Comportamiento térmico de peloides preparados con aguas mineromedicinales del Balneario de Lanjarón. Efecto del tiempo de maduración

Maria Virginia FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ⁽¹⁾, Encarnación GÁMIZ⁽¹⁾, Juan Manuel MARTÍN-GARCÍA⁽¹⁾, Rocío MÁRQUEZ⁽²⁾, Gabriel DELGADO⁽¹⁾, Rafael DELGADO⁽¹⁾

(1) Departamento de Edafología y Química Agrícola. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. 18071 Campus Universitario de Cartuja, Granada (España).
(2) Centro de Instrumentación Científica. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. 18071 Campus Universitario de Cartuja, Granada (España). rdelgado@ugr.es

Recibido: 11-01-11 Aceptado: 07-03-11

Resumen

Estudiamos las diferencias en el comportamiento térmico de peloides preparados con aguas mineromedicinales del Balneario de Lanjarón (Salud V –muestras S- y Capuchina –muestras C-; con contenidos iónicos muy diferentes) durante el proceso de maduración de uno, tres y seis meses. La fase sólida era una mezcla de caolín-bentonita en proporción 9:1(w:w).

El descenso de la temperatura del peloide siguió una curva logarítmica del tipo y = aLn(x) + b, en la que $y = \Delta T$ ($\Delta T^{\circ}C$, siendo $\Delta T = T_0 - T_n$; $T_0 = 65^{\circ}C$) y x = tiempo, con un $R^2 > 0.9$. Estas ecuaciones nos permitieron calcular el tiempo necesario para disminuir 22,5° C la temperatura, dada por $T_{22,5^{\circ}C}$ (min) (siendo 22,5°C el 75% de la disminución total de la temperatura en el experimento: 65 – 35° C).

El T_{22,5° C} se mantiene o aumenta levemente de uno a tres meses y sus magnitudes son similares entre ambos tipos de muestras. Sin embargo, S6 y C6 manifiestan diferencias, con incremento en C6 respecto a C1 y C3, y disminución en la muestra S6; por eso, el enfriamiento del peloide es significativamente más rápido en el caso de S6 respecto a C6.

El estudio con SEM-IA revela que el porcentaje del área ocupada por los poros en los peloides, sufre una variación significativa a partir del tercer mes de maduración, aunque el comportamiento es distinto: en las muestras S la fábrica se hace menos porosa y en las C, a la inversa. Además, hay una relación directa entre la velocidad de enfriamiento y el área ocupada por los poros de ambos peloides con el aumento del tiempo de maduración.

Palabras claves: Cinética de enfriamiento, Peloide, Tiempo de maduración, Caolinita, Saponita, Fábrica SEM-IA.

ISSN: 1887-0813

Thermal behavior of peloids prepared with mineral waters from Lanjarón Spa. Effect of maturation time

Abstract

The differences in the thermal behavior of peloids prepared with mineral waters from Balneario de Lanjarón (Salud V -samples S- and Capuchina -samples C-; with very different ionic contents) during the maturation process along to 1, 3 and 6 months, were studied. The solid phase was a mixture of kaolin-bentonite, proportion 9:1 (w:w).

The drop in temperature of the peloid fits a logarithmic curve of the type y = aln(x) + b, where $y = \Delta T$ ($\Delta T^{\circ}C$, being $\Delta T = T_0$ - T_n ; T_0 = 65°C) and x = time, with $R^2 > 0.9$. These equations allowed us to estimate the time necessary to decrease 22.5°C temperature, $T_{22,5^{\circ}C}$ (min) (22.5° C being 75% of the total decrease of temperature in the experiment: 65 - 35° C).

The T_{22,5°C} is maintained or increased slightly from one to three months of maturation and their magnitudes are similar between both types of samples. However, S6 and C6 show differences, with increases in C6 respect to C1 and C3, and decreases in S6 respect to S1 and S3. Thus, the cooling of the peloid is significantly faster in S6 regarding to C6.

The study with SEM-IA revealed that the percentage of area occupied by the pores in the peloids varies significantly from the third month of maturation, although the behavior is different: in the samples S the fabric becomes less porous and in the C conversely. Furthermore there is a direct relationship between cooling rate and the area occupied by the pores of both peloids with increasing the time of maturation.

Key words: Cooling kinetics, Peloid, Maturation time, Kaolinite, Saponite, SEM-IA fabric

REFERENCIA NORMALIZADA

Fernández-González MV, Gámiz E, Martín-García JM, Márquez R, Delgado G, Delgado R. Comportamiento térmico de peloides preparados con aguas mineromedicinales del Balneario de Lanjarón. Efecto del tiempo de maduración. (Thermal behavior of peloids prepared with mineral waters from Lanjarón Spa. Effect of maturation time). Anal Hidrol Med, 2011, vol. 4, 93-105

INTRODUCCIÓN

El uso de los peloides ha generado un destacable interés en los últimos años, por los beneficios que aporta en el campo de la salud. Junto con la balneoterapia es un método curativo, coadyuvante en el tratamiento de las enfermedades crónicas, o de personas de edad, que mejoran significativamente de sus enfermedades y ven reducidas las dosis necesarias en la administración de fármacos, con los beneficios que esto supone para dichos pacientes ²⁻³. En muchos trabajos de investigación se considera a la peloterapia como una parte de la balneoterapia ⁴⁻⁵, ya que en los balnearios se aplican indistintamente aguas y peloides.

El comportamiento térmico es uno de los caracteres más importantes de los peloides de uso medicinal, dado que muchos de los procesos artrósicos para los que se emplean responden a la aplicación local de calor⁶⁻⁷ y, en general, este comportamiento está directamente relacionado con la acción terapéutica de los peloides⁸.

Además de la acción de los peloides como agentes termoterápicos, otras acciones farmacológicas, derivadas de la transformación de los mismos durante el proceso de maduración⁹ permiten que sean aplicados como tratamientos farmacológicos específicos de enfermedades como la osteoporosis postmenopaúsica¹⁰ y la osteoartrosis¹¹.

El proceso conocido como maduración de los peloides, es necesario para mejorar y estabilizar las propiedades terapéuticas de los mismos¹². Para tal maduración se emplean tiempos muy variables, entre 60 días⁹⁻¹³ y 2 años¹⁴⁻¹⁵. La maduración es un proceso complejo, dependiente de las fases sólida y líquida, donde gracias a la temperatura, el tiempo, pH, contenido de agua y la homogenización, se produce la transformación de la fase líquida y sólida en el producto final maduro. Numerosos autores han estudiado este proceso y concluyen en que se producen cambios en las características físicas y químicas del barro termal¹⁶⁻⁹⁻¹³⁻¹⁷⁻¹⁸, incrementando su volumen de rehidratación y las propiedades térmicas, así mismo, se generan productos metabólicos de algunos microorganismos colonizadores, que se consideran responsables de su acción antiinflamatoria⁹⁻¹³. En muchas de las investigaciones citadas la composición de la fase sólida de los peloides estudiados es diferente o presenta un cierto grado de variabilidad, por lo que no es posible extraer conclusiones generales sobre la maduración. A pesar de estos estudios previos, son muchos los interrogantes acerca de este proceso.

El objetivo de este trabajo es estudiar la evolución del comportamiento térmico durante el proceso de maduración, entre dos peloides preparados con aguas del balneario de Lanjarón de contenidos iónicos muy dispares, Salud V y Capuchina, y una fase sólida mezcla de caolín y bentonita.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material

Los peloides fueron preparados con 500 gramos de fase sólida, que consistía en una mezcla de caolín-bentonita (caolinita-esmectita/saponita) industriales en proporción 9:1 (peso: peso), y 1000 ml de fase líquida, compuesta por agua mineromedicinal de dos manantiales del Balneario de Lanjarón: "Salud V" y "Capuchina".

Los componentes de la fase sólida son materias primas minerales farmacéuticas y cosméticas y han sido estudiados previamente por nuestro grupo de investigación 19-20. Sus principales caracteres se recogen en la Tabla 1.

Tabla 1 – Principales propiedades de los materiales minerales empleados en la preparación del peloide¹⁹⁻²⁰

Características	Materiales	
	Caolín C-6A	Bentonita 1
Procedencia	Explotaciones Cerámicas Españolas S.A. Burela (Lugo, España)	Tolsa S.A. (Madrid, España)
Presentación	Polvo muy fino. Caolín lavado	Polvo muy fino
Tacto	Muy untuoso y suave	Suave, aunque un poco áspero por la presencia de agregados de arcilla, endurecidos
Color (término común)	Blanco, ligeramente amarillento	Verde oscuro
Color Munsell	10YR >8/<1	5Y 7/2
	(Blanco)	(Gris claro)
$\mathrm{pH}_{\mathrm{H2O}}$	4.7	10.4
pH_{KCl}	3.8	9.6
pH_{NaF}	9.2	9.9
Materia Orgánica (%)	0.87	0.78
Mineralogía (DRX)	Caolinita = 87 % (presencia de haloisi- ta); Cuarzo = 7 %; Feldespato-K = 3% Mica-K = 3%; trazas de minerales interestratificados	Saponita = 94 %; Cuarzo = 2 %; Illita = 4 %

En cuanto a las fases líquidas empleadas, cabe destacar que el agua del manantial "Salud V" (agua bicarbonatada, clorurada sódica), se clasifica según los criterios de Schoeller como de mineralización fuerte²¹, con una conductividad eléctrica (CE) de 2.13 mS/cm, mientras que la de "Capuchina", presenta una mineralización mucho mayor, con una CE de 25.20 mS/cm; esta última se trata de un agua bicarbonatada, clorurada, sódica, cálcica y ferruginosa²². Las características principales de estas aguas y sus propiedades fisicoquímicas más destacables vienen recogidas en la Tabla 2.

En la preparación del peloide, el primer proceso consistió en mezclar galénicamente (por diluciones) los componentes de la fase sólida (caolín y bentonita anteriormente descritos). Tras la homogeneización del material sólido, se adicionó la fase líquida, según proporciones.

Tabla 2 – Principales características de las aguas mineromedicinales empleadas en la preparación del peloide.

Características	Aguas		
	Salud V	Capuchina	
Procedencia	Balneario de Lanjarón, Granada	Balneario de Lanjarón, Granada	
Manantial	Salud V	Capuchina	
pН	8.3	7.8	
Residuo Seco (g/l)	1.45	20.80	
Conductividad eléctrica (mS/cm)	2.13	25.20	
Aniones mayoritarios (mg/l)			
Cl	644	10836	
SO_4^{2-}	47	461	
CO_3^{2-}	0	0	
HCO ₃ -	366	1586	
Cationes mayoritarios (mg/l)			
Ca^{2+}	108	1500	
Mg^{2+}	22	210	
Na ⁺	366	5387	
K ⁺	40	630	

Proceso de maduración

Los peloides así preparados, fueron conservados en recipientes de plástico de forma groseramente cúbica y con un volumen aproximado de 3 litros. La maduración se realizó en atmósfera abierta (aunque los recipientes se cubrieron para evitar las adiciones contaminantes de polvo atmosférico), a una temperatura cercana a los 20° C. Por la proporción fase sólida-fase líquida que tienen los peloides (proporción 1:2 peso: volumen, respectivamente), el agua estaba en exceso y así, la maduración se ha realizado con un centímetro (aproximadamente) de fase líquida sobrenadante, sobre la mezcla¹⁴⁻¹⁸. Todas las muestras han sido homogeneizadas periódicamente (cada semana) por un método estandarizado durante su tiempo de maduración. Se les han realizado controles de humedad por pesada del recipiente completo, al objeto de mantener las mismas condiciones de humedad iniciales. Asimismo, al

final de la maduración, estos controles de humedad se realizaron por secado de una alícuota de las muestras en estufa a 105- 110° C durante 24 horas y posterior pesada en balanza de precisión para obtener una mayor exactitud en los resultados. Los tiempos de maduración fueron de un mes para las muestras signadas como C1 (Capuchina, un mes de maduración) y S1 (Salud V, un mes de maduración); de tres meses para las muestras C3 (Capuchina, tres meses de maduración) y S3 (Salud V, tres meses de maduración); y de seis meses para las muestras C6 (Capuchina, seis meses de maduración), y S6 (Salud V, seis meses de maduración).

Métodos

Análisis térmico del peloide

La cinética de enfriamiento de las muestras de peloide se ha estudiado según los ensayos térmicos de Cara et al²³. Se utilizaron botellas de PET de 125 ml cerradas que contenían 100 g de peloide. La temperatura de la muestra fue previamente elevada hasta los 65° C en una estufa, durante dos horas. Las muestras a 65° C se introdujeron en un baño de agua termostatado a 25° C. La temperatura de los peloides fue medida con una sonda termométrica Digi-Sense RTD PLATINUM introducida hasta el centro del recipiente, a intervalos de 2 minutos, hasta que la temperatura de las muestras se igualó con la del baño.

Estudio de la fábrica con Microscopio Electrónico de Barrido (SEM) y análisis de imagen (IA)

Las muestras de peloide se congelaron súbitamente en un Criofijador Reichert-Jung KF80, por inmersión en propano a una temperatura de unos -130 / -140° C y fueron liofilizadas inmediatamente en un LABCONCO "Stoppering Tray Dryer", "Freeze Dry Sistem". Posteriormente fueron fracturadas para obtener un corte fresco del interior del peloide y pegadas mediante plata coloidal a un portamuestras de aluminio. Se metalizaron con oro (capa de 5 a 10 nm de espesor), en dos orientaciones²⁴, y fueron estudiadas con microscopio electrónico de barrido (equipo Hitachi S-510, 25 kV). Las imágenes se obtuvieron digitalizadas con el programa de captación de imágenes Scan Vision, Version 1.2, acoplado al microscopio electrónico de barrido. Las imágenes fueron analizadas con el programa IMAGE J²⁵ con el objetivo de estudiar el porcentaje de área total ocupada por los poros.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En todos los casos, el descenso de la temperatura del peloide siguió una curva logarítmica del tipo y = aLn(x) + b, (Figuras 1 y 2), en la que $y = \Delta T$ (ΔT °C, siendo $\Delta T = T_0 - T_n$; $T_0 = 65$ °C) y x = tiempo, con un R^2 en todos los casos >0.9 (***). El tiempo necesario para disminuir 22.5 °C la temperatura viene dado por $\Delta t_{-22.5}$ °C

(expresado en minutos; siendo 22.5° C el 75% de la disminución total de la temperatura en el experimento: 65 – 35° C), que fue calculado para cada peloide resolviendo las ecuaciones obtenidas (Figuras 1 y 2), resultando ser: S1, 9.8 min; S3, 11.4; S6, 8.4 min; C1, 10.3 min; C3, 10.4 min; C6, 11.9 min.

Figura 1 – Variación de la temperatura con el tiempo ($\Delta T = T_0$ - T_n ; T_0 = 65° C) en las muestras de peloides preparados con agua mineromedicinal del manantial "Salud V" maduradas uno, tres y seis meses (S1, S3 y S6)

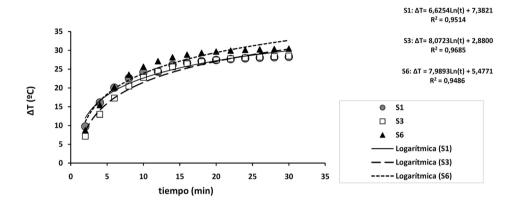
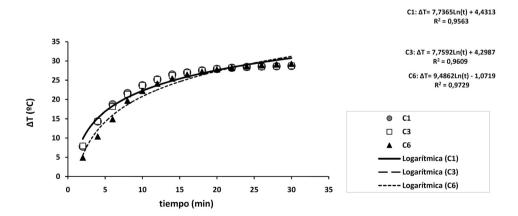
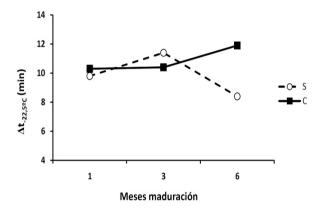


Figura 2 – Variación de la temperatura con el tiempo ($\Delta T = T_0$ - T_n ; T_0 = 65° C) en las muestras de peloides preparados con agua mineromedicinal del manantial "Capuchina" maduradas uno, tres y seis meses (C1, C3 y C6)



En la Figura 3 podemos analizar el comportamiento térmico de las distintas muestras estudiadas, con el tiempo de maduración. Se aprecia cómo en ambos casos (peloides de Salud V y Capuchina), Δt_{-22,5°C} se mantiene o aumenta levemente de uno a tres meses (muestras S1, S3, C1 y C3); sin embargo, cuando transcurren los seis meses de maduración (muestras S6 y C6), manifiestan comportamientos completamente diferentes, ya que en el caso del agua de Salud V, el tiempo de enfriamiento del peloide disminuye notablemente (es más rápido el enfriamiento) que a uno y tres meses, contrariamente a lo ocurrido en el caso del agua de Capuchina, donde continua el incremento hasta los seis meses.

Figura 3 – Evolución de Δt_{-22.5°C} con los meses de maduración en los peloides preparados con agua mineromedicinal de Salud V (S) y Capuchina (C)



Estas diferencias en el comportamiento térmico de los peloides a los seis meses (S6 y C6) podrían estar justificadas por las diferencias en la salinidad (estimadas con el residuo seco –tanto del agua como del extracto del peloide-, Tabla 2, Figura 4) de las aguas que los componen, ya que la conductividad térmica del agua en general, disminuye conforme aumenta la concentración en sales de la misma²⁶. Por esta causa, el agua de C6 conduciría peor el calor que S6 y su enfriamiento sería más lento (Δt._{22,5°C} mayor). Sin embargo, las diferencias de salinidad entre S y C (Figura 4) no justificarían los valores de Δt._{22,5°C} en S1 y C1 y S3 y C3, prácticamente iguales. Hay que indagar en otras posibles causas.

Tras el estudio de las muestras con SEM-IA, hemos podido comprobar (Figura 5) cómo, en ambos tipos de muestras (S y C), el porcentaje del área ocupada por los poros sufre una variación significativa a partir del tercer mes de maduración, aunque el comportamiento es distinto: en las muestras S la fábrica se hace menos porosa y en las C, ocurre a la inversa. En la Figura 6 se recogen las imágenes obtenidas en el SEM correspondientes a cada uno de los peloides madurados durante

seis meses (S6 y C6). Los mecanismos que producen estos cambios organizativos deberán ser también estudiados en el futuro.

Figura 4 – Gráfica comparativa entre el contenido en sales (residuo seco del extracto 110° C) de los peloides preparados con agua mineromedicinal de Salud V (S) y Capuchina (C) y los meses de maduración.

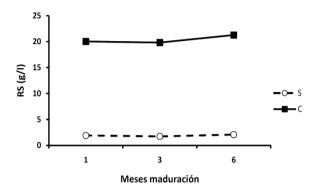
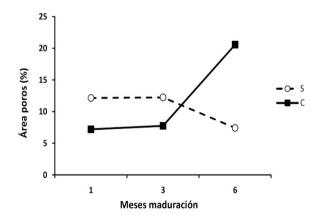
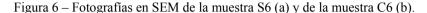


Figura 5 – Evolución del porcentaje de área de poros con los meses de maduración en los peloides preparados con agua mineromedicinal de Salud V (S) y Capuchina (C)



Nuevo interés ofrece la discusión acerca de cómo puede influir la fábrica SEM en el comportamiento térmico de los peloides. Si comparamos los resultados de Δt . $_{22,5}$ $_{\text{C}}$ con los del porcentaje total de poros (Figura 7), se puede apreciar que existe

una relación positiva entre ambas variables, aunque no estadísticamente significativa (por el pequeño número de datos). El crecimiento paralelo y positivo entre estos dos parámetros ya fue puesto en evidencia en un trabajo previo sobre peloides fabricados con agua bidestilada y agua mineral de La Malahá- Granada¹⁸, cuyos resultados se han incluido en la gráfica (peloides con agua bidestilada- muestras B; peloides con agua de La Malahá- muestras M).



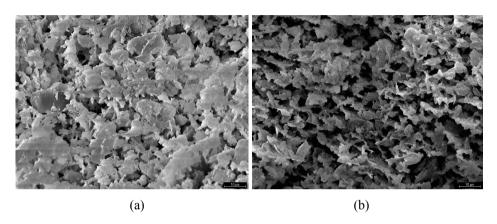
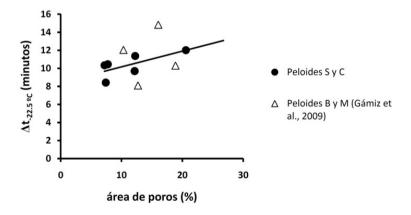


Figura 7 – Relación entre el área de poros y el tiempo de enfriamiento Δt._{22.5°C}



CONCLUSIONES

Del estudio térmico de seis peloides preparados con aguas mineromedicinales de los manantiales, Salud V y Capuchina (Balneario de Lanjarón), madurados uno, tres y seis meses, podemos concluir:

- La curva de enfriamiento de los peloides desde 65° C a 30° C sigue una función logarítmica del tipo tipo y = aLn(x) + b, en la que $y = \Delta T$ (ΔT° C, siendo $\Delta T = T_0 T_n$; $T_0 = 65^{\circ}$ C) y x = tiempo.
- El comportamiento térmico expresado como Δt_{-22,5°C} (tiempo en minutos necesario para descender 22,5°C la temperatura) difiere entre los peloides preparados con las dos aguas mineromedicinales, pero sólo cuando están madurados seis meses. En ello puede influir la diferente salinidad de la fase líquida del peloide: residuo seco del extracto, de 2.09 g/l para S6 y 21.28 g/l para C6.
- La microfábrica- SEM-, y concretamente el porcentaje de poros, parece tener un efecto sobre el tiempo de enfriamiento de los peloides, detectándose una tendencia a la relación positiva entre ambos parámetros.

BIBLIOGRAFIA

- 1. Van Tubergen A, Van der Linden S. A brief history of spa therapy. Ann Rheum Dis 2002; 61: 273–275.
- 2. Tishler M, Rosenberg O, Levy O, Elias I, Amit-Vazina M. The effect of balneotherapy on osteoarthritis. Is an intermittent regimen effective? European J Internal Medicine 2004; 15: 93-96.
- 3. Yilmaz B, Goktepe S, Alaca R, Mohur H, Hikmet Kayar A. Comparison of a generic and a disease specific quality of life scale to assess a comprehensive spa therapy program for knee osteoarthritis. Joint Bone Spine 2004; 71: 563–566.
- 4. Cozzi F, Podswiadek M, Cardinale G, Oliviero F, Dani L, Sfriso P, Punzi L. Mud-bath treatment in spondylitis associated with inflammatory bowel disease e a pilot randomised clinical trial. Joint Bone Spine 2007; 74: 436-439.
- 5. Fioravanti A, Perpignano G, Tirri G, Cardinale G, Gianniti C, Lanza CE, Loi A, Tirri E, Sfriso P, Cozzi F. Effects of mud-bath treatment on fibromyalgia patients: a randomised clinical trial. Rheumatol Int 2007; 27: 1157–1161.
- 6. Codish S, Abu-Shakra M, Flusser D, Friger M, Sukenik S. Mud compress therapy for the hands of patients with rheumatoid arthritis. Rheumatol Int 2005; 25: 49-54.

- 7. Bender T, Karagülle Z, Bálint GP, Gutenbrunner C, Bálint PV, Sukenik S. Hydrotherapy, balneotherapy, and spa treatment in pain management. Rheumatol Int 2004; 25: 220-224.
- 8. Legido JL, Medina C, Mourelle ML, Carretero MI, Pozo M. Comparative study of the cooling rates of bentonite, sepiolite and common clays for their use in pelotherapy. Appl Clay Sci 2007; 36: 148-160.
- 9. Galzigna L, Moretto C, Lalli A. Physical and biochemical change of thermal mud alter maturation. Biomed & Pharmacother 1996; 50: 306-308.
- 10. Cecchettin M, Bellometti S, Zennaro R. Effects of treatment with mature thermal mud on postmenopausal osteoporosis. A preliminary evaluation. Current Therapeutic Research 1993; 54: 758-762.
- 11. Bellometti S, Cecchettin M, Galzigna L. Mud pack therapy in osteoartritis. Change in serum levels of chondrocyte markers. Clinica Chimica Acta 1997; 268: 101-106.
- 12. Sánchez C, Parras J, Carretero MI. The effect of maturation upon the mineralogical and phsicochemical properties of illitic-smectitic clays for pelotherapy. Clay Minerals 2002; 37, 457-463.
- 13. Galzigna L, Ceschi-Berrini C, Moschin E, Tolomeo C. Thermal mud- pack as anti-inflamatory treatment. Biomed & Pharmacother 1998; 52: 408-409.
- 14. Veniale F, Barberis E, Carcangiu G, Morandi N, Setti M, Tamanini M, Tessier D. Formulation of muds for pelotherapy: effects of "maturation" by different mineral waters. Appl Clay Sci 2004; 25: 135–148.
- 15. Veniale F, Bettero A, Jobstraibizer PG, Setti M. Thermal muds: perspectives of innovations. Appl Clay Sci 2007; 36: 141-147.
- 16. Curini R, D'Ascenzo G, Fraioli A, Lagana A, Marino A, Messina, B. Instrumental multiparametric study of the maturing of therapeutic muds of some Italian spas. Thermochimica Acta 1990; 157: 377-393.
- 17. Carretero MI, Pozo M, Sánchez C, García FJ, Medina JA, Bernabé JM. Comparison of saponita and montmorillonite bahaviour during static and stirring maturation with seawater for pelotherapy. Appl Clay Sci 2007; 36: 161-173.
- 18. Gámiz E, Martín-García JM, Fernández-González MV, Delgado G, Delgado R. Influence of water type and maturation time on the properties of kaolinite-saponite peloids. Appl Clay Sci 2009; 46: 117-123.
- 19. Gámiz E. Caracterización de caolines, talcos y bentonitas españolas, para su posible aplicación en farmacia [tesis]. Granada: Universidad de Granada, 1987.
- 20. Gámiz E, Linares J, Delgado R. Assessment of two Spanish bentonites for pharmaceutical uses. Appl Clay Sci 1991; 6: 359-368.
- 21. Maraver Eyzaguirre, F. Aguas mineromedicinales españolas. En: Vademecum de aguas mineromedicinales españolas. Madrid: Instituto de Salud Carlos III, 2004: 47-70.

- 22. Rubio Campos JC. Aguas minerales y mineromedicinales; Balnearios. En: Guía de manantiales de la provincia de Granada. Diputación de Granada. Madrid: Ministerio de Educación y Ciencia, 2006: 41-100.
- 23. Cara S, Carcangiu G, Padalino G, Palomba M, Tamanini M. The bentonites in pelotherapy: chemical, mineralogical and technological properties of materials from Sardinia deposits (Italy). Appl Clay Sci 2000; 16: 117-124.
- 24. Bohor BF, Huges RE. Scanning electron microscopy of Clays and Clay Minerals. Clays and Clay Minerals 1971; 19: 49-54.
- 25. National Institutes of Health (2008) Image J. Image Processing and Análisis in Java. 2008. Disponible en: http://rsb.info.nih.gov/ij/.
- 26. Millero FJ. The Physical Chemistry of Natural Waters. NewYork: John Wiley & Sons, 2001.