundos después de mezclar.

10 En una realización, la máquina de absorbancia es un espectrofotómetro Agilent Cary 100 UV-Vis. Para convertir las lecturas de absorbancia en niveles de potasio, se puede obtener una correlación empírica de la siguiente manera.

15 Las muestras de suelo se preparan como para pruebas típicas de laboratorio mediante secado, trituración y filtrado hasta un tamaño de partícula inferior a 2 mm. Se preparan varias muestras para proporcionar un número suficiente para generar una curva de calibración. La prueba tradicional de potasio en el suelo se lleva a cabo utilizando la extracción de acetato de amonio utilizando 1 g de suelo y 10 partes de una solución de acetato de amonio 1 M a pH 7, mezclando, filtrando con papel de filtro y luego midiendo por ICP-OES. Se puede hacer referencia a la prueba en Recommended Chemical Soil Test Procedures for the North Central Region, North Central Regional Research Publication No. 221, Missouri Agricultural Experiment Station SB 1001, Agosto 2015 (<http://extension.missouri.edu/explorepdf/specialb/sb1001.pdf>). Alternativamente, se puede utilizar el extractante 20 Mehlich-3 en lugar de acetato de amonio 1 M a pH 7. Las muestras también se miden utilizando la prueba de potasio anterior y los resultados se correlacionan para una curva de correlación.

25 Se puede obtener una curva de calibración y utilizarla con el gráfico de correlaciones. Se mide la absorbancia de la lechada del suelo antes de agregar la composición del indicador para establecer una lectura en blanco. A continuación, se añade la composición del indicador (como se ha descrito anteriormente) a esta muestra y se vuelve a medir la absorbancia. La diferencia en las lecturas de absorbancia se utiliza para una curva de calibración. Esta calibración se puede realizar según sea necesario, por ejemplo, una vez al día. La curva de calibración se utiliza para ajustar el gráfico de correlación.

Cartucho

30 En una realización, se puede proporcionar un cartucho multicámara en el que cada cámara contiene una de las composiciones anteriores en una combinación que prueba al menos dos de las pruebas enumeradas anteriormente (por ejemplo, dos o más de la prueba de pH, prueba de pH tampón, prueba de potasio, prueba de fósforo, prueba de calcio y/o pruebas de magnesio). En una realización, el cartucho tiene una cámara para la composición de la prueba de pH, una cámara para la composición de la prueba de pH tampón, una cámara para la composición de la prueba de potasio, una cámara para la composición de la prueba de fósforo, una cámara para la composición de la prueba de calcio y una cámara para la composición de la prueba de magnesio. En una realización, cualquiera de los cartuchos 35 puede contener una cámara adicional que no contenga ninguna de las composiciones para las pruebas anteriores.

REIVINDICACIONES

1. Un método para medir el pH de una lechada de suelo, el método comprende:
 - a. obtener de un extracto de suelo;
 - b. añadir verde de bromocresol y amarillo de nitrazina en una proporción en peso de verde de bromocresol a amarillo de nitrazina de 0.1:1 a 100:1 al extracto del suelo para formar una mezcla; y
 - c. medir de la absorbancia de la mezcla.
2. El método de la reivindicación 1, en el que una proporción en peso de verde de bromocresol a amarillo de nitrazina es de 0.1:1 a 20:1.
3. El procedimiento de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que el verde de bromocresol y el amarillo de nitrazina se proporcionan como una composición que comprende 0.01 % en peso a 0.02 % en peso verde de bromocresol y 0.0125 % en peso a 0.025 % en peso amarillo de nitrazina, y un líquido.
4. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el extracto de suelo se prepara al:
 - a. obtener de una muestra de suelo;
 - b. agregar un líquido a la muestra de suelo para dar volumen al suelo,
 - c. mezclar el líquido y la tierra para formar una lechada de tierra;
 - d. filtrar la lechada del suelo;
 - e. agregar un agente floculante a la lechada del suelo; y
 - f. centrifugar la lechada del suelo para formar el extracto del suelo.
5. El método de la reivindicación 4, en el que el líquido es agua, y la relación en peso entre el suelo y el agua es 1:1 de 1:5.
6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 5, en el que el verde de bromocresol y el amarillo de nitrazina se añaden en forma de una composición indicadora que comprende el verde de bromocresol y el amarillo de nitrazina y la composición se añade en una cantidad de 40 a 120 µl por ml de extracto de suelo.
7. Un método para medir el pH tampón de una lechada de suelo, el método comprende:
 - a. obtener de un extracto de suelo;
 - b. añadir un tampón al extracto del suelo,
 - c. añadir rojo de metilo y azul de bromotimol en una proporción molar de 2.5:1 a 50:1 al tampón y al extracto de suelo para formar una mezcla; y
 - d. medir de la absorbancia de la mezcla.
8. El método de la reivindicación 7, en el que la relación molar entre el rojo de metilo y el azul de bromotimol es de 20:1 a 30:1.
9. El método de la reivindicación 8, en el que la relación molar entre el rojo de metilo y el azul de bromotimol es 25:1.