

Contribución al estudio de la descalcificación electroquímica de tejidos calcificados

Aplicación a la descalcificación dentaria

por los doctores

SERGIO DI PIRAMO,

Ayudante de Investigación de Anatomía Patológica,

Facultad de Odontología, Montevideo, Uruguay;

GUSTAVO C. SPANGENBERG,

Sección Electroquímica, Instituto de Investigación Libre y Asesoramiento,

Facultad de Química, Montevideo, Uruguay.

INTRODUCCION

En el año 1947, Richman, Gil-fond y Hill, presentan un método de descalcificación electroquímica. Posteriormente diversos investigadores han destacado la notable disminución del tiempo de descalcificación y la buena apetencia por el colorante de las piezas descalcificadas electroquímicamente. Pero no se ha dado la explicación electroquímica del proceso de aceleración de la descalcificación, ni se han estudiado los factores que la rigen.

Nosotros estudiaremos la descalcificación en función de la densidad de corriente anódica, del potencial anódico y del tiempo. Y daremos una interpretación electroquímica del proceso de aceleración de la descalcificación.

ESTADO ACTUAL

Un buen método de descalcificación deberá reunir las siguientes condiciones: rápida descalcificación

conservación celular, respeto de las apetencias colorantes y técnica sencilla. (5, 8)

Para la descalcificación química corriente se han ensayado soluciones ácidas inorgánicas y orgánicas. Estos métodos tienen el inconveniente de ser lentos y además presentan el peligro de la alteración tisular e incorrecta reacción tinterial posterior. (4) Las soluciones topes (citrato de sodio), parecen disminuir este riesgo. (10)

Los ácidos orgánicos tienen en general una acción más suave, (13) sobresaliendo entre ellos el ácido fórmico cuyas características lo sindican como un excelente agente descalcificante. Es el ácido graso más fuerte, o sea el más ionizado, sus sales de calcio son muy solubles, es inocuo para los tejidos y actúa como antiséptico. (1)

Para acelerar la descalcificación química se han estudiado también la influencia de distintos factores, principalmente temperatura, agitación y vacío.

La elevación de temperatura favorece la disolución de las sales de calcio. (7)

La agitación, al renovar continuamente la solución en la inmediata vecindad de la pieza, disminuye el tiempo de descalcificación. (9, 10)

En cuanto al vacío que se realiza alrededor de la pieza, para extraer rápidamente el anhídrido carbónico formado por la reacción química, aparte de que muchos autores le niegan valor, es de realización práctica bastante engorrosa. (14)

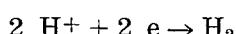
Parece ser pues, la descalcificación electroquímica el método más seguro y rápido. (2, 3, 4, 11, 12, 13, 14)

FUNDAMENTO ELECTROQUIMICO

Analicemos lo que sucede en la vasija electrolítica cuando la atraviesa una corriente continua. La intensidad de la misma debe ser tal que el desprendimiento de gases en los electrodos no modifique, por agitación, la composición del electrolito en la zona intermedia. Supongamos que circula una cantidad de electricidad de n faradays.

Zona catódica.

La reacción electroquímica en el cátodo es:



En el cátodo se separan n equivalentes de ion hidrógeno y debido a la migración iónica, entran a la zona catódica nt_{H^+} equivalentes de ion hidrógeno. Siendo t_{H^+} el número de transporte del ion hidrógeno en el electrolito considerado, o

sea la fracción de corriente transportada por dicho ion. En el catolito se produce, pues, una disminución en la concentración de iones hidrógeno igual a $n - nt_{\text{H}^+}$ equivalentes.

Simultáneamente salen de la zona catódica nt_{HCOO^-} y nt_{Cl^-} equivalentes de los iones formiato y cloruro.

En la zona catódica, debido a la electrólisis, hay una disminución en la concentración de ácido fórmico y ácido clorhídrico. Esta disminución de la acidez, en un tiempo dado, se acentúa cuanto mayores es la cantidad de electricidad que circula por el electrolito, o sea para valores crecientes de la densidad de corriente.

Zona media.

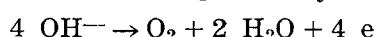
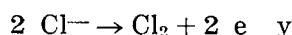
Desde el catolito llegan a la zona media nt_{HCOO^-} y nt_{Cl^-} equivalentes de los iones formiato y cloruro. Simultáneamente salen de la misma hacia el anolito igual número de equivalentes de dichos aniones.

Desde el anolito llegan a la zona media nt_{H^+} equivalentes de ion hidrógeno. Simultáneamente salen de la misma hacia el catolito igual número de equivalentes de dicho ion.

De manera que la composición del electrolito en la zona intermedia no se altera.

Zona anódica.

Comenzaremos verificando cuál es la reacción electroquímica que se produce en el ánodo. Los posibles procesos electródicos serían:



Electrodo de cloro.— Su potencial, con respecto al electrodo normal de hidrógeno a 25° C., sobre ánodo de grafito y encontrándose el cloro a la fugacidad de una atmósfera es:

$$E_{(Cl - H_2)} = 1.358 - \\ 0.0591 \log (Cl^-) + \eta_{Cl}$$

Siendo:

1.358 - potencial normal de oxidación del ion cloruro;

$$0.0591 = A = \frac{R \cdot T}{n \cdot F}$$

(Cl⁻) - actividad del ion cloruro. Dada la precisión con que han sido medidos los potenciales anódicos, podemos asumir que es igual a la molaridad, siendo ésta 0.818.

η_{Cl} - sobretensión del cloro. Varía con la densidad de corriente. Por lo tanto, los potenciales del electrodo de cloro, considerado a las siguientes densidades de corriente, serán:

d. d. e. a. (A/cm ²)	η_{Cl} (voltios)	$E_{(Cl - H_2)}$ (voltios)
0.1	0.251	1.614
0.2	0.298	1.661
0.5	0.417	1.780

Electrodo de oxígeno.— Su potencial, con respecto al electrodo normal de hidrógeno a 25° C., sobre ánodo de grafito y encontrán-

dose el oxígeno a la fugacidad de una atmósfera es:

$$E_{(O - H_2)} = 0.401 + \\ 0.0591 pOH + \eta_O$$

Siendo:

0.401 - potencial normal de oxidación del ion oxhidrilo.

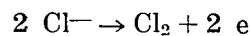
pOH = pKw - pH ; Kw = producto iónico del agua.

$$pOH = 13.996 - 0.20 = 13.796 \approx 13.8.$$

η_O - sobretensión del oxígeno. Varía con la densidad de corriente. Por lo tanto, los potenciales del electrodo de oxígeno considerado a las siguientes densidades de corriente, serán:

d. d. e. a. (A/cm ²)	η_O (voltios)	$E_{(O - H_2)}$ (voltios)
0.1	1.091	2.326
0.2	1.142	2.377
0.5	1.186	2.421

En las condiciones de nuestras experiencias, la reacción electroquímica en el ánodo es:



por tratarse del sistema redox menos oxidante.

En el ánodo se separan, por lo tanto, n equivalentes de ion cloruro y debido a la migración iónica, salen de la zona anódica nt_{H+} equivalentes de ion hidrógeno. Simultáneamente entran a la misma nt_{HCOO-}

y nt_{Cl^-} equivalentes de los iones formiato y cloruro.

En la zona anódica, debido a la electrolisis, hay una disminución de $n - nt_{Cl^-}$ equivalentes de ion cloruro y un aumento de nt_{HCOO^-} equivalentes de ion fiormiato.

De manera que electrolizando con densidades de corriente crecientes, se obtendrán en la zona anódica mayores concentraciones de ácido fórmico, acelerándose el proceso de descalcificación de las piezas allí colocadas.

MATERIAL Y METODO

Fuente de corriente continua, regulable de 20 voltios y 10 amperios.

Vasija electrolítica, de resina acrílica de $30 \times 10 \times 10$ cms. con

doble fondo para regulación de temperatura por corriente de agua (fig. 1).

Cátodo, placa vertical de grafito.

Anodo, de forma y dimensiones especiales. En la figura adjunta se puede observar en distintas posiciones. Su área activa, de 10 cm^2 , es una placa horizontal de grafito. El resto del electrodo ha sido aislado con resina acrílica. Sobre el área anódica se colocan los dienates, mantenidos por una celdilla. El área anódica debe ser estrictamente la necesaria, para evitar concentraciones de corriente elevadas y la correspondiente dificultad en el contralor de la temperatura. El ánodo está provisto además de un dispositivo que termina en un orificio capilar en el área anódica, para medir el potencial electródico (figs. 2 y 3).

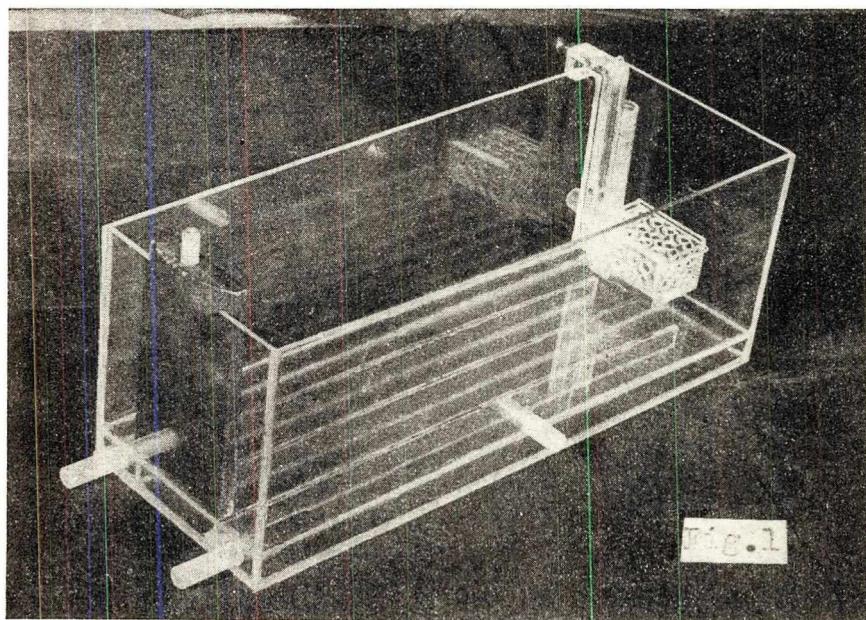


Fig. 1.—Vasija electrolítica con los electrodos en posición de trabajo.
Cátodo a la izquierda y ánodo a la derecha de la figura.

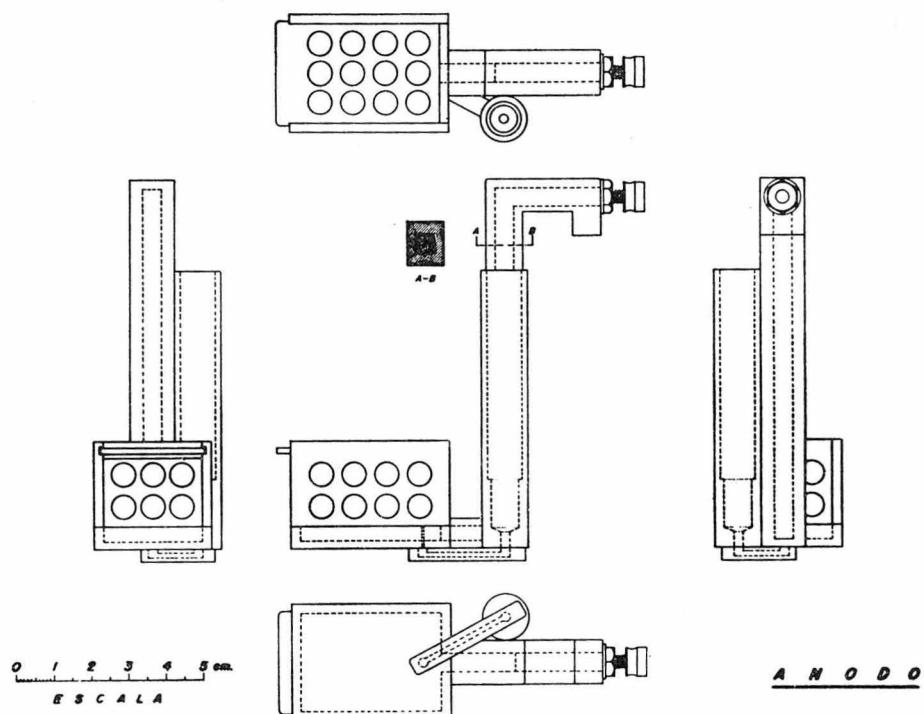


Fig. 2.—Esquema del ánodo.

La separación entre ánodo y cátodo es de 25 cms.

Electrolito:

Ácido fórmico (D = 1.22 ; 98 — 100 %)	200 ml.
Ácido clorhídrico (D = 1.16 ; 32,14 %) ...	180 ml.
Agua destilada	c. s. p. 2 litros
Temperatura	25° C.
Conductividad	0.23 mhos. cm ⁻¹
pH	0.20

Se emplean piezas dentarias de ambos maxilares previamente fijadas en formal al 10 %, realizando cada experiencia por triplicado.

Previamente a ser sometidos a la descalcificación, los dientes se

lavan en agua destilada durante 24 horas. Luego se secan con papel de filtro y se pesan al milígramo.

En el transcurso de cada电解, a intervalos de tiempo determinados, se retiran los dientes del electrolito, se lavan con agua destilada, se secan con papel de filtro y se pesan al milígramo, asumiendo que la descalcificación es completa cuando su peso deja de disminuir.

La variación simultánea del porcentaje y tiempo de descalcificación se determina en función de la densidad de corriente y del potencial anódicos, electrolizando a temperatura constante de 25° C. y sin agitación.

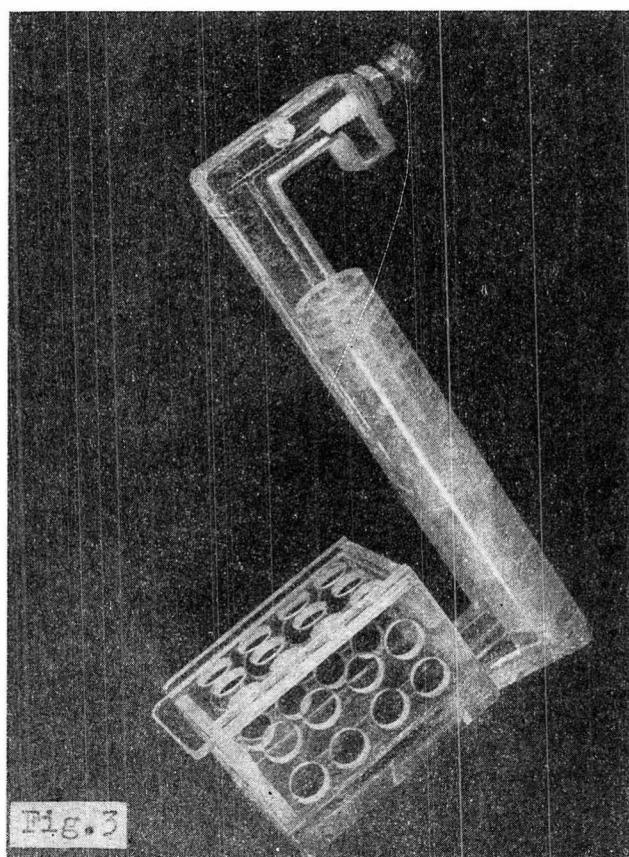


Fig. 3.— Fotografía del ánodo.

En cada experiencia se mantiene la densidad de corriente anódica constante y se mide el potencial correspondiente.

La densidad de corriente varía en las distintas experiencias, desde $0,1 \text{ A/cm}^2$ hasta $0,4 \text{ A/cm}^2$.

RESULTADOS Y DISCUSION

Las curvas correspondientes a los resultados obtenidos se encuentran en la figura 4. El tiempo de descalcificación total, disminuye

notablemente al aumentar la densidad de corriente desde $0,1 \text{ A/cm}^2$ hasta $0,3 \text{ A/cm}^2$, no modificándose para $0,4 \text{ A/cm}^2$. Esto se debería a que con el aumento de la densidad de corriente de $0,3 \text{ A/cm}^2$ a $0,4 \text{ A/cm}^2$, el desprendimiento de gases en los electrodos alcanza una intensidad tal, que la agitación promovida en el electrolito hace disminuir el aumento de ácido fórmico correspondiente, tal como habíamos previsto. Por otra parte, con $0,4 \text{ A/cm}^2$, el ánodo de grafito es severamente erosionado y el aumento en la concentración de co-

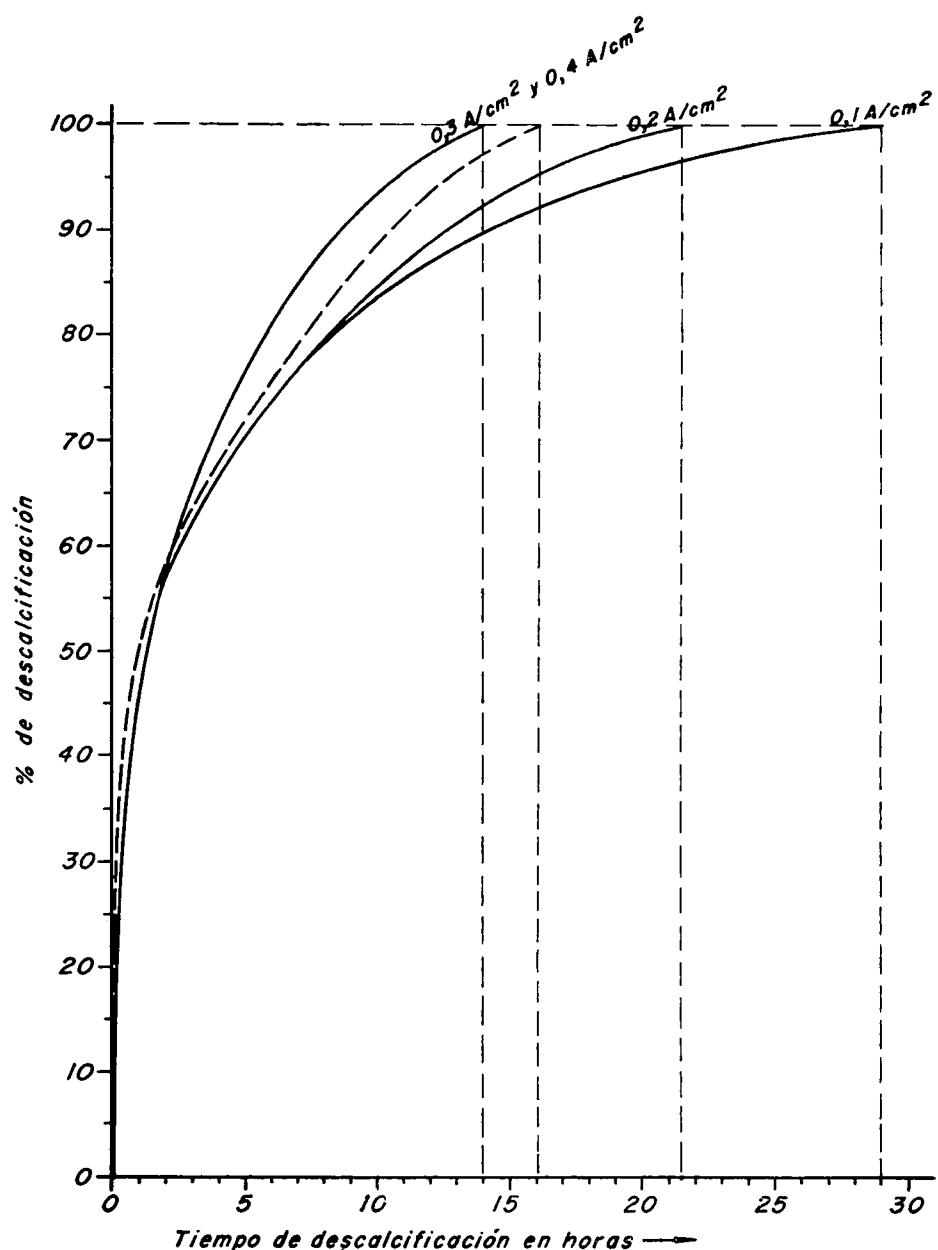


Fig. 4.— Gráfica con los resultados obtenidos. En abcisa, tiempo de descalcificación en horas. En ordenada, porcentaje de descalcificación. Cuando el diente está totalmente descalcificado se le da el valor arbitrario de 100. La curva de trazo discontinuo corresponde a la electrólisis efectuada a 35°C. de temperatura, es decir, 10 grados más que en los otros casos, y a la densidad de corriente anódica considerada óptima para nuestras condiciones de trabajo, o sea de 0.3 A/cm².

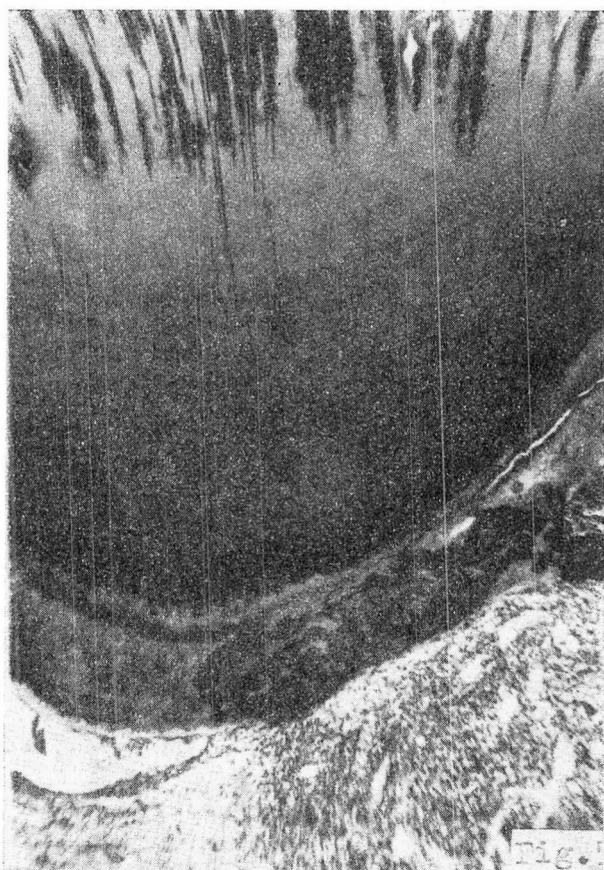


Fig. 5.— Microfotografía de dientes descalcificados por electrólisis.

riente dificulta el control de la temperatura. Efectuados los cortes de las piezas descalcificadas y teñidas con H-E, resultaron excelentes coloraciones del preparado, notándose una sutil diferencia con respecto al tiempo de permanencia en la solución. Es decir, cuanto más corto el mismo, mejores coloraciones se obtuvieron (figs. 5, 6, 7 y 8).

Los mejores resultados, en nuestras condiciones, se obtienen electrolizando con una densidad de corriente anódica de $0,3 \text{ A/cm}^2$.

Comprobamos también, que al crecer la densidad de corriente, se acelera la descalcificación profunda del diente, pero no se modifica la velocidad de la descalcificación superficial, que en 2 horas supera el 55 % para todas las densidades de corriente consideradas.

Los potenciales anódicos, correspondientes a las distintas densidades de corrientes, se determinaron contra el electrodo de referencia de calomel saturado, expresándolos luego con respecto al electrodo normal de hidrógeno a 25°C .

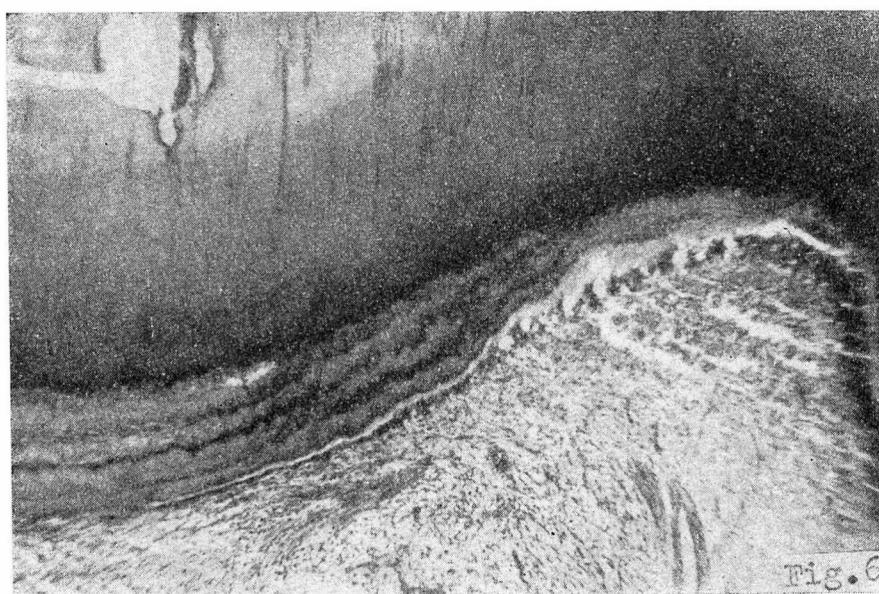


Fig. 6.— Microfotografia de dientes descalcificados por electrólisis.

En el cuadro adjunto se encuentran los valores obtenidos para un electrolito recientemente preparado y para uno que ha sido usado durante 50 horas, circulando por él una cantidad de electrocidad de 140 culombios y conteniendo 5 g/l de sales de calcio removidas. El aumento observado en los valores del potencial anódico correspondientes al electrolito usado, se debería a las modificaciones experimentadas al disminuir su concentración en ácido clorhídrico, saturarse en cloro y disolver sales de calcio. En cuanto a los valores de pH y conductividad, han variado ligeramente.

d. d. c. a. A/cm ²	Potencial anódico (voltios)	
	Electrolito nuevo	Electrolito usado
0.1	1.57	1.75
0.2	1.68	1.86
0.3	1.77	1.95
0.4	1.84	2.02

Finalmente para determinar la influencia de la temperatura en la descalcificación electroquímica, hemos realizado una experiencia, a la densidad de corriente anódica considerada óptima para nuestras condiciones de trabajo, o sea de 0.3 A/cm² y a la temperatura de 35° C., o sea aumentando la temperatura 10° C. El resultado se encuentra en la figura 4, curva de trazo discontinuo. Se puede apreciar que la descalcificación superficial se acelera, alcanzando en una hora al 50 %, pero luego disminuye la velocidad, alcanzándose la descalcificación total en 16 horas.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

Se estudia la descalcificación electroquímica de piezas dentarias, previamente fijadas en formol al 10 %. Los electrodos son de grafi-



Fig. 7.— Microfotografía de dientes descalcificados por electrólisis.

to y el electrolito una solución acuosa de ácido fórmico al 10 % y ácido clorhídrico al 8 %. Los dientes son mantenidos sobre el área anódica, electrolizándose a temperatura constante de 25° C. y sin agitación.

Se estudian los procesos electródicos y las modificaciones experimentadas por el electrolito debido a la电解质.

Se determina el porcentaje de descalcificación y el tiempo de descalcificación en función de la densi-

dad de corriente anódica, estudiando luego la conservación tisular y reacción tintorial correspondiente.

Se demuestra que la aceleración en la descalcificación electroquímica es función de la densidad de corriente anódica. Con densidades de corriente crecientes, se obtienen en la zona anódica mayores concentraciones de ácido fórmico, acelerándose el proceso de descalcificación de las piezas allí colocadas. Los mejores resultados se obtuvieron para 0.3 A/cm^2 .



Fig. 8

Fig. 8.— Microfotografía de dientes descalcificados por electrólisis.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

The authors study electrolytic decalcification of teeth, previously fixed in 10 % formaldehyde. The electrodes are of graphite and the electrolyte is a 10 % formic acid and a 8 % hydrochloric acid water solution. The electrolysis is made at 25° C. of temperature and the teeth are maintained upon the anodic area, without agitation.

Electrolytic process and modification experimented for the electrolyte due at the electrolysis, was studied.

Percentage of decalcification and time of decalcification in relation to the flowing density anodic, was determined. It was studied, also, the integrity of the tissues, and the stain affinity.

The acceleration in the electrolytic decalcification is function of the flowing density anodic. With increase of flowing density in anodic zone, greatest concentration of formic acid is obtained, speeding the process of decalcification of the teeth there placed. For 0.3 A/cm^2 , were obtained the best results.

Nuestro agradecimiento a la colaboración prestada por los profesores de la Facultad de Química: de Dibujo, A. Armesto y de Electroquímica, E. Yanes de Spangenberg.

BIBLIOGRAFIA

- 1) BRAIN, E. G.—An investigation of the comparative value of different acids for the decalcification of hard tissues. "J. D. Res.", 40: 1280; 1961.
- 2) DUCEY, E. F. and SCHIPPY, R. T.—Decalcification of bone by electrolysis. "Amer. J. Clin. Path.", 20: 85; 1950.
- 3) FRIEDLAND, L. M.—Electrolytic decalcification of bone; practical circuits. "Amer. J. Clin. Path.", 18: 591; 1948.
- 4) KOVACS, G.—Osservazioni sull'inervazione della dentina. "Clinica Odontoiatrica", 8: 1; 1953.
- 5) KOVACS, G.—Sulla decalcificazione elettrolitica nella indagine istologica del dente. "Clinica Odontoiatrica", 6: 1; 1952.
- 6) KRONFELD, R. D.—"Dental histology and comparative dental anatomy". Texto, 1943.
- 7) LILLIE, R. D.—"Histopathological Technic and practical Histochemistry". Texto, 1954.
- 8) LILLIE, R. D.; LASKEY, A.; GRECO, J.; BURNTNER, H. J. and JONES, P.—Decalcification of bone in relation to staining and phosphatase Techniques. "Amer. J. Clin. Path.", 21: 711; 1951.
- 9) LUCAS, R. B.—Observation on the electrolytic method of decalcification. "J. Path. and Baet.", 8: 197; 1952.
- 10) MOLENAAR, I.—"Decalcification of Hard Tissues". M. D. Thesis (1957) University of Utrecht.
- 11) RICHMAN, I. M.; GELFAND, M. and HILL, J. N.—A method of decalcifying bone of histologic section. "Arch. Path." (Chicago), 44: 92; 1947.
- 12) SCHELIGA, N.—"Dtsch. Zahn. mund-u". Kieferheilk., 17: 192; 1952.
- 13) TOWNSEND, F. M.—Intercambio de correspondencia. "Armed Forces Institute of Pathology".
- 14) VERDENIUS, H. H. W. and ALMA, L.—Decalcification of hard Tissues. "J. Clin. Path.", 11: 229; 1958.

Dr. Sergio Di Piramo: Amsterdam, 1480. Montevideo, Uruguay.
Quím. Ind. Gustavo C. Spangenberg: Espinillo, 1395. Montevideo, Uruguay.