

Microencapsulación de sustancias oleosas mediante secado por aspersión

Microencapsulation of oily substances by aspersion drying

Orestes Darío López Hernández

Ingeniero Químico. Máster en Ingeniería de los Procesos Biotecnológicos. Investigador Agregado. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM). La Habana, Cuba.

RESUMEN

Para administrar por vía oral compuestos oleosos como los extractos lipídicos de origen natural, los aceites esenciales volátiles y las vitaminas liposolubles, se hace necesario presentarlos en forma de cápsulas blandas. Una alternativa a esta forma de presentación es la microencapsulación, que ofrece una solución para modificar el estado físico y presentarlos en una forma sólida para su administración por vía oral. Esta alternativa permite enmascarar el olor y sabor desagradable de productos que van a ser administrados por vía oral, además de proteger de la oxidación a los ácidos grasos presentes. El secado por aspersión es uno de los métodos más utilizados a escala industrial para la obtención de microcápsulas. Debido a su creciente uso en la industria farmacéutica, en el presente trabajo se recopila el estado del arte en el uso de esta tecnología para la microencapsulación de sustancias oleosas.

Palabras clave: Microencapsulación, secado por aspersión, sustancias oleosas.

ABSTRACT

To administer oral oily compounds such as lipid extracts of natural origin, volatile essential oils and liposoluble vitamins, it is necessary that presentation be in soft capsulae. An alternative to this form of presentation is the microencapsulation being a solution to modify the physical state and to achieve a solid form for its oral administration. This alternative allows masking the smell and the unpleasant flavor of oral products and also to protect the oxidation of fatty acids present. The aspersion dry is one of the more used methods at industrial scale to microcapsulae achievement. Because of its increasing use in pharmaceutical industry in present paper is gathered the art of state in the use of this technology for oily substances microencapsulation.

Key words: Microencapsulation, aspersion dry, oily substances.

ANTECEDENTES

En los últimos años ha habido una creciente inclinación hacia el desarrollo de productos preformulados empleando el secado por aspersion, conocido también como secado por atomización, pulverización, spray, rocío o "spray drying". Este método se utiliza desde principios del siglo XX. Aunque existen patentes sobre equipos para el secado por aspersion de huevos y leche desde 1850, su aplicación en la industria de alimentos apareció en 1913 en un proceso desarrollado para la leche. El primer equipo fue desarrollado por un alemán en 1912, pero comercialmente se conoció gracias al danés *Nyro* en 1933. El cual a través de la difusión de los secadores por aspersion por todo el mundo ha permitido que se extiendan sus aplicaciones a la industria farmacéutica en un gran número de productos.¹

MÉTODOS

Para la realización del presente trabajo se han consultado artículos científicos y otros documentos especializados en esta temática, publicados en diferentes bases de datos de la Web of science y de diferentes editoriales como Elsevier Science, Springer Verlag y John Wiley y Taylor & Francis, en revistas como Journal of Microencapsulation, Journal of American Oil Chemical Society, Journal of Science Food and Agricultura, Food Hydrocolloids, Ciencia y Tecnología de Alimentos, European Journal of Lipid Science and Technology, European Food Research and Technology, Journal of Agricultura and Food Chemistry y Food Research Internacional, en un período comprendido entre 1990 y 2008.

CONCEPTOS Y DEFINICIONES

Microencapsulación

La microencapsulación es una técnica que se ha aplicado para preservar y/o proteger numerosos ingredientes. Puede considerarse una forma especial de empacar materiales sólidos, líquidos y gaseosos en miniatura. El material en particular puede ser cubierto de manera individual para protegerlo del ambiente, de la reacción con otros compuestos o para impedir que sufran reacciones de oxidación debido a la luz o al oxígeno. Permite proteger del ambiente a sustancias sólidas o líquidas, divididas en pequeñas partículas o gotas (fase interna), recubriéndolas con una película de carbohidratos u otro material polimérico (pared).²⁻⁴

El concepto de las microcápsulas surge de la idealización del modelo celular.⁴ Los procesos de microencapsulación fueron desarrollados entre los años 1930 y 1940 por la National Cash Register para la aplicación comercial de un tinte a partir de gelatina como agente encapsulante mediante un proceso de coacervación. Históricamente, la microencapsulación fue introducida de manera comercial en 1954 como medio de hacer copias múltiples sin el uso del papel carbón.^{2,4} En la industria alimenticia se ha utilizado por más de 60 años.⁵ Las primeras investigaciones en el área farmacéutica fueron realizadas en la Universidad de Wisconsin (Estados Unidos), y datan de los años 50.⁴

Secado por aspersión

El método se basa en atomizar la solución que va a ser secada en forma de gotas muy finas, en el seno de una corriente de gas caliente que generalmente es aire. Se forman partículas de geometría esférica, con aspecto de esferillas huecas con un diámetro que puede estar entre los 20 μm y hasta los 200 μm . Tienen aspecto de espuma desecada y presentan gran solubilidad.^{1,6-10}

El aire caliente introducido alcanza una temperatura que oscila entre 100 y 200 °C. A pesar de la temperatura relativamente alta del aire, las gotas del líquido atomizado se calientan solo hasta 40 °C debido a la corta duración del secado (fracciones de segundo), lo que evita la degradación del producto, ya que a pesar del aporte de aire caliente, este sustrae calor por la vaporización del disolvente.^{9,10} Este método se puede utilizar en operaciones de recubrimiento de sólidos y líquidos porque a medida que se evapora el disolvente, el material de recubrimiento envuelve las partículas, lo que puede ser útil para enmascarar olores y sabores, mejorar la estabilidad y modificar la entrega del fármaco como por ejemplo, los que requieren ser liberados en el colon y necesitan un recubrimiento entérico. Otra utilidad del secado por aspersión es la microencapsulación de gotas de líquidos oleosos, la que se logra emulsificándolas en agua con ayuda de goma arábica o almidón y luego someténdolas al proceso de secado por aspersión.¹¹

Microencapsulación mediante secado por aspersión

El principio del secado por aspersión es la producción de un polvo seco por medio de la atomización de una emulsión en una corriente de aire caliente en una cámara de secado. El agua se evapora instantáneamente, permitiendo que el material activo presente en la emulsión, quede atrapado dentro de una película de material encapsulante.²

Una de las grandes ventajas de este proceso, en comparación con otros métodos de microencapsulación, además de su simplicidad, es que es apropiado para materiales muy volátiles y sensibles al calor, ya que el tiempo de exposición a temperaturas elevadas es muy corto (5 a 30 s).^{2,3}

Los principales encapsulantes utilizados para este método son: carbohidratos (almidón y derivados, maltodextrinas, jarabes de maíz, sacarosa, dextrana, ciclodextrinas, carboximetilcelulosa, metilcelulosa, etilcelulosa, nitrocelulosa, acetilcelulosa); gomas (arábica, mezquite, guar, alginato de sodio, carragenina); lípidos (ceras, parafinas, grasas, ácido esteárico, tristearina, mono y diglicéridos) y proteínas (gelatina, proteína de soya, caseínatos, suero de leche, zeína, gluten, caseína). Estos encapsulantes deben tener la capacidad de proporcionar una emulsión estable durante el proceso de secado por aspersión y tener muy buenas propiedades de formación de película para proveer una capa que proteja al ingrediente activo de la oxidación.^{2,5,12}

Consideraciones tecnológicas a tener en cuenta en el proceso

Composición y parámetros de secado empleados

Cuando se usan polisacáridos como agentes encapsulantes, como en el secado por aspersión, también deben revisarse detalladamente sus propiedades funcionales. Por ejemplo, las maltodextrinas se usan en combinación con goma arábica para contribuir en la continuidad estructural durante la formación de la película encapsulante, al combinar 2 compuestos de muy diferente masa molecular

(aproximadamente 1,8 y 1 700 kDa respectivamente) mejorando con ello la eficiencia de encapsulación de aceites, aún de bajo peso molecular. Sin embargo, el grado de hidrólisis de las maltodextrinas también es un factor a considerar, ya que equivalentes de dextrosa muy bajos no tienen el efecto positivo mencionado. Recientemente se ha demostrado, que por la interacción existente entre la goma arábica y los lípidos se previene su oxidación. El mecanismo propuesto está relacionado con las propiedades de la goma arábica de adsorberse en la interfase aceite/agua formando una película viscoelástica, donde los lípidos contribuyen con la coherencia de la estructura a través de la formación de empalmes o uniones por medio de gotitas de aceite en los anclajes de las cadenas de la goma arábica. Se ha reconocido el efecto benéfico de protección de los ácidos grasos poliinsaturados contra la oxidación usando polisacáridos. (Pedroza R, Cruz L, Ricque D, Tapia M, Gaxiola M, Simoes N. Alimentos microencapsulados: particularidades de los procesos para la microencapsulación de alimentos para larvas de especies acuícolas. Avances en Nutrición Acuícola. VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 3 al 6 de septiembre de 2002. Cancún, Quintana Roo, México. p. 438-47.)

Se ha estudiado la influencia de la concentración de sólidos en la alimentación y la temperatura del aire de entrada en la microencapsulación de materiales volátiles (aromas) usando como modelo goma arábica, lo que mostró como resultado que la retención del material volátil se favorece con el empleo de la mayor concentración de sólidos y temperatura de entrada.¹³

Para evaluar la sustitución de la goma arábica por otros agentes encapsulantes, se prepararon emulsiones con concentraciones entre 14,3 y 44,7 %. Se secaron a temperaturas de entrada y salida de 180 y 100-120 °C respectivamente. Se concluyó que el uso de almidón de maíz como reemplazante total de la goma arábica produce un polvo con una eficiencia de encapsulación pobre (30 %). Sin embargo, cuando se combinan los materiales de la pared (50 % de glucosa y 50 % de goma arábica) se alcanza una eficiencia de encapsulación elevada (92 %). Además, se demostró que la goma arábica puede ser reemplazada parcialmente por maltodextrina o almidones (DE 5,5-38) para encapsular materiales lipídicos, y que la elevación de la concentración de sólidos en la emulsión incrementa significativamente la eficiencia de encapsulación.¹⁴

Otras condiciones de secado para emulsiones de maltodextrina y goma arábica han sido empleando temperaturas de entrada y salida de 180 y 95 °C respectivamente usando caseinato de sodio como encapsulante¹⁵ y también de 200 °C y 110 ± 10 °C respectivamente con maltodextrina y goma arábica.¹⁶

Composición y parámetros de microencapsulación para aceites

En la tabla¹⁷⁻³⁸ se describen los agentes encapsulantes empleados así como las temperaturas de secado para diferentes productos.

Indicadores para la evaluación de la calidad de las microcápsulas

Dentro de los indicadores para evaluar las microcápsulas se encuentran:

Eficiencia de encapsulación: Indica la cantidad de sustancia encapsulada, dando una medida de la eficiencia del procedimiento de microencapsulación utilizado.

La eficiencia de encapsulación, también llamada de microencapsulación (ME) puede ser calculada empleando la expresión siguiente:¹⁵

$$ME = [(Aceite\ total - aceite\ extraíble) / Aceite\ total] \cdot 100$$

En caso de referirla a un compuesto o grupo de ellos, como es el caso de los carotenoides, puede calcularse por la expresión: ¹⁸

$$ME = [(Carotenoides\ totales - Carotenoides\ superficiales) / Carotenoides\ totales] \cdot 100$$

Otros autores han utilizado el término aceite incorporado, calculándose por la relación de la diferencia entre el total teórico o real con el libre y el total teórico o real. (Hermida L, Rodríguez Z, Franzie S, López de Ogara MC, Paz Schmidt A, Lelli D. Lagomarsino, A. Encapsulación de aceite de pescado con alto contenido de omega-3. Industrialización de Alimentos. 4º Jornadas de Desarrollo e Innovación. Noviembre, 2002. p. 1-2.)

$$\% \text{ Incorporación} = (\% \text{ Total} - \% \text{ Libre}) / \% \text{ Total} \cdot 100$$

El aceite extraíble, libre o superficial, puede ser determinado gravimétricamente, empleando 5 g de microcápsulas y extrayendo con hexano durante 4 h. El solvente se evapora en un baño de agua a 30 °C y las microcápsulas se secan en un horno al vacío a 60 °C hasta peso constante. El aceite de la superficie se determina pesando el residuo.¹⁶

Distribución de tamaño de partículas: Muestra la composición porcentual correspondiente a los diferentes tamaños, lo que permite la caracterización de la muestra en cuanto a tamaño.

Morfología: Indica la forma geométrica de las partículas, lo cual es un aspecto de importancia que define aspectos tecnológicos en las etapas siguientes de elaboración de la forma terminada.

Aspecto de la superficie: Permite conocer la continuidad de la capa polimérica por la ausencia de poros, lo cual atenta contra la estabilidad de las microcápsulas.

Carga de principio activo: Indica el contenido de la sustancia activa encapsulada, lo cual sirve para formular el producto final con la dosis requerida. Se expresa como la cantidad de principio activo por cada 100 mg de masa de micropartículas según: Chiappetta. D. Conferencia. "Microencapsulación". Cátedra Farmacotecnia I. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. 2006.

Carga = Cantidad de principio activo / 100 mg micropartículas. También puede ser expresada en porcentaje.

Disolventes orgánicos residuales: Denota la presencia de solventes orgánicos en caso de ser empleados en la formación de las microcápsulas y deben encontrarse en concentraciones casi inapreciables si se detecta.

Perfil de liberación del principio activo: Indica el tiempo en que se va liberando el principio activo en el caso de un sistema de liberación controlada.

Ensayos de esterilidad y apirogenicidad: Se realizan solamente para medicamentos estériles como colirios y parenterales.

Factibilidad en la elaboración de formas sólidas: Se realiza como parte de la caracterización tecnológica del producto, si va a ser utilizado para formular una

forma sólida, valorando parámetros como la velocidad de flujo, la resistencia mecánica, densidad, etcétera.

Se puede concluir, que a pesar de la existencia de otros métodos de microencapsulación, el secado por aspersión ha sido utilizado, al igual que el sistema de agentes encapsulantes (maltodextrina y goma arábica) para microencapsular numerosos compuestos, fundamentalmente lipídicos, encontrándose entre ellos aceites fijos como el de hígado de bacalao, en el cual se empleó otro tipo de goma además de la arábica y gelatina como encapsulantes. Sin embargo, se refiere que la mezcla con goma arábica fue la que mejor retuvo el aceite.¹⁹ Además según las citas que se resumen en la [tabla](#), se aprecia que el sistema de polímeros maltodextrina-goma arábica ha sido utilizado ampliamente como encapsulante de sustancias de naturaleza lipídica como aceites fijos, aceites volátiles y vitaminas, lo que indica que este sistema debe ser el más adecuado para la encapsulación de aceites, por su garantía en la protección de estos. Este trabajo es el punto de partida para el desarrollo de ingredientes farmacéuticos activos microencapsulados que lleva a cabo el Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos.

Tabla. Encapsulantes y parámetros de secado para diferentes productos

Productos	Encapsulantes	Te/Ts (°C)	Observaciones	Ref.
ácido linoléico	Concentrado de proteínas de suero lácteo al 30 %	-	Eficiencia de encapsulación 89,60 % Ácido libre de 1,77 %	17
arotenoides	-	170 ± 5/ 80 ± 3	-	18
aceite de hígado de bacalao	Goma arábica, goma de mezquite y maltodextrina, solas y en mezclas	170 ± 5/ -	La goma arábica fue la que más retuvo el aceite	19
ácido linoléico en linoleato	Goma arábica	-	-	20
aceite de hígado de tiburón	Maltodextrina, goma arábica, gelatina	180/75	Eficiencia de encapsulación de 82 %	21
vitamina A	Maltodextrina, goma arábica	-	-	22
ácido linoléico	Goma arábica y maltodextrina	-	-	23
drogas poco solubles	Maltodextrina DE 12,6; 10-30 % Sodio caseinato 4 %	110/75-85	Máximo rendimiento 74 %	24
aceite de soya	Maltodextrina gelatina	150/90	30 % sólidos	25
aceite de coco	Aislado de proteínas de suero lácteo, maltodextrina DE 5	180/80	Eficiencia de encapsulación 45-66 %	26
goma de café	Goma cashew 30 %	180/90	-	27
aceite de pescado	Celulosa modificada, leche descremada, gelatina y almidón de maíz	-	-	28
aceite de palma	-	180/113	-	29
β-caroteno	Almidón de tapioca nativo,	170/95	-	30

	modificado y maltodextrina			
cido linoléico	Goma arábica y maltodextrina	200/100	-	31
ceite de escado	n-octenilsuccinato de almidón	170/70	45 % sólidos y 18 % aceite	32
ceite de escado	Pectina de remolacha	170/70	20 y 50 % aceite	33
ceite de escado	n-octenilsuccinato de almidón y sirope de glucosa	160/60 210/90	20 y 50 % aceite	34
ceite de escado	n-octenilsuccinato de almidón, goma arábica, pectina de remolacha, caseinato de sodio y/o sirope de glucosa	180/70	-	35
ceite de escado	n-octenilsuccinato de almidón, y sirope de glucosa o trehalosa	170/70	-	36
ceite de semillas de <i>ucurbita pepo</i> L	Goma arábica y maltodextrina	180/90	37 % sólidos y 33 % aceite	37, 38

Te/Ts: temperatura de entrada/temperatura de salida; Ref.: Referencia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Masters K. Spray Drying Handbook. 5th ed. New York: Longman Scientific and Technical; 1991.
2. Secado por aspersión y su uso en la encapsulación. [en línea] 2006 [acceso 29 de junio de 2006]; Disponible en: <http://www.quiminet.com.mx>
3. Yoshi, H. Furuta T. Soottitantawat A. Microencapsulation of food flavors by spray drying. Inno. Food Sci Emerg Technol. 2001;2:55-61.
4. Ré MI. Microencapsulação em busca do produtos inteligentes. Ciência Hoje. 2000;27(162):25-9.
5. Goud K, Jin Park H. Recent Developments in Microencapsulation of Food Ingredients. Dry Technol.. 2005;23:1361-94.
6. Perry RH. Green DW. Chemical Engineers Handbook. 7th ed. New York: Mc Graw-Hill Book Company; 1999.
7. Treybal. RE. Operaciones con transferencia de masa. La Habana: Edición Revolucionaria; 1985.
8. Brown GG. Operaciones básicas de la ingeniería química. La Habana: Edición Revolucionaria; 1966.
9. Därr A. Tecnología farmacéutica. Zaragoza: Editorial Acribia; 1981. p. 33, 150, 151.
10. Voigt R. Tratado de tecnología farmacéutica. Zaragoza: Editorial Acribia; 1982. p. 64-5.

11. Information Spray dryers. [en línea] 2006 [acceso 24 de abril 2006]; Disponible en: http://www.niro.dk/ndk_website/NIRO/cmsdoc.nsf/WebDoc/ndkk5hmc6zSpray-Dryers
12. Yáñez J, Salazar J, Montoya L, Chaires J, Jiménez M, Márquez E, et al. Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación. Avance y Perspectiva. 2002;21:313-9.
13. Rosenberg M, Kopelman T, Talmon Y. Factors Affecting Retention in Spray-Drying Microencapsulation of Volatile Materials. J Agric Food Chem. 1990;38:1288-94.
14. McNamee B, Dolores E, O'Sullivan M. Effect of partial replacement of gum arabic with carbohydrates on its microencapsulation properties. J Agric Food Chem. 2001;49:3385-8.
15. Hogan S, McNamee B, Dolores E, O'Sullivan M. Microencapsulating properties of sodium caseinate. J Agric Food Chem. 2001;49:1934-8.
16. Soottitantawat A, Yoshii H, Furuta T, Ohkawara M, Linko P. Microencapsulation by Spray Drying: Influence of emulsion size on the retention of volatile compounds. J Food Sci. 2003; 68(7):2256-62.
17. Jimenez M, García H, Beristain C. Spray-drying microencapsulation and oxidative stability of conjugated linoleic acid. Eur Food Res Technol. 2004;219(6):588-92.
18. Rodríguez M, Pedroza R, Prado L, Beristain C, Vernon E. Microencapsulation by spray drying of multiple emulsions containing carotenoids. J Food Sci. 2004;69(7):351-9.
19. Pedroza R, Macías S, Vernon E. Oil thermo-oxidative stability and surface oil determination of biopolymer microcapsules. Rev Mex Ing Quím. 2002;1:37-44.
20. Aili W, Yagang Z, Bin W. Conjugate linoleic acid or conjugate linoleate microcapsule. Ch Patent. CN1357407. 2002.
21. García E, Gutiérrez S, Nolasco H. Desarrollo de bebidas lácteas enriquecidas con ácidos grasos. Tecnología Láctea Latinoamericana. [en línea] 2007 [acceso marzo de 2007]; Disponible en: <http://www.publitec.com>
22. Yan-li X, Hui-ming Z, Zhi-rong Z. Effect of relative humidity on retention and stability of vitamin A microencapsulated by spray drying. J Food Biochem. 2007;31(1):68-80.
23. Watanabe Y, Fang X, Minemoto Y, Adachi S, Matsuno, R. Supresive effect of saturated acyl L-ascorbate on the oxidation of linoleic acid encapsulated with maltodextrin or gum Arabic by spray drying. J Agric Food Chem. 2002;50:3984-7.
24. Dollo G, Le Corre P, Guérin A, Chevann F, Burgot JL, Leverage R. Spray-dried redispersible oil-in-water emulsion to improve oral bioavailability of poorly soluble drugs. Eur J Pharm Sci. 2003;19:273_80.
25. Hoegger R. Büchi training papers spray drying. Büchi Labortechnik AG. 2002;13:16.

26. Bae E., Lee S. Microencapsulation of avocado oil by spray drying using whey protein and maltodextrin. *J Microencapsul.* 2008;25(1):1-12.
27. Rodríguez R., Grosso C. Cashew gum microencapsulation protects the aroma of coffee extracts. *J Microencapsul.* 2008;25(1):13-20.
28. Kolanowski W, Jaworska D, Weißbrodt J, Kunz B. Sensory Assessment of Microencapsulated Fish Oil Powder. *J Am Oil Chem Soc.* 2007;84:37-45.
29. Habi Mat DianL., Sudin N, Yusoff M. Characteristics of Microencapsulated Palm-Based Oil as Affected by Type of Wall Material. *J Sci Food Agric.* 1996;70:422-6.
30. Lokuwan J. Characteristics of microencapsulated b-carotene formed by spray drying with modified tapioca starch, native tapioca starch and maltodextrin. *Food Hydrocolloids.* 2007;21: 928-35.
31. Minemoto Y, Hakamata K, Adachi S, Matsuno R. Oxidation of linoleic acid encapsulated with gum arabic or maltodextrin by spray-drying. *J Microencapsul.* 2002;19(1):181-9.
32. Drusch S, Serfert Y, Schwarz K. Microencapsulation of fish oil with n-octenylsuccinate-derivatised starch: Flow properties and oxidative stability. *Eur J Lipid Sci Technol.* 2006;108:501-12.
33. Drusch S. Sugar beet pectin: A novel emulsifying wall component for microencapsulation of lipophilic food ingredients by spray-drying. *Food Hydrocolloids.* 2007;21:1223-8.
34. Drusch S, Schwarz K. Microencapsulation properties of two different types of n-octenylsuccinate-derivatised starch. *Eur Food Res Technol.* 2006;222:155-64.
35. Drusch S, Serfert Y, Scampicchio M, Schmidt-Hansberg B, Schwarz K. Impact of Physicochemical Characteristics on the Oxidative Stability of Fish Oil Microencapsulated by Spray-Drying. *J Agric Food Chem.* 2007;55:11044-51.
36. Drusch S, Serfert Y, Van Den Heuvel A, Schwarz K. Physicochemical characterization and oxidative stability of fish oil encapsulated in an amorphous matrix containing trehalose. *Food Res Int.* 2006;39:807-15.
37. López O, Menéndez R, Nuñez Y, Bellma A, Tillán J, León R. Solicitud de patente internacional publicada. WO 2009/071033 A1. 2009. a
38. López O, Márquez T, Mayo O, Toledo C, Sanchez E. Características del aceite de semillas de Cucurbita pepo L. Microencapsulado mediante secado por aspersión con maltodextrina y goma arábiga. *Lat Am J Pharm.* 2009;28(4):628-32 b.

Recibido: 8 de abril de 2010.

Aprobado: 17 de mayo de 2010.

Ing. *Orestes Darío López Hernández*. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM). Ave. 26 No. 1 605 entre Boyeros y Puentes Grandes. CP 10 600. Plaza de la Revolución, La Habana, Cuba. Correo electrónico: orestesh@infomed.sld.cu