

O uso de nitrogênio não proteico NPN (ureia) liberação lenta em dietas para ruminantes

PROCESSO PROTINAT

(Patente IT/102022000014362 PCT/IB2023056515)

Palestrantes: Dr. G. Gabaldo, Prof. A. Ubaldi, Dr. M. Bellini





Giulio Gabaldo, médico veterinário com mais de setenta anos de idade, de Verona, Itália, é especialista no desenvolvimento de novas tecnologias no campo da alimentação e nutrição animal e é o inventor da ureia tratada com o PROCESSO PROTINAT™. Ele trabalhou por mais de cinquenta anos na Itália e na maior parte da Europa, às vezes no continente americano, como nutricionista especializado em ruminantes. Trabalhou diretamente em fazendas de gado e na indústria pecuária (indústria de rações e farmacêutica) projetando novas soluções tecnológicas naturais para resolver problemas zootécnicos, adquirindo grande experiência na preparação de rações e alimentos funcionais, aditivos, suplementos, produtos terapêuticos e, em particular, aqueles de tipo natural, como nutracêuticos, estimuladores do "microbioma" digestivo, fitoterápicos, antioxidantes, Ômega 3, etc. Ele também organizou vários cursos de atualização e treinamento sobre diversos tópicos para operadores do setor pecuário, como veterinários, nutricionistas e criadores. Escreveu vários artigos e manuais técnicos, alguns dos quais foram traduzidos para o espanhol, francês, inglês, catalão, português, polonês e russo, e dois livros, um dos quais em inglês. Foi palestrante em várias Conferências e Congressos Nacionais e Internacionais de Buiatria e Ciências Veterinárias (Lucania Dairy Expo - Potenza em 2006, Congresso Nacional de Buiatria em Castellaneta em 2009, Word Buiatric Congress em 2008 em Budapeste, Word Buiatric Congress em 2010 em Santiago do Chile, Expo Agrotech na Rússia em 2014, Agricola Internazionale Expo em FERMA na Polônia em 2015, International Veterinay Congress em Poznam na Universidade - Bêdlewô - Polônia em 2016.

Obteve seu PhD para o desenvolvimento de novas tecnologias para a preparação de produtos farmacêuticos e, por alguns anos, Zootecnia e Zoognóstico no Instituto Técnico Agrícola de Verona. Foi professor externo na Seção de Produção Animal, Epidemiologia e Ecologia da Universidade de Turim e professor de Fisiopatologia da Nutrição de Vacas Leiteiras no Departamento de Ciências Veterinárias da Universidade Parma. Atualmente, ele trabalha como consultor para órgãos públicos, empresas italianas e estrangeiras na Itália e em toda a Europa (França, Espanha, Benelux, Suíça, Polônia e Rússia).

Dr. Giulio Gabaldo, DVM, PhD - Médico Veterinário Via Della Speranza, 38 - 37069 VILLAFRANCA VR - ITÁLIA - Tel. +39.366.6178221 Fax.

+39.045.6300990 Celular +39.335.8477144 - www.gabaldo.com e-mail giulio@gabaldo.com



Antonio Ubaldi, nascido em Parma há 80 anos, casado e com um filho, professor emérito da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Parma de 1974 a 2015. Ele lecionou como professor de diagnóstico laboratorial bioquímico clínico, toxicologia veterinária, toxicologia de resíduos em alimentos e em três escolas de especialização nas Universidades de Parma e Milão. Seus principais tópicos de pesquisa são metabolismo animal, com foco especial em ruminantes, doenças metabólicas de animais de criação intensiva, toxicologia no setor animal e, em particular, nas cadeias de produção (leite, carne e ovos). Ele colaborou com vários setores farmacêuticos no teste de novos medicamentos. Ele desenvolve e divulga intervenções de saúde adequadas resolver estados de intoxicação em animais, como intoxicação por nitritos e nitratos, micotoxinas, arsênio na água potável, fitohormônios e pesticidas em forragens e rações. Ele foi presidente da Sociedade Mundial de Diagnósticos Laboratoriais Veterinários. Foi professor visitante em várias universidades, como Guelph (Canadá), Biet Dagan-TelAviv (Israel), Davis-Califórnia (EUA), Lyon (França), Toulouse (França). Ele produziu mais de 260 publicações científicas em periódicos de interesse nacional e internacional. Foi palestrante em vários congressos internacionais, além de organizador, presidente e membro dos comitês científicos de dois congressos internacionais sediados em Parma. Participou como chefe da unidade operacional em dois projetos europeus para a organização de novas Faculdades de Medicina Veterinária em países africanos (Camarões, Gabão, Guiné Equatorial, Chade). Trabalhou na Etiópia como especialista em colaboração técnica com o Ministério das Relações Exteriores da Itália. Atualmente, trabalha como consultor para empresas, indústrias e centros de pesquisa. Ele é o gerente científico de um spin-off universitário em Parma.

Prof. Antonio Ubaldi, DSC, PhD - via Dacci 1, 43123 PARMA PR - ITÁLIA - celular 3396272036 , e-mail aubaldi@outlook.it



Marco Bellini, de Mântua, 70 anos. Obteve seu diploma de ensino médio clássico no Liceo Ginnasio Virgilio, em Mântua, em 1975, e se formou em Ciências Agrícolas em 1981, na Faculdade de Agricultura da Universidade de Pádua. Em 1986 qualificou-se como Agrônomo Credenciado na Universidade de Milão.

De 1983 a 1988, trabalhou no então Instituto de Laticínios de Mântua (atualmente ERSAF) como parte do projeto "Qualità Latte". De 1989 a 2023 em

empregado pela Mantuan Breeders' Association como doutor em agricultura para assessorar as empresas associadas.

Desde 2023, é consultor da Associação Regional de Criadores da Lombardia. Desde 2016, inspetor do Departamento de Qualidade Agroalimentar em Roma para as liliárias que lhe foram designadas.

Dr. Marco Bellini - Agrônomo Alimentarista - Via Susani, 6 46100 Mantova - celular. 3357669011 e-mail marcobelli55@alice.it



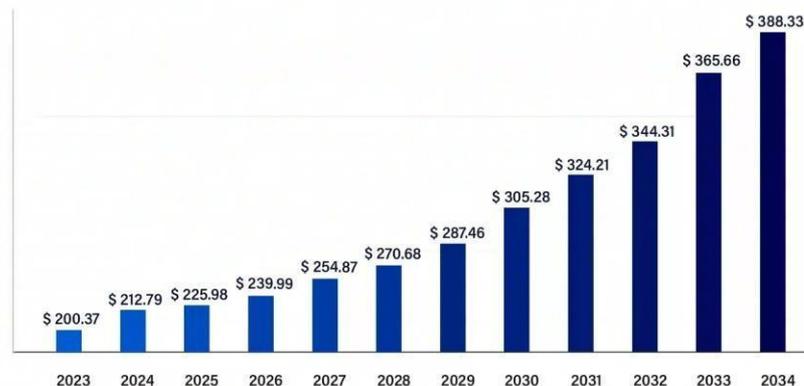
Dr. Giulio Gabaldo - DVM- PhD
Inventor da tecnologia e detentor da patente
(Patente -n°102022000014362) PROTINAT®
PROCESS

Soja e ureia na dieta de ruminantes adultos

Atualmente, a soja é praticamente considerada a fonte mais eficaz de proteína na dieta de ruminantes.

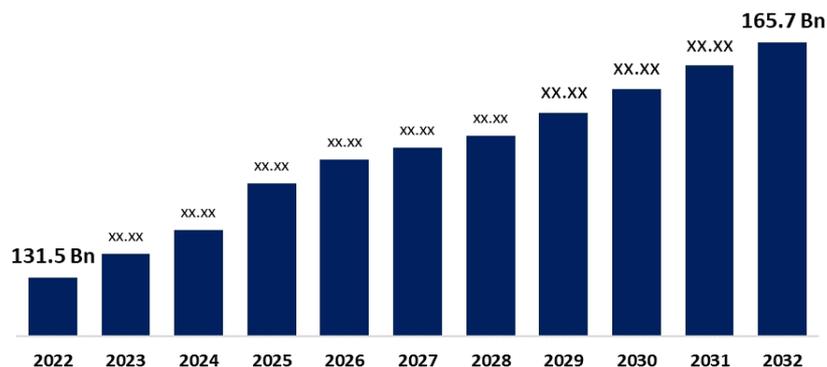
Precedence
RESEARCH

Soybean Market Size 2023 to 2034 (USD Billion)



Source: <https://www.precedenceresearch.com/soybean-market>

Global Urea Market



Os ruminantes adultos com um **rúmen em funcionamento** podem sintetizar proteínas a partir de fontes **de nitrogênio não proteico (NPN)**, como a ureia, e metabolizar os compostos de nitrogênio da ração em **NH₃**, que é usado para a formação de proteínas microbianas.

do nitrogênio em ruminantes

Dairy Essentials – Nutrition and Feeding

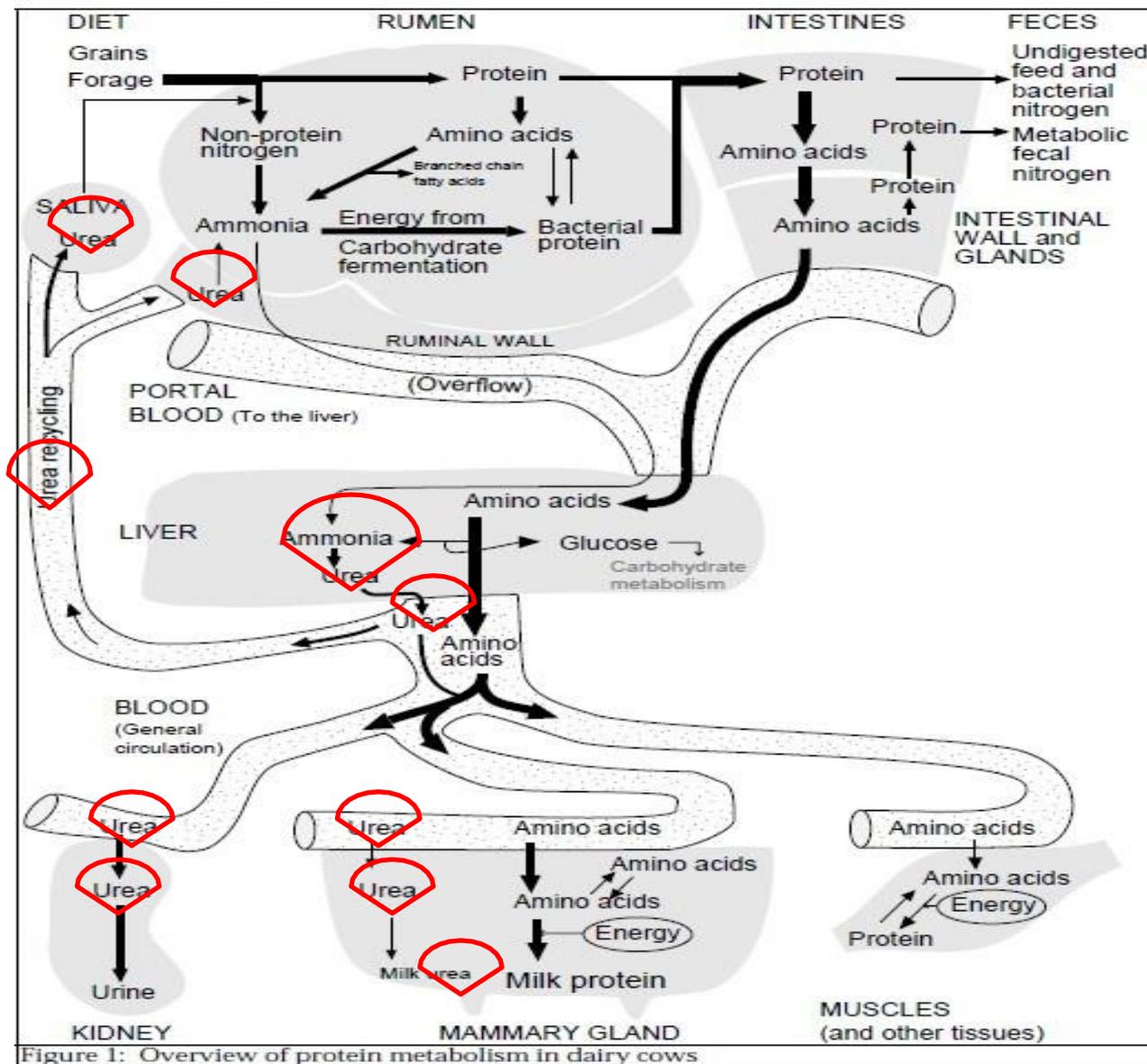


Figure 1: Overview of protein metabolism in dairy cows

Perguntas a serem feitas.....

Problema nº 1

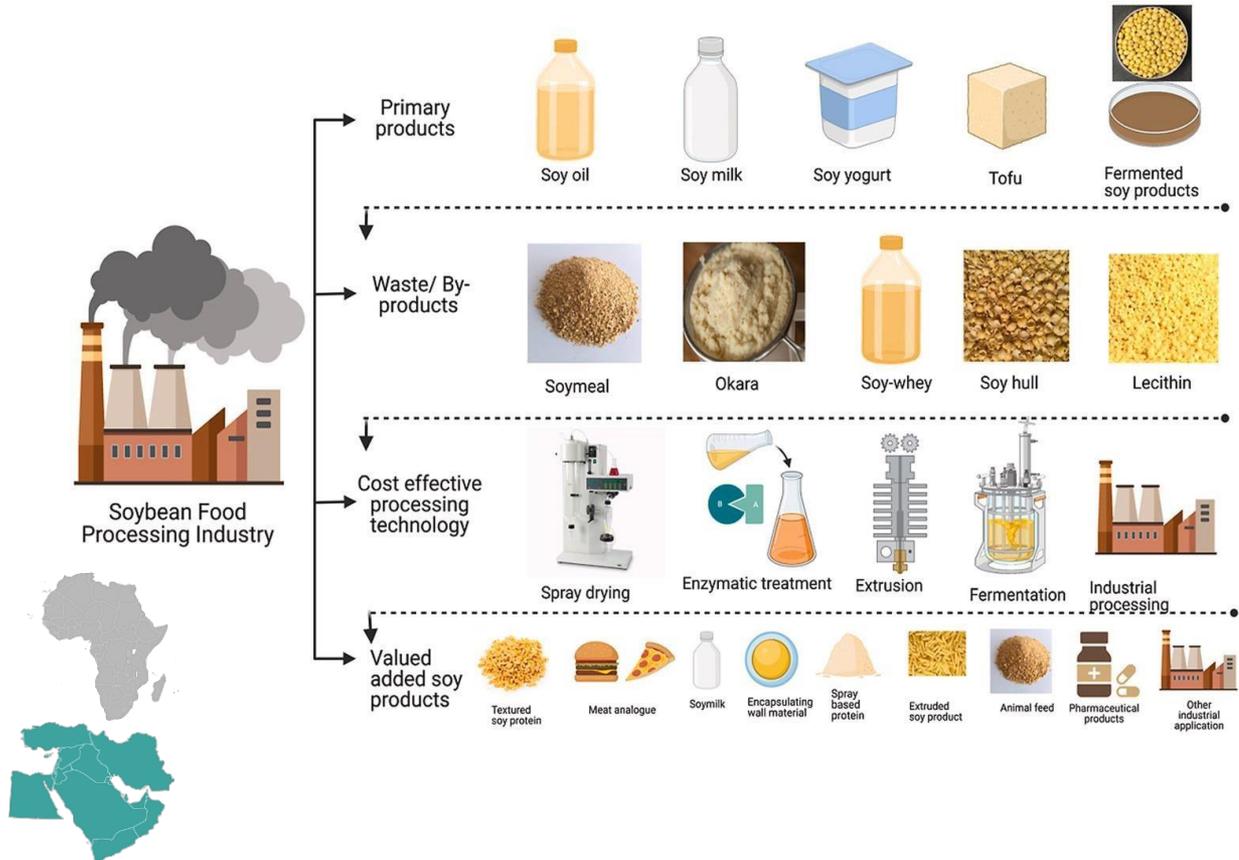
A soja é cara e nem sempre está disponível em todas as regiões do mundo. **Se não for bem tratada, ela também pode ser tóxica?**

Problema nº 2

Em alguns casos, quando a soja não é apropriadamente tratado, **seu uso em dietas para ruminantes não é recomendado**

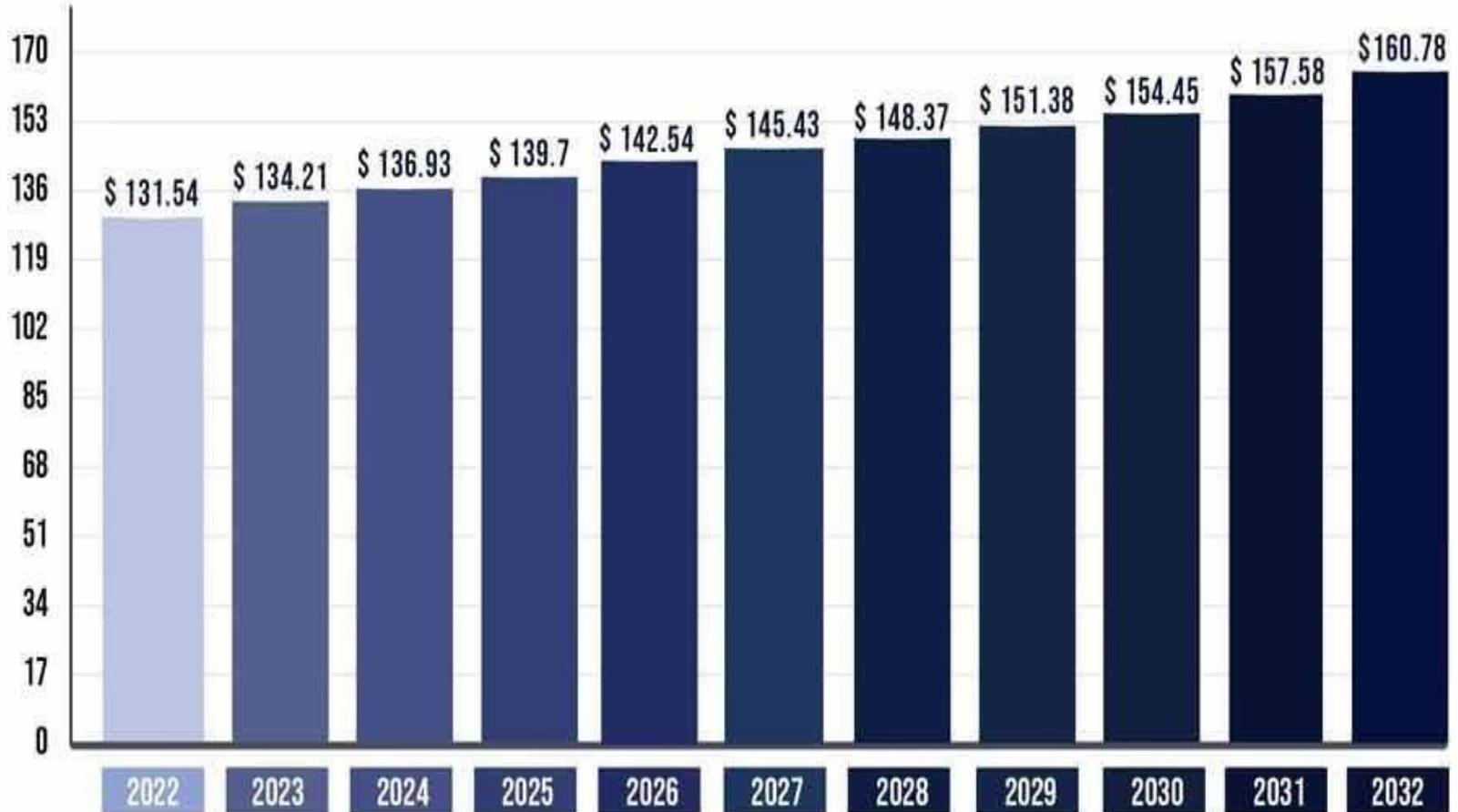
Problema nº 3

Como obter proteína para ruminantes em uma região onde a soja não está prontamente disponível? Podemos obter proteína para ruminantes em uma região onde a soja não está prontamente disponível?



Os ruminantes adultos com um rúmen em funcionamento podem sintetizar proteína a partir de fontes de nitrogênio não proteico NPN, como ureia, metabolizando os compostos de nitrogênio em NH_4^+ e NH_3 de forma controlada, de modo que possa ser usado na formação de proteínas bacterianas e possivelmente de protozoários.

UREA MARKET SIZE, 2023 TO 2032 (USD BILLION)



Source: www.precedenceresearch.com

Proteína bruta

$$= \text{NPN} \times 6,25$$

(Por Ruminants Academy)

GRÁFICO DE PROTEÍNA BRUTA

Proteína bruta (CP) = Nitrogênio (NPN) x 6,25
Contém proteína e nitrogênio não proteico (NPN)

Proteína bruta disponível

Degradável no rúmen

- ✓ Solúvel ou insolúvel.
- ✓ Usado por micróbios para a síntese de proteínas.

Frações digestíveis

- ✓ Eles fornecem aminoácidos à vaca.

As proteínas brutas não disponíveis são:

- Ligado ao ácido detergente, a fibra aumenta quando superaquecida.
- Indigesto e excretado com as fezes.

Não é degradável no rúmen:

- ✓ Em grande parte insolúvel.
- ✓ Eles passam para o intestino delgado.

Frações indigestas

- ✓ Eles são excretados nas fezes.

Hidrólise metabólica da ureia em ruminantes

Para os ruminantes, a ureia dietética reciclada pelo fígado pode ser absorvida pela população microbiana no rúmen, metabolizada e transformada em **proteínas microbianas** que são uma boa fonte para a síntese de proteínas do leite ou dos músculos (Tadele - 2015).

Essas vias exigem **várias atividades enzimáticas** e proteínas acessórias; no entanto, os compostos de metabolização devem chegar aos locais efetivos, exigindo, portanto, mecanismos de transporte (**transportadores específicos**).

Os avanços na pesquisa **sobre os transportadores e a hidrólise da ureia** são úteis para orientar o uso e a administração da ureia como alimento proteico. **A ureia hepática é transportada do rúmen para o epitélio intestinal, onde estão localizadas as ureases.**

O metabolismo **da ureia** utiliza redes de vias interconectadas (Arriaga et al. 2009; Sigurdarson et al. 2018). A primeira via de hidrólise metabólica da ureia é necessária:

- a) para liberar nitrogênio e torná-lo disponível.
- b) para produzir, por meio de processos anabólicos **de assimilação e biossíntese, os aminoácidos e peptídeos** usados pelas células.

Esse processo desempenha um papel vital na utilização e no metabolismo do nitrogênio em ruminantes (Long et al. 2004; Reynolds e Kristensen 2008; Wang et al. 2011; Zhou et al. 2017).

O NH₃ da hidrólise da ureia e de outros compostos contendo nitrogênio é absorvido e transportado para o fígado (Abdoun et al. 2006).

Aqui, **o NH₃** é usado para a **síntese de ureia endógena**, que é reciclada pela parede ruminal e pela secreção salivar. Entretanto, quando **a quantidade de NH₃** é excessiva, uma forma de **síndrome tóxica** é desencadeada, resultando em **esteatose hepática**.

Utilização e desperdício ureia na alimentação de ruminantes

Após uma extensa pesquisa que demonstrou sua segurança e utilidade em dosagens corretas sob condições específicas, a ureia se tornou um ingrediente normal aceito nas dietas de ruminantes.

Uma grande quantidade de informações e conhecimentos foi documentada em relação aos mecanismos de utilização da ureia e de outros compostos de nitrogênio não proteico pela **microbiota** ruminal.

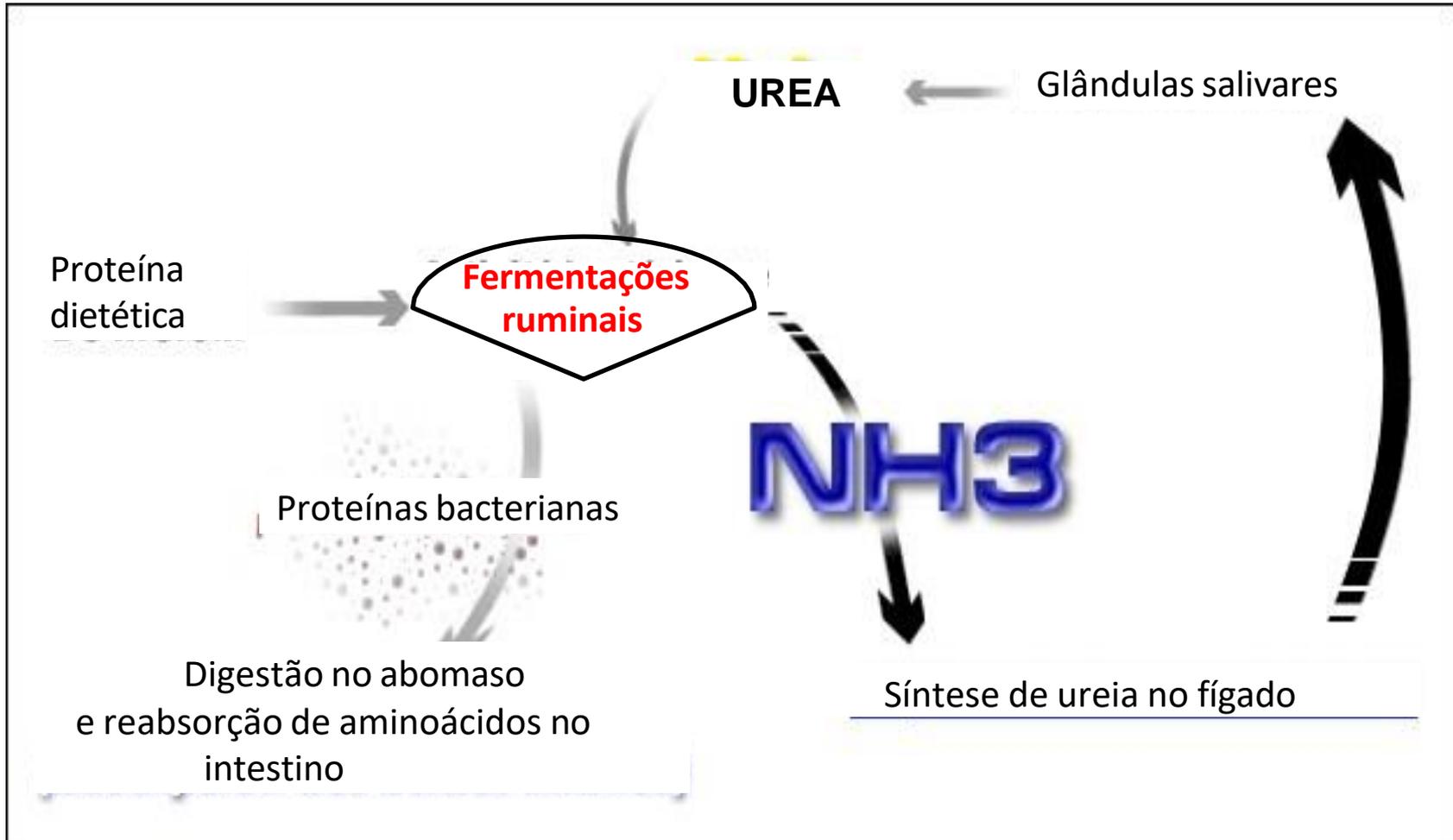
Os problemas de toxicidade da amônia/ureia podem ser facilmente evitados por meio da utilização adequada do conhecimento científico sobre a alimentação com ureia na dieta dos ruminantes.

Existem agora aditivos e técnicas de processamento para melhorar o uso anabólico da ureia NPN pela população microbiana ruminal através de uma remodelação da reciclagem de ureia-NPN no rúmen. (Patente -n°102022000014362 - PCT/IB2023/056515)

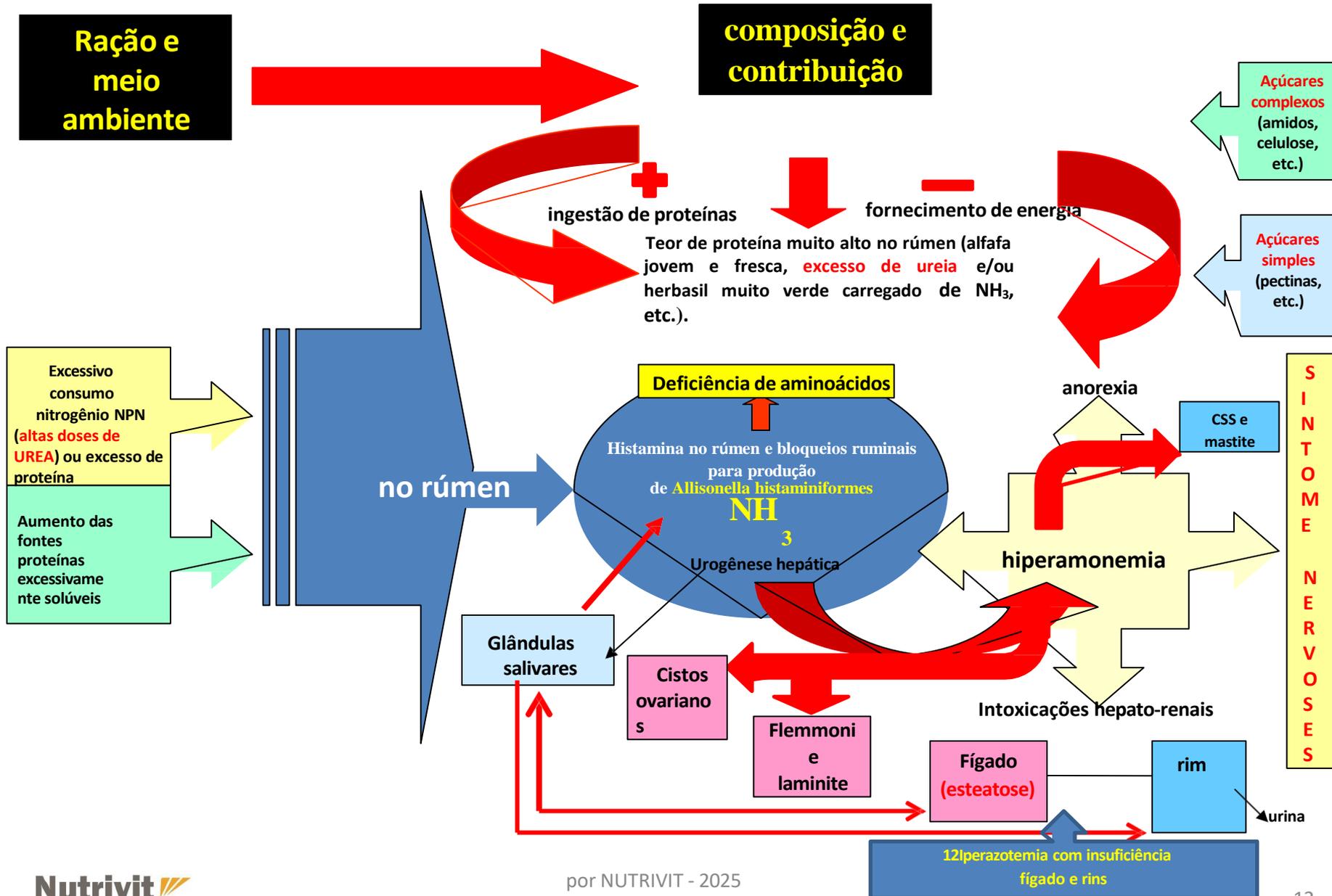
Sabe-se que o gerenciamento da dieta e a combinação de ureia com um conjunto de enzimas pré-pós-bióticas podem **reduzir o desperdício** de N nos habitats ambiental e ruminal.

Também deve ser enfatizado que o aumento da eficiência do processamento no rúmen e o uso de NPN adequadamente tratado reduzem simultaneamente a excreção de nitrogênio e a emissão de **GHG** (**Green House Gas**) no meio ambiente.

Ciclo da ureia em ruminantes



Intoxicação por nitrogênio solúvel



Impacto na saúde animal

A situação ilustrada até agora, em nível ruminal, cria condições ideais para o desenvolvimento de **Allisonella histaminiformans**, um microrganismo **produtor de histamina** onipresente no rúmen:

- a) a inflamação imediata das papilas ruminais (aumento das citocinas circulante).
- b) a redução da assimilação do AGV seguida pela ativação de patologias:
 - 1) mama (aumento dos estados inflamatórios na mama originários de mastite)
 - 2) pés (flegmão interdigital -----> laminite)
 - 3) ovários (cistos ovarianos)

Em alguns animais, ela também pode se manifestar em **uma forma aguda** com patologias:

- 3) do fígado (esteatose hepática)
- 4) dos rins (nefrite)
e em formas graves
- 5) do SNC (sintomas neurológicos com ataxia, dificuldade para andar, etc.) e em em alguns casos mais graves, coma e morte da pessoa afetada).

Intoxicação aguda por ureia

Como todos os compostos de nitrogênio não proteico (NPN), a ureia pode ser usada em rações de ruminantes com um rúmen em funcionamento sem problemas, desde que tomadas certas precauções com relação à dose uso, ao momento da administração e à associação com outros produtos. No início, devido ao *conhecimento insuficiente ou ruim do metabolismo ruminal*, o uso e a disseminação da ureia na nutrição de ruminantes **resultaram na morte de animais por toxicidade**. Isso levou necessidade de limitar, se não impedir, seu uso em dietas de ruminantes.



Sintomas de envenenamento por ureia

- 1) O aumento da presença orgânica de NH_3 nos órgãos internos exerce **uma ação cáustica em todos os órgãos**.
- 2) Aparece uma cólica convulsiva grave.
- 3) Ataxia: A marcha torna-se instável.
- 4) Aumento de pulsações em jugular (pressão arterial).
- 5) Segue-se morte súbita (máximo de 3 horas ingestão) após um berro violento.

Resíduos (intoxicação) e utilização ureia na alimentação de ruminantes

Após extensas pesquisas que demonstraram sua segurança e utilidade em dosagens corretas sob condições específicas, a ureia se tornou um ingrediente padrão adotado nas dietas de ruminantes.

Uma grande quantidade de informações e conhecimentos foi documentada em relação aos mecanismos de utilização da ureia e de outros compostos de nitrogênio não proteico pela **microbiota** ruminal.

Os problemas de toxicidade da amônia/ureia podem ser evitados por meio da utilização adequada do conhecimento científico sobre a alimentação com ureia na dieta dos ruminantes.

O manejo adequado da dieta e combinação de ureia com um conjunto de ácidos, enzimas e pré-pós-bióticos, entre outros, podem reduzir o desperdício de NPN no habitat ambiental tanto quanto no habitat ruminal.

Também deve ser enfatizado que o aumento da eficiência do processamento no rúmen e o uso de NPN adequadamente tratado **reduzem simultaneamente a excreção de nitrogênio e a emissão de GHG (Green House Gas)** no meio ambiente.

Velocidade de hidrólise no nível ruminal ureia



UREA clássica com **rápida** degradação de NPN

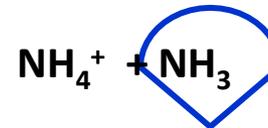


alta porcentagem



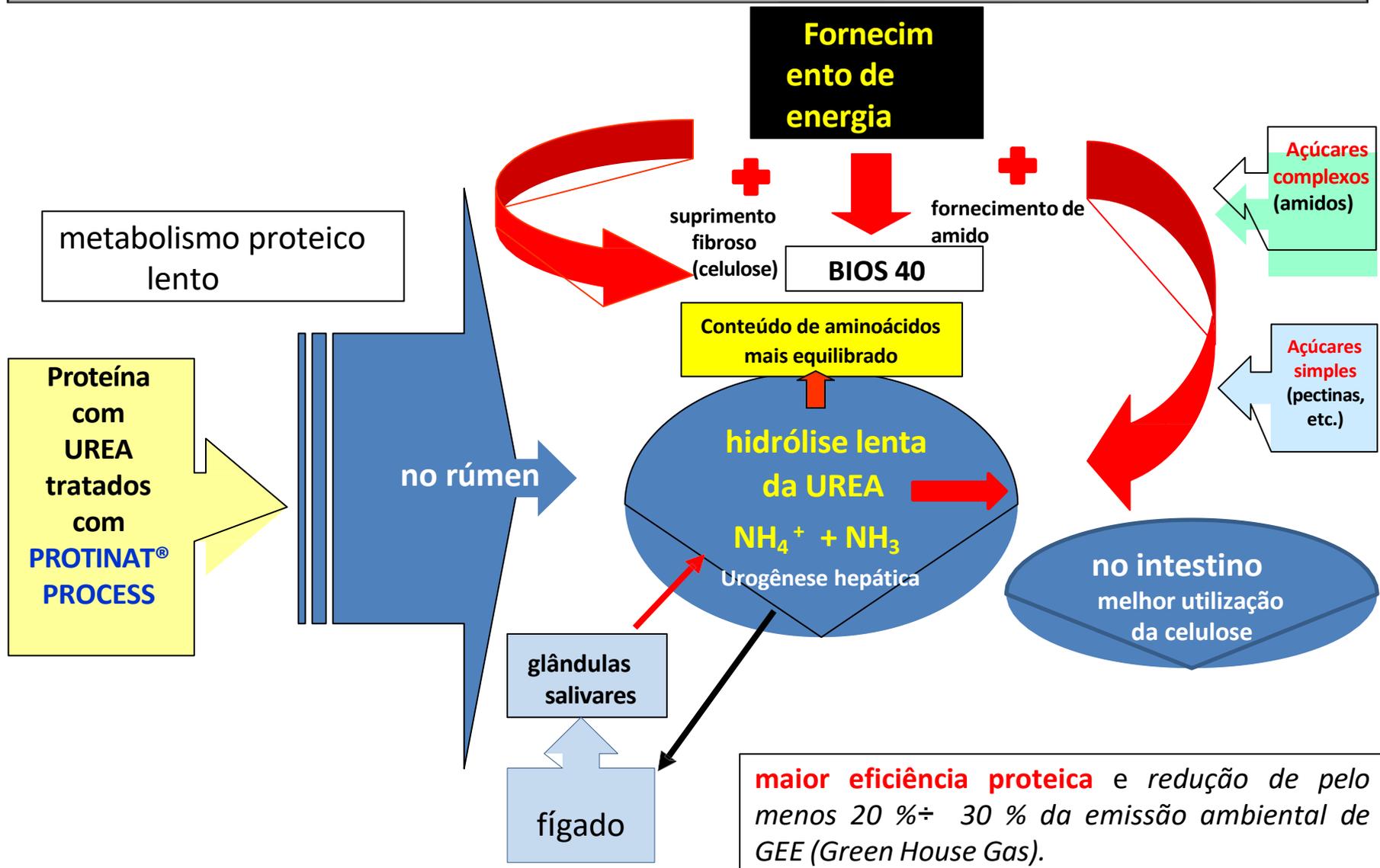
UREA tratada com **PROTINAT® PROCESS** com degradação

NPN de **liberação lenta**



é transformado em proteínas nobres

Funcionamento metabólico com UREA tratada com o método PROTI-NAT® PROCESS (Patente nº PCT/IB2023056515)



Reflexões sobre o problema

Atualmente, há muito mais informações e conhecimentos disponíveis sobre os mecanismos de utilização da ureia e de outros compostos de nitrogênio não proteico pela microbiota ruminal, basta saber como lê-los e interpretá-los.

Os problemas de toxicidade da amônia e da ureia podem ser quase totalmente evitados com o uso correto dos conhecimentos **científicos, químicos, físicos e microbiológicos** sobre a composição da ração para ruminantes que contém ureia de liberação lenta.

Hoje existe um processo de produção da minha invenção que consiste em aditivos e técnicas de tratamento físico-químico para melhorar o uso anabólico da uréia pela população microbiana ruminal graças à modulação da uréia-N reciclada no rúmen. (Patente IT/102022000014362 – PCT/IB2023056515)

O criador dessa patente sabe como o manejo da alimentação e a combinação de ureia com um conjunto de processadores vegetais, enzimas, pré-pós-bióticos e acidificantes, além de determinados processos, podem reduzir o desperdício de nitrogênio no habitat ambiental e, principalmente, no habitat ruminal, diminuindo assim a taxa de utilização de nitrogênio na microbiota ruminal.

Também deve ser enfatizado que a maior eficiência de processamento no rúmen e o uso de **NPNs**, mesmo que não sejam processados adequadamente, reduzem simultaneamente **a excreção de nitrogênio e a emissão de GHG (Green House Gas) no ambiente (pesquisas americanas recentes - estudos de 20 a 30%).**

Comparação diferentes tipos de tratamento com UREA patenteado e no mercado mundial

Patentes de longa data

- a) Patente americana baseada mistura de UREA com tampões específicos (montmorillonita, etc.). Presente no mercado com resultados ruins (**obsoleto**)
- b) Outra patente, também americana, consiste na inserção de ureia em uma gordura de hidrólise lenta (*by-pass*), alimentando ruminantes com o produto.
O sucesso relativamente baixo dos produtos se deve a três fatores:
 1. Eles não permitem que grandes quantidades de ureia sejam fornecidas aos ruminantes (máx. 150 g/cabeça/dia);
 2. Eles não são capazes de substituir a soja (2/3 kg) integralmente
 3. Ele tem um alto custo de distribuição. É usado como suplemento nutricional.

Patente moderna **PROTINAT® PROCESS**

- a) A patente **PROTI-NAT® PROCESS** baseia-se no tratamento da ureia, que é tão simples quanto antigo em seu mecanismo de ação: basta pensar na hidrólise da ureia que ocorre no solo como fertilizante. São usados princípios de microbiologia, bioquímica e física.
- b) O produto, obtido com a patente italiana, pode ser eliminado com segurança da dieta de ruminantes com um rúmen em funcionamento:
 - 1) Soja e, se desejado (ou se necessário), outras fontes de proteína vegetariana caras ou pouco disponíveis;
 - 2) Quando totalmente operacional, ele não tem custos adicionais e permanece dentro da faixa de custos normais de um feed extrudado e/ou expandido.

Comparações



SOJA



Farinha de
extração de
soja



UREA Agrícola



UREA:

Prontamente disponível a
um preço industrial, como
bicarbonato, etc.



(por Ruminant Academy)

aditivos pré-misturados normais
combinados com ureia que
estão prontamente disponíveis
no mercado para alimentar
ruminantes.



Máquinas normais de mistura e
extrusão

5:1
custos

A relação entre os custos de produção da soja e da ureia e sua respectiva produção de proteína é de 1:5, indicando que a soja é cinco vezes mais cara que a ureia.

Produção do PROTINAT® PROCESS

O processo de produção inclui aditivos e técnicas de processamento para melhorar a utilização anabólica de 46% de ureia (NPN) pela população microbiana ruminal, remodelando a reciclagem da ureia transformada no rúmen.

(Patente de TI no. 102022000014362 - PCT/IB2023-056515)



Processamento e mistura de uma ração de proteína de valor variável (% de proteína fornecida principalmente pela ureia tratada com PROTINAT® PROCESS) para uso na alimentação de ruminantes com rúmen funcional.

Materiais e métodos

Os testes de campo realizados pelo Dr. Gabaldo tinham o objetivo de estabelecer se o insight inovador tinha alguma aplicação prática em ruminantes sem intoxicá-los.

Os primeiros testes práticos em animais com essa tecnologia foram realizados em 2015, produzindo em um fabricante de ração confiável, equipado com uma extrusora, uma fórmula de ração na qual um núcleo (Premix PROTINAT®) foi inserido a 10%.

Essa pré-mistura, por sua vez, foi preparada por um fabricante de pré-mistura com o qual estou vinculado por um Acordo de Confidencialidade, que, além da pré-mistura, adicionou **ureia** comum **46% NPN** (nitrogênio não proteico) a uma taxa de **50%**.

Essa pré-mistura denominada "**Premix PROTINAT®**" foi usada a 10% em uma ração misturada com um subproduto alimentar de 90%, que era muito, mas muito fibroso, com baixo teor de proteína e baixo teor de substâncias energéticas, como "cascas de soja". O produto também era **rico em fibra dietética (pectinas que estimulam a atividade microbiana ruminal) e celulose, com esses valores nutricionais médios no mercado de cascas de soja secas:**

- Umidade.....±8.00%,
- Proteína bruta 12.00%,
- Óleos e gorduras brutos.....2.00%,
- Fibra bruta.....30.00%,
- Cinzas6,00% com a adição cevada, minerais e oligoelementos.

Primeiro teste prático de campo

A ração resultante 10% de PROTINAT® PROCESS (composto 10% de ureia tratada + Premix PP) + 50% de cereais + 40% de cascas de soja.

análise analítica do produto obtido, realizada em um laboratório credenciado de foram obtidos os seguintes valores:

	KG	%
FARINHA DE MILHO	50,0000	50,0000%
BALDES DE SOJA	40,0000	40,0000%
Premix PROTINAL	10,0000	10,0000%
Totais	100,0000	100,00%

Análise	%TQ
PG	23,32 dos quais 14% provenientes de UREA TRATADA
LG	3,0 com o método PROTINAT PROCESS
FG	17,70
CINZAS	8,33
CA	0,78
NA	0,15
UFL	0,37
UFC	0,36
ADF	17,20
ESTARQU	34,54
E	
CINZAS	3,63



A ração resultante, com uma aparência física semelhante à da ração clássica para cães, foi testada administrando-a a rebanhos de vacas leiteiras em estado semisselvagem (com pastagem) na Apúlia, com uma produção média de aproximadamente 25 ÷ 28/lit/cabeça/dia na área de Putignano, e a ovelhas e cabras na Sardenha, na área de Campidano, criadas em estado semisselvagem (com pastagem) para teste:

- O grau de palatabilidade do** produto desde que os animais comeram o produto disponível gratuitamente.
- O grau de toxicidade do** produto, levando-se em conta que, para cada quilo de produto, **140 g de ureia** teriam sido administrados aos animais, uma quantidade que já é bastante **alta e com risco de toxicidade**.
- A quantidade de produto que eles teriam consumido espontaneamente e não incluída no carrinhos misturadores e/ou alimentadores onde é imposto a quantidade alimentação industrial



Resultados

O gado (vacas leiteiras) em teste comeu espontaneamente a ração tratada de **2,0 a 3,5 kg/cabeça/dia**, ingerindo assim **280 a 490 g de ureia tratada**. Levando em conta que as ovelhas e/ou cabras da Sardenha pesam cerca de 70 a 80 kg, as ovelhas conseguiram até mesmo ingerir **400 a 500 g/cabeça/dia**, ingerindo assim **56 a 70 g de ureia tratada, uma dose que, se ingerida como ureia normal por um pequeno ruminante, é universalmente considerada muito tóxica, para não dizer letal.**

Embora não tenhamos tido a possibilidade de dividir os grupos usando um método científico (randomização com grupo tratado e controle), produção de leite obtida dos animais tratados aumentou significativamente nas vacas leiteiras (cerca de dois litros), bem como nas ovelhas e cabras (cerca de 1 litro).

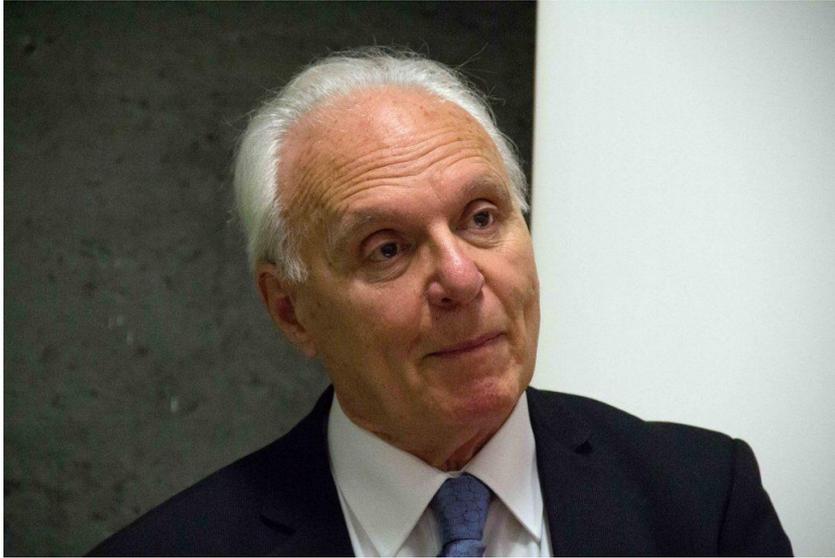
Outros resultados práticos em animais

No ano passado, depois de refletir sobre a flutuação do mercado de soja, depois de proteger minha ideia, minha invenção, o processo (Patente IT-n° 102022000014 PCT/IB2023/056515), pensei em testar o produto cientificamente.

Mandei produzir uma ração concentrada chamada BIOS 40 (contendo 10% de NPN a partir de ureia tratada com o método PROTINAT® PROCESS, com um valor proteico de 40% de proteína bruta, dos quais 28% de NPN).

O experimento, acordado com o proprietário do rebanho, o técnico de estábulo Dr. Marco Bellini e colegas da Universidade de Parma, foi realizado em vacas com alto nível genético e produtivo (Holstein italiana com uma produção média de aproximadamente 36 litros/cabeça/dia), em particular em novilhas reprodutoras com alto perfil genético, nos dois meses anteriores ao parto. Considerando que esses são os indivíduos mais delicados em um rebanho, é inegável que, **nessa fase fisiológica da vaca, qualquer problema de toxicidade se manifesta imediatamente, tanto antes quanto depois do parto.**





Prof. Antonio Ubaldi

Professor da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Parma de 1974 a 2015. Foi professor de diagnóstico laboratorial bioquímico e clínico, toxicologia veterinária, toxicologia de resíduos em alimentos e em três escolas de pós-graduação nas Universidades de Parma e Milão.

Resultados do periparto

De acordo com os relatos do proprietário, do veterinário e do nutricionista que acompanhavam o rebanho onde o teste foi realizado, parece que nas cinco novilhas submetidas à administração de 200 g/cabeça/dia de ureia tratada:

- a) As vacas tratadas se apresentaram para a entrega no prazo e sem nenhum problema relacionado ao seu estado fisiológico.
- b) Todos entraram em cio natural e três deles já foram fertilizados.
- c) Não havia sintomas de cetose e o BCS estava dentro do padrão esperado (> 2).
- d) Perda apetite dentro dos limites.

Personal considerations

Duration of the experiment

Over the course of three months, with the help of a colleague from the University of Parma, I personally made a number of samples in the breeding of all the animals subjected to experimentation and then, all together in the laboratory, we would evaluate any change in the experimental data.

Biochemical-clinical parameters

At this point it was necessary to establish what biochemical-clinical parameters could or should be carried out on the serum of these treated and untreated animals, since, according to the traditional canons, these animals were divided into two groups.

Experimental groups

A first group to which a normal and habitual diet was administered, we called the control group (second protocol). The other group, on the other hand, was fed with the addition of the new product in which the treated urea was inserted, initially at a dose of 200 grams/head/day and was called the experimental group.

Amazing results

This dose, in my opinion, was stratospheric in itself, but according to the protocol, dr. Gabaldo, increased the dose and I simply followed the data from the laboratory and I was surprised because the treated animals had small changes, small alterations in some blood parameters, but it was an infinitesimal thing in the sense that it could be observed with refined instruments but they did not give any results at a clinical pathological level.

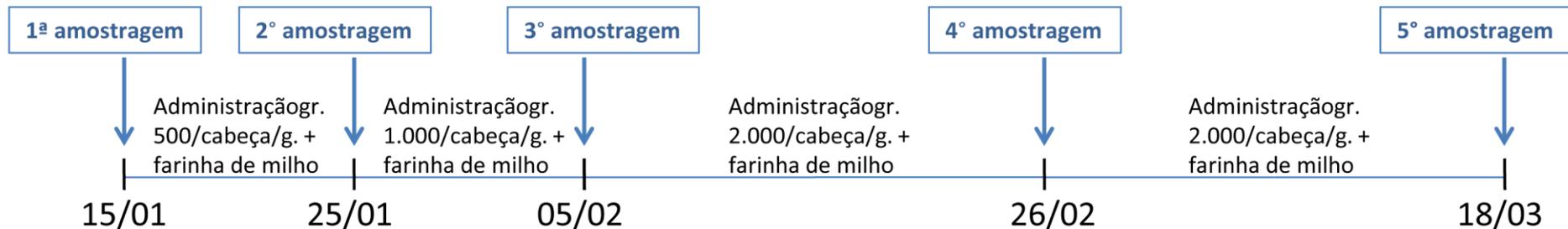
Protocolo

Materiais e métodos

O teste foi realizado em 2 grupos de n° 5 vacas cada na fazenda da Azienda Agricola Cecchin Giovanni e Riccardo - Via Argine Crostolo, 13 - Guastalla (RE), selecionando os indivíduos pelo método "aleatório" para ambos os grupos (tratado "T" e controle "C"), nos quais foram coletadas amostras de sangue de 10 cc.

As novilhas tratadas receberam o BIOS 40 (contendo 10% de URÉIA tratada com PG de 40% misturada a 50% com flocos de milho) produzido pela empresa Valtramigna Foods s.r.l. de Cazzano di Tramigna (VR), enquanto o grupo de controle continuou com a ração habitual. A alimentação e a amostragem seguiram o seguinte esquema:

Observações preliminares: Tendo em vista a presença de nitrogênio não proteico (NNP) no produto BIOS 40, na fase de "condicionamento" para a adaptação microbiana da população ruminal, o produto foi administrado em substituição à ração atualmente utilizada, aumentando a dosagem gradualmente de acordo com o programa descrito a seguir:



Procedimento para coleta e envio de amostras

As amostras foram coletadas nos intervalos indicados na tabela pela Dra. Gisella Pizzin, médica veterinária, que também cuidou de sua entrega ao "Laboratory Diagnostics" no Departamento de Ciências Médicas Veterinárias da Universidade de Parma.

Análise de amostras

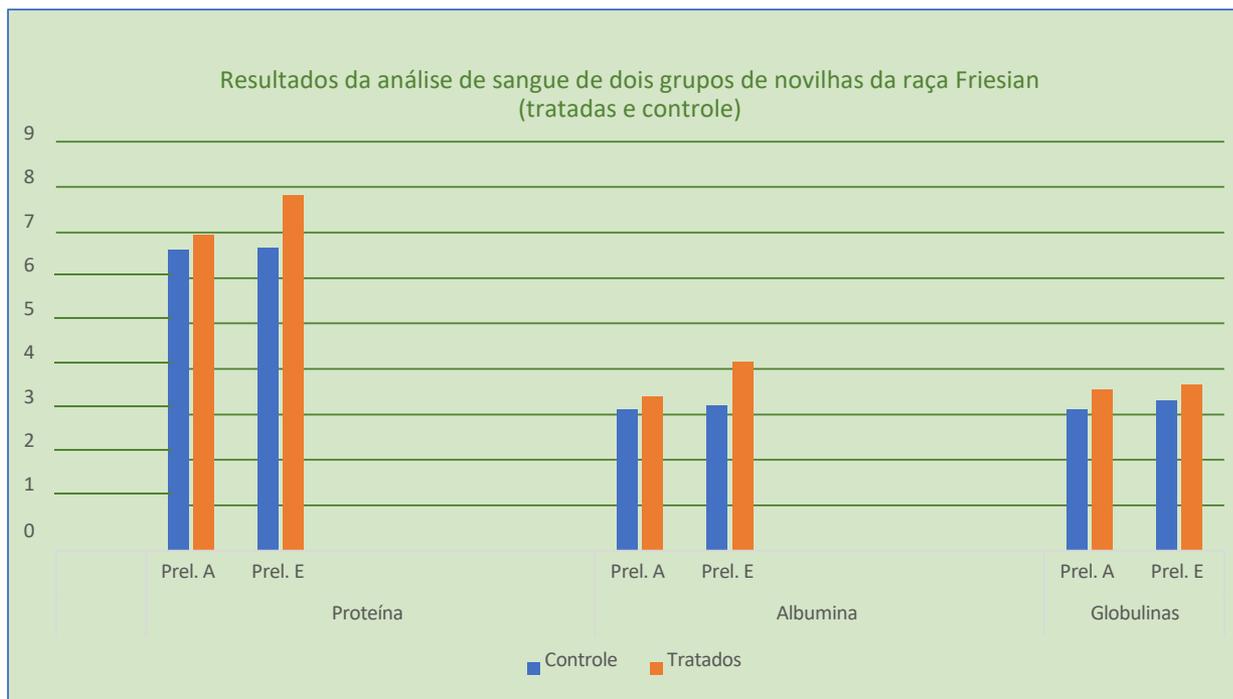
Os valores de ureia e função hepática e o índice de toxicidade necessário foram medidos nas amostras de sangue University, e co-presidido pelo Prof. Antonio Ubaldi.

Resultados

Resultados da análise de sangue de dois grupos de MANZE (tratados e controle) da raça frísia italiana

	Proteína total		Albumina		Globulina		Ureia		Amônio		Glicose		Lipídios totais		
	A	E	A	E	A	E	A	E	A	E	A	E	A	E	
Tratar															
5434	6,82	7,99	3,42	4,39	3,40	3,60	28,81	30,12	0,04	0,09	60,43	66,73	347	396	
5437	7,12	8,01	3,50	4,42	3,62	3,59	31,67	36,80	0,05	0,15	56,50	62,18	393	402	
9442	6,88	7,93	3,23	4,00	3,65	3,93	30,21	38,17	0,06	0,07	60,88	67,00	349	411	
9457	6,84	7,12	3,20	4,08	3,64	3,04	36,68	39,00	0,05	0,06	54,52	61,22	378	389	
9459	7,09	8,06	3,03	3,88	3,46	4,18	30,22	32,41	0,05	0,05	61,11	72,18	388	433	
média	6,95	7,82	3,40	4,15	3,55	3,67	31,52	35,30	0,05	0,06	58,69	65,86	371	407	
Controle															
5417	6,65	6,03	3,11	3,01	3,54	3,02	25,33	26,81	0,03	0,03	58,61	60,08	341	351	
5423	6,42	7,11	3,08	3,04	3,34	4,07	29,78	31,17	0,04	0,03	54,55	53,13	336	348	
5432	7,02	6,87	3,09	3,06	3,03	3,01	31,36	30,16	0,03	0,04	60,06	57,67	381	401	
5433	6,93	7,00	3,15	3,85	2,79	3,15	30,11	29,34	0,03	0,03	61,11	60,46	354	361	
9430	6,06	6,35	3,10	3,07	2,90	3,28	31,76	30,44	0,04	0,05	60,00	50,88	319	345	
média	6,62	6,67	3,11	3,20	3,11	3,31	29,69	29,58	0,03	0,04	58,57	58,23	346,2	361,2	
Valores de referência	6-9 g/dl		3-4 g/dl		3-4 g/dl		10-45 mg/dl		0,04-0,06 mg/dl		40-70 mg/dl		300-450 mg/dl		

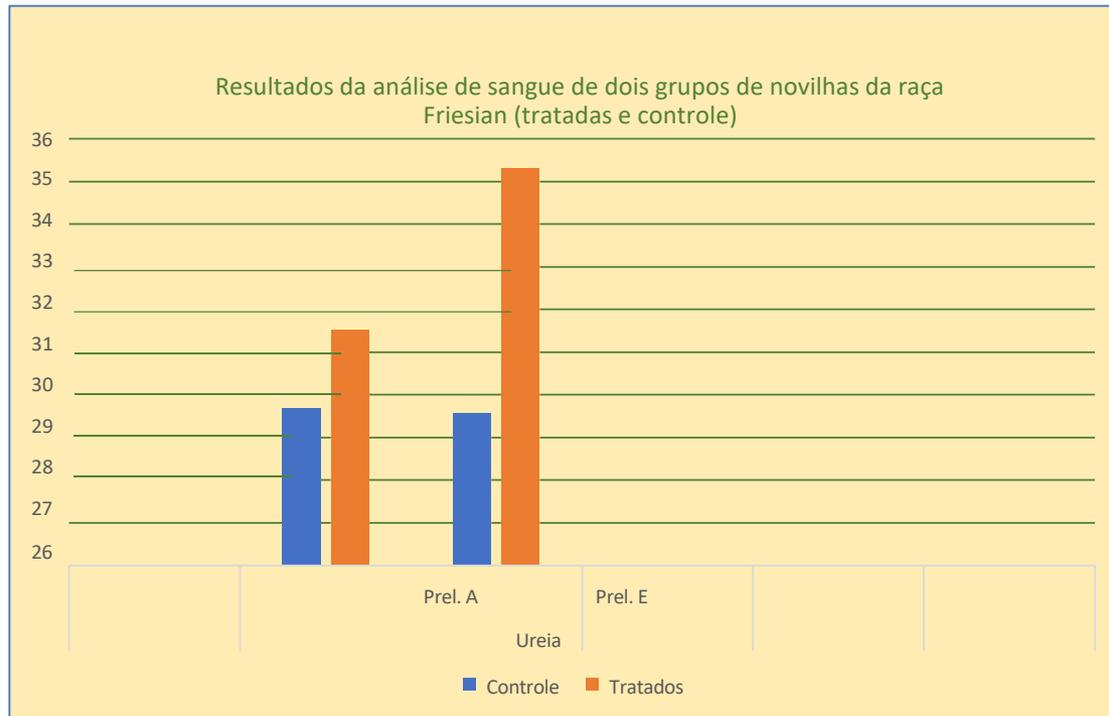
Amostras de sangue coletadas no ano de 2024: primeira amostra A) 15 de janeiro, quinta amostra E) 18 de março



	Proteínas			Albumina			Globulina	
	Amostragem A	Amostragem . E		Amostragem A	Amostragem E		Amostragem A	Amostragem E
Controle	6,62	6,67	Controle	3,11	3,20	Controle	3,11	3,31
Tratadas	6,95	7,82	Tratadas	3,40	4,15	Tratadas	3,55	3,67

Valores de referência: 6-9 g/dl 3-4 g/dl 3-4 g/dl

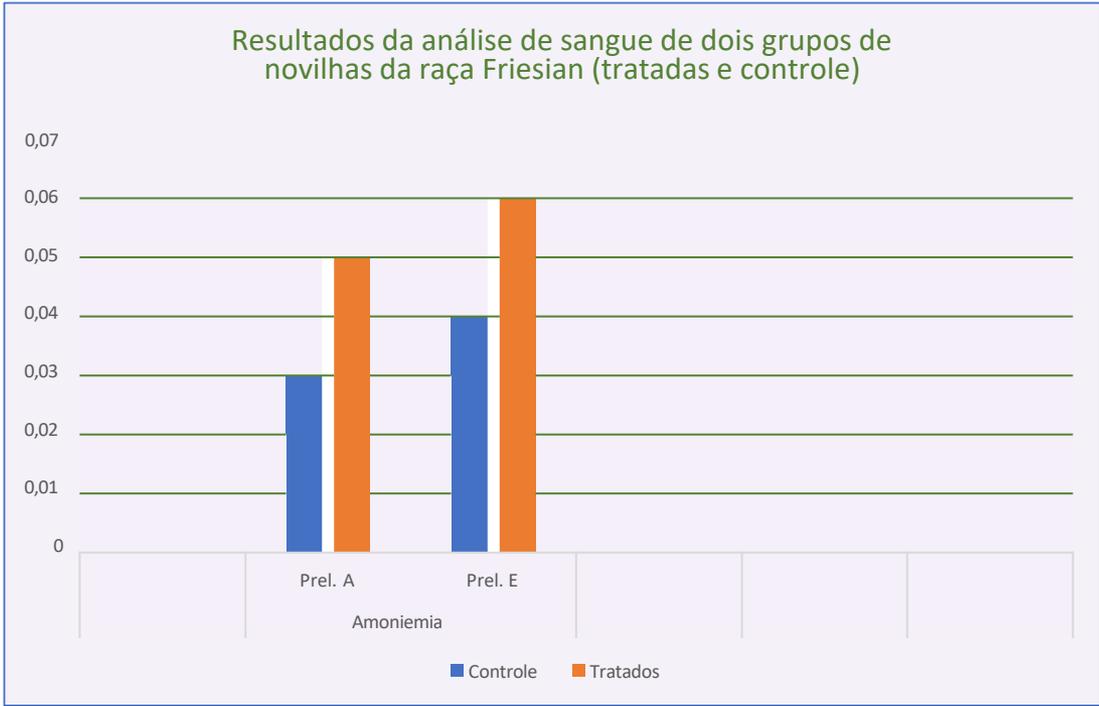
Sequência temporal das colheitas				
A	B	C	D	E
15/01/2024	25/01/2024	05/02/2024	01/03/2024	18/03/2024



Ureia		
	Amostragem A	Amostragem E
Controle	29,69	29,58
Tratadas	31,52	35,30

Valores de referência: 10-45 mg/dl

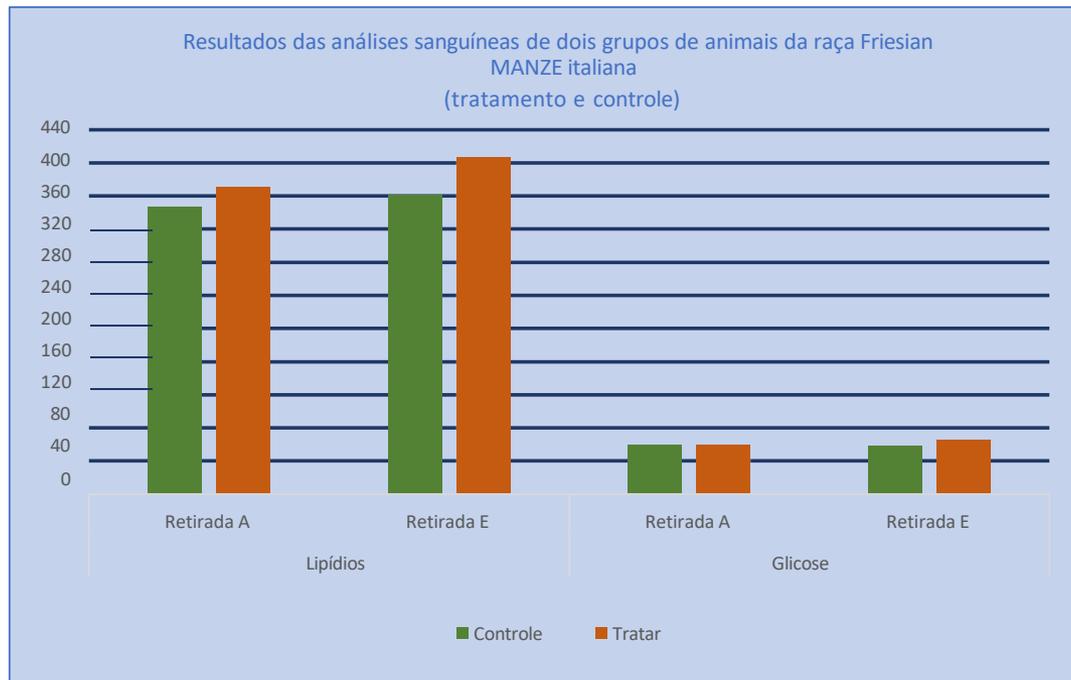
Sequência temporal das colheitas				
A	B	C	D	E
15/01/2024	25/01/2024	05/02/2024	01/03/2024	18/03/2024



		Amonemia	
		Amostragem A	Amostragem . E
Controle		0,03	0,04
Tratadas		0,05	0,06

Valores de referência 0,04-0,06 mg/dl

Seqüência temporal das colheitas				
A	B	C	D	E
15/01/2024	25/01/2024	05/02/2024	01/03/2024	18/03/2024



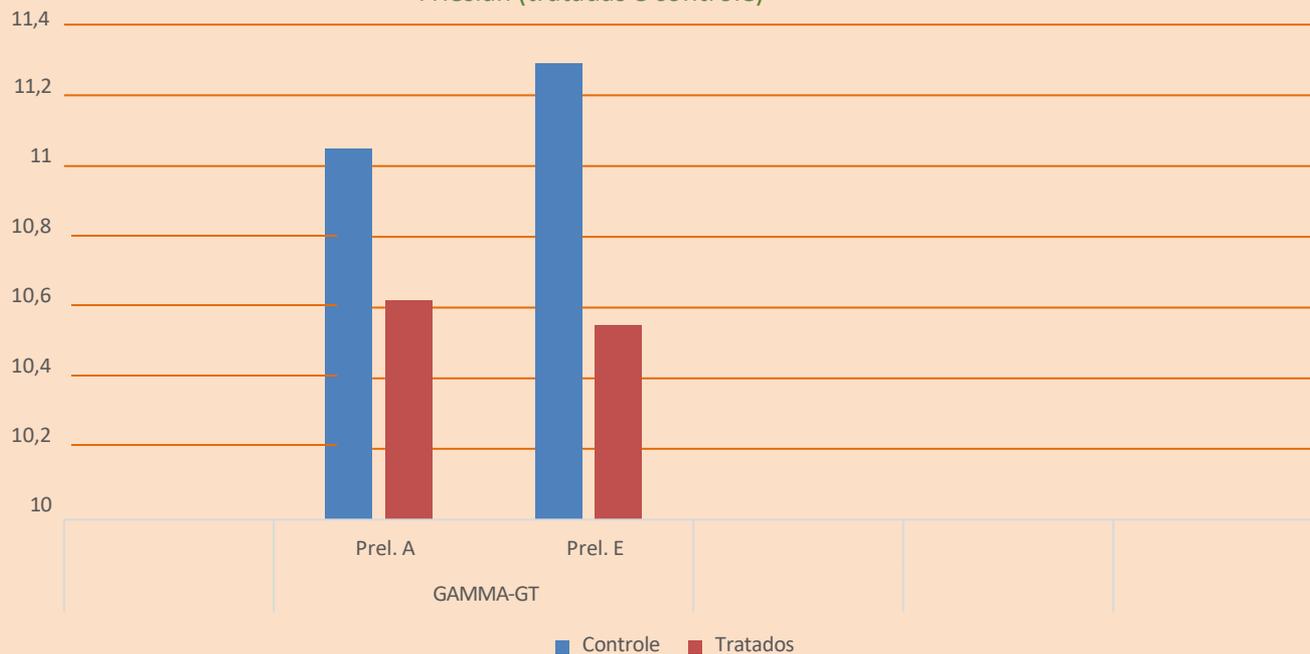
		Lipídios	
		Amostragem A	Amostragem E
Controle		346,2	361,2
Tratadas		371	407

		Glicose	
		Amostragem A	Amostragem . E
Controle		58,57	58,23
Tratadas		58,69	65,86

Valores de referência:	300-450 mg/dl	40-70 mg/dl
------------------------	---------------	-------------

Sequência temporal das colheitas e				
A	B	C	D	E
15/01/2024	25/01/2024	05/02/2024	01/03/2024	18/03/2024

Resultados da análise de sangue de dois grupos de novilhas da raça Friesian (tratadas e controle)

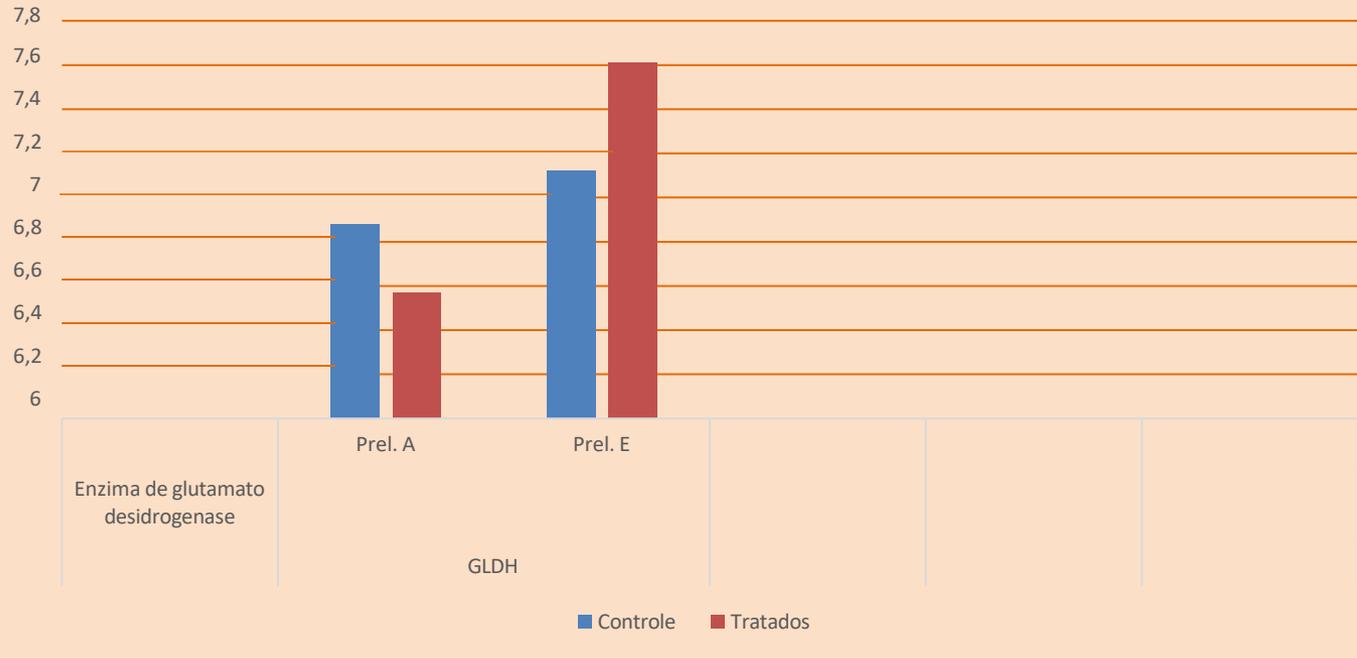


		GAMMA-GT	
		Amostragem A	Amostragem . E
Controle		11,05	11,29
Tratadas		10,62	10,55

Valores de referência: < 18 U/L

Sequência temporal das colheitas				
A	B	C	D	E
15/01/2024	25/01/2024	05/02/2024	01/03/2024	18/03/2024

Resultados da análise de sangue de dois grupos de novilhas da raça Friesian
(tratadas e controle)

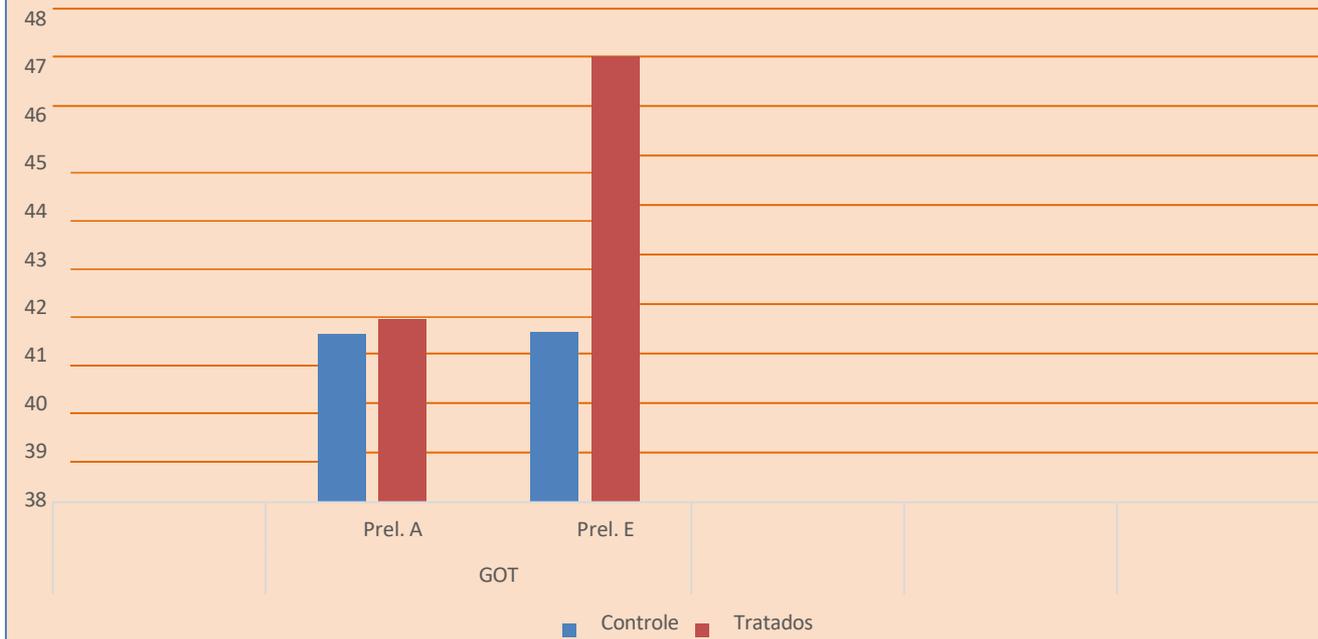


		GLDH	
		Enzima glutamato desidrogenase	
		Amostragem A	Amostragem . E
Controle		6,88	7,12
Tratadas		6,57	7,61

Valores de referência: < 10 U/L

Sequência temporal das colheitas				
A	B	C	D	E
15/01/2024	25/01/2024	05/02/2024	01/03/2024	18/03/2024

Resultados da análise de sangue de dois grupos de novilhas da raça Friesian (tratadas e controle)



		GOT	
		Amostragem A	Amostragem E
Controle		41,40	41,30
Tratadas		41,70	47,00

Valores de referência: < 80 U/L

Sequência temporal das colheitas				
A	B	C	D	E
15/01/2024	25/01/2024	05/02/2024	01/03/2024	18/03/2024

Conclusões sobre a eficácia do PROCESSO PROTI-NAT®



O uso de ureia tratada com o PROTI-NAT® PROCESS tem se mostrado seguro e eficaz mesmo em animais em fases fisiológicas delicadas como a gestação. Os resultados indicam que essa abordagem pode representar uma alternativa viável às fontes tradicionais de proteína, com benefícios econômicos e ambientais significativos.

Por A. Ubaldi - UNIPR - 2025

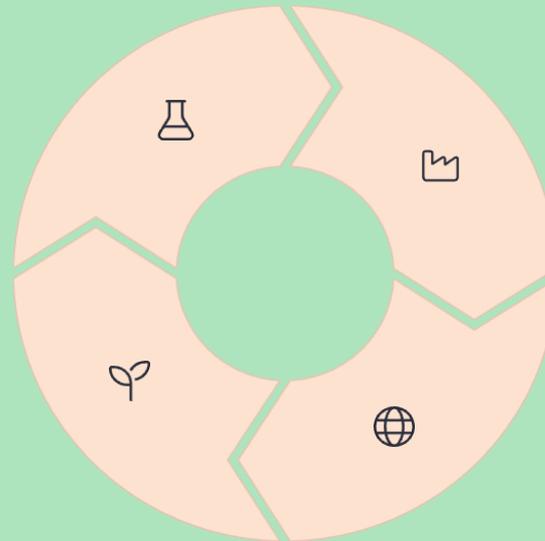
Perspectivas e aplicações futuras

Pesquisa avançada

Mais estudos sobre diferentes raças e fases de produção

Sustentabilidade ambiental

Redução do impacto ambiental da pecuária



Produção industrial

Escalabilidade de processos para aplicações comerciais

Aplicações globais

Adaptação a diferentes condições agrícolas em todo o mundo

O PROTI-NAT® PROCESS representa uma inovação significativa no campo da alimentação de ruminantes, oferecendo uma solução segura e econômica para a suplementação de proteínas. As perspectivas futuras incluem otimização de processos, expansão de aplicações para outras espécies de ruminantes e avaliação do impacto de longo prazo na saúde animal e na qualidade do produto.



Dr. Giulio Gabaldo - DVM- PhD

Inventor da tecnologia e proprietário da marca

Patente - n° 102022000014362) PROTINAT® PROCESS

O que são e para que servem o BIOS 40 e o BIOS 70

1º e 2º produto comercial para testes na Itália



Substituição total e/ou parcial do farelo de soja em rações de ruminantes adultos com um rúmen em funcionamento.

-**BIOS 40** é um produto que consiste em ureia normal para uso zootécnico, apoiado por aditivos especiais (pré-bióticos, pós-bióticos de última geração, açúcares, montmorilonita, enxofre etc.), com um pouco semente de linho integral, tudo tratado termicamente com o PROTINAT® PROCESS (Patente IT-nº 102022000014 PCT/IB2023/056515). O processo permite uma desintoxicação parcial e um uso menos arriscado da ureia, além de permitir que a ureia seja administrada em pelo menos duas vezes a quantidade normal.

-**O BIOS 70** permite um bom suprimento de proteína em rações de ruminantes alimentados com forragem e maior utilização de "fontes de alimentos fibrosos" com baixo valor alimentar, como palha, forragens com NDF muito alto. (Detergente de fibra neutra).

Como eles são usados?

Eles devem ser usados nas dietas diretamente nos comedouros ou também disponíveis livremente nas pastagens ou incluídos na formulação da ração de ruminantes adultos com um rúmen em funcionamento, em uma proporção:

- **BIOS 40** 0,3÷ 0,5%
- **BIOS 70** 0,15÷ 25% por 100 kg de peso vivo.

Comece gradualmente com uma dosagem baixa de pelo menos ¼ da dose recomendada, aumentando gradualmente ao longo de 2 a 3 semanas até a dose máxima indicada.



PREMIX PP



PRÉ-MISTURA DE ALIMENTOS PARA RUMINANTES COM RÚMEN FUNCIONAL RESERVADA EXCLUSIVAMENTE PARA A PRODUÇÃO DE ALIMENTOS DERIVADOS DO PROCESSO PROTI-NAT® POR FABRICANTES DE ALIMENTOS APROVADOS.

Componentes por Kg: Substâncias pró-vitâmicas com efeito semelhante que são quimicamente bem definidas:

3a314 Niacina 10.000,00 mg.

Emulsificantes, Saneantes, Espessantes e Gelificantes:

E 330 Ácido cítrico 2.000,000 mg.

1m558i Montmorilonita/bentonita

Suporte à base de gorduras vegetais hidrogenadas, uma mistura micronizada a baixa temperatura de plantas aperitivos medicinais: Alga, Glycyrriza glabra, Pimpinella anisum, Tarassacum erythrospermum, Urtica, Cynara scolymus, Silybum marianum, Solidago virgaurea, Berberis vulgaris, Equisetum arvense, Crataegus monogyna, Raphanus sativus var. Niger, Fumaria officinalis, Peumus boldus, Ribes nigrum, Orthosiphon, Magnésio (cloreto, sulfato e hidróxido).

USO E DOSAGEM

Para ser usado EXCLUSIVAMENTE para a produção de produtos PROTI-NAT® – PROCESS (Linha BIOS) a uma taxa de 5 a 10% com base na disponibilidade de matérias-primas e nas indicações do Serviço Técnico Nutrivit - TE.CO.S. s.r.l.



Fabricado na França por COFATHIM
Rue d'Epinal - 70210 Vauvillers
com autorização n° α-FR70526001

Peso líquido na origem em embalagens
de

Kg. 25,0

Lote n°.

PERÍODO DE RETENÇÃO

Produzido 24 (vinte e quatro) meses a partir da data de durabilidade mínima
Consumir de preferência antes!

ALIMENTO COMPLEMENTAR PARA RUMINANTES COM RÚMEN FUNCIONAL**COMPOSIÇÃO**

Casca de soja, 20% de UREIA tratada com o processo PROTINAT® PROCESS (Patente – IT n°102022000014362 - PCT/IB2023/056515), carbonato de cálcio, sulfato de cálcio, gorduras vegetais hidrogenadas fracionadas, melaço de cana-de-açúcar, cevada, grãos de cevada (germinados e fermentados), cloreto de sódio.

Constituintes analíticos:

*Proteína bruta	70.00 %
Matérias gordas.....	3.96 %
Celulose bruta.....	17.10 %
Cinza bruta.....	6.67 %
Cálcio	2.99 %
Fósforo	0.10 %
Magnésio	0.16 %
Sódio	0.49 %
Cinzas insolúveis em HCL < 3,3%	

(*) - dos quais 56% fornecidos por nitrogênio não proteico NPN.

O azoto não proteico não deve exceder 40% da proteína total da ração.

Aditivos por quilograma, aglutinantes, antiespumantes e coagulantes:

1m558i Montmorilonita/Bentonita 88.000,00 mg.

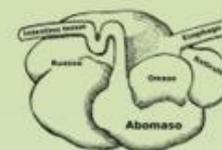
INSTRUÇÕES DE USO

Alimentos e/ou rações para ruminantes adultos com rúmen funcional (vacas leiteiras, ovinos, caprinos, búfalos, camelos, etc.) em substituição parcial e/ou total da farinha proteica à taxa de 0,15 ÷ 0,25 % do peso vivo.

AVISOS

Utilizar o medicamento veterinário apenas em ruminantes adultos com um rúmen funcional.

Comece com uma dose baixa de 1/4 e aumente gradualmente ao longo de 2 a 3 semanas até a dose sugerida.



Produto com autorização

N° 024 VR 00048

VALTRAMIGNA FOODS s.r.l.

Via Molini, 5 – Z.A.I. – 37030 Cazzano di Tramigna (VR)

Tel.: +390457820503 mail: info@valtramignafoods.it

Serviço Técnico: tecnico@valtramignafoods.it



Distribuído por

Nutrivit 

uma marca de propriedade da TE.CO.S. s.r.l. – P. IVA: 01850760230 – REA VR 200270

EXPIRAÇÃO

Produto: 36 (trinta e seis) meses
a partir da data de durabilidade mínima.
Consumir de preferência antes

ALIMENTO COMPLEMENTAR PARA RUMINANTES ADULTOS COM RÚMEN FUNCIONAL

Composição:

Casca de soja, linhaça inteira, 10% UREIA tratada com o PROCESSO PRROTINAT® (Patente IT - n° 102022000014 - PCT/IB2023/056515)), carbonato de cálcio, sulfato de cálcio, melação de cana-de-açúcar, cevada (germinada e fermentada), cloreto de sódio.

Componentes analíticos:

Proteína bruta	40,00%
*Óleos e gorduras	4,81%,
Polpa bruta	24,50%,
Freixo	6,19%,
Cálcio	1,70 %,
Fósforo	0,17%,
Magnésio	0,14,
Sódio	0,24,
Cinza insolúvel em HCL	< 3,3 %,

*(dos quais 28% são contribuídos pelo NPN de nitrogênio não proteico)
O nitrogênio não proteico não deve exceder 40% do total
Ração de proteína.

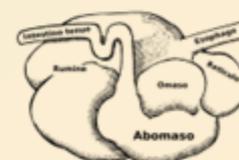
Aditivos por Kg:

1m558i Montmorillonita/Bentonita 22.000,00 mg.

Modo de Utilização: Fornecer todos os alimentos e/ou todas as proporções para ruminantes adultos com ruminantes de trabalho (café com leite, pecore e capre, búfala) em substituição à farinha de proteiche parcial e/ou total na proporção de 0,5 a 0,7% do peso corporal.

AVISOS: Utilizar o medicamento veterinário exclusivamente em ruminantes adultos com rúmen funcional.

Comece gradualmente com uma dose baixa de 1/4 e aumente gradualmente ao longo de 2 a 3 semanas até a dose recomendada.



Autorização do fabricante
N° IT α000060VR
VALTRAMIGNA FOODS srl

Via Molini, 5 – Z.A.I. – 37030 Cazzano di Tramigna (VR)
Italy

Tel.: +390457820503 Mail: info@valtramignafoods.it

Peso neto original
em um big-bage 500 – 1000 kg

N° de lote

DATA DE VALIDADE:
Produto 36 (trinta e seis) meses a partir da
data de armazenamento mínimo.
Consumir antes



Dr. Marco Bellini
Alimentarista que acompanhou o
teste nas vacas experimentais

Reprodução

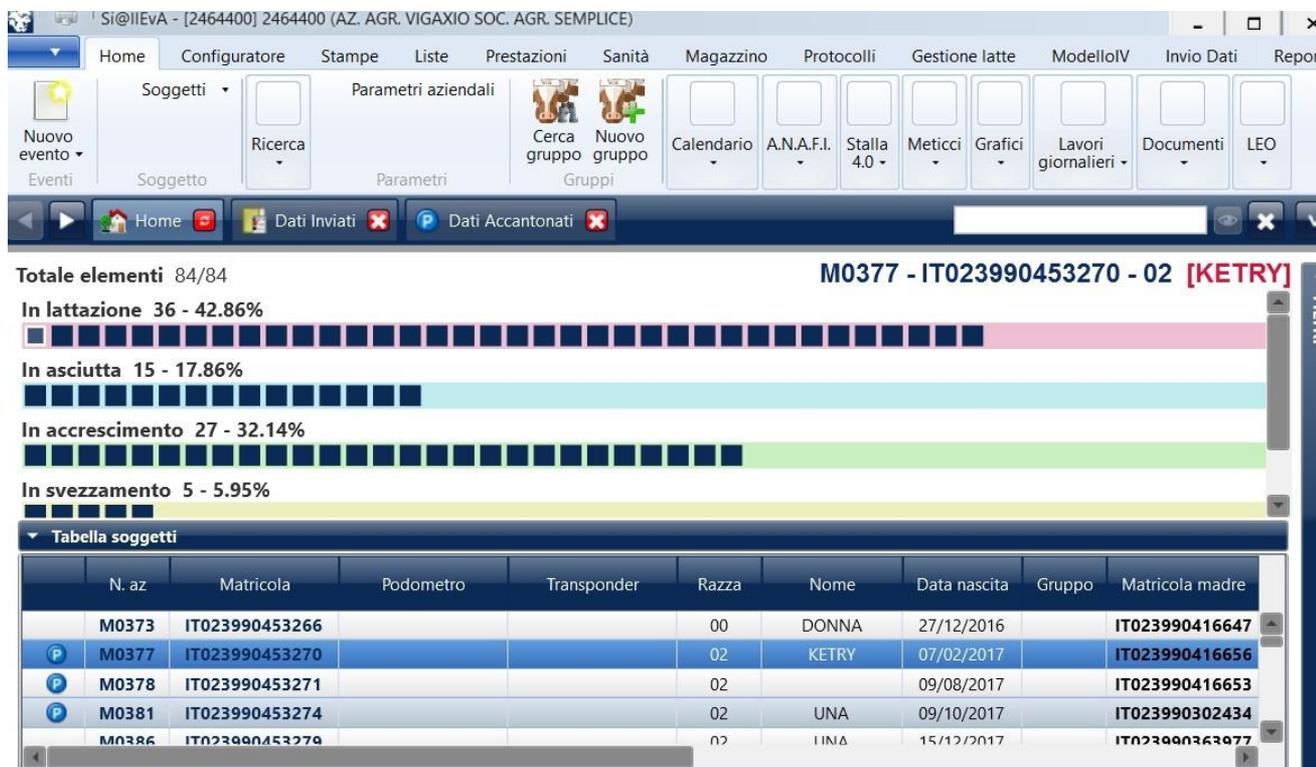


A fazenda

- S.A.U. Hectares 33
- Rotação de culturas :
 - Primeira semeadura**
 - silagem Ha 9
 - alfafa Ha 10
 - purê de milho integral Ha 3
 - mistura de grama Ha 11
 - Segunda semeadura**
 - Sorgo forrageiro após a silagem.
 - Purê de painço e farinha integral após a mistura gramíneas.



Os índices de gerenciamento da empresa foram derivados do processamento de dados coletados por meio de verificações funcionais e processados com o software Si@lleva da AIA

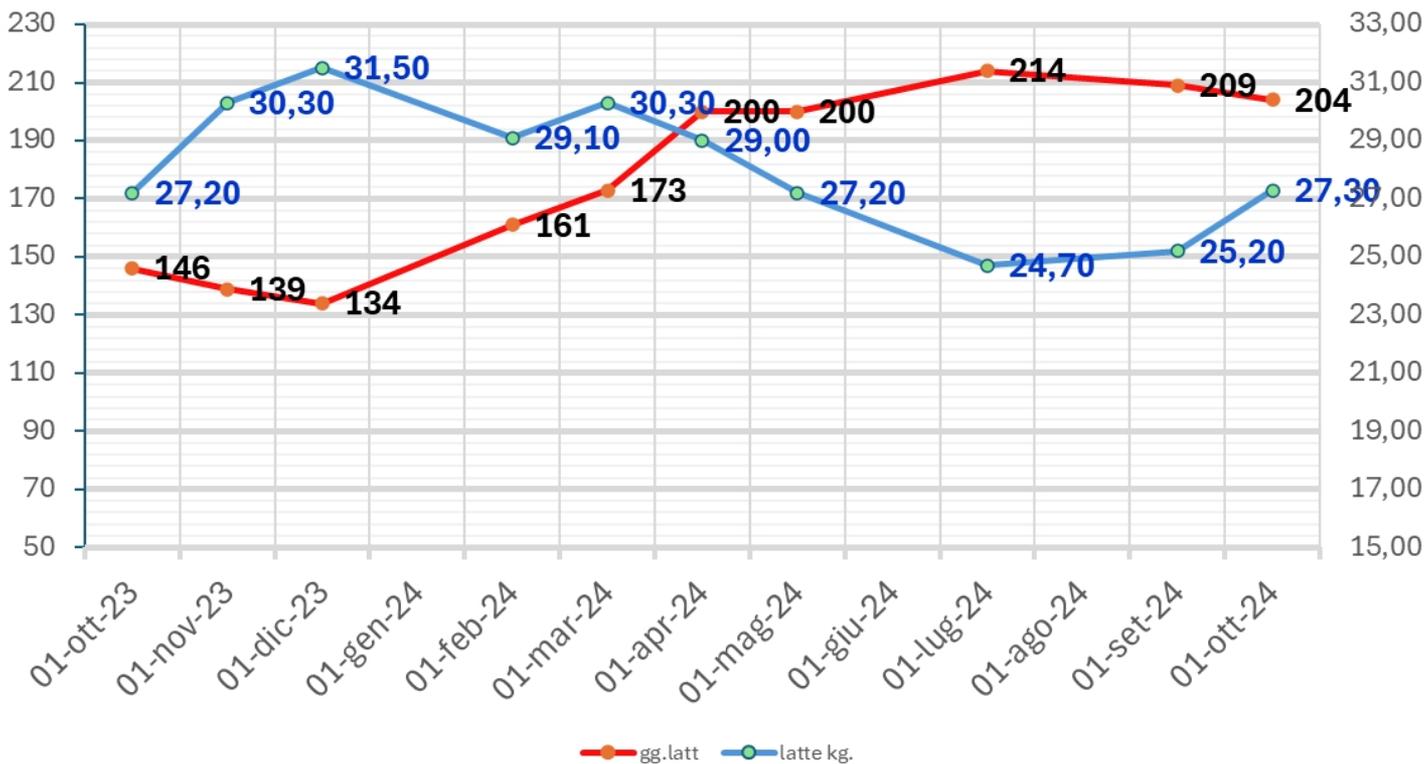


O rebanho

Cabeças presentes	83
Na lactação	36
Seco	15
Desforra	32

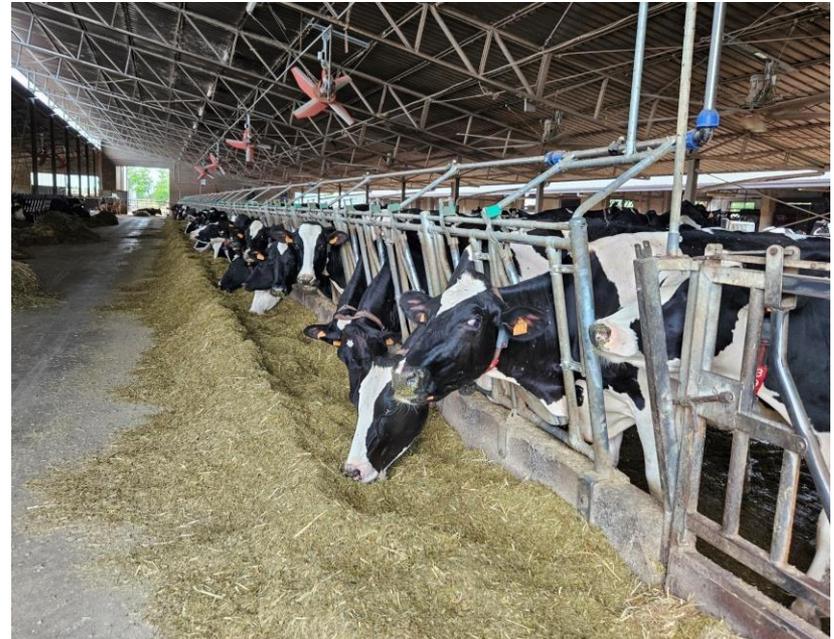


KG. DE DIAS DE LEITE E LACTAÇÃO NO CONTROLE FUNCIONAL



Comparação de rações

alimento	razione partenza	razione sperimentale
	kg	kg
miscuglio graminacee insilato	9,50	7,00
trinciato di mais	8,00	8,00
mais farina	5,30	8,00
fieno silo di medica 3,5	3,50	5,50
farina di soia proteica	2,00	-
fieno di medica	1,80	1,80
crusca	0,80	0,80
mais pastone integrale	5,00	-
trebbie insilate	13,00	13,00
miscela zuccheri	0,25	0,25
integratore minerale	0,40	0,40
bios 40	-	2,50
SS	24,00	25,00
PG	16,55	16,80
ADF	22,72	23,40
NDF	35,50	33,50
NFC	37,00	38,10
AMIDO	26,00	27,00
EE	4,12	4,30
CA	1,12	1,12
P	0,38	0,38
NA	0,22	0,22
K	1,40	1,40

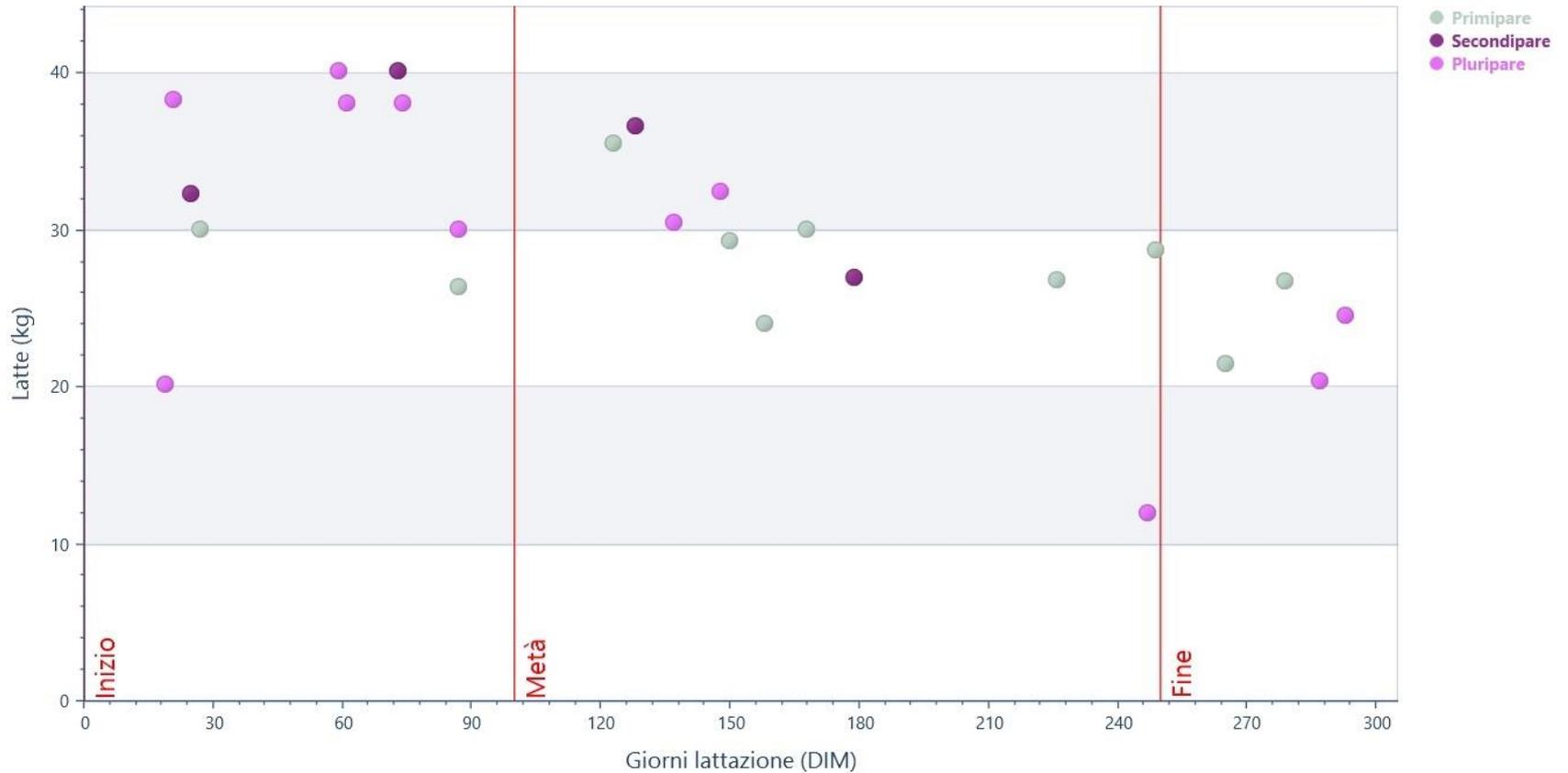


Dados estáveis durante a ração experimental

parâmetros	média anual	fase experimental
Duração média da lactação gg	176	172
Produção média de animais controlados Kg	28,3	28,60
Média de EVM Kg	9504	10.404
Média de dias até o pico de lactação	82	81
Gordura % p/p	4,83	4,70
Proteína % p/p	3,46	3,46
Células somáticas	409	248
Ureia	23	24
Cabeças grávidas %	50	56
Tempo médio de secagem gg	60	60

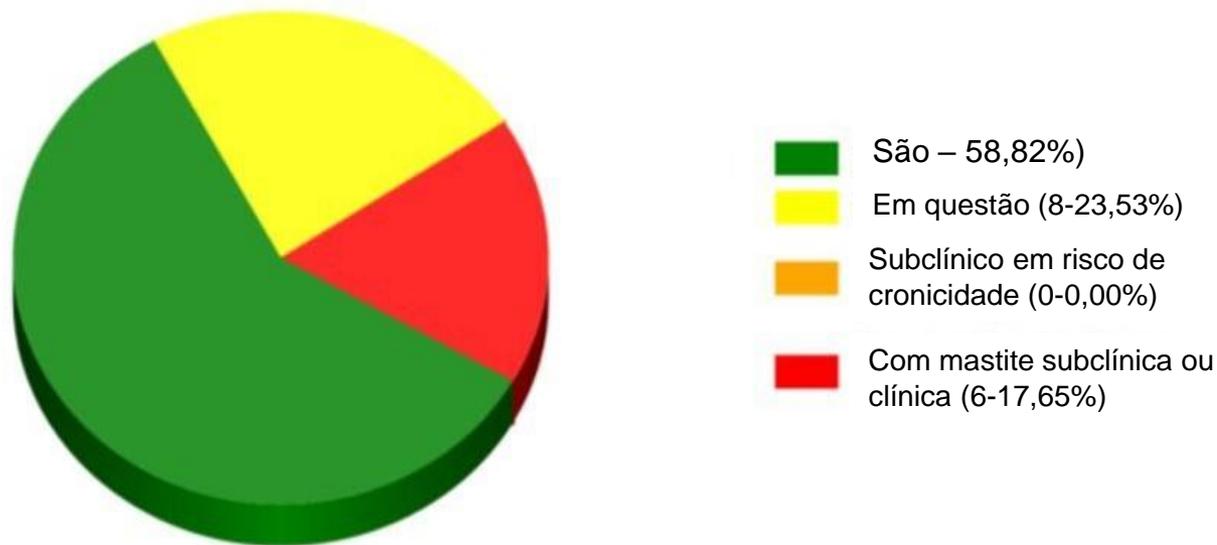


CURVAS DE LACTAÇÃO



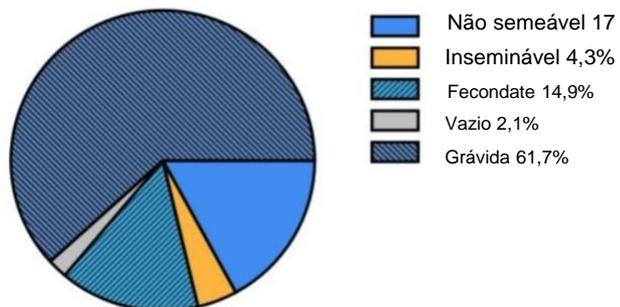
Distribuição percentual de células somáticas diferenciais

Avaliação de risco de mastite Cabeças com células diferenciais: 34

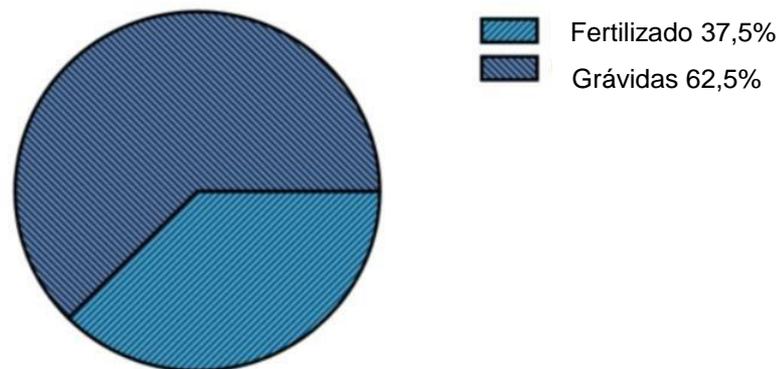


Resumo do gerenciamento reprodutivo

Vacas



Novilhas



Resumo do índice de fertilidade

ANALISI FERILITA'							
data finestra ciclo estrale	INSEMINABILI	INSEMINATE	HDR %	GRAVIDANZE DISPONIBILI	GRAVIDANZE ACCERTATE	CR %	PR %
18/09/2023	11	7	64	11	1	14	9
09/10/2023	10	7	70	9	5	71	56
30/10/2023	10	7	70	9	1	14	11
20/11/2023	10	6	60	10	1	17	10
11/12/2023	13	9	69	11	3	33	27
01/01/2023	16	12	75	14	8	67	57
22/01/2023	15	10	67	13	5	50	39
12/02/2023	14	8	57	12	6	75	50
04/03/2023	10	7	70	10	2	29	20
25/03/2023	10	6	60	10	4	67	40
15/04/2023	7	5	71	7	2	40	29
06/05/2023	7	4	57	7	3	75	43
27/05/2023	5	5	100	5	1	20	20
17/06/2023	7	5	71	7	3	60	43
08/07/2023	6	6	100	6	0	0	0
29/07/2023	8	5	63	8	0	0	0
18/08/2023	9	3	33	9	0	0	0
09/09/2023	9	0	0	9	0	0	0
TOTALI	177	112	64,28	167	45	45,14	32,429
tempo volontario attesa 70 giorni							



Proteção do processo por patente internacional

(PROTINAT® PROCESS (PT . n°102022000014362 - PCT/IB2023/056515))


Ministero delle Sviluppo Economico

Ricevuta di presentazione
per
Brevetto per invenzione industriale



Domanda numero: 102022000014632
Data di presentazione: 12/07/2022

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property
Organization
International Bureau



(10) International Publication Number

WO 2024/013595 A1

(43) International Publication Date
18 January 2024 (18.01.2024)

WIPO | PCT

(51) International Patent Classification:

A23K 50/15 (2016.01)

A23K 40/25 (2016.01)

A23K 10/30 (2016.01)

(72) Inventor: **GABALDO, Giulio**; c/o TE.CO.S. S.R.L., Via
Della Speranza, 38, 37069 VILLAFRANCA DI VERONA
(Verona) (IT).

Giulio Gabaldo

giulio@gabaldo.com

tecnico@nutrivit.eu

Obrigado por
sua atenção



ARTIGOS CONSULTADOS

- Abdoun K., Stumpff F., Martens H. Ammonia and urea transport across the rumen epithelium: a review. *Anim Health Res Rev.* 2006;7 (Pubmed)
- Alemneh T. Urea metabolism and recycling in ruminants (Metabolismo e reciclagem da ureia em ruminantes). *Biomed J Sci Tech Res.*
- Anon. Third External Review Draft of Air Quality Criteria for Particulate Matter (abril de 2002). Volume I, II. EPA. Agência de Proteção Ambiental do Departamento dos Estados Unidos. www.epa
- Arriaga H., Pinto M., Calsamiglia S., Merino P. Nutritional and management strategies on nitrogen and phosphorus use efficiency of lactating dairy cattle on commercial farms: an environmental perspective. *J Dairy Sci* - 2009;92 (PubMed)
- Bach A., Calsamiglia, S. e Stern, M.D. 2005. Nitrogen Metabolism in the Rumen (Metabolismo do nitrogênio no rúmen) *J. Dairy Sci.*, 88: 9 - 21
- Baker, L.D., J.D. Ferguson e C.F. Ramberg. Kinetic analysis for urea transport from plasma to milk in dairy cows (Análise cinética do transporte de ureia do plasma para o leite em vacas leiteiras). *J. Dairy Sci.* 75:(Suplemento 1):181, 1992.
- Baker, J.L., 2001. Limitations of improved nitrogen management to reduced nitrate leaching and increased use efficiency (Limitações do gerenciamento aprimorado do nitrogênio para reduzir a lixiviação de nitrato e aumentar a eficiência do uso). *Optimising Nitrogen Management in Food and*
- Batista E.D., Detmann E., Titgemeyer E.C., Filho S.C.V., Valadares R.F.D., Prates L.L. Efeitos da variação da suplementação de proteína não degradável na ruminação em digestão da forragem, metabolismo do nitrogênio e cinética da ureia em bovinos nelore alimentados com forragem tropical de baixa qualidade. *J Anim Sci.* 2016; (PbMed)
- Beckers G., Bendt A.K., Krämer R., Burkovski A. Identificação molecular do sistema de captação de ureia e análise transcricional de genes codificadores de ureia e transportadores de ureia em *Corynebacterium glutamicum*. *J Bacteriol.* 2004;(PubMed)
- Berends H., van den Borne J.J.C., Røjen B.A., van Baal J., Gerrits W.J.J. A reciclagem de ureia contribui para a retenção de nitrogênio em bezerros alimentados com substituto do leite e ração sólida de baixa proteína. *J Nutr.* 2014;. (PubMed)]
- Bode G., Malfertheiner P., Lehnhardt G., Nilius M., Ditschuneit H. Ultrastructural localisation urease of *Helicobacter pylori*. *Med Microbiol Immunol.* 1993.:(PbMed)
- Energy Production and Environmental Protection: Proceedings of the 2 nd International Nitrogen Conference on Science and Policy. *The Scientific World* 1(S2), 1016.
- Callahan B.P., Yuan Y., Wolfenden R. The burden borne by urease scheme 1. Alternating mechanisms of urea decomposition in water. *J Am Chem Soc.* 2005;(PubMed)]
- Chalupa W., Evans J.L., Stillions M.C. Metabolic aspects of urea utilisation by ruminant animals (Aspectos metabólicos da utilização da ureia por animais ruminantes). *J Nutr.* 1964;(Pub Med)
- Cowling, E., J. Galloway, C. Furiness, M. Barber, T. Bresser, K. Cassman, J.W. Erisman, R.Haeuber, B. Howarth, J. Melillo, W. Moomaw, A. Mosier, K. Sanders, S. Seitzinger, S.Smeulders, R. Socolow, D. Walters, F. West e Z. Zhu. 2001. Optimizing nitrogen management in food and energy production and environmental protection: Summary Statement from the Second International Nitrogen Conference (Otimização do gerenciamento de nitrogênio na produção de alimentos e energia e na proteção ambiental: Declaração resumida da Segunda Conferência Internacional sobre Nitrogênio). *TheScientificWorld* 1(S2): 19. DePeters, E.J. e J.D. Ferguson. 1992. Nonprotein nitrogen and protein distribution in the milk of cows (Distribuição de nitrogênio não proteico e proteína no leite de vacas). *J. Dairy Sci.* 75:31923209.
- Dou, Z., D.T. Galligan, C.F. Ramberg, Jr., C. Meadows e J.D. Ferguson. 2001. A survey of dairy farming in Pennsylvania: Nutrient management practices and implicações. *J. Dairy Sci.* 84:966973.
- Ferguson, J.D., Z. Dou e C.F. Ramberg, Jr. 2001. An assessment of ammonia emissions from dairy facilities in Pennsylvania (Uma avaliação das emissões de amônia de instalações de laticínios na Pensilvânia). *TheScientificWorld* 1(S2): 348355. Erickson, G.E. e T.J. Klopfenstein. 2001. Nutritional methods to decrease N losses from open dirt feedlots in Nebraska (Métodos nutricionais para diminuir as perdas de N de confinamentos abertos em Nebraska). *TheScientificWorld* 1(S2): 836843.
- Ganong, W.F. Review of Medical Physiology (Revisão de Fisiologia Médica). Décima nona edição. Co 1999. Appleton and Lange a Simon & Schuster Company. Stamford, Ct. 069120041.
- Hackmann T.J., Firkins J.L. Maximizando a eficiência da produção de proteína microbiana no rúmen. *Front Microbiol.* 2015;6(MAY):1-16. [PMC free articlePub Med]].
- Klein J.D., Blount M.A., Sands J.M. Urea transport in the kidney (Transporte de ureia no rim). *Comp Physiol.* 2011(PubMed)
- Hof, G., M.D. Vervoorn, P.L. Lenaers e S. Tamminga. 1997. Milk urea nitrogen as a tool to monitor the protein nutrition of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80:33333340.
- Huhtanen, P. 1998. Supply of nutrients and productive responses in dairy cows given diets based on restrictively fermented silage. *Agric. Food Sci. Finl.* 7:219-250
- Jarvis, S.C., D.J. Hatch e D.H. Roberts. 1989a. The effects of grassland management on nitrogen losses from grazed swards through ammonia volatilization; the relação com o retorno de N excretado pelo gado. *J. Agric. Sci. Camb.* 112:205216.
- Jarvis, S.C., D.J. Hatch e D.R. Lockyer. 1989b. Ammonia fluxes from grazed grassland: annual losses from cattle production systems and their relation to nitrogen inputs. *J. Agric. Sci. Camb.* 113:99108.

- Jonker, J.S., R.A. Kohn e R.A. Erdman. 1998. Using milk nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81:26812692. Muck, R.E. e B.K. Richards. 1983. Losses of manurial N in freestall barns. *Agric. Wastes* 7:6579.
- Muck, R.E. 1982. Atividade da urease nas fezes de bovinos. *J. Dairy Sci.* 65:21572163.
- Muck, R.E. e F.G. Herndon. 1985. Hydrated lime to reduce manorial nitrogen losses in dairy barns (Cal hidratada para reduzir as perdas de nitrogênio em celeiros de gado leiteiro). *Transactions of ASAE* 28:201208.
- NRC. 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle (Requisitos de nutrientes para gado leiteiro)*. Sétima edição revisada. National Academy Press. Washington D.C. NRC. 1996. *Nutrient Requirements of Beef Cattle (Exigências de nutrientes para gado de corte)*. Sétima Edição Revisada. National Academy Press. Washington, DC.
- Roseler, D.K., J.D. Ferguson, C.J. Sniffen e J. Herrema. 1993. Dietary protein degradability effects on plasma and milk urea nitrogen and milk nonprotein nitrogen in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 76:525534.
- Scholefield, D., D.R. Lockyer, D.C. Whitehead e K.C. Tyson. 1991. A model to predict transformations and losses of nitrogen in UK pastures grazed by beef gado. *Plant and Soil* 132:165171.
- Smits, M.C.J., H. Valk, A. Elzing e A. Keen. 1995. Effect of protein nutrition on ammonia emission from a cubicle house for dairy cattle (Efeito da nutrição protéica na emissão de amônia de um cubículo para gado leiteiro). *Live. Prod. Sci.* 44:147156.
- Voorburg, J.H. e W. Kroodsman. 1992. Volatile emissions of housing systems for cattle (voláteis de sistemas de alojamento para gado). 31:5770.
- Wattiaux, M.A - *Metabolismo de proteínas em vacas leiteiras* - Babcock Institute for International Dairy Research and Development - University of Wisconsin- Madison -2014
- Wilkerson, V.A., D.R. Mertens e D.P. Casper. 1997. Prediction of excretion of manure and nitrogen by Holstein dairy cattle (Previsão da excreção de esterco e nitrogênio por gado leiteiro Holstein). *J. Dairy Sci.* 80:31933204.
- Van Horn HH. 1991; *Managing Dairy Manure Resources to avoid environmental pollution*. *J Dairy Sci* 77:2008-1994.
- Van Horn HH. Equilíbrio de nutrientes, uso de esterco reduz a poluição. *Feedstuffs*. The Miller Publishing Co. 1992; 64(Oct. 26, 1992). 11-23. Minnetonka, MN.
- Vanfaassen HG, Lebbink G. 1994; *Organic matter and nitrogen dynamics in conventional versus integrated arable farming*. *Agr Ecosyst Environ* 51:209-26.
- Vanhorn HH, Wilkie AC, Powers WJ, Nordstedt RA. 1994; *Components of Dairy Manure Management Systems (Componentes dos sistemas de gerenciamento de esterco de gado leiteiro)*. *J Dairy Sci* 77:2008-30.
- Webb J, Archer JR, Dewi IA, Axford RFE, Marai IFM, Omed H, editores. *Pollution in Livestock Production Systems*. Oxon, Reino Unido: CAB International, 1994; 11, *Pollution of Soils and Watercourses by Wastes from Livestock Production Systems (Poluição de solos e cursos d'água por resíduos de sistemas de produção de gado)*. p. 189-204.
- YLiu S., Zhang Z., Hailemariam S., Zheng N., Wang M., Zhao S. A biochanina a inibe as bactérias ruminais metabolizadoras de nitrogênio e alivia a decomposição de aminoácidos e ureia in vitro. *Animals*. 2020;(PbMed)
- Zoung CE, Crowder BM, Shortle JS, Alwang JR. 1985; *Nutrient Management on Dairy Farms in Southeastern Pennsylvania (Gerenciamento de nutrientes em fazendas de gado leiteiro no sudeste da Pensilvânia)*. *J Soil Water Conserv* 40:443-445