

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

**NATÁLIA GOMES E SILVA LEONARDO**

**EFEITO DA CONDIÇÃO DE ARMAZENAMENTO SOBRE O pH E A CONCENTRAÇÃO DE  
CLORO ATIVO DE SOLUÇÕES DE HIPOCLORITO DE CÁLCIO**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para  
obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica –  
Área de Concentração Endodontia.

**Orientação: Profa. Dra. Fabiana Soares Grecca**

**Porto Alegre, 2015**

### CIP - Catalogação na Publicação

Leonardo, Natália Gomes e Silva  
Efeito da condição de armazenamento sobre o pH e a  
concentração de cloro ativo de soluções de hipoclorito  
de sódio / Natália Gomes e Silva Leonardo. -- 2015.  
49 f.

Orientadora: Fabiana Soares Grecca.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia,  
Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Porto  
Alegre, BR-RS, 2015.

1. Hipoclorito de sódio. 2. Hipoclorito de cálcio.  
3. pH. 4. Concentração de cloro ativo. 5.  
Temperatura. I. Grecca, Fabiana Soares, orient. II.  
Título.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Pós-graduação da Faculdade de Odontologia** da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, e em especial a toda a **equipe de Endodontia** da instituição, a quem devo não somente a conclusão do mestrado, como também o título de especialista. A todos os professores, muito obrigada!

Aos professores **Dra. Fabiana Soares Grecca** e **Dr. Francisco Montagner**, que me orientaram na realização desse trabalho, agradeço pela confiança, pela oportunidade e pelos ensinamentos. Vocês são verdadeiros mestres, aqueles que dividem seus conhecimentos e experiências. Muito obrigada por terem participado do meu crescimento pessoal e profissional!

Aos professores **Dr. Vicente Castelo Branco Leitune**, **Dr. Matheus Albino Souza**, **Dra. Daiana Elizabeth Böttcher** e **Dra. Patrícia Maria Poli Kopper Móra**, por aceitarem participar da defesa desse trabalho.

Aos colegas de mestrado e doutorado da área de Endodontia (**grupo LabEndo**) e em especial aos meus colegas e amigos da turma do mestrado **Angela**, **Flávia**, **Gabriela**, **Israel** e **Karen**, que foram grandes companheiros nessa caminhada. Conhecê-los foi um presente que a pós-graduação me proporcionou. Obrigada por fazerem parte desse momento tão especial!

A minha amiga periodontista **Gabriela Otero dos Santos**, que também foi colega de graduação e de mestrado. Obrigada pelo companheirismo e pela amizade. Que possamos continuar nossa caminhada juntas.

Aos amigos da turma da Atenção Especializada em Saúde - Ênfase em Endodontia 2013 - 2015 (**Angélica**, **Ariana**, **Guilherme**, **Joana**, **Laura**, **Mariana** e **Vanessa**), a qual tive a oportunidade de ser preceptora. Obrigada pela confiança e pela amizade. Foi gratificante dividir conhecimentos e viver essa experiência com vocês.

A **Andrea**, pela prestatividade, pelo carinho e pela amizade.

A equipe responsável pelo Laboratório de Microbiologia e Bioquímica Bucal (LABIM) em especial a **Luísa**, pelo auxílio, pela confiança e pelo acolhimento no desenvolvimento da parte experimental da pesquisa.

Ao meu namorado, **Rafael**, por ser meu amigo, meu companheiro e meu incentivador. Por acreditar em mim, me apoiar, confortar e acolher, me dando força ao longo dessa caminhada. Obrigada pelas alegrias que tu me proporcionas!

Ao meu irmão **Luciano**, e em especial a minha irmã **Antônia**, por ter sido minha companheira de casa e meu porto seguro em Porto Alegre. Por ser minha maior amiga, aquela que sempre me apoia e me incentiva. Obrigada por tudo que dividimos nesses 2 anos!

Em especial, agradeço aos meus pais **Idilia** e **Celso**. Obrigada pela dedicação, pelo carinho, pelo apoio em todas minhas decisões e pelo auxílio sempre que necessário. Vocês são meus maiores exemplos. Dedico esse trabalho a vocês!

*“ Suba o primeiro degrau com fé. Não é necessário que você veja toda a escada. Apenas dê o primeiro passo. ”*

*Martin Luther King*

## RESUMO

LEONARDO, Natália Gomes e Silva. **Efeito da condição de armazenamento sobre o pH e a concentração de cloro ativo de soluções de hipoclorito de cálcio.** 2015. 49f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

O objetivo do presente estudo foi avaliar e comparar pH e concentração de cloro ativo de soluções de hipoclorito de sódio [NaOCl] e de hipoclorito de cálcio [Ca(OCl)<sub>2</sub>] armazenadas sob diferentes condições de temperatura e períodos de tempo. Soluções de NaOCl e Ca(OCl)<sub>2</sub> foram preparadas nas concentrações 0,5%, 1%, 2,5% e 5,25%. O pH e a concentração de cloro ativo de soluções recém manipuladas e de soluções armazenadas por 30, 60 e 90 dias em temperatura ambiente (+/- 25°C), geladeira (4°C) e estufa (37°C) foram avaliados em pHmetro digital e através de titulação, respectivamente. Análise descritiva e analítica foram realizadas de acordo com a características dos dados. As soluções de NaOCl e Ca(OCl)<sub>2</sub> demonstraram pH extremamente alcalino logo após a manipulação. Soluções mais concentradas apresentaram maior pH e concentração de cloro ativo. Soluções de NaOCl 0,5% e 1% tendem a apresentar menor pH em comparação ao Ca(OCl)<sub>2</sub> nas mesmas concentrações. NaOCl 5,25% mostrou maior pH em comparação ao Ca(OCl)<sub>2</sub> de mesma concentração. NaOCl e Ca(OCl)<sub>2</sub> 0,5% e 1% tendem a reduzir pH, entretanto nas concentrações 2,5% e 5,25% houve aumento do pH. Soluções de Ca(OCl)<sub>2</sub> apresentaram maior concentração de cloro ativo em comparação ao NaOCl, e soluções de NaOCl e Ca(OCl)<sub>2</sub> 2,5% e 5,25% apresentaram redução na concentração de cloro ativo em comparação as soluções de mesma concentração, recém manipuladas. O armazenamento a 37°C afeta negativamente a estabilidade das soluções. As soluções de Ca(OCl)<sub>2</sub> 2,5% e 5,25% apresentaram formação de precipitado que não se dissolveu em água, observada no fundo dos tubos de plástico, com o passar do tempo. Concluiu-se que soluções de Ca(OCl)<sub>2</sub> são extremamente alcalinas e tendem a apresentar maior conteúdo de cloro em comparação ao NaOCl. Em relação ao cloro ativo, essas soluções tendem a ser estáveis até 30 dias de armazenamento sob refrigeração ou em temperatura ambiente.

Palavras-chave: cloro ativo, hipoclorito de cálcio, hipoclorito de sódio, pH, temperatura, tempo.

## ABSTRACT

LEONARDO, Natália Gomes e Silva. **Effect of storage condition on pH and active chlorine content of calcium hypochlorite solutions.** 2015. 49p. Dissertation (Master Degree in Dentistry) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

The aim of this study was to evaluate and compare pH and available chlorine content of sodium hypochlorite [NaOCl] and calcium hypochlorite [Ca(OCl)<sub>2</sub>] solutions on different storage conditions and time periods. NaOCl and Ca(OCl)<sub>2</sub> solutions were prepared at 0.5%, 1%, 2.5% and 5.25% concentrations. pH and available chlorine content of freshly prepared solutions and solutions stored for 30, 60 and 90 days at room temperature (+/- 25°C), 4°C and 37°C were evaluated in digital pHmeter and by titration, respectively. Descriptive and analytical statistical analysis were performed. NaOCl and Ca(OCl)<sub>2</sub> demonstrate highly pH after preparation. 2.5% and 5.25% solutions demonstrated the highest pH and available chlorine content. 0.5% and 1% NaOCl tend to have lower pH compared to 0.5% and 1% Ca(OCl)<sub>2</sub>. 5.25% NaOCl showed higher pH compared to 5.25% Ca(OCl)<sub>2</sub>. NaOCl and Ca(OCl)<sub>2</sub> in 0.5% and 1% concentration tend to reduce pH, while 2.5% and 5.25% solutions showed an increase in pH. Ca(OCl)<sub>2</sub> showed higher concentration of available chlorine than NaOCl. Both 2.5% and 5.25% NaOCl and Ca(OCl)<sub>2</sub> solutions had a decrease in the available chlorine content when compared to freshly prepared solutions. The storage at 37°C contributed to the instability of the solutions. 2.5% and 5.25% Ca(OCl)<sub>2</sub> solutions showed a precipitate formation that was observed over time in the bottom of the plastic tubes. In conclusion, Ca(OCl)<sub>2</sub> solutions are extremely alkaline and tend to have more available chlorine content than NaOCl. Regarding available chlorine content, these solutions tend to be stable to 30 days of storage, when kept at 4°C or at room temperature.

Keywords: calcium hypochlorite, chlorine content, pH, sodium hypochlorite, temperature, time.

## LISTA DE QUADROS

**Quadro 1** – Soluções nas concentrações teste distribuídas de acordo com a condição e o tempo de armazenamento ..... 25

**Quadro 2** – Cálculos estequiométricos para determinar a concentração de cloro ativo ..... 27

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Concentração de cloro ativo de soluções de NaOCl e Ca(OCl)<sub>2</sub> armazenadas em geladeira (4°C) pelos períodos imediato, 30, 60 e 90 dias ..... 30
- Figura 2** – Concentração de cloro ativo de soluções de NaOCl e Ca(OCl)<sub>2</sub> armazenadas em estufa (37°C) pelos períodos imediato, 30, 60 e 90 dias ..... 31
- Figura 3** – Concentração de cloro ativo de soluções de NaOCl e Ca(OCl)<sub>2</sub> armazenadas em temperatura ambiente (+/- 25°C) pelos períodos imediato, 30, 60 e 90 dias ..... 32
- Figura 4** – pH de soluções de NaOCl e Ca(OCl)<sub>2</sub> armazenadas em geladeira (4°C) pelos períodos imediato, 30, 60 e 90 dias ..... 33
- Figura 5** – pH de soluções de NaOCl e Ca(OCl)<sub>2</sub> armazenadas em estufa (37°C) pelos períodos imediato, 30, 60 e 90 dias ..... 34
- Figura 6** – pH de soluções de NaOCl e Ca(OCl)<sub>2</sub> armazenadas em temperatura ambiente (+/- 25°C) pelos períodos imediato, 30, 60 e 90 dias ..... 35
- Figura 7** – (A) Composição das partículas obtida a partir de espectroscopia de dispersão de energia e (B) Análise morfológica obtida com imagens do Ca(OCl)<sub>2</sub> através de microscópio eletrônico de varredura (x100, 20 kV) ..... 36

## LISTA DE ABREVIATURAS

C	carbono
Ca	cálcio
Cl	cloro
Ca(OCl) <sub>2</sub>	hipoclorito de cálcio
Ca(OH) <sub>2</sub>	hidróxido de cálcio
EDS	energy dispersive x-ray spectroscopy (espectroscopia por dispersão de energia)
g	gramas
H <sup>+</sup>	íon hidrogênio
H <sub>2</sub> O	água
HOCl	ácido hipocloroso
kV	quilovolt
LABIM	laboratório de microbiologia e bioquímica bucal
mL	mililitro
Mol	quantidade de substância
Na <sup>+</sup>	íon sódio
NaOCl	hipoclorito de sódio
NaOH	hidróxido de sódio
OCl <sup>-</sup>	íon hipoclorito
(OCl) <sub>2</sub>	dióxido de cloro
OH <sup>-</sup>	íon hidroxila
pH	potencial hidrogeniônico
SEM	scanning electron microscopy (microscopia eletrônica de varredura)
x	multiplicação
°C	graus Célsius
α	alfa
=	igual
>	maior
+	mais/positivo
<	menor

- menos/negativo

% porcentagem

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	15
HIPOCLORITO DE SÓDIO .....	17
HIPOCLORITO DE CÁLCIO .....	21
<b>OBJETIVOS</b> .....	23
<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	24
PREPARO DAS AMOSTRAS E CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO .....	24
AVALIAÇÃO DO PH .....	26
DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CLORO ATIVO .....	26
ANÁLISE DOS DADOS .....	27
<b>RESULTADOS</b> .....	28
<b>DISCUSSÃO</b> .....	37
<b>CONCLUSÕES</b> .....	41
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	42
<b>ANEXO A - APROVAÇÃO DO PROJETO DE PESQUISA PELA COMISSÃO DE PESQUISA EM ODONTOLOGIA (COMPESQ-ODO)</b> .....	49

## INTRODUÇÃO

A desinfecção do sistema de canais radiculares é considerada complexa especialmente devido a fatores anatômicos. Diversas áreas do canal radicular permanecem intocadas durante o preparo químico-mecânico (PETERS et al., 2001). Dessa forma, o uso de soluções irrigadoras e de substâncias químicas auxiliares se torna importante e deve ser associado a instrumentação mecânica durante a terapia endodôntica, com o objetivo de promover a desinfecção do canal radicular.

Diversos irrigantes podem ser empregados durante o preparo químico-mecânico. O hipoclorito de sódio (NaOCl) é o composto mais utilizado como solução irrigadora na prática endodôntica (ZEHNDER et al., 2002). Essas soluções são disponibilizadas em diferentes concentrações, que frequentemente variam de 0,5% a 5,25% (PISKIN; TURKUN, 1995; FRAIS; NG; GULABIVALA, 2001). Sua capacidade de dissolver tecido orgânico (ZEHNDER et al., 2002; BELTZ; TORABINEJAD; POURESMAIL, 2003) e sua ação antimicrobiana de amplo espectro (SIQUEIRA et al., 1998; VIANNA et al., 2004) são características importantes dessa solução e foram amplamente relatadas na literatura. Essas propriedades dependem da liberação de cloro ativo, a partir da dissociação de ácido hipocloroso (HOCl) e íon hipoclorito (OCl<sup>-</sup>) (CLARKSON; MOULE; PODLICH, 2001; ZEHNDER et al., 2002).

O NaOCl é uma base forte, que apresenta pH em torno de 11 (ESTRELA et al., 2002). Sua forte alcalinidade é associada com sua habilidade de dissolver tecido orgânico (SPANÓ et al., 2001). Segundo Lopes e Siqueira (2010), o valor da solução de NaOCl deve-se ao teor de cloro que libera, denominado cloro ativo. A concentração de uma solução de NaOCl deve ser suficiente para garantir sua ação antimicrobiana e seu efeito de solvente de tecido. Entretanto, essas soluções são quimicamente instáveis (HOFFMAN; DEATH; COATES, 1991; LOPES & SIQUEIRA, 2010), e a exposição a luz, ao calor e ao ar contribuem para a instabilidade da solução (CLARKSON; MOULE; PODLICH, 2001), reduzindo sua vida útil. Além disso, o NaOCl é irritante aos tecidos periapicais (TANOMARU-FILHO et al., 2002), reduz a resistência flexural e o módulo de elasticidade da dentina (SIM et al., 2001; MOREIRA et al. 2009), e interfere negativamente na resistência de união de restaurações adesivas com a dentina (SANTOS et al., 2006; FARINA et al., 2011). Dessa forma, estudos devem ser realizados para testar soluções irrigantes que apresentem características semelhantes às apresentadas pelo NaOCl, como atividade solvente e ação antimicrobiana, porém com menores características adversas e que sejam estáveis quimicamente.

O hipoclorito de cálcio [Ca(OCl)<sub>2</sub>] é um pó branco utilizado para a esterilização industrial, branqueamento e tratamento de purificação da água (WHITTAKER; MOHLER, 1912). É estável e

apresenta mais cloro disponível em comparação ao NaOCl (DUTTA; SAUNDERS 2012). Sua incorporação em água pode contribuir para a preparação de uma solução mais precisa em concentração, o que pode ser uma vantagem clínica, permitindo o preparo de um irrigante imediatamente antes do seu uso. Entretanto, poucas são as informações disponíveis na literatura a respeito das propriedades químicas de soluções de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  e de seu uso em odontologia. Torna-se relevante a análise de suas propriedades e sua caracterização para que este composto possa ser empregado no preparo dos canais radiculares.

Dessa forma, a proposta desse trabalho foi analisar e descrever as características em relação ao pH e a concentração de cloro ativo de soluções de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  em diferentes concentrações, comparando-as às soluções de NaOCl. Fatores como tempo e temperatura de armazenamento foram avaliados com o objetivo de verificar seus efeitos na estabilidade das soluções testadas.

## REVISÃO DE LITERATURA

As principais alterações patológicas que acometem a polpa e os tecidos perirradiculares são de natureza inflamatória e de etiologia infecciosa. A polpa dental inflama como forma de resposta a um agente agressor, e as alterações desse tecido podem ocorrer devido a agentes químicos e físicos, mas em sua grande maioria são de etiologia bacteriana. Quando exposta, fica estabelecida uma área de contato direto entre tecido pulpar e microrganismos. A polpa responde às agressões através da inflamação, mas na grande maioria das vezes sofre alterações irreversíveis, que impossibilitam o seu reparo. Nesses casos, a intervenção é necessária e realiza-se a biopulpectomia, que consiste na remoção total do tecido pulpar, combatendo a infecção superficial e mantendo a assepsia da região radicular, com o objetivo de preservar a integridade dos tecidos adjacentes (LEONARDO, 2008; LOPES & SIQUEIRA, 2010).

A necrose pulpar é a morte da polpa, significando a cessação dos processos metabólicos do tecido, com a conseqüente perda de sua estrutura e de suas defesas naturais. Esse processo ocorre quando as defesas da polpa são vencidas, e pode ou não ser acompanhado de invasão bacteriana. Quando há a presença de bactérias no canal com necrose pulpar, estes microrganismos se multiplicam rapidamente, uma vez que as condições no interior do canal radicular são favoráveis para a proliferação (LEONARDO, 2008; LOPES & SIQUEIRA, 2010). A presença de microrganismos no interior de canais radiculares representa papel importante no desenvolvimento e na manutenção de doenças pulpares e periapicais (KAKEHASHI; STANLEY; FITZGERALD, 1965; MOLLER; FABRICIUS; DAHLEN, 1981; SUNDQVIST 1992). Dessa forma, além de remover o tecido pulpar necrosado, é necessário eliminar ou reduzir significativamente o número de microrganismos no interior do canal radicular em casos de necrose e infecção pulpar, possibilitando o reparo dos tecidos adjacentes alterados e a reabilitação do elemento dental.

Complexidades anatômicas representam restrições físicas que desafiam a adequada desinfecção do canal radicular (SIQUERA et al., 2010). A morfologia dentária apresenta características variáveis, e a configuração dos canais radiculares não é representada por um espaço tubular único, e sim por um complexo sistema apresentando canais laterais, canais secundários, canais acessórios e comunicações (HESS, 1925; DE-DEUS, 1975; SCARFE; FARMAN; SUKOVIC, 2006) que dificultam o acesso dos instrumentos endodônticos e favorecem a colonização e a permanência de microrganismos. Dessa forma, a terapia endodôntica depende da ação conjunta de instrumentos mecânicos e de soluções adjuvantes que consigam atuar em áreas de difícil acesso, resultando em um preparo químico e mecânico.

Sabe-se que o preparo químico-mecânico tem por objetivo promover a limpeza, a ampliação e a modelagem do canal radicular. Isso ocorre através da ação mecânica dos instrumentos junto às paredes internas do canal radicular principal, da ação de substâncias químicas auxiliares, que devem apresentar propriedades de solvente de matéria orgânica e atividade antimicrobiana, e da irrigação-aspiração por meio de soluções irrigadoras. A ação solvente das substâncias químicas auxiliares visa a remoção de tecido pulpar vivo ou necrosado de áreas inacessíveis pelos instrumentos endodônticos, evitando que a permanência de restos pulpares sirva de substrato para microrganismos remanescentes ou que por ventura possam ter acessado o canal, enquanto que a ação antimicrobiana visa auxiliar na desinfecção de canais contaminados ou impedir a contaminação de canais com polpa viva. O processo de irrigação-aspiração complementa a limpeza, removendo detritos do interior do canal radicular, às expensas da cinética do jato, da turbulência criada, e da corrente líquida (LOPES & SIQUEIRA, 2010).

Substâncias químicas podem ser empregadas no preparo dos canais radiculares como auxiliares da instrumentação e/ou como soluções irrigadoras, dependendo de suas propriedades químicas e físicas. Essas substâncias podem ser utilizadas em forma de solução líquida, creme ou gel. Quando na forma de solução, desempenham conjuntamente o papel de irrigante, contribuindo na limpeza mecânica do canal radicular, a partir da criação de turbulência no seu interior e do refluxo do líquido em direção coronária (LOPES & SIQUEIRA, 2010). A instrumentação mecânica em combinação com solução irrigadora inerte impossibilita a adequada redução de microrganismos viáveis do interior de canais infectados (BYSTRÖM; SUNDQVIST, 1981), e dificulta a prevenção da formação da *smear layer* (MAYER; PETERS; BARBAKOW, 2002), lama dentinária composta por resíduos provenientes da ação dos instrumentos sobre as paredes do canal (LOPES & SIQUEIRA, 2010). Dessa forma, Zehnder (2006) sugere que uma solução irrigadora ideal deve: apresentar ação antimicrobiana de amplo espectro e alta eficácia contra microrganismos organizados na forma de biofilme, dissolver tecido necrótico remanescente, inativar endotoxina, e prevenir a formação da *smear layer* durante o preparo, ou dissolve-la caso sua formação ocorra. Além disso, a solução irrigadora não deve ser tóxica aos tecidos adjacentes.

Diversas substâncias químicas auxiliares são propostas em endodontia. Dentre as mais indicadas estão as soluções antissépticas, que compreendem soluções de hipoclorito de sódio entre 0,5% a 6% e solução de gluconato de clorexidina a 2%; as soluções quelantes, sendo o EDTA (ácido etileno diamino tetracético) a mais conhecida; e outras soluções como água destilada esterilizada, água de hidróxido de cálcio, peróxido de hidrogênio, soro fisiológico, e ácido cítrico (LEONARDO, 2008). Mais recentemente, o uso do QMix (Dentsply Tulsa Dental, Tulsa, EUA), solução irrigadora que contém uma mistura de agente antimicrobiano, agente quelante, solução

salina e tensoativo, vem sendo proposto na irrigação final dos canais radiculares (ELAKANTI et al., 2015).

De todas as substâncias utilizadas atualmente, o NaOCl é a solução irrigadora que apresenta maior número de requisitos desejáveis para a irrigação de canais radiculares do que qualquer outro composto (ZEHNDER, 2006). Suas características favorecem seu uso em biopulpectomias e em casos de necrose e infecção pulpar.

### **Hipoclorito de Sódio**

Soluções de hipoclorito foram inicialmente utilizadas como agentes branqueadores. Subsequentemente, soluções de NaOCl foram recomendadas por Labarraque para a prevenção de doenças infecciosas, e estudos conduzidos por Koch e Pasteur possibilitaram grande aceitação dessas soluções como desinfetantes no final do século XIX (ZEHNDER, 2006). Na Primeira Guerra Mundial, o químico Henry Drysdale Dakin e o cirurgião Alexis Carrel estenderam o uso de soluções tamponadas de NaOCl a 0,5% para a irrigação de feridas infectadas, baseado em estudos realizados por Dakin (1915) a respeito da eficácia de diferentes soluções sobre tecidos necróticos infectados. Seu uso em endodontia foi proposto inicialmente por Coolidge (1919) e desde então esse composto vem sendo aceito como principal solução irrigadora de canais radiculares. Além de possuir ação antimicrobiana de amplo espectro (SIQUEIRA et al., 1998; VIANNA et al., 2004), preparações de NaOCl atuam sobre vírus e esporos (MCDONNELL; RUSSELL, 1999). Estudos demonstram sua capacidade de atuar sobre microrganismos patogênicos organizados na forma de biofilme e localizados no interior dos túbulos dentinários (SPRATT et al., 2001; ORSTAVIK; HAAPASALO, 1990), e sua capacidade de agir sobre endotoxina (LPS) é relatada na literatura (SILVA et al., 2004). Esse composto apresenta capacidade de dissolver tecido necrótico (NAENNI; THOMA; ZEHNDER, 2004) e componentes orgânicos da *smear layer* (BAUMGARTNER; MADER, 1987).

Historicamente, soluções de hipoclorito de sódio eram produzidas em escala comercial por passagem (borbulhamento) de gás cloro através de uma solução de hidróxido de sódio (BROOKS, 1986; LEONARDO, 2008). Mais tarde, a eletrossíntese tornou-se prática padrão na produção dessas soluções. Atualmente, o NaOCl, independentemente da sua utilização final, é geralmente fabricado por eletrólise de uma solução de cloreto de sódio (NaCl). Uma solução de NaOCl a 15% com pH entre 12 e 14 é produzida por este método e, em seguida, diluída com água deionizada para produzir soluções que satisfazem as especificações comerciais (FRAIS; NG; GULABIVALA, 2001).

O hipoclorito de sódio em solução aquosa exibe um equilíbrio dinâmico de acordo com a reação:  $\text{NaOCl} + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{NaOH} + \text{HOCl} \leftrightarrow \text{Na}^+ + \text{OH}^- + \text{H}^+ + \text{OCl}^-$  (ESTRELA et al., 2002). Quando entra em contato com matéria orgânica, diversas reações químicas acontecem. Ácidos graxos presentes no tecido reagem com hidróxido de sódio (NaOH) formando sabão e glicerol (álcool) (reação de saponificação), aminoácidos de proteínas reagem com NaOH formando sal e água (reação de neutralização) e também reagem com ácido hipocloroso (HOCl) formando cloramina e água. Essas reações ocorrem sinérgica e simultaneamente, conduzindo a liquefação do tecido orgânico (SPANÓ et al., 2001).

Segundo Estrela et al. (2002), o NaOCl é uma base forte, com pH em torno de 11, e sua ação antimicrobiana está relacionada com o seu elevado pH, que interfere na integridade da membrana citoplasmática de bactérias, promovendo irreversível inativação enzimática originada por íons hidroxila ( $\text{OH}^-$ ) e pela ação de cloraminação. Entretanto, sabe-se que a ação desinfetante de soluções cloradas se deve à liberação de cloro. Cloro livre pode ser definido como a mensuração da capacidade oxidativa e é expresso pela quantidade de elemento cloro na solução (CHRISTENSEN; MCNEAL; ELEAZER, 2008). A formação de compostos contendo cloro ativo, como ácido hipocloroso (HOCl) e íon hipoclorito ( $\text{OCl}^-$ ) é a principal responsável pela excelente atividade antimicrobiana da solução (DYCHDALA, 1991). A inibição enzimática e a formação de cloraminas após reação do NaOCl com os componentes do citoplasma microbiano são os efeitos antibacterianos relacionados ao cloro ativo liberado (LOPES & SIQUEIRA, 2010).

Alguns fatores podem interferir nas atividades antimicrobiana e solvente de tecido de soluções de NaOCl, entre elas o pH (CHRISTENSEN; MCNEAL; ELEAZER, 2008, BREMER; MONK; BUTLER, 2002 MERCADE et al., 2009), a temperatura (CUNNINGHAM; BALEKJIAN, 1980; ABOU-RASS; OGLESBY, 1981; GAMBARINI; DE LUCA; GEROSA, 1998) e a concentração da solução (VIANNA et al., 2004; DE ALMEIDA et al., 2013).

O pH de uma solução pode ser definido como o logaritmo negativo da concentração de íons hidrogênio ( $\text{H}^+$ ). Valores baixos de pH (abaixo de 7) correspondem a concentrações mais elevadas de  $\text{H}^+$  (soluções ácidas), e valores elevados de pH (acima de 7), a concentrações baixas de  $\text{H}^+$  (soluções básicas ou alcalinas). Uma solução ácida, ao ser dissolvida em água sofre ionização e libera íons  $\text{H}^+$ , enquanto que uma solução básica ao ser dissolvida em água sofre dissociação iônica e libera íons  $\text{OH}^-$  (recebe um íon  $\text{H}^+$ ) (LOPES & SIQUEIRA, 2010).

Christensen et al. (2008), realizaram estudo avaliando o efeito da diminuição do pH sobre a capacidade de dissolução tecidual de soluções de NaOCl em diferentes concentrações. Ao comparar NaOCl 2,6% e 5,25% em pH 12 e 9, os autores encontraram diferença na habilidade de dissolver tecido muscular suíno em relação a concentração das soluções, quando essas

apresentavam o mesmo pH. Entretanto, soluções de mesma concentração não apresentaram diferença na dissolução tecidual quando o pH foi reduzido de 12 para 9. Já em pH 6, não houve diferença na dissolução tecidual entre as concentrações, porém a capacidade de dissolução reduziu em relação aos pHs 12 e 9. Os achados desse estudo reforçam o conceito de que soluções mais concentradas representam papel importante para a dissolução, e que a redução no pH afeta negativamente essa propriedade.

Sabe-se que a ação antimicrobiana de soluções cloradas ocorre principalmente devido a formação de HOCl e OCl<sup>-</sup>. A dissociação do HOCl depende do pH da solução. Em meio ácido, há o predomínio da forma de ácido não dissociado, enquanto em meio alcalino o OCl<sup>-</sup> encontra-se em maior quantidade (LOPES & SIQUEIRA, 2010). A ação antimicrobiana do NaOCl é inversamente proporcional ao pH da solução, ou seja, ela se torna pronunciada quando o pH decai (BREMER; MONK; BUTLER, 2002; MERCADE et al., 2009). Mercade et al. (2009), compararam *in vitro* a ação antimicrobiana de soluções de NaOCl 4,2% com pH ajustado para 12, 7,5 e 6,5 sobre canais radiculares humanos infectados com *Enterococcus faecalis*. Os autores concluíram que ocorre aumento significativo na ação antibacteriana da solução testada em pH 6,5 em comparação a mesma solução em pH 12. Sugere-se que HOCl apresenta maior efeito antimicrobiano do que o OCl<sup>-</sup> (DYCHDALA, 1991; BAUMGARTNER; IBAY, 1987).

Todavia, o pH ácido compromete a estabilidade de soluções de NaOCl (PONZANO, 2007; MERCADE et al., 2009). Reduzir o pH de soluções de NaOCl a partir da adição de ácido leva a neutralização de íons OH<sup>-</sup>, dessa forma interferindo na vida útil da solução, uma vez que a disponibilidade de OH<sup>-</sup> decai (CAMPS et al., 2009). Camps et al. (2009) avaliado a estabilidade, a capacidade de dissolução pulpar e a ação antimicrobiana de soluções de NaOCl 2,5% com pH ajustado para 7,5 concluíram que soluções neutralizadas apresentam maior ação antimicrobiana, mas a capacidade de dissolver tecido pulpar é semelhante em comparação a solução não neutralizada. Os autores relatam que soluções de NaOCl 2,5% com pH 7,5 apresentam redução na concentração de cloro ativo para 29% em relação ao valor inicial de 2,48%, após 4 horas. O pH da solução também reduziu de 7,3 para 4,9 após 5 horas. Idealmente, o pH das soluções cloradas deve chegar às condições de acidez unicamente no momento do uso, com liberação de cloro nascente em meio ácido (GOODMAN; GILMAN, 1978). A própria acidez tecidual é suficiente para atingir essas condições (PARKS et al., 1949). Spanó et al. (2001), avaliando soluções de NaOCl após o processo de dissolução tecidual, relatam que ocorre diminuição dos valores de pH, justificada devido a interação entre NaOH e matéria orgânica, através da reação de saponificação e de neutralização. Soluções mais concentradas apresentaram menor redução no pH após o processo de dissolução tecidual, devido a maior concentração de OH<sup>-</sup>.

O aumento da temperatura de soluções de NaOCl durante a terapia endodôntica intensifica sua ação solvente e antimicrobiana (CUNNINGHAM; BALEKJIAN, 1980; ABOU-RASS; OGLESBY, 1981; GAMBARINI; DE LUCA; GEROSA, 1998). A elevação da temperatura aumenta a frequência das colisões moleculares, contribuindo para o aumento da velocidade da reação entre elas e consequentemente aumentando a velocidade da dissolução tecidual (SANTOS, 1999) e a liberação de cloro ativo. Entretanto, a exposição contínua ao calor acelera a degradação da solução (FRAIS; NG; GULABIVALA, 2001) contribuindo para sua instabilidade. Gambarini et al. (1998) observaram que soluções de NaOCl aquecidas a 50°C demonstraram degradação crescente com o passar do tempo. Piskin e Turkun (1995) demonstraram que todas as soluções sofrem degradação com o tempo, e que soluções de NaOCl 5% deterioram mais rapidamente quando armazenadas a 24°C do que quando mantidas a 4°C.

A concentração de uma solução é a relação de quantidade entre soluto, solvente e solução. Quando determinada na forma de porcentagem em massa ou em peso, representa a massa de soluto dissolvida em 100 unidades de massa da solução. As soluções de NaOCl são geralmente conhecidas como solução de Dakin (NaOCl a 0,5% neutralizada por ácido bórico para reduzir o pH próximo a neutro), líquido de Dausfrene (NaOCl a 0,5% neutralizada por bicarbonato de sódio), solução de Milton (NaOCl a 1% estabilizada por cloreto de sódio 16%), licor ou solução de Labarraque (NaOCl a 2,5%), soda clorada (NaOCl de concentração variável entre 4 e 6%), e água sanitária (NaOCl a 2-2,5%) (LEONARDO, 2008; LOPES & SIQUEIRA, 2010).

Não há um consenso na literatura a respeito da concentração ideal de soluções de NaOCl a ser utilizada em endodontia (ZEHNDER, 2006). Diversos autores relatam a relação diretamente proporcional entre concentração da solução e atividade solvente (HAND; SMITH; HARRISON, 1978; SPANÓ et al., 2001; STOJICIC et al., 2010; DE ALMEIDA et al., 2013). A literatura também demonstra que soluções mais concentradas apresentam ação antimicrobiana intensificada (VIANNA et al., 2004, BERBER et al., 2006). Essas atividades diminuem conforme a solução é diluída, sendo a ação solvente mais afetada que a antimicrobiana (LOPES & SIQUEIRA, 2010). Frequentemente, o NaOCl é utilizado em endodontia nas concentrações entre 0,5% e 5,25% (PISKIN; TURKUN, 1995; FRAIS; NG; GULABIVALA, 2001), e um estudo recente avaliou o uso de NaOCl em concentração ainda maior, de 8,25% (CULLEN et al., 2015), porém, de acordo com Johnson et al. (2004), o aumento de concentração de NaOCl acima de 6% não determina significativamente maior capacidade solvente; e soluções mais concentradas causam severa irritação quando são inadvertidamente forçadas para a região periapical (HÜLSMANN; HAHN, 2000). Leonardo (2008) recomenda o uso de soluções mais concentradas, como a soda clorada ou NaOCl a 5,25%, para a neutralização do conteúdo tóxico de canais infectados, e a solução de

Labarraque (2,5%) durante o preparo químico-mecânico desses canais. Já para os casos de biopulpectomias e de necrose sem lesão visível radiograficamente, o autor recomenda a utilização de solução menos concentrada (solução de Milton), com o objetivo de manter a integridade dos tecidos da região apical e periapical.

Um dos problemas relacionados ao NaOCl é a questão da sua vida útil. Essas soluções são instáveis (HOFFMAN; DEATH; COATES, 1981; LOPES & SIQUEIRA, 2010). A concentração de cloro ativo deteriora com o passar do tempo, com a exposição a luz, ao ar (NICOLETTI; MAGALHÃES, 1996; RUTALA; COLE; THOMANN, 1998), ao calor (GAMBARINI; DE LUCA; GEROSA, 1998), e em contato com matéria orgânica (CLARKSON; MOULE, 1998). Lopes e Siqueira (2010), avaliando a concentração de cloro ativo em amostras de soluções de NaOCl utilizadas em consultórios odontológicos, concluíram que nenhuma amostra apresenta a concentração prevista pelo fabricante, e soluções menos concentradas (0,5%) foram as que mais perderam cloro ativo proporcionalmente. Clarkson et al. (2001) observaram que soluções em menor concentração deterioram mais rapidamente. Alguns autores preconizam o armazenamento de soluções de NaOCl sob refrigeração, contribuindo para a sua vida útil (PISKIN; TURKUN, 1995; HOFFMAN; DEATH; COATES, 1981).

Uma vez que o NaOCl necessita estar em concentração suficiente para exercer seus efeitos antimicrobiano e solvente de tecido, a questão da sua instabilidade química é crítica. Ocorre decréscimos significativos de concentração quando soluções de NaOCl são armazenadas em condições inadequadas, ou quando o frasco, durante o uso, é frequentemente aberto (LOPES & SIQUEIRA, 2010). O uso de soluções irrigadoras deterioradas pode contribuir para o insucesso do tratamento, já que suas propriedades antimicrobiana e de solvente de tecido estão comprometidas. Dessa forma, a utilização de soluções frescas é recomendada (GAMBARINI; DE LUCA; GEROSA, 1998). Entretanto, quando obtidas a partir da diluição de uma solução mais concentrada, já instável, podem não apresentar a eficácia desejada.

### **Hipoclorito de Cálcio**

O hipoclorito de cálcio  $[Ca(OCl)_2]$  é um pó branco utilizado para esterilização industrial, branqueamento e tratamento de purificação da água (WHITTAKER; MOHLER, 1912). É relativamente estável, e apresenta mais cloro disponível em comparação ao NaOCl (65% a mais) (DUTTA; SAUDERS, 2011). Está disponível na forma de grânulos, e sua incorporação em água pode contribuir para a preparação de soluções mais precisas em concentração, em comparação a soluções produzidas a partir de diluição de uma solução mais concentrada. Quando dissolvido

em água, exibe a seguinte reação:  $\text{Ca(OCl)}_2 + 2 \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow 2 \text{HOCl} + \text{Ca(OH)}_2$  (DUTTA; SAUDERS, 2011).

Poucos estudos na literatura avaliam o uso de soluções de  $\text{Ca(OCl)}_2$  em odontologia. Dutta e Sauders (2012) analisaram a capacidade de dissolução tecidual dessas soluções nas concentrações 5% e 10%, e compararam os resultados ao NaOCl na concentração 5,25%. Os autores observaram que o NaOCl dissolve amostras de tecido muscular bovino mais rapidamente, mas não encontraram diferença entre as soluções após 35 a 60 minutos de ação sobre o tecido.

Mais recentemente, de Almeida et al. (2014) avaliaram a ação antimicrobiana de soluções de  $\text{Ca(OCl)}_2$  a 2,5% associada ou não à irrigação ultrassônica passiva contra *Enterococcus faecalis*, durante o preparo químico-mecânico. Os resultados mostraram que  $\text{Ca(OCl)}_2$  associado a irrigação ultrassônica é eficiente para reduzir a contaminação do canal radicular, contribuindo de forma significativa na diminuição do conteúdo microbiano durante o seu preparo. Taneja et al. (2014) realizaram estudo comparando a capacidade de dissolução de tecido pulpar humano de soluções de dióxido de cloro ( $\text{OCl}_2$ ) 5% e 13%, de NaOCl 2,5% e 5% e de  $\text{Ca(OCl)}_2$  5% e 10%. Os fragmentos pulpares foram expostos a 5 mL das soluções pelos tempos experimentais de 30 e 60 minutos. Os autores concluíram que soluções de  $\text{Ca(OCl)}_2$  em ambas concentrações foram eficientes para dissolver o tecido pulpar em 60 minutos.

Um estudo preliminar mostrou que soluções de  $\text{Ca(OCl)}_2$  demonstram valores de pH extremamente alcalinos imediatamente após a manipulação, e parecem não sofrer variações importantes no pH ao longo de 4 semanas, quando armazenadas sob refrigeração, em estufa ou em temperatura ambiente, em comparação às soluções de NaOCl de mesma concentração (LEONARDO, 2013).

Entretanto, pouco se sabe a respeito das propriedades químicas de soluções de  $\text{Ca(OCl)}_2$  e suas diferentes concentrações. Não há trabalhos na literatura em relação ao pH, a concentração de cloro ativo e o efeito de diferentes condições de armazenamento sobre as características dessas soluções. Estudos são necessários para analisar propriedades desejadas desse composto, com o objetivo de consolidá-lo como irrigante viável e alternativo na terapia endodôntica.

## OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o pH e a concentração de cloro ativo de soluções de NaOCl e  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  de diferentes concentrações, recém manipuladas e armazenadas em temperatura ambiente, geladeira e estufa por 30, 60 e 90 dias.

Os objetivos específicos do estudo foram:

- a) Descrever as características em relação ao pH e a concentração de cloro ativo apresentadas pelas soluções de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ ;
- b) Comparar o pH e a concentração de cloro ativo entre soluções de NaOCl e  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  de mesma concentração, armazenadas pelo mesmo período e sob a mesma condição de armazenamento;
- c) Comparar o pH e a concentração de cloro ativo de soluções de NaOCl ou de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  de mesma concentração, recém manipuladas, com soluções armazenadas pelos períodos experimentais, sob a mesma condição de armazenamento.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi submetido e aprovado pela Comissão de Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Protocolo número 25157/2013), conforme demonstrado no **Anexo 1**. A etapa experimental foi desenvolvida no Laboratório de Microbiologia e Bioquímica Bucal (LABIM) da Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

### Preparo das amostras e condições de armazenamento

As soluções de NaOCl e de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  foram preparadas imediatamente antes do experimento.

Quinze mililitros de soluções de NaOCl nas concentrações desejadas foram preparados a partir de uma solução de NaOCl a 12% (Farmaquímica S.A. Produtos Químicos, Porto Alegre, Brasil), diluída em água destilada e esterilizada, de acordo com os seguintes protocolos:

- Solução de NaOCl 0,5%: 0,625 mL de NaOCl 12% + 14,375 mL de água destilada esterilizada.
- Solução de NaOCl 1%: 1,25 mL de NaOCl 12% + 13,75 mL de água destilada esterilizada.
- Solução de NaOCl 2,5%: 3,125 mL de NaOCl 12% + 11,875 mL de água destilada esterilizada.
- Solução de NaOCl 5,25%: 6,56 mL de NaOCl 12% + 8,44 mL de água destilada esterilizada.

Para a obtenção de 15 mL de soluções de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ , porções de pó de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  (Farmaquímica S.A. Produtos Químicos, Porto Alegre, RS, Brasil) foram obtidas com auxílio de balança de precisão (Sartorius AG, Gottingen, Germany) e misturadas em água destilada esterilizada. Levando em consideração a pureza do soluto (65%), e com o objetivo de manipular uma solução de concentração precisa, a quantidade de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  necessária para a obtenção das soluções nas concentrações desejadas foi calculada com o auxílio de uma ferramenta desenvolvida para o preparo de soluções químicas, disponível pelo site: <http://www.fop.unicamp.br/calculos/calculos/calc-porcentagem.php>, conforme segue:

- Solução de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  0,5%: 0,1153 g de pó de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  + 15 mL de água destilada esterilizada.
- Solução de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  1%: 0,2307 g de pó de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  + 15 mL de água destilada esterilizada.

- Solução de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  2,5%: 0,5769 g de pó de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  + 15 mL de água destilada esterilizada.
- Solução de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  5,25%: 1,2115 de pó de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  + 15 mL de água destilada esterilizada.

Todas as soluções foram preparadas sob constante agitação. Após a total diluição do pó de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ , as soluções foram filtradas duas vezes para a remoção de impurezas.

As soluções de  $\text{NaOCl}$  e  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  foram armazenadas em tubos plásticos tipo falcon de 15 mL. Cada solução teste foi armazenada individualmente, de acordo com a concentração, o tempo e a condição de armazenamento. Os tubos foram mantidos fechados e envoltos por papel alumínio, com o objetivo de evitar o efeito de degradação causado pela exposição ao ar e a iluminação. Todas as soluções foram agitadas anteriormente as análises.

As soluções teste foram armazenadas a 4°C em geladeira, a 37°C em estufa microbiológica, e em temperatura ambiente (+/-25°C) dentro de um armário, pelos períodos de 30, 60 e 90 dias, como mostra o **Quadro 1**.

**Quadro 1:** Soluções nas concentrações teste distribuídas de acordo com a condição e o tempo de armazenamento.

Solução	Concentração	Condição de Armazenamento	Tempo de Armazenamento			
			Imediato	30 dias	60 dias	90 dias
NaOCl/ Ca(OCl) <sub>2</sub>	0,5%	Ambiente	Imediato	30 dias	60 dias	90 dias
		Geladeira	Imediato	30 dias	60 dias	90 dias
		Estufa	Imediato	30 dias	60 dias	90 dias
	1,0%	Ambiente	Imediato	30 dias	60 dias	90 dias
		Geladeira	Imediato	30 dias	60 dias	90 dias
		Estufa	Imediato	30 dias	60 dias	90 dias
	2,5%	Ambiente	Imediato	30 dias	60 dias	90 dias
		Geladeira	Imediato	30 dias	60 dias	90 dias
		Estufa	Imediato	30 dias	60 dias	90 dias
	5,25%	Ambiente	Imediato	30 dias	60 dias	90 dias
		Geladeira	Imediato	30 dias	60 dias	90 dias
		Estufa	Imediato	30 dias	60 dias	90 dias

### **Avaliação do pH**

O pH das soluções de NaOCl e Ca(OCl)<sub>2</sub> recém manipuladas (solução controle) e das expostas aos tempos e condições de armazenamento foram analisados em pHmetro digital (Digimed DM 23, São Paulo, SP, Brasil). A leitura do aparelho é feita em função da leitura da tensão (usualmente em milivolts) que o seu eletrodo gera quando submerso na amostra. A intensidade da tensão medida é convertida para uma escala de pH. O pHmetro foi calibrado anteriormente a todas as avaliações e água destilada foi utilizada para limpar o equipamento após a análise de cada solução. Três análises foram realizadas para cada amostra.

### **Determinação da concentração de cloro ativo**

A concentração de cloro ativo das soluções de NaOCl e Ca(OCl)<sub>2</sub> recém manipuladas e das expostas aos tempos e condições de armazenamento foi avaliada através de titulação iodométrica, como proposto por Pécora et al. (1999). Uma alíquota de 10 mL da solução teste foi transferida para uma proveta graduada de 100 mL. Em seguida, 90 mL de água destilada esterilizada foram acrescentados para a diluição da amostra. Uma alíquota de 15 mL da solução diluída foi transferida para um Erlenmeyer de 250 mL. Para a coloração da amostra, foi adicionado 1 mL da solução de iodeto de potássio e 1,7 mL da solução de ácido sulfúrico 10N. A titulação foi realizada com tiosulfato de sódio 0,1N até que a solução em questão ficasse límpida.

Nesse método, o iodo desloca o cloro ativo presente na solução na proporção de 1 mol para 1 mol. Quando o tiosulfato de sódio é adicionado à solução, ocorre uma reação de oxirredução do iodo, sendo possível determinar a quantidade desta substância. Portanto, o que está sendo titulado é o iodo, mas como ele está presente na mesma proporção que o cloro, sua concentração é facilmente determinada (ESTRELA, 2005).

Três análises foram realizadas para cada amostra. Para determinar a concentração de cloro, foram realizados cálculos estequiométricos, conforme segue apresentado no **Quadro 2**:

**Quadro 2:** Cálculos estequiométricos para determinar a concentração de cloro ativo.

<p><b>CÁLCULO 1</b>  0,0036 g <math>\text{Cl}_2</math> - 1 mL de tiosulfato de sódio  x - Volume de tiosulfato gasto na titulação (mL)</p>
<p><b>CÁLCULO 2</b>  15 mL - x (g de <math>\text{Cl}_2</math> presentes em 15mL)  100 mL - y (<math>\text{Cl}_2</math> ativo presente na solução diluição)</p>
<p><b>CÁLCULO 3</b>  <math>\text{Cl}_2</math> na solução = y x 10 (pois a solução inicial foi diluída x10).</p>

O resultado obtido foi expresso em gramas de cloro ativo por 100 mL de solução.

### **Análise dos dados**

Foi realizada análise estatística e descritiva, de acordo com as características dos dados. O pacote estatístico utilizado foi o BioEstat 5.0 (Fundação Mamirauá, Belém, PA). O nível de significância foi determinado em 5%. Os dados apresentaram distribuição normal. Teste t foi utilizado para as comparações dos tempos de armazenamento em relação às soluções recém manipuladas. Dados de pH e concentração de cloro ativo foram comparados entre as soluções de NaOCl e  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  nas mesmas concentrações, considerando a mesma condição e o mesmo período de armazenamento. Além disso, o pH e a concentração de cloro ativo de cada solução de NaOCl e  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  armazenada por 30, 60 e 90 dias foram comparados aos da respectiva solução recém manipulada.

## RESULTADOS

Soluções de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  apresentaram maior concentração de cloro ativo em comparação as soluções de  $\text{NaOCl}$  de mesma concentração, na mesma condição e no mesmo período de armazenamento (teste t,  $p < 0,05$ ). Entretanto, não houve diferença na concentração de cloro ativo dessas soluções a 0,5% quando armazenadas em temperatura ambiente ( $\pm 25^\circ\text{C}$ ) pelo período de 30 dias, e em estufa ( $37^\circ\text{C}$ ) nos períodos de 60 e 90 dias (teste t,  $p > 0,05$ ).

Ao comparar a concentração de cloro ativo de soluções recém manipuladas com a de soluções armazenadas pelos períodos experimentais, observou-se diminuição de cloro disponível na maioria dos tempos de armazenamento, especialmente para as soluções de  $\text{NaOCl}$  e  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  a 2,5% e 5,25%.

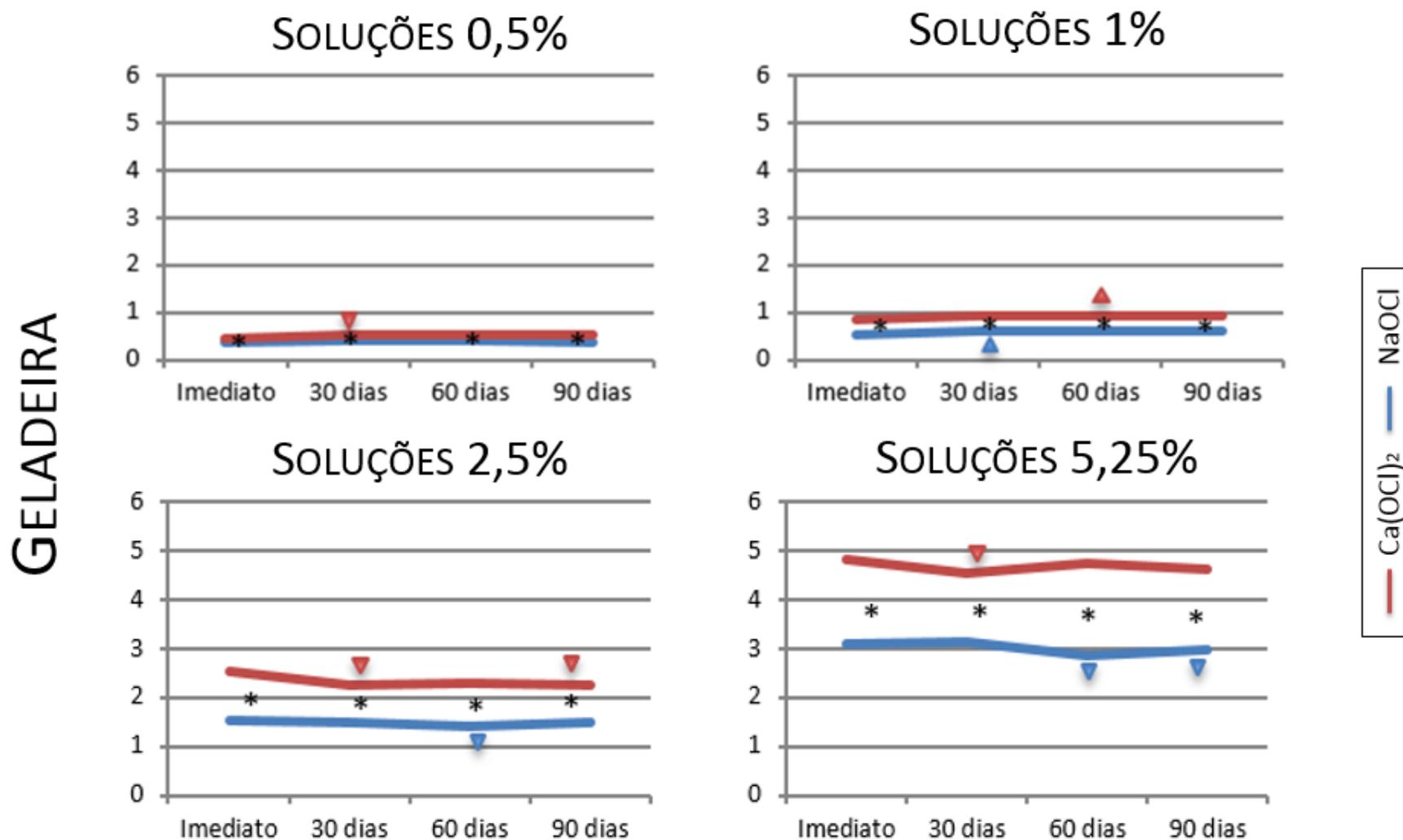
As **Figuras 1, 2 e 3** mostram os resultados da concentração de cloro ativo para as soluções de  $\text{NaOCl}$  e  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  nas diferentes concentrações, condições e períodos de armazenamento.

Soluções de  $\text{NaOCl}$  0,5% e 1% tendem a apresentar menores valores de pH em comparação às soluções de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  nas mesmas concentrações. Entretanto, soluções de  $\text{NaOCl}$  0,5% apresentaram maior valor de pH do que as soluções de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  de mesma concentração, quando armazenadas em estufa pelos períodos de 60 e 90 dias. Soluções de  $\text{NaOCl}$  5,25% apresentaram maior valor de pH em comparação às soluções de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  de mesma concentração (teste t,  $p < 0,05$ ), entretanto não houve diferença entre essas soluções quando armazenadas em geladeira por 30 e 60 dias (teste t,  $p > 0,05$ ). Ao comparar os valores de pH entre a solução recém manipulada e as soluções de mesma concentração armazenadas pelos períodos de 30, 60 e 90 dias, foi possível observar uma diminuição nos valores de pH para  $\text{NaOCl}$  e  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  0,5% e 1%. Entretanto, essa mesma comparação mostrou aumento nos valores de pH para as soluções nas concentrações 2,5% e 5,25%.

As **Figuras 4, 5 e 6** mostram os resultados do pH para as soluções de  $\text{NaOCl}$  e  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  nas diferentes concentrações, condições e períodos de armazenamento.

Soluções de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  nas concentrações 2,5% e 5,25% apresentaram a formação de precipitado que foi observado com o passar do tempo no fundo dos tubos de plástico, antes das avaliações. A morfologia das partículas foi observada com Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM, JEOL JSM-6010LA, Peabody, MA). Suas composições foram mensuradas com Espectroscopia por Dispersão de Energia (EDS, JEOL JSM-6010LA, Peabody, MA), que permitiu

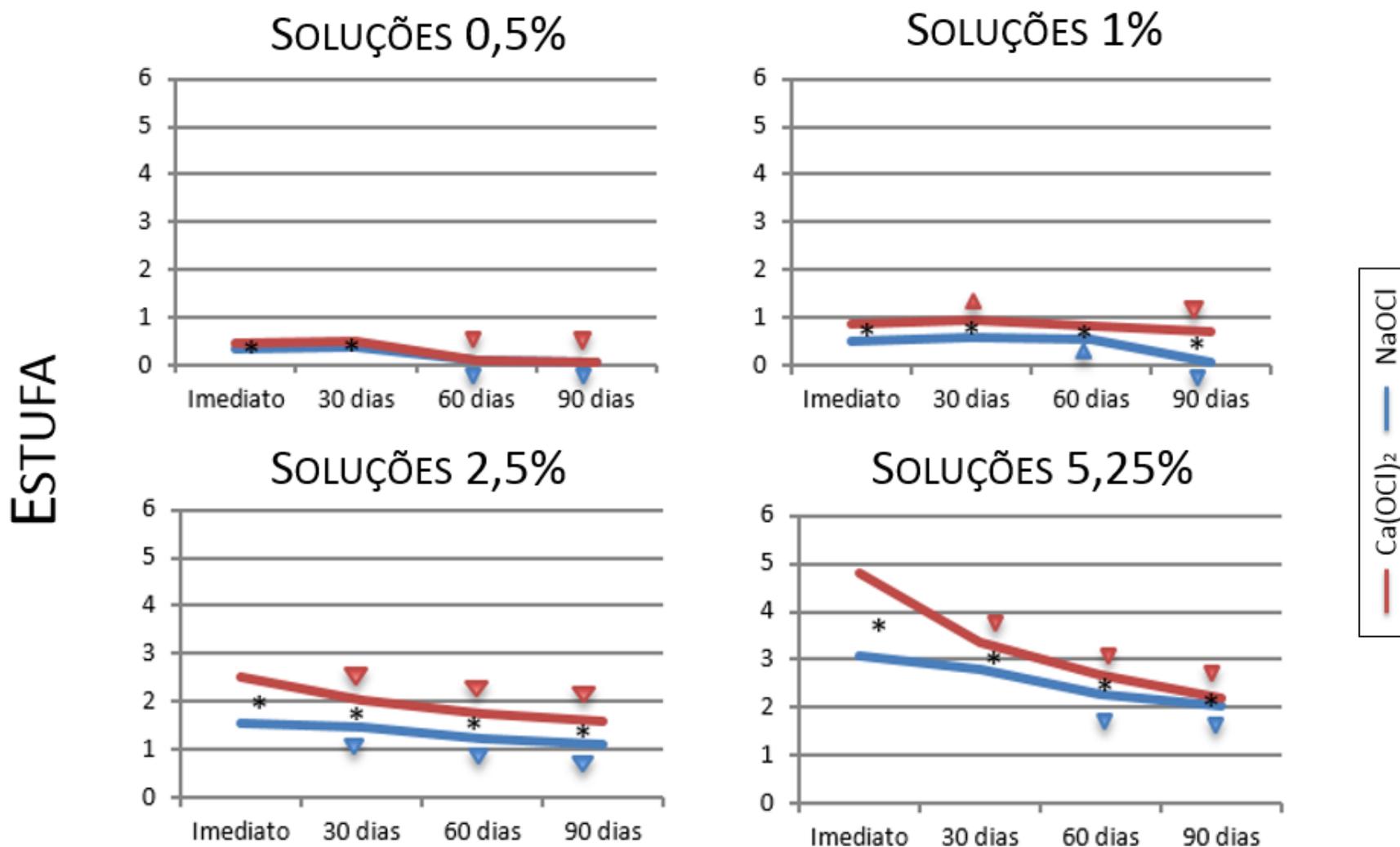
a detecção dos elementos individuais das partículas. Observou-se que as partículas apresentavam predominantemente cálcio em sua formação (**Figura 7**).



**Figura 1.** Concentração de cloro ativo de soluções de NaOCl e Ca(OCl)<sub>2</sub> armazenadas em geladeira (4°C), pelos períodos imediato, 30, 60 e 90 dias.

\* Representa diferença estatisticamente significativa da concentração de cloro ativo em soluções de NaOCl e Ca(OCl)<sub>2</sub> de mesma concentração, armazenadas no mesmo local. (Teste t,  $\alpha=5\%$ ).

A presença de uma seta indica diferença estatisticamente significativa, para uma mesma solução, nos diferentes tempos, quando comparada ao imediato. ▲ = aumento da concentração de cloro ativo; ▼ = diminuição da concentração de cloro ativo.

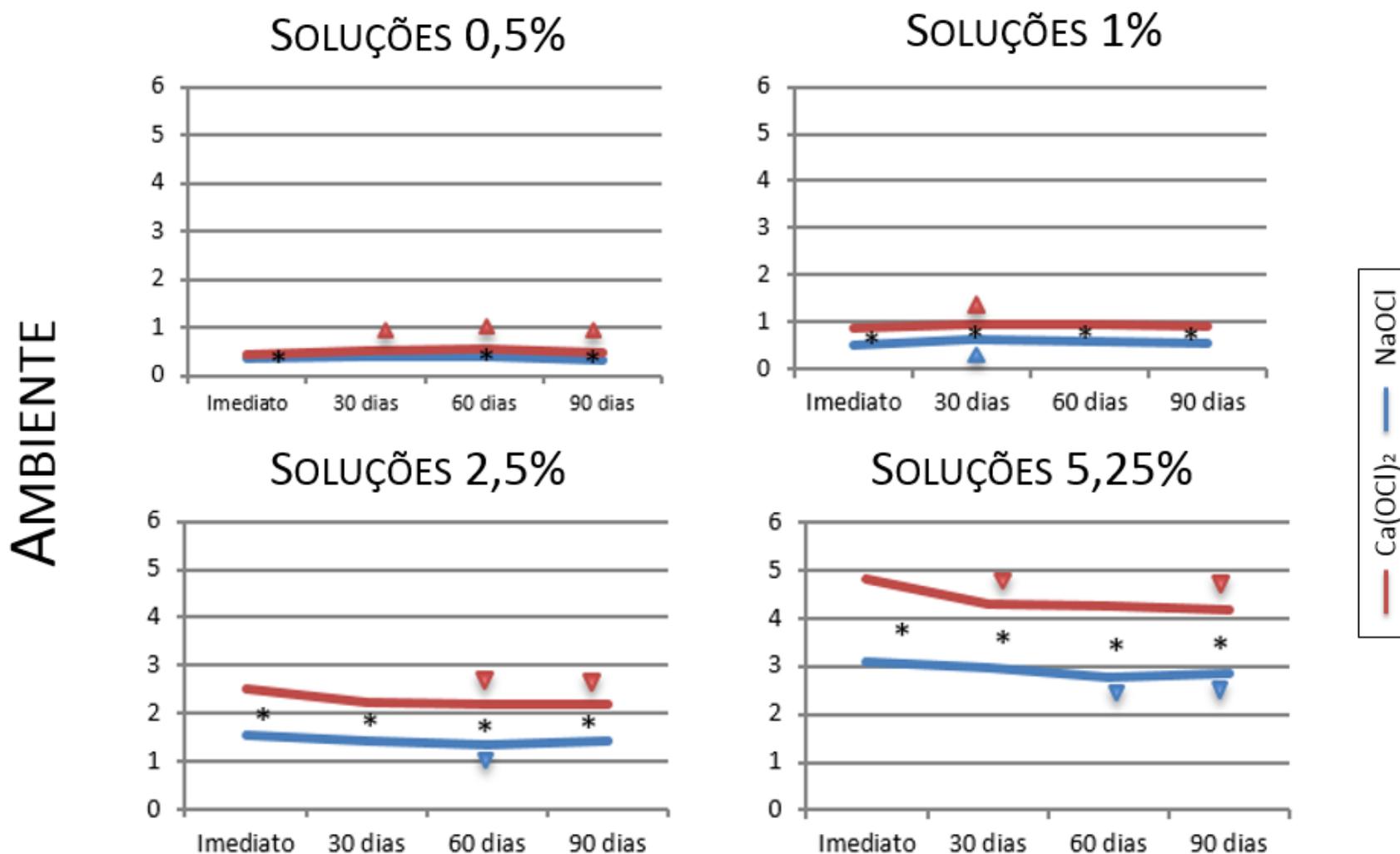


**Figura 2.** Concentração de cloro ativo de soluções de NaOCl e Ca(OCl)<sub>2</sub> armazenadas em estufa (37°C), pelos períodos imediato, 30, 60 e 90 dias.

\* Representa diferença estatisticamente significativa da concentração de cloro ativo em soluções de NaOCl e Ca(OCl)<sub>2</sub> de mesma concentração, armazenadas no mesmo local. (Teste t,  $\alpha=5\%$ ).

A presença de uma seta indica diferença estatisticamente significativa, para uma mesma solução, nos diferentes tempos, quando comparada ao imediato.

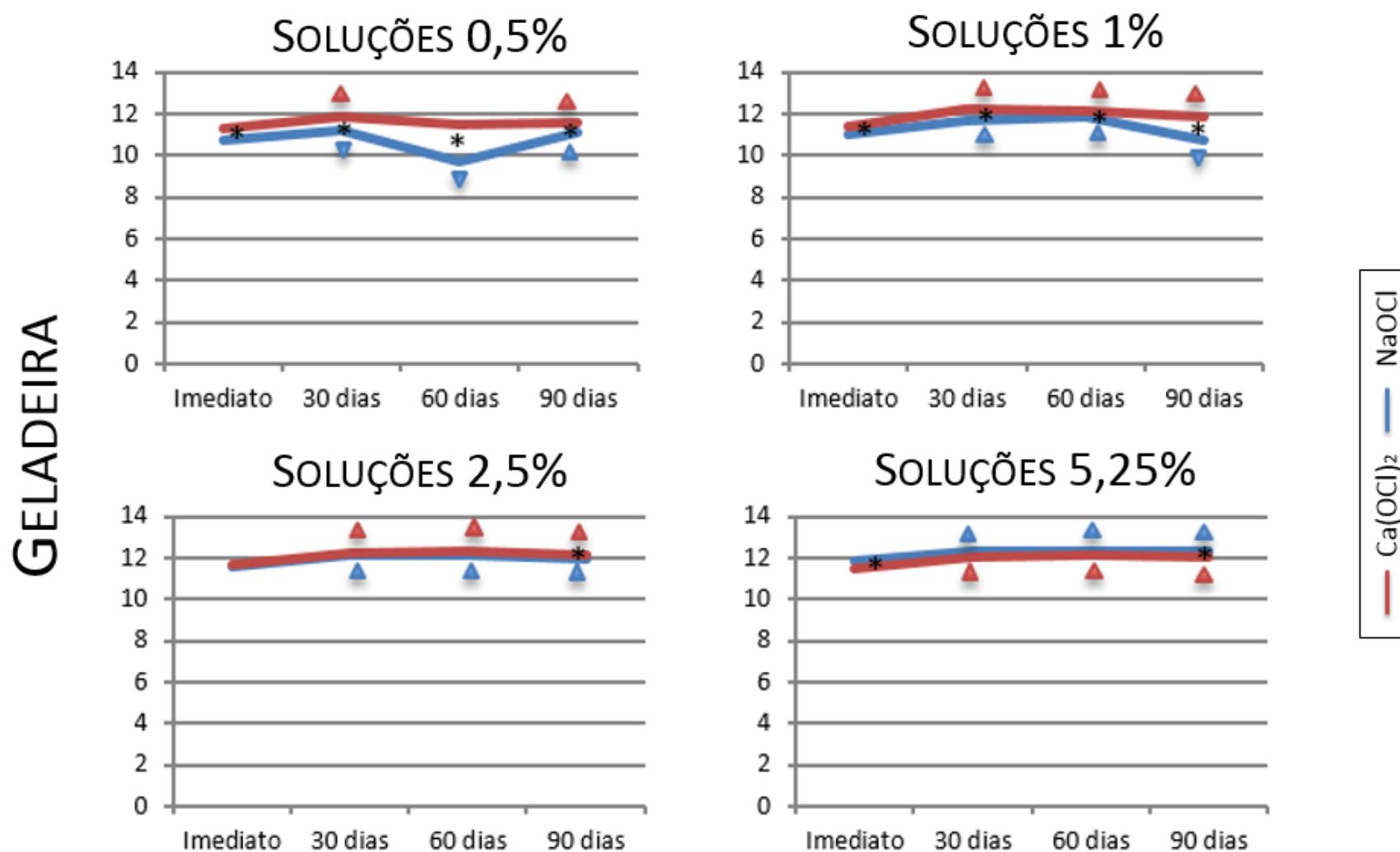
▲ = aumento da concentração de cloro ativo; ▼ = diminuição da concentração de cloro ativo.



**Figura 3.** Concentração de cloro ativo de soluções de NaOCl e Ca(OCl)<sub>2</sub> armazenadas em temperatura ambiente (+/- 25°C), pelos períodos imediato, 30, 60 e 90 dias.

\* Representa diferença estatisticamente significativa da concentração de cloro ativo em soluções de NaOCl e Ca(OCl)<sub>2</sub> de mesma concentração, armazenadas no mesmo local. (Teste t,  $\alpha=5\%$ ).

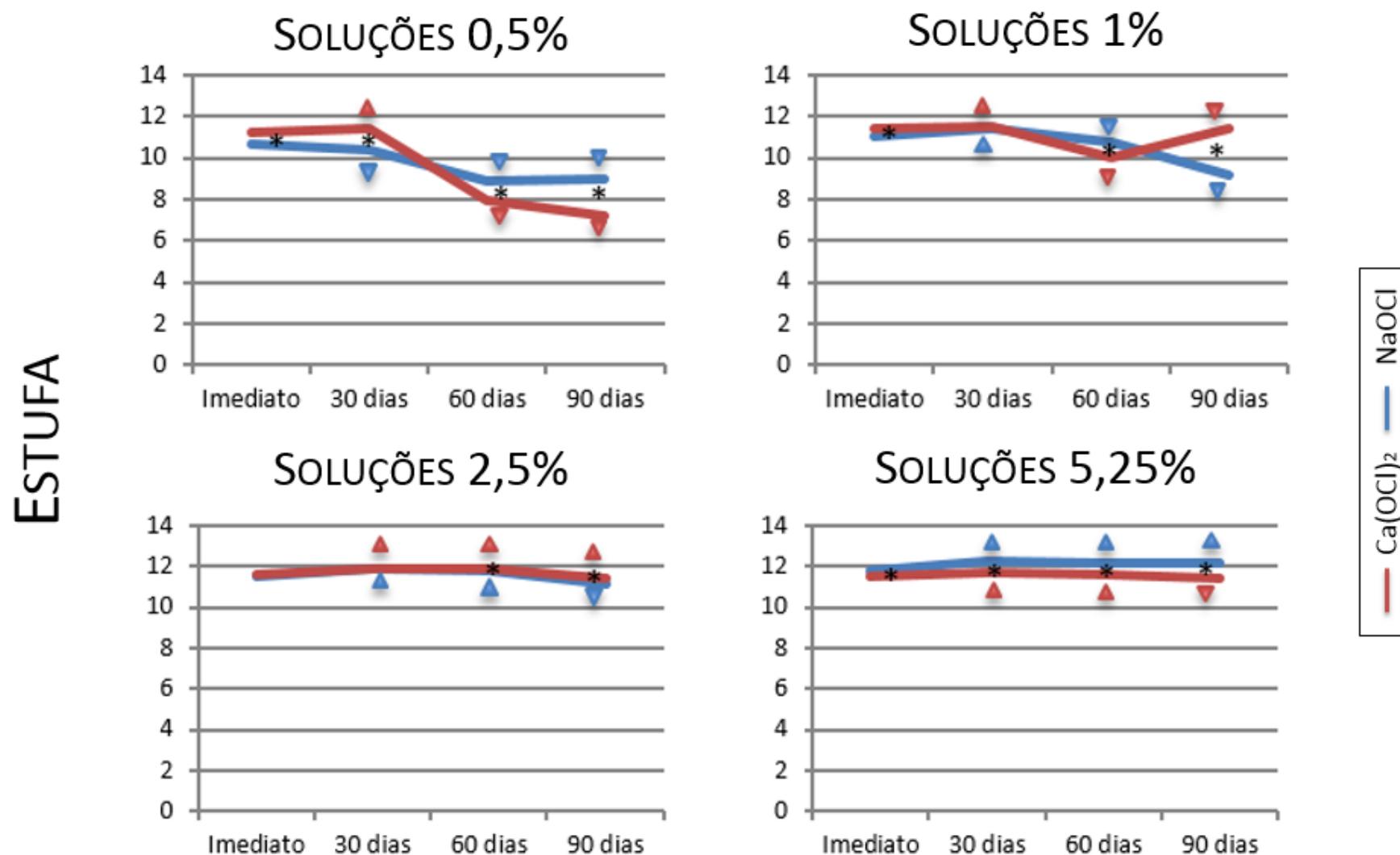
A presença de uma seta indica diferença estatisticamente significativa, para uma mesma solução, nos diferentes tempos, quando comparada ao imediato. ▲ = aumento da concentração de cloro ativo; ▼ = diminuição da concentração de cloro ativo.



**Figura 4.** pH de soluções de  $\text{NaOCl}$  e  $\text{Ca(OCl)}_2$  armazenadas em geladeira ( $4^\circ\text{C}$ ), pelos períodos imediato, 30, 60 e 90 dias.

\* Representa diferença estatisticamente significativa do pH em soluções de  $\text{NaOCl}$  e  $\text{Ca(OCl)}_2$  de uma mesma concentração, armazenadas no mesmo local. (Teste t,  $\alpha=5\%$ ).

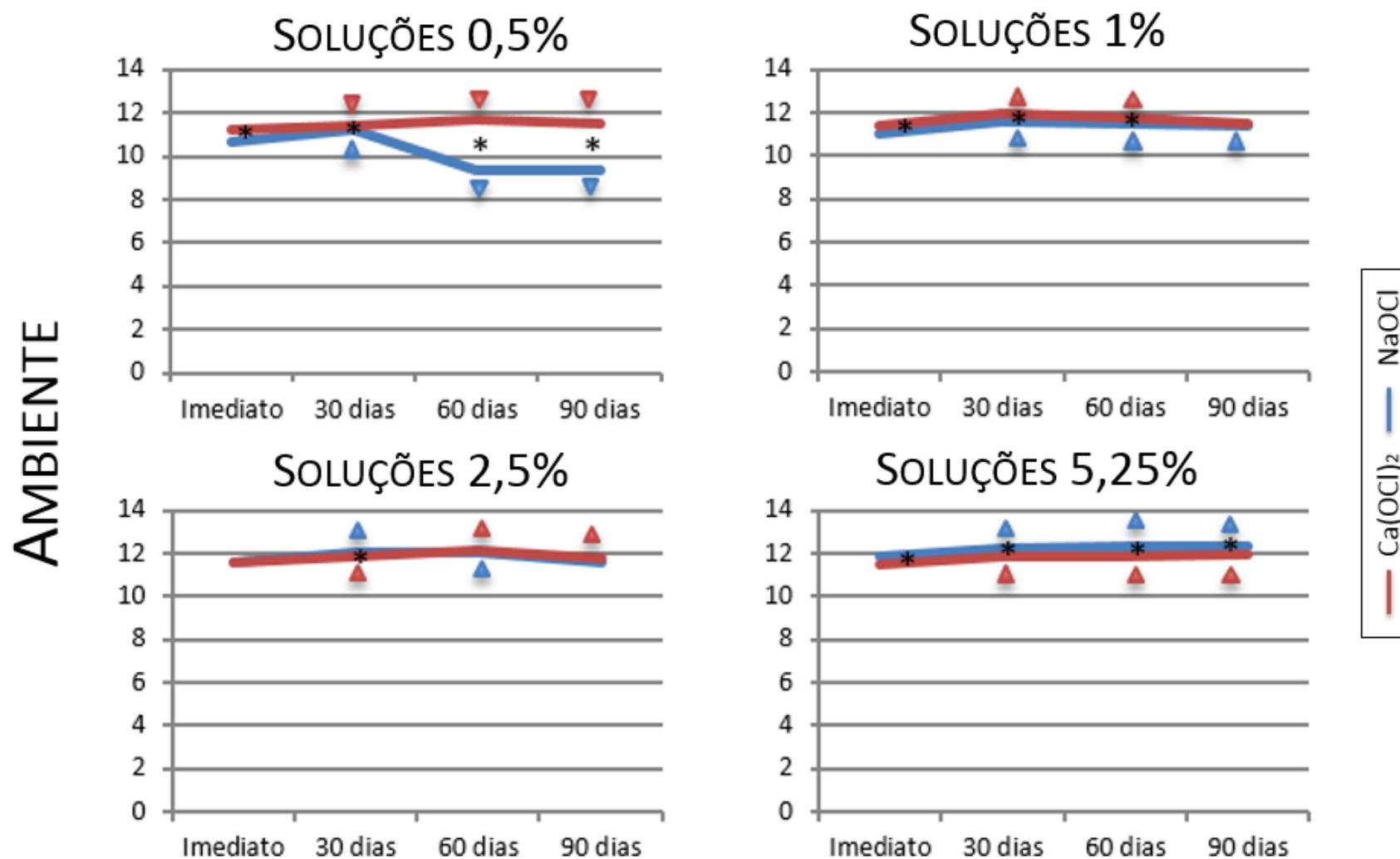
A presença de uma seta indica diferença estatisticamente significativa, para uma mesma solução, nos diferentes tempos, quando comparada ao imediato. ▲ = aumento do pH; ▼ = diminuição do pH.



**Figura 5.** pH de soluções de NaOCl e Ca(OCl)<sub>2</sub> armazenadas em estufa (37°C), pelos períodos imediato, 30, 60 e 90 dias.

\* Representa diferença estatisticamente significante do pH em soluções de NaOCl e Ca(OCl)<sub>2</sub> de uma mesma concentração, armazenadas no mesmo local. (Teste t,  $\alpha=5\%$ ).

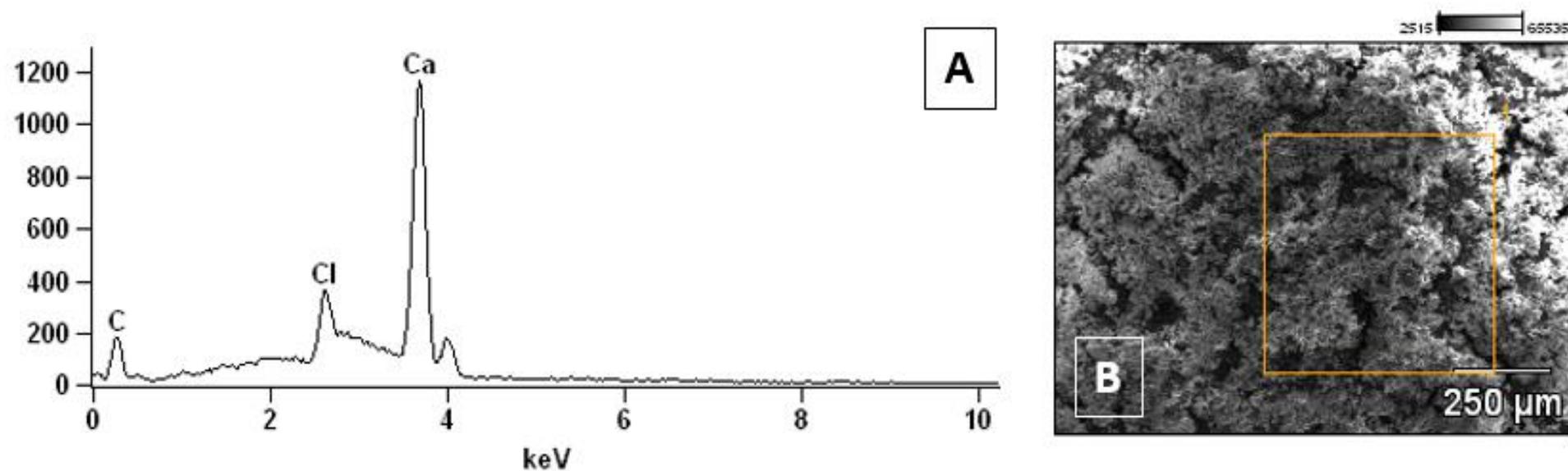
A presença de uma seta indica diferença estatisticamente significante, para uma mesma solução, nos diferentes tempos, quando comparada ao imediato. ▲ = aumento do pH; ▼ = diminuição do pH.



**Figura 6.** pH de soluções de  $\text{NaOCl}$  e  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  armazenadas em temperatura ambiente ( $\pm 25^\circ\text{C}$ ), pelos períodos imediato, 30, 60 e 90 dias.

\* Representa diferença estatisticamente significante do pH em soluções de  $\text{NaOCl}$  e  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  de uma mesma concentração, armazenadas no mesmo local. (Teste t,  $\alpha=5\%$ ).

A presença de uma seta indica diferença estatisticamente significante, para uma mesma solução, nos diferentes tempos, quando comparada ao imediato. ▲ = aumento do pH; ▼ = diminuição do pH.



**Figura 7.** (A) Composição das partículas obtida a partir de espectroscopia de dispersão de energia e (B) Análise morfológica obtida com imagens do  $\text{Ca(OCl)}_2$  através de microscópio eletrônico de varredura (x100, 20 kV).

## DISCUSSÃO

As propriedades de soluções de NaOCl são amplamente relatadas na literatura. O NaOCl é um composto fortemente alcalino, e segundo Camps et al. (2009) idealmente a concentração dessas soluções representa a sua concentração de cloro ativo. Suas atividades solvente e antimicrobiana estão associadas à concentração da solução. Soluções de NaOCl podem ser obtidas a partir da diluição de uma solução mais concentrada, já instável. Dessa forma, a manipulação de soluções estáveis, com concentração precisa, se torna difícil, podendo interferir nas características desejadas desse irrigante. É importante produzir soluções irrigadoras quimicamente estáveis, com propriedades semelhantes às apresentadas pelo NaOCl, e a preparação de soluções de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  pode ser mais acurada, uma vez que essas soluções são obtidas a partir da adição do pó em água, numa relação peso/volume, possibilitando a manipulação de um irrigante imediatamente antes do seu uso, em consultório odontológico.

Diferentes métodos podem ser empregados para avaliar cloro ativo e pH de soluções químicas. O presente trabalho avaliou a concentração de cloro ativo a partir de titulação, como proposto na literatura (SPANÓ et al., 2001; CAMPS et al., 2009; GUASTALLI; CLARKSON; ROSSI-FEDELE, 2015). Esse método pode ser considerado seguro e reprodutível (NICOLETTI et al. 2009). Sabe-se que a titulação inclui produtos de degradação, como íons clorato, que não apresentam propriedades terapêuticas (AIETA; ROBERTS; HERNANDEZ, 1984; PISARENKO et al., 2010) e que podem interferir na leitura de cloro livre. Métodos alternativos vem sendo propostos. Kubala et al. (1989) sugerem que a avaliação a partir de chama de emissão de infravermelho (flame infrared emission) produz meios sensíveis, reprodutíveis, precisos e diretos de determinação de cloro disponível. Clarkson et al. (2013) concluíram que a titulação termométrica (thermometric ammonium ion titration) fornece resultados mais precisos de cloro ativo em comparação a titulação iodométrica. Entretanto, como relatado por Guastalli et al. (2015), esses métodos não estão amplamente disponíveis. Já a análise de pH é comumente realizada a partir de pHmetro digital, e esse método é considerado simples e confiável (SPANÓ et al., 2001; CHRISTENSEN; MCNEAL; ELEAZER, 2008; GUERREIRO-TANOMARU et al., 2011).

Tomozawa et al (1981) relatam que soluções alcalinas contendo NaOH dissolvem a superfície do vidro, levando ao lento desenvolvimento de fendas e, conseqüentemente, degradando a resistência desse material. Dessa forma, tubos plásticos foram utilizados para armazenar as soluções de NaOCl e de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ , como sugerido por Frais et al. (2001). Como as soluções podem ser afetadas quando expostas a luz e ao ar, os tubos plásticos foram cobertos com papel alumínio e totalmente preenchidos pelas soluções teste, com o objetivo de impedir a

formação de amplo espaço entre o líquido e a tampa dos tubos. As soluções de NaOCl e de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  foram armazenadas em geladeira ( $4^\circ\text{C}$ ) e em estufa ( $37^\circ\text{C}$ ) com o objetivo de observar o efeito de temperaturas controladas e constantes no pH e na concentração de cloro ativo dessas soluções. O armazenamento em temperatura ambiente ( $\pm 25^\circ\text{C}$ ) foi realizado para reproduzir uma situação semelhante a observada em consultórios odontológicos, onde frascos contendo a solução irrigante são normalmente guardados em armários.

Apesar de apresentar coeficiente de solubilidade de 20g/100mL, soluções de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  nas concentrações 2,5% e 5,25% permitiram a formação de precipitado quando armazenadas, que não se dissolveu em água. O pó de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  utilizado para o preparo das soluções apresenta pureza de 65% e a presença de impurezas foi controlada através de filtração antes do armazenamento. Todas as soluções foram agitadas previamente às avaliações de pH e cloro ativo. A análise da morfologia das partículas a partir de microscopia eletrônica de varredura e da composição por espectroscopia de dispersão de energia mostrou a presença predominante de cálcio em sua formação. Estudos adicionais devem ser conduzidos com o objetivo de verificar a influência desse fator nas propriedades dessas soluções.

O NaOCl ioniza em solução aquosa para liberar HOCl e  $\text{OH}^-$ . Há predomínio de  $\text{OCl}^-$  em pH alcalino, enquanto o HOCl predomina em pH ácido (CHRISTENSEN; MCNEAL; ELEAZER, 2008; DUTTA; SAUNDERS, 2012). O HOCl e o  $\text{OCl}^-$  contribuem para a disponibilidade de cloro livre na solução. O  $\text{OCl}^-$  serve como reservatório para a formação de HOCl, e quando é consumido ocorre a redução no pH da solução (ROSSI-FEDELE et al., 2011) aumentando a liberação de cloro ativo e alterando sua vida útil.

As soluções de NaOCl e de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  demonstraram pH extremamente alcalino imediatamente após sua manipulação. Foi observado uma tendência de aumento no pH e na concentração de cloro ativo de acordo com o aumento da concentração das soluções. A alcalinidade de soluções de NaOCl é conhecida na literatura (SPANÓ et al., 2001; MOHAMMADI, 2008), e um estudo preliminar observou que soluções de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  apresentam caráter alcalino e parecem mostrar estabilidade em relação aos valores de pH em comparação às soluções de NaOCl, sob diferentes condições de armazenamento (LEONARDO, 2013).

O presente estudo mostrou que a concentração de cloro ativo de soluções de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  nas concentrações 1%, 2,5% e 5,25% foi maior do que o NaOCl nas mesmas concentrações. O nível de cloro disponível é o fator crítico que afeta a atividade de soluções de NaOCl (JOHNSON; REMEIKIS, 1993; RUTALA et al., 1998). Como essa solução é degradada pela luz, pelo ar, metais e contaminantes orgânicos, a instabilidade química pode ser um fator importante, alterando adversamente suas propriedades de limpeza (HOFFMAN; DEATH; COATES, 1981). O uso de

soluções frescas, recém produzidas, é, então, recomendado. Além disso, a concentração de cloro das soluções tende a diminuir após suas embalagens de armazenamento serem abertas (GAMBARINI; DE LUCA; GEROSA, 1998).

A titulação de soluções recém preparadas de NaOCl e de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  mostrou menor concentração de cloro ativo do que a esperada de acordo com suas concentrações, sendo o NaOCl mais afetado por tal fato. Dutta e Saunders (2012) também encontraram menor concentração de cloro em soluções comerciais de NaOCl do que o informado pelo fabricante e o mesmo foi observado para as soluções de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ , apesar de serem preparadas através da relação entre peso e volume. As soluções de NaOCl foram preparadas diluindo uma solução mais concentrada, provavelmente já afetada pela instabilidade.

A concentração de cloro ativo para o  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  aumentou proporcionalmente de acordo com a concentração da solução, e foi maior em comparação às soluções de NaOCl, exceto para as soluções 0,5% armazenadas em temperatura ambiente por 30 dias e em estufa por 60 e 90 dias. Dutta e Saunders (2012) relatam concentração de cloro ativo muito similar entre as soluções de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  5% e 10% (4,15% e 4,1%, respectivamente). Os autores esperavam que o aumento na concentração dessa solução fosse resultar em maior valor de cloro titulado.

No presente estudo, soluções menos concentradas mostraram-se mais estáveis em relação a concentração de cloro ativo. Entretanto, essas soluções demonstraram redução nos valores de pH em comparação às soluções de maior concentração. Clarkson et al. (2001), avaliando mudanças na concentração de cloro ativo de soluções de NaOCl expostas a diferentes condições de armazenamento, observaram que soluções mais concentradas mantiveram-se estáveis quando comparadas às soluções de menor concentração. Diferentes resultados foram observados por Piskin e Turkun (1995), que encontraram decréscimo de 34% na concentração de cloro ativo de solução de NaOCl 5% após 200 dias de armazenamento em temperatura ambiente. Frais et al. (2001) observaram uma diminuição na concentração de cloro ativo de cerca de 14% para a solução de NaOCl a 15% após 81 dias.

O armazenamento das soluções a 4°C tendeu a ser semelhante ao armazenamento em temperatura ambiente em relação a concentração de cloro ativo para a mesma solução, na mesma concentração. De acordo com os achados deste estudo, soluções de NaOCl e  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  apresentaram estabilidade modificada pelo calor, especialmente nas concentrações 0,5% e 1%. Sabe-se que a elevação da temperatura de uma solução aumenta a frequência das colisões moleculares, contribuindo para o aumento da velocidade das reações (SANTOS, 1999). Alguns autores consideram vantajoso o aquecimento de soluções de NaOCl somente durante a terapia endodôntica (ABOU-RASS; OGLESBY, 1981; GAMBARINI; DE LUCA; GEROSA, 1998),

justificando que a elevação na temperatura de soluções cloradas aumenta a liberação de cloro ativo, contribuindo para a dissolução do tecido pulpar e ação antimicrobiana. Entretanto, como reportado por Fraiss et al. (2001), a exposição contínua ao calor tende a acelerar a degradação da solução, diminuindo sua eficiência quando armazenada nessa condição por longos períodos.

Estudos que avaliaram a estabilidade de soluções de NaOCl mantidas sob refrigeração observaram que soluções menos concentradas não mostraram mudanças significativas no pH quando comparadas às soluções de mesma concentração armazenadas em temperatura ambiente (HOFFMAN; DEATH; COATES, 1981; PISKIN; TURKUN, 1995). Houve decréscimo no pH de soluções de NaOCl 0,5% especialmente após 60 dias de armazenamento em geladeira e em temperatura ambiente.

Houve aumento significativo no pH de algumas soluções de NaOCl e de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  armazenadas pelos períodos de 30, 60 e 90 dias, em comparação às soluções de mesma concentração, recém manipuladas. A mesma comparação mostrou decréscimo na concentração de cloro ativo para soluções mais concentradas, na maioria dos tempos e temperaturas de armazenamento. Alguns autores relatam a influência da diminuição do pH sobre a instabilidade do NaOCl (HOFFMAN; DEATH; COATES, 1981; CAMPS et al., 2009; MERCADE et al., 2009). Johnson e Remeikus (1993) observaram diminuição gradual nos valores de pH de soluções de NaOCl nas concentrações entre 5,25% e 1% ao longo do tempo. De acordo com Dutta e Saunders (2012),  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  em solução aquosa sofre ionização liberando HOCl e hidróxido de cálcio  $[\text{Ca}(\text{OH})_2]$ . Sugere-se que o aumento no pH de soluções de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  ocorreu devido a dissolução das partículas do precipitado formado, pela presença de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ . Devido à instabilidade, o cloro pode ser liberado anteriormente. Dessa forma, sugere-se que as partículas não dissolvidas influenciam no aumento do pH dessas soluções.

Estudos adicionais que avaliem outras propriedades, características ou associações de soluções de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  devem ser conduzidos para que possam ser empregadas como adjuvantes no preparo de canais radiculares.

## CONCLUSÕES

Os achados do presente estudo possibilitam concluir que soluções de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  são extremamente alcalinas e tendem a apresentar conteúdo de cloro superior quando comparadas às soluções de  $\text{NaOCl}$ . Em relação a concentração de cloro ativo, essas soluções tendem a ser estáveis até 30 dias de armazenamento, quando mantidas sob refrigeração ou em temperatura ambiente. O armazenamento a  $37^\circ\text{C}$  afeta de forma negativa a estabilidade dessas soluções, principalmente nas concentrações 2,5% e 5,25%.

## REFERÊNCIAS

- ABOU-RASS M; OGLESBY S.W. The effects of temperature, concentration, and tissue type on the solvent ability of sodium hypochlorite. **J. Endod.**, v. 7, no. 8, p. 376-377, Aug. 1981.
- AIETA E.M; ROBERTS P.V; HERNANDEZ M. Determination of chlorine dioxide, chlorine, chlorite and chlorate in water. **J. Am. Water Works Assoc.**, v. 76, no. 1, p. 64-70, Jan. 1984.
- BAUMGARTNER J.C; IBAY A.C. The chemical reactions of irrigants used for root canal debridement. **J. Endod.**, v. 13, no. 2, p. 47-51, Feb. 1987.
- BAUMGARTNER J.C; MADER C.L. A scanning electron microscopic evaluation of four root canal irrigation regimens. **J. Endod.**, v. 13, no. 4, p. 147-157, Apr. 1987.
- BELTZ R.E; TORABINEJAD M; POURSMAIL M. Quantitative analysis of the solubilizing action of MTAD, sodium hypochlorite, and EDTA on bovine pulp and dentin. **J. Endod.**, v. 29, no. 5 p. 334-337, May. 2003.
- BERBER V.B; GOMES B.P; SENA N.T; VIANNA M.E; FERRAZ C.C; ZAIA A.A; SOUZA-FILHO F.J. Efficacy of various concentrations of NaOCl and instrumentation techniques in reducing *Enterococcus faecalis* within root canals and dentinal tubules. **Int. Endod. J.**, v. 39, no. 1, p. 10-17, Jan. 2006.
- BREMER P.J; MONK I; BUTLER R. Inactivation of *Listeria monocytogenes*/Flavobacterium spp. biofilms using chlorine: impact of substrate, pH, time and concentration. **Lett. Appl. Microbiol.**, v. 35, no. 4, p. 321-325. Oct. 2002
- BROOKS W.N. The chloralkali cell: from mercury to membrane. **Chem. Brit.**, v. 22, p. 1095-1097, Dec. 1986.
- BYSTRÖM A; SUNDQVIST G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. **Scand. J. Dent. Res.**, v. 89, no. 4, p. 321-328, Aug. 1981.
- CAMPS J; POMMEL L; AUBUT V; VERHILLE B; SATOSHI F; LASCOLA B; ABOUT I. Shelf life, dissolving action, and antibacterial activity of a neutralized 2.5% sodium hypochlorite solution. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, v. 108, no. 2, p. 66-73, Aug. 2009.
- CHRISTENSEN C.E; MCNEAL S.F; ELEAZER P. Effect of lowering the pH of sodium hypochlorite on dissolving tissue in vitro. **J. Endod.**, v. 34, no. 4, p. 449-452, Apr. 2008.

CLARKSON R.M; MOULE A.J. Sodium hypochlorite and its use as an endodontic irrigant. **Aust. Dent. J.**, v. 43, no. 4, p. 250-256, Jan. 1998.

CLARKSON R.M; MOULE A.J; PODLICH H.M. The shelf-life of sodium hypochlorite irrigating solutions **Aust. Dent. J.**, v. 46, no. 4, p. 269-276, Dec. 2001.

CLARKSON R.M, SMITH T.K, KIDD B.A, EVANS G.E, MOULE A.J. Assessment of residual active chlorine in sodium hypochlorite solutions after dissolution of porcine incisor pulpal tissue. **Aust. Dent. J.**, v. 58, no. 4, p. 428-433, Dec. 2013.

Coolidge E.D. The diagnosis and treatment of conditions resulting from diseased dental pulps. **J Nat. Dent. Assoc.**, v. 6, p. 337-349, 1919.

CULLEN J.K; WEALLEANS J.A; KIRKPATRICK T.C; YACCINO J.M. The effect of 8.25% sodium hypochlorite on dental pulp dissolution and dentin flexural strength and modulus. **J. Endod.**, v. 41, no. 6, p. 920-924, Jun. 2015.

CUNNINGHAM W.T; BALEKJIAN A.Y. Effect of temperature on collagen-dissolving ability of sodium hypochlorite endodontic irrigant. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, v. 49, no. 2, p. 175-177, Feb. 1980.

DAKIN H.D. On the use of certain antiseptic substances in treatment of infected wounds. **Brit. Med. J.** v. 28, p. 318-320, 1915.

DE ALMEIDA A.P; SOUZA M.A; MIYAGAKI D.C; BELLO Y.D; CECCHIN D; FARINA A.P. Comparative evaluation of calcium hypochlorite and sodium hypochlorite associated with passive ultrasonic irrigation on antimicrobial activity of a root canal system infected with *Enterococcus faecalis*: An in vitro study. **J. Endod.**, v. 40, no. 12, p. 1953-1957 Dec. 2014.

DE ALMEIDA L.H; LEONARDO N.G; GOMES A.P; SOUZA E.M; PAPPEN F.G. Influence of EDTA and dentine in tissue dissolution ability of sodium hypochlorite. **Aust. Endod. J.**, v. 41, no. 1, p 7-11, Apr. 2013.

DE DEUS Q.D. Frequency, location, and direction of the lateral, secondary, and accessory canals. **J. Endod.**, v. 1, no. 11, p. 361-366, Nov. 1975.

DUTTA A, SAUNDERS WP. Comparative evaluation of calcium hypochlorite and sodium hypochlorite on soft-tissue dissolution. **J. Endod.**, v. 38, no. 10, p. 1395-1398, Oct. 2012.

DYCHDALA GR. Chlorine and chlorine compounds. In: BLOCK SS: Disinfection sterilization and preservation. 4th ed. **Philadelphia: Lea & Febiger.** p. 133-135, 1991.

ELAKANTI S; CHERUKURI G; RAO V.G; CHANDRASEKHAR V; RAO A.S; TUMMALA M. Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of QMix™ 2 in 1, sodium hypochlorite, and chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. **J. Conserv. Dent.**, v. 18, no 2, p. 128-131, Mar-Apr. 2015.

ESTRELA C; ESTRELA C.R; BARBIN E.L; SPANÓ J.C; MARCHESAN M.A; PÉCORÁ J.D. Mechanism of action of sodium hypochlorite. **Braz. Dent J.**, v. 13, no. 2, p. 113-117, Jan. 2002.

ESTRELA, C. **Metodologia Científica**. 2ª ed. São Paulo: Artes Médias Ltda, 2005. 794p.

FARINA A.P; CECCHIN D.; BARBIZAM J.V; CARLINI-JÚNIOR B. Influence of endodontic irrigants on bond strength of a self-etching adhesive. **Aust. Endod. J.**, v. 37, no. 1, p. 26-30, Apr. 2011.

FRAIS S; NG Y-L; GULABIVALA K. Some factors affecting the concentration of available chlorine in commercial sources of sodium hypochlorite. **Int. Endod. J.**, v. 34, no. 1, p. 206-215, Apr. 2001.

GAMBARINI G; DE LUCA M; GEROSA R. Chemical stability of heated sodium hypochlorite endodontic irrigants. **J Endod.**, v. 24, no. 6, p. 432-434, Jun. 1998.

GOODMAN L.S, GILMAN A. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1978. 2112p.

GUASTALLI A.R; CLARKSON R.M; ROSSI-FEDELE G. The effect of surfactants on the stability of sodium hypochlorite preparations. **J. Endod.**, Apr. 2015. (in press).

GUERREIRO-TANOMARU J.M; MORGENTAL R.D; FLUMIGNAN D.L; GASPARINI F; OLIVEIRA J.E; TANOMARU-FILHO M. Evaluation of pH, available chlorine content, and antibacterial activity of endodontic irrigants and their combinations against *Enterococcus faecalis*. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, v. 112, no. 1, p. 132-135. Jul. 2011.

HAND R.E; SMITH M.L; HARRISON J.W. Analysis of the effect of dilution on the necrotic tissue dissolution property of sodium hypochlorite. **J. Endod.**, v. 4, no. 2, p. 60-64, Feb. 1978.

HESS, W. Anatomy of root canals of the teeth of the permanent dentition. **Sons and Danielson Ltd**, 1925.

HOFFMANN P.N; DEATH J.E; COATES D. The stability of sodium hypochlorite solutions. In: COLLINS CH, AIIWOOD MC, BLOOMFIELD SF, et al., eds. Disinfectants: their use and evaluation of effectiveness. **London: Academic Press**. p. 77-83. 1981.

HÜLSMANN M; HAHN W. Complications during root canal irrigation - literature review and case reports. **Int. Endod. J.**, v. 33, no. 3, p. 186-193, May. 2000.

JOHNSON B.R; MUNARETTO R; CHRUSZCZYK A; DANIEL J; BEGOLE E.A; Tissue solvent activity of high concentration NaOCl on bovine tendon collagen. **J. Endod.**, v. 30, no. 4, p. 266 (Abst OR 48), 2004.

JOHNSON B.R; REMEIKIS N.A. Effective shelf-life of prepared sodium hypochlorite solution. **J. Endod.**, v. 19, no. 1, p. 40-43, Jan. 1993.

KAKEHASHI S; STANLEY H.R; FITZGERALD R.J. The effects of surgical exposure of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, v. 20, p. 340-349. Sep. 1965.

KUBALA S.W; TILOTTA D.C; BUSCH M.A; BUSCH K.W. Determination of chloride and available chlorine in aqueous samples by flame infrared emission. **Anal. Chem.**, v. 61, no. 24, p. 2785-2791. Dec. 1989.

LEONARDO MR. **Endodontia: tratamento dos canais radiculares - princípios técnicos e biológicos**. São Paulo: Artes Médicas Ltda. 2008. 720 p.

LEONARDO N.G.S. **Avaliação do pH de soluções de hipoclorito de sódio e hipoclorito de cálcio em diferentes condições de armazenamento – estudo preliminar**. 2013. 25f. Monografia (Especialização em Endodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

LOPES H.P; SIQUEIRA J.R JF. **Endodontia – Biologia e Técnica**. Guanabara, 2010. 951p.

MAYER B.E; PETERS O.A; BARBAKOW F. Effects of rotary instruments and ultrasonic irrigation on debris and smear layer scores: a scanning electron microscopic study. **Int. Endod. J.**, v. 35, no. 7, p. 582-589, Jul. 2002.

MCDONNELL G; RUSSELL A.D. Antiseptics and disinfectants: activity, action and resistance. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 12, no. 1, p. 147-179, Jan. 1999.

MERCADE M; DURAN-SINDREU F; KUTTLER S; ROIG M; DURANY N. Antimicrobial efficacy of 4.2% sodium hypochlorite adjusted to pH 12, 7.5, and 6.5 in infected human root canals. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, v. 107, no. 2, p. 295-198, Feb. 2009.

MOLLER A.J; FABRICIUS L, DAHLEN G et al. Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. **Scand. J. Dent. Res.**, v. 89, no. 6, p. 475-484, Dec. 1981.

MOREIRA D.M; ALMEIDA J.F; FERRAZ C.C; GOMES B.P; LINE S.R; ZAIA A.A. Structural analysis of bovine root dentin after use of different endodontics auxiliary chemical substances. **J Endod.** v. 35, no. 7, p. 1023-1027, Jul. 2009.

NAENNI N; THOMA K; ZEHNDER M. Soft tissue dissolution capacity of currently used and potential endodontic irrigants. **J. Endod.**, v. 30, no. 11, p. 785-787, Nov. 2004.

NICOLETTI M.A; MAGALHAES F.J. Influence of the container and environmental factors in the stability of sodium hypochlorite. **Bol. Oficina Sanit. Panam.**, v. 121, no. 4, p. 301-309, Oct. 1996.

NICOLETTI M.A; SIQUEIRA E.L; BOMBANA A.C; OLIVEIRA G.G. Shelf-life of a 2.5% sodium hypochlorite solution as determined by Arrhenius equation. **Braz. Dent J.**, v. 20, no. 1, p. 27-31, Feb. 2009.

ORSTAVIK D; HAAPASALO M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. **Endod. Dent. Traumatol.**, v. 6, no. 4, p. 142-149, Aug. 1990.

PARKS L.M. **Inorganic Chemistry in Pharmacy.** Lippincott Company, 1949.

PÉCORA J.D; SOUZA-NETO M.D; ESTRELA C. Soluções auxiliares do preparo do canal radicular. In: ESTRELA C; FIGUEIREDO J.A.P. **Endodontia: princípios biológicos e mecânicos.** São Paulo: Artes Médicas. p. 553-569. 1999.

PETERS O.A; LAIB A; GOHRING T.N; BARBAKOW F. Changes in root canal geometry after preparation assessed by high-resolution computed tomography. **J. Endod.**, v. 27, no. 1, p. 1-6, Jan. 2001.

PIPKIN B; TURKUN M. Stability of various sodium hypochlorite solutions. **J. Endod.**, v. 21, no. 5, p. 253-55, May. 1995.

PISARENKO A.N; STANFORD B.D; QUINONES O; PACEY G.E; GORDON G; SNYDER S.A. Rapid analysis of perchlorate, chlorate and bromate ions in concentrated sodium hypochlorite solutions. **Anal. Chim. Acta.**, v. 659, no. 1-2, p. 216-223, Feb. 2010.

PONZANO G.P. Sodium hypochlorite: history, properties, electrochemical production. **Contrib. Nephrol.** v. 154, p. 7-23. 2007.

ROSSI-FEDELE G; GUASTALLI A.R; DOGRAMACI E.J; STEIER L; DE FIGUEIREDO J.A. Influence of pH changes on chlorine-containing endodontic irrigating solutions. **Int. Endod. J.**, v. 44, no. 9, p. 792-799, Sep. 2011.

RUTALA W.A; COLE EC, THOMANN C.A; WEBER D.J. Stability and bactericidal activity of chlorine solutions. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, v. 19, no. 5, p. 323-327, May 1998.

SANTOS T.C. **Estudo “in vitro” do efeito do aumento da temperatura das soluções de hipoclorito de sódio sobre suas propriedades físico-químicas anteriores e posteriores à dissolução do tecido pulpar bovino.** 1999. 108f. Dissertação Mestrado – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

SANTOS J.N; CARRILHO M.R; DE GOES M.F; ZAIA A.A; GOMES B.P; SOUZA-FILHO F.J; FERRAZ C.C. Effect of chemical irrigants on the bond strength of a self-etching adhesive to pulp chamber dentin. **J. Endod.**, v. 32, no. 11, p. 1088-1090, Nov. 2006.

SCARFE W.C; FARMAN A.G; SUKOVIC P. Clinical applications of cone-beam computed tomography in dental practice. **J. Can. Dent. Assoc.**, v. 72, no. 1, p. 75-80, Feb. 2006.

SILVA L.A; LEONARDO M.R; ASSED S; TANOMARU FILHO M. Histological study of the effect of some irrigating solutions on bacterial endotoxin in dogs. **Braz. Dent. J.**, v. 15, no. 2, p. 109-14, Jun. 2004.

SIM T.P; KNOWLES J.C; NG Y.L; SHELTON J.; GULABIVALA K. Effect of sodium hypochlorite on mechanical properties of dentine and tooth surface strain. **Int. Endod. J.** v. 34, no 2, p. 120-132. Mar. 2001.

SIQUEIRA J.F JR; ALVES F.R; ALMEIDA B.M; DE OLIVEIRA J.C; RÔÇAS I.N. Ability of chemomechanical preparation with either rotary instruments or self-adjusting file to disinfect oval-shaped root canals. **J. Endod.**, v. 36, no. 11, p. 1860-1865, Nov. 2010.

SIQUEIRA J.R JF; BATISTA M.D; FRAGA R.C; UZEDA M. Antibacterial effects of endodontic irrigants on black-pigmented gram-negative anaerobes and facultative bacteria. **J. Endod.**, v. 24, no. 6, p. 414-416, Jun. 1998.

SPANÓ J.C; BARBIN E.L; SANTOS T.C; GUIMARÃES L.F; PÉCORÁ J.D. Solvent action of sodium hypochlorite on bovine pulp and physico-chemical properties of resulting liquid. **Braz. Dent. J.**, v. 12, no. 3, p. 154-7, 2001.

SPRATT D.A; PRATTEN J; WILSON M; GULABIVALA K. An in vitro evaluation of the antimicrobial efficacy of irrigants on biofilms of root canal isolates. **Int. Endod. J.**, v. 34, no. 4, p. 300-307, Jun. 2001.

STOJICIC S; ZIVKOVIC S; QIAN W; ZHANG H; HAAPASALO M. Tissue dissolution by sodium hypochlorite: effect of concentration, temperature, agitation, and surfactant. **J. Endod.**, v. 36, no. 9, p. 1558– 1562, Sep. 2010.

SUNDQVIST G. Ecology of the root canal flora. **J. Endod.**, v. 18, no. 9, p. 427-430, Sep. 1992.

TANEJA S; MISHRA N; MALIK S. Comparative evaluation of human pulp tissue dissolution by different concentrations of chlorine dioxide, calcium hypochlorite and sodium hypochlorite: An in vitro study. **J. Conserv. Dent.**, v. 17, no. 6, p. 541-545, Nov. 2014.

TANOMARU-FILHO M; LEONARDO M.R; SILVA L.A; ANÍBAL F.F; FACCIOLI L.H. Inflammatory response to different endodontic irrigating solutions. **Int. Endod. J.**, v. 35, no 9, p. 735-739, Sep. 2002.

TOMOZAWA M; OKA Y; WAHL M.J. Glass surface cracks caused by alkaline solution containing an alkaline-earth element. **J. Am. Ceram. Soc.**, v. 64, no. 2, p. 32–33, Feb. 1981.

VIANNA M.E; GOMES B.P; BERBER V.B; ZAIA A.A; FERRAZ C.C; SOUZA-FILHO F.J. In vitro evaluation of antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, v. 97, no. 1, p. 79-84, Jan. 2004.

WITTAKER H.A; MOHLER B.M. The sterilization of milk bottles with calcium hypochlorite. **Am. J Public Health (NY)**, v. 2, no. 4, p. 282-287, Apr. 1912.

ZEHNDER M. Root canal irrigants. **J Endod.**, v. 32, no. 5, p. 389-398, May 2006.

ZEHNDER M; KOSICKI D; LUDER H; SENER B, WALTIMO T. Tissue-dissolving capacity and antibacterial effect of buffered and unbuffered hypochlorite solutions. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, v. 94, no. 6, p. 756-762, Dec. 2002.

**ANEXO A – APROVAÇÃO DO PROJETO DE PESQUISA PELA COMISSÃO DE PESQUISA EM ODONTOLOGIA (COMPESQ-ODO), FACULDADE DE ODONTOLOGIA, UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**

**Sistema Pesquisa - Pesquisador: Francisco Montagner**

**Projeto Nº: 25157**

**Título: ESTUDO DAS PROPRIEDADES QUÍMICAS, FÍSICAS E BIOLÓGICAS DE SOLUÇÕES DE HIPOCLORITO DE CÁLCIO**

**COMISSÃO DE PESQUISA DE ODONTOLOGIA: Parecer**

Informamos que o projeto de pesquisa: ESTUDO DAS PROPRIEDADES QUÍMICAS, FÍSICAS E BIOLÓGICAS DE SOLUÇÕES DE HIPOCLORITO DE CÁLCIO encaminhado para análise em 21/05/2013 foi aprovado com pequenas pendências pela Comissão de Pesquisa de Odontologia com o seguinte parecer: O objetivo do presente trabalho será caracterizar e comparar a ação antimicrobiana, concentração de cloro livre e pH de soluções de hipoclorito de sódio [NaOCl] e hipoclorito de cálcio [Ca(OCl)<sub>2</sub>]. Os medicamentos testados serão soluções de NaOCl e Ca(OCl)<sub>2</sub> nas concentrações de 0,5%, 1%, 2,5% e 5,25%. A ação antimicrobiana das soluções será testada frente ao microrganismo *E. faecalis* através do método de diluição em caldo, sendo realizado em triplicada para cada uma das soluções. O teor de cloro livre será medido através do método da titulometria com iodo. O pH de soluções de NaOCl e Ca(OCl)<sub>2</sub> recém-manipuladas e armazenadas em temperatura ambiente ou a 8°C ou a 37°C será avaliado em pH digital. Para a determinação do teor de cloro livre e para o pH serão realizadas cinco leituras por solução. Será realizada estatística descritiva e analítica, de acordo com as características dos dados, com nível de significância de 5%. A comparação entre a atividade antimicrobiana das soluções será realizada através do teste de Kruskal-Wallis (mais de dois grupos, variáveis independentes e ordinais). Para comparação dos valores de pH e da concentração de cloro livre entre as soluções será realizado o teste de ANOVA ou de Kruskal-Wallis, dependendo das características de normalidade. O projeto encontra-se bem descrito e possui mérito científico e somos pela aprovação. Entretanto, solicitamos que seja inserido o formulário de encaminhamento a compesq com o local de origem preenchido e assinado. Atenciosamente, Comissão de Pesquisa de Odontologia.