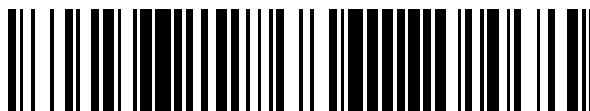


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 765 667**

51 Int. Cl.:

A23K 40/35 (2006.01)

A23K 50/15 (2006.01)

A23K 20/158 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.01.2016 PCT/EP2016/051034**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.07.2017 WO17125140**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.01.2016 E 16700928 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.11.2019 EP 3405042**

54 Título: **Composiciones para mejorar la utilización de nitrógeno en un rumiante**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
10.06.2020

73 Titular/es:

EVONIK OPERATIONS GMBH (100.0%)
Rellinghauser Strasse 1-11
45128 Essen, DE

72 Inventor/es:

HÄUSSNER, THOMAS;
BORCHERS, GEORG;
FISCHER, FRANK;
GEIST, LUCAS;
KOBLER, CHRISTOPH;
BORGMANN, CORNELIA;
MARTÍN-TERESO LÓPEZ, JAVIER y
PENA CARVALHO DE CARVALHO, ISABELA

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

Observaciones:

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o
Bemerkungen) en el folleto original publicado por
la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 765 667 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 para mejorar la utilización de nitrógeno en un rumiante

5 Campo de la invención

La presente invención pertenece al sector de piensos para rumiantes o suplementos alimenticios para rumiantes que son particularmente adecuados para aumentar la ingesta de alimento, la digestibilidad de la fibra, la producción de leche y/o el crecimiento somático en rumiantes, así como para reducir la excreción de N, mejorar la estabilidad del pH del rumen y/o prevenir o reducir la toxicidad por amoníaco en un rumiante, particularmente en aquellos mantenidos en climas rigurosos, tales como los caracterizados por pastos de baja digestibilidad, por ejemplo climas secos, climas cálidos, climas fríos y similares, y/o en ubicaciones remotas.

15 Antecedentes de la invención

Los productos derivados de rumiantes, tales como productos cárnicos (por ejemplo, carne de vacuno, de oveja, de cordero, etc.) y productos lácteos (por ejemplo, leche, queso, mantequilla, etc.) constituyen una gran parte de la dieta occidental y la demanda de estos productos está en aumento. Se han dedicado esfuerzos considerables de investigación y desarrollo a desarrollar piensos y/o suplementos alimenticios con los que no solo se pueda promover la salud y el crecimiento de los rumiantes, sino con los que también se pueda obtener una mejor calidad y/o una mayor cantidad de productos derivados de rumiantes.

Dado que el crecimiento, la producción de lana y leche dependen directamente de la disponibilidad de nitrógeno de la dieta, a menudo proporcionada en forma de proteína vegetal, a menudo se utiliza proteína suplementaria o se considera para promover el crecimiento y la producción de lana y leche en rumiantes. Los rumiantes no requieren proteínas ni aminoácidos en la dieta de por sí, ya que las proteínas también pueden sintetizarse en los rumiantes por medio de los microbios del rumen a partir de nitrógeno obtenido de fuentes de NNP (por ejemplo, urea). Los compuestos de NNP (por ejemplo, urea) son más baratos que las proteínas de la dieta. Por lo tanto, los compuestos de NNP se han utilizado cada vez más como una alternativa o un suplemento a las proteínas de la dieta para promover el crecimiento y la producción de lana y/o leche en rumiantes.

No obstante, el uso de un pienso o un suplemento alimenticio que comprende un compuesto de NNP (por ejemplo, urea) viene asociado con toxicidad por amoníaco en rumiantes. Cuando se administran en una cantidad eficaz, los compuestos de NNP pueden causar toxicidad por amoníaco. Una vez ingerido por un rumiante, un compuesto de NNP (por ejemplo, urea) se convierte rápidamente por medio de microbios que residen en el rumen en, entre otras cosas, amoníaco. Si se administra una cantidad eficaz de NNP, esto se traduce en la liberación de un pico súbito de amoníaco en el rumen desde la fuente de NNP. La toxicidad por amoníaco se produce cuando la velocidad a la que se libera amoníaco a partir de urea (es decir, se libera como un pico alto súbito) en el rumen es mayor que la capacidad de los microbios para convertirlo en aminoácidos (también conocidos como "proteína verdadera"). El exceso de amoníaco, lo que no es utilizado por los microbios, desemboca en el torrente sanguíneo en niveles altos, que son tóxicos para los rumiantes. Los síntomas de toxicidad por amoníaco (es decir, cuando la sangre periférica supera aproximadamente 1 mg de amoníaco/100 ml de sangre) incluyen espasmos musculares, ataxia, salivación excesiva, tetania, hinchazón y defectos respiratorios.

Se han realizado esfuerzos considerables para remediar las deficiencias asociadas con la administración de compuestos de NNP (por ejemplo, urea), tales como toxicidad por amoníaco. Por ejemplo, se han desarrollado composiciones que comprenden un compuesto de NNP, que permiten la "liberación retardada" de amoníaco a partir de la fuente de NNP en el rumen. Se pretende que la "liberación retardada" de amoníaco en el rumen amortigüe el pico súbito de amoníaco en el rumen, que generalmente se produce poco después de la ingesta de pienso o suplementos alimenticios que comprenden un compuesto de NNP de liberación inmediata (por ejemplo, urea). La liberación de amoníaco, aunque se retarda, se pretende que se produzca en el rumen, donde los microorganismos pueden utilizarlo para producir proteínas.

La liberación retardada de amoníaco a partir de una fuente de NNP en el rumen se logra típicamente recubriendo parcialmente o totalmente un compuesto de NNP con un denominado agente o recubrimiento de liberación controlada. Los agentes de liberación controlada se caracterizan por su capacidad para retardar o disminuir la velocidad de liberación de amoníaco a partir de una fuente de NNP en el rumen a lo largo del tiempo. Específicamente, los agentes de liberación controlada permiten la liberación de una determinada cantidad de amoníaco a partir del compuesto de NNP por unidad de tiempo, de forma que el amoníaco derivado de un compuesto de NNP no se libere en bloque de una vez en el rumen. Con el transcurso de los años, se han desarrollado diversos agentes de sobrepaso ruminal diseñados para retardar o ralentizar la velocidad de liberación de amoníaco a partir de NNP en el rumen a lo largo del tiempo.

Por ejemplo, el documento US6231895B1 divulga un pienso adecuado para rumiantes lactantes que comprende un compuesto de NNP que consiste en urea encapsulada dentro de un recubrimiento polimérico que se degrada en el rumen. El recubrimiento polimérico que se degrada en el rumen se utiliza como agente de liberación controlada para

generar amoníaco en condiciones de incubación en el rumen. El pienso está formulado para que se libere en el rumen a una velocidad que proporciona de 6 a 18 mg de amoníaco por decilitro de líquido del rumen diariamente y de forma continua. Se indica que dicho pienso representa una mejora con respecto al pienso tradicional que comprende NNP, que generalmente se libera demasiado rápido en el rumen, donde provoca toxicidad por amoníaco.

El documento US03015764A1 divulga un pienso para rumiantes que consiste en una formulación de liberación retardada y mantenida, que se pretende que se libere, de forma retardada, en el rumen. La formulación comprende urea y un recubrimiento que consiste en un ácido hidrosoluble o una forma de sal neutra de ácido hidrosoluble de polímero de carboxivinilo. El pienso para rumiantes actúa proporcionando una disponibilidad prolongada de urea en el rumen, de forma que los microorganismos locales tengan tiempo suficiente para convertirla en proteínas en el rumen.

El documento WO2011116445A2 divulga una composición nutricional a base de urea que asegura la liberación retardada de urea en el rumen. La composición comprende urea y un agente de recubrimiento que consiste en un agente hidrófobo tal como ceras vegetales.

El documento US4035479 divulga una formulación de liberación retardada y mantenida para su ingestión en el rumen caracterizada por una disponibilidad controlada y prolongada de urea. La formulación comprende urea y un recubrimiento que consiste esencialmente en ácido hidrosoluble o una forma de sal neutra de polímero de carboxivinilo (por ejemplo, ácido poliacrílico). Los autores señalan que es esencial que la liberación de urea, aunque controlada y retardada, se realice sustancialmente en el rumen, donde está disponible la microflora adaptada para su conversión.

El documento GB1493425 divulga una composición con un tamaño de partícula de aproximadamente 1 a 2 mm, en la que la urea está recubierta con sebo endurecido y/o grasa de pescado endurecida para retardar la liberación de amoníaco en el rumen.

El documento WO2015197719 divulga una betaína protegida frente al rumen recubierta con aceite de palma endurecido, en la que la sustancia de recubrimiento disminuye el grado de degradación de la betaína dentro del entorno del rumen.

El documento US2007/151480 divulga aceites vegetales polimerizados hidrogenados y/o parcialmente hidrogenados adecuados como recubrimiento para componentes de nitrógeno no proteico. El recubrimiento que comprende el aceite polimerizado al menos parcialmente hidrogenado puede evitar la digestión de al menos una porción del nitrógeno no proteico (urea) en el rumen.

Se ha demostrado que todas las composiciones mencionadas anteriormente retardan la liberación de amoníaco a partir de una fuente de NNP en el rumen para crear una disponibilidad mantenida de nitrógeno para los microbios del rumen a la vez que mitigan la toxicidad por amoníaco amortiguando la curva de liberación de amoníaco a partir de la fuente de NNP en el rumen, es decir, reduciendo su pico y prolongando su propagación con el tiempo. Sin embargo, las composiciones mencionadas anteriormente no amortiguan completamente la curva de liberación de amoníaco en el rumen para dar una curva plana. Esto significa que, aunque reducido, se desarrolla aún un pico de amoníaco en el rumen después de la ingestión de dicho compuesto de NNP (urea). Esto eventualmente puede conducir a toxicidad por amoníaco o a que se utilice de forma ineficaz o se desperdicie amoníaco derivado de los compuestos de NNP por parte de los microbios del rumen, particularmente cuando se alimentan compuestos de NNP en grandes cantidades.

La alimentación de mayores cantidades de compuestos de NNP sería particularmente deseable para rumiantes criados y/o mantenidos en climas rigurosos, ya que estos se encuentran en desventaja en comparación con los criados y/o mantenidos en climas más favorables. Específicamente, los rumiantes mantenidos en climas rigurosos tienen una disponibilidad limitada de nutrientes, particularmente proteínas, desde su entorno. Los climas rigurosos se caracterizan porque la calidad nutricional de los pastos que crecen en estas regiones es generalmente baja en valor nutricional (por ejemplo, baja en proteínas) y/o el valor nutricional varía a lo largo del año. Además, los pastos en regiones sometidas a climas rigurosos tienen a menudo un alto contenido de fibra, lo que los hace difíciles de digerir. Además, las granjas ubicadas en climas rigurosos están a menudo bastante alejadas de los pastos o los pastizales en los que pastan rumiantes o ganado. Esta situación dificulta la capacidad de un ganadero para proporcionar a los rumiantes o al ganado pienso adicional y/o suplementos alimenticios, tales como un compuesto de NNP, de forma regular.

Como resultado del bajo valor nutricional y/o baja digestibilidad de los pastos que crecen en climas rigurosos, los rumiantes que se alimentan de ellos no crecen y/o no producen carne y/o leche de forma óptima.

En general, esta situación conduce a un bajo rendimiento de rumiantes o ganado mantenidos en dichas condiciones (es decir, tienen una producción de carne y/o leche subóptima). Esta situación no es deseable para la industria ganadera ubicada en climas rigurosos.

Por lo tanto, existe la necesidad en la técnica de composiciones que comprendan compuestos de NNP (por ejemplo, urea), así como procedimientos que se basen en el uso de composiciones que comprendan compuestos de NNP que mejoren o aumenten la utilización de nitrógeno a partir de un compuesto de NNP por parte de un rumiante, particularmente con el propósito de mejorar o aumentar la digestibilidad de la fibra, el crecimiento somático, la producción de leche y/u otras características intrínsecas a la biología del rumiante, que carezcan de las limitaciones de los piensos tradicionales y los procedimientos que utilizan dichos piensos tradicionales, tales como la toxicidad por amoníaco o el uso ineficaz de derivados de amoníaco a partir de compuestos de NNP por parte de microbios o microorganismos del rumen.

También existe la necesidad de composiciones que comprendan compuestos de NNP (por ejemplo, urea), así como de procedimientos que se basen en el uso de composiciones que comprenden compuestos de NNP, que permitan la inclusión de mayores cantidades de compuesto de NNP en la dieta de un rumiante que los piensos tradicionales de NNP, particularmente con el propósito de mejorar o aumentar la digestibilidad de la fibra, el crecimiento somático, la producción de leche y/u otras características intrínsecas a la biología del rumiante, pero que no provoquen toxicidad por amoníaco ni otros efectos adversos, o que produzcan mejores resultados que los obtenidos con los piensos tradicionales.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere a una composición de sobrepaso ruminal adecuada para su ingestión por un rumiante, que comprende

- un compuesto de nitrógeno no proteico, y

- un agente de sobrepaso ruminal, que permite el sobrepaso ruminal del compuesto de nitrógeno no proteico,

en la que el agente de sobrepaso ruminal es un recubrimiento que rodea el compuesto de nitrógeno no proteico y dicho recubrimiento consiste esencialmente en un aceite vegetal hidrogenado, y el compuesto de nitrógeno no proteico es uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en urea; sales de amonio; metilénurea, biuret, acetamida, butiramida, dicianoamida, formamida, etilenurea, isobutanoldiurea, lactosilurea, propionamida, ácido úrico y fosfato de urea, siendo la proporción de compuesto de NNP con respecto al recubrimiento de 83:17 a 75:25.

La presente invención también se refiere a un proceso de una composición de sobrepaso ruminal según la presente invención que comprende las etapas de

- a) proporcionar partículas que contengan un compuesto de nitrógeno no proteico en un recubridor de tambor,

- b) calentar las partículas de la etapa a) a una temperatura en el intervalo de desde 10 °C por debajo del límite inferior del intervalo de fusión del agente de sobrepaso ruminal hasta el límite inferior del intervalo de fusión del agente de sobrepaso ruminal,

- c) proporcionar un agente de sobrepaso ruminal fundido en un depósito dispuesto en el exterior del recubridor de tambor,

- d) calentar el agente de sobrepaso ruminal fundido de la etapa c) a una temperatura entre el límite superior del intervalo de fusión del agente de sobrepaso ruminal y 10 °C por encima del límite superior del intervalo de fusión del agente de sobrepaso ruminal,

- e) aplicar el agente de sobrepaso ruminal fundido de la etapa d) sobre las partículas de la etapa b) en un recubridor de tambor giratorio,

- f) mantener la temperatura del lecho de partículas a la temperatura en el intervalo de fusión del agente de sobrepaso ruminal, y

- g) enfriar la composición obtenida en la etapa f) o permitir que la composición obtenida en la etapa f) se enfríe.

Definiciones generales

En la presente descripción y los ejemplos se utilizan diversos términos. Con el fin de proporcionar una comprensión clara y coherente de la memoria descriptiva y las reivindicaciones, incluido el alcance que debe darse a dichos términos, se proporcionan las definiciones siguientes. A menos que se definan de otra forma en el presente documento, todos los términos técnicos y científicos utilizados tienen el significado que entiende comúnmente un experto en la técnica a la que pertenece la presente invención. Las divulgaciones de todas las publicaciones, solicitudes de patentes, patentes y otras referencias se incorporan al presente documento en su totalidad por referencia.

El término "aumento de la producción de leche", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un aumento en el volumen (número de litros) de leche producida o un aumento en el volumen (número de kilogramos) de sólidos lácteos (grasa, proteína, azúcares, particularmente grasa) en la leche producida. El experto en la técnica conoce procedimientos para medir la producción de leche por parte de un rumiante. En el contexto de la presente invención, la producción de leche por parte de un rumiante lactante al que se han administrado las composiciones de NNP tal como se enseñan en el presente documento se compara con la producción de leche de un rumiante lactante al que no se ha administrado una composición de NNP tal como se enseña en el presente documento (por ejemplo, se le ha administrado una composición de NNP desprovista de recubrimiento o una composición de NNP de liberación mantenida, tales como las descritas en el presente documento). Un ejemplo de un aumento en la producción de leche es, por ejemplo, cuando un rumiante lactante al que se han administrado las composiciones de NNP tal como se enseñan en el presente documento muestra una mayor producción de leche que un rumiante lactante al que no se ha administrado una composición de NNP tal como se enseña en el presente documento.

Los términos "nitrógeno no proteico", "NNP", "compuesto de nitrógeno no proteico" o "compuesto de NNP", tal como se utilizan en el presente documento, se refieren a cualquier especie nitrogenada, que no sea una proteína, un péptido, un aminoácido o una mezcla de los mismos, que proporcione nitrógeno biodisponible a la microbiota intestinal de un animal tras su introducción en el sistema intestinal del animal. Un ejemplo no limitante de una fuente de NNP para piensos para animales es la urea, que produce amoníaco o ion amonio en el animal durante la digestión. Otras fuentes no limitantes de NNP incluyen, por ejemplo, biuret, acetato de amonio, sulfato de amonio, butirato de amonio, metilénurea y una sal de amonio de un aminoácido. Las fuentes adicionales incluyen, por ejemplo, acetamida, amoníaco, butiramida, dicianoamida, formamida, etilénurea, isobutanoldiurea, lactosilurea, propionamida, ácido úrico y fosfato de urea. Las sales de amonio adecuadas también incluyen, por ejemplo, las sales acetato, bicarbonato, carbamato, carbonato, cloruro, citrato, formiato, furmerato, lactato, maleato, fosfato, polifosfato, propionato, succinato y sulfato de amonio, o cualquier otra sal de amonio adecuada.

Los términos "rumiantes" o "animales rumiantes", tal como se utilizan en el presente documento, se refieren a mamíferos, tanto machos como hembras, que pueden adquirir nutrientes a partir de alimentos de origen vegetal por medio de su fermentación en una cámara estomacal especializada antes de la digestión, principalmente por medio de acciones bacterianas. El proceso generalmente requiere la regurgitación de la ingesta fermentada (conocida como bolo alimenticio) y masticarla de nuevo. El proceso de volver a masticar el bolo alimenticio para degradar aún más la materia vegetal y estimular la digestión se llama "rumiación". La principal diferencia entre los animales rumiantes y los animales no rumiantes es que los animales rumiantes tienen un estómago de cuatro cámaras.

En el rumen tiene lugar la mayor parte de la fermentación del material de alimentación. El rumen está poblado por varios filos de microorganismos, que producen la fermentación de los alimentos. En el retículo se llevan a cabo funciones de fermentación similares. El rumen y el retículo se denominan a menudo "reticulorumen", que consiste esencialmente en una "cámara de fermentación" que contiene microorganismos que convierten los carbohidratos de las plantas en ácidos grasos volátiles (principalmente acetato, propionato y butirato), lactato, dióxido de carbono, metano e hidrógeno. El rumen-retículo es el primer compartimento y actúa como una cámara de fermentación en la que el alimento se descompone por medio de microorganismos en ácidos grasos de cadena corta que el propio animal utiliza como fuente de energía. Como cámara de fermentación, el rumen actúa como un depósito para el alimento, con un flujo de salida continuo por hora de material fermentado, también denominado "velocidad de paso". El término "velocidad de paso", tal como se utiliza en el presente documento, se define como la velocidad a la que la digesta del rumen-retículo abandona un compartimento del intestino (por ejemplo el rumen) y se expresa como el porcentaje del contenido del compartimento que fluye al siguiente compartimento (por ejemplo el abomaso) por hora (%/h). La velocidad de paso desde el rumen-retículo hasta el abomaso es mucho más baja que desde el abomaso hasta el resto aparato intestinal. Típicamente, la velocidad de paso entre el rumen-retículo y el abomaso es aproximadamente del 4 al 6% por hora, mientras que la velocidad de paso entre el abomaso y el intestino es de aproximadamente el 50% por hora.

El omaso sirve como puerta de entrada al abomaso y permite la absorción de ácidos grasos volátiles y agua para reducir el volumen de digesta que llega al abomaso. El abomaso a menudo se conoce como el equivalente directo del estómago monogástrico, y a menudo se le denomina el "estómago verdadero" debido a su capacidad para digerir y degradar los materiales de alimentación en un ambiente ácido y enzimático. El material digerido en el abomaso (también denominado digesta) pasa al intestino delgado, en el que se produce una digestión y una absorción de nutrientes adicional. Los ejemplos no limitantes de rumiantes incluyen animales bovinos tales como ganado lechero, ganado de carne, ovejas, cabras, búfalos, alces, alces americanos, bisontes, jirafas, yaks, ciervos, antílopes y similares.

Los términos "animales bovinos" o "bovino", tal como se utilizan en el presente documento, se refieren a una diversidad de animales bovinos que incluyen vacas, toros (de carne), cabestros, venados, novillas, terneros, bueyes y similares. En la presente invención, los bovinos incluyen tanto bovinos domésticos como silvestres y tanto bovinos machos como hembras (particularmente hembras lactantes). Los bovinos pueden ser del género *Bos* por ejemplo, las especies *Bos taurus*, *Bos indicus*, o similares.

Los términos "animales ovinos" u "ovino", tal como se utilizan en el presente documento, se refieren a animales que pertenecen al género de mamíferos *Ovis*, que forma parte de la subfamilia cabra-antílope de la familia de rumiantes Bovidae. Los ejemplos no limitantes de animales ovinos incluyen ovejas, muflones, uriales y similares. En la presente invención, los animales ovinos incluyen animales ovinos tanto domésticos como silvestres y animales ovinos tanto machos como hembras (particularmente hembras lactantes).

Los términos "animales caprinos" o "caprino", tal como se utilizan en el presente documento, se refieren a animales que pertenecen al género de mamíferos *Capra*, que forma parte de la subfamilia Caprinae de la familia de rumiantes Bovidae. Los ejemplos no limitantes de animales caprinos incluyen cabra, cabra montés, marjor y similares. En la presente invención, los animales caprinos incluyen animales caprinos tanto domésticos como silvestres y animales caprinos tanto machos como hembras (particularmente hembras lactantes).

El término "rumiante lactante", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un animal rumiante que es capaz de producir leche después del parto.

El término "rumiante lechero", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un animal rumiante cuya leche se usa con fines comerciales.

Los términos "ganado" o "animales de ganado", tal como se utilizan en el presente documento, se refieren a un grupo de animales que viven en un rebaño, ya sea domesticado o silvestre. Los ejemplos no limitantes de animales de ganado incluyen ungulados de pastoreo domesticados o silvestres, tales como vacas, vacuno de carne (toros), cabestros, venados, novillas, bueyes, ovejas, cabras y similares. El ganado generalmente se cría como ganado para carne (por ejemplo, vacuno de carne y ternera), como animales lecheros para leche y otros productos lácteos (por ejemplo, mantequilla, queso) y como animales de tiro (por ejemplo, toros o bueyes, para tirar de carros, arados y similares). Otros productos derivados del ganado incluyen cuero, lana y estiércol para abono o para combustible, y similares.

El término "ganado de carne", tal como se utiliza en el presente documento se refiere al ganado criado para la producción de carne, a diferencia de los animales de ganado lechero, que se utilizan para la producción de leche. La carne de ganado vacuno de carne adulto se conoce como carne de vaca. La carne de ganado vacuno de carne juvenil se conoce como carne de ternera. Si bien el uso principal del ganado vacuno de carne es la producción de carne, otros usos incluyen cuero y otros productos.

El término "composición de nitrógeno no proteico (NNP) de sobrepaso ruminal", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a una composición de nitrógeno no proteico (NNP), que elude sustancialmente la hidrólisis, la digestión y/o la fermentación (es decir, al menos el 50%, preferentemente el 80% y más) en el rumen y sobrepasa sustancialmente el rumen, en una forma sustancialmente intacta (es decir, al menos el 50%, preferentemente el 80% y más intacto o no digerido), yendo a la parte posterior al rumen del sistema digestivo, tal como el abomaso y el intestino inferior (por ejemplo el intestino delgado). La composición de nitrógeno no proteico (NNP) de sobrepaso ruminal puede metabolizarse, liberarse y/o absorberse por las partes posteriores al rumen del sistema digestivo de rumiantes, tales como el abomaso y el intestino inferior (por ejemplo, el intestino delgado).

La expresión "sobrepasar sustancialmente el rumen", tal como se utiliza en el presente documento, significa que al menos el 50%, preferentemente el 55%, preferentemente el 60%, preferentemente el 65%, preferentemente el 70%, preferentemente el 75%, preferentemente el 80%, preferentemente el 85%, preferentemente el 90%, de forma más preferida el 95% o más del compuesto de NNP administrado en forma de composición de NNP de sobrepaso ruminal abandona el rumen en forma no digerida o no hidrolizada. También se incluye en la expresión "sobrepasar sustancialmente el rumen" una composición de NNP que, una vez que ha sobrepasado el rumen, produce una fracción de sobrepaso ruminal del compuesto de NNP de al menos el 50%, preferentemente el 55%, preferentemente el 60%, preferentemente el 65%, preferentemente el 70%, preferentemente el 75%, preferentemente el 80%, preferentemente el 85%, preferentemente el 90%, de forma más preferida el 95% o más. También está abarcada por la expresión "sobrepasar sustancialmente el rumen" una composición de NNP que tiene una velocidad de liberación en el rumen o una velocidad de liberación ruminal del compuesto de NNP inferior al 5% por hora, preferentemente del 4% por hora, preferentemente del 3% por hora, preferentemente del 2% por hora, de forma más preferida del 1% por hora o inferior.

El término "fracción de sobrepaso ruminal", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a la fracción o la cantidad de compuesto de NNP (por ejemplo, urea), con respecto a la cantidad total de compuesto de NNP (por ejemplo, urea) comprendida en la composición tal como se enseña en el presente documento antes de su ingestión por un rumiante, que sobrepasa el rumen.

Los términos "velocidad de liberación de NNP en el rumen" o "velocidad de liberación ruminal", tal como se utilizan en el presente documento, se refieren a la cantidad de compuesto de NNP (por ejemplo, urea), expresada en % en peso de la cantidad total de compuesto de NNP (por ejemplo, urea) comprendida en la composición tal como se enseña en el presente documento antes de su ingesta por un rumiante, que se libera (es decir, se digiere) en el rumen por hora.

Para hacer que una composición de NNP sobrepase el rumen de un rumiante, se puede utilizar un denominado "agente de sobrepaso" o "agente de sobrepaso ruminal". Típicamente, las composiciones que comprenden un núcleo de compuesto de NNP (por ejemplo, urea) se recubren con un "agente de sobrepaso" o se embeben en el "agente de sobrepaso" para formar una matriz.

La "fracción de sobrepaso ruminal" y la "velocidad de liberación ruminal" de cualquier composición de NNP dada recubierta con un "agente de sobrepaso" o embebida en un "agente de sobrepaso" se puede determinar o medir utilizando cualquier procedimiento adecuado para este propósito conocido en la técnica. El experto en la técnica conoce bien los procedimientos para medir o determinar la "fracción de sobrepaso ruminal" y la "velocidad de liberación ruminal" de una composición de NNP. Por ejemplo, se puede utilizar el procedimiento *in sacco* (también denominado en la técnica "la bolsa de nailon o poliéster") tal como se enseña en el presente documento en la sección de ejemplos.

El término "agente de liberación mantenida", tal como se enseña en el presente documento, se refiere a agentes o composiciones que tienen la capacidad de retardar o ralentizar la velocidad de liberación de amoníaco desde una fuente de NNP en el rumen a lo largo del tiempo. Típicamente, los agentes de liberación mantenida están diseñados para permitir la liberación de una determinada cantidad de amoníaco desde un compuesto de NNP (por ejemplo, urea) por unidad de tiempo, de forma que el amoníaco procedente de la fuente de NNP (por ejemplo, urea) no se libere completamente de una vez en el rumen. A lo largo de los años, se han desarrollado diversos agentes de liberación mantenida diseñados para retardar o ralentizar la velocidad de liberación de amoníaco desde NNP en el rumen a lo largo del tiempo. Los ejemplos no limitantes de agente de liberación mantenida incluyen los descritos en los documentos US6231895, US03015764A1, WO2011116445, US4035479, y otros. En la presente invención, cualquier composición que comprende un compuesto de NNP recubierta con un agente de liberación mantenida que retarda o ralentiza la velocidad de liberación de amoníaco desde una fuente de NNP en el rumen a lo largo del tiempo se considera una "composición de NNP de liberación mantenida".

Los términos "agente de sobrepaso" o "agente de sobrepaso ruminal", tal como se utilizan en el presente documento, se refieren a agentes o composiciones que tienen la capacidad de resistir sustancialmente la degradación, la hidrólisis o la digestión en el rumen a lo largo del tiempo. Un "agente de sobrepaso" o "agente de sobrepaso ruminal" puede resistir sustancialmente la degradación, la hidrólisis o la digestión en el rumen a lo largo del tiempo porque son sustancialmente no degradables en condiciones (por ejemplo, pH, temperatura, etc.) que prevalecen en el rumen y/o no pueden ser degradados por los microorganismos que viven en el rumen (por ejemplo, porque no producen las enzimas adecuadas para degradar sustancialmente el agente de sobrepaso). Típicamente, los "agentes de sobrepaso" o "agentes de sobrepaso ruminal" se utilizan para prevenir sustancialmente la liberación de un ingrediente activo (por ejemplo, fármacos, antibióticos, vitaminas, etc.) en el rumen, donde sería desventajoso, desperdiciado o destruido. En cambio, aseguran la liberación del ingrediente activo en la parte posterior al rumen del sistema digestivo, es decir, el abomaso y la parte subsiguiente del intestino (por ejemplo, el intestino delgado), donde puede ejercer su actividad para el rumiante.

Tal como se utiliza en el contexto de la presente invención, el agente de sobrepaso ruminal es adecuado para su ingestión por un rumiante. Esto significa que el agente de sobrepaso no debe causar ningún efecto adverso sustancial en la salud del rumiante.

Un aspecto importante que se debe considerar con respecto a la elección de un "agente de sobrepaso" o "agente de sobrepaso ruminal" adecuado para su uso en la presente invención es la capacidad del agente de sobrepaso para resistir sustancialmente la degradación en el rumen durante el tiempo de residencia del mismo en el rumen. Para la mayor parte de los rumiantes (por ejemplo, vacas, ovejas, etc.), el tiempo de residencia promedio es de aproximadamente 20 horas. Por lo tanto, preferentemente el "agente de sobrepaso" o el "agente de sobrepaso ruminal" de la invención es capaz de resistir sustancialmente la degradación por las enzimas digestivas de la microflora del rumen durante sustancialmente la totalidad del tiempo de residencia en el rumen de aproximadamente 20 horas. Preferentemente, el NNP (por ejemplo, más del 50%, preferentemente el 60%, preferentemente el 70%, preferentemente el 80%, de forma más preferida el 90% o más de la cantidad original antes de la ingestión) puede liberarse en el abomaso y partes subsiguientes del sistema digestivo. Por el contrario, los agentes o las composiciones de liberación mantenida que retardan o ralentizan la velocidad de liberación de amoníaco desde una fuente de NNP en el rumen a lo largo del tiempo, por ejemplo agentes de liberación mantenida tales como los del documento US4035470, proporcionan una protección bastante limitada contra la degradación en el rumen durante el tiempo de residencia en el rumen (dependiendo de la dieta, el tiempo de residencia puede variar entre 14 y 40 horas, pero en promedio es de aproximadamente 20 horas para comprimidos).

En la presente invención, las composiciones de NNP recubiertas, preferentemente completamente recubiertas, con un agente de sobrepaso adecuado, tales como las que se enseñan en el presente documento, se consideran "composiciones de NNP de sobrepaso ruminal".

Los términos "entorno(s) riguroso(s)" o "clima(s) riguroso(s)", tal como se utilizan en el presente documento, se refieren a climas cálidos y/o secos y/o fríos y/o ventosos, y cualquier mezcla de los mismos. Los ejemplos no

limitantes de climas rigurosos incluyen climas tales como los que se encuentran en Brasil, Australia, Asia del Sur, África y similares.

En la presente invención, se utiliza el sistema de clasificación internacional de Köppen para clasificar los climas basándose en el concepto de que la vegetación nativa es la mejor expresión del clima. Más específicamente, el sistema de clasificación internacional de Köppen tiene en cuenta la distribución de la vegetación, así como las temperaturas y precipitaciones medias anuales y mensuales, y la estacionalidad de la precipitación. El experto está familiarizado con el sistema internacional de clasificación Köppen.

En la presente invención, los ejemplos no limitantes de climas que pueden calificarse como climas rigurosos incluyen el denominado clima Aw (clima tropical húmedo y seco o de sabana) y clima Am (monzón tropical). Los climas Aw y Am se encuentran más comúnmente en América del Sur, América Central, África, India, Asia del Sur y el norte de Australia. Los climas Aw tienen una estación seca pronunciada, que tiene lugar en invierno, teniendo el mes más seco precipitaciones de menos de 60 mm y menos de 1/25 de la precipitación anual total. Los climas Am son el resultado de los vientos monzónicos, que cambian de dirección según las estaciones. Los climas Am también se caracterizan por una estación húmeda y seca, y en el mes más seco del año la precipitación es inferior a 60 mm, pero superior a 1/25 de la precipitación anual total.

El término "digestibilidad de la fibra", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere al grado o la facilidad con que las fibras son digeridas por un organismo tal como un rumiante. El grado o la facilidad con la que se digieren las fibras dietéticas (que se derivan de fibras vegetales) depende de muchos factores, incluidos factores de la dieta (por ejemplo, la calidad de fibras dietéticas tales como el pasto) y factores internos del cuerpo tales como la población microbiana, las enzimas degradantes, el pH ruminal, niveles de energía y otros. La dieta de los rumiantes se basa principalmente en fuentes vegetales, que son ricas en fibras. Las fibras vegetales tienen tres componentes principales: celulosa, hemicelulosa y lignina. La celulosa y la hemicelulosa pueden, hasta cierto punto, digerirse por los rumiantes. La lignina no es digerible y, por lo tanto, los rumiantes no pueden utilizarla para obtener energía. Los rumiantes por sí mismos no producen las enzimas necesarias para descomponer las fibras. En cambio, dependen de microorganismos, que producen enzimas para descomponer las fibras dietéticas. Los únicos dos lugares en el sistema digestivo donde se produce una digestión apreciable de las fibras son el rumen y el intestino grueso, y la mayor parte de la fibra se digiere en el rumen.

El experto en la técnica conoce bien los procedimientos para determinar la digestibilidad de la fibra en un rumiante. Por ejemplo, la digestibilidad de la fibra puede evaluarse utilizando el procedimiento descrito por Casali et al., R. Bras. Zootec., Vol 37: 335-342 (2008). La digestibilidad de la fibra puede determinarse, por ejemplo, en función de la indigestibilidad aparente del pienso como punto de partida. En este procedimiento, la excreción fecal es el parámetro básico de la indigestibilidad de un pienso o una dieta, ya que representa la porción de pienso ingerido que no se digirió durante su paso a través del sistema gastrointestinal del rumiante. La masa fecal se puede estimar con el uso de marcadores conocidos.

El término "materia seca" (abreviado como (MS)), tal como se utiliza en el presente documento, se refiere al contenido exento de humedad de una muestra dada. El experto en la técnica conoce bien los procedimientos para medir el contenido de materia seca de una muestra dada.

El término "digestibilidad de la materia seca" (abreviado como (DMS)), tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a la proporción del forraje o el pienso digerido.

El término "proteína bruta" (abreviado como (PB)), tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a una medida del contenido de nitrógeno de un pienso, que incluye tanto proteína verdadera como nitrógeno no proteico.

El término "fibra detergente neutra" (abreviado como (FDN)), tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a una medida de los componentes estructurales de una planta, específicamente la pared celular (es decir, lignina, hemicelulosa y celulosa), pero no pectina. Típicamente, la medición de FDN implica el uso de una solución de detergente neutro que se utiliza para disolver las pectinas fácilmente digeridas y el contenido de células vegetales (proteínas, azúcares y lípidos), dejando componentes estructurales de una planta, es decir, residuos fibrosos que son principalmente componentes de la pared celular de plantas (celulosa, hemicelulosa y lignina). La FDN representa la medida más común de fibra utilizada para el análisis de piensos animales, pero no representa una clase única de compuestos químicos.

El término "fibra detergente ácida" (abreviado como (FDA)), tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a una medida de los componentes vegetales menos digeribles, que incluyen celulosa y lignina.

El término "extracto de éter" (abreviado como (EE)), tal como se utiliza en este documento, se refiere al contenido de grasa bruta de un alimento.

El término "toxicidad por amoníaco" (que tiene la fórmula NH_3), tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a una situación en la que los niveles de amoníaco en la sangre superan un determinado umbral de amoníaco,

es decir, cuando la sangre periférica supera aproximadamente 1 mg de amoníaco por 100 ml de sangre), lo que a su vez causa síntomas de toxicidad en un rumiante, por ejemplo síntomas neurológicos. Las fuentes de nitrógeno en el rumen se dividen comúnmente en dos categorías: proteína bruta degradable (PBR) y nitrógeno no proteico (NNP). Tanto la PBR como el NNP se hidrolizan y se utilizan por los microbios del rumen. La PBR se degrada rápidamente en péptidos y aminoácidos. Los péptidos se pueden convertir en aminoácidos o directamente en proteínas microbianas. Los aminoácidos pueden utilizarse directamente por los microorganismos para la síntesis de proteínas o pueden degradarse adicionalmente por desaminación para producir esqueletos de carbono y compuestos de NNP, tales como amoníaco o urea (Namkim, 2010). El amoníaco derivado de los compuestos de NNP (por ejemplo, urea) también puede utilizarse por microorganismos en el rumen como fuente de nitrógeno. En general, se sabe que el nitrógeno, en el rumen, promueve la fermentación de carbohidratos y mejora la digestibilidad de las fibras y la síntesis de proteínas microbianas.

En condiciones normales (es decir, dieta estándar de rumiantes), el conjunto de amoníaco ruminal derivado de la dieta es típicamente muy pequeño (se estima que es de aproximadamente 5 a 20 mg/dl de líquido ruminal) y se transforma rápidamente, es decir, el amoníaco no utilizado por los microbios ruminales normalmente será absorbido por la pared retículo-ruminal para, en última instancia, alcanzar el hígado, donde se convertirá en urea. Una porción de amoníaco ruminal también puede incorporarse a la proteína microbiana. Parte del amoníaco producido en el rumen también puede absorberse en el abomaso o en partes subsiguientes del sistema digestivo (por ejemplo, el intestino delgado), pero en última instancia el amoníaco se enviará al hígado, donde se convertirá en urea. El exceso de amoníaco ruminal después del metabolismo se desecha en la orina después de la conversión a urea en el hígado. Para mantener el nivel de amoníaco en el rumen, la urea producida por el hígado puede regresar al rumen por difusión a través de la pared del rumen y la saliva.

No obstante, el uso del compuesto de NNP, en particular cuando se alimenta en grandes cantidades (por ejemplo, más de aproximadamente el 1% del peso seco total de la alimentación por día) puede alterar el metabolismo del amoníaco ruminal que prevalece en condiciones normales tal como se ha descrito anteriormente, y causar toxicidad por amoníaco. Al pH que prevalece en el rumen, los compuestos de NNP (por ejemplo, urea) se difunden muy rápidamente en el rumen, donde los niveles de amoníaco alcanzan súbitamente un pico alto. La toxicidad por amoníaco generalmente se produce porque la velocidad a la que se libera el amoníaco de la urea (es decir, se libera como un pico alto súbito) en el rumen es mayor que la capacidad de los microbios para utilizarlo o convertirlo en aminoácidos. El exceso de amoníaco en el rumen se envía después al torrente sanguíneo y al hígado, mientras que una parte se excreta como orina. Además, una concentración de amoníaco excesiva (por ejemplo, cuando los niveles en sangre son muy altos) puede sobrepasar el hígado y pasar de la sangre directamente al cerebro (a través del sistema linfático).

La toxicidad por amoníaco se refleja típicamente como crecimiento reducido, lactación reducida, ingesta reducida de alimento, espasmos musculares, ataxia, salivación excesiva, tetania, hinchazón, defectos respiratorios y otros.

El término "reciclaje de nitrógeno", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a la capacidad que tienen los rumiantes de reciclar nitrógeno sistémico de vuelta al rumen. El reciclaje de nitrógeno generalmente se produce a través de la sangre y de intercambios en el lumen intestinal de urea y amoníaco. El nitrógeno puede volver a penetrar en el sistema digestivo, principalmente a través de la pared del rumen, donde puede absorberse nuevamente o reutilizarse para la síntesis de proteínas microbianas y finalmente para fines anabólicos. El reciclaje de nitrógeno permite la conversión de nitrógeno catabólico en nitrógeno anabólico. Esto permite que el nitrógeno permanezca más tiempo en el cuerpo y aumenta la posibilidad de utilizar las fuentes de nitrógeno de la dieta de forma eficaz o al máximo. El reciclaje de nitrógeno se maximiza o se mejora cuando los niveles de urea en sangre son altos. Además, los productos de fermentación ruminal (es decir, ácidos grasos volátiles y CO₂) también contribuyen a la entrada de urea desde el torrente sanguíneo al rumen.

El término "estabilidad del pH del rumen", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a condiciones de pH sustancialmente constantes, que varían típicamente de un pH de 5,5 a un pH de 6,8, en las que las bacterias que digieren fibra prosperan mejor a un pH de 6,0-6,8 y las bacterias que digieren almidón a un pH de 5,5-6,0. Típicamente, el mejor equilibrio entre la digestión de fibra y de almidón se produce a un pH ruminal de aproximadamente 6,0. Por lo tanto, el rumen puede considerarse como una cámara de fermentación que solo funciona de forma óptima dentro de límites físicos/químicos estrechos. Pequeños cambios, por ejemplo del pH, alterarán fácilmente el fino equilibrio simbiótico entre varios tipos de microorganismos, casi todos los cuales tienen funciones específicas en los complejos procesos de fermentación en el rumen. Esto, en general, afectará negativamente (disminuirá) a la digestión de las fibras, lo que a su vez afectará (reducirá) al apetito y a la ingesta de alimentos. Los factores que afectan al pH del rumen y a la eficacia de la fermentación incluyen dietas con gran cantidad de forraje, altas ingestas de alimento, dieta rica en almidón, dieta rica en NNP y otros. La liberación del compuesto de NNP en el rumen típicamente aumenta el pH ruminal a valores superiores a pH de 6,7. A dichos niveles de pH, la fermentación ruminal se ve afectada.

El pH del rumen, en cualquier punto temporal dado, puede medirse o determinarse mediante cualquier procedimiento adecuado para lograr este objetivo. El experto en la técnica conoce bien los procedimientos

adecuados para medir o determinar el pH ruminal. Por ejemplo, el pH del rumen se puede medir tal como se enseña en el presente documento en la sección de ejemplos.

El término "excreción de nitrógeno", tal como se utiliza en el presente documento se refiere al nitrógeno encontrado o medido en heces y orina. El experto en la técnica es capaz de determinar la excreción de nitrógeno utilizando procedimientos conocidos. Uno de estos procedimientos se describe en el presente documento en la sección de ejemplos.

Los términos "utilización de nitrógeno" o "retención de nitrógeno", tal como se utilizan en el presente documento, se refieren a la proporción del nitrógeno ingerido que se retiene en el cuerpo del rumiante. En la presente invención, la utilización de nitrógeno puede determinarse mediante cualquier procedimiento adecuado conocido en la técnica, por ejemplo midiendo la ingesta de nitrógeno y la excreción de nitrógeno en heces y orina. Un ejemplo no limitante de un procedimiento para determinar la utilización de nitrógeno se describe por Hoffman et al. (J. Dairy Sci. 2001. Vol. 84: 843-847).

El término "crecimiento somático", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere al crecimiento del cuerpo en términos de altura y/o peso. También se entiende que el crecimiento somático se refiere a un cambio positivo en el tamaño (es decir, aumento de altura y/o peso), por ejemplo a lo largo de un periodo de tiempo. El crecimiento somático puede suceder como una etapa de desarrollo o maduración o durante la edad adulta. En la presente invención, el crecimiento somático se determina registrando el peso corporal de un rumiante antes y después del tratamiento con la composición tal como se describe en el presente documento (es decir, composición que comprende un compuesto de NNP (por ejemplo, urea) y un agente de sobrepaso ruminal). Específicamente, el crecimiento somático se determina restando el peso corporal medido después de administrar dicha composición del peso corporal medido antes de administrar dicha composición tal como se muestra en la siguiente fórmula:

$$\text{Crecimiento somático} = [\text{peso corporal antes del inicio del tratamiento con la composición tal como se enseña en el presente documento}] - [\text{peso corporal después de concluir el tratamiento con la composición tal como se enseña en el presente documento}].$$

Por ejemplo, un aumento en el peso corporal en respuesta al tratamiento con dicha composición indica un aumento en el crecimiento somático mientras que una disminución o ningún cambio en el peso corporal indica una disminución del crecimiento somático o un crecimiento somático sin cambios, respectivamente.

El término "ingesta de alimento", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a la cantidad (volumen o peso) de alimento ingerido voluntariamente por un rumiante en un determinado periodo de tiempo, por ejemplo en un día. En la presente invención, la ingesta de alimento puede determinarse pesando y registrando, diariamente, la cantidad de alimento suministrada en un punto temporal 0 (por ejemplo, al comienzo del día alrededor de las 8 de la mañana) y la cantidad de alimento sobrante típicamente se mide 24 horas después (por ejemplo, alrededor de las 8 de la mañana del día siguiente). El consumo de alimento se calcula restando la cantidad de alimento que no se ha consumido al final del día de la cantidad de alimento proporcionado a un rumiante al comienzo del día (es decir, el consumo de alimento = [cantidad de alimento proporcionado al comienzo del día] - [cantidad de alimento dejado intacto (es decir, no consumido) al final del día]).

El término "aproximadamente", tal como se utiliza en el presente documento, indica un intervalo de tolerancia normal en la técnica, por ejemplo dentro de 2 desviaciones estándar de la media. El término "aproximadamente" puede entenderse como que abarca valores que se desvían como máximo el 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5%, 0,1%, 0,05% o 0,01% del valor indicado.

Los términos "que comprende" o "comprende" y sus conjugaciones, tal como se utilizan en el presente documento, se refieren a una situación en la que dichos términos se utilizan en su sentido no limitante de forma que signifiquen que los elementos que siguen a la palabra están incluidos, pero los elementos no mencionados específicamente no están excluidos. También abarcan los verbos más limitantes "consistir esencialmente en" y "consistir en".

La referencia a un elemento con el artículo indefinido "un" o "una" no excluye la posibilidad de que esté presente más de uno de los elementos, a menos que el contexto requiera claramente que haya uno y solo uno de los elementos. El artículo indefinido "un" o "una" generalmente significa "al menos uno".

Los términos "aumentar", "disminuir" o "mejorar", tal como se enseñan en el presente documento, se refieren a la capacidad de aumentar o disminuir significativamente o mejorar significativamente un resultado. Generalmente, un parámetro aumenta, disminuye o mejora cuando es al menos el 5%, tal como el 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50% superior o inferior o mejorado, respectivamente, que el valor correspondiente en un control. En el contexto de la presente invención, el control puede ser un rumiante que no recibió una composición de NNP tal como se enseña en el presente documento. Como alternativa o adicionalmente, el control puede ser un rumiante que recibió un compuesto de NNP en una composición que carece de un agente de sobrepaso ruminal que permita al menos el 50% de sobrepaso ruminal o que recibió una composición de NNP de liberación mantenida que no permite al menos el 50% de sobrepaso ruminal. Cuando se realiza una comparación de si alguno de los parámetros

enseñados en el presente documento aumenta o disminuye o mejora, el rumiante de ensayo y el control son preferentemente del mismo género y/o la misma especie.

Descripción detallada de la invención

Los presentes inventores han descubierto sorprendentemente que la administración a un rumiante de una composición de NNP tal como se enseña en el presente documento que permite una fracción de sobrepaso ruminal de al menos el 50% (preferentemente el 80% o más), y que su velocidad de liberación de NNP en el rumen es inferior al 5% por hora, condujo a varios efectos ventajosos que incluyen: 1) aumento o mejora de la ingesta de alimento, 2) aumento o mejora de la digestibilidad de la fibra, 3) aumento o mejora del crecimiento somático, 4) aumento o mejora de la producción de leche, 5) reducción de la excreción de N en orina, 6) mejora de la estabilidad del pH del rumen y 7) prevención o reducción de la toxicidad por amoníaco en dicho rumiante, en comparación con un rumiante al que se administró una composición de NNP que no tiene las características descritas anteriormente (por ejemplo, urea no protegida y/o composiciones de NNP de liberación mantenida).

Sin vincularse a ninguna teoría, se cree que las ventajas mencionadas anteriormente se logran como consecuencia del patrón de liberación y de absorción de amoníaco en el abomaso y las partes subsiguientes del sistema digestivo que proporcionan las composiciones de NNP que se enseñan en el presente documento, junto con la capacidad endógena de los rumiantes para reciclar el nitrógeno sistémico de vuelta al rumen.

Con una fracción de sobrepaso ruminal de NNP de al menos el 50% (preferentemente el 80% o más), la mayor parte de la NNP se libera y se absorbe en el abomaso y las partes subsiguientes del sistema digestivo (por ejemplo, el intestino delgado), y no en el rumen. Esto representa un cambio de paradigma en el campo de la nutrición de rumiantes. En el momento de la presentación de la presente solicitud, la escuela de pensamiento predominante, con respecto a la administración de un compuesto de NNP a un rumiante, consistía en liberar predominantemente amoníaco derivado de NNP (> 70%), preferentemente de forma mantenida, en el rumen. Se pensaba que era importante que el compuesto de NNP (por ejemplo, urea) se liberara sustancialmente en el rumen a lo largo del tiempo, donde los microorganismos adaptados para su conversión estén disponibles.

Por el contrario, los presentes inventores han descubierto que el que la liberación del compuesto de NNP (por ejemplo urea) se efectúe sustancialmente (es decir, al menos el 50%, preferentemente el 80% o más) en el abomaso y las partes subsiguientes del sistema digestivo en lugar del rumen es más ventajoso para el rumiante.

La liberación de sustancias desde el rumen a las secciones inferiores del sistema gastrointestinal del rumiante sigue un patrón logarítmico muy lento debido a la velocidad de paso de la digesta y el líquido entre el rumen-retículo y el abomaso. Por lo tanto, pequeñas fracciones del contenido del rumen abandonan el rumen cada hora creando un suministro post-ruminal que disminuye lentamente de cualquier compuesto resistente al rumen introducido en el rumen.

En el caso de la composición de NNP de sobrepaso ruminal tal como se enseña en el presente documento, el efecto es un suministro de NNP pequeño pero constante al torrente sanguíneo del rumiante, que puede ser gestionado eficazmente por el cuerpo del rumiante. Una parte de la NNP volverá a penetrar en el rumen mediante el reciclaje de nitrógeno, donde los microbios del rumen utilizan el nitrógeno para la producción de proteínas. Como resultado, a lo largo del tiempo no se genera un pico sustancial de NNP de amoníaco, ni en el rumen ni en la sangre, lo que aumenta la eficacia de la utilización de nitrógeno (es decir, los microorganismos del rumen utilizan sustancialmente todo el nitrógeno para producir proteínas), y reduce la excreción de nitrógeno (es decir, que sirve como un índice de mayor utilización y digestibilidad de nitrógeno).

Debido a que los rumiantes tienen la capacidad de reciclar nitrógeno sistémico de vuelta al rumen, un flujo constante de una pequeña cantidad de nitrógeno llega al rumen por hora durante todo el día (es decir, un periodo de 24 horas) como resultado de un evento de alimentación. De esta forma, los microorganismos del rumen pueden convertir sustancialmente todo el nitrógeno en más aminoácidos en un modo en tiempo real, sin estar sometidos a una sobrecarga de NNP (es decir, que sustancialmente todo el NNP es utilizado por el microorganismo a lo largo del tiempo, sin excreción sustancial de nitrógeno o desbordamiento de nitrógeno al torrente sanguíneo). Como resultado, la NNP se utiliza de forma eficaz y no se pierde NNP. En general, esto potencia o mejora la función fermentativa del rumen que tiene dietas en las que el nitrógeno limita la digestión de carbohidratos, por ejemplo rumiantes mantenidos en condiciones ambientales rigurosas o expuestos o alimentados con pasto de baja calidad nutricional. A su vez, se aumenta la digestibilidad de la fibra en el rumen y la ingesta de alimentos, se promueve la estabilidad del pH en el rumen, se reduce la excreción de nitrógeno en la orina (es decir, se aumenta la digestibilidad del nitrógeno) y se aumenta la producción de proteínas, proteínas que están directamente disponibles para el rumiante para la producción de leche, lana, crecimiento somático y otros procesos.

Los inventores también han descubierto que debido a que no había toxicidad asociada con las composiciones que se enseñan en el presente documento, se puede incluir más NNP (es decir, más del 1% del peso seco total del alimento) en la dieta sin causar toxicidad, por ejemplo del 1% hasta el 100% del peso seco total de los alimentos) en comparación con las cantidades que generalmente se dan con las composiciones tradicionales de NNP, es decir,

cantidades inferiores o no superiores al 1% del peso seco total de los alimentos). El aumento del umbral de inclusión de NNP en las dietas de rumiantes representa una ventaja económica en la nutrición de rumiantes, al mismo tiempo que permite una producción más sostenible de leche, lana y/o carne por medio de una reducción en el uso de fuentes de proteína verdadera.

Composiciones de sobrepaso ruminal

En un primer aspecto, la presente invención se refiere a una composición de sobrepaso ruminal adecuada para su ingestión por un rumiante, que comprende

- un compuesto de nitrógeno no proteico, y
- un agente de sobrepaso ruminal, que permite el sobrepaso ruminal del compuesto de nitrógeno no proteico,

en la que el agente de sobrepaso ruminal es un recubrimiento que rodea el compuesto de nitrógeno no proteico y dicho recubrimiento consiste esencialmente en un aceite vegetal hidrogenado, y el compuesto de nitrógeno no proteico es uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en urea; sales de amonio; metilénurea, biuret, acetamida, butiramida, dicianoamida, formamida, etilénurea, isobutanoldiurea, lactosilurea, propionamida, ácido úrico y fosfato de urea, siendo la relación de compuesto de NNP con respecto a recubrimiento de 83:17 a 72:25.

El término "una composición de nitrógeno no proteico (NNP) de sobrepaso ruminal adecuada para su ingestión por un rumiante", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a una composición que no es tóxica o que no causa un daño sustancial al rumiante o no afecta sustancialmente al bienestar del rumiante. El experto en la técnica sabe cómo determinar si una composición de NNP dada es adecuada para ser ingerida por un rumiante.

En una forma de realización, la composición de NNP tal como se enseña en el presente documento carece de azufre y/o fosfato que contenga urea y/o cualquier derivado de azufre o fosfato de urea y/o compuestos relacionados con azufre o fosfato, por ejemplo urea recubierta con azufre, porque la urea recubierta con azufre tiene una estructura de recubrimiento más estrecha y, por lo tanto, presenta una velocidad de liberación de urea muy lenta, es decir, durante meses, por ejemplo una estación.

En una forma de realización, la composición de NNP tal como se enseña en el presente documento tiene una fracción de sobrepaso ruminal de NNP de al menos el 50%, preferentemente el 60%, preferentemente el 70%, preferentemente el 80%, de forma más preferida el 90% y más. Esto significa que, en comparación con la cantidad total de NNP comprendida en la composición antes de su ingestión por un rumiante, al menos el 50% de dicha cantidad total de NNP ha sobrepasado el rumen, en una forma no digerida, después de aproximadamente 20 horas después de su ingestión.

En principio, el recubrimiento que rodea el núcleo de NNP puede ser cualquier recubrimiento o composición capaz de proporcionar una velocidad de liberación de NNP en el rumen inferior al 5% en peso por hora, preferentemente inferior al 4% en peso por hora, preferentemente inferior al 3% en peso por hora, preferentemente inferior al 2% por hora, de forma más preferida inferior al 1% por hora y/o tiene una fracción de sobrepaso ruminal de NNP de al menos el 50%, preferentemente el 60%, preferentemente el 70%, preferentemente el 80%, de forma más preferida el 90% y más, preferentemente el recubrimiento tiene o mantiene las propiedades descritas anteriormente durante la totalidad del tiempo de residencia en el rumen de la composición de NNP recubierta con dicho recubrimiento, es decir, aproximadamente 20 horas.

No obstante, se ha descubierto que no todos los materiales de recubrimiento disponibles garantizan que se logre este objetivo. Además, es ventajoso utilizar un recubrimiento de fuentes naturales tales como grasas vegetales, ya que estos materiales permiten la producción de recubrimientos digeribles por animales, en particular por rumiantes, y también proporcionan un valor nutricional como beneficio adicional para el animal. Además, el nuevo procedimiento de recubrimiento desarrollado en el presente documento también permite evitar proteger la urea con niveles relativamente bajos de grasa, por ejemplo el 20% en peso de recubrimiento graso y el 80% en peso de urea.

En comparación, la técnica anterior enseña a utilizar polímeros y en particular polímeros artificiales no digeribles sin ningún beneficio nutricional para los animales para el recubrimiento protector de sustancias biológicamente activas.

Por ejemplo, el documento US3619200 describe un pienso o un suplemento alimenticio que se ha hecho resistente a su degradación dentro del rumen mediante la aplicación de un recubrimiento protector que consiste en polímeros o copolímeros sintéticos de monómeros acrílicos básicos o monómeros vinílicos básicos (por ejemplo, (2-vinilpiridina), poli(4-vinilpiridina) y poli(N-vinilpirrolidona), poli(metacrilato de terc-butilaminoetil) o copolímeros de los mismos).

El documento US3880990 divulga una composición para rumiantes administrable por vía oral que comprende una sustancia medicinal encapsulada o embebida en un polímero básico fisiológicamente aceptable. Los polímeros básicos adecuados incluyen: polímeros de imidamina ("laca de rumen", véase la patente belga N° 703820) o

copolímeros de ácido metacrílico y amidas de ácido metacrílico básicas (por ejemplo, un copolímero de amida de ácido 1-amino-3-dimetil-aminopropil-metacrílico y éster metílico de ácido metacrílico), derivados de ácido poliacrílico con grupos básicos (por ejemplo, Eudragit® E de Evonik, un derivado de ácido poliacrílico, en el que los grupos carboxilo están totalmente o parcialmente esterificados con dimetilaminoetanol o aminoalcoholes similares), derivados de aminocelulosa (por ejemplo, bencilamino-metilcelulosa, dietilamino-metilcelulosa, 1-piperidil-etilhidroxietilcelulosa y bencilamino-etilhidroxi-etilcelulosa), ésteres de aminoácidos de celulosa o derivados de celulosa (por ejemplo, N,N-dietilglicinametilcelulosa, p-amino-benzoato de acetilcelulosa, p-aminobenzoato de etilhidroxietilcelulosa y acetato-dietilaminoacetato de celulosa), polivinilaminas (por ejemplo, N-bencil-polivinilamina, N-fenil-polivinilamina y piperidino-polivinilamina, copolímeros de vinilamina y acetato de vinilo), polivinilaminoacetales (por ejemplo, polivinil-N,N-dietilaminoacetacetal, polivinil-N-bencilaminoacetacetal, polivinilpiperidinoacetacetal, copolímeros de vinil-N,N-dietilaminoacetacetal o vinil-N-dodecilaminoacetacetal o vinilpiperidino-acetacetal y acetato de vinilo), derivados de poli(vinilpiridina) (por ejemplo, poli(2-vinilpiridina), poli(4-vinilpiridina), poli(2-metil-5-vinilpiridina) y poli(2-vinil-5-etilpiridina) y copolímeros de estos compuestos de vinilo entre sí o con otros compuestos de vinilo o con copolímeros acrílicos o metacrílicos), p-aminobenzoato de sacarido (por ejemplo, p-aminobenzoato de sacarosa, p-aminobenzoato de lactosa, p-aminobenzoato de glucosa, p-aminobenzoato de fructosa, p-aminobenzoato de manitol y p-aminobenzoato de sorbitol), derivados de azúcares, polialcoholes y productos de almidón (por ejemplo, dodecilamino-N-glucósido, dodecilamino-N-xilósido, dodecilamino-N-lactósido, bencilamino-sacarosa, bencil-amino-dextrina y bencilaminomanitol, poliestirenos con grupos básicos (por ejemplo, dimetilaminoetilpoliestireno, acetildimetilaminometilpoliestireno, dietilaminometilpoliestireno, acetildietilaminometilpoliestireno, piperidilmetilpoliestireno, N-propil-dietanolaminametilpoliestireno, acetilpiperidilmetilpoliestireno y acetildietanolaminametilpoliestireno), y otros.

El documento WO2012054457 describe un suplemento alimenticio granular para rumiantes que comprende una sustancia fisiológicamente activa (por ejemplo, lisina) recubierta con un recubrimiento que consiste en uno o más ácidos monocarboxílicos alifáticos lineales saturados o insaturados (por ejemplo, con 1 o más dobles enlaces en *cis* o *trans*) que tienen de 2 a 34 átomos de carbono, incluidos ácidos monocarboxílicos alifáticos que están en forma libre, sales de ácidos monocarboxílicos alifáticos y ácidos monocarboxílicos alifáticos esterificados, tales como mono-, di- o triglicéridos y fosfolípidos. Los ácidos monocarboxílicos alifáticos pueden obtenerse a partir de fuentes naturales o pueden sintetizarse. Algunos ejemplos particulares no limitantes incluyen un único ácido monocarboxílico alifático saturado lineal, tal como, por ejemplo, ácido esteárico (C18). Otros ejemplos no limitantes incluyen una mezcla de dos o más ácidos monocarboxílicos alifáticos saturados lineales, tales como una mezcla de ácido esteárico y ácido palmítico con una relación de 20:1 a 3:1 partes en peso de ácido esteárico con respecto al ácido palmítico. El material de recubrimiento puede comprender uno o más ácidos monocarboxílicos alifáticos procedentes de una o más fuentes, tales como las fuentes descritas anteriormente. Sin embargo, se ha descubierto que el uso simple y no selectivo de un ácido monocarboxílico alifático, sal de ácido carboxílico o de un ácido monocarboxílico alifático esterificado no proporciona un recubrimiento que pueda proteger suficientemente un compuesto de NNP de que se libere en el rumen.

Se ha descubierto que el uso de un material de recubrimiento con un punto de fusión lo más amplio posible, o en otras palabras, un intervalo de fusión lo más amplio posible, permite la producción de compuestos que comprenden NNP con una velocidad de liberación lenta de NNP en el rumen. En particular, el uso de materiales de recubrimiento con un intervalo de fusión lo más amplio posible permite la preparación de composiciones que no tienen ningún defecto, tales como grietas, roturas u otros defectos en la capa de recubrimiento protectora alrededor del núcleo que comprende NNP o que al menos tiene solo un número muy bajo de dichos defectos. Sin desear vincularse a ninguna teoría específica, se cree que este efecto se basa en los diferentes puntos de fusión de los componentes presentes en un material de recubrimiento con un amplio intervalo de fusión: la fracción de alto punto de fusión del material de recubrimiento fundido se solidifica más rápidamente que la fracción de bajo punto de fusión del material de recubrimiento fundido. Por lo tanto, se cree que la fracción de bajo punto de fusión del material de recubrimiento fundido sigue siendo fluida o al menos viscosa durante un determinado periodo de tiempo. Los posibles daños en la capa de recubrimiento debidos a grietas, roturas o fallas pueden rellenarse y cerrarse inmediatamente por medio de la fracción aún líquida de bajo punto de fusión del material de recubrimiento durante el proceso de recubrimiento.

Las sustancias con un amplio intervalo de fusión que son adecuadas para la preparación de la composición de la presente invención son, por ejemplo, grasas o aceites de origen natural parcialmente o completamente hidrogenados, que están compuestos por ácidos grasos saturados, monoinsaturados o poliinsaturados de diferentes longitudes de cadena con diferente grado de saturación que están esterificados con glicerine o que contienen diferentes aditivos tales como fosfolípidos, esfingolípidos, colesterol u otros. Los aceites vegetales contienen una mezcla de varias grasas, entre las mismas grasas saturadas, grasas monoinsaturadas y grasas poliinsaturadas. Por ejemplo, el aceite de palma contiene aproximadamente el 46% de grasas saturadas, el 46% de grasas monoinsaturadas y el 8% de grasas poliinsaturadas, y el aceite de soja contiene aproximadamente el 14% de grasas saturadas, el 24% de grasas monoinsaturadas y el 62% de grasas poliinsaturadas. Específicamente, el aceite de palma contiene, por ejemplo, el 49% de ácido esteárico, el 38% de ácido palmítico, el 9% de ácido mirístico y otros ácidos grasos o de aproximadamente el 41 a aproximadamente el 46% de ácido palmítico, de aproximadamente el 37 a aproximadamente el 42% de ácido oleico, de aproximadamente el 8 a aproximadamente el 10% de ácido linoleico, de aproximadamente el 4 a aproximadamente el 7% de ácido esteárico, y aproximadamente el 2% o menos de otros ácidos grasos, y el aceite de soja contiene de aproximadamente el 17 a aproximadamente el 31% de

ácido oleico, de aproximadamente el 48 a aproximadamente el 59% de ácido linoleico, de aproximadamente el 2 a aproximadamente el 11% de ácido linolénico y otros ácidos grasos, tales como de aproximadamente el 2 a aproximadamente el 11% de ácido palmítico y/o del 2 al 7% de ácido esteárico. Sin embargo, las grasas naturales o los aceites vegetales naturales como tales no son estables en el rumen y, por lo tanto, no son realmente adecuados para su uso como agentes de sobrepaso ruminal. En comparación, las posibles grasas o aceites para formulaciones de productos estables en el rumen son, por ejemplo, aceites vegetales hidrogenados, tales como aceite de palma, aceite de soja, aceite de colza, aceite de girasol o aceite de ricino. Sin embargo, se ha descubierto que el uso de aceites vegetales hidrogenados como recubrimiento proporciona a la composición una baja velocidad de liberación de urea en el rumen. Se cree que este efecto se basa en el amplio intervalo de fusión debido a los diferentes ácidos grasos esterificados de los aceites vegetales hidrogenados.

Se ha descubierto también que el uso de aceite de palma hidrogenado proporcionaba productos con una velocidad de liberación de urea muy baja. La superficie de estos productos parecía tener una apariencia muy lisa y uniforme sin ningún defecto. Se cree que esto se debe al amplio intervalo de puntos de fusión de los diferentes ácidos grasos saturados dentro del aceite de palma hidrogenado. Los aceites de palma hidrogenados contienen una diversidad de ácidos grasos con diferentes puntos de fusión que permiten una muy buena autocuración de posibles defectos en la cubierta del recubrimiento.

En una forma de realización de la presente invención, el aceite vegetal hidrogenado se selecciona del grupo de aceite de palma hidrogenado, aceite de soja, aceite de semilla de algodón, aceite de colza, aceite de canola, aceite de cacahuete, aceite de maíz, aceite de oliva, aceite de girasol, aceite de cártamo, aceite de coco, aceite de lino, aceite de tung y aceite de ricino.

En una forma de realización preferida de la presente invención, por lo tanto, el recubrimiento de las composiciones consiste esencialmente en aceite de palma hidrogenado.

Las composiciones que comprenden NNP recubiertas con este recubrimiento tienen una velocidad de liberación de NNP en el rumen que es inferior al 5% en peso por hora, preferentemente el 4% en peso por hora, preferentemente el 3% en peso por hora, preferentemente el 2% en peso por hora, de forma más preferida el 1% en peso por hora o menos y/o una fracción de sobrepaso ruminal de NNP de al menos el 50%, preferentemente el 60%, preferentemente el 70%, preferentemente el 80%, de forma más preferida el 90% y más, preferentemente a lo largo de sustancialmente la totalidad del tiempo de residencia en el rumen de la composición de NNP recubierta con dicho recubrimiento, por ejemplo, 20 horas.

Por lo tanto, en una forma de realización de la presente invención, la composición tiene una velocidad de liberación del compuesto de nitrógeno no proteico de menos del 5% en peso por hora.

El uso de sustancias con un amplio intervalo de fusión como recubrimiento tiene la ventaja adicional de que esta técnica no requiere una nebulización fina por pulverización como en la mayor parte de los procesos actuales para el recubrimiento de partículas. Más bien, el uso de los materiales de recubrimiento según la presente invención permite dejar caer el material líquido puntualmente en un único punto específico o en varios puntos específicos en forma líquida en el lecho en movimiento de partículas. Esto tiene la ventaja adicional de que el material de recubrimiento puede utilizarse como suspensión junto con componentes adicionales tales como carbonato de calcio, carbonato de potasio, carbonato de sodio, hidrogenocarbonato de potasio e hidrogenocarbonato de sodio, que permiten proporcionar composiciones recubiertas con un desencadenante de pH. Dicho desencadenante de pH ayuda a liberar el compuesto de NNP en el abomaso en un tiempo más corto que los compuestos sin desencadenante de pH.

En una forma de realización de la presente invención, el recubrimiento comprende un desencadenante de pH, preferentemente carbonato de calcio, carbonato de potasio, carbonato de sodio, hidrogenocarbonato de potasio e hidrogenocarbonato de sodio.

En una forma de realización, el compuesto de NNP es uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en acetato de amonio, sulfato de amonio, butirato de amonio y una sal de amonio de un aminoácido.

En una forma de realización preferida de la presente invención, el compuesto de nitrógeno no proteico es urea y/o una sal de amoniaco.

En una forma de realización, el tamaño de partícula promedio de la composición de NNP de sobrepaso ruminal tal como se enseña en el presente documento puede encontrarse en el intervalo de aproximadamente 1,0 mm a aproximadamente 6 mm, o en el intervalo de aproximadamente 1,2 mm a aproximadamente 5 mm, o en el intervalo de aproximadamente 1,2 mm a aproximadamente 4 mm, o en el intervalo de aproximadamente 1,2 mm a aproximadamente 3 mm, o en el intervalo de aproximadamente 1,2 mm a aproximadamente 2,8 mm, o en el intervalo de aproximadamente 1,4 mm a aproximadamente 2,6 mm, o en el intervalo de aproximadamente 1,6 mm a aproximadamente 2,4 mm, o en el intervalo de aproximadamente 1,8 mm a aproximadamente 2,2 mm o en el intervalo de aproximadamente 2,0 mm.

Puede ser ventajoso que la composición de NNP de sobrepaso ruminal tal como se enseña en el presente documento tenga un tamaño de partícula promedio de al menos aproximadamente 2 mm, reduciendo la posibilidad de regurgitación o vómitos por parte del rumiante tras su ingestión.

En principio, la aplicación del recubrimiento tal como se enseña en el presente documento alrededor de un NNP o alrededor de un producto que comprende NNP puede realizarse según cualquier procedimiento adecuado conocido en la técnica. Sin embargo, se ha descubierto que el mejor procedimiento para proporcionar un recubrimiento a un NNP es el recubrimiento con tambor. Con el fin de lograr la anteriormente mencionada autocuración de defectos en la capa de recubrimiento, es decir, el rellenado y el cierre de daños en la capa de recubrimiento debidos a grietas, roturas o fallas, la fracción aún líquida que está presente sobre las partículas en el lecho en movimiento de partículas debe transferirse directamente de una partícula a otra a través del contacto directo y suave de las partículas. El contacto directo de las partículas se logra por medio del movimiento continuo de las partículas en el lecho de partículas. Se ha descubierto que la mejor forma de lograr este objetivo es realizar el recubrimiento en un recubridor de tambor giratorio, en el que las partículas se mueven en cualquier punto y en cualquier momento y en el que una partícula está en contacto estrecho con el mayor número posible de otras partículas. Como consecuencia, se transfieren cantidades en exceso de fracción líquida del material de recubrimiento, lo que puede suceder de forma local en la superficie de una partícula del comprimido de urea, a través del contacto intenso entre las partículas y las fuerzas adhesivas causadas por este contacto de una partícula a otra partícula con menos recubrimiento en su superficie. Esta transferencia, el contacto directo de las partículas entre sí y el movimiento permanente de las partículas conduce al cierre y al sellado de defectos en una capa de recubrimiento. Esta acción también se ilustra en la figura 1: la partícula con una grieta esquematizada en la capa de recubrimiento (a) se pone en contacto con otras partículas que tienen material de recubrimiento parcialmente fundido en su superficie (b); mediante la transferencia de parte del material fundido de una partícula a otra durante el contacto suave, la grieta se puede sellar y proporciona un producto de urea protegido por sobrepaso ruminal (c). La rodadura permanente de las partículas elimina irregularidades en la superficie del recubrimiento sobre los comprimidos de urea y conduce a un rellenado y un cierre continuo de los agujeros en dicho recubrimiento con material de recubrimiento líquido. Esta acción también se ilustra en la figura 2: la figura muestra que la partícula con un orificio esquematizado en el comprimido de urea (a) se pone en contacto con otras partículas que tienen material de recubrimiento parcialmente fundido en su superficie (b); mediante la transferencia de parte del material fundido de una partícula a otra durante el contacto suave el orificio se puede sellar y proporcionar así un producto de urea protegido por sobrepaso ruminal (c).

Se ha descubierto que estas condiciones y estos resultados no pueden realizarse con ninguna técnica de recubrimiento concebible, tales como un lecho fluidizado o un mezclado en tambor. Más bien, dichas técnicas habituales conducen a productos con superficie irregular y que, lo que es más importante, no tienen un recubrimiento cerrado alrededor del compuesto de NNP o el núcleo que comprende NNP. Sin embargo, cualquier defecto en el recubrimiento de los productos obtenidos mediante mezclado en lecho fluidizado o en tambor aumentará la velocidad de liberación del compuesto de NNP en el rumen, lo que, no obstante, debe evitarse. Se cree que esto se basa en la observación de que el mezclado en lecho fluidizado y en tambor no puede proporcionar un contacto intensivo de las partículas. Por lo tanto, estos procedimientos no permiten la transferencia mencionada anteriormente del material de recubrimiento aún líquido de una partícula a otra y, por lo tanto, tampoco proporcionan la autocuración de cualquier posible defecto en el recubrimiento de los productos. En comparación, el contacto intensivo de las partículas es máximo en un lecho en movimiento de partículas. Por lo tanto, los efectos de autocuración mencionados anteriormente también son los mejores en un lecho en movimiento de partículas. Se puede realizar un lecho en movimiento de partículas en un tambor giratorio, en el que las partículas se mueven en cualquier momento de una forma muy suave y ruedan unas sobre otras. En comparación, en un lecho fluidizado las partículas se aceleran fuertemente a través de la suspensión con un remolino de gas y, por lo tanto, la capa de recubrimiento de una partícula está expuesta a una tensión mecánica extrema cuando colisiona con la carcasa del lecho fluidizado o cuando colisiona con otras partículas. Esto conduce a la formación de nuevas roturas o grietas en la capa de recubrimiento y también a la formación de partículas finas. En un mezclador de tambor, el producto sólido también se expone a una tensión mecánica por medio del agitador del mezclador de tambor. El agitador crea una alta presión durante el mezclado y a través del contacto directo del agitador o de la carcasa del mezclador con las partículas o mediante el contacto directo de las partículas entre sí, causándose debido a la carga de alta presión daños en el recubrimiento de las partículas. Como resultado, los productos obtenidos mediante mezclado en tambor y en lechos fluidizados tienen un aspecto superficial irregular y se caracterizan por marcas de presión profundas (véase también el ejemplo de comparación 6).

Una ventaja adicional del recubrimiento en tambor es que permite un ajuste lo más preciso posible de la temperatura eficaz del lecho de partículas mediante el control de la cantidad de calor alimentado y descargado por medio de la regulación continua de las corrientes de alimentación. El nivel de temperatura puede elevarse aumentando la corriente másica del material de recubrimiento fundido añadido o de una forma limitada aumentando la temperatura de la alimentación de gas refrigerante. El nivel de temperatura puede reducirse disminuyendo la corriente másica de material de recubrimiento fundido añadido o disminuyendo la temperatura del gas refrigerante. La temperatura eficaz del lecho de partículas también depende particularmente de la temperatura de precalentamiento de los comprimidos de urea al comienzo del procedimiento de recubrimiento. El control muy eficaz de la temperatura en el proceso de recubrimiento también ayuda a la autocuración de la superficie de recubrimiento de las partículas, en particular

cuando se utilizan materiales de recubrimiento con un intervalo de fusión amplio. Se cree que la temperatura eficaz en el recubrimiento en tambor permite solidificar al principio específicamente aquellos componentes del material de recubrimiento que tienen un alto punto de fusión, y después realizar la solidificación gradual de aquellos componentes del material de recubrimiento que tienen puntos de fusión más bajos. La fracción de bajo punto de fusión del material de recubrimiento aún es líquida cuando la fracción de alto punto de fusión acaba de solidificarse y, por lo tanto, dicha fracción de bajo punto de fusión puede rellenar y sellar roturas y agujeros en la capa de recubrimiento de una composición tal como se enseña en el presente documento.

Por lo tanto, un segundo aspecto de la presente invención es un proceso para preparar una composición de sobrepaso ruminal según la presente invención que comprende las etapas siguientes

- a) proporcionar partículas que contengan un compuesto de nitrógeno no proteico en un recubridor de tambor,
- b) calentar las partículas de la etapa a) a una temperatura en el intervalo de 10 °C por debajo del límite inferior del intervalo de fusión del agente de sobrepaso ruminal al límite inferior del intervalo de fusión del agente de sobrepaso ruminal ,
- c) proporcionar un agente de sobrepaso ruminal fundido en un depósito dispuesto en el exterior del recubridor del tambor,
- d) calentar el agente de sobrepaso ruminal fundido de la etapa c) a una temperatura entre el límite superior del intervalo de fusión del agente de sobrepaso ruminal y 10 °C por encima del límite superior del intervalo de fusión del agente de sobrepaso ruminal,
- e) aplicar el agente de sobrepaso ruminal fundido de la etapa d) sobre las partículas de la etapa b) en un recubridor de tambor giratorio,
- f) mantener la temperatura del lecho de partículas a la temperatura en el intervalo de fusión del agente de sobrepaso ruminal, y
- g) enfriar la composición obtenida en la etapa f) o permitir que la composición obtenida en la etapa f) se enfríe.

El material de recubrimiento preferido para la composición tal como se enseña en el presente documento son sustancias con un amplio intervalo de fusión.

En una forma de realización de la presente invención, el agente de sobrepaso ruminal tiene una diferencia entre el límite inferior y el superior del intervalo de fusión de 3 °C a 10 °C.

Las figuras 3 y 4 (imagen SEM (microscopio electrónico de barrido) para el producto del ejemplo 1) y las figuras 11 y 12 (imagen SEM para el producto del ejemplo 9) muestran que el uso de un agente de sobrepaso ruminal que contiene al menos el 90% de una grasa hidrogenada proporciona productos con una superficie muy uniforme sin defectos tales como roturas, agujeros o similares.

En comparación, ni el mezclado en tambor ni en lecho fluidizado dan un producto de calidad comparable, incluso cuando se utilizaron los mismos materiales de recubrimiento, véanse las figuras 5 y 6 (imagen SEM para el producto del ejemplo comparativo 2 obtenido por mezclado en tambor) y las figuras 7 y 8 (imagen SEM para el producto del ejemplo comparativo 2 obtenido por medio de un lecho fluidizado).

En una forma de realización de la presente invención, el agente de sobrepaso ruminal consiste esencialmente en un aceite vegetal hidrogenado.

En una forma de realización preferida de la presente invención, el aceite vegetal hidrogenado se selecciona del grupo que consiste en aceite de palma hidrogenado, aceite de soja, aceite de semilla de algodón, aceite de colza, aceite de canola, aceite de cacahuete, aceite de maíz, aceite de oliva, aceite de girasol, aceite de cártamo, aceite de coco, aceite de lino, aceite de tung y aceite de ricino.

En una forma de realización preferida de la presente invención, el agente de sobrepaso ruminal consiste esencialmente en un aceite de palma hidrogenado.

En una forma de realización, la temperatura del agente de sobrepaso ruminal fundido se encuentra entre aproximadamente 50 °C y aproximadamente 85 °C.

En una forma de realización preferida, la temperatura del agente de sobrepaso ruminal fundido se encuentra entre aproximadamente 50 °C y aproximadamente 65 °C.

En una forma de realización, la temperatura de las partículas calentadas se encuentra entre 40 °C y aproximadamente 75 °C.

5 En una forma realización preferida, la temperatura de las partículas calentadas se encuentra entre 42 °C y 55 °C o de 42 °C a 50 °C.

En una forma de realización, el agente de sobrepaso ruminal fundido se vierte en el recubridor de tambor.

10 En la presente invención, puede preferirse recubrir el núcleo de NNP con uno o más recubrimientos adecuados tal como se enseña en el presente documento. El núcleo de NNP puede recubrirse con una sola capa del material de recubrimiento aplicado en una sola aplicación de recubrimiento, o el núcleo puede recubrirse con múltiples capas de material de recubrimiento, tales como, por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o más capas. Cada capa que rodea el núcleo puede comprender independientemente el mismo material de recubrimiento o diferentes materiales de recubrimiento tal como se enseñan en el presente documento. Si se aplican capas consecutivas del mismo material de recubrimiento al núcleo tal como se ha descrito anteriormente, las capas individuales pueden no ser distinguibles en el producto final.

20 Puede ser ventajoso aplicar una capa de recubrimiento múltiple tal como se enseña en el presente documento para prevenir u ocultar defectos en el recubrimiento (por ejemplo, grietas). Por ejemplo, mientras el material de recubrimiento líquido se deja enfriar y solidificar formando una capa sólida, pueden formarse defectos tales como microfisuras, grietas y poros en la capa. Estos defectos pueden crear rutas para que el entorno ruminal acceda y comience a degradar el núcleo. Aunque cualquier capa adicional también puede mostrar dichos defectos, los defectos en una capa pueden compensarse con regiones sin defectos en una capa de recubrimiento superior o inferior y en contacto directo con dicha capa. Por lo tanto, al aplicar múltiples capas de material de recubrimiento al núcleo, dejando enfriar y solidificar cada capa antes de formar la capa siguiente, el número de defectos que se producen continuamente o crean una ruta desde la superficie exterior de la capa más externa al núcleo va a disminuir.

30 Se entiende además que el número y el tamaño de los defectos en una capa pueden variar dependiendo del tamaño del núcleo, los materiales de recubrimiento, el proceso de recubrimiento y los parámetros del proceso utilizados para producir el núcleo recubierto. Como tales, el número de capas y el espesor de cada capa necesarios para obtener una fracción de sobrepaso ruminal de NNP y/o la velocidad de liberación de NNP en el rumen deseadas, pueden variar dependiendo de las variables seleccionadas.

35 Se entiende que el compuesto de NNP o el núcleo que comprende NNP (por ejemplo, urea) debe recubrirse con una cantidad suficiente de material de recubrimiento tal como se enseña en el presente documento para recubrir el núcleo, preferentemente recubrir completamente el núcleo, y debe tener un tamaño de partícula adecuado para obtener un fracción de sobrepaso ruminal de al menos el 50%, preferentemente el 60%, preferentemente el 70%, preferentemente el 80%, de forma más preferida el 90% o más y/o una velocidad de liberación de NNP en el rumen que es inferior al 5% por hora, preferentemente inferior al 4% por hora, preferentemente inferior al 3% por hora, preferentemente inferior al 2% por hora, de forma más preferida inferior al 1% por hora, preferentemente a lo largo de sustancialmente la totalidad del tiempo de residencia en el rumen de la composición de NNP, por ejemplo, 20 horas.

45 En una forma de realización, el núcleo que comprende más del 90% en peso de compuesto de NNP puede encontrarse en forma de uno o más gránulos de NNP o más o más comprimidos de NNP, o puede incluir además una matriz que comprende uno o más excipientes tales como sustancias aglutinantes, ingredientes inertes y sustancias de control de flujo que conjuntamente facilitan la formación de pellas de NNP granulada o comprimida. Se entiende que dicho núcleo está recubierto adecuadamente con uno de más de los recubrimientos o composiciones tal como se enseñan en el presente documento para producir las composiciones de sobrepaso ruminal de la invención.

55 En una forma de realización, el núcleo que comprende más del 90% en peso del compuesto de NNP puede estar fabricado de NNP comprimida, por ejemplo urea comprimida (por ejemplo disponible en SABIC).

Se entiende que, dependiendo del número de capas de recubrimiento aplicadas en el núcleo que comprende más del 90% en peso de compuesto de NNP, el tamaño de partícula de los gránulos o comprimidos de NNP tal como se enseñan en el presente documento puede variar para obtener un tamaño de partícula dado del producto acabado.

60 En una forma de realización, el compuesto de NNP es uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en urea, biuret, metilenurea, sales de amonio, acetamida, butiramida, dicianoamida, formamida, etilenurea, isobutanoldiurea, lactosilurea, propionamida, ácido úrico y fosfato de urea. Las sales de amonio adecuadas también incluyen, por ejemplo, sales acetato, bicarbonato, carbamato, carbonato, cloruro, citrato, formiato, furmerato, lactato, maleato, fosfato, polifosfato, propionato, succinato y sulfato de amonio, o cualquier otra sal adecuada. La composición tal como se enseña en el presente documento puede comprender urea y sulfato de amonio.

65

Otro aspecto de la presente invención es una composición de sobrepaso ruminal según la presente invención, en la que la composición se obtiene mediante un proceso según la presente invención.

Cuando se prepara la composición que se enseña en el presente documento, puede ser ventajoso (aunque no esencial) añadir uno o más ingredientes adicionales al agente de sobrepaso ruminal, es decir, el recubrimiento tal como se enseña en el presente documento. Los ejemplos representativos y no limitantes de dichos ingredientes incluyen lecitina, ceras (por ejemplo, cera de carnauba, cera de abejas, ceras naturales, ceras sintéticas, ceras de parafina y similares), ésteres de ácidos grasos, carbonato de magnesio, carbonato de calcio, fosfato de calcio, pirofosfato de calcio, hidratos de hidrogenofosfato de calcio, dihidrato de hidrogenofosfato de calcio, dihidrogenopirofosfato de calcio, pirofosfato de magnesio, hidratos de hidrogenofosfato de magnesio, fosfato de aluminio, hidróxido de magnesio, hidróxido de aluminio, óxido de manganeso, óxido de cinc, hidrogenocarbonato de sodio y óxido férrico, y mezclas de los mismos, y otros. La adición de uno o más de dichos ingredientes puede ser beneficiosa para facilitar adicionalmente el sobrepaso ruminal y/o para facilitar la liberación y/o la digestión y/o la degradación, en el abomaso y el intestino inferior, del compuesto de NNP y/o derivados del mismo. El experto sabe cómo seleccionar los ingredientes adecuados para lograr este propósito.

Alternativamente, cuando se prepara la composición tal como se enseña en el presente documento, también puede ser ventajoso (aunque no esencial) añadir otros ingredientes, tales como uno o más ingredientes seleccionados de entre sustancias aglutinantes (por ejemplo, derivados de celulosa tales como hidroxipropilcelulosa, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, derivados de vinilo tales como poli(alcohol vinílico) o polivinilpirrolidona, goma arábica, goma de guayaco, poliacrilato de sodio y similares), sustancias de relleno (por ejemplo, almidón, proteínas, celulosa cristalina y similares), ingredientes inertes (por ejemplo, compuestos de sílice y de silicato), sustancias de control del flujo que ayudan a la formación de pellas (granos triturados de trigo, pulpa de remolacha y similares), agentes conservantes (ácido propiónico o su sal, ácido sórbico o su sal, ácido benzoico o su sal, ácido deshidroacético o su sal, ésteres de ácido parahidroxibenzoico, imazalilo, tiabendazol, ortofenilfenol, ortofenilfenol sódico, difenilo y otros compuestos y mezclas de los mismos), agente antibacteriano y otros compuestos que se pueden añadir para preparar las composiciones de piensos o de suplementos alimenticios para rumiantes tal como se enseñan en el presente documento. El experto en la técnica está familiarizado con técnicas y compuestos que son útiles para lograr estos propósitos, y que son compatibles con la producción de las composiciones de piensos o de suplementos alimenticios para rumiantes que se enseñan en el presente documento.

También puede ser ventajoso (pero no esencial) mejorar aún más el valor nutricional y/o el valor terapéutico de las composiciones tal como se enseñan en el presente documento mediante la adición de ingredientes alimenticios adicionales (por ejemplo, ingredientes nutricionales, agentes veterinarios o medicinales, etc.) u otros ingredientes a las composiciones tal como se enseñan en el presente documento.

Por ejemplo, uno o más ingredientes seleccionados de entre productos de granos, productos vegetales, productos de origen animal, proteínas (por ejemplo, ingredientes proteicos obtenidos de fuentes tales como sangre secada o harina de carne, harina de carne y huesos, harina de semilla de algodón, harina de soja, harina de colza, harina de semilla de girasol, harina de canola, harina de cártamo, alfalfa deshidratada, harina de gluten de maíz, concentrado de proteína de soja, proteína de patata, estiércol de animales y aves de corral secado y esterilizado, harina de pescado, aislados de proteínas de pescado y aves de corral, concentrado de proteína de cangrejo, proteína de harina de plumas hidrolizada, harina de subproductos de aves de corral, huevo líquido o en polvo, suero de leche, albúmina de huevo, caseína, productos solubles de pescado, crema celular, residuos de la fabricación de cerveza y similares), sales minerales, vitaminas (por ejemplo, tiamina HCl, riboflavina, piridoxina HCl, niacina, inositol, cloruro de colina, pantotenato de calcio, biotina, ácido fólico, ácido ascórbico, vitamina B12, ácido p-aminobenzoico, acetato de vitamina A, vitamina K, vitamina D, vitamina E y similares), azúcares y carbohidratos complejos (por ejemplo monosacáridos, disacáridos y polisacáridos solubles en agua e insolubles en agua, compuestos veterinarios (por ejemplo, clorhidrato de promazina, acetato de cloromedoniato, clorotetraciclina, sulfametazina, monensina, monensina sódica, poloxalina, oxitetraciclina, Bovatec y similares), antioxidantes (por ejemplo, butilhidroxianisol, hidroxitolueno butilado, terc-butilhidroquinona, tocoferoles, galato de propilo y etoxiquina), ingredientes de elementos traza (por ejemplo, compuestos de cobalto, cobre, manganeso, hierro, cinc, estaño, níquel, cromo, molibdeno, yodo, cloro, silicio, vanadio, selenio, calcio, magnesio, sodio y potasio, y similares), y otros compuestos o ingredientes, se pueden añadir a las composiciones de piensos o de suplementos alimenticios tal como se enseñan en el presente documento.

El experto está familiarizado con los procedimientos y los ingredientes adecuados para mejorar el valor nutricional y/o terapéutico o medicinal de los piensos y los suplementos alimenticios para rumiantes, y sabe cómo mejorar el valor nutricional y/o terapéutico o medicinal de las composiciones tal como se enseñan en el presente documento.

Descripción de las figuras:

Figura 1: ilustra el sellado de grietas mediante recubrimiento en tambor.

Figura 2: ilustra el sellado de superficies mediante recubrimiento en tambor.

Figura 3: imagen SEM del producto del ejemplo 1 (aumento de 30 veces)

Todas las imágenes SEM se realizaron con un microscopio electrónico de barrido Jeol, tipo JSM-7600F, a un voltaje de aceleración de 20 kV.

Figura 4: imagen SEM del producto del ejemplo 1 (aumento de 300 veces)

Figura 5: imagen SEM del producto del ejemplo comparativo 2 (aumento de 30 veces)

Figura 6: imagen SEM del producto del ejemplo comparativo 2 (aumento de 300 veces)

Figura 7: imagen SEM del producto del ejemplo comparativo 3 (aumento de 30 veces)

Figura 8: imagen SEM del producto del ejemplo comparativo 3 (aumento de 300 veces)

Figura 9: imagen SEM del producto del ejemplo comparativo 4 (aumento de 30 veces)

Figura 10: imagen SEM del producto del ejemplo 7 (aumento de 100 veces)

Figura 11: imagen SEM del producto del ejemplo 9 (aumento de 30 veces)

Figura 12: imagen SEM del producto del ejemplo 9 (aumento de 300 veces)

Figura 13: imagen SEM del producto del ejemplo comparativo 11 (aumento de 30 veces)

Figura 14: imagen SEM del producto del ejemplo comparativo 11 (aumento de 300 veces)

Figura 15: imagen SEM del producto del ejemplo comparativo 12 (aumento de 30 veces)

Figura 16: imagen SEM del producto del ejemplo comparativo 12 (aumento de 300 veces)

Figura 17: Desaparición de la urea ruminal a lo largo del tiempo de urea, SRU (urea de liberación mantenida), BPU (urea de sobrepaso).

Figura 18: Concentraciones de amoníaco ruminal (mg/dl) con respecto al tiempo de infusión. SRU = urea de liberación lenta; BPU = urea de sobrepaso.

Ejemplos

Ejemplo 1: Efectos del suministro post-ruminal de una composición de urea sobre la digestibilidad de la fibra.

Materiales y procedimientos

El objetivo de este experimento era evaluar los efectos de una infusión ruminal frente a una abomasal de urea sobre la digestibilidad de la fibra en rumiantes. El experimento incluyó un periodo de adaptación de cuatro semanas a una dieta basal (en este caso imitando una dieta tropical de invierno (el clima tropical de invierno es un clima Aw) además de los distintos periodos experimentales (es decir, un periodo experimental por régimen de tratamiento enumerado en la tabla 1), cada uno con una duración de catorce días.

Descripción del animal y número

Se utilizaron cuatro novillas Holstein no lactantes y no preñadas para el experimento. Las novillas Holstein tenían un promedio de $20 \pm 0,5$ meses de edad y pesaban en promedio 561 ± 42 kg. Se canuló el rumen de cada una de las novillas. Se insertó un tubo en el abomaso a través de la cánula del rumen para sobrepasar el rumen.

Tratamientos

El experimento consistió en dos grupos de tratamiento sometidos a diferentes regímenes de tratamiento. Específicamente, cada grupo de tratamiento difirió con respecto al sitio de suministro (es decir, en el rumen o el abomaso) y el régimen de administración (es decir, o bien a lo largo de 24 horas o bien una vez al día) (véase la tabla 1 siguiente).

Ambos grupos de tratamiento recibieron una cantidad igual (127 g) de urea por día (como fuente de nitrógeno no proteico). Dicha cantidad de urea se calculó para permitir la producción de aproximadamente 370 gramos de proteína bruta (PB) por novilla, por día. Además, la cantidad de suplementos de urea (es decir, 127 gramos por día)

proporcionó el 65% y el 45% de requerimientos calculados para proteína degradable en el rumen (PBR) y PB, respectivamente, para una novilla en crecimiento con una ganancia diaria promedio (GDP) de 0,2 kilogramos.

Tabla 1. Grupos de tratamiento

Grupos de tratamiento	Regímenes de tratamiento
<u>Tratamiento 1:</u> El grupo de "urea en el rumen" (UR)	Las novillas Holstein (n = 4) recibieron una solución de urea, que se infundió en el rumen, una vez al día a través de una cánula.
<u>Tratamiento 2:</u> El grupo de "urea en el abomaso" (UA)	Las novillas Holstein (n = 4) recibieron una solución de urea, que se infundió en el abomaso a lo largo de un periodo de 24 horas a través de una cánula.

Adaptación a la dieta basal

Para simular una dieta climática tropical (invierno) (es decir, una dieta climática Aw), se implementó un periodo de adaptación de 3 semanas antes de iniciar el tratamiento (tal como se describe en la tabla 1) con urea. Específicamente, las novillas se alimentaron con una dieta que consistía en un heno de baja calidad, que comprendía el 6,0% de proteína bruta; el 70% de fibra detergente neutra (FDN) y el 42% de fibra detergente ácida (FDA). La baja calidad del heno dio como resultado una baja digestibilidad de fibra del heno. Las novillas recibieron este heno de baja calidad además de 2,0 kg de pienso compuesto de adaptación diariamente durante 9 días adicionales, lo que dio como resultado un periodo de adaptación prolongado (hasta aproximadamente 4 semanas). Después del periodo de adaptación, los novillas se expusieron a los regímenes de tratamiento (es decir, consecutivamente, comenzando con el tratamiento 1 seguido por el tratamiento 2) tal como se describe en la tabla 1 (2 semanas por régimen de tratamiento).

Gestión de los animales

Las novillas se alojaron en un establo cerrado con comederos y bebederos de agua individuales, colchones de goma y lecho de virutas de madera. El establo cerrado se limpió y las virutas de madera se reemplazaron a diario. Las novillas se alimentaron con heno de baja calidad dos veces al día (08 h 30 y 16 h 30). A las novillas se les permitió comer *ad libitum* durante ambos eventos de alimentación.

Se administró una cantidad de un kilogramo de pienso compuesto (denominado "pienso compuesto de ensayo"), en forma de harina, por la mañana (08 h 30) a través de la cánula (véase la tabla 2). Los detalles sobre las composiciones de heno y pienso compuesto ("pienso compuesto de adaptación" y "pienso compuesto de ensayo") se presentan en la tabla 3 siguiente. Los animales tuvieron libre acceso a los bebederos de agua durante todo el día.

Tabla 2. Sitio de infusión y composición

Tratamiento	Sitios de infusión	
	Rumen (infundido una vez al día a las 08 h 30)	Abomaso (infundido a lo largo de 24 h)
UR	1 kg de PC + 127 g de urea	NaCl 9 g/l
UA	1 kg de PC	Urea 12,8 g/l + NaCl 9 g/l

Abreviaturas UR = urea en el rumen; UA = urea en el abomaso; PC = pienso compuesto.

Tabla 3. Composición del pienso compuesto y el heno

	PC adaptación	PC ensayo	Heno
Ingredientes (g/kg)			
Maíz	240	625	-
Harina de soja	654	330	-
Carbonato de Ca de grado alimenticio	1,6	1,5	-
NaCl	0,5	0,42	-
MgSO ₄	0,5	0,48	-
Mono-CaPO ₄	1,2	1,08	-
MgO ₂	0,6	0,54	-

	PC adaptación	PC ensayo	Heno
Ingredientes (g/kg)			
Urea	6,2	0,00	-
Mezcla VM Vit. E/SE RuBB600 ¹	0,12	0,12	-
FF VM 2619 Vit E (0,025%) ²	0,12	0,12	-
masa estándar FF 15073 Melkvee ³	0,24	0,24	-
Composición química	PC adaptación	PC ensayo	Heno
MS (g/kg)	893	880	873
MO (g/kg de MS)	920	930	945
PB (g/kg de MS)	481	217	60,8
EE (g/kg de MS)	24,6	29,6	10,7
FDN (g/kg de MS)	115	114	700
FDA (g/kg de MS)	70,3	47,2	421
Lignina (g/kg de MS)	n.a.	n.a.	518

Abreviaturas ¹Ca, 159 g; P, 6,47 g; Na, 0,27 g; Mg, 2,71 g; K, 7,14 g; S, 0,9 g; Cl, 0,70 g; Cu, 0,65 mg; Zn, 7,99 mg; Fe, 12,5 mg; Se, 87,0 mg; Vitamina E, 43478 I.E./ ²Ca, 331,369 g; Mg, 2,516 g; Vitamina E, 100000 I.E./ ³Ca, 376 g; Na, 0,07 g; Mg, 3,00 g; S, 2,54 g; Cu, 5,00 g; Mn, 5,00 g; Zn, 10,0 g; Se, 133 mg; Co, 95,0 mg; Vitamina A, 2500000 I.E.; Vitamina D, 500000 I.E. MS = materia seca, MO = materia orgánica, PB = proteína bruta, EE = extracto de éter, FDN = fibra detergente neutra, FDA = fibra detergente ácida, y n.a. = no disponible. "PC adaptación" se refiere a PC utilizado durante el periodo de adaptación de la dieta, mientras que "PC ensayo" se refiere a la PC utilizado durante los dos regímenes experimentales enumerados en la tabla 1. El símbolo "-" debajo de la columna "Heno" indica que las filas quedan intencionadamente en blanco porque el único componente del heno es pasto secado.

Infusiones dobles

En todas las novillas se realizó una infusión simultáneamente en el rumen y el abomaso. Este diseño experimental permitió que cada novilla recibiera todos los tratamientos (consecutivamente), lo que proporcionó 4 réplicas por tratamiento. Los dos periodos experimentales descritos en la tabla 1 duraron 14 días cada uno. Para cada régimen de tratamiento individual, el periodo de catorce días consistió en 8 días de adaptación, 4 días para el muestreo y 2 días de descanso sin infusiones.

Siempre que se infundió en el rumen la solución de tratamiento, se infundió una solución de placebo (por ejemplo, solución salina) en el abomaso y cada vez que la solución de tratamiento se infundió en el abomaso, se infundió una solución de placebo (por ejemplo, agua) en el rumen. En el caso presente, fue necesario infundir una solución salina en el abomaso (a diferencia del agua) para evitar problemas relacionados con la presión osmótica debido al pequeño volumen del abomaso. Esta situación requiere el uso de una solución que tenga una presión osmótica similar a la de la sangre. Una solución salina fisiológica cumple este requisito. Contrariamente a la situación en el abomaso, no se requiere la infusión de una solución salina para el rumen porque este último tiene un volumen mucho mayor, por lo que no crea problemas de presión osmótica. Por lo tanto, la infusión de agua es adecuada para el rumen.

Cada novilla estaba equipada con dos líneas de infusión a través del tapón de la cánula. Específicamente, la primera línea suministró la solución directamente al rumen; la segunda línea pasó a través del rumen hasta el omaso utilizando una brida de goma como ancla, y suministró la solución bombeada al abomaso (Gressley et al. (2006)).

Las ocho líneas de infusión (2 por novilla) se conectaron a una única bomba peristáltica (Watson-Marlow 520S) equipada con un cabezal de bomba de 10 casetes (Watson-Marlow 505CA8). Las soluciones de infusión se mantuvieron en frascos de 20 l de capacidad, que se reemplazaron cada dos días, después de la alimentación matutina.

Los niveles de infusión y las velocidades de infusión se verificaron 3 veces al día (a las 09:00 h; las 16:00 h y las 21:00 h). Cuando fue necesario, se reemplazaron los tubos del colector con diferentes diámetros internos para ajustar la velocidad o el nivel de solución, con el objetivo de alcanzar 10 l (o 5 l durante los primeros dos días del periodo) de infusión continuamente en 24 h. La velocidad de infusión se estableció en 3,5 ml/min (5 l/d) durante los primeros dos días de adaptación en cada periodo experimental y en 6,9 ml/min (10 l/d) para los días restantes.

Recogida de muestras

Pienso compuesto y heno

Se tomaron muestras de pienso compuesto y heno del día 09 al 12 de cada periodo experimental. Después de recoger las muestras, se utilizó una porción para determinar el contenido de materia seca (MS) a 60 °C 72 h y el resto se almacenó a -20 °C en una bolsa grande etiquetada con el número de periodo y el código de ensayo. Al final del periodo, las muestras secas se agruparon y se mezclaron a fondo para obtener una muestra compuesta para cada periodo y se etiquetaron adecuadamente con el código de ensayo y el periodo. Las muestras se utilizaron posteriormente para determinar la digestibilidad de la fibra.

Rechazos

Los restos de heno se determinaron y se muestrearon del día 10 al 13 (los días de muestreo) de cada periodo experimental. Después de recoger las muestras, se utilizó una porción para determinar la MS a 60 °C 72 h y el resto se almacenó a -20 °C en una bolsa grande etiquetada con el nombre del animal, el periodo y el código de ensayo. Al final del periodo, las muestras secas se agruparon y se mezclaron a fondo para obtener una muestra compuesta para cada periodo, y se etiquetaron adecuadamente con el código de ensayo y el periodo. Las muestras se utilizaron posteriormente para determinar la ingesta de alimento.

Excrementos

Se tomaron muestras fecales del recto de acuerdo con el siguiente programa. El día 10 a las 08:00 h y las 14:00 h; día 11 a las 10:00 h y las 16:00 h; y día 12 a las 12:00 h y las 18:00 h. Las muestras se congelaron, se secaron al aire (60 °C; 72 h), y se prepararon muestras de heces compuestas (muestras agrupadas) en base al peso seco, para cada animal, en cada periodo experimental. Las muestras compuestas se etiquetaron con código de ensayo, periodo y animal. Las muestras se utilizaron posteriormente para determinar la digestibilidad de la fibra.

Evaluación de la digestibilidad de la fibra

La digestibilidad de la fibra se determinó en función de la indigestibilidad aparente del pienso utilizando el procedimiento descrito por Casali et al., R. Bras. Zootec., Vol 37: 335-342 (2008).

Resultados

Los resultados se presentan en la tabla 4 siguiente. Los resultados muestran que la digestibilidad aparente de la fibra aumentó en las novillas que recibieron suplementos de urea en el abomaso en comparación con las novillas que recibieron suplementos de urea en el rumen.

Tabla 4: Digestibilidad de fibra aparente de materia seca, materia orgánica y fibra detergente neutra de las novillas Holstein sometidas a infusiones de nitrógeno no proteico.

	Tratamientos	
	UR	UA
Digestibilidad aparente de la fibra (%)		
Materia seca	49,35	51,36
Materia orgánica	50,18	52,79
Fibra detergente neutra	43,75	48,27

Abreviaturas: UR = urea en el rumen; UA = urea en el abomaso.

Ejemplo 2: Efectos del suministro post-ruminal de una composición de compuesto de NNP sobre la ingesta de alimento

El objetivo de este experimento era evaluar los efectos de la infusión ruminal frente a la abomasal de amoníaco (una fuente equivalente de NNP) sobre la ingesta de alimento en rumiantes. El procedimiento experimental fue el mismo que el descrito anteriormente para el ejemplo 1, excepto que se utilizó amoníaco en lugar de urea en una cantidad equivalente de N. Los tratamientos consistieron en una infusión continua de amoníaco en el rumen o el abomaso tal como se muestra en la tabla 5.

Tabla 5. Sitio de infusión y composición

Tratamiento	Sitios de infusión		
	Rumen (infundido una vez al día a las 08 h 30)	Rumen (infundido durante 24 h)	Abomaso (infundido durante 24 h)
AR	1 kg de PC	NH ₄ OH 14,8 g/l	NaCl 9 g/l

AA	1 kg de PC	H ₂ O *	NH ₄ OH 14,8 g/l + NaCl 9 g/l
----	------------	--------------------	--

Abreviaturas AR = amoníaco en el rumen; AA = amoníaco en el abomaso; PC = pienso compuesto.

*/Agua en la misma cantidad utilizada para diluir la solución de amoníaco en AR: 20 l/día

Evaluación de la ingesta de alimento

En la presente invención, la ingesta de alimento se determinó pesando y registrando, diariamente, la cantidad de alimento (en este caso, heno) proporcionado (típicamente proporcionado al comienzo del día alrededor de las 8:30 de la mañana) y la cantidad de sobras de alimento (es decir, el alimento no ingerido, generalmente evaluado al comienzo del día siguiente alrededor de las 8:00 de la mañana) que queda en el comedero (o soporte del alimento). La ingesta de alimento se calculó según la fórmula siguiente:

Ingesta de alimento = [cantidad de alimento proporcionada al comienzo del día] – [cantidad de alimento dejado intacto (es decir, no ingerido) después de un periodo de 24 horas]

Resultados

Los resultados se presentan en la tabla 6 siguiente. Los resultados indican un aumento en la ingesta de alimento de heno (véase "materia seca de heno" en la tabla 6), así como de nutrientes totales (véase "materia seca total", "materia orgánica", "fibra detergente neutra", "proteína bruta (pienso)" y "proteína bruta (total)" en la tabla 6) en novillas que a las que se infundió amoníaco como fuente suplementaria de nitrógeno no proteico en el abomaso con respecto a las novillas a las que se infundió amoníaco en el rumen.

Tabla 6. Ingesta de heno y nutrientes totales de novillas Holstein sometidas a la administración de amoníaco

Ingesta de alimento (kg/día)	Tratamientos	
	AR	AA
Materia seca del heno	5,37	6,09
Materia seca total	6,26	6,97
Materia orgánica	5,90	6,58
Fibra detergente neutra	3,87	4,38
Proteína bruta (pienso)	0,537	0,581
Proteína bruta (total)	0,907	0,952

Abreviaturas: AR = amoníaco en el rumen; AA = amoníaco en el abomaso

Ejemplo 3: Efectos del suministro post-ruminal de una composición de NNP sobre el crecimiento somático.

El objetivo de este experimento es evaluar los efectos de la infusión ruminal frente a la abomasal de urea sobre el crecimiento somático en rumiantes. El procedimiento experimental y los tratamientos con animales son los mismos que los descritos anteriormente para el ejemplo 1, excepto que la duración de los tratamientos es de al menos 2 meses, tal como de 6 meses.

Evaluación del crecimiento somático

Las novillas se pesan individualmente el primer día de cada periodo experimental (es decir, el día 1) y el último día del periodo experimental (es decir, después de al menos 2 meses, tal como después de 6 meses). Los cambios en el peso corporal se registran para cada novilla con respecto a cada régimen de tratamiento (enumerado en la tabla 1) según la fórmula siguiente:

Crecimiento somático = [peso corporal antes del inicio del tratamiento con urea o amoníaco] – [peso corporal después de concluir el tratamiento con urea o amoníaco].

Un aumento en el peso corporal indica un aumento en el crecimiento somático, mientras que una disminución o ningún cambio en el peso corporal indica una disminución en el crecimiento somático o un crecimiento somático sin cambios, respectivamente.

Resultados

Los resultados muestran que las novillas a las que se infunde urea o amoníaco en el abomaso muestran un mayor peso corporal al final del tratamiento con urea o amoníaco en comparación con las novillas que reciben una cantidad equivalente de urea o amoníaco en el rumen.

Ejemplo 4: Efectos del suministro post-ruminal de una composición de NNP sobre la producción de leche en rumiantes lactantes.

El objetivo de este experimento es evaluar los efectos de la infusión ruminal frente a la abomasal de urea o amoníaco en la producción de leche en rumiantes. El procedimiento experimental y los tratamientos con animales son los mismos que los descritos anteriormente para el ejemplo 1, excepto que las novillas Holstein eran novillas lactantes.

Resultados

Los resultados muestran que las novillas lactantes a las que se infunde urea o amoníaco en el abomaso muestran una mayor producción de leche al final del tratamiento con urea o amoníaco en comparación con las vaquillas lactantes que reciben una cantidad equivalente de urea o amoníaco en el rumen.

Ejemplo 5: Preparación de una formulación de urea de sobrepaso ruminal

Se preparó una formulación de urea de sobrepaso ruminal utilizando un recubridor de tambor, equipado con una lanza gotero para la adición de un aceite fundido o una grasa fundida a un lecho de partículas de urea. El recubridor de tambor tenía un diámetro de aproximadamente 350 mm y un ancho de tambor de aproximadamente 190 mm. El ancho del lecho utilizado era de aproximadamente 120 mm y el área de entrada de flujo en la que se soplaba aire caliente al lecho de partículas (área de entrada de flujo) tenía un ancho de aproximadamente 100 mm.

El recubridor de tambor se rellenó con 400 g de urea comprimida que tenía un tamaño de partícula de 1,8 a 2,4 mm. Después, el interior del tambor se calentó con aire caliente hasta que el lecho de partículas de urea presentó una temperatura de 48 °C. En un recipiente de doble pared con un calentador se fundió aceite de palma hidrogenado con un punto de fusión de 50 a 55 °C y se calentó a una temperatura de 65 °C. El aceite de palma fundido se bombeó desde el recipiente de doble pared a través de una tubería calentada eléctricamente hasta la lanza gotero. El aceite de palma fundido se vertió desde la lanza gotero sobre el lecho de urea comprimida a lo largo de un periodo de tiempo de 12 minutos a una velocidad radial del agitador de 32 metros por minuto. Durante la adición del aceite de palma fundido, la temperatura del lecho de urea comprimida se mantuvo a una temperatura de aproximadamente 48,0 a aproximadamente 50,5 °C. La temperatura del lecho de urea comprimida se determinó por medio de un elemento térmico que se mantuvo directamente en el lecho en movimiento de partículas. Durante el recubrimiento, el lecho de partículas era pegajoso y las capas de recubrimiento se formaron lentamente a lo largo del tiempo. Después de 12 minutos se añadieron aproximadamente 80 g del aceite de palma hidrogenado fundido y se recubrieron las partículas de urea, y el lecho de partículas se dejó enfriar lentamente. Se obtuvo un producto sin polvo con un recubrimiento del 16,7% en peso, con respecto al peso total del producto recubierto. Las partículas recubiertas tenían una superficie muy lisa y brillante. Además, el producto obtenido consistía en partículas de tamaño comparable, y estaba desprovisto de aglomerados o partículas más grandes.

Ejemplo comparativo 6: recubrimiento en mezclador de tambor

Un mezclador horizontal de Loedige con un volumen de 10 litros, que estaba equipado con un agitador Pflugschar®, una doble camisa y una lanza gotero para la introducción de grasa fundida, se llenó con 2 kg de urea comprimida. Después, el interior del mezclador se calentó por medio de una doble camisa con agua caliente hasta que el lecho de urea comprimida presentó una temperatura de 45 °C y la urea comprimida se movió con una velocidad de agitador radial de 30 metros por minuto. Se calentó a 65 °C aceite de palma hidrogenado fundido con un punto de fusión de 50 a 55 °C y se bombeó desde un recipiente de doble pared a través de una tubería calentada eléctricamente. Por medio de la lanza gotero, se vertieron 410 g de grasa fundida sobre el lecho de urea durante un periodo de tiempo de 15 minutos a una velocidad radial de 30 metros por minuto. Durante el proceso de recubrimiento, el lecho de partículas era pegajoso. Después de la adición del aceite de palma hidrogenado, el lecho de partículas se dejó enfriar lentamente. Se obtuvo un producto sin polvo con un recubrimiento del 17% en peso, con respecto al peso total del producto recubierto.

Ejemplo comparativo 7: recubrimiento en lecho fluidizado

Se dispusieron 200 g de urea comprimida con un tamaño de partícula de 1,8 a 2,4 mm en un recubridor de lecho fluidizado Strea-1™ (Aeromatic-Fielder). Los comprimidos de urea se fluidizaron con aire que tenía una temperatura de 40 °C. El recubridor estaba equipado con una boquilla en la parte superior para rociar aceite de palma hidrogenado fundido sobre las partículas de urea. El aceite de palma hidrogenado fundido con un punto de fusión de 50 a 55 °C se calentó a 70 °C y se bombeó desde un recipiente de doble pared a través de una tubería calentada eléctricamente. El aceite de palma fundido se roció sobre el lecho de los comprimidos de urea durante un periodo de tiempo de 10 minutos. Después de la adición del 13% en peso de aceite de palma hidrogenado, el producto se enfrió bajando la temperatura del aire.

Ejemplo comparativo 8: Recubrimiento en tambor a temperatura inferior

Se utilizó la misma configuración experimental que en el ejemplo 5. El recubridor de tambor se rellenó con 600 g de urea comprimida que tenía un tamaño de partícula de 1,8 a 2,4 mm. Después, el interior del tambor se calentó con aire caliente. El lecho de partículas de urea tenía una temperatura inferior a 40 °C. En un recipiente de doble pared

con un calentador se fundió aceite de palma hidrogenado con un punto de fusión de 50 a 55 °C y se calentó a una temperatura de 65 °C. El aceite de palma fundido se bombeó desde el recipiente de doble pared a través de una tubería calentada eléctricamente hasta la lanza gotero. El aceite de palma fundido se vertió desde la lanza gotero sobre el lecho de urea comprimida durante un periodo de tiempo de 15 minutos a una velocidad radial del agitador de 32 metros por minuto. Durante la adición del aceite de palma fundido, la temperatura del lecho de urea comprimida se mantuvo a una temperatura de aproximadamente 40 a aproximadamente 45 °C. Después de la adición del aceite de palma hidrogenado, el lecho de partículas se dejó enfriar lentamente. Se obtuvo un producto sin polvo con un recubrimiento de 17% en peso, con respecto al peso total del producto recubierto. A diferencia de los productos del ejemplo 1, los productos del ejemplo comparativo 4 tenían una gran fracción de aglomerados de dos, tres o incluso más partículas.

Ejemplo comparativo 9: Recubrimiento en tambor a temperatura superior

Se utilizó la misma configuración experimental que en el ejemplo 5. El recubridor de tambor se rellenó con 600 g de urea comprimida que tenía un tamaño de partícula de 1,8 a 2,4 mm. Después, el interior del tambor se calentó con aire caliente. El lecho de partículas de urea tenía una temperatura de 52 °C. En un recipiente de doble pared con un calentador se fundió aceite de palma hidrogenado con un punto de fusión de 50 a 55 °C y se calentó a una temperatura de 65 °C. El aceite de palma fundido se bombeó desde el recipiente de doble pared a través de una tubería calentada eléctricamente hasta la lanza gotero. El aceite de palma fundido se vertió desde la lanza gotero sobre el lecho de urea comprimida durante un periodo de tiempo de 15 minutos a una velocidad radial del agitador de 32 metros por minuto. La temperatura del lecho de urea comprimida se encontraba entre 52 y 55 °C. El experimento tuvo que detenerse porque el material del interior del recubridor se aglomeraba por completo y, por lo tanto, ya no fue posible el mezclado del lecho de partículas.

Ejemplo 10: Preparación de una formulación de urea de sobrepaso ruminal (no según la invención)

La preparación de una formulación de urea de sobrepaso ruminal se llevó a cabo de la misma forma que se describe en el ejemplo 5. Con 171 g de aceite de palma hidrogenado fundido se recubrieron 400 g de urea comprimida con un tamaño de partícula de 1,8 a 2,4 mm a lo largo de un periodo de tiempo de 40 minutos. La temperatura del lecho de partículas de urea se encontraba entre 49,5 y 50,5 °C. El producto desprovisto de polvo contenía el 70% en peso de urea, las partículas son muy lisas y tienen una superficie brillante. El producto estaba desprovisto de aglomerados o partículas más grandes.

Ejemplo 11: Preparación de una formulación de urea de sobrepaso ruminal (no según la invención)

La preparación de una formulación de urea de sobrepaso ruminal se realizó de la misma forma que se describe en el ejemplo 5, con la excepción de que se utilizó una mezcla de aceite de palma hidrogenado y carbonato de calcio como material de recubrimiento. Con una mezcla de 80 g de aceite de palma hidrogenado fundido y 48 g de un carbonato de calcio micronizado disponible comercialmente (tipo NOFACAL 0/50 de NOFAKALK GmbH, 95632 Wunsiedel-Holenbrunn, Rampenstrasse 4, Alemania) con un tamaño de partícula de menos de 5 µm a 60 µm se recubrieron 400 g de urea comprimida que tenía un tamaño de partícula de 1,8 a 2,4 mm durante 18 minutos. La temperatura del lecho de la urea comprimida se encontraba entre 51 y 52 °C. El producto desprovisto de polvo contenía el 75,8% en peso de urea, las partículas eran muy lisas y tenían una superficie pálida. El producto estaba desprovisto de aglomerados o partículas más grandes.

Ejemplo 12: Preparación de una formulación de urea de sobrepaso ruminal

La preparación de una formulación de urea de sobrepaso ruminal se llevó a cabo de la misma forma que se describe en el ejemplo 5. Con 120 g de aceite de palma hidrogenado fundido se recubrieron 400 g de urea comprimida con un tamaño de partícula de 1,8 a 2,4 mm a lo largo de un periodo de tiempo de 25 minutos. La temperatura del lecho de la urea comprimida se encontraba entre 50 y 52 °C. El producto desprovisto de polvo contenía el 76,9% de urea, las partículas eran muy lisas y tenían una superficie brillante. El producto estaba desprovisto de aglomerados o partículas más grandes.

Ejemplo 13: Preparación de una formulación de urea de sobrepaso ruminal (no según la invención)

La preparación de una formulación de urea de sobrepaso ruminal se realizó de la misma forma que se describe en el ejemplo 5, con la excepción de que se utilizó una mezcla de aceite de palma hidrogenado y carbonato de calcio como material de recubrimiento. Con una mezcla de 80 g de aceite de palma hidrogenado fundido y 28 g de un carbonato de calcio micronizado disponible comercialmente (tipo NOFACAL 0/50 de NOFAKALK GmbH, 95632 Wunsiedel-Holenbrunn, Rampenstrasse 4, Alemania) con un tamaño de partícula de menos de 5 µm a 60 µm se recubrieron 400 g de urea comprimida que tenía un tamaño de partícula de 1,8 a 2,4 mm durante 30 minutos. La temperatura del lecho de urea comprimida se encontraba entre 51 y 52 °C. El producto desprovisto de polvo contenía el 78,7% en peso de urea, las partículas eran muy lisas y tenían una superficie pálida. El producto estaba desprovisto de aglomerados o partículas más grandes.

Ejemplo 14: Preparación de una formulación de urea de sobrepaso ruminal (no según la invención)

- 5 La preparación de una formulación de urea de sobrepaso ruminal se llevó a cabo de la misma forma que se describe en el ejemplo 5, con la excepción de que se utilizó una mezcla de aceite de palma hidrogenado y L-tirosina como material de recubrimiento. Con una mezcla de 94 g de aceite de palma hidrogenado fundido y 31 g de L-tirosina se recubrieron 500 g de urea comprimida con un tamaño de partícula de 1,8 a 2,4 mm durante un periodo de tiempo de 19 minutos. La temperatura del lecho de las partículas de urea se encontraba entre 49 y 51 °C. El producto desprovisto polvo contenía el 80,0% en peso de urea, las partículas eran muy lisas y tenían una superficie brillante. El producto estaba desprovisto de aglomerados o partículas más grandes.

Ejemplo comparativo 15: recubrimiento en lecho fluidizado

- 15 El recubrimiento se realizó de la misma forma que se describe en el ejemplo comparativo 7 con la excepción de que se utilizaron 300 g de urea comprimida con un tamaño de partícula de 1,8 a 2,4 mm. Los comprimidos de urea se fluidizaron con aire que tenía una temperatura de 42 °C. El aceite de palma hidrogenado fundido con un punto de fusión de 50 a 55 °C se calentó a 70 °C y se roció sobre los comprimidos de urea durante un periodo de tiempo de 15 minutos. Después de la adición del 15% en peso de aceite de palma hidrogenado, el producto se enfrió bajando la temperatura del aire.

Ejemplo comparativo 16: Recubrimiento en tambor a temperatura inestable

- 25 El recubrimiento se realizó utilizando la misma configuración experimental que se describe en el ejemplo 5. Se dispusieron 400 g de urea comprimida con un tamaño de partícula de 1,8 a 2,4 mm en el recubridor de tambor y después el interior del recubridor de tambor se calentó con aire caliente hasta que el lecho de partículas de urea presentara una temperatura de 45 °C. El aceite de palma hidrogenado fundido con un punto de fusión de 50 a 55 °C se calentó a 60 °C y se vertió sobre el lecho de comprimidos de urea a una velocidad radial de 30 metros por minuto durante un periodo de tiempo de 25 minutos. La temperatura del lecho de los comprimidos de urea no fue estable en este ejemplo y osciló entre 45 y 60 °C. Después de la adición del 15% en peso de aceite de palma hidrogenado, se obtuvo un producto desprovisto polvo con una gran fracción de aglomerados.

Ejemplo 17: ensayos de lixiviación

- 35 Los productos de los ejemplos 5 a 10 se utilizaron en ensayos de lixiviación en tampón McDougall con pH 6 para simular *in vitro* las condiciones del rumen. Se pesaron las sustancias siguientes en un frasco de 10 litros:

- NaHCO ₃	98 g (1,17 mol)
- Na ₂ HPO ₄ • 2 H ₂ O	46,3 g (0,26 mol)
- NaCl	4,7 g (0,08 mol)
- KCl	5,7 g (0,08 mol)
- CaCl ₂ • 2 H ₂ O	0,4 g (2,7 mmol)
- MgCl ₂ • 6 H ₂ O	0,6 g (3,0 mmol)

- 40 Las sustancias sólidas se disolvieron en 3 l de agua destilada. El pH se ajustó a 6 con ácido clorhídrico concentrado y el frasco se llenó hasta un volumen total de 10 l. Se dispusieron 250 ml de tampón McDougall en matraces Schott con un volumen cada uno de 1000 ml, los matraces se sellaron y se agitaron a 100 revoluciones por minuto en un agitador de laboratorio (Innova 40, New Brunswick Scientific) y se calentó a una temperatura de aproximadamente 39 °C. Se añadieron 5 g de cada una de las sustancias de ensayo a los matraces y se agitó. Después de 6 horas, el contenido de los matraces se separó por filtración, se lavó con 50 ml de agua fría y se secó a 40 °C durante la noche en un horno. El producto residual se pesó y la pérdida de peso se consideró pérdida de urea.

Cálculo de la velocidad de liberación de urea utilizando la fórmula

Velocidad de liberación de urea = (m(producto de ensayo) - m(producto residual)) / (m(producto de ensayo * p(urea)))

50

Ejemplo:	m(producto de ensayo)	= 5,0 g
	m(producto residual)	= 4,2 g
	p(urea en el producto de ensayo)	= 83%

velocidad de liberación de urea = (5,00 g – 4,20 g) / (5,00 g * 0,83) = 19,3%

Resultados:

Tabla 7. Resumen de los resultados

Producto	RR, 6 h	RR, 24 h	Observaciones
<u>Ejemplo 5</u>	1%	1%	
<u>Ejemplo comparativo 6</u>	100%	100%	
<u>Ejemplo comparativo 7</u>	38%	ND	
<u>Ejemplo comparativo 8</u>	96%	ND	
<u>Ejemplo comparativo 9</u>	ND	ND	no se obtuvieron partículas
<u>Ejemplo 10</u>	1%	1%	
<u>Ejemplo 11</u>	7%	65%	
<u>Ejemplo 12</u>	1%	1%	
<u>Ejemplo 13</u>	7%	7%	
<u>Ejemplo 14</u>	16%	ND	
<u>Ejemplo comparativo 15</u>	36%	ND	
<u>Ejemplo comparativo 16</u>	80%	ND	

RR = velocidad de liberación

ND = no determinado

5

Ejemplo 5:

- Producción de urea de sobrepaso con p(urea) = 83% utilizando aceite de palma hidrogenado en un recubridor de tambor
- Las imágenes SEM muestran una superficie de partícula lisa, sin grietas ni agujeros en la capa de recubrimiento.
- Resultado de lixiviación: el producto está protegido para el sobrepaso del rumen

10

Ejemplo comparativo 6:

- Tratamiento de urea en mezclador de tambor con aceite de palma hidrogenado, p(urea) = 83%
- Las imágenes SEM muestran una superficie de partículas desigual, varios agujeros en la capa de recubrimiento con urea en la superficie (áreas brillantes)
- Resultado de lixiviación: el producto no está protegido

15

20

Ejemplo comparativo 7:

- Tratamiento de urea en lecho fluidizado con aceite de palma hidrogenado, p(urea) = 87%
- Las imágenes SEM muestran una superficie de partículas no redondeada, una superficie no muy lisa
- Resultado de lixiviación: el producto tiene un comportamiento de liberación mantenida

25

30

Ejemplo comparativo 8:

- Tratamiento de urea en recubridor de tambor con aceite de palma hidrogenado, p(urea) = 83% a temperatura inferior
- Las imágenes de SEM muestran una superficie lisa de partículas, pero los agujeros y las grietas no están rellenos -> la autocuración no fue posible porque la temperatura era demasiado baja para que una fracción de la grasa estuviera en estado fundido a lo largo de más tiempo
- Resultado de lixiviación: el producto no está protegido

35

40

Ejemplo comparativo 9:

- Tratamiento de urea en recubridor de tambor con aceite de palma hidrogenado, p(urea) = 83% a temperatura superior

- No se obtuvo ningún producto adecuado (véase la descripción general)

Ejemplo 10

- Producción de urea de sobrepaso con p(urea) = 70% utilizando aceite de palma hidrogenado en recubridor de tambor

- Resultado de lixiviación: el producto está protegido para el sobrepaso ruminal

Ejemplo 11

- Producción de urea de sobrepaso con p(urea) = 75,8% mediante el uso de una mezcla de aceite de palma hidrogenado y CaCO_3 en un recubridor de tambor

- Las imágenes SEM muestran una superficie de partículas lisa, sin grietas ni agujeros en la capa de recubrimiento. Las partículas de CaCO_3 están bien dispersadas en la capa de recubrimiento.

- Resultado de lixiviación: el producto está protegido para el sobrepaso ruminal

Ejemplo 12

- Producción de urea de sobrepaso con p(urea) = 76,9% utilizando aceite de palma hidrogenado en recubridor de tambor

- Las imágenes SEM muestran una superficie de partículas lisa, sin grietas ni agujeros en la capa de recubrimiento.

- Resultado de lixiviación: el producto está protegido para el sobrepaso de rumen

Ejemplo 13

- Producción de urea de sobrepaso con p(urea) = 78,9% mediante el uso de una mezcla de aceite de palma hidrogenado y CaCO_3 en un recubridor de tambor

- Las imágenes SEM muestran una superficie de partículas lisa, sin grietas ni agujeros en la capa de recubrimiento.

- Resultado de lixiviación: el producto está protegido para el sobrepaso ruminal

Ejemplo 14

- Producción de urea de sobrepaso con p(urea) = 80,0% utilizando una mezcla de aceite de palma hidrogenado y L-tirosina en un recubridor de tambor

- Resultado de lixiviación: el producto está protegido para el sobrepaso ruminal

Ejemplo comparativo 15:

- Tratamiento de urea en lecho fluidizado con aceite de palma hidrogenado, p(urea) = 85%

- Las imágenes SEM muestran una superficie de partículas sin redondear, agujeros en la superficie, el efecto de autocuración no está presente porque las partículas no transfieren bien el material de recubrimiento fundido a otras partículas

- Resultado de lixiviación: el producto tiene un comportamiento de liberación mantenida

Ejemplo comparativo 16:

- Tratamiento de urea en un recubridor de tambor con aceite de palma hidrogenado, p(urea) = 85% a temperatura inestable

- Las imágenes SEM muestran una superficie de partículas no muy lisa, algunas grietas visibles -> la autocuración no fue posible porque la temperatura no era óptima.

- Resultado de lixiviación: el producto tiene un comportamiento de liberación mantenida

Los ejemplos 5, 10 y 12 muestran la producción de urea recubierta de grasa con diferentes cargas de grasa.

Los ejemplos comparativos 6, 7 y 15 ilustran procedimientos para la producción de productos que difieren del proceso de la presente invención y estos otros procedimientos no proporcionan un producto de sobrepaso ruminal.

Los ejemplos comparativos 8, 9 y 16 demuestran que el uso de temperaturas diferentes a aquellas según la presente invención no proporciona productos de sobrepaso ruminal.

Los ejemplos 11 y 13 demuestran que pueden utilizarse en el proceso de la presente invención suspensiones de grasa conjuntamente con sustancia inorgánica y proporcionan productos de sobrepaso ruminal.

El ejemplo 14 demuestra que pueden utilizarse en el proceso de la presente invención suspensiones de grasa conjuntamente con sustancia inorgánica y proporcionan productos de sobrepaso ruminal.

Ejemplo 18: Efectos de la administración oral de una composición de NNP según la invención sobre la digestibilidad de la fibra en un rumiante.

El objetivo de este experimento es evaluar los efectos de diversas composiciones de NNP según la presente invención en comparación con las composiciones de NNP tradicionales sobre la digestibilidad de la fibra en rumiantes.

Composiciones de NNP

Las composiciones de NNP sometidas a ensayo se enumeran en la tabla 8 siguiente.

Tabla 8. Composiciones de NNP

Composición (Nº)	Tipo de composición	Contenido
1.	Urea de grado alimenticio	Comprimidos con el 100% de urea, sin recubrimiento
2.	Composición de urea liberada de forma mantenida disponible comercialmente con la denominación Optigen® 1200.	Urea recubierta con un recubrimiento de poliéster-poliuretano reticulado (tal como se describe en la patente de Estados Unidos Nº 6.231895).
3.	Composición de urea de sobrepaso ruminal	Comprimidos de urea recubiertos con aceite de palma hidrogenado

Grupos de tratamiento

El experimento consiste en tres grupos experimentales tal como se establece en la tabla 9 siguiente. Todos los grupos de tratamiento reciben una cantidad igual de urea por día.

Tabla 9. Grupos de tratamiento

Grupos de tratamiento	Composiciones de NNP
<u>Grupo 1</u>	Los toros Holstein (n = 30) reciben la composición de NNP Nº 1)
<u>Grupo 2</u>	Los toros Holstein (n = 30) reciben la composición de NNP Nº 2)
<u>Grupo 3</u>	Los toros Holstein (n = 30) reciben la composición de NNP Nº 3)

Otros parámetros experimentales que incluyen la adaptación a la dieta basal, la gestión de los animales, la recogida de muestras y la evaluación de la digestibilidad de la fibra, la ingesta y el crecimiento se llevan a cabo tal como se establecen en el ejemplo 1.

Resultados

Los resultados muestran que los toros Holstein que reciben la composición de NNP Nº 3, 4, 5, 6 o 7 muestran una mayor capacidad para digerir fibra en comparación con los toros Holstein que reciben la composición de NNP Nº 1 o

Nº 2. Por lo tanto, la capacidad de los toros para digerir la fibra mejora después del tratamiento con una composición de NNP de sobrepaso ruminal Nº 3, 4, 5, 6 o 7 en comparación con el tratamiento con una composición de NNP que no permite más del 50% de sobrepaso ruminal.

5 **Ejemplo 19: Efectos de la administración oral de una composición de urea según la invención sobre la ingesta de alimento en un rumiante**

El experimento se realiza tal como se describe en el ejemplo 5. La ingesta de alimento se evalúa tal como se establece en el ejemplo 2.

10 Resultados

Los resultados muestran que los toros que reciben la composición de NNP Nº 3, 4, 5, 6 o 7 muestran una mayor ingesta de alimento en comparación con los toros que reciben la composición de NNP Nº 1 o 2. Por lo tanto, la ingesta de alimentos por parte de los toros mejora después del tratamiento con una composición de NNP de sobrepaso ruminal Nº 3, 4, 5, 6 o 7 en comparación con el tratamiento con una composición de NNP que no permite más del 50% de sobrepaso ruminal.

20 **Ejemplo 20: Efectos de la administración oral de una composición de urea según la invención sobre el crecimiento somático en un rumiante.**

El experimento se realiza tal como se describe en el ejemplo 5. El crecimiento somático se evalúa según la fórmula siguiente:

25 Crecimiento somático = [peso corporal antes del inicio del tratamiento con una composición tal como se enseña en el presente documento] - [peso corporal después de concluir el tratamiento con una composición tal como se enseña en el presente documento]

30 Resultados

Los resultados muestran que los toros que reciben la composición de NNP Nº 3, 4, 5, 6 o 7 muestran un mayor aumento de peso al final del tratamiento en comparación con los toros que reciben la composición de NNP Nº 1 o 2. Por lo tanto, la capacidad de los toros para aumentar de peso mejora después del tratamiento con una composición de NNP de sobrepaso ruminal Nº 3, 4, 5, 6 o 7 en comparación con el tratamiento con una composición de NNP que no permite más del 50% de sobrepaso ruminal.

40 **Ejemplo 21: Efectos de la administración oral de una composición de urea según la invención sobre la producción de leche en un rumiante lactante.**

El experimento se realiza tal como se describe en el ejemplo 5, excepto que los toros se reemplazan por vacas lactantes.

45 Resultados

Los resultados muestran que las vacas lactantes que reciben la composición de NNP Nº 3, 4, 5, 6 o 7 muestran una mayor producción de leche al final del tratamiento en comparación con las vacas lactantes que reciben la composición de NNP Nº 1 o 2. Por lo tanto, la capacidad de las vacas lactantes para producir leche mejora después del tratamiento con una composición de NNP de sobrepaso ruminal Nº 3, 4, 5, 6 o 7 en comparación con el tratamiento con una composición de NNP que no permite más del 50% de sobrepaso ruminal.

50 **Ejemplo 22. Evaluación de la velocidad de liberación del compuesto de NNP (por ejemplo, urea)**

Materiales y procedimientos

55 El objetivo de este estudio era determinar la desaparición de urea a lo largo del tiempo de las muestras de urea de grado alimenticio, composición de urea de liberación lenta (SRU) y composición de sobrepaso de urea (BPU) en puntos temporales fijos para caracterizar la desaparición ruminal de la urea a lo largo del tiempo. Los resultados obtenidos pueden utilizarse como una indicación directa de la velocidad de liberación del compuesto de NNP en el rumen asociada con las composiciones de urea de grado alimenticio, SRU y BPU. Para lograr este objetivo, hemos utilizado un procedimiento *in sacco* (también conocido como el procedimiento de la bolsa de nailon).

El experimento se llevó a cabo durante un periodo de 19 días, que incluyó un periodo de adaptación de dos semanas a una dieta basal y 5 días para el ensayo de desaparición de urea *in sacco*.

Composiciones de NNP

Las diversas composiciones de NNP sometidas a ensayo en el presente experimento se enumeran en la tabla 7 anterior.

Descripción del animal y número

Se utilizaron tres novillas Holstein no lactantes y no preñadas para el experimento. Las vaquillas tenían en promedio $48 \pm 0,5$ meses de edad. Se canuló el rumen de cada una de las novillas.

Adaptación a la dieta basal

Para adaptar los animales y la microbiota ruminal al consumo de urea, se aplicó un periodo de adaptación de 14 días. Específicamente, las novillas se alimentaron con una dieta que consistía en heno de baja calidad (7,2% de proteína bruta (PB); 70% de fibra detergente neutra (FDN) y 42% de fibra detergente ácida (FDA)), además de 150 g de urea de grado alimenticio infundida diariamente directamente en el rumen.

Gestión de los animales

Las novillas se alojaron en un establo cerrado con comederos y bebederos de agua individuales, colchones de goma y lecho de virutas de madera. El establo cerrado se limpió y las virutas de madera se reemplazaron a diario. Las vaquillas se alimentaron con heno de baja calidad *ad libitum*. Las incubaciones *in situ* tuvieron lugar durante 5 días, en los que las muestras se incubaron en el rumen durante 0, 0,5, 1, 2, 3, 6, 12 y 24 h.

Tabla 10. Composición de heno

Composición química	Heno
MS (g/kg)	873
MO (g/kg de MS)	945
PB (g/kg de MS)	72,0
EE (g/kg de MS)	10,7
NFD (g/kg de MS)	700
FDA (g/kg de MS)	421
Lignina (g/kg de MS)	518

Abreviaturas MS = materia seca, MO = materia orgánica, PB = proteína bruta, EE = extracto de éter, FDN = fibra detergente neutra, FDA = fibra detergente ácida.

Evaluación de desaparición de urea (ensayo *in sacco*)

Se determinó que la desaparición ruminal *in sacco* de urea caracteriza la velocidad de liberación ruminal de urea en el rumen, que está asociada con la composición de NNP N° 1 a 7 tal como se ha descrito anteriormente en la tabla 8 anterior. Una muestra de cada una de las composiciones de NNP N° 1-7 se incubó en cada una de las tres novillas Holstein canuladas ruminalmente que consumían heno (es decir, las muestras se incubaron directamente, *in vivo*, en el rumen de las novillas Holstein vivas). Los puntos temporales para la duración de la incubación fueron 0, 0,5, 1, 2, 3, 6, 12 y 24 h.

Para cada punto temporal, se pesaron por triplicado 10,0 g (equivalente de urea) de muestras en bolsas de poliéster (R510, 10,6 x 20 cm, poro de 50 μ m, Ankom Technology, Macedon, NY), y se sellaron con un sellador térmico. Las bolsas se incubaron a las 08:00 de la mañana y se retiraron según la duración de la incubación:

Tabla 11. Incubación ruminal *in sacco*

Día	Duración (h)	Bolsas	Tiempo de incubación	Tiempo de eliminación
1	0	9	-	-
1	0,5	9	0800	0830
2	1	9	0800	0900
2	2	9	0800	1000
3	3	9	0800	1100

Día	Duración (h)	Bolsas	Tiempo de incubación	Tiempo de eliminación
3	6	9	0800	1400
4	12	9	0800	2000
4	24	9	0800	-
5	-	-	-	0800

Tras su extracción, las bolsas de poliéster se almacenaron inmediatamente a -20 °C hasta su análisis posterior. Para cada bolsa de poliéster, se dispuso un embudo de plástico limpio en un frasco para medicamentos de 250 ml y la bolsa de poliéster congelada se cortó en 4-5 piezas por encima del embudo. Se utilizaron 200 ml de HCl 1 M para enjuagar todos los residuos, incluida la bolsa, en el frasco para medicamentos. Después se taparon los frascos y se dispusieron en un baño de agua a 90 °C durante 25 minutos para disolver los gránulos en la solución. Después de la incubación, los frascos se agitaron vigorosamente y se recogió una muestra de 10 ml de la porción líquida. La urea se analizó mediante un ensayo colorimétrico enzimático, procedimiento Berthelot modificado (Human® 10505).

Cálculos

Las muestras de 0 h se utilizaron para determinar el contenido inicial de urea en las bolsas de poliéster. La urea recuperada por masa de muestra en cada réplica del ensayo proporcionó una estimación del contenido de urea de cada muestra. La cantidad final de urea en los residuos *in situ* se determinó multiplicando la concentración de la solución resultante por el volumen de la solución (mmol/l x l = mmol de urea). El porcentaje de residuo de urea se calculó expresando el peso (g) de urea que quedaba en el residuo como un porcentaje de la urea inicial:

$$\% \text{ de residuo de urea} = \left(\frac{\text{urea residual (g)}}{\text{urea inicial (g)}} \right) \times 100$$

Los datos se trazaron como porcentaje del residuo de urea a lo largo del tiempo y se ajustaron al modelo siguiente adaptado de Ørskov y McDonald, J Agr Sci., Vol 92: 499-503, (1979).

$$\% \text{ de residuo de urea} = (U + D) \times \exp(-K_d \times \text{tiempo})$$

En la que U es la fracción no liberada, D es la fracción liberada y K_d es la velocidad de liberación de la fracción liberada.

La fracción de sobrepaso de urea se calculó utilizando la ecuación de escape descrita en Broderick, J Nutr., Vol.108: 181-190, (1978):

$$\% \text{ de sobrepaso} = K_p / (K_p + K_d)$$

En la que K_d es la velocidad de liberación y K_p es la velocidad de paso del rumen al abomaso. Se asumió una velocidad de paso del 5%/h para calcular la fracción de sobrepaso (Seo et al., Anim Feed Sci Tech, Vol. 128: 67-83, 2006).

En la que U es la fracción no liberada, D es la fracción liberada y K_d es la velocidad de liberación de la fracción liberada.

Los parámetros de este modelo (U, D, k_d) estaban sujetos a análisis de varianza.

Resultados

Los resultados se presentan en la tabla 12 y en la figura 17, que muestra la desaparición de la urea ruminal a lo largo del tiempo de urea de grado alimenticio (urea, es decir, composición de NNP N° 1), urea de liberación mantenida (SRU, es decir, composición de NNP N° 2) y urea de sobrepaso (BPU, es decir, la curva que representa el promedio de las composiciones de NNP N° 3-7). Se puede observar que las composiciones de NNP N° 3-9 difieren de las composiciones de NNP N° 1 y N° 2 en todos los parámetros mostrados en la tabla 11. Específicamente, se puede observar que las composiciones de NNP N° 3-7 muestran todas una velocidad de liberación de urea que es inferior al 5% por hora, así como una fracción de sobrepaso de NNP que es superior al 50% en comparación con las composiciones de NNP N° 1 y 2. Estos resultados indican que la composición de NNP según la presente invención (por ejemplo, las composiciones de NNP N° 3-7) tienen un sitio de liberación diferente en el sistema gastrointestinal de rumiantes, es decir, la liberación posterior al rumen en comparación con las composiciones de NNP convencionales, por ejemplo las composiciones de NNP N° 1 y 2.

Tabla 12: Desaparición de urea ruminal a partir de urea de grado alimenticio, SRU y BPU.

Parámetro	Urea (Nº 1)	SRU (Nº 2)	BPU (Nº 3)
U (%)	1,30	27,3	53,7
D (%)	98,7	72,7	46,3
Kd (velocidad,%/h)	999	25,8	4,55
Fracción de sobrepaso (%)	0,49	17,3	58,5

Ejemplo 23: Liberación de urea ruminal y post-ruminal a partir de fuentes de urea protegida

El objetivo de este estudio era demostrar que una composición de urea de liberación mantenida proporcionaba la liberación retardada de urea en el rumen, mientras que una composición de urea de sobrepaso ruminal tal como se enseña en el presente documento era sustancialmente resistente al rumen y sustancialmente digerible post-ruminalmente, y proporcionaba una liberación de urea post-ruminalmente.

Materiales y procedimientos

Las composiciones de NNP sometidas a ensayo se describen en la tabla 13 siguiente:

Tabla 13. Lista de composiciones de NNP sometidas a ensayo

Composición (Nº)	Tipo de composicion	Contenido
1.	Urea de grado alimenticio	Comprimidos con el 100% de urea, sin recubrimiento
2.	Composición de urea liberada de forma mantenida disponible comercialmente con la denominación Optigen® 1200.	Urea recubierta con un recubrimiento de poliéster-poliuretano reticulado (tal como se describe en la patente de Estados Unidos Nº 6.231.895).
3.	Composición de urea de sobrepaso ruminal	Comprimidos de urea recubiertos con aceite de palma hidrogenado

El experimento se llevó a cabo durante un periodo de 26 días, que incluyó un periodo de adaptación de dos semanas a una dieta basal y tres periodos experimentales de cuatro días cada uno para evaluar la liberación de urea ruminal y post-ruminal.

Descripción del animal y número

Se utilizaron tres novillas Holstein no lactantes y no preñadas para el experimento. Las vaquillas Holstein tenían un promedio de $48 \pm 0,5$ meses de edad y pesaban un promedio de 800 kg. Se canuló el rumen de cada una de las novillas. El diseño experimental fue un cuadrado latino 3 x 3, que incluyó 3 tratamientos, 3 periodos y 3 animales. La unidad experimental es la combinación animal x periodo, totalizando 9 unidades experimentales.

Tratamientos

El experimento consistió en 3 regímenes de tratamiento (es decir, los grupos de tratamiento 1, 2 y 3). Específicamente, cada grupo de tratamiento difirió con respecto a la composición de NNP que recibieron. Los grupos de tratamiento recibieron una cantidad igual de 70,5 g de nitrógeno no proteico por día, es decir, 150 g de urea.

Tabla 14. Grupos de tratamiento

Grupos de tratamiento	Regímenes de tratamiento
<u>Tratamiento 1:</u> Urea (sin recubrimiento)	Las novillas Holstein (n = 3) recibieron la composición de NNP Nº 1 (véase la tabla 13)
<u>Tratamiento 2:</u> Urea de liberación mantenida (SRU)	Las novillas Holstein (n = 3) recibieron la composición de NNP Nº 2 (véase la tabla 13)
<u>Tratamiento 3:</u> Urea de sobrepaso (BPU)	Las novillas Holstein (n = 3) recibieron la composición de NNP Nº 3 (véase la tabla 13)

Adaptación a la dieta basal.

Para adaptar los animales y la microbiota ruminal al consumo de urea, se aplicó un periodo de adaptación de 14 días. Específicamente, las novillas se alimentaron con una dieta que consistía en heno de baja calidad (7,2% de PB; 70% de FDN y 42% de FDA) además de 150 g de urea grado alimenticio/día.

Gestión de los animales

Las novillas se alojaron en un establo cerrado con comederos y bebederos de agua individuales, colchones de goma y lecho de virutas de madera. El establo cerrado se limpió y las virutas de madera se reemplazaron a diario. Las vaquillas se alimentaron con heno de baja calidad *ad libitum*. Cada periodo experimental duró 4 días en los que se infundieron productos de ensayo en el rumen (día uno) y se tomaron muestras en las siguientes 48 h. Los días tres y cuatro se definen como periodos de lavado y se proporcionó urea de grado alimenticio (150 g) para todas las novillas durante este periodo.

Tabla 15. Sitio de infusión y composición

Tratamiento	Día dentro del periodo			
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4
Urea (sin recubrimiento)	Urea en el rumen	-	Urea en el rumen	Urea en el rumen
SRU	SRU en el rumen	-	Urea en el rumen	Urea en el rumen
BPU	BPU en el rumen	-	Urea en el rumen	Urea en el rumen

Tabla 16. Composición de heno

Composición química	Heno
MS (g/kg)	873
MO (g/kg de MS)	945
PB (g/kg de MS)	72,0
EE (g/kg de MS)	10,7
NFD (g/kg de MS)	700
FDA (g/kg de MS)	421
Lignina (g/kg de MS)	518

MS = materia seca, MO = materia orgánica, PB = proteína bruta, EE = extracto de éter, FDN = fibra detergente neutra, FDA = fibra detergente ácida.

Liberación y evaluación ruminal y post-ruminal.

El primer día de cada periodo experimental se infundieron 150 g (equivalente de urea) en el rumen a través de una cánula de rumen a las 08:00, para cada grupo de tratamiento. Se tomaron muestras de líquido ruminal a las 0, 0,5, 1, 2, 3, 6 y 12 h después de la infusión a través de un tubo adaptado a la cánula ruminal. Para la cuantificación de nitrógeno amoniacal, se acidificó un volumen de 8 ml con 200 µl de H₂SO₄ 7,2 N (por duplicado), se etiquetó (código de estudio, periodo, animal, hora) y se congeló (-20 °C). El nitrógeno amoniacal ruminal se analizó mediante una reacción colorimétrica catalizada por indofenol (Chaney y Marbach, Clin. Chem., Vol. 8: 130-132, 1962).

Recogida de heces y muestreo

El primer y segundo día del periodo experimental se recogieron las heces durante 48 h. Durante este periodo, se retiraron las virutas de madera de los colchones. El día 1, antes de la infusión ruminal de los artículos sometidos a ensayo, se tomó una muestra de referencia directamente del recto de cada animal. Desde el momento de la incubación ruminal, se recogieron las heces totales durante 48 horas. Durante los días de recogida, las heces se homogeneizaron bien, se pesaron y se tomó una submuestra (≈200 g) en las horas del día siguientes: 08:00 (solo para el día 2) 11:00, 15:00 y 19:00. Las muestras se etiquetaron (código de estudio, periodo, animal, hora) y se congelaron a -20 °C para el análisis posterior de materia seca y nitrógeno.

Resultados

Los resultados del experimento se muestran en la figura 18. Los resultados muestran que la concentración de amoníaco ruminal (eje Y), con el tiempo (eje X), fue mayor ($P < 0,05$) cuando la urea (es decir, la composición de

NNP N° 1) o SRU (es decir, la composición de NNP N° 2) se infundió en el rumen en comparación con cuando se infundió BPU (es decir, la composición N° 3) en el rumen.

Los resultados demostraron además que la SRU (es decir, la composición de NNP N° 2) tenía una liberación retardada de urea ruminal en comparación con el patrón de liberación de urea asociado con la urea de grado alimenticio no recubierta (es decir, la composición de NNP N° 1). Solo se observó un pequeño aumento en los niveles de nitrógeno amoniacal ruminal (mg/dl) con BPU (es decir, la composición de NNP N° 3), a lo largo del tiempo. Esto indica que la BPU se libera en el rumen en un grado mucho menor que la SRU o la urea de liberación inmediata (sin recubrimiento).

Los resultados sobre la liberación y la absorción post-ruminales se presentan en la tabla 17. La digestibilidad del nitrógeno (N) fue similar para la urea de grado alimenticio (composición de NNP N° 1) y BPU (composición de NNP N° 3). La ingesta de N fue mayor en rumiantes alimentados con BPU. La excreción de N en las heces fue ligeramente mayor en BPU en comparación con la urea de grado alimenticio, probablemente como resultado de una mayor ingesta de N. Además, la excreción de N a través de la orina fue el 20,3% inferior cuando se proporcionó BPU en comparación con la urea de grado alimenticio. La retención relativa de N (g de N retenidos por gramo de N ingerido) fue el 32,9% y el 19,9% superior para BPU en comparación con Urea y SRU, respectivamente, lo que indica que se utiliza más nitrógeno por los animales cuando se proporciona BPU.

Tabla 17: Ingesta de nitrógeno, excreción fecal de N y digestibilidad de N después de la infusión ruminal de urea, SRU y BPU.

	Tratamientos ¹		
	Urea	SRU	BPU
Ingesta de N (g)²	307,58	303,97	325,09
Excreción de N en heces (g)³	119,92	128,94	128,08
Excreción de N en orina (g)⁴	108,30	87,293	86,291
Excreción total de N (g)⁵	228,22	216,23	214,37
Digestibilidad de N (%)⁶	61,81	57,48	60,93
Retención relativa de N (g/g)⁷	0,2572	0,2851	0,3418

¹SRU = urea de liberación lenta; BPU = urea de sobrepaso; ²Ingesta total de N en 48 h, incluida la infusión de N en el rumen; ³Excreción fecal de N durante las 48 horas posteriores a la infusión de N en el rumen; ⁴Excreción urinaria de N durante las 48 horas posteriores a la infusión de N en el rumen; ⁵Excreción total de N (excreción fecal de N + excreción urinaria de N); ⁶ $((\text{Ingesta de N} - \text{N excretado}) / \text{Ingesta de N}) * 100$; ⁷ $(1 - (\text{N excretado} / \text{Ingesta de N}))$.

REIVINDICACIONES

1. Composición de sobrepaso ruminal adecuada para su ingestión por un rumiante, que comprende

- 5 - un compuesto de nitrógeno no proteico, y
- un agente de sobrepaso ruminal, que permite el sobrepaso ruminal del compuesto de nitrógeno no proteico,

10 en la que el agente de sobrepaso ruminal es un recubrimiento que rodea el compuesto de nitrógeno no proteico y dicho recubrimiento consiste esencialmente en un aceite vegetal hidrogenado, y el compuesto de nitrógeno no proteico es uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en urea; sales de amonio; metilurea, biuret, acetamida, butiramida, dicianoamida, formamida, etilurea, isobutanoldiurea, lactosilurea, propionamida, ácido úrico y fosfato de urea, siendo la proporción de compuesto de NNP con respecto al recubrimiento de 83:17 a 75:25.

15 2. Composición de sobrepaso ruminal según la reivindicación 1, en la que el aceite vegetal hidrogenado se selecciona del grupo de aceite de palma, aceite de soja, aceite de semilla de algodón, aceite de colza, aceite de canola, aceite de cacahuete, aceite de maíz, aceite de oliva, aceite de girasol, aceite de cártamo, aceite de coco, aceite de lino, aceite de tung y aceite de ricino hidrogenados.

20 3. Composición de sobrepaso ruminal según la reivindicación 1 o 2, en la que el compuesto de nitrógeno no proteico es uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en acetato de amonio, sulfato de amonio, butirato de amonio y una sal de amonio de un aminoácido.

25 4. Composición de sobrepaso ruminal según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que la composición tiene un tamaño de partícula promedio de aproximadamente 1 mm a aproximadamente 6 mm.

30 5. Composición de sobrepaso ruminal según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que la composición se obtiene mediante un proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 12.

35 6. Procedimiento para la preparación de una composición de sobrepaso ruminal según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que comprende las etapas siguientes:

- a) proporcionar partículas que contengan un compuesto de nitrógeno no proteico en un recubridor de tambor,
- b) calentar las partículas de la etapa a) a una temperatura en el intervalo de desde 10 °C por debajo del límite inferior del intervalo de fusión del agente de sobrepaso ruminal hasta el límite inferior del intervalo de fusión del agente de sobrepaso ruminal,
- c) proporcionar un agente de sobrepaso ruminal fundido en un depósito dispuesto en el exterior del recubridor de tambor,
- d) calentar el agente de sobrepaso ruminal fundido de la etapa c) a una temperatura entre el límite superior del intervalo de fusión del agente de sobrepaso ruminal y 10 °C por encima del límite superior del intervalo de fusión del agente de sobrepaso ruminal,
- e) aplicar el agente de sobrepaso ruminal fundido de la etapa d) sobre las partículas de la etapa b) en un recubridor de tambor giratorio,
- f) mantener la temperatura del lecho de partículas a la temperatura en el intervalo de fusión del agente de sobrepaso ruminal, y
- g) enfriar la composición obtenida en la etapa f) o permitir que la composición obtenida en la etapa f) se enfríe.

55 7. Procedimiento según la reivindicación 6, en el que el agente de sobrepaso ruminal tiene una diferencia entre el límite inferior y el superior del intervalo de fusión de 3 °C a 10 °C.

60 8. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 6 o 7, en el que el agente de sobrepaso ruminal consiste esencialmente en un aceite vegetal hidrogenado.

9. Procedimiento según la reivindicación 8, en el que el aceite vegetal hidrogenado se selecciona del grupo de aceite de palma, aceite de soja, aceite de semilla de algodón, aceite de colza, aceite de canola, aceite de cacahuete, aceite de maíz, aceite de oliva, aceite de girasol, aceite de cártamo, aceite de coco, aceite de lino, aceite de tung y aceite de ricino hidrogenados.

65

10. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, en el que el compuesto de nitrógeno no proteico es uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en urea; sales de amonio; metilenurea, biuret, acetamida, butiramida, dicianoamida, formamida, etilenurea, isobutanoldiurea, lactosilurea, propionamida, ácido úrico y fosfato de urea.
- 5 11. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 10, en el que la temperatura del agente de sobrepaso ruminal fundido se encuentra entre 50 °C y 85 °C.
- 10 12. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 11, en el que la temperatura de las partículas calentadas se encuentra entre 40 °C y 75 °C.

Figura 1: Sellado de grietas mediante recubrimiento en tambor

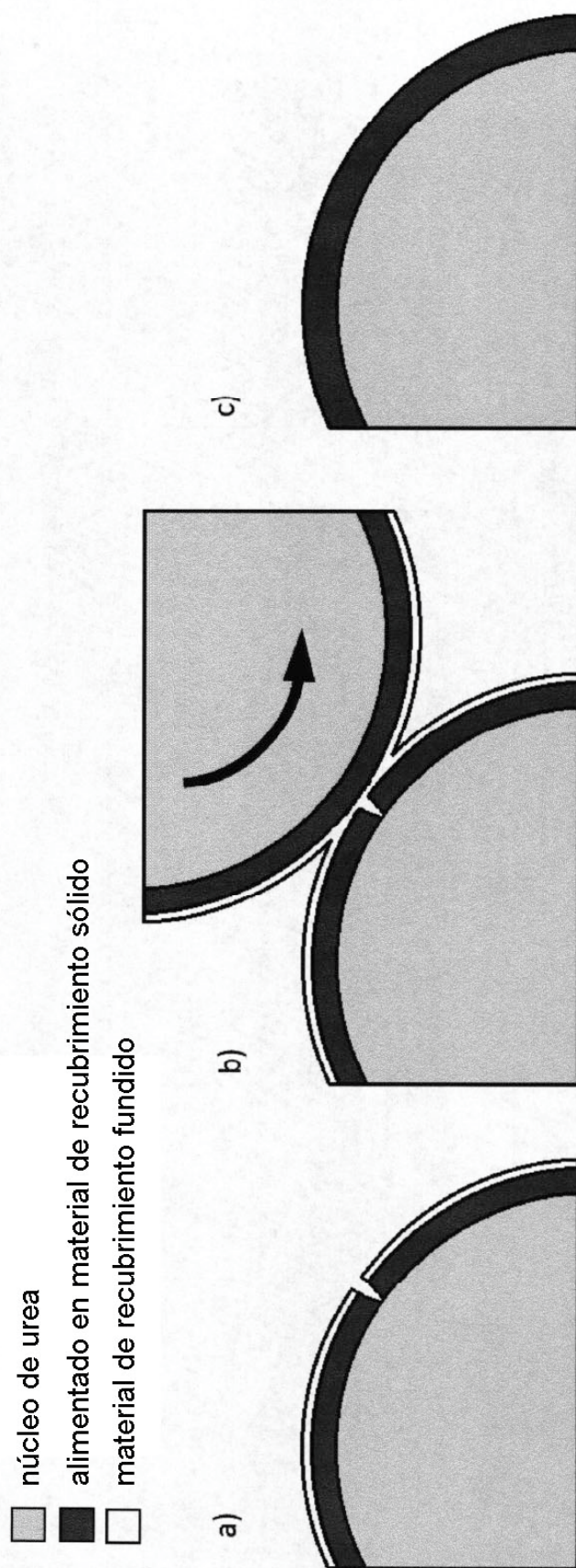


Figura 2: Sellado de superficie mediante recubrimiento en tambor

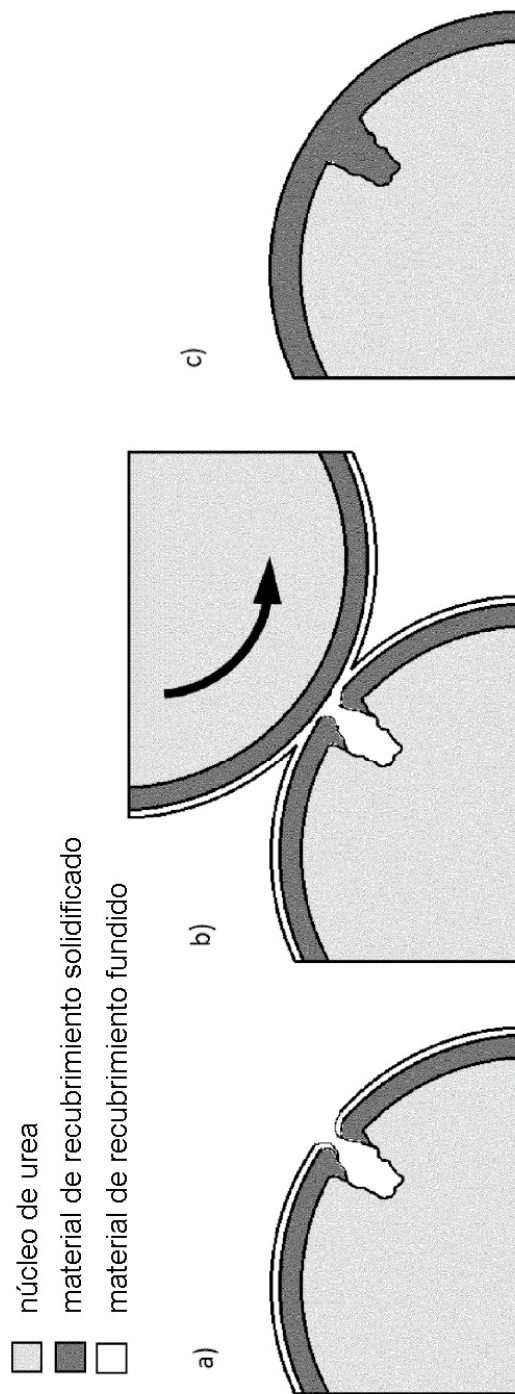


Figura 3: imagen SEM del producto del ejemplo 1 (aumento de 30 veces)

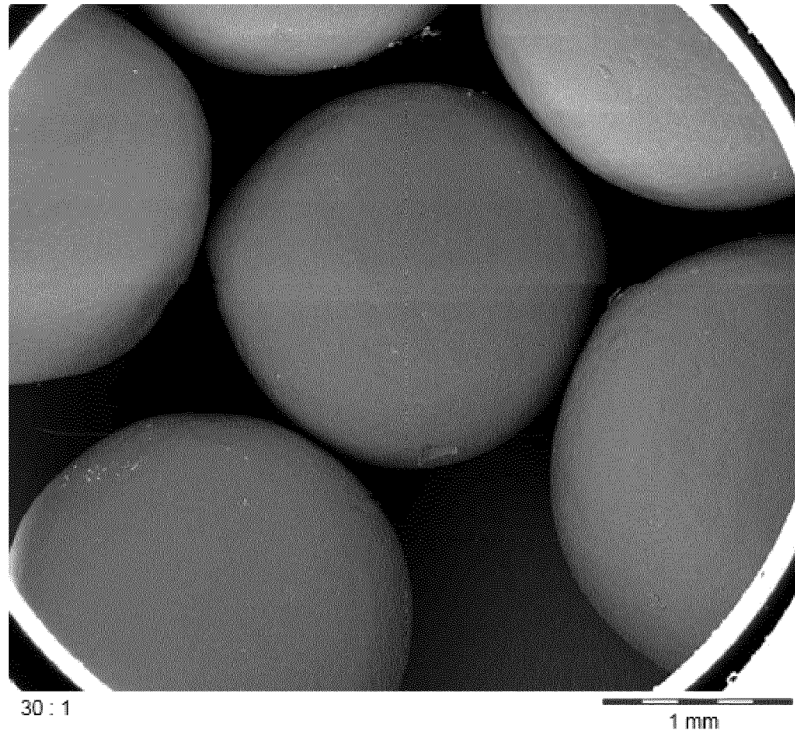


Figura 4: imagen SEM del producto del ejemplo 1 (aumento de 300 veces)

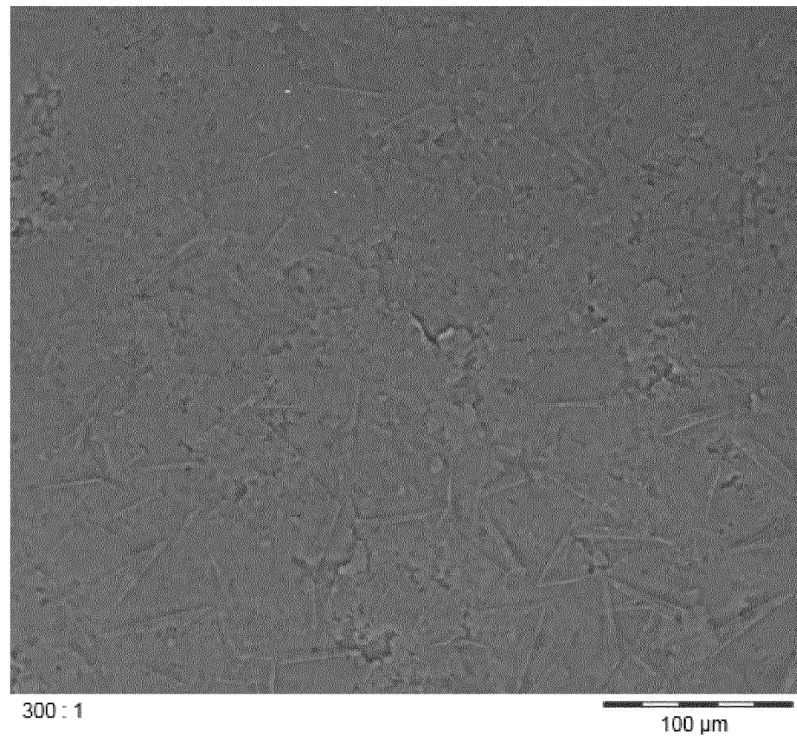


Figura 5: imagen SEM del producto del ejemplo comparativo 2 (aumento de 30 veces)

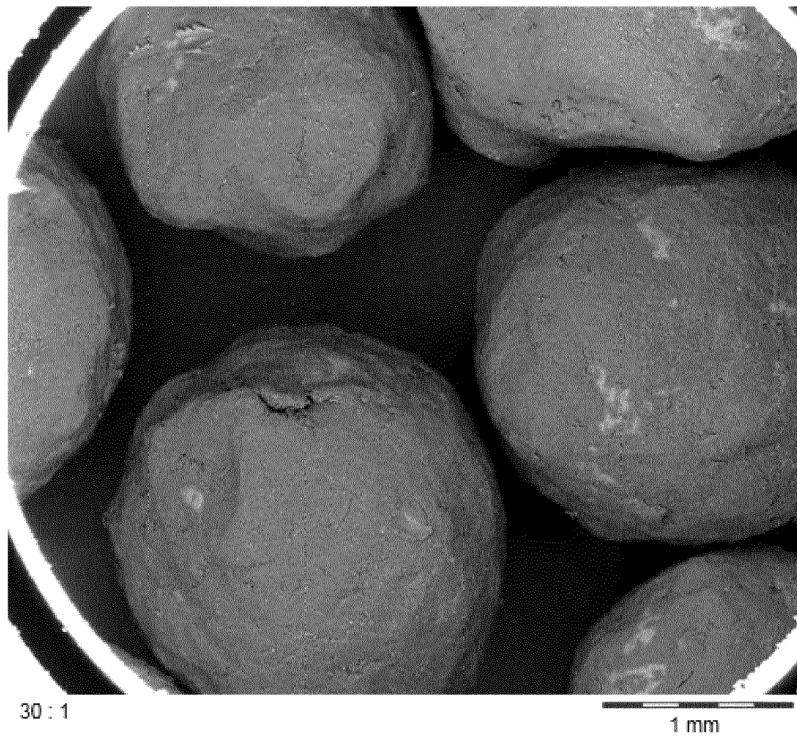


Figura 6: imagen SEM del producto del ejemplo comparativo 2 (aumento de 300 veces)

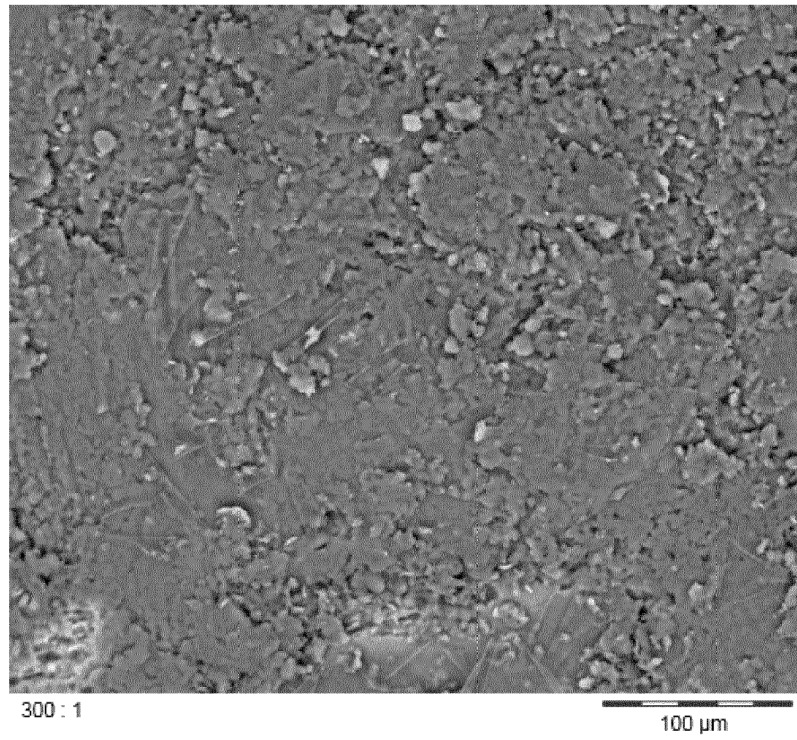


Figura 7: imagen SEM del producto del ejemplo comparativo 3 (aumento de 30 veces)

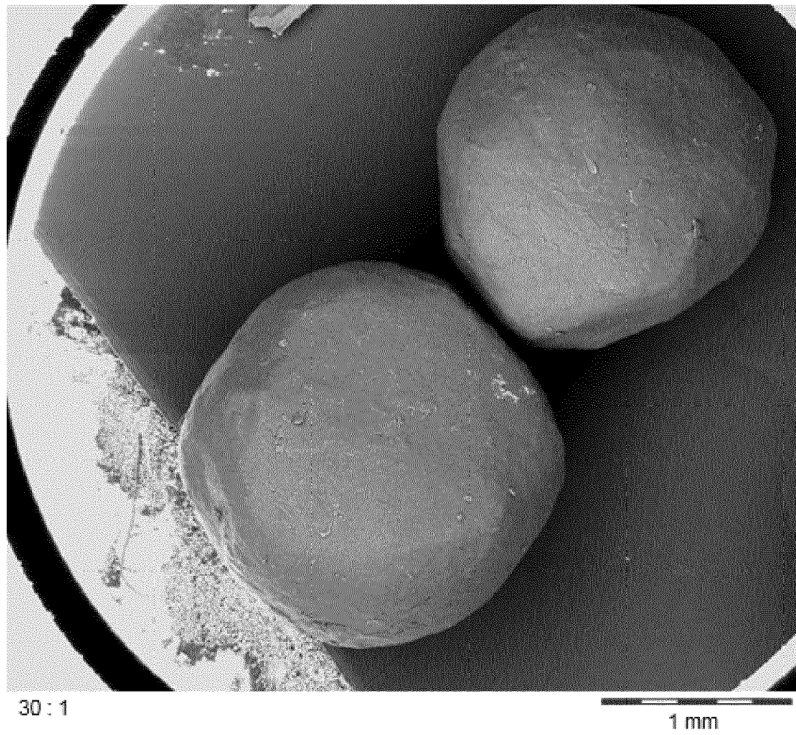


Figura 8: imagen SEM del producto del ejemplo comparativo 3 (aumento de 300 veces)

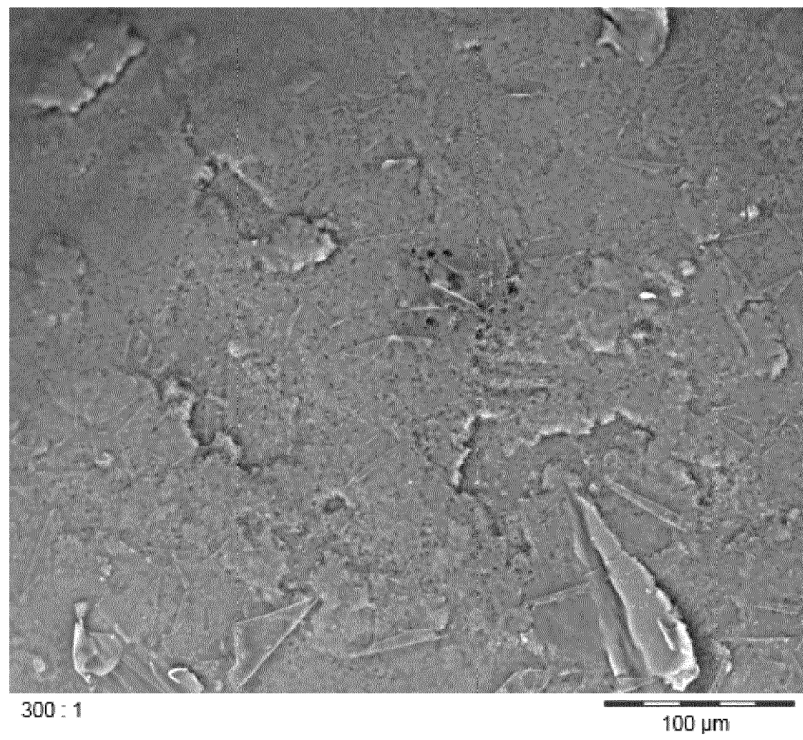


Figura 9: imagen SEM del producto del ejemplo comparativo 4 (aumento de 30 veces)

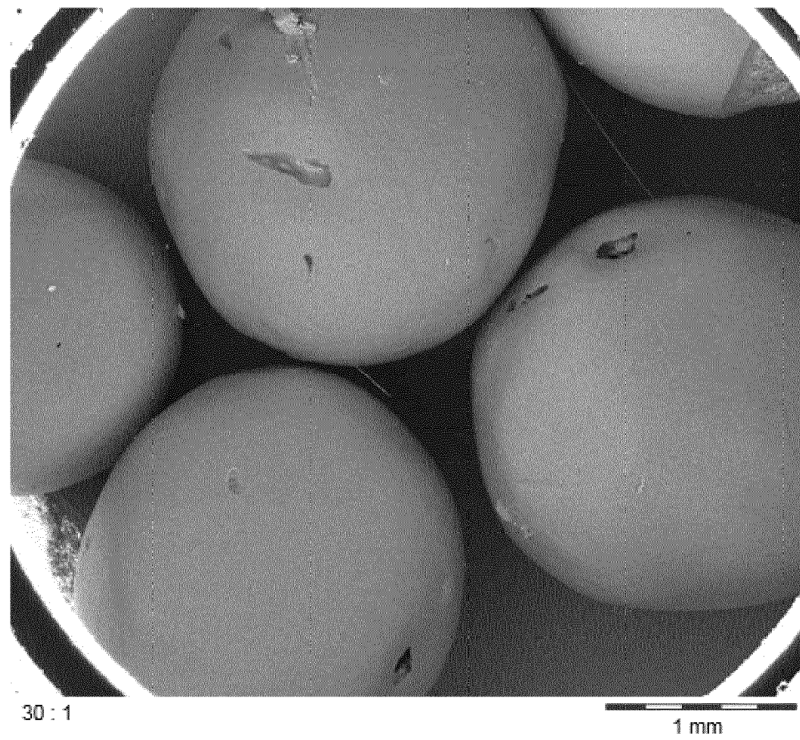


Figura 10: imagen SEM del producto del ejemplo 7 (aumento de 100 veces)

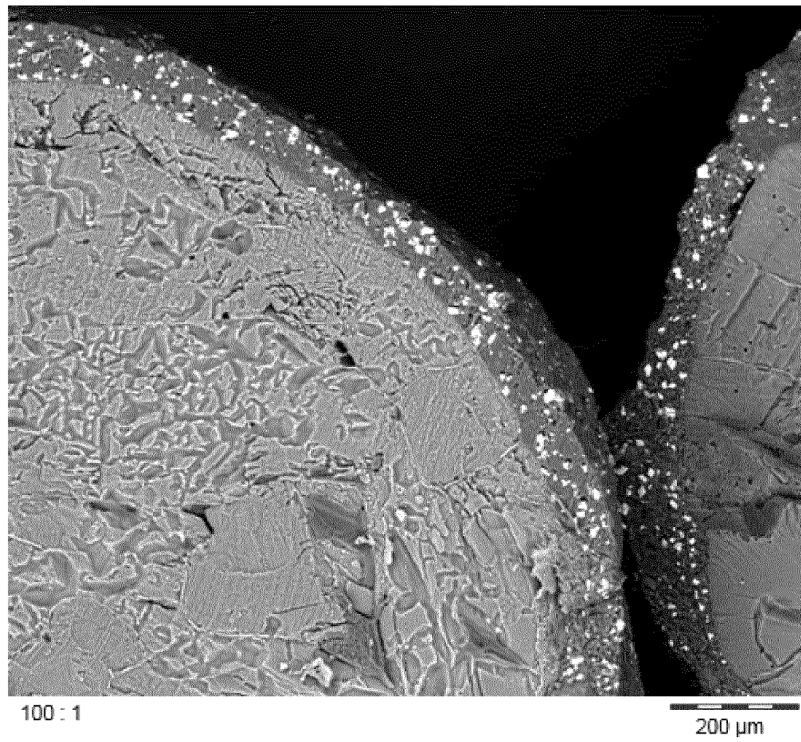


Figura 11: imagen SEM del producto del ejemplo 9 (aumento de 30 veces)

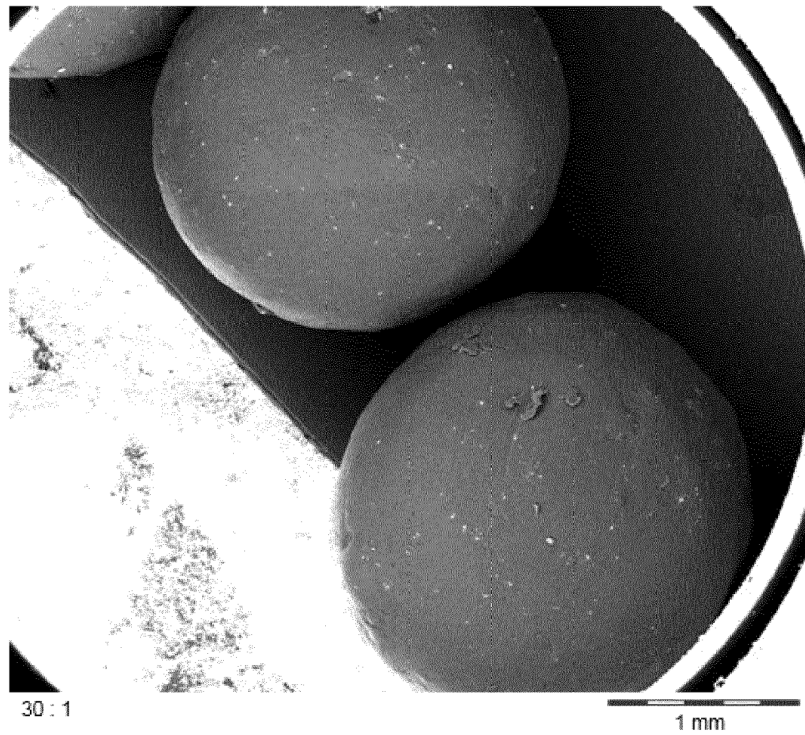


Figura 12: imagen SEM del producto del ejemplo 9 (aumento de 300 veces)

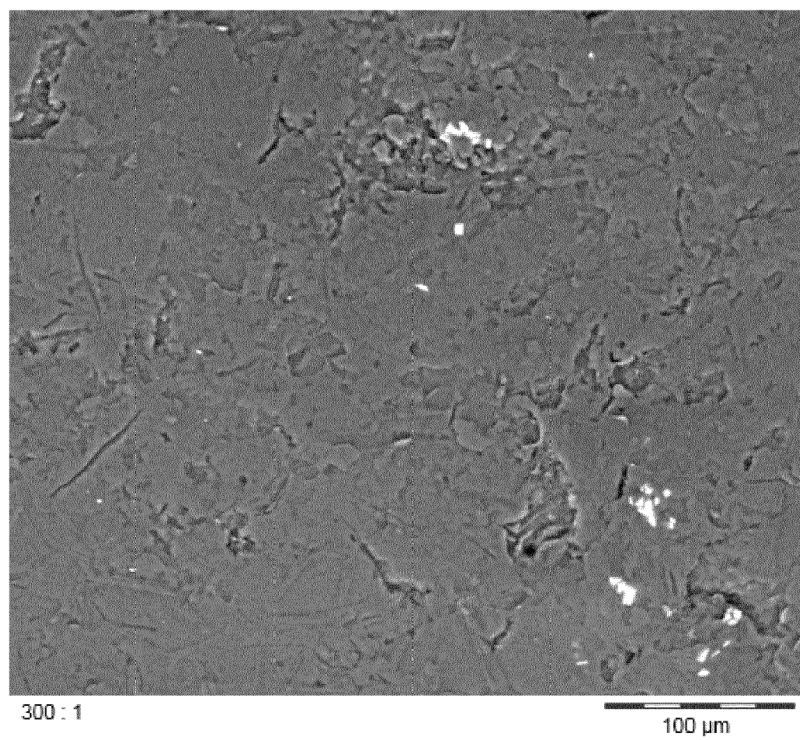


Figura 13: imagen SEM del producto del ejemplo comparativo 11 (aumento de 30 veces)

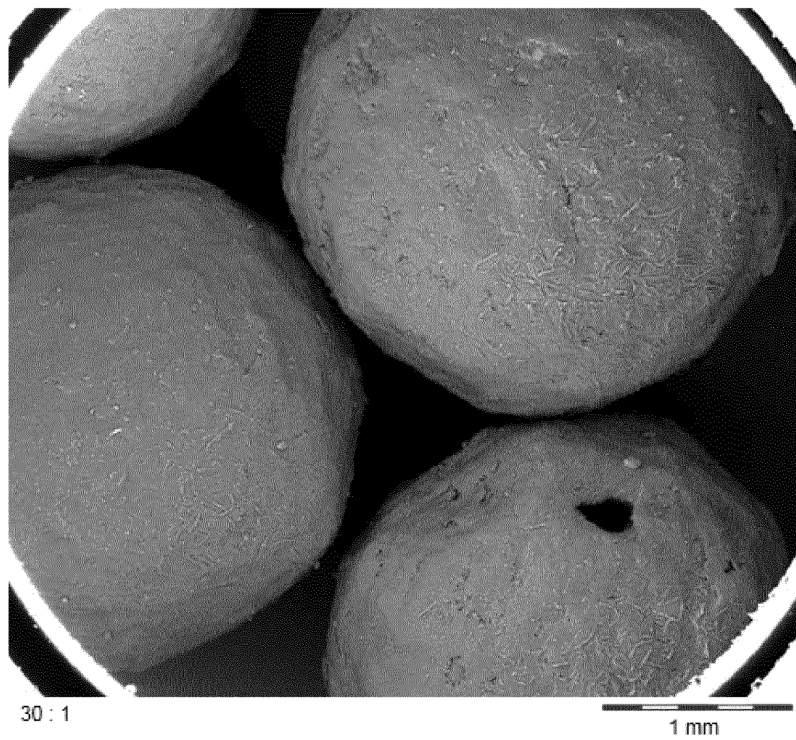


Figura 14: imagen SEM del producto del ejemplo comparativo 11 (aumento de 300 veces)

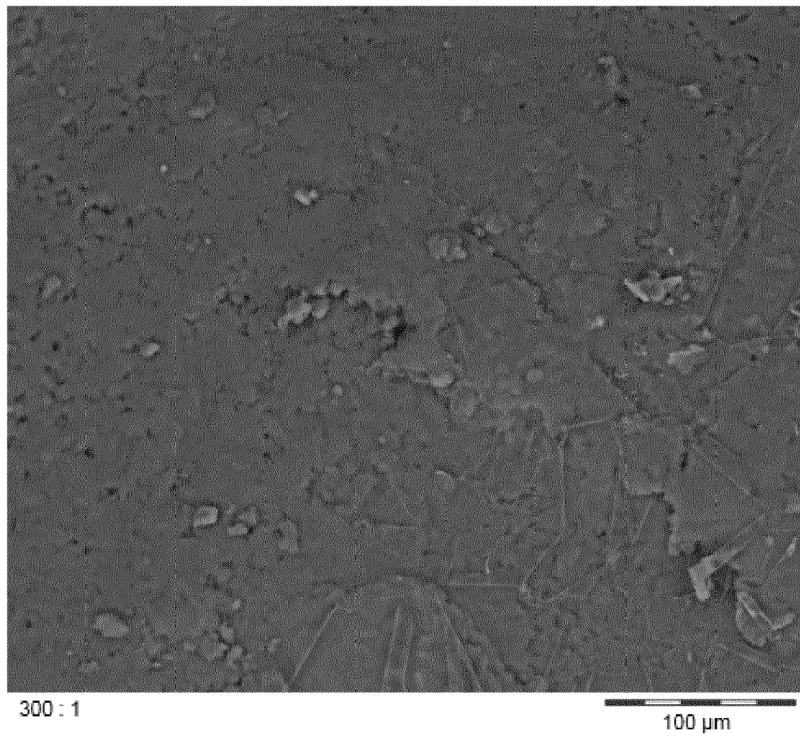


Figura 15: imagen SEM del producto del ejemplo comparativo 12 (aumento de 30 veces)

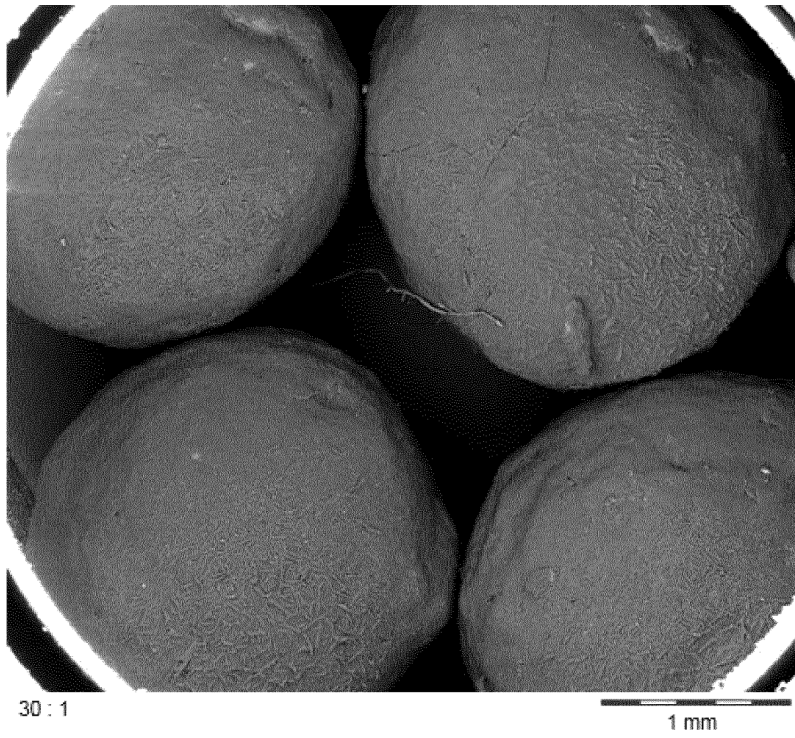


Figura 16: imagen SEM del producto del ejemplo comparativo 12 (aumento de 300 veces)



Figura 17:

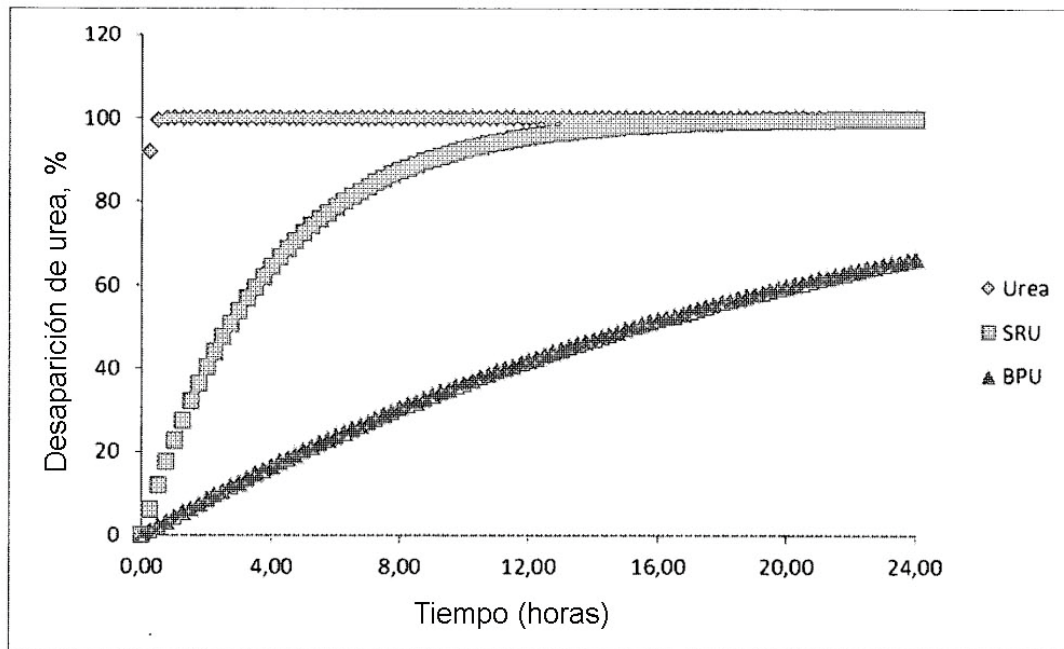


Figura 18:

