

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **237543**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **431466**

(51) Int. Cl.

C05G 3/90 (2020.01)

C05G 3/00 (2020.01)

C07D 295/04 (2006.01)

(22) Data zgłoszenia: **14.10.2019**

(54) **Zastosowanie długołańcuchowej pochodnej arylopipezazyn JJ-AR-2
jako inhibitora nitryfikacji**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

18.05.2020 BUP 11/20

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

19.04.2021 WUP 08/21

(73) Uprawniony z patentu:

**UNIWERSYTET ROLNICZY
IM. HUGONA KOŁŁĄTAJA W KRAKOWIE,
Kraków, PL**

**POLITECHNIKA KRAKOWSKA
IM. TADEUSZA KOŚCIUSZKI, Kraków, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

SYLWESTER SMOLEŃ, Łysa Góra, PL

IWONA KOWALSKA, Kraków, PL

PAWEŁ KASZYCKI, Kraków, PL

PAULINA SUPEL, Kraków, PL

JOLANTA JAŚKOWSKA, Kraków, PL

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Marta Bartula-Toch

PL 237543 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest zastosowanie pochodnej arylopiiperazyn/piperydyn JJ-AR-2 czyli 2-[6-[4-(2,3-dichlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksoksy]benzamidu jako inhibitora nitrifikacji.

Azot jest podstawowym makroskładnikiem pokarmowym roślin. W glebie występuje w formie organicznej, mineralnej i gazowej, a jego mikrobiologiczne i chemiczne przemiany w glebie są częścią obiegu azotu w środowisku naturalnym.

Podstawową formą azotu w glebach jest forma organiczna, czyli azot zawarty w glebowej materii organicznej. Źródłem azotu w glebie jest symbiotyczne i niesymbiotyczne wiązanie azotu atmosferycznego, tlenki azotu rozpuszczające się w wodzie opadowej, resztki poźniwne / szczątki roślin, martwe mikroorganizmy oraz makro- i mezofauna glebowa, a także stosowane przez człowieka nawożenie organiczne, naturalne i mineralne.

W glebie gazowy azot cząsteczkowy (N_2) jest wiązany przez dwie grupy mikroorganizmów. Jedną z nich są mikroorganizmy wolno żyjące (niesymbiotyczne), spośród których można podać przykłady bakterii należących do rodzajów *Azotobacter* oraz *Clostridium*. Drugą grupą mikroorganizmów prowadzących proces wiązania azotu są bakterie żyjące w symbiozie z korzeniami gatunków roślin należących do rodziny *Fabaceae* (Laegreid i inni 1999, Gorlach i Mazur 2002). Bakterie te wykazują zdolność wiązania N_2 atmosferycznego, a zatem rośliny mogą pośrednio korzystać z tej formy azotu. Dla innych gatunków roślin gazowy N_2 jest niedostępną formą azotu.

W naturalny sposób azot mineralny pojawia się w glebie w wyniku rozpuszczenia w wodzie opadowej tlenków azotu. Po szeregu reakcji chemicznych tlenki azotu przekształcane zostają w jony azotanowe (NO_3^-) oraz azotynowe (NO_2^-) i w tej formie występują w glebie. W środowisku glebowym obecne są również jony amonowe (NH_4^+). Źródłem tych jonów jest między innymi nawożenie wykonane przez człowieka. Jony NH_4^+ pojawiają się w glebie w naturalny sposób w wyniku mineralizacji glebowej substancji organicznej (Laegreid i inni 1999). To właśnie proces mineralizacji glebowej materii organicznej jest głównym przychodem jonów amonowych w glebie.

Mineralizacja określana jest jako mikrobiologiczny proces utleniania azotu. Zachodzi ona etapowo. Rozpoczyna się od hydrolizy białek, prowadząc do powstania wolnych aminokwasów. Związki te pod wpływem procesu amonifikacji są przekształcane do amoniaku (NH_3), a ten w dalszej kolejności do kationów amonowych (NH_4^+). Kationy te mogą również powstawać w glebie w wyniku hydrolizy mocznika.

Jony amonowe mogą być pobierane przez rośliny lub mikrobiotę glebową, co jest przejawem zjawiska sorpcji biologicznej. Jon amonowy może być także sorbowany przez glebowy kompleks sorpcyjny, jednak siła jego wiązania jest bardzo słaba. Zdecydowanie większa część jonów amonowych jest w środowisku glebowym transformowana w procesie nitrifikacji do anionu NO_3^- , przebiegającej w dwóch etapach. W I etapie nitrifikacji zachodzi proces utlenienia jonu amonowego do azotanowego (azotanu (III)) według schematycznej reakcji [$NH_4^+ \rightarrow NO_2^-$] i prowadzony jest przez pospolicie występujące w glebach różnych stref klimatycznych bakterie *Nitrosomonas* sp. Utlenienie jonów amonowych katalizują dwa enzymy: AMO – (ang.) *ammonia monooxygenase* (monooksygenaza amonowa) oraz HAO – (ang.) *hydroxylamine oxidoreductase* (oksydoreduktaza hydroksyloaminy), które są syntetyzowane przez te bakterie. Natomiast w II etapie nitrifikacji dokonywany jest proces utlenienia azotynów / azotanów (III) do azotanów / azotanów(V) w myśl reakcji ($NO_2^- \rightarrow NO_3^-$). Proces ten prowadzą bakterie *Nitrobacter* sp.

Dalsze losy jonu NO_3^- w środowisku glebowym – straty azotu z gleby – obciążanie środowiska naturalnego. Jon azotanowy może być pobrany przez korzenie roślin oraz mikroorganizmy glebowe. Anion NO_3^- nie podlega w glebie procesowi wiązania przez kompleks sorpcyjny. Dlatego bardzo łatwo ulega on wymyciu z gleby pod wpływem wód opadowych. Azotany są wymywane do wód gruntowych, a w dalszej kolejności do powierzchniowych cieków wodnych, tj. strumieni oraz rzek. Ostatecznie, jony NO_3^- trafiają do powierzchniowych lądowych zbiorników wodnych (stawów i jezior) oraz mórz i oceanów powodując zjawisko eutrofizacji (Laegreid i inni 1999, Gorlach i Mazur 2002).

Część jonów azotanowych, które nie zostały pobrane przez korzenie roślin, jak również nie uległy wymyciu może podlegać procesowi denitryfikacji całkowitej lub częściowej, przy czym denitryfikacja całkowita zachodzi z większą intensywnością niż denitryfikacja częściowa. Proces denitryfikacji całkowitej (właściwej) zachodzi w warunkach beztlenowych. Prowadzą go powszechnie występujące w glebie bakterie z rodzaju *Achromobacter* i *Pseudomonas* (Focht 1978). Denitryfikacja całkowita polega na przekształcaniu jonu NO_3^- do azotu cząsteczkowego N_2 , który ulatnia się do atmosfery – jest to zatem proces prowadzący do strat azotu z gleby. Z kolei, w procesie denitryfikacji częściowej jon NO_3^- redukowany

jest do NO_2^- , a następnie do NH_4^+ (Gorlach i Mazur 2002). Jednakże, udział denitryfikacji częściowej w denitryfikacji całkowitej jest mało znaczący.

Należy podkreślić, że nityfikacja oraz denitryfikacja są złożonymi procesami mikrobiologicznymi, które prowadzą również do powstawania tlenków azotu na różnym stopniu utlenienia (np. NO , N_2O). Powodują one zanieczyszczenia atmosfery i przyczyniają się do efektu cieplarnianego (Firestone i Davidson 1989, Sapek 2008, Marcinkowski 2010, Heil i in. 2016).

Procesy obiegu azotu w glebie, zaczynające się od procesu nityfikacji, prowadzą do strat azotu z gleby. Są one dużym negatywnym obciążeniem dla środowiska glebowego, jak również powodują straty ekonomiczne dla rolników ze względu na słabe wykorzystanie nawozów azotowych, zawierających zredukowane formy azotu (N-NH_2 i N-NH_4). Dlatego od wielu lat poszukiwane są sposoby spowolnienia – ograniczenia tempa przebiegu procesu nityfikacji. Efekt taki możliwy jest do uzyskania przez stosowanie w produkcji nawozów zawierających inhibitory nityfikacji lub opryskiwanie gleb za pomocą naturalnych i syntetycznych inhibitorów nityfikacji.

Znane dotychczas inhibitory nityfikacji wpływają na zaburzenie działania enzymów AMO i HAO, a tym samym osłabiają przebieg tego procesu.

Znane są syntetyczne i naturalne inhibitory nityfikacji, z czego liczba związków syntetycznych jest znacznie większa niż naturalnych.

Stosowanymi dotychczas syntetycznymi inhibitorami nityfikacji, objętymi także ochroną patentową są: DCD [dicyjanodiamid; CNNH_2], DMPP [dimetylopyrazolofosfat, syn. Fosforandimetylopyrazol], Nitrapina [N-Serve; 2-chloro-6(trichlorometylo)pirydyna], AM [2-amino-4-chloro-6-metylopirydyna], ECC [encapsulated calcium carbide – obudowany węgiel wapnia] oraz DMPSA – „najnowszy” z tej grupy związków: kwas 2-(3,4-dimetylopirazol-1-ylo)bursztynowy [2-(3,4-dimethyl-pyrazol-1-yl)-bursztynowy].

W literaturze wymienia się kolejne związki wykazujące działanie jako inhibitory nityfikacji: 1*H*-1,2,4-triazole, 1,2,4-triazolo[1,5-*a*]-pirymidyno-2-sulfonamidy [1,2,4-triazolo[1,5-*a*]-pyrimidine-2-sulfonamides] i jego substytuty (objęty zgłoszeniem patentowym US4740233A), 1-hydroksypyrazol i jego pochodne, metylokarbaminian 2,3-dihydro-2,2-dimetylo-7-benzofuranolu [2,3-dihydro-2,2-dimethyl-7-benzofuranol methyl carbamate] – nazwa zwyczajowa Furadan lub Carbofuran, 2,4,6-trichloroanilina [2,4,6-trichloroaniline], 2,4-diamino-6-trichlorometylo-5-triazyna [2,4-diamino-6-trichloromethyl-5-triazine], 2-amino-4-chloro-6-metylo-pirymidyna [2-amino-4-chloro-6-methyl-pyrimidine, (AM)], 2-merkaptobenzotiazol [2-mercapto-benzothiazole, (MBT)], 2-metylopirazolo-1-karboksyamid [2-methyl pyrazole-1-carboxamide], 2-sulfaniloamidotiazol [2-sulfanilamidothiazole, (ST)], 3,4-dimetylopirazol [3,4-dimethylpyrazole, (DMP)], 3-merkaptio-1,2,4-triazol [3-mercapto-1,2,4-triazole], 3-metylopirazol [3-methylpyrazole, (3-MP)], 4-amino-1,2,4-triazol [4-amino-1,2,4-triazole], 5-etoksy-3-trichlorometylo-1,2,4-tiadiazol [5-ethoxy-3-trichloromethyl-1,2,4-thiadiazole (Dwell, Terrazole)], tiosiarczan amonu [ammonium thiosulfate, (ATS)], wodorosiarczek węgla [carbon bisulfide], ester metylowy N-(2,6-dimetylofenylo)-N-(metoksyacetylo)-alaniny [N-(2,6-dimethylphenyl)-N-(methoxyacetyl)-alanine methyl ester], kwas N-2,5-dichlorofenylobursztynowy [N-2,5-dichlorophenyl succinamic acid], pentachlorofenol [pentachlorophenol], azydek potasu [potassium azide], azydek sodu [sodium azide], tritiowęglan sodu [sodium trithiocarbonate], tiomocznik [thiourea, (TU)], etylenobis-ditiokarbaminian cynku [zinc ethylene-bis-dithiocarbamate].

Do naturalnych inhibitorów nityfikacji należy zakwalifikować, np. olejek z *Mentha spicata*, ekstrakt alkoholowy z *Azadirachta indica* Juss., ekstrakt wodny z *Chenopodium album* L. czy też wielonienasycone kwasy tłuszczowe (kwas linolowy i kwas linolenowy) występujące w olejach roślinnych, a także wiele innych związków.

Wykorzystanie między innymi olejku z mięty jako inhibitora nityfikacji zostało opisane w dwóch udzielonych patentach: „Slow-release urea fertilizer composition and a process for the preparation of the said composition” US 6336949 B1 oraz „Formulation useful as a nitrification and urease inhibitor and a method of producing the same” US 6315807 B1.

Istnieją również rozwiązania hybrydowe polegające na wykorzystaniu równoczesnym inhibitorów nityfikacji wraz z substancjami aktywnymi różnych agrochemikaliów, co równocześnie wykazuje działanie w zakresie inhibitorów nityfikacji, jak i inhibitorów emisji do atmosfery tlenków azotu z gleby (Gewehr i in. 2015, U.S. Patent No. 8,956,996; Clark i in. 2018, U.S. Patent No. 9,878,960).

Istota wynalazku polega na zastosowaniu długołańcuchowej pochodnej arylopiiperazyn JJ-AR-2, czyli 2-[6-[4-(2,3-dichlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksoksy]benzamidu jako inhibitora nityfikacji do bezpośredniej aplikacji do gleby lub jako składnika nawozu.

Korzystnie związek JJ-AR-2 aplikuje się bezpośrednio do gleby w stanie płynnym w ilości od 0,001 do 1000 mmoli na 1 kilogram gleby.

Korzystnie związek JJ-AR-2 aplikuje się bezpośrednio do gleby w ilości od 0,1 do 0,2 mmola na 1 kilogram gleby.

Korzystnie związek JJ-AR-2 miesza się z nawozem zawierającym wyłącznie zredukowane formy azotu, to jest formę amidowo-mocznikową (N-NH₃) lub formę amonową (N-NH₄), bądź przewagę jednej lub obu tych form azotu, bądź też równoważną ich zawartość w stosunku do formy utlenionej azotu.

Korzystnie związek JJ-AR-2 miesza się z nawozem w ilości od 0,01 do 1000 mmoli na 1 kilogram masy nawozu.

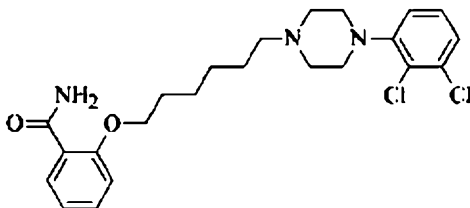
Korzystnie przed aplikacją do gleby lub zmieszaniem z nawozem związek JJ-AR-2 rozpuszcza się w roztworach kwasów mineralnych, zasad lub rozpuszczalnikach organicznych.

Korzystnie przed aplikacją do gleby lub zmieszaniem z nawozem związek JJ-AR-2 rozpuszcza się w DMSO.

Korzystnie przed aplikacją do gleby lub zmieszaniem z nawozem związek JJ-AR-2 rozpuszcza się w DMF.

Główną zaletą rozwiązania według wynalazku jest skuteczne hamowanie procesu nityfikacji, które może być wzmocnione poprzez rozpuszczenie związku JJ-AR-2 w takich rozpuszczalnikach jak DMSO lub DMF. Należy podkreślić, iż związek JJ-AR-2 nie jest szkodliwy dla mikrobioty glebowej i nie ma negatywnego wpływu na rozwój mikroorganizmów glebowych, w tym bakterii *Nitrosomonas europaea*. Związek JJ-AR-2 może być łączony z innymi pochodnymi arylopiperazyn/piperydyn takimi jak PK-AM-25 [1-(4-{[4-{pirymidyn-2-ylo}piperazyn-1-ylo]metylo}fenylo)metyloamina], JJ-AR-12 [4-[4-(1,2-benzoksazol-3-ylo)piperydyn-1-ylo]butylo-1-amina] lub JJ-AR-13 [5-[4-(2-metoksyfenylo)piperazyn-1-ylo]pentylo-1-amina].

Związek JJ-AR-2, czyli 2-[6-[4-(2,3-dichlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksoksy]benzamid o wzorze strukturalnym:



zaaplikowany bezpośrednio do gleby, skutecznie hamuje proces nityfikacji nawet po upływie czterech tygodni od aplikacji, co wykazały badania porównawcze w odniesieniu do prób z glebą, do której zaaplikowano sam mocznik oraz do której zaaplikowano znany i powszechnie stosowany syntetyczny inhibitor nityfikacji, jakim jest DCD (dicyjanodiamid).

W ocenie oddziaływania pochodnej arylopiperazyn/piperydyn obserwowano:

- hodowle monokultur pożytecznych bakterii glebowych: *Rhizobium radiobacter* oraz *Bacillus subtilis*,
- populację bakterii glebowych, pozyskanych z optymalnych podłoży uprawowych,
- wyspecjalizowany biopreparat ZB-01 zawierający drobnoustroje glebowe, w tym należące do gatunków *Pseudomonas*, *Alcaligenes*.

Związek w stężeniu 0,2 mmol dawковано w ilości 100 µl na studzienkę. Próby wykonano w serii czterech niezależnych powtórzeń. Nie zaobserwowano kontaktowego zahamowania wzrostu drobnoustrojów w obecności testowanego inhibitora nityfikacji, co świadczy o braku toksyczności badanego stężenia pochodnej arylopiperazyn/piperydyn na mikroorganizmy glebowe.

P r z y k ł a d

Związek JJ-AR-2 podano wiosną bezpośrednio do ciężkiej gleby w dawce 0,1 mmol na 1 kg gleby. Porównawczo do takiej samej gleby wprowadzono roztwór mocznika w dawce 2,5 mmola na 1 kg gleby oraz mocznika z dodatkiem DCD. W 7, 14, 21 i 28 dobie dokonano pomiarów zawartości mineralnych form azotu w formie amonowej (N-NH₄) i azotanowej (N-NO₃) w glebie.

Po 7 dniach od aplikacji pochodna JJ-AR-2 miała podobną skuteczność jak DCD w zakresie inhibowania nityfikacji, o czym świadczy wyższa zawartość jonów amonowych w glebie z dodatkiem związku, w porównaniu do próbki kontrolnej. W kolejnych terminach analiz, to jest po 14, 21 i 28 dniach od aplikacji związek DCD nie wykazywał już działania jako inhibitor nityfikacji. W porównaniu do próbki

kontrolnej zawartość N-NH₄ w glebie z dodatkiem DCD była w tych terminach taka sama, jak w próbce kontrolnej, a zawartość N-NO₃ istotnie niższa niż w próbce kontrolnej, czyli, że w glebie z dodatkiem DCD, po tym jak przestał on działać jako inhibitor nitrifikacji, z większą intensywnością niż w próbce kontrolnej zachodziły procesy denitrifikacji lub biologicznej sorpcji N-NO₃, co prowadziło do zubożenia gleby w azotanową formę azotu.

Obiekt (mocznik + inhibitor nitrifikacji)	Dawka inhibitora nitrifikacji w mmol/1 kg gleby	Zawartość azotu mineralnego w glebie							
		Po 7 dniach		Po 14 dniach		Po 21 dniach		Po 28 dniach	
		mg N- NH ₄ ·kg ⁻¹ gleby	mg N- NO ₃ ·kg ⁻¹ gleby	mg N- NH ₄ ·kg ⁻¹ gleby	mg N- NO ₃ ·kg ⁻¹ gleby	mg N- NH ₄ ·kg ⁻¹ gleby	mg N- NO ₃ ·kg ⁻¹ gleby	mg N- NH ₄ ·kg ⁻¹ gleby	mg N- NO ₃ ·kg ⁻¹ gleby
Kontrola - sam mocznik	0	28,8 a	30,7 c	1,3 a	87,0 c	1,0 a	112,0 c	1,6 a	111,1 c
DCD	0,1	43,2 bc	10,0 b	1,2 a	25,2 a	1,0 a	46,6 a	1,5 a	8,6 a
JJ-AR-2	0,1	43,3 c	14,3 b	23,7 c	49,8 b	20,4 c	82,3 b	19,4 c	55,1 b

Takiego zjawiska nie obserwowano w glebie z dodatkiem związku JJ-AR-2, który w dalszym ciągu hamował proces nitrifikacji.

Przykład II

Związek JJ-AR-2 zaaplikowano jesienią bezpośrednio do gleby ciężkiej w dwóch dawkach: 0,1 i 0,2 mmol na 1 kg gleby. Porównawczo do takiej samej gleby wprowadzono roztwór mocznika oraz mocznika z dodatkiem DCD, znanego i bardzo często stosowanego syntetycznego inhibitora nitrifikacji w ilości 0,1 mmola na 1 kg gleby. W 7, 14, 21 i 28 dobie dokonano pomiarów zawartości mineralnych form azotu w formie amonowej (N-NH₄) i azotanowej (N-NO₃) w glebie.

W każdym terminie analiz (od 7 do 28 dnia od aplikacji) obydwie dawki 0,1 i 0,2 mmol inhibitora nitrifikacji JJ-AR-2 wykazywały taką samą skuteczność w zakresie stabilizacji jonów amonowych w glebie. Oznacza to, że dawka niższa była tak samo skuteczna jak dawka wyższa. W pierwszym terminie analiz, czyli w 7, 14 i 21 dniu po aplikacji, związek JJ-AR-2 miał taką samą skuteczność pod względem ograniczania przebiegu procesu nitrifikacji, jak DCD. Z kolei w terminie 28 dni od aplikacji, działanie standardowego inhibitora DCD było najłabsze, a związek JJ-AR-2 wykazał lepsze niż DCD działanie pod względem ograniczenia przebiegu nitrifikacji, na co wskazują wyniki zawartości jonów amonowych w glebie.

Obiekt (mocznik + inhibitor nitrifikacji)	Dawka inhibitora nitrifikacji w mmol/1 kg gleby	Po 7 dniach		Po 14 dniach		Po 21 dniach		Po 28 dniach	
		mg N- NH ₄ ·kg ⁻¹ gleby	mg N- NO ₃ ·kg ⁻¹ gleby	mg N- NH ₄ ·kg ⁻¹ gleby	mg N- NO ₃ ·kg ⁻¹ gleby	mg N- NH ₄ ·kg ⁻¹ gleby	mg N- NO ₃ ·kg ⁻¹ gleby	mg N- NH ₄ ·kg ⁻¹ gleby	mg N- NO ₃ ·kg ⁻¹ gleby
Kontrola - sam mocznik	0	9,9 a	105,7 b	10,5 a	109,1 b	9,3 a	103,2 d	6,4 a	87,4 c
DCD*	0,1	37,4 bc	36,7 a	74,3 b	14,9 a	59,5 b	28,9 a	102,8 b	58,3 b
DCD	0,2	41,0 bc	37,1 a	75,4 b	33,7 a	35,0 b	83,2 c	92,5 b	16,0 a
JJ-AR-2	0,1	50,6 c	37,6 a	98,5 c	21,1 a	159,9 c	38,7 ab	169,9 bc	42,0 b
JJ-AR-2	0,2	51,3 c	37,9 a	93,8 c	18,3 a	112,8 c	26,7 a	204,7 c	27,7 a

Przykład III

Związek JJ-AR-2 wprowadzono do nawozu saletrosiarczanu amonu w dawce 3, 10, 30 i 90 mmol na 1 kg nawozu. Nawóz wprowadzono do gleby w dwóch formach: granulowanej i zmielonej na proszek. Wykonano analizy zawartości mineralnych form azotu : N-NH₄, N-NO₂, N-NO₃ w glebie w 7, 14, 21, 28 i 35 dniu po wprowadzeniu do gleby nawozu z JJ-AR-2.

W przypadku badania zmielonego nawozu testowany związek JJ-AR-2 w okresie 14 dni od aplikacji wykazywał aktywność w zakresie stabilizowania jonów NH₄⁺ w glebie. Co ważne, wszystkie testowane dawki związku JJ-AR-2 miały w tym zakresie zbliżone do siebie działanie.

Inną skuteczność stosowanych inhibitorów uzyskano w przypadku prowadzenia testów inkubacyjnych z granulowanym nawozem. Po wprowadzeniu do gleby granul nawozów, działanie związku JJ-AR-2 jako inhibitora nitrifikacji obserwowano nawet po 28 dniach od aplikacji. Należy zaznaczyć, że po 7 dniach o zastosowania nawozów granulowanych, działanie omawianego związku jako inhibitora nitrifikacji było tym silniejsze im wyższą dawkę JJ-AR-2 wprowadzono na powierzchnię granul. Tymczasem po 21 i 28 dniach dawki 30 i 90 mmol JJ-AR-2 w większym stopniu stabilizowały jon NH₄⁺ w glebie niż dwie niższe dawki, to jest 3 i 10 mmol JJ-AR-2.

Po 21 i 28 dniach od wprowadzenia do gleby nawozu z dodatkiem JJ-AR-2 zmielonego i granulowanego odnotowano wyraźne zwiększenie zawartości NO₂ (azotanów III) w glebie w stosunku do tła geochemicznego. Świadczy to o tym, że testowany związek w badanym okresie hamował również przebieg drugiego etapu nitrifikacji czyli utleniania NO₂ do NO₃.

Testowany związek JJ-AR-2 aplikowany w nawozie granulowanym wpłynął na zwiększenie stabilności azotu mineralnego w glebie, na co wskazuje wyższa sumaryczna zawartość N-mineralnego po stosowaniu prób nawozów z dawką JJ-AR-2 niż nawozu bez żadnego dodatku. Efekt ten był skorelowany z zastosowaną dawką związku JJ-AR-2.

Na wykresach: Fig. 1 – Fig. 8 przedstawiono dynamikę zmian zawartości poszczególnych form azotu mineralnego w glebie w okresie 35 dni w zależności od aplikacji nawozu z dodatkiem związku JJ-AR-2 w ilości 3 mmol, 10 mmol, 30 mmol i 90 mmol, to jest odpowiednio: 0,14%, 0,45%, 1,35% i 4,05%.

Zastrzeżenia patentowe

1. Zastosowanie długołańcuchowej pochodnej arylopiiperazyn JJ-AR-2, czyli 2-[6-[4-(2,3-dichlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksoksy]benzamidu jako inhibitora nitrifikacji do bezpośredniej aplikacji do gleby lub jako składnika nawozu.
2. Zastosowanie według zastrz. 1, **znamiennie tym**, że związek JJ-AR-2 aplikuje się bezpośrednio do gleby w stanie płynnym w ilości od 0,001 do 1000 mmoli na 1 kilogram gleby.
3. Zastosowanie według zastrz. 2, **znamiennie tym**, że związek JJ-AR-2 aplikuje się bezpośrednio do gleby w ilości od 0,1 do 0,2 mmola na 1 kilogram gleby.
4. Zastosowanie według zastrz. 1, **znamiennie tym**, że związek JJ-AR-2 miesza się z nawozem zawierającym wyłącznie zredukowane formy azotu, to jest formę amidowo-mocznikową (N-NH₃) lub formę amonową (N-NH₄), bądź przewagę jednej lub obu tych form azotu, bądź też równoważną ich zawartość w stosunku do formy utlenionej azotu.
5. Zastosowanie według zastrz. 4, **znamiennie tym**, że związek JJ-AR-2 miesza się z nawozem w ilości od 0,01 do 1000 mmoli na 1 kilogram masy nawozu.
6. Zastosowanie według zastrz. 1, **znamiennie tym**, że przed aplikacją do gleby lub zmieszczeniem z nawozem związek JJ-AR-2 rozpuszcza się w roztworach kwasów mineralnych, zasad lub rozpuszczalnikach organicznych.
7. Zastosowanie według zastrz. 6, **znamiennie tym**, że przed aplikacją do gleby lub zmieszczeniem z nawozem związek JJ-AR-2 rozpuszcza się w DMSO.
8. Zastosowanie według zastrz. 6, **znamiennie tym**, że przed aplikacją do gleby lub zmieszczeniem z nawozem związek JJ-AR-2 rozpuszcza się w DMF.

Rysunki

