

MICRO Y NANOENCAPSULACIÓN: UNA PERSPECTIVA BIOTECNOLÓGICA EN LA PRODUCCIÓN ANIMAL

MICRO AND NANO ENCAPSULATION: A BIOTECHNOLOGICAL PERSPECTIVE IN ANIMAL PRODUCTION

Valdiviezo-Morales, L.¹; Ortega-Cerrilla, M.E.^{2*}; Vaquera-Huerta, H.³; Kawas-Garza, J.R.⁴; Zetina-Córdoba, P.⁵; Miranda-Jiménez, L.⁶

¹Colegio de Postgraduados. Km 36.5 Carretera México-Texcoco, Montecillo Texcoco Edo de México C.P. 56230. lissvzo@hotmail.com. ²Colegio de Postgraduados. Km 36.5 Carretera México-Texcoco, Montecillo Texcoco Edo de México C.P. 56230. ³Colegio de Postgraduados. Km 36.5 Carretera México-Texcoco, Montecillo Texcoco Edo de México C.P. 56230. hvaquera@colpos.mx. ⁴Investigador. Universidad de Nuevo León, Francisco Villa S/N col. Ex Hacienda el Canadá, Escobedo, Nuevo León, México. jorge.kawasgr@uanl.edu.mx. ⁵Universidad Politécnica de Huatusco, Av. 1, Oriente 728, Huatusco, Veracruz, México. zecp_mc@hotmail.com. ⁶Colegio de Postgraduados. Km 36.5 Carretera México-Texcoco, Montecillo Texcoco Edo de México C.P. 56230. lmirandaj@colpos.mx

*Autor de correspondencia: meoc@colpos.mx

RESUMEN

La micro y nanoencapsulación se define como el envasado de un activo mediante un agente encapsulante (polímero) adquiriendo propiedades y características diferentes de su escala mayor para su liberación posterior, bajo condiciones controladas y determinadas, que promueven aumento en la vida útil del producto y facilita su manipulación al convertir un material líquido a formas sólidas. Las micropartículas son partículas esféricas con tamaños desde 1 a 250 μm . Las nanopartículas son sistemas poliméricos submicrónicos ($<1 \mu\text{m}$). En esta revisión se detallan algunos dispositivos, sustancias y sistemas utilizados en la producción animal y medicina veterinaria, así como sus alcances y limitaciones en diferentes campos de investigación.

Palabras clave: microencapsulación, micropartículas, nanopartículas, producción animal.

ABSTRACT

The micro and nano encapsulation is defined as the packaging of an active through an encapsulating agent (polymer) acquiring properties and characteristics different from their higher scale for their later liberation, under controlled and determined conditions, which promote an increase in the useful life of the product and ease their manipulation when converting a liquid material to solid forms. The microparticles are spherical particles with sizes from 1 to 250 μm . The nanoparticles are polymere submicronic systems ($<1 \mu\text{m}$). In this revision some devices, substances and systems used in animal production and veterinary medicine are detailed, as well as their reach and limitations in different fields of study.

Keywords: microencapsulation, microparticles, nanoparticles, animal production.

INTRODUCCIÓN

Con el fin de incrementar la estabilidad, modificar las características físicas para facilitar la manipulación o bien, controlar la liberación, en el lugar y momento deseado de ingredientes funcionales en alimentos que podrían mejorar la salud de las personas o animales, o de igual forma mantener elementos esenciales dentro de los límites bastantes estrechos para salvaguardar la integridad funcional y estructural de los tejidos, se ha recurrido a la utilización de técnicas que concedan estas características tanto químicas como físicas. La encapsulación a escala micro o nano puede ayudar a mejorar la liberación, absorción y permitir al compuesto realizar su acción en el lugar adecuado, aumentando así la calidad nutricional del alimento o eficiencia del bioactivo (Sanguansri y Augustin, 2006). Los procesos de encapsulación datan desde los años 1930 y 1940 por la National Cash Register, desarrollando para la aplicación comercial de un tinte a partir de gelatina, mediante proceso de coacervación; que consiste en el recubrimiento de algún bioactivo con película polimérica, la cual es obtenida por precipitación del material polimérico disuelto en el medio dispersante. El concepto de nano y microencapsulación se deriva de su tamaño. La microencapsulación consiste en rodear o recubrir una sustancia o compuesto sólido, líquido o gaseoso con una envoltura suficientemente resistente, estable e inmiscible, aunque adherente a la sustancia. Por otro lado, la nanotecnología es un campo de las ciencias aplicadas dedicado al control y manipulación de la materia (nanomateriales) a escalas menores a un micrómetro, a nivel átomos o moléculas (la mil millonésima parte del metro), caracterizándose como un área multidisciplinaria (Waldner, 2010). Dependiendo de la estructura interna interna del sistema formulado, se clasifican en micropartículas, microcápsulas o microesferas, o bien, nanoesferas y nanocápsulas (Lopretti *et al.*, 2007). El objetivo de estas técnicas es proteger sustancias sensibles a factores externos, enmascarar las propiedades organolépticas, controlar la liberación de la sustancia, además de favorecer la manipulación segura de sustancias tóxicas y dirigir la liberación de la droga al órgano blanco (Jyothi *et al.*, 2010). Existe gran variedad de materiales utilizados como agentes encapsulantes, tales como etilcelulosa, propilmetilcelulosa-hidroxil, carboximetilcelulosa sódica, alginato de sodio, gelatina, poliésteres, quitosanos, etcétera, y se han propuesto diversos métodos para la formulación de micropartículas y nanopartículas: físicos, químicos y físico-químicos (Lopretti *et al.*,

2007). Por ello, para la selección adecuada del proceso de encapsulación, depende de variables, tales como el tamaño deseado de partícula, la sustancia a encapsular, tipo de agente encapsulante, así como sus aplicaciones y costo (Munin y Edwards-Lévy 2011).

Procesos de microencapsulación

Existen procesos de encapsulación químicos (polimerización interfacial e *in situ* y policondensación), físico-químicos (Coacervación, encapsulación solución-gel y microencapsulación asistida con CO₂ supercrítico) y físico-mecánicos (Secado por atomización y congelación, lecho de fluidizado y evaporación de solventes) (Ghosh 2006). Existe una lista de procesos que han sido ampliamente utilizados en varios productos farmacéuticos. Entre estos procesos el lecho de fluidizado o suspensión de aire, coacervación y separación de fases, secado por atomización y congelación por pulverización, son los más utilizados. El proceso utilizado depende de la naturaleza física de la sustancia a encapsular. Los procesos de microencapsulación no se utilizan únicamente en medicamentos; también en compuestos utilizados en la agricultura y alimentación, así como en áreas industriales y cosméticas (Lopretti *et al.*, 2007).

Procesos de nanoencapsulación

Existen una variedad de métodos desarrollados para la formulación de nanopartículas, clasificándose principalmente por su función: procesos con reacción de polimerización (Emulsión orgánica o acuosa y polimerización interfacial) o si se obtienen directamente de una macromolécula o polímero preformado (Preformado sintético, polímeros naturales y desolación de macromoléculas); (Couvreur *et al.*, 1995). Actualmente los procesos de nanoencapsulación están a nivel de investigación debido a los elevados costos que representa el desarrollo a gran escala. Por lo tanto, los desafíos se centran en la disminución de costos para poder ser llevada de manera satisfactoria a nivel industrial, siendo así de gran importancia la selección adecuada de la técnica de nanoencapsulación y el material encapsulante, de acuerdo a los objetivos propuestos.

Aplicaciones en producción animal

La mayoría de los fármacos formulados con los procesos de micro y nanoencapsulación están dirigidos a la medicina humana, tomando como modelos experimentales a ciertos animales; esto ha abierto posibilidades en especies de interés zootécnico, fauna silvestre o mascotas. El comportamiento fisicoquímico inesperado

de la materia a escala micro y nanométrica es de gran utilidad para la medicina veterinaria, especialmente en fármacos y nanodispensadores (transportadores con destinos específicos programados) (Narducci, 2007). Algunos autores destacan posibles aplicaciones tanto en micro como en nanoencapsulación en el área animal: 1) administración de medicamentos, nutrimentos, probióticos, suplementos, 2) diagnóstico y tratamiento de enfermedades sin necesidad de cirugía, 3) registro de identidad que permita dar seguimiento a la historia de un animal, y 4) aplicación en la reproducción con inmunosensores hormonales.

En la actualidad, se han creado nanopartículas similares a la superficie de la membrana celular de los enterocitos de las aves, de manera que cuando algún agente patógeno se acerca a las partículas, éstas se cierran envolviendo al microorganismo, tras lo cual se aglomeran unas con otras y se eliminan a través de las deyecciones. Estas se administran por vía oral al animal y se consideran como un "alimento inteligente" capaz de proteger al ave de algunas enfermedades infecciosas (Coppo, 2009). También se abre la posibilidad de formular nanofármacos capaces de transportarse directamente desde la nariz al cerebro, a través del epitelio olfativo y los nervios trigéminos, con la ventaja de no ser afectadas por reflujo mu-

coso ni degradación en la cavidad nasal (Mistry *et al.*, 2009). Del mismo modo se podrán diagnosticar y erradicar tumores malignos que afectan a pequeños animales, al liberar quimioterápicos (sustancias con actividad antimicrobiana con toxicidad suficientemente baja administrados a un organismo por la vía adecuada) e isótopos radiactivos dentro de la microvasculatura del tumor. Para ello, se han empleado nanocristales cuánticos, nanotubos (Coppo, 2009), nanoadyuvantes mucoadhesivos y nanonave transmucosa.

Medicina Veterinaria

En medicina veterinaria se ha trabajado en sistemas matriciales de tamaño nano, con el fin de reemplazar la vacuna tradicional contra el virus de la fiebre aftosa. Se realizó un estudio con péptidos conjugados con nanopartículas inertes indicando respuestas significativas en el sistema inmune celular y humoral en ovejas (Foladori *et al.*, 2012). La nanotecnología constituye una herramienta alternativa para luchar contra el arbovirus de la "lengua azul" de los animales domésticos, dada la posibilidad de obtener una vacuna efectiva contra la enfermedad (Wilson y Mellor, 2009). El empleo de nanosensores biodegradables para el ganado, resulta una alternativa bastante prometedora; estos podrán ser implantados en los animales y permitirán su localización como el monitoreo del es-

tado de salud llevado a una base de datos, a un computadora central, generando datos de historial de la explotación. También se podrá llevar el control de la trazabilidad de productos animales, ya que permitirían la detección de cantidades muy pequeñas de contaminantes, virus o bacterias en la cadena alimentaria. La medicina veterinaria se ha estudiado a dos niveles principalmente: diagnóstico y tratamientos médicos; el diagnóstico basado en nanopartículas *in vivo* a través de imágenes de alta resolución, para detectar pequeños agregados de células atípicas dentro de un organismo, y revelar tejidos patológicos a través de la entrega pasiva de diversos ligandos como anticuerpos, péptidos, polisacáridos, entre otros, que se dirigen a un tipo de célula determinado (Underwood y van Eps, 2012), así como también, el tratamiento de ciertas patologías relacionadas con la biodisponibilidad y farmacocinética de terapias farmacológicas. Tanto micro y nanopartículas se han utilizado ampliamente en sistemas de administración de fármacos; estas partículas mejoran el índice terapéutico de los productos farmacéuticos. En el Cuadro 1 se presentan algunas de las aplicaciones de la nanoencapsulación.

Reproducción

En reproducción; las técnicas de microencapsulación han sido empleadas con fines de inmunización frente a enfermedades. Generando

Cuadro 1. Aplicaciones micro y nanoencapsulación en el área de la medicina veterinaria.

Autor (es)	Tipo de micropartícula	Material activo	Efecto
Poirier <i>et al.</i> (2002)	Liposomas	Doxorrubicina	Tratamiento de sarcoma en gatos
MacLeod y Prescott (1988)	Liposomas	Gentamicina	Tratamiento de mastitis en bovinos
Lynn <i>et al.</i> (2003)	Liposomas	Diclofenaco	Analgesia en equinos
Boscan <i>et al.</i> (2010)	Microemulsión	Propofol	Anestesia en equinos
Marques <i>et al.</i> (2008)	Liposomas	Trifluralina	Tratamiento de leishmaniosis en caninos

la posibilidad de nuevos adyuvantes (sustancia que potencializa la respuesta inmune) que pueden ser diseñados para una dosificación con reducida frecuencia a través de una vía de administración y provocar una respuesta inmune específica (Underwood y van Eps, 2012). También ha permitido la formulación de vacunas en base a proteínas recombinantes virales, evitando el uso de virus completos que tienen inconvenientes graves, como la infección accidental antes de la inactivación (Scheerlinck *et al.*, 2006). Gracias a estos procesos tecnológicos, se ha colaborado con el control de 40 patologías. Existen micropartículas, llamadas esferas o perlas, hechas a base de copolímeros de origen natural caracterizado por su biocompatibilidad, inocuidad y capacidad gelificante para la formación de matrices permeables selectivamente o bien inhibiendo el intercambio de moléculas como inmunoglobulinas G (Valenzuela *et al.*, 2014). En la conservación de semen; se han formulado micropartículas semi-permeables recubriendo células espermáticas (Rathore *et al.*, 2013). Existen varios trabajos realizados con éxito en porcinos, bovinos, ovinos, caninos y humanos.

Yaniz *et al.* (2002) evaluaron *in vitro* el desarrollo de embriones de bovinos encapsulados en alginato, midiendo la tasa de desarrollo de embriones (de cuatro días), observando que la tasa de desarrollo para los embriones encapsulados y no encapsulados hasta el estadio del blastocito en el día siete, fue similar entre los embriones encapsulados con 42.7% (47/110) y no encapsulados con 34% (36/106).

Nutrición animal

En nutrición, las técnicas de micro y nanoencapsulación también han sido utilizadas, con el objetivo de maximizar la producción así como de obtener información de los efectos de algunos compuestos nutricionales en específicos. Los ácidos orgánicos (ácido caproico, caprílico y ascórbico) han despertado gran interés debido a sus propiedades antimicrobianas, igual que sus efectos,

como promotores de crecimiento, por ello y por la necesidad de llegar al intestino y no ser absorbidos rápidamente en el píloro, los procesos de microencapsulación permiten controlar estas variantes con una lenta liberación, permitiendo llegar a la parte distal del intestino grueso en no rumiantes, con este objetivo Grilli *et al.* (2010), evaluaron los efectos de micropartículas (AVIPLUS[®], EP1391155B1, Vetagro SpA, Italia) de ácidos orgánicos (ácido cítrico, ascórbico y compuestos idénticos a los naturales) con lípidos vegetales hidrogenados, sobre la influencia que tiene en la microbiota intestinal mediante el control de los productos finales de la fermentación microbiana. Encontraron que en el grupo de lechones alimentados con AVIPLUS[®] hubo una tendencia a aumentar el consumo de alimento (+4.6%, P=0.08), así como una mayor ganancia de peso (+8%, P<0.01), reflejándose en el peso corporal final (+6.5%, P<0.01), y concluyeron que los animales alimentados con AVIPLUS[®] tenían un mejor rendimiento de crecimiento y un patrón intestinal metabólico diferente, debido a la acción de los ácidos orgánicos liberados (cítrico y ascórbico) y compuestos idénticos a los naturales (NIC) en el metabolismo de la microflora. En la industria avícola con el fin de lograr productos que contengan una concentración alta de ácidos grasos de cadena larga como el β -3 PUFA, ha empleado como alternativa los procesos de encapsulación. En la actualidad, la práctica de producir huevos enriquecidos de n-3 se consigue a través de la alimentación en gallinas ponedoras con una dieta rica en linaza, debido a que las gallinas tienen la capacidad de convertir ALA (ácido α -linolénico) en DHA (ácido docosahexaenoico). El uso de aceites marinos en gallinas ponedoras para sintetizar ácidos grasos de cadena larga en el huevo ha tenido resultados satisfactorios (Alvarez *et al.*, 2004; Cachaldora *et al.*, 2006; Gonzalez y Leeson, 2001). En un estudio realizado por Lawlor *et al.* (2010), evaluando el efecto de un aceite derivado de pescado microencapsulado como fuente de ácidos grasos n-3 con el objetivo de enriquecer el huevo de gallinas ponedoras (Single-Comb White Leghorn). Se midió en huevo el contenido

Cuadro 2. Aplicaciones de micro y nanoencapsulación en el área reproductiva.

Autor (es)	Tipo de micropartícula	Material activo	Uso
Ghidoni <i>et al.</i> (2008)	Micropartículas	Espermatozoides	Conservación de semen/porcino, bovino, ovino, canino y humano
Weber <i>et al.</i> (2006)	Micropartículas	Espermatozoides	Aumento de fertilidad/hembras bovinas
Shah <i>et al.</i> (2010)	Micropartículas de alginato y Poli-L-lisina	Espermatozoides	Mantención de viabilidad y motilidad/roedores
Röpke <i>et al.</i> (2011)	Liposomas	Espermatozoides	Estabilidad espermática/bovino
Kreeger <i>et al.</i> (2005)	Micropartículas	Ovocitos	Mantención de viabilidad y motilidad/roedores

de EPA (ácido eicosapentaenoico), y sus las características sensoriales en huevo utilizando dos métodos de cocción (huevos hervido y revuelto, descrito por (Parpinello *et al.*, 2006), se utilizaron 96 gallinas divididos en cuatro grupos y a cada grupo aleatoriamente se le asignó una dieta que contenía 0, 20, 40 y 60 g kg de aceite de pescado microencapsulado (MFO), estas fueron ofrecidas durante 21 días y el muestreo para los análisis sensoriales en huevo fueron los últimos tres días del tratamiento. Los resultados evidenciaron que no se encontraron diferencias significativas en la ingesta de alimento, producción de huevo y peso de huevo ($p>0.05$) debido al consumo bajo del alimento, aunque tuvo una importante disminución en el peso de la yema del huevo. Respecto al perfil de ácidos grasos (EPA y DHA) encontrados en la yema de huevo, mostró diferencias ($p<0.01$) debido al tratamiento con un aumento a medida que el nivel de MFO aumentaba. No se encontraron ($p>0.05$) diferencias entre tratamientos para la concentración de ALA. En el análisis sensorial se encontraron diferencias para "olor a azufre" ($p<0.001$), "sabor-sabor" ($p<0.05$), "mal sabor" ($p<0.001$) para el método de "huevo hervido", hubo un aumento relativo al aumento en la dieta a la inclusión de MFO. Caso contrario para las muestras de "huevo revuelto", no se encontraron diferencias entre tratamiento; "olor a azufre" ($p>0.05$), "sabor-sabor" ($p>0.05$) y "mal sabor" ($p>0.05$). Finalmente se concluyó, que la inclusión a la dieta de MFO tuvo un impacto positivo para el enriquecimiento de ácidos grasos EPA y DHA benéficos para la salud humana, con variación muy marcada en las características sensoriales dependiendo del método de cocción del consumidor, ya que

en el estudio los huevos con mayor inclusión de MFO tenían un "mal sabor" y "olor a azufre".

CONCLUSIONES

Se requiere formular y caracterizar principios bioactivos sin afectar sus propiedades fisicoquímicas y biológicas con procedimientos sencillos y adecuados, con el objetivo principal de impulsar el desarrollo acelerado en la producción animal. La micro y nanoencapsulación representan estrategias adecuadas para numerosas aplicaciones (la fortificación de alimentos, la mejora de propiedades organolépticas, incrementos de la vida útil del alimento, aplicación de fármacos con liberación controlada, trazabilidad en productos agropecuarios y desarrollo de nuevos productos), con un conocimiento claro y transparente respecto al impacto para la salud, seguridad y medio ambiente. Las ventajas que poseen estas técnicas de escala micro y nanométricas, abre una gama de aplicaciones en las distintas ramas de la producción animal; y actualmente estas biotecnologías aún están siendo desarrolladas a nivel laboratorio con grandes expectativas para ser llevadas a una producción industrial. Los desafíos se centran en la correcta selección de la técnica de encapsulación y el material encapsulante adecuado.

LITERATURA CITADA

- Alvarez C., Cachaldora P., Méndez J., García R.P., De Blas J.C. 2004. Effects of dietary conjugated linoleic acid and fish oil supplementation on performance and egg quality in laying hens. *Brit. Poultry Sci.* 45: 524-529.
- Boscan P., Rezende M.L., Grimsrud K., Stanley S.D., Mama K.R., Steffey E.P. 2010. Pharmacokinetic profile in relation to anaesthesia characteristics after a 5% micellar microemulsion of propofol in the horse. *Brit. J. Anaesth.* 104: 330-337.
- Cachaldora P., García R.P., Alvarez C., Blas J.C., Méndez J. 2006. Effect of type and level of fish oil supplementation on yolk fat composition and n-3 fatty acids retention efficiency in laying hens. *Brit. Poultry Sci.* 47: 43-49.
- Coppo J.A. 2009. Nanotecnología, medicina veterinaria y producción agropecuaria. *Rev. Vet.* 20.
- Couvreux P., Dubernet C., Puisieux F. 1995. Controlled drug delivery with nanoparticles: current possibilities and future trends. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 41: 2-13.
- Delgado G.C. 2006. Riesgos ambientales de la nanotecnología. *Nanopartículas y nanoestructuras. Asistencia y Administración Rebeca Bolaños* 34 p.
- Foladori G., Figueroa S., Záyago É., Invernizzi N. 2012. Características distintivas del desarrollo de las nanotecnologías en América Latina. *Sociologías.* 14: 330-363.
- Ghidoni I., Chlapanidas T., Bucco M., Crovato F., Marazzi M., Vigo D., Torre M.L., Faustini M. 2008. Alginate cell encapsulation: new advances in reproduction and cartilage regenerative medicine. *Cytotechnology.* 58: 49-56.
- Ghosh S.K. 2006. *Functional Coatings and Microencapsulation: A General Perspective* Functional Coatings. p 1-28. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Gonzalez E.R., Leeson S. 2001. Alternatives for enrichment of eggs and chicken meat with omega-3 fatty acids. *Can. J. Anim. Sci.* 81: 295-305.
- Grilli E., Messina M.R., Tedeschi M., Piva A. 2010. Feeding a microencapsulated blend of organic acids and nature identical compounds to weaning pigs improved growth performance and intestinal metabolism. *Livest. Sci.* 133: 173-175.
- Jyothi N., Venkata N., Prasanna P.M., Sakarkar S.N., Prabha K. S., Ramaiah P.S., Srawan G.Y. 2010. Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. *J. Microencapsul.* 27: 187-197.
- Kreeger P.K., Fernandes N.N., Woodruff T.K., Shea L.D. 2005. Regulation of mouse follicle development by follicle-stimulating hormone in a three-dimensional *in vitro* culture system is dependent on follicle stage and dose. *Biol. Reprod.* 73: 942-950.
- Lawlor J.B., Gaudette N., Dickson T., House J.D. 2010. Fatty acid profile and sensory characteristics of table eggs from laying hens fed diets containing microencapsulated fish oil. *Anim. Feed Sci. Tech.* 156: 97-103.

- Lopretti M., Barreiro M.F., Fernandes I.P., Damboriarena A., Ottati C., Oliveira A. 2007. Microencapsulación de compuestos de actividad biológica. INNOTECH Publicación Anual del Laboratorio Tecnológico del Uruguay, 19-23.
- Lynn R.C., Hepler D.I., Kelch W.J., Bertone J.J., Smith B.L., Vatisas N.J. 2003. Double-blinded placebo-controlled clinical field trial to evaluate the safety and efficacy of topically applied 1% diclofenac liposomal cream for the relief of lameness in horses. *Vet. Ther. Res. Appl. Vet. Med.* 5: 128-138.
- MacLeod D.L., Prescott J.F. 1988. The use of liposomally-entrapped gentamicin in the treatment of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis. *Can. J. Vet. Res.* 52: 445.
- Marques C., Carvalheiro M., Pereira M.A., Jorge J., Cruz M.E.M., Santos-Gomes G.M. 2008. Efficacy of the liposome trifluralin in the treatment of experimental *canine leishmaniosis*. *Vet. J.* 178: 133-137.
- Mistry A., Stolnik S., Illum L. 2009. Nanoparticles for direct nose-to-brain delivery of drugs. *Int. J. Pharm.* 379: 146-157.
- Munin A., Edwards L. F. 2011. Encapsulation of Natural Polyphenolic Compounds; a Review. *Pharm.* 3: 793-829.
- Narducci D. 2007. An Introduction to Nanotechnologies: What's in it for Us? *Vet Res Commun.* 31: 131-137.
- Parpinello G.P., Meluzzi A., Sirri F., Tallarico N., Versari A. 2006. Sensory evaluation of egg products and eggs laid from hens fed diets with different fatty acid composition and supplemented with antioxidants. *Food Res. Int.* 39: 47-52.
- Poirier V.J., Thamm D.H., Kurzman I.D., Jeglum K., Chun R., Obradovich J.E., O'Brien M., Fred R.M., Phillips B. S., Vail D.M. 2002. Liposome-Encapsulated Doxorubicin (Doxil) and Doxorubicin in the Treatment of Vaccine-Associated Sarcoma in Cats. *J. Vet. Int. Med.* 16: 726-731.
- Rathore S., Desai P.M., Liew C.V., Chan L.W., Heng P.W.S. 2013. Microencapsulation of microbial cells. *J. Food Eng.* 116: 369-381.
- Röpke T., Oldenhof H., Leiding C., Sieme H., Bollwein H., Wolkers W. F. 2011. Liposomes for cryopreservation of bovine sperm. *Theriogenol.* 76: 1465-1472.
- Sanguansri P., Augustin M. A. 2006. Nanoscale materials development—a food industry perspective *Trends in Food Science and Technology* No. 17. p 547-556.
- Scheerlinck J.P.Y., Gloster S., Gamvrellis A., Mottram P.L., Plebanski M. 2006. Systemic immune responses in sheep, induced by a novel nano-bead adjuvant. *Vaccine.* 24: 1124-1131.
- Shah S., Nagano M., Yamashita Y., Hishinuma M. 2010. Microencapsulation of canine sperm and its preservation at 4 C. *Theriogenol.* 73: 560-567.
- Underwood C., van Eps A.W. 2012. Nanomedicine and veterinary science: The reality and the practicality. *Vet. J.* 193: 12-23.
- Valenzuela C., Hernández V., Rodríguez F., Carrillo R. 2014. Tecnología de encapsulación y su aplicación en ciencias veterinarias. *Avances en Ciencias Veterinarias.* 28: 58-75.
- Waldner J. B. 2010. *Nanocomputers and swarm intelligence.* John Wiley and Sons.
- Weber W., Rimann M., Schafroth T., Witschi U., Fussenegger M. 2006. Design of high-throughput-compatible protocols for microencapsulation, cryopreservation and release of bovine spermatozoa. *J. Biotechnol.* 123: 155-163.
- Wilson A.J., Mellor P.S. 2009. Bluetongue in Europe: past, present and future. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences.* 364: 2669-2681.
- Yaniz J.L., Santolaria P., Lopez G.F. 2002. In vitro development of bovine embryos encapsulated in sodium alginate. *J. Vet. Med. A, Physiology, pathology, clinical medicine.* 49: 393-395.

