

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA

FACULDADE DE ODONTOLOGIA

PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Carolina de Lélis Rodrigues Pereira

**Efetividade de dissolução da guta-percha e segurança do uso de óleos essenciais
dos gêneros *Citrus* e *Cymbopogon***

Juiz de Fora

2023

Carolina de Lélis Rodrigues Pereira

**Efetividade de dissolução da guta-percha e segurança do uso de óleos essenciais
dos gêneros *Citrus* e *Cymbopogon***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia. Área de concentração: Clínica Odontológica.

Orientadora: Profa. Dra. Maria das Graças Afonso Miranda Chaves

Coorientadora: Profa. Dra. Nádia Rezende Barbosa Raposo

Juiz de Fora

2023

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

de Lélis Rodrigues Pereira, Carolina.

Efetividade de dissolução da guta-percha e segurança do uso de óleos essenciais dos gêneros Citrus e Cymbopogon / Carolina de Lélis Rodrigues Pereira. -- 2023.

95 p. : il.

Orientadora: Maria das Graças Afonso Miranda Chaves

Coorientadora: Nádya Rezende Barbosa Raposo

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Odontologia. Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica, 2023.

1. Óleo essencial. 2. Fitoterapia. 3. Endodontia. 4. Guta percha. 5. Odontologia. I. Afonso Miranda Chaves, Maria das Graças, orient. II. Rezende Barbosa Raposo, Nádya, coorient. III. Título.

Carolina de Lélis Rodrigues Pereira

Efetividade de dissolução da guta-percha e segurança do uso de óleos essenciais dos gêneros *Citrus* e *Cymbopogon*

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia. Área de concentração: Clínica Odontológica.

Aprovada em 02 de agosto de 2023

BANCA EXAMINADORA

Prof.ª Dr.ª Maria das Graças Afonso Miranda Chaves - Orientadora e Presidente da Banca
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof.ª Dr.ª Nádia Rezende Barbosa Raposo - Coorientadora
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof.ª Dr.ª Gisele Maria Campos Fabri
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Ronaldo Luis Almeida de Carvalho
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita



Documento assinado eletronicamente por **Maria das Gracas Afonso Miranda Chaves, Professor(a)**, em 02/08/2023, às 16:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ronaldo Luís Almeida de Carvalho, Usuário Externo**, em 02/08/2023, às 16:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Nadia Rezende Barbosa Raposo, Professor(a)**, em 02/08/2023, às 18:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Gisele Maria Campos Fabri, Professor(a)**, em 02/08/2023, às 19:06, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf (www2.ufjf.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **1339557** e o código CRC **227B712F**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a **Deus** por me dar saúde e proteção, sempre guiando meus passos.

A minha **família**, pelo amor incondicional, apoio e por não medirem esforços para que eu consiga alcançar meus objetivos. A minha **mãe Aletéia**, meu **pai Camilo**, minha **irmã Maria Antônia**; e a **Karol, Valentina e Melzinha**, por serem meu porto seguro.

À **Profa. Dra. Roberta Passos do Espírito Santo** pela amizade, apoio, parceria e generosidade no desenvolvimento do projeto. Muito obrigada por tudo!

A minha orientadora **Profa. Dra. Maria das Graças Afonso Miranda Chaves**, pela oportunidade, confiança, e por sempre estar disposta a ajudar e proferir palavras de luz. Meu muito obrigada por todos os ensinamentos!

A minha coorientadora **Profa. Dra. Nádia Rezende Barbosa Raposo**, pela confiança em mim depositada, por toda paciência, disponibilidade e competência ímpar. Sem sua ajuda este trabalho não seria possível. Minha eterna Gratidão!

À banca avaliadora da qualificação e da defesa: **Profa. Dra. Gisele Maria Campos Fabri, Prof. Dr. Ronaldo Luis Almeida de Carvalho, Prof. Dr. Marcos Antônio Fernandes Brandão, Prof. Dr. Rodrigo Máximo de Araújo, Prof. Dr. Henrique Duque Netto, Profa. Dra. Hanny Reis Mockdeci Gonçalves**, pela contribuição imprescindível ao enriquecimento do trabalho.

Ao **Prof. Dr. Luiz Fernando Cappa de Oliveira**, por ter nos recebido tão bem no laboratório da Faculdade de Química da UFJF, disponibilizando todo seu conhecimento para que fosse possível realizar as análises de MEV.

À **Profa. Dra. Carolina Paula de Souza Moreira**, por ter recebido com tanto carinho as amostras para análise da CGEM em Belo Horizonte na Fundação Ezequiel Dias (FUNED).

A todos os colaboradores e colegas do *laboratório da Faculdade de Farmácia da UFJF (NIQUA)*, principalmente à **Pollyana, Adriana e Zé Márcio**, pela disponibilidade e auxílio nas análises laboratoriais.

A todos os *professores e funcionários* da Faculdade de Odontologia e do Programa de Pós Graduação em Odontologia da UFJF.

E por fim, agradeço a *todos* que de alguma forma contribuíram, *sozinha este trabalho não seria possível*.

Muito obrigada!

EPÍGRAFE

*“Ninguém vai bater tão forte como a vida,
mas a questão não é o quão forte você
consegue bater.*

*É o quão forte você consegue apanhar e
continuar seguindo em frente.*

A vitória é feita assim”

- Rock Balboa

RESUMO

Nos casos de insucesso endodôntico a terapia preferencial deve ser o retratamento endodôntico não-cirúrgico. Para este procedimento é necessário realizar a remoção do material obturador dos canais radiculares, sendo indicado o uso de solventes químicos para auxiliar no procedimento. Porém, estas substâncias geralmente apresentam toxicidade elevada e não preenchem os requisitos de um solvente ideal. Desta forma, tem-se buscado nos óleos essenciais encontrar substâncias com boa atividade dissolutiva da guta-percha, satisfatória atividade antimicrobiana contra os patógenos associados aos casos de insucesso endodôntico, maior biocompatibilidade, menor toxicidade aos tecidos, e que gerem menor impacto ambiental. Portanto, neste trabalho avaliou-se a efetividade na dissolução da guta-percha, mensurou-se os potenciais biológicos e a segurança de seis óleos essenciais; sendo três pertencentes ao gênero *Citrus* (1-*Citrus paradisi*, 2-*Citrus limon* e 3-*Citrus sinensis*) e três ao gênero *Cymbopogon* (4-*Cymbopogon martinii*, 5-*Cymbopogon nardus* e 6-*Cymbopogon shoenanthus*). Os resultados obtidos foram comparados aos solventes endodônticos convencionais (clorofórmio, endosolv[®] E e eucaliptol). O perfil químico dos óleos essenciais foi avaliado por meio da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas; a efetividade dos óleos essenciais na remoção da guta-percha, por meio dos testes de desintegração; dureza por penetração e análise da superfície da guta percha, através de microscopia eletrônica de varredura. Também foram avaliados os potenciais biológicos: antimicrobiano por meio da análise turbidimétrica contra *Enterococcus faecalis* ATCC 51299 e *Candida albicans* ATCC 10231, e a atividade antioxidante pelo do método de sequestro de espécies reativas de oxigênio. A citotoxicidade foi avaliada pelo ensaio com 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H tetrazólio (MTT) empregando fibroblastos murinos (L929). Para o gênero *Citrus*, o D-limoneno foi o composto majoritário para todos os óleos. Já para o gênero *Cymbopogon*, os componentes majoritários foram geraniol, citronelol e citral para os óleos 4, 5 e 6, respectivamente. Os óleos 1 e 3 apresentaram ótima efetividade na remoção da guta-percha, sendo mais efetivos que o controle 1 (eucaliptol) e estatisticamente semelhantes ao controle 2 (endosolv[®] E) no teste de dureza por penetração. No teste de desintegração, o óleo mais efetivo foi o 3, sendo superior ao C1 e igual ao C2. Na análise de superfície (MEV), foi possível observar as alterações causadas pelo óleo 3. Todos os óleos apresentaram atividade bacteriostática contra *Enterococcus faecalis* ATCC 51299, sendo

o óleo 3 o que apresentou maior taxa de inibição. Apenas os óleos 1, 3 e 6 demonstraram ação fungicida frente à *Candida albicans* ATCC 10231, e nenhum controle foi capaz de inibir o crescimento desta cepa. Todos os óleos apresentaram maior atividade antioxidante do que os controles, sendo a maior atividade alcançada pelo óleo 6, seguido do óleo 3. Os óleos 1-3 e 5-6 não demonstraram citotoxicidade para fibroblastos murinos na concentração de 7,81 µg/mL. Pela análise conjunta dos resultados, conclui-se que o óleo 3 (*Citrus sinensis*) parece ser uma alternativa natural, viável e segura quando comparado aos solventes endodônticos convencionais, pois apresenta compostos químicos com capacidade efetiva de dissolução de guta percha, além disto, exibiu atividades complementares desejáveis como antimicrobiana, antioxidante, além de baixa citotoxicidade.

Palavras-chave: Óleo essencial, Fitoterapia, Endodontia, Guta percha, Odontologia.

ABSTRACT

In cases of endodontic failure, the preferential therapy should be non-surgical endodontic retreatment. For this procedure, it is necessary to remove the filling material from the root canals, and the use of chemical solvents is indicated to assist in the procedure. However, these substances generally have high toxicity and do not fulfill the requirements of an ideal solvent. Thus, essential oils have been sought to find substances with good gutta-percha dissolution activity, satisfactory antimicrobial activity against pathogens associated with cases of endodontic failure, greater biocompatibility, less tissue toxicity, and that generate less environmental impact. Therefore, this study aimed to assess the efficacy and safety of essential oils belonging to the *Citrus* and *Cymbopogon* genus as an alternative to conventional endodontic solvents. It investigated the solvent capacity and the biological activity in this work the inheritance in gutta-percha was evaluated, the biological heirs and the safety of six essential oils were measured; three *Citrus* (1-*Citrus paradisi*, 2-*Citrus limon* and 3-*Citrus sinensis*) and three *Cymbopogon* (4-*Cymbopogon martinii*, 5-*Cymbopogon nardus* and 6-*Cymbopogon shoenanthus*) and three controls (eucalyptol, endossolv® E, and chloroform). Gas chromatography/mass spectrometry gave the chemical profile of the essential oils, disintegration tests assessed the oils effectivity on gutta-percha removal, and scanning electron microscopy evaluated the durability by penetration and the gutta-percha's surface. Moreover, the biological assessments included: a) antimicrobial analysis through the turbidimetric analysis against *Enterococcus faecalis* (ATCC 51299) and *Candida albicans* (ATCC 10231); b) antioxidant activity using the method of sequestration of reactive oxygen species; c) cell toxicity on L929 fibroblasts through 3-(4,5-dimethyl-2thiazolyl)-2,5-diphenyl-2Htetrazolium (MTT) assay. For the genus *Citrus*, D-limonene was the major compound for all oils. As for the genus *Cymbopogon*, the major components were geraniol, citronellol and citral for oils 4, 5 and 6, respectively. Oils 1 and 3 showed excellent effectiveness in removing gutta-percha, being more effective than control 1 (eucalyptol) and statistically similar to control 2 (endossolv® E) in the penetration hardness test. In the disintegration test, the most effective was oil 3, being superior to C1 and equal to C2. In surface analysis (SEM), it was possible to observe the changes caused by oil 3. All oils showed bacteriostatic activity against *Enterococcus faecalis* ATCC 51299, with oil 3 showing the highest inhibition rate. Only oils 1, 3 and 6 showed fungicidal action against *Candida albicans* ATCC 10231, and no control was able to inhibit the growth of this strain.

All oils showed greater antioxidant activity than the controls, with the highest activity shown by oil 6, followed by oil 3. Oils 1-3 and 5-6 did not demonstrate cytotoxicity for murine fibroblasts at a concentration of 7.81 µg/mL. By the joint analysis of the results, it is concluded that oil 3 (*Citrus sinensis*) seems to be a natural, viable and safe alternative when compared to conventional endodontic solvents, since it presents chemical compounds with effective capacity of dissolving gutta percha, in addition, it exhibited desirable complementary activities such as antimicrobial, antioxidant, and low cytotoxicity.

Keywords: Essential oil, Phytotherapy, Endodontics, Gutta-percha, Dentistry.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 - Informações sobre as substâncias de interesse avaliadas neste estudo.	39
Esquema 1 - Fluxograma dos protocolos experimentais executados.	40
Equação 1 - Cálculo do Índice de Kovatz.	41
Equação 2 - Cálculo do Índice de retenção com programação linear de temperatura. ...	42
Equação 3 - Cálculo da massa perdida.	43
Equação 4 - Cálculo da atividade antioxidante.	48
Figura 1 - Etapas do teste de desintegração.	43
Figura 2 - Preparação dos espécimes e etapas do teste de dureza.	44
Figura 3 - Etapas do teste de dureza.	45
Figura 4 - Eletromicrografias de cada grupo experimental pós exposição do cone de guta-percha às substâncias-teste por 5 minutos. Aumento de 1000x.	64
Figura 5 - Eletromicrografia de cone de guta-percha sem exposição a agentes químicos. Aumento de 1000x.	65
Figura 6 - Representações gráficas da viabilidade celular para os OEs frente aos fibroblastos murinos (L929).	76
Gráfico 1 – Representação da perda de massa (%) dos cones de guta-percha após a exposição aos solventes.	58
Gráfico 2 - Taxa de inibição de crescimento de <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51299 demonstrada para cada substância testada.	69
Gráfico 3 - Percentual antioxidante mínimo e máximo das substâncias de interesse. ...	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição dos OEs obtidos por CG-EM e normas ISO correspondentes. .	50
Tabela 2 - Constituintes químicos presentes nos óleos essenciais do gênero <i>Citrus</i>	53
Tabela 3 - Constituintes químicos presentes nos óleos essenciais do gênero <i>Cymbopogon</i>	55
Tabela 4 - Teste estatístico ANOVA para verificação de diferença entre as médias da perda de massa.....	56
Tabela 5 – Média e desvio padrão em relação à perda de massa de cada grupo.	57
Tabela 6 – Avaliação estatística dos dados de desintegração pelo teste <i>post-hoc</i> Tukey-HSD.	58
Tabela 7 - Força média necessária para mover o espaçador endodôntico.	60
Tabela 8 – Avaliações preliminares para verificação do pressuposto estatístico de Normalidade.	61
Tabela 9 - Avaliações preliminares para verificação do pressuposto estatístico de Homogeneidade.	61
Tabela 10 - Teste estatístico ANOVA para verificação de diferença entre as médias das forças (N).	61
Tabela 11 – Avaliação estatística dos dados de dureza pelo teste <i>post-hoc</i> Tukey-HSD.	62
Tabela 12 - Atividade antifúngica das substâncias de interesse frente à <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.....	67
Tabela 13 - Inibição mínima e máxima do <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51299 para as substâncias de interesse.....	71
Tabela 14 - Atividade antioxidante das substâncias-teste pelo método de DPPH.....	72
Tabela 15 - Viabilidade celular (%) das substâncias de interesse em cultura de fibroblastos murinos (L929).....	75

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Aamostra	Valor da absorbância para a solução que contém a amostra + DPPH
Acontrole	Valor de absorbância da amostra + etanol PA
ADPPH	Absorbância da solução de DPPH
ANOVA	Análise de variância
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
BHI	<i>Brain Heart Infusion Broth</i>
C1	Controle 1
C2	Controle 2
C3	Controle 3
CFM	Concentração fungicida mínima
CFO	Conselho Federal de Odontologia
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
CI ₅₀	Concentração inibitória 50%
CIM	Concentração inibitória mínima
DMEM	<i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPPH	2,2-Difenil-1-picril-hidrazil
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
GP	Guta-percha
HEPES	4-(2-HidroxiEtil)-1- PiperazinEtanolSulfônico
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i>
IARC	Agência Internacional de Pesquisa em Câncer
IK	Índice de Kovatz
ISO	Organização internacional de padronização
L929	Células de fibroblastos murinos
LRI exp	Índice de retenção do experimento
LRI lit	Índice de retenção da literatura
LTPRI	<i>Linear Temperature Programmed Retention Indexes</i>
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
Mf	Massa final
Mi	Massa inicial
Mp	Massa perdida
MTT	3-(4,5-dimetil-2-tiazolil) - 2,5-difenil-2Htetrazólio
NaOCl	Hipoclorito de sódio

NIST	<i>National Institute Of Standards and Technology</i>
O1	Óleo 1
O2	Óleo 2
O3	Óleo 3
O4	Óleo 4
O5	Óleo 5
O6	Óleo 6
OE	Óleo essencial
OMS	Organização mundial da saúde
OZE	Óxido de zinco e eugenol
PA	Para análise
PBS	<i>Phosphate buffered saline</i>
PCR	Reação em cadeia da polimerase
RPMI	<i>Meio do Roswell Park Memorial Institute 1640</i>
SCR	Sistema de canais radiculares
SDA	<i>Sabouraud Dextrose Agar</i>
SDB	<i>Sabouraud Dextrose Broth</i>
SFB	Soro fetal bovino
Sig	Significância
t'_R	Tempo de retenção
TESC	<i>Test Script</i>
TSA	<i>Tryptone Soy Agar</i>
UFCs	Unidades formadoras de colônias
UFJF	Universidade Federal de Juiz de Fora

LISTA DE SÍMBOLOS

-	Menos
%	Porcentagem
+	Mais
=	Igual
>	Maior
®	Marca registrada
°C	Graus Celsius
°C/min	Graus Celsius por minuto
µg/mL	Micrograma por mililitro
µL	Microlitro
g	Gramma
h	Hora
i	Analito
kV	Quilovolt
m/z	Massa / carga
mg	Miligramma
mg/mL	Miligramma por mililitro
mL	Mililitro
mL/min	Mililitro por minuto
mm	Milímetro
$n + 1$	número de carbonos do padrão adjacente mais retido
N	Newton
n	número de carbonos do padrão adjacente menos retido
n	número de amostras
n°	Número
nm	Nanômetro
UI	Unidades internacionais

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
2	REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1	TRATAMENTO ENDODÔNTICO	22
2.2	RETRATAMENTO ENDODÔNTICO	24
2.3	REMOÇÃO DO MATERIAL OBTURADOR.....	25
2.4	SOLVENTES ENDODÔNTICOS CONVENCIONAIS	27
2.4.1	Clorofórmio	27
2.4.2	Eucaliptol	28
2.4.3	Endosolv® E.....	28
2.5	FITOTERAPIA NA ENDODONTIA.....	29
2.5.1	Gênero <i>Citrus</i> : alternativa aos solventes endodônticos convencionais.....	30
2.5.2	Gênero <i>Cymbopogon</i>	33
3	PROPOSIÇÃO	38
4	MATERIAL E MÉTODOS	39
4.1	AMOSTRAS	39
4.2	PERFIL QUÍMICO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS.....	41
4.3	TESTE DE DESINTEGRAÇÃO.....	42
4.4	TESTE DE DUREZA.....	43
4.5	ANÁLISE DE SUPERFÍCIE DOS CONES DE GUTA-PERCHA	45
4.6	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	46
4.7	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	47
4.8	CITOTOXIDADE	48
4.8.1	Linhagem celular	48
4.8.2	Preparo das substâncias-teste	48
4.8.3	Viabilidade celular	49
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
5.1	PERFIL QUÍMICO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS.....	50
5.2	TESTE DE DESINTEGRAÇÃO.....	56
5.3	TESTE DE DUREZA.....	60
5.4	ANÁLISE DE SUPERFÍCIE DOS CONES DE GUTA-PERCHA	63
5.5	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	66
5.6	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	71

5.7	CITOTOXIDADE	75
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	79
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	80

1 INTRODUÇÃO

O tratamento endodôntico consiste em um método químico-mecânico de desinfecção do sistema de canais radiculares (SCR), seguido da obturação hermética tridimensional dos mesmos. O objetivo é eliminar e/ou reduzir os microrganismos causadores das doenças da polpa e do periápice, bem como aumentar a cicatrização e reparação do tecido perirradicular (BASSAM et al., 2021). É indicado para dentes que sofreram necrose pulpar ou apresentam inflamação irreversível da polpa (MANFREDI et al., 2016). Os materiais mais utilizados para a obturação são os cones de guta-percha (GP) em associação ao cimento de óxido de zinco e eugenol (OZE) (MANIGLIA-FERREIRA et al., 2011; KAUR, et al., 2015; HARGREAVES e BERMAN, 2017; VISHWANATH e RAO, 2019).

Alguns motivos podem levar a falha do tratamento endodôntico, como infecções persistentes, preparo químico mecânico insuficiente, obturação insatisfatória, infiltração coronária, canais remanescentes não tratados, entre outros (TABASSUM e KHAN, 2016; PRADA et al., 2019). Destaca-se na literatura a persistência de infecções intra e extra radiculares como a causa mais prevalente do insucesso da terapia (PRADA et al., 2019; ZUBIZARRETA-MACHO, 2019; LEE e SONG, 2022). Os microrganismos mais frequentemente associados são *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans* (PRADA et al., 2019; SIQUEIRA JR. e RÔÇAS, 2022).

Nos casos de insucesso endodôntico, sempre que possível, a terapia preferencial deve ser o retratamento endodôntico não-cirúrgico, pois é menos invasivo em comparação as cirurgias perirradiculares e apresenta maiores taxas de sucesso (KARAMIFAR, TONDARI e SAGHIRI, 2020; SIGNOR et al., 2021). O procedimento consiste na remoção do material obturador, reinstrumentação e reobturação de canais radiculares, com o objetivo de superar as deficiências da terapia anterior (LOPES e SIQUEIRA JR., 2015). Casos de retratamento correspondem a aproximadamente 30% da demanda dos endodontistas (TORABINEJAD et al., 2009).

Para realizar a remoção da GP dos canais radiculares existem diversas técnicas, tais como a limagem manual, instrumentação rotativa, métodos térmicos e o uso aparelhos ultrassônicos. Estas podem ser aplicadas de forma isolada ou associadas às substâncias solventes, sendo a utilização de métodos combinados a forma mais indicada, eficaz e segura (LOPES e SIQUEIRA JR., 2015; AGRAWAL et al., 2019).

O uso de solventes orgânicos no retratamento endodôntico tem sido um aliado para a completa remoção dos materiais obturadores, além de contribuírem para a desinfecção do SCR (FERREIRA, BRAGA e VAZ, 2021). Esta remoção pode representar um desafio, principalmente em áreas críticas de curvatura de raiz, onde existe risco de perfuração, sendo preconizado pela literatura o uso destas substâncias para auxiliar no amolecimento da GP (GOOD e MCCAMMON, 2012; VIRDEE e THOMAS, 2017). Muitas opções estão disponíveis no mercado, e dentre as mais utilizadas estão o clorofórmio, o tetracloroetileno (endosolv® E) e o eucaliptol (DOTTO et al., 2020, FERREIRA, BRAGA e VAZ, 2021).

Mesmo com a variedade de oferta, a literatura demonstra que nenhuma preenche os requisitos de um solvente ideal, o qual deve ser não tóxico, não carcinogênico, apresentar dissolução eficiente de GP, e com tempo de ação viável clinicamente. Quando depositadas na porção apical da raiz, caso apresentem citotoxicidade, as substâncias podem levar a exacerbação da reação inflamatória dos tecidos periapicais cursando em sintomatologia pós-operatória e prejuízo à reparação tecidual apical (VILLAS BOAS, 2015). Um exemplo é o clorofórmio, que possui potencial carcinogênico e elevada toxicidade às células humanas (SCHAFER e ZANDBIGLARI, 2002; ALZRAIKAT, TAHA e HASSOUNEH, 2016). Já o tetracloroetileno, apresenta ação tóxica para o fígado e rins, e é classificado como potencialmente cancerígeno (IARC, 2014; CICHOCKI et al., 2019; LASH, 2019).

Em 2008, o Conselho Federal de Odontologia (CFO), através da resolução n° 82, reconheceu e regulamentou o uso pelo Cirurgião-Dentista de práticas integrativas e complementares à saúde bucal, incluída nestas, o uso da fitoterapia. Na Odontologia, muito tem se buscado, especialmente nos óleos essenciais (OEs), encontrar substâncias com boa atividade dissolutiva da GP, satisfatória atividade antimicrobiana contra os patógenos associados aos casos de insucesso endodôntico, maior biocompatibilidade, menor toxicidade aos tecidos e baixo custo (CAVALCANTI et al., 2011; NABAVIZADEH et al., 2014; FERREIRA et al., 2021; ESPÍRITO SANTO, 2022; MARINKOVIC et al., 2022). A utilização de fitoterápicos como alternativa aos solventes convencionais pode apresentar aspectos interessantes como estímulo à agricultura familiar, redução do impacto ambiental, e descoberta de compostos menos tóxicos à saúde humana e com melhor efetividade.

Duas substâncias naturais já são utilizadas como solventes: o eucaliptol e o óleo essencial de laranja. O primeiro apresenta ação lenta e capacidade emoliente inferior em comparação a solventes convencionais, como o clorofórmio e tetracloroetileno (KARATAS

et al., 2016; AMINSOBHANI et al., 2022). Já o óleo de laranja (gênero *Citrus*) é um excelente solvente alternativo por apresentar boa ação dissolutiva e ser biocompatível (FARIA-JÚNIOR et al., 2011; BARRETO et al., 2016). Os OEs advindos do gênero *Citrus* representam uma alternativa natural viável aos solventes convencionais, porém as pesquisas existentes na área odontológica não especificam de qual planta o óleo foi extraído, qual parte da planta foi utilizada, e qual a composição química desta matriz complexa que o óleo essencial representa (BAYRAM et al., 2017; ESPÍRITO SANTO, 2022).

O óleo essencial de *Cymbopogon citratus*, conhecido como *lemongrass* ou capim-limão, é utilizado na odontologia para variados fins, como controle de placa bacteriana, tratamento de gengivite, halitose e candidíase oral (KUMAR e GURUNATHAN, 2019). O mesmo mostrou-se como um possível solvente endodôntico, por sua ação dissolutiva de GP (GONZALES e IBERICO, 2022). Porém, não foram encontrados dados na literatura relacionados ao uso de outros óleos do gênero *Cymbopogon* para este fim, sendo necessárias maiores investigações a respeito das atividades de OEs do gênero *Cymbopogon* (ALVARENGA et al., 2022; GONZALES e IBERICO, 2022).

Dentro deste contexto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a efetividade na dissolução da guta-percha, mensurar os potenciais biológicos e a segurança de seis óleos essenciais; sendo três pertencentes ao gênero *Citrus* (*Citrus paradisi*, *Citrus limon* e *Citrus sinensis*) e três ao gênero *Cymbopogon* (*Cymbopogon martinii*, *Cymbopogon nardus* e *Cymbopogon shoenanthus*). Os resultados obtidos foram comparados aos solventes endodônticos conhecidos e utilizados na Odontologia (clorofórmio, endosolv® E e eucaliptol).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 TRATAMENTO ENDODÔNTICO

Popularmente conhecido como “tratamento de canal”, o tratamento endodôntico é um procedimento rotineiro na prática odontológica e consiste em um método químico-mecânico de desinfecção do sistema de canais radiculares, seguido da obturação hermética tridimensional dos mesmos. É empregado com o objetivo de eliminar e/ou reduzir os microrganismos causadores das doenças da polpa e do periápice, bem como aumentar a cicatrização e reparação do tecido perirradicular (BASSAM et al., 2021).

As duas principais indicações para realização da terapia endodôntica são: a pulpite irreversível e a necrose pulpar, estas podem ser causadas por lesões cáries extensas, trincas, traumatismo dental, entre outros (MANFREDI et al., 2016).

A obturação do canal radicular é feita por meio de um material obturador em associação a um cimento selador. O último age preenchendo os espaços vazios remanescentes entre o obturador e a dentina radicular (KAUR, et al., 2015). Até os dias de hoje, a guta-percha (GP) juntamente ao cimento de óxido de zinco e eugenol (OZE) são os materiais de eleição para tal procedimento (MANIGLIA-FERREIRA et al., 2011; KAUR, et al., 2015; HARGREAVES e BERMAN, 2017; VISHWANATH e RAO, 2019).

O sucesso endodôntico está estritamente relacionado à execução eficiente e asséptica de todas as fases terapêuticas incluindo o acesso, limpeza, desinfecção, modelagem, obturação e posterior selamento (SCHMIDT et al., 2015). Após a conclusão do procedimento, a restauração do dente tratado endodonticamente é necessária para reestabelecer não só a função, mas também a estética e proporcionar selamento coronal (PATEL e BARNES, 2011).

Infecções persistentes (intra e extra canal), preparo químico mecânico insuficiente, obturação insatisfatória (aquém ou além do ápice), extravasamento de materiais, infiltração coronária, canais remanescentes não tratados (principais e/ou acessórios), iatrogenias (como acesso inadequado, perfurações e fratura de instrumentos), e fatores intrínsecos (como calcificações) são as principais causas do insucesso endodôntico (TABASSUM e KHAN, 2016; CAMPOS et al., 2017).

Apesar do tratamento de canal ser considerado um procedimento com elevada previsibilidade clínica, por apresentar taxas de sucesso variando entre 86-98%, o

insucesso ocorre em um grande número de casos, e na maioria das vezes, por causas conhecidas (TABASSUM e KHAN, 2016; LEE e SONG, 2022). Clinicamente, em decorrência da falha na terapia, podem-se observar sinais e sintomas de periodontite apical, como lesão apical persistente e dor (PATEL e BARNES, 2011; LOPES e SIQUEIRA JR., 2015). Estima-se que casos de retratamentos correspondam a aproximadamente 30% da demanda dos endodontistas (TORABINEJAD et al., 2009).

Supracitadas as diversas etiologias que podem culminar em falha endodôntica, destaca-se na literatura a persistência de infecções intra e extra radiculares como a mais prevalente (PRADA et al., 2019). Lee e Song (2022) demonstraram que 81,3% dos casos de falha endodôntica decorrem de infecção persistente. De acordo com a pesquisa clínica de Campos e colaboradores (2017), 63,4% dos casos de insucesso endodôntico se devem às infecções persistentes com presença de lesão periapical.

Os microrganismos presentes nas infecções geralmente se organizam na forma de biofilme, comunidades bacterianas coordenadas, que possibilitam um hábitat mais favorável, diversidade metabólica, e aumento da patogenicidade. Na maioria das vezes (77% dos casos), esse biofilme é intra-radicular, enquanto apenas 6% representa a porção extra-radicular (RICUCCI e SIQUEIRA, 2010). Mesmo em terapias endodônticas bem executadas, os microrganismos colonizadores podem sobreviver devido à complexidade anatômica do SCR, destacando-se as regiões de túbulos dentinários, istmos, reentrâncias, canais laterais e ramificações apicais (EVANS et al., 2002; ZUBIZARRETA-MACHO, 2019).

A literatura científica demonstra a forte relação entre a infecção pela bactéria *E. faecalis* e o insucesso do tratamento (SIQUEIRA JR. E ROÇAS, 2014; PRADA et al., 2019). Esta é considerada a espécie bacteriana mais frequente isolada em canais com necessidade de retratamento, podendo ser encontrada em até 90% dos casos (ALMEIDA et al., 2015). Pinheiro e colaboradores (2003) destacaram que estatisticamente é o microrganismo mais prevalente encontrado (45,8%) em canais radiculares tratados. Siqueira e Roças (2004), utilizando a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), observaram prevalência de 77%; enquanto que Sedgley e colaboradores (2006) lançando mão do mesmo método, obtiveram 79,5%.

A *E. faecalis* é um coco Gram-positivo e anaeróbio facultativo (GILMORE et al., 2020). Trata-se de uma espécie bacteriana oportunista e resistente a variadas medidas de desinfecção adotadas na endodontia (NARAYANAN e VAISHNAVI, 2010). Estudos demonstram suas variadas habilidades de sobrevivência: crescimento na presença ou

ausência de oxigênio, sobrevivência em temperaturas entre 10 e -60°C; tolerância a pH alcalino (até 11,5); formação de biofilme; adesão aos túbulos dentinários; sobrevivência em contato com medicações intracanaís como o hidróxido de cálcio e irrigantes como o hipoclorito de sódio (NaOCl) até 6,5%; resistência a antibióticos, em particular à eritromicina e azitromicina, entre outras (PINHEIRO et al., 2003; JHAJHARIA et al., 2015).

Já a *C. albicans* assume papel de destaque por ser o fungo mais frequentemente isolado em canais infectados (MERGONI et al., 2018; YOO et al., 2020). Siqueira Jr. e Bilge (2004) observaram que é mais encontrado em infecções endodônticas persistentes/secundárias do que em infecções primárias, o que demonstra sua capacidade de tolerância frente às manobras assépticas empregadas na endodontia. Segundo estudo de Peerson e colaboradores (2017), a prevalência da espécie varia entre 0,5-55% dos casos.

O microrganismo supracitado é dentinofílico, possui capacidade de colonizar e se aderir profundamente às paredes de dentina dos canais radiculares, formando biofilme. Após 24 horas ocorre a maturação do mesmo, e observa-se múltiplas camadas de células polimórficas incorporadas às matrizes extracelulares, o que gera estruturas espessas e com significativa dureza. A *C. albicans* em forma de biofilme chega a ser até 100 vezes mais resistente às respostas imunes do hospedeiro e ao tratamento antifúngico (GULATI e NOBILI, 2016). Estudos demonstram que tanto a *C. albicans* como o *E. faecalis*, apresentam resistência à medicações intracanal a base de hidróxido de cálcio (TURK, SEN e OSTURK, 2009; DELGADO et al., 2013).

2.2 RETRATAMENTO ENDODÔNTICO

Nos casos de insucesso endodôntico, sempre que possível, a terapia preferencial deve ser o retratamento endodôntico não cirúrgico (TORABINEJAD et al., 2009; SALEHRAB e ROTSTEIN, 2010; SIGNOR et al., 2021). O uso do tratamento conservador é preconizado, pois permite uma grande chance de sucesso clínico a longo prazo, limitando a cirurgia perirradicular apenas aos casos em que a terapia inicial foi insatisfatória (BISPO et al., 2021; DIOGUARDI et al., 2022).

No livro “Endodontia: Biologia e técnica”, Lopes e Siqueira Jr. (2015) definem retratamento endodôntico: “basicamente, consiste em realizar a remoção do material obturador, a reinstrumentação e reobturação de canais radiculares, com o objetivo de superar as deficiências da terapia endodôntica anterior”.

No que diz respeito à presente dissertação, dentre as etapas do retratamento endodôntico, a remoção do material obturador assume papel de destaque. A guta-percha é o material obturador mais utilizado no tratamento endodôntico. Trata-se de um polímero extraído de plantas da espécie *Palaquium gutta*. O cone de GP é composto por partículas inorgânicas (óxido de zinco e sulfato de bário) e orgânicas (polímero e resina) em diferentes proporções, dependendo do fabricante (SIQUEIRA, 2001; NABESHIMA et al., 2011).

A guta-percha é muito bem aceita pelos tecidos vivos e não interfere no processo de reparação após obturação (PACE, 2021). Além da biocompatibilidade, possui outras diversas propriedades consideradas ideais para um material obturador, incluindo termoplastificidade, facilidade de remoção do canal, radiopacidade, e atividade antibacteriana (MANIGLIA-FERREIRA et al., 2005). A última se justifica pela presença do óxido de zinco na composição do material, e embora os cones sejam produzidos em condições assépticas, existe a possibilidade de contaminação microbiana por manipulação, aerossol ou condições de armazenamento. Variados agentes químicos são utilizados para descontaminação dos cones de GP (como diglucunato de clorexidina e NaOCl), porém Carvalho e colaboradores (2020) relataram que não há consenso sobre o melhor protocolo de descontaminação.

2.3 REMOÇÃO DO MATERIAL OBTURADOR

Para realizar a remoção da guta-percha dos canais radiculares existem diversas técnicas como a limagem manual, instrumentação rotativa, métodos térmicos e o uso de aparelhos ultrassônicos; estas podem ser aplicadas de forma isolada ou juntamente às substâncias solventes, sendo a utilização de métodos combinados a forma mais indicada, eficaz e segura (LOPES e SIQUEIRA JR., 2015; HARGREAVES e BERMAN, 2017).

Geralmente, os cones de GP se encontram bem condensados podendo apresentar resistência aos instrumentos, tornando a completa remoção do material obturador um desafio, principalmente em áreas críticas de curvatura de raiz, onde existe risco de perfuração. Nestes casos a literatura preconiza o uso de solventes para auxiliar no amolecimento da guta-percha (GOOD e MCCAMMON, 2012; VIRDEE e THOMAS, 2017). Ademais, solventes possuem atividade antimicrobiana, contribuindo para a desinfecção do meio (SIQUEIRA JR. e ROÇAS, 2004; EDGAR, MARSHALL e BAUMGARTNER, 2006).

Após a retirada da restauração coronária da entrada dos canais e da visualização do material obturador, a remoção da GP do terço cervical é realizada por instrumentos manuais, rotatórios e/ou térmicos. O espaço criado pela remoção inicial, serve de reservatório para o solvente de escolha, que é depositado e deixado agir por alguns minutos, com o objetivo de dissolver a guta-percha remanescente. Para remoção do terço médio, utilizam-se limas tipo Kerr ou Hedstrom, lançando mão de manobras progressivas de penetração, rotação à direita e remoção; sempre alternando uso do solvente e abundante irrigação, seguido de aspiração. Ao chegar ao terço apical, o uso de solventes é contraindicado pela literatura pelo risco de extravasamento no forame e danos aos tecidos periapicais. Recomenda-se cautela ao utilizar meios térmicos, pois o aquecimento excessivo, fundindo a GP à temperatura superior a 100°C, pode causar ocasionar injúrias às fibras periodontais e reabsorções radiculares cervicais (LOPES e SIQUEIRA JR., 2015).

Outro aspecto relevante na desobturação com o emprego de solventes, é que em casos que o material obturador esteja bem condensado, as substâncias são depositadas na porção apical do canal radicular e podem assim, entrar em contato com os tecidos apicais. Nesta situação, caso os solventes apresentem elevada citotoxicidade podem levar a exacerbação da reação inflamatória dos tecidos periapicais, cursando em sintomatologia pós-operatória e prejuízo à reparação tecidual apical (VILLAS BOAS, 2015).

Em 11 de Março de 2020, a COVID-19 foi caracterizada pela Organização mundial da saúde (OMS) como pandemia. A doença é causada por um vírus envelopado de RNA, conhecido como coronavírus (SARS-Cov-2). A principal forma de transmissão da doença ocorre a partir da disseminação de gotículas respiratórias através da tosse ou espirro, existindo um elevado risco em espaços fechados devido a concentrações elevadas de aerossóis (HASSAN et al., 2020). Dado o exposto, os Cirurgiões-Dentistas são considerados um dos grupos de maior risco entre os profissionais de saúde. O retratamento endodôntico é considerado uma urgência odontológica e sendo assim, deve-se buscar alternativas para diminuição do tempo de realização dos procedimentos, como por exemplo, estudo de substâncias mais efetivas (FRANCO, CAMARGO e PERES, 2020).

2.4 SOLVENTES ENDODÔNTICOS CONVENCIONAIS

O uso de solventes orgânicos no retratamento endodôntico representa um recurso importante para a completa remoção dos materiais obturadores, além de contribuírem para a desinfecção do sistema de canais radiculares (ESTRELA e FIGUEIREDO, 1999). Muitas opções de solventes estão disponíveis no mercado, os mais utilizados são o clorofórmio, xilol, tetracloroetileno (endosolv®), o eucaliptol e o óleo essencial de casca de laranja (DOTTO et al., 2020, FERREIRA, BRAGA e VAZ, 2021).

Mesmo com a variedade de oferta, a literatura demonstra que nenhum preenche os requisitos de um solvente ideal, que deve ser não tóxico, não carcinogênico, apresentar dissolução eficiente de GP, com tempo de ação viável e baixo custo. Um exemplo é o clorofórmio, que apesar de ser extremamente eficaz na dissolução da guta-percha, teve seu uso clínico banido em 1990 pela *Food and Drug Administration* (FDA) por possuir potencial carcinogênico e elevada toxicidade às células humanas (SCHAFER e ZANDBIGLARI, 2002; ALZRAIKAT, TAHA e HASSOUNEH, 2016). Desde então, novas substâncias vem sendo testadas como alternativas aos solventes convencionais, no intuito de encontrar um solvente eficiente e que atenda aos requisitos almejados.

2.4.1 Clorofórmio

O clorofórmio (triclorometano) é um solvente orgânico utilizado na Odontologia e considerado padrão-ouro por possuir a melhor ação de amolecimento da guta-percha entre os solventes disponíveis, ação rápida e possuir atividade antimicrobiana contra *E. faecalis* (AMINSOBHANI et al., 2022). Apesar do uso da substância estar associada ao sucesso do retratamento endodôntico por sua eficiência, estudos demonstram seus efeitos citotóxicos aos tecidos e potencial cancerígeno (SCHAFER e ZANDBIGLARI, 2002; OLIVEIRA, 2006; VILLAS BOAS, 2015). O clorofórmio é classificado como cancerígeno do grupo 2B pela Agência Internacional de pesquisa sobre o câncer (IARC, 1999) e o estudo de Verma, Tordik e Nosrat (2018) alerta para o risco do extravasamento acidental do clorofórmio durante sua aplicação como solvente no retratamento endodôntico, evidenciando seu efeito citotóxico aos tecidos periapicais, com a possibilidade de geração de necrose tecidual e óssea no local do extravasamento.

Além dos efeitos deletérios supracitados, estudos evidenciam o potencial hepatotóxico, neurotóxico e depressor do sistema cardiovascular do clorofórmio; ademais

é considerado uma substância agressora do meio ambiente (SPANÓ et al., 1995; WANG, LI e CHEN, 2018). O clorofórmio é altamente volátil e pode evaporar completamente dentro de um minuto em contato com o ar, podendo ocorrer risco de toxicidade por inalação do solvente durante seu uso, seja pelo profissional cirurgião-dentista ou pelo paciente (BARBOSA, BURKARD e SPANBERG, 1994).

Desde a descoberta dos efeitos negativos do clorofórmio, substâncias vêm sendo testadas (principalmente óleos essenciais) para identificação de um solvente endodôntico alternativo, eficaz e que não apresente tantos efeitos nocivos aos indivíduos e ao meio ambiente.

2.4.2 Eucaliptol

O eucaliptol (constituente majoritário do óleo essencial de eucalipto), advindo do gênero *Eucalyptus* da família *Myrtaceae* (SANTOS, 2021), é um solvente orgânico natural amplamente utilizado na prática odontológica. Possui capacidade dissolutiva de guta-percha, apresenta baixa toxicidade e possui atividade anti-inflamatória, antisséptica e antibacteriana (WENNBERG e OSTARVIK, 1989; MAGALHÃES et al., 2007). A atividade antimicrobiana do eucaliptol contra cepas de *E. faecalis* e *C. albicans* é relatada como dose dependente (MARTINEZ-PABON e ORTEGA-CUADROS, 2020). A principal desvantagem do solvente é sua lentidão para dissolver a GP (WOURMS et al., 1990; CAMÕES, 2010). Caso a substância seja aquecida, seu tempo de ação diminui, dissolvendo a guta-percha mais rapidamente (OYAMA, SIQUEIRA e SANTOS, 2002).

Estudos demonstram que o eucaliptol apresenta menor ação emoliente de GP que o clorofórmio e o tetracloretileno (PÉCORA, SPANÓ e BARBIN, 1993; KARATAS et al., 2016). E em relação ao óleo essencial de laranja, o eucaliptol apresenta ação dissolutiva semelhante (MAGALHÃES et al., 2007; CAMÕES et al., 2010; RAMOS, CAMARA e AGUIAR, 2016; KARATAS et al., 2016).

2.4.3 Endosolv® E

Endosolv® E é um solvente para desobturação endodôntica fabricado pela SEPTODONT (Paris, França), com composição de 92,30 g de tetracloretileno e 100 g de excipientes, sendo apresentado em um frasco de 13 mL. Esse solvente apresenta boa ação dissolutiva sobre cones de guta-percha e cimentos a base de OZE (VILLAS BOAS,

2015). Dentre suas vantagens, destaca-se o curto tempo de utilização do solvente para sua ação emoliente (2 minutos) (HWANG et al., 2015).

O tetracloroetileno é um composto químico com ação comprovadamente tóxica para o fígado e suas vias metabólicas, incluindo os rins (CICHOCKI et al., 2019). O estudo de Luo e colaboradores (2019) demonstraram alterações renais e hepáticas em camundongos relacionadas ao uso da substância. O tetracloroetileno é classificado pela IARC, como grupo 2A, ou seja, potencialmente cancerígeno para seres humanos (IARC, 2014). Com evidências sugestivas, mas limitadas, para câncer de fígado e mais fortes para câncer de bexiga associados ao uso do composto químico (LASH, 2019). A literatura alerta ainda para o risco de neurotoxicidade após exposição oral ou inalação do tetracloroetileno, podendo gerar, principalmente alterações visuais e letargia (EPA, 2012).

2.5 FITOTERAPIA NA ENDODONTIA

A fitoterapia, ciência que estuda as plantas medicinais e seu uso para o tratamento de doenças, é uma vertente crescente no mundo atual por apresentar menor toxicidade, maior biocompatibilidade e custos mais acessíveis à população em comparação à farmacologia convencional (BETTEGA et al., 2011). Em 2008, o CFO através da resolução nº 82, reconheceu e regulamentou o uso pelo Cirurgião-Dentista de práticas integrativas e complementares à saúde bucal, incluída nestas, o uso da fitoterapia.

Na Odontologia, muito tem se buscado dos fármacos fitoterápicos, especialmente nos óleos essenciais, encontrar substâncias com boa atividade dissolutiva de guta-percha, satisfatória atividade antimicrobiana contra os patógenos associados aos casos de insucesso endodôntico, maior biocompatibilidade, menor toxicidade aos tecidos e baixo custo (CAVALCANTI et al., 2011; NABAVIZADEH et al., 2014; FERREIRA, BRAGA e VAZ, 2021; ESPÍRITO SANTO et al., 2022; MARINKOVIC et al., 2022).

O uso dos OEs se fundamenta em suas propriedades físico-químicas, organolépticas (sabor) e aromáticas. Eles servem de matéria-prima para uma grande variedade de indústrias: têxteis, desengraxantes, inseticidas, antissépticos, produtos farmacêuticos, perfumaria, alimentos e medicamentos (WOLFFENBÜTTEL et al., 2014).

Os óleos essenciais podem ser extraídos de variados gêneros, como por exemplo o *Citrus*, advindo da família de plantas *Rutaceae*, muito utilizado nos mais diversos setores por ser considerado seguro e apresentar amplo espectro de atividade antimicrobiana,

antioxidante e antifúngica, principalmente devido aos terpenos, flavonoides, carotenoides e cumarina presentes em sua composição (VIUDA-MARTOS et al., 2008; ALI et al., 2017). Dentro deste gênero, destaca-se o uso do óleo essencial de laranja como solvente endodôntico.

Outro gênero ao qual cabe destaque, é o *Cymbopogon*, pertencente à família *Poaceae*, e que também apresenta grande importância comercial nas mais diversas áreas. Estudos confirmam suas propriedades anti-inflamatórias e antimicrobianas (OLIVEIRA et al., 2011; BOUKHATEM et al., 2014).

O Brasil é um país rico em plantas medicinais, pertencendo a seu território, a floresta Amazônia, considerada a maior reserva de biodiversidade terrestre existente no planeta (ARAGON, 2018). O país se destaca por ser o maior produtor de frutas cítricas do mundo, com produção anual estimada em 20 milhões de toneladas de laranja (COSTA, NEVES e TELLES, 2020).

Sendo assim, a utilização de substâncias fitoterápicas, principalmente óleos essenciais, como alternativa aos solventes endodônticos convencionais podem apresentar aspectos interessantes como estímulo à agricultura familiar, redução do impacto ambiental, e descoberta de compostos menos tóxicos à saúde humana e com melhor efetividade.

2.5.1 Gênero *Citrus*: alternativa aos solventes endodônticos convencionais

O óleo essencial de laranja, advindo do gênero *Citrus*, é um excelente solvente alternativo empregado na endodontia em comparação com solventes potencialmente tóxicos, este apresenta capacidade satisfatória de dissolução de guta-percha e cimentos à base de OZE; além de ser biocompatível, possui odor agradável e não apresentar efeitos nocivos à saúde (FARIA-JÚNIOR et al., 2011; BARRETO et al., 2016). Ademais, apresenta ação citotóxica menor em comparação ao clorofórmio e ao eucaliptol (VILLAS BOAS, 2015). O uso de óleos essenciais em endodontia está crescendo devido à sua comprovada segurança, biocompatibilidade e não carcinogenicidade (VAJRABHAYA et al., 2004).

O D-limoneno ou 4-isopropenil-1-metilciclohexeno (C₁₀H₁₆) é um monoterpreno monocíclico abundante em plantas cítricas como limão, laranja e uva. Esta substância está presente em óleos essenciais cítricos e especiarias, mas a fonte mais comum é o

óleo de casca de laranja, que contém cerca de 90% a 95% de D-limoneno, podendo esta substância ser extraída e refinada (ANANDAKUMAR, KAMARAJ e VANITHA, 2021).

O D-limoneno apresenta fragrância cítrica fresca, sendo utilizado principalmente como aromatizante, flavorizante de alimentos, e na área médica, como solvente de cálculos biliares (SUN, 2007). É classificado pela *Food and Drug Administration* como um material seguro para uso humano (FDA, 2023). Destaca-se na literatura por seus efeitos benéficos, principalmente pela ação anti-inflamatória e antioxidante (ALMEIDA et al., 2015; YU, YAN e SUN, 2017). A substância possui capacidade de dissolução de guta-percha similar ao eucaliptol e ao óleo de laranja (VILLAS BOAS, 2015). Nos últimos anos, produtos naturais contendo D-limoneno têm sido investigados por sua segurança e eficácia na remoção de GP (JANTARAT, MALHOTRA e SUTIMUNTANAKUL, 2013).

Óleos essenciais advindos do gênero *Citrus* representam uma alternativa natural viável aos solventes convencionais, porém na literatura as pesquisas existentes na área odontológica não especificam de qual planta o óleo foi extraído, qual parte da planta foi utilizada, e qual a composição química da substância (BAYRAM et al., 2017; ESPÍRITO SANTO, 2022).

A análise por cromatografia a gás é muito empregada com o objetivo de conhecer os constituintes químicos dos OEs, devido às suas características de elevado número de constituintes com baixo peso molecular, elevada volatilidade, solubilidade em solventes orgânicos, entre outras (WOLFFENBÜTTEL et al., 2014). Por este motivo, será realizada análise da composição química dos óleos essenciais deste estudo por meio da Cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG-EM).

2.5.1.1 *Citrus paradisi*

Conhecido popularmente como toranja ou *grapefruit*, o óleo essencial *Citrus paradisi* é muito utilizado como agente anti-obesidade e redutor de apetite, esta ação ocorre pela ativação da atividade do sistema nervoso simpático, que favorece a lipólise, e conseqüentemente auxilia na redução dos triglicérides (NAGAI et al., 2014). Pesquisas sobre o óleo essencial comprovam atividade larvicida contra ovos de *Aedes aegypt* (IVOKE et al., 2013) e sua potente atividade antimicrobiana contra *E. faecalis* e *C. albicans* (DOSOKY e SETZER, 2018).

Segundo estudo de Okunowo e colaboradores (2013), por meio de análise cromatográfica, os principais componentes identificados no óleo foram D-limoneno

(75,05%), seguido de β -mireno (7,25%), α -pineno (2,11%), cariofileno (1,88%), octanal (1,68) e β -felandreno (1,18%). Alguns dos componentes menores incluíram δ -cadineno, linalol e 3-careno. No estudo citado, o óleo analisado foi proveniente da Nigéria, podendo acontecer diferenças na composição a depender do local do cultivo, clima, horário de colheita e outras variáveis.

2.5.1.2 *Citrus limon*

Popularmente conhecido como limão, é extraído da fruta, e rico principalmente em vitamina C, o que auxilia na prevenção de infecções. Na medicina tradicional romena, administra-se óleo essencial de *C. limon* com açúcar para suprimir a tosse (PAPP et al., 2011). O produto natural também é utilizado para tratamento de dores de garganta, febre, reumatismo e hipertensão arterial (BALOGUN e ASHAFI, 2019).

As ações farmacológicas de *C. limon* são amplas, e incluem atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, antioxidante, anticancerígena, e efeito neuroprotetor (LI et al., 2022). O potencial farmacológico do óleo é determinado por sua rica composição química, como flavonoides, ácidos fenólicos, cumarinas, ácidos carboxílicos, aminoácidos e vitaminas. Os principais compostos do óleo essencial são os monoterpenos, especialmente o D-limoneno. Devido às suas atividades, *C. limon* ocupa papel de destaque nas indústrias de alimentos e cosméticos (KLIMEK-SZCZYKUTOWICZ, SZOPA e EKIERT, 2020).

Siddique e colaboradores (2020) realizaram um ensaio clínico randomizado, duplo cego, envolvendo a participação de 30 pacientes para comparar o potencial antimicrobiano do extrato etanólico de alho e limão (extraído de *C. limon*) 1,8% com a solução de NaOCl 3% em canais radiculares de elementos dentários com periodontite apical assintomática, utilizando PCR para quantificação bacteriana. Como resultado a solução proposta foi tão eficaz quanto a solução de hipoclorito, não apresentando diferenças estatísticas.

2.5.1.3 *Citrus sinensis*

C. sinensis representa o maior grupo de cultivo cítrico em todo o mundo, respondendo por cerca de 70% da produção anual total de espécies do gênero *Citrus* (SHARMA et al., 2017). Popularmente conhecida como laranja, esta espécie vegetal

possui diversas variantes. O óleo essencial de laranja pode ser extraído de todo tecido vivo da planta, estando concentrado principalmente das cascas, folhas e caule. Dentre os principais metabólitos presentes no OE, destacam-se os flavonoides, alcaloides, saponinas, cumarinas e carotenoides (WOLFFENBÜTTEL et al., 2014).

Estudos com análise de CG-EM apontam o D-limoneno como o principal constituinte do óleo (94%), seguido do mirceno (2%), outros compostos identificados aparecem com menos de 1% de área da composição (O'BRYAN et al., 2008; FAVELA-HERNÁNDEZ et al., 2016).

C. sinensis é rico em vitamina C e apresenta significativa atividade antioxidante (FAVELA-HERNÁNDEZ et al., 2016). Rauf, Uddin e Ali (2014) demonstraram que o OE apresentou 84,81% de efeito antirradical DPPH a 100 µg/mL, enquanto o ácido ascórbico, utilizado como controle positivo, demonstrou 96,36%.

A atividade antimicrobiana do óleo essencial assume papel de destaque por seu amplo espectro. Este apresenta atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* (KAVIYA et al., 2011), *Bacillus subtilis*, *Shigella* (AROOJ, DAR e SAMRA, 2014), *Salmonella* (O'BRYAN et al., 2008), e *E. faecalis* (FISHER e PHILLIPS, 2009). Estudos demonstram atividade antifúngica contra *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus terreus*, *Trichoderma viridea* (SINGH et al., 2010) e *C. albicans* (TROVATO et al., 2000).

No estudo *in vitro* conduzido por Saleem e Saeed (2020) o extrato de *C. sinensis* (obtido a partir da casca da laranja) demonstrou atividade contra *E. faecalis* com Concentração inibitória mínima (CIM) de 400 µg/mL e contra *C. albicans* (> 1000 µg/mL).

Lehrner e colaboradores (2000) demonstraram as ações calmante e ansiolítica do óleo de laranja, por via inalatória sobre pacientes do sexo feminino expostas ao óleo no consultório odontológico, através de difusor de odores na sala de espera, quando comparadas com o grupo controle, exposto ao ar puro.

2.5.2 Gênero *Cymbopogon*

O gênero *Cymbopogon*, pertencente à família *Poaceae*, é amplamente distribuído nas regiões tropicais e subtropicais da África, Ásia e América. Composto por 144 espécies, este gênero é muito utilizado por seu alto teor de óleos essenciais que têm sido usados em aplicações cosméticas, farmacêuticas, e de aromaterapia (OLIVEIRA et al., 2011). A

importância comercial de algumas espécies do gênero *Cymbopogon* se deve a sua ótima capacidade de adaptação, crescendo em condições climáticas moderadas e até mesmo extremamente severas (AVOSEH et al., 2015).

As propriedades benéficas da espécie, tais como atividade antioxidante, antimicrobiana e anti-inflamatória, são decorrentes da presença de compostos como alcaloides, terpenoides voláteis e não voláteis, flavonoides, carotenoides e taninos, que podem ser encontrados em todas as partes das plantas da espécie (GRICE, ROGERS e GRIFFITHS, 2011; AVOSEH et al., 2015).

Na Odontologia, dentre todas as espécies do gênero, destaca-se o uso do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (*lemongrass* ou *capim-limão*) para variados fins, como controle de placa bacteriana, tratamento de gengivite e doenças periodontais, halitose e candidíase oral (KUMAR e GURUNATHAN, 2019).

Wright, Maree e Sibanyoni (2009) avaliaram a eficácia e segurança do uso de *C. citratus* para tratamento de candidíase oral (causada pelo fungo *C. albicans*) em pacientes portadores de HIV/AIDS residentes na África do Sul, e o *lemongrass* apresentou resultados superiores em comparação ao grupo controle (solução aquosa de violeta genciana 0,5%).

Em 2015, Dany e colaboradores, demonstraram durante uma investigação com colutório contendo óleo essencial de *lemongrass* a 0,25% que houve uma maior redução no índice médio de periodontite e gengivite após 21 dias de uso, em comparação ao grupo controle (colutório de clorexidina 0,012%).

Alvarenga e colaboradores (2022) realizaram uma revisão integrativa acerca das aplicações terapêuticas do *C. citratus* na Odontologia, e concluíram que: apesar da existência de diversas pesquisas que demonstram a eficácia e segurança desta substância, atualmente, a maior parte de sua aplicação na área odontológica ainda persiste de maneira *in vitro*, com destaque às suas propriedades antibacterianas e antifúngicas, considerando a microbiota patogênica presente no biofilme da cavidade oral e no interior dos canais radiculares. Nota-se que há poucos protocolos específicos que orientem o profissional cirurgião-dentista para o uso de terapias à base de plantas medicinais e/ou fitoterápicos, como no caso do *C. citratus*. As plantas medicinais são pouco exploradas por cirurgiões-dentistas, o que se deve geralmente à falta de conhecimento, interesse, confiança ou de capacitação durante a graduação. Assim, deve-se buscar combater a deficiência das grades curriculares dos cursos de Odontologia, bem

como realização de mais estudos para explicar e fundamentar melhor os efeitos das substâncias naturais advindas do gênero *Cymbopogon* na prática odontológica.

Gonzales e Iberico (2022) demonstraram que o óleo essencial de laranja, o eucaliptol e o óleo de “erva luisa” ou “erva de limão” (*Cymbopogon citratus*) dissolveram de maneira estatisticamente semelhante os cones de GP após os tempos de exposição de 5 e 10 minutos.

Em relação à atividade dissolutiva de guta-percha, embora exista várias pesquisas utilizando óleos essenciais, não foram encontrados dados na literatura relacionados ao uso de outros óleos do gênero *Cymbopogon* para este fim, sendo necessária a realização de pesquisas a respeito desta possível atividade, fato que motivou a seleção de 3 óleos deste gênero para o presente estudo.

2.5.2.1 *Cymbopogon martinii*

Popularmente conhecido como palmarosa, este óleo essencial possui importância comercial principalmente por sua ação antifúngica, atribuída ao seu elevado teor de geraniol - componente majoritário (PRASHAR et al., 2003; ANDRADE et al., 2014).

Almeida e colaboradores (2011) demonstraram satisfatória atividade antifúngica do óleo essencial de palmarosa (*C. martinii*) frente às oito cepas de *C. albicans* isoladas de pacientes HIV soropositivos por meio da técnica da disco-difusão em Agar, com média do halo de inibição (30 mm) considerado maior em relação ao controle positivo - o miconazol (9 mm).

Em 2019, Oliveira e Moraes avaliaram a atividade do óleo essencial de palmarosa em forma de emulsão e sua estabilidade para formulação de dermocosméticos. Os autores demonstraram que o OE inibiu a peroxidação lipídica, possui excelente atividade antioxidante, ação hidratante e regeneradora, sendo portanto, indicado para uso em produtos antienvhecimento.

Cavalcanti e colaboradores (2011) testaram o efeito inibitório de óleos essenciais sobre microrganismos do canal radicular (*C. albicans* e *E. faecalis*) por meio da triagem da atividade antimicrobiana e da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM). As soluções de digluconato de clorexidina (0,012%) e NaOCl (1%) serviram de controle. O óleo essencial de palmarosa (*C. martinii*) apresentou atividade antimicrobiana satisfatória contra as duas cepas, e frente ao *E. faecalis* apresentou atividade estatisticamente semelhante aos controles empregados. Os autores concluíram que

apenas a inibição dos microrganismos envolvidos na infecção endodôntica não justifica o emprego desses produtos na prática clínica; a biocompatibilidade e a citotoxicidade são aspectos que devem ser considerados quando da perspectiva de uso clínico dos produtos naturais. Assim, sugere-se que novos estudos sejam realizados de modo a avaliar as possibilidades de emprego dos óleos essenciais como constituintes de materiais dentários e produtos odontológicos com atividade antimicrobiana.

2.5.2.2 *Cymbopogon nardus*

Conhecido popularmente como citronela, este óleo essencial apresenta grande importância comercial principalmente como repelente natural, devido a sua elevada eficácia e baixa toxicidade (BRAGA et al., 2020). Seus componentes principais incluem citronelal, citronelol e geraniol, e contribuem para várias atividades (antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória, e cicatrizante), além da ação repelente de mosquitos (SHARMA et al., 2019; BORGES et al., 2021).

Trindade (2021) avaliou a atividade biológica do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* e do fitoconstituente citronelal sobre o fungo *Candida albicans*. Como resultados, tanto o OE quanto o fitoconstituente apresentaram atividade antifúngica inibindo 100% das cepas nas concentrações de 256 µg/mL.

Devido às propriedades antissépticas, *C. nardus* é muito utilizado para formulação de sabões e desinfetantes domésticos. Sendo assim, destaca-se sua indicação como agente desinfetante de próteses dentárias (GUIOTTI et al., 2016). Catazone (2022) avaliou *in vitro* formulações contendo óleo essencial de citronela (*Cymbopogon nardus*) em relação a propriedades biológicas, físicas e mecânicas de próteses dentárias (confeccionadas em resina acrílica). As formulações fitoterápicas à base de citronela apresentaram efeito antifúngico satisfatório sobre *Candida albicans* em superfícies de resina acrílica, não apresentaram efeito citotóxico sobre células da linhagem epitelial, e não causaram alterações na superfície de resina acrílica, sendo potencialmente promissoras para serem indicadas como soluções desinfetantes para próteses dentárias.

2.5.2.3 *Cymbopogon schoenanthus*

Cymbopogon schoenanthus é uma das espécies do gênero, conhecido como “capim-limão” ou “lemongrass”. Pertencente à família das gramíneas (*Poaceae*) esta

espécie é originária da Índia, e foi introduzida no Brasil durante o período colonial. Apresenta propriedades digestivas, sedativas, ação no controle biológico contra parasitas, além de ser usada em perfumaria (SOUSA et al., 2005). Também é utilizada para tratamento de infecção urinária (MALTI et al., 2020).

Os óleos essenciais do gênero *Cymbopogon* são conhecidos pela presença do citral (neral e geranial) e do geraniol, os quais tem se destacado pela atividade antimicrobiana (GANJEWALA e LUTHRA, 2010; PIASECKI et al., 2021). É importante citar que a composição química dos OEs podem variar de acordo com o local de plantio e o tempo de colheita (MALTI et al., 2020), o que influencia nas atividades biológicas, podendo resultar em diferentes ações terapêuticas de OEs extraídos de uma mesma planta que foi cultivada e colhida em uma região distinta. Katiki e colaboradores (2011) analisaram a composição química do OE de *C. schoenanthus* por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) e o componente majoritário identificado foi o geraniol (62,5%).

Hashim e colaboradores (2017) analisaram a atividade biológica do óleo essencial e demonstraram atividade antibacteriana satisfatória contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*. Outro estudo demonstrou antimicrobiana contra *S. aureus* (YAGI et al., 2016). Porém, estudos com o OE de capim-limão (*C. schoenanthus*) são escassos no que tange à avaliação de sua ação sobre microrganismos de interesse odontológico (LIMA, 2022).

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo do presente estudo foi avaliar a efetividade na dissolução da guta-percha, mensurar os potenciais biológicos e a segurança de seis óleos essenciais; sendo três pertencentes ao gênero *Citrus* (*Citrus paradisi*, *Citrus limon* e *Citrus sinensis*) e três ao gênero *Cymbopogon* (*Cymbopogon martinii*, *Cymbopogon nardus* e *Cymbopogon shoenanthus*). Os resultados obtidos foram comparados aos solventes endodônticos conhecidos e utilizados na Odontologia (clorofórmio, endosolv[®] E e eucaliptol).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 AMOSTRAS

Neste estudo experimental foram avaliadas a capacidade solvente, a segurança e a atividade biológica de nove substâncias, sendo seis óleos essenciais, dos quais três são pertencentes ao gênero *Citrus* e três ao gênero *Cymbopogon*, além de três controles (clorofórmio, endosolv[®] E e eucalipto). Todas as amostras foram adquiridas comercialmente, conforme mostrado no Quadro 1.

Quadro 1 - Informações sobre as substâncias de interesse avaliadas neste estudo.

Código	Substância	Nome popular	Parte da planta	Fabricante
Óleo 1	<i>Citrus paradisi</i>	Grapefruit rosa	Cascas dos frutos	Grupo Laszlo
Óleo 2	<i>Citrus limon</i>	Limão siciliano	Cascas	Grupo Laszlo
Óleo 3	<i>Citrus sinensis</i>	Laranja sanguínea	Cascas	Grupo Laszlo
Óleo 4	<i>Cymbopogon martinii</i>	Palmarosa	Capim	WNF Indústria e Comercio Ltda
Óleo 5	<i>Cymbopogon nardus</i>	Citronela	Folhas	WNF Indústria e Comercio Ltda
Óleo 6	<i>Cymbopogon schoenanthus</i>	Capim-limão	Folhas	WNF Indústria e Comercio Ltda
Controle 1 (C1)	Eucalipto [®]	NA	NA	Biodinâmica Química e Farmacêutica Ltda
Controle 2 (C2)	Endosolv [®] E	NA	NA	Septodont*
Controle 3 (C3)	Clorofórmio	NA	NA	Labsynth produtos para laboratório Ltda

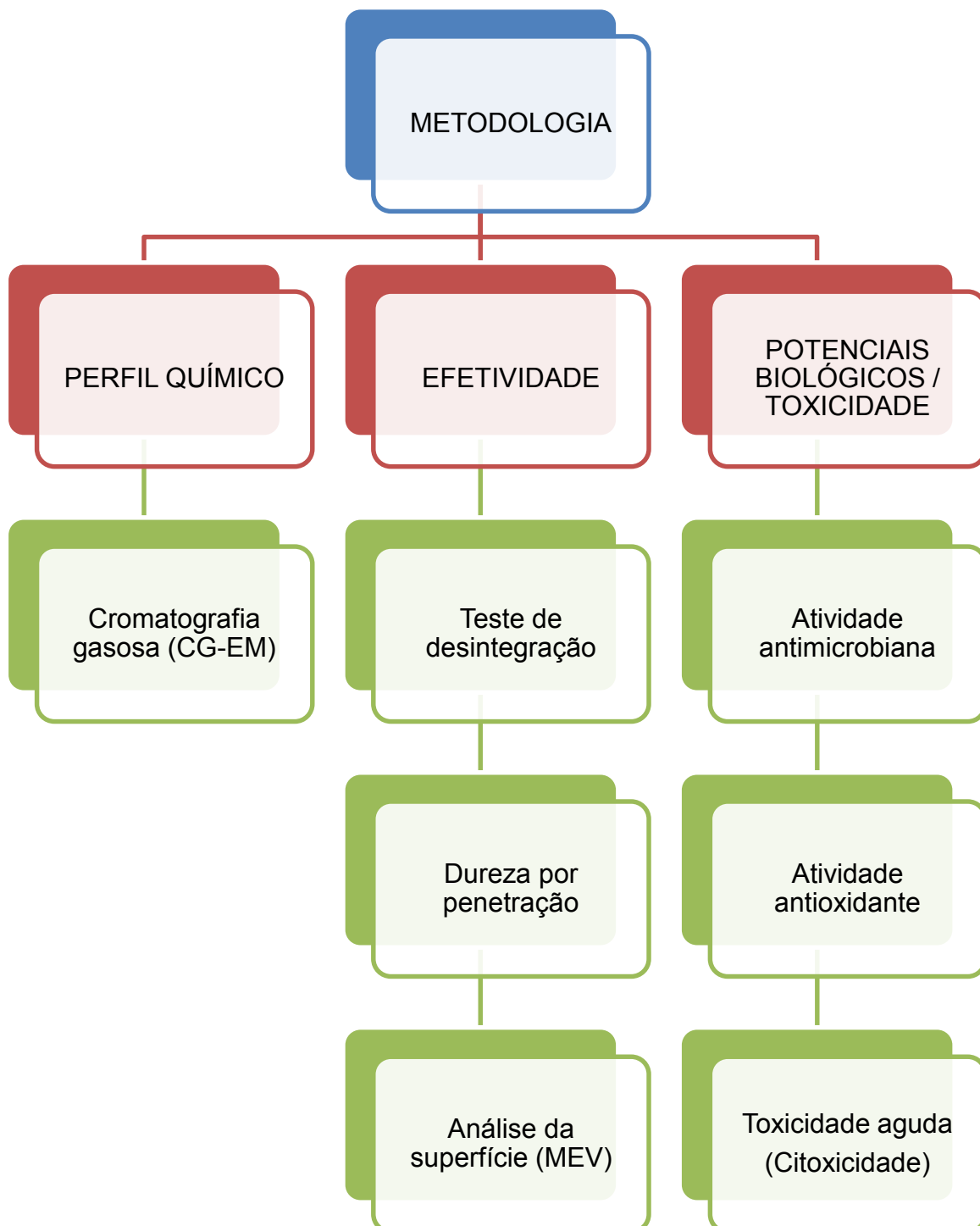
NA = não se aplica; *Importado e distribuído no Brasil por TDV Dental Ltda.

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

As amostras foram submetidas às análises laboratoriais, conforme demonstrado abaixo (Esquema 1). O perfil químico dos óleos essenciais foi avaliado por meio da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM); a efetividade dos óleos essenciais na remoção da guta-percha, pelos testes de desintegração, dureza por penetração e análise da superfície (microscopia eletrônica de varredura – MEV). Em relação aos potenciais biológicos, a atividade antimicrobiana foi avaliada por meio da análise turbidimétrica contra *E. faecalis* e *C. albicans* e a atividade antioxidante foi medida pelo método de sequestro de espécies reativas de oxigênio; a toxicidade aguda foi

estimada pelo ensaio com 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio (MTT) utilizando fibroblastos murinos (L929).

Esquema 1 - Fluxograma dos protocolos experimentais executados.



Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

4.2 PERFIL QUÍMICO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Considerando a necessidade de análise e caracterização da composição química de cada óleo essencial, optou-se pelo método padrão-ouro de análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Empregou-se o sistema analítico composto por cromatógrafo QP2010 Ultra com amostrador automático AOC - 5000 Plus e coluna cromatográfica de 30 metros (SH-Rtx-5MS), ambos da Shimadzu.

Para o preparo das amostras, 20 µL do óleo essencial ou padrão n-alcenos (C7 a C30 – Sigma-Aldrich) foram adicionados a 980 µL de acetato de etila (grau HPLC - do inglês *high performance liquid chromatography*) em *vials* apropriados para o injetor.

As condições analíticas incluíram: temperaturas do forno 60°C e do injetor 220°C, gradiente linear 60°C - 240°C com variação de 3°C/minuto, fluxo do gás de arraste (hélio) de 8,5 mL/minuto, injeção de 1 µL e operação em modo *split* de 1:5; ionização eletrônica de 70 eV. O detector foi programado para registrar taxas de massas (varredura) entre 20 e 500 m/z. A temperatura da fonte foi de 290°C e da interface de 280°C, e o ganho do detector de 1,05 kV.

Os dados obtidos foram analisados comparando o perfil de fragmentação da molécula no espectro de massas, com os dados depositados na biblioteca NIST (do inglês *National Institute of Standards and Technology*) e a similaridade calculada pelo *software GC-MS Postrun Analysis*. Padrões de fragmentação também foram comparados aos padrões da literatura internacional - o ADAMS (2007).

O índice de Kovatz (Equação 1) e o índice de retenção com programação linear de temperatura (LTPRI, do inglês *Linear Temperature Programmed Retention Indexes*) (Equação 2) foram calculados e, posteriormente, comparados com a literatura.

$$KI = 100n + 100 \left(\frac{\log t'_{R(i)} - \log t'_{R(n)}}{\log t'_{R(n+1)} - \log t'_{R(n)}} \right)$$

Equação 1 - Cálculo do Índice de Kovatz.

KI= Índice de Kovatz; t'R = tempo de retenção ajustado; i = analito; n = número de carbonos do padrão adjacente menos retido; n+ 1 = número de carbonos do padrão adjacente mais retido.

Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

Onde t'_R é o tempo de retenção ajustado (tempo de retenção do pico menos o tempo de eluição do pico de um composto não retido pela coluna cromatográfica), i é o analito, n – número de carbonos do padrão adjacente menos retido e $n + 1$ é o número de carbonos do padrão adjacente mais retido (MUHLEN, 2009).

$$LTPRI = 100n + 100 \frac{t_{R(i)} - t_{R(n)}}{t_{R(n+1)} - t_{R(n)}}$$

Equação 2 - Cálculo do Índice de retenção com programação linear de temperatura.

LTPRI= Índice de retenção com programação linear de temperatura; t'_R = tempo de retenção ajustado; i = analito; n = número de carbonos do padrão adjacente menos retido; $n+ 1$ = número de carbonos do padrão adjacente mais retido.

Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

4.3 TESTE DE DESINTEGRAÇÃO

A quantidade total de amostra para este teste compreendeu 81 cones de guta percha (tamanho M, 28 mm, ENDOPOINTS®, lote: 091606G). Cada grupo de interesse a ser testado foi composto de 3 cones de guta-percha.

O ensaio foi realizado em triplicata e em conformidade com o descrito por Ramos, Camara e Aguiar (2016), a saber: os cones de GP foram pesados em uma balança analítica (4 casas decimais). Em seguida, foram colocados em um tubo de vidro cilíndrico (37 mm de altura e 10 mm de diâmetro) e permaneceram submersos em 2 mL das substâncias-teste por 5 minutos.

Posteriormente, os cones foram lavados com água destilada (100 mL) com auxílio de uma seringa de 20 mL, cujo conteúdo foi dispensado manualmente em jatos contínuos (5 vezes de 20 mL). Em seguida, os cones foram mantidos em temperatura ambiente por 72 horas para secagem em peneiras granulométricas de aço inoxidável. Após a secagem, os cones de guta-percha foram pesados novamente para avaliar a perda de massa. A massa perdida (M_p) foi calculada pela massa inicial (M_i) dos cones menos a massa final (M_f), sendo dada pela Equação 3 (RAMOS, CAMARA e AGUIAR, 2016). Imagens representativas das etapas do teste de desintegração podem ser vistas na Figura 1.

$$M_p = M_i - M_f$$

Equação 3 - Cálculo da massa perdida.

M_p= massa perdida; M_i= massa inicial; M_f= massa final.

Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

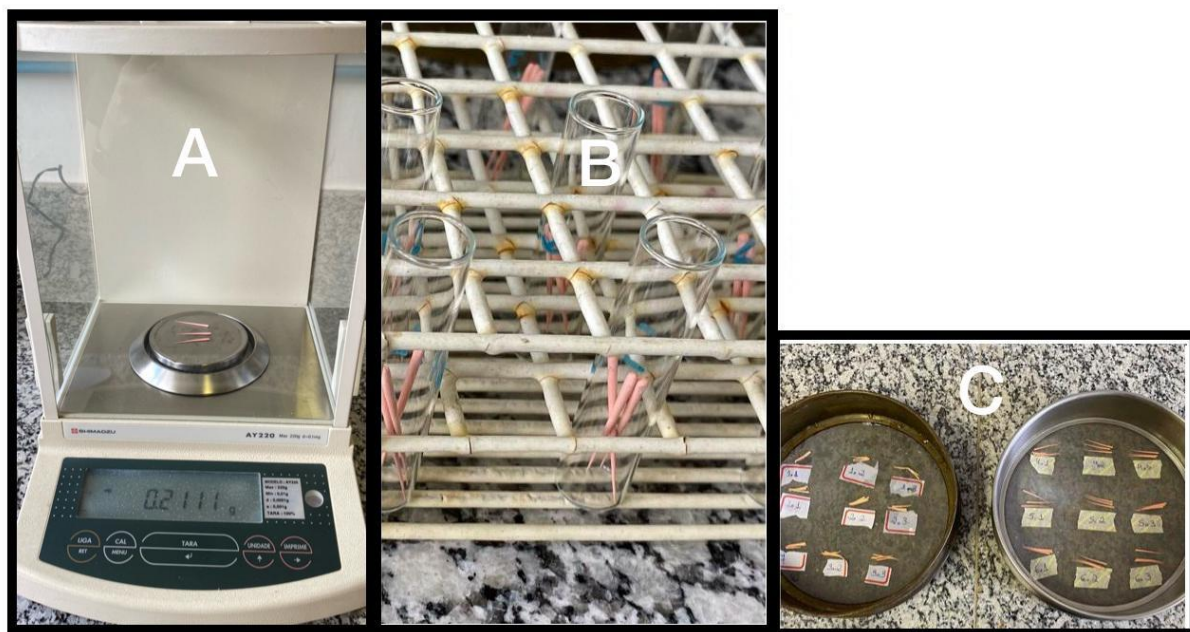


Figura 1 - Etapas do teste de desintegração.

A= pesagem dos cones de guta-percha; B= preparação dos tubos de ensaio; C= secagem dos cones em tamis de aço inoxidável.

Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

4.4 TESTE DE DUREZA

Para este teste foi utilizada metodologia adaptada de estudos semelhantes (JANTARAT, MALHOTRA e SUTIMUNTANAKUL, 2013; OYAMA, SIQUEIRA e SANTOS, 2002). Trinta e seis corpos de prova foram confeccionados e divididos em 9 grupos, cada qual contendo 4 espécimes. Um tubo cilíndrico (33 mm de altura com 10 mm de diâmetro) foi dividido em três partes iguais de 10 mm (Figura 2-A). Na porção inferior foi colocado o restaurador temporário Obtur (marca: Maquira, lote: 398917). Em seguida,

foram acrescentados 10 mm de guta-percha bastão (Ohdacam, marca: Dentsply sirona, lote 360770L), plastificada através de uma seringa metálica em alta temperatura.

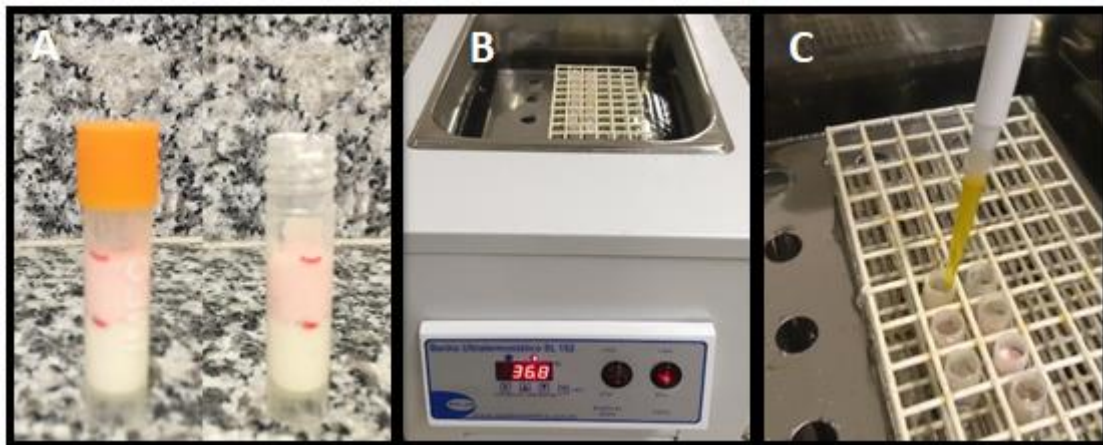


Figura 2 - Preparação dos espécimes e etapas do teste de dureza.

A= tubos cilíndricos (espécimes) contendo na porção inferior 10 mm de Obtur seguido de 10 mm de guta-percha; B= aparelho de banho ultratermostático; C= 0,1 mL da substância teste adicionada acima da guta-percha com emprego de pipeta eletrônica.

Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

Os corpos de prova foram submetidos ao banho ultratermostático (SL 152, SOLAB, Figura 2-B) por 1 hora na temperatura de $37^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$, simulando o ambiente oral. Posteriormente, foram adicionados 0,1 mL da substância-teste (Figura 2-C) na porção superior do corpo de prova, com tempo de atuação de 5 minutos e mantidos em banho ultratermostático nas mesmas condições.

Após este intervalo de tempo, foi realizado o teste de força de compressão por meio da máquina de ensaio universal (EMIC DL 20KN, Instron). Foi calculada a força máxima, aplicada perpendicularmente ao plano do corpo de prova, com velocidade igual a 5 mm/minuto, necessária para que ocorresse o deslocamento de um espaçador C endodôntico por 5 mm através da guta-percha (Figura 3-A).

O programa utilizado para a análise destes resultados foi o *Test Script* (TESC) que definiu o procedimento de ensaio, desde os detalhes da sequência de aplicação de cargas até a análise dos resultados e emissão do relatório. O teste foi realizado em triplicata.

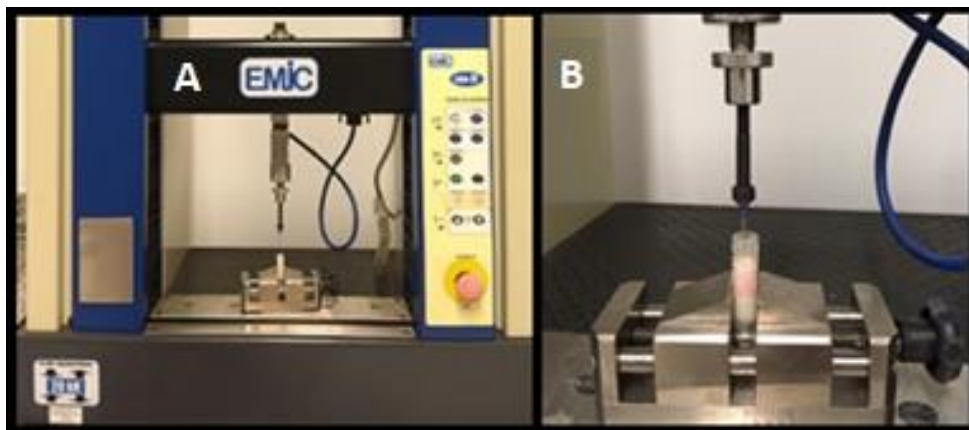


Figura 3 - Etapas do teste de dureza.

A= Teste em realização na máquina de ensaio universal EMIC; B= perfuração do corpo de prova pelo espaçador endodôntico acoplado ao aparelho.

Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

4.5 ANÁLISE DE SUPERFÍCIE DOS CONES DE GUTA-PERCHA

Conforme metodologia modificada de Vitali (2015) e, com a finalidade de avaliar as possíveis alterações superficiais produzidas pelas substâncias-teste sobre o cone de guta-percha, foram avaliados 9 cones de GP (tamanho M, com 28 mm de comprimento, marca Meta biomed, lote GE17070735). Os mesmos foram colocados em um tubo de vidro cilíndrico e a eles foram adicionados 2 mL das substâncias-teste, ficando submersos nas mesmas por 5 minutos.

Posteriormente, os cones foram lavados com água destilada (100 mL), com emprego de uma seringa de 20 mL (5 jatos contínuos). Em seguida, os cones foram secos em temperatura ambiente por 72 horas, em uma placa de vidro lisa.

Após a secagem, foi padronizada a região apical do cone para análise, sendo seccionada e fixada em base cilíndrica de metal (*stubs*). A porção apical foi analisada em microscópio eletrônico de varredura (MEV) de bancada (TM3000, Hitachi), operando de 5 KV a 15 KV e no modo EDX. As eletromicrografias foram realizadas e as imagens capturadas em aumento de 1000x para a análise topográfica de superfície.

4.6 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

O teste de atividade antimicrobiana seguiu padrões de qualidade em pesquisa microbiológica, sendo realizados procedimentos rígidos de esterilização e manutenção da cadeia asséptica (NCCLS, 2003).

As cepas empregadas foram provenientes da *American Type Culture Collection* (ATCC), a saber: *Candida albicans* (ATCC 10231) e *Enterococcus faecalis* (ATCC 51299). O protocolo analítico se deu através técnica de microdiluição com determinação de concentração inibitória mínima (CIM) por meio da análise turbidimétrica.

Preparou-se uma suspensão microbiana com soro fisiológico estéril (cloreto de sódio 0,9%), com 25% de transmitância, para o *E. faecalis*, e 10 % de transmitância para a *C. albicans*, medidas com auxílio do espectrofotômetro. Após a padronização, realizou-se a diluição seriada com soro fisiológico estéril.

Posteriormente, realizou-se a incubação da suspensão microbiana, em duplicata em placas de Petri, nas diluições de 10^{-7} a 10^{-9} por um período de 24 horas para *E. faecalis*, em meio de cultivo *Tryptone Soy Agar* (TSA) e diluições de 10^{-4} a 10^{-6} , por 48 horas para *C. albicans*, em *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA), visando a contagem das unidades formadoras de colônias (UFCs) para preparo da solução padronizada na concentração de 3×10^3 UFC/mL em meio *Brain Heart Infusion Broth* (BHI) estéril para *E. faecalis* e *Meio do Roswell Park Memorial Institute 1640* (RPMI) para *C. albicans*.

Em placa de 96 poços estéril, de fundo chato, foram adicionados 100 μ L do inóculo e 100 μ L das substâncias-teste (óleos e controles: eucaliptol, endosolv[®] E e clorofórmio) em diferentes concentrações (1,9 μ g/mL até 1000 μ g/mL).

Os fármacos de referência utilizados foram: o antibiótico cloranfenicol (250 μ g/mL a 1,95 μ g/mL, para *E. faecalis*) e o antifúngico nistatina (64 UI a 0,125 UI, para *C. albicans*).

Como controles negativos foram utilizados os meios de cultura BHI e RPMI em triplicata, sem inóculo microbiano, respectivamente para *E. faecalis* e *C. albicans*. E como controles positivos, foram empregados os inóculos sem adição de substâncias-teste, também em triplicata. As placas foram incubadas a temperatura de 37°C por 24 horas para *E. faecalis* e 48 horas para *C. albicans* em ambiente aeróbico.

A CIM é considerada a menor concentração que não apresenta crescimento microbiano, este detectado pela turvação do meio. Com objetivo de diferenciar a atividade antimicrobiana em bactericida ou bacteriostática e entre fungicida ou fungistática, foram pipetados 20 μ L do conteúdo do poço que não apresentou turvação em 4 mL de meio de

cultura *Brain Heart Infusion Broth* (BHI) para *E. faecalis* e 5 µL de cada poço para 1 mL de meio *Sabouraud Dextrose Broth* (SDB) para *C. albicans*. Todos os procedimentos foram realizados em triplicata (CANDAN, 2003).

No teste com o *E. faecalis* como houve turvação em todos os poços para os óleos testados, ou seja, houve proliferação microbiana em todas as concentrações testadas, optou-se por realizar a leitura em espectrofotômetro no leitor de placa para determinar a porcentagem de crescimento (ou inibição) na presença das substâncias testadas.

4.7 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade antioxidante foi avaliada pelo método de sequestro de espécies reativas de oxigênio, através da redução do DPPH, conforme metodologia proposta por Sreejayan e Rao (1996), com algumas modificações. Iniciou-se com o preparo da solução de DPPH na concentração de 0,05 mM. Em um balão volumétrico, foram transferidos 1 mg de DPPH e 50 mL de etanol absoluto, em seguida, o balão foi levado ao ultrassom por 2 minutos.

As amostras dos óleos testados foram preparadas a partir de 10 µL de óleo e 10 µL de dimetilsulfóxido (DMSO), solubilizados em 1980 µL de etanol para análise (PA) obtendo uma solução inicial de 5000 µg/mL. Dessa, foram aliqüotados 200 µL aos quais se adicionou 800 µL de etanol PA, obtendo uma solução com concentração de 1000 µg/mL. Foram realizadas diluições seriadas utilizando o etanol PA como diluente. Em uma microplaca de 96 poços, foram adicionados 50 µL da amostra, em diferentes concentrações, e 150 µL de DPPH. Ao término do processo, foram obtidas concentrações-teste na faixa de 0,122 a 250 µg/mL. As placas foram levadas para homogeneização no agitador de microplaca por 3 minutos, e mantidas ao abrigo da luz por 30 minutos. Após esse intervalo, foi realizada a leitura de absorvância na placa com emprego do espectrofotômetro (Multiskan GO, Datamed) no comprimento de onda fixo de 510 nm. A fim de excluir possíveis interferências da coloração da amostra, um branco foi preparado a partir de 150 µL de etanol absoluto que foi adicionado a 50 µL da solução-teste. O padrão de referência utilizado no ensaio foi o ácido ascórbico (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006). O ensaio foi realizado em triplicata. A atividade antioxidante foi calculada por meio da Equação 4.

$$\text{Atividade antioxidante (\%)} = \frac{A_{\text{amostra}} - A_{\text{controle}}}{ADPPH} \times 100$$

Equação 4 - Cálculo da atividade antioxidante.

Aamostra= valor da absorbância para a solução que contém a amostra mais o DPPH;
Acontrole= valor de absorbância da amostra mais o etanol PA; ADPPH= absorbância da solução de DPPH. Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

4.8 CITOTOXIDADE

4.8.1 Linhagem celular

Para esta análise, fibroblastos murinos (L929) foram cultivados em meio *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM, Sigma-Aldrich) complementado com 10% de soro fetal bovino (SFB, Sigma Aldrich), 1% de penicilina e estreptomicina (100 µg/mL, Sigma-Aldrich) e tampão 4-(2-HidroxiEtil)-1- PiperazinEtanolSulfônico (HEPES, 10mM - Sigma-Aldrich) sob condições controladas de umidade, temperatura 37°C, pH= 7,2, em incubadora de CO₂ à 5% .

4.8.2 Preparo das substâncias-teste

Com relação a cada óleo testado, foi preparada uma solução-estoque composta de 10 µL de óleo, 10 µL de DMSO, 1980 µL de meio de cultura suplementado, conforme descrito acima. Em seguida, realizou-se a segunda solução composta por 400 µL da primeira solução acrescida de 1600 µL de meio suplementado, obtendo-se uma concentração de 0,1% de óleo (1000 µg/mL), ou seja, a maior concentração testada. Posteriormente, foram realizadas diluições seriadas, de modo a obter concentrações de 7,81 a 1000 µg/mL.

4.8.3 Viabilidade celular

O ensaio MTT é baseado na redução do amarelo sal de tetrazólio (MTT), para formar um produto formazana azul solúvel por enzimas mitocondriais. A quantidade de formazana produzida é diretamente proporcional ao número de células vivas.

Para esta etapa, empregou-se a metodologia descrita por Mosmann (1983), o qual emprega o ensaio com MTT para análise da viabilidade celular. Em cada poço da placa de 96 poços, foram plaqueados 100 µL do meio de cultivo supracitado, equivalendo a uma densidade celular de 5×10^3 fibroblastos murinos por poço, incubando-as por 24 horas (período suficiente para que ocorresse a adesão da célula na placa). Em seguida, o meio suplementado foi removido e 100 µL das substâncias-teste foram pipetadas em cada poço. O ensaio foi realizado em quintuplicata. Dois controles foram realizados: o primeiro com 10 µL de DMSO e 1990 µL de meio suplementado (avalia o efeito do solvente sobre a célula), já o segundo apenas com o meio suplementado (avalia o efeito do meio de cultivo).

As placas foram mantidas em estufa na temperatura de 37 °C e 5% de CO₂ por 48 horas. Posteriormente, os tratamentos foram removidos, os poços lavados com 100 µL de tampão fosfato-salino – PBS (*phosphate buffered saline*), em seguida colocados 100 µL de MTT a 10% (10 µL de MTT e 90 µL de DMEM). As placas foram incubadas por 3 horas, após isso, foi removido o MTT, e acrescidos 100 µL de DMSO para solubilizar os cristais de formazana. A absorvância foi medida com espectrofotômetro em comprimento de onda de 540nm. Os resultados foram expressos em porcentagem (%) de viabilidade celular por meio da Equação 5.

$$Viabilidade\ celular(\%) = \frac{A_{amostra}}{A_{controle}} \times 100$$

Equação 5 – Cálculo da viabilidade celular.

A_{amostra}= valor da absorvância obtida após a reação com MTT referente às células tratadas com diferentes concentrações de óleo; A_{controle}= valor de absorvância após reação com MTT de células não tratadas. Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 PERFIL QUÍMICO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Na Tabela 1 encontram-se os principais constituintes químicos presentes nos óleos essenciais analisados por CG-EM e a comparação ao descrito nas normas ISO (do inglês, *International Organization for Standardization*). Picos com valores menores que 1% não foram computados para o perfil dos óleos essenciais.

Tabela 1 - Composição dos OEs obtidos por CG-EM e normas ISO correspondentes.

Amostra	Componentes	ISO (% mín. A máx.)			Valores do ensaio (%)
		Espanha	Itália	Brasil	
ÓLEO 1 <i>Citrus paradisi</i> (Grapefruit rosa)	α -pineno	0,2 a 0,6			2,17
	β -pineno	0,05 a 0,2			3,94
	Mirceno	1,5 a 2,5			4,16
	D-limoneno	92 a 96			70,04
	γ -terpineno	-			5,05
	α -terpineno	-			2,10
ÓLEO 2 <i>Citrus limon</i> (Limão siciliano)	α -pineno	Espanha	Itália	Brasil	3,75
		1,5 a 3	1,5 a 3	1,4 a 3	
	β -felandreno	-	-	-	4,34
	β -pineno	10 a 16,5	10 a 16,5	7 a 16	13,65
	Mirceno	-	-	-	2,85
	D-limoneno	60 a 70	60 a 68	59 a 75	53,83
	γ -terpineno	8 a 12	8 a 12	6 a 12	9,72
	α -bergamoteno	-	-	-	1,46
	β -bisaboleno	0,45 a 0,9	0,45 a 0,9	0,2 a 0,9	2,06
ÓLEO 3 <i>Citrus sinensis</i> (Laranja sanguínea)	α -pineno	0,4 a 0,8			1,14
	Sabineno	0,2 a 1			1,16
	Mirceno	1,5 a 3,5			2,97
	D-limoneno	93 a 96			71,07
	Linalol	0,15 a 0,7			1,73

ÓLEO 4 <i>Cymbopogon Martinii</i> (Palmarosa)	(E)- β -ocimeno	0,2 a 2	2,62
	Linalol	1,5 a 4	2,86
	Geraniol	77 a 85	59,91
	Geranial	0,1 a 0,6	1,06
	Acetato de geranil	5 a 13	23,24
	β -Cariofileno	1 a 2,5	2,8
	Farnesol	até 1,5	1,2
ÓLEO 5 <i>Cymbopogon nardus</i> (Citronela)	Linalol	-	1,25
	Citronelal	3 a 6	19,11
	Citronelol	3 a 8,5	19,16
	Geraniol	15 a 23	16,8
	Geranial	15 a 23	1,2
	Acetato de geranil	-	5,36
	Eugenol	7 a 11	1,12
	Acetato de neril	-	4,89
	β -Elemeno	-	2,26
	γ -Cadieno	-	3,70
	α -muroleno	-	1,21
	δ -cadieno	-	3,57
	α -cadinol	-	2,11
	Elemol	-	3,36
ÓLEO 6 <i>Cymbopogon schoenanthus</i> (Capim-limão)	β -pineno	-	2,42
	Linalol	-	1,44
	Cis-verbenol	-	2,03
	Trans-verbenol	-	2,97
	Nerol	-	2,37
	Neral	A partir de 70% de Citral (neral + geranial)	24,56
	Geranial		8,75
	Geraniol	-	2,63
	Formato de geranil	-	31,40
	Acetato de geranil	-	6
	Cariofileno	-	2,10

CG-EM= Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas.

ISO= *International Organization of Standardization*.

Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

Para o óleo 1 (*Citrus paradisi*), extraído da casca da laranja, utilizou-se a ISO 3053, referente ao óleo essencial obtido por processamento mecânico, sem aquecimento. As principais áreas de produção do OE são Estados Unidos, Isarel, Argentina, Chipre e Brasil.

Em relação ao composto majoritário (D-limoneno) a ISO aponta como padrão os valores de 92 a 96%. No OE utilizado no estudo obtivemos a concentração de 70,04%. Essa diferença pode ser decorrente do protocolo de extração ser da casca, enquanto na ISO 3053 o OE é extraído da parte externa do pericarpo do fruto da *Citrus paradisi*, ou seja, a matriz de obtenção dos óleos é distinta.

Para o óleo 2 (*Citrus limon*), extraído da casca, utilizou-se a ISO 855, referente ao óleo essencial obtido por expressão, sem auxílio de calor a partir da polpa e da casca do fruto fresco. As principais áreas de produção do OE são Brasil, Itália e Espanha. Em relação ao componente majoritário (D-limoneno) a ISO aponta como padrão os valores de 59 a 75% para OE cultivo no Brasil, enquanto que para o OE do estudo obtivemos a concentração de 53,83%. Fato que concorda com os dados de González-mas e colaboradores (2019), os quais demonstraram que o D-limoneno também foi o composto majoritário de *C. limon* (48 a 70%).

Para o óleo 3 (*Citrus sinensis*), extraído da casca, utilizou-se a ISO 3140, referente ao óleo essencial obtido sem aquecimento, por extração física da casca do pericarpo do fruto. A norma ISO supracitada não especificou locais de cultivo. Em relação ao componente majoritário (D-limoneno) a ISO aponta como padrão os valores de 93 a 96%. No entanto, para o OE do estudo foi verificado o valor de 71,07%. Esta diferença pode ser justificada pelo local de cultivo do óleo (não especificado na ISO), temperatura, método de extração, entre outras variáveis. Chen e colaboradores (2014) identificaram o D-limoneno como componente majoritário (64%) do OE de *Citrus limon* cultivado na China.

Devido à sua grande importância econômica, inúmeros estudos têm investigado a composição química dos óleos essenciais de cascas, folhas e flores de diferentes espécies de *Citrus*. Vale ressaltar que existe uma grande variação na composição química dos óleos cítricos devido às diferenças de origem de cultivo, genética, idade e estágio de maturação da planta, estação do ano, clima (índice pluviométrico), método de extração, entre outras variáveis (DOSOKY e SETZE, 2018). Esta variabilidade pode ser notada também nas amostras analisadas neste estudo (Tabela 2), na qual podem ser visualizados o índice de retenção linear obtido no experimento e o valor encontrado na literatura. Destaque colorido para a predominância do composto D-limoneno (53,83 a 71,07%) nos óleos *Citrus* analisados.

Óleos essenciais obtidos a partir de cascas de *Citrus* geralmente apresentam o D-limoneno, um hidrocarboneto monoterpeneo, como o composto mais abundante, com concentrações entre 60 a 95% do óleo (JING et al., 2014). O composto foi majoritário em

todos os óleos *Citrus* avaliados neste estudo. O D-limoneno foi encontrado por diversos autores nos óleos essenciais obtidos de *C. paradisi* (ADAMS, 2007; DEHKORDI et al., 2016; DENKOVA-KOSTOVA et al., 2021), de *C. limon* (ADAMS, 2007; CANON et al., 2015; MARTINS et al., 2017), e de *C. sinensis* (ADAMS, 2007; GERACI et al., 2017; OYEDEJI et al., 2020).

Tabela 2 - Constituintes químicos presentes nos óleos essenciais do gênero *Citrus*.

Substâncias	LRI exp	LRI lit	O1	O2	O3
α -pineno	941	939	2,17	3,75	1,14
β -pineno	985	979	3,94	13,65	
Mirceno	996	990	4,16	2,85	2,97
D-limoneno	1047	1029	70,04	53,83	71,07
γ -terpineno	1068	1059	5,05	9,72	
α -terpineno	1205	1188	2,10		
β -felandreno	982	964		4,34	
α - bergamoteno	1443	1430		1,46	
β -bisaboleno	1516	1500		2,06	
Sabineno	980	975			1,16
Linalol	1111	1096			1,73

O1= *Citrus paradisi*; O2= *Citrus limon*; O3= *Citrus sinensis*.

LRI exp: Índice de retenção do experimento.

LRI lit: Índice de retenção da literatura (Adams, 2007).

Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

Para o óleo 4 (*Cymbopogon martinii*), extraído do capim, utilizou-se a ISO 4727, referente ao óleo essencial obtido por destilação a vapor da erva de *Cymbopogon martinii* (var. *motia*) da família *Poaceae*, coletadas na fase de floração. A norma não especificou locais de cultivo. Em relação ao componente majoritário (geraniol), a ISO aponta como padrão os valores de 77 a 85%, enquanto para o OE utilizado no estudo obtivemos a concentração de 59,91%. Como já mencionado anteriormente, esta diferença pode ser justificada por uma série de fatores, como local de cultivo, visto que não foi encontrada norma específica para este OE cultivado no Brasil. No estudo de Andrade e colaboradores (2014) foi realizada a CG-EM do óleo essencial destilado da erva de *C. martinii* e adquirido da By Samia Aromaterapia (São Paulo, SP, Brasil), e os autores detectaram o geraniol

como composto majoritário (57,49%), seguido pelo acetato de geranyl (13,56%), linalol (1,71%), β -cariofileno (1,07%) e ocimeno (0,27%). Tais dados se aproximam daqueles encontrados neste estudo e ratificam a importância de se informar a origem do OE, neste caso, provenientes do Brasil. Cabe ressaltar, no entanto, que nosso país apresenta dimensões continentais e ocupa duas zonas climáticas: zona Intertropical (entre os Trópicos de Câncer e o de Capricórnio) e a Zona Temperada do Sul (entre o Trópico de Capricórnio e o Círculo Polar Ártico). Essa característica faz com que o país apresente uma variedade climática, o que também pode influenciar na composição química dos óleos de mesma espécie (CARVALHO et al., 2022). Portanto, quanto mais completa for informação sobre o óleo de trabalho, mais adequada será a comparação com os dados da literatura potencialmente disponíveis.

Para o óleo 5 (*Cymbopogon nardus*), extraído das folhas, utilizou-se a ISO 3849, referente ao óleo essencial obtido por destilação a vapor de partes aéreas frescas ou parcialmente secas de *Cymbopogon nardus* (var. *lenabatu* Stapf.), da família *Poaceae*, cultivada principalmente no Sri Lanka. Em relação ao componente majoritário (citronelol), a ISO aponta como padrão os valores de 3,0 a 8,5%. Já para o OE utilizado no estudo obtivemos a concentração de 19,16%. Esta diferença pode ser justificada por não existir norma específica para este OE cultivado no Brasil. No entanto, o percentual de citronelol encontrado no presente estudo é concordante com o demonstrado por Sawadogo e colaboradores (2022) para o OE de *C. nardus* extraído das folhas (20,08%).

Para o óleo 6 (*Cymbopogon schoenanthus*), um tipo de OE de capim-limão, não foi encontrado registro específico nas normas ISO. De acordo com Gomes e Negrelle (2003), *C. schoenanthus* é considerado sinônimo do OE de capim-limão *C. citratus*. Dado o exposto, utilizamos a ISO 3217 (*C. citratus*), relativa ao OE de capim-limão obtido por destilação a vapor da grama. A ISO supracitada não faz referência aos locais de cultivo e em relação aos componentes, menciona apenas a presença mínima de 75% de compostos de carbonil (expressos como citral). Sabe-se que OEs deste gênero são ricos em citral (isômero duplo composto por neral e geranyl) (PIASECKI et al., 2021), principalmente *C. schoenanthus* (CAPETTI et al., 2021). Sendo assim, somaram-se os percentuais de neral e geranyl encontrados na CG-EM, e obteve-se 33,31% de citral para o OE do estudo, sendo este o composto majoritário.

Tabela 3 - Constituintes químicos presentes nos óleos essenciais do gênero *Cymbopogon*.

Substâncias	LRI exp	LRI lit	O4	O5	O6
Linalol	1111	1095	2,86	1,25	1,44
Citronelal	1170	1153		19,11	
(E)- β -ocimeno	1054	1050	2,62		
Geraniol	1285	1252	59,91	16,80	2,63
Geranial	1287	1267	1,06	1,20	
Acetato de geranil	1401	1381	23,24	5,36	6,00
β -Cariofileno	1429	1419	2,80		
Farnesol	1765	1743	1,20		
Citronelol	1251	1225		19,16	
Eugenol	1373	1359	1,12		
Acetato de neril	1397	1361		4,89	
β -Elemeno	1399	1390		2,26	
γ -Cadieno	1490	1513		3,70	
α -muroleno	1508	1500		1,21	
δ -cadieno	1533	1523		3,57	
α -cadinol	1671	1652		2,11	
Elemol	1565	1549		3,36	
β -pineno	995	979			2,42
Cis-verbenol	1176	1141			2,03
Trans-verbenol	1193	1144			2,97
Nerol	1250	1229			2,37
Citral (Neral+ Geranial)	1195	1189			33,31
Formato de geranil	1295	1298			31,40
Cariofileno	1429	1419			2,10

O4 = *Cymbopogon martinii*; O5= *Cymbopogon nardus*; O6= *Cymbopogon schoenathus*.

LRI exp: Índice de retenção do experimento.

LRI lit: Índice de retenção da literatura (Adams, 2007).

Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

Os componentes de OEs *Cymbopogon* variam de acordo com a origem geográfica e a época de colheita, mas eles concordam na presença de alguns componentes:

terpenos hidrocarbonetos, terpenos oxigenados, álcoois, cetonas, ésteres, aldeídos e flavonoides (ALAMEEN, 2020).

Esta variabilidade pode ser notada nas amostras analisadas no presente estudo (Tabela 3), o geraniol foi o composto majoritário para o óleo obtido da espécie vegetal *C. martinii*, o citronelol para a espécie *C. nardus* e o citral para a espécie *C. schoenanthus*. É possível observar os constituintes químicos identificados em cada OE na Tabela 3, com destaque colorido para os compostos majoritários.

A composição dos óleos essenciais é específica para cada espécie, apresentando compostos específicos ou proporções comuns de compostos. Diversos fatores influenciam as variações na composição e rendimento dos óleos essenciais, bem como sua atividade biológica. Esses fatores incluem a variabilidade genética, o órgão da planta, o estágio de maturação do fruto, a umidade, a altitude, a luminosidade, a temperatura, as condições do solo e os nutrientes disponíveis, a quantidade de chuva, a radiação ultravioleta, a sazonalidade, o método de coleta, a secagem e a parte da planta utilizada (SILVA, 2021).

5.2 TESTE DE DESINTEGRAÇÃO

Foi realizada a análise exploratória (avaliação da distribuição) do conjunto dos dados encontrados para investigar os pressupostos estatísticos, visando o adequado uso das técnicas de análise, e após análises de normalidade e homogeneidade, optou-se pelo teste ANOVA, que visa verificar se existem diferenças entre as médias da perda de massa em relação a substância utilizada. A partir do teste supracitado, é possível afirmar que existem diferenças estatísticas entre as substâncias analisadas, visto que apresentou sig = 0,000 (Tabela 4).

Tabela 4 - Teste estatístico ANOVA para verificação de diferença entre as médias da perda de massa.

	Soma dos Quadrados	Df	Quadrado Médio	F	Sig.
Entre Grupos	0,039	8	0,005	141,645	0,000
Nos grupos	0,001	18	0,000		
Total	0,040	26			

Df= Graus de liberdade; F= estatística de Fischer.
Sig. = Significância. Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

A Tabela 5 demonstra o relatório com dados da média de perda de massa e desvio padrão.

Tabela 5 – Média e desvio padrão em relação à perda de massa de cada grupo.

GRUPOS	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	MÍNIMO	MÁXIMO	n
1	-,041500	,0080876	-,0504	-,0346	3
2	-,025833	,0036088	-,0300	-,0237	3
3	-,063833	,0121253	-,0742	-,0505	3
4	-,000800	,0006083	-,0012	-,0001	3
5	-,000300	,0000000	-,0003	-,0003	3
6	-,000833	,0001528	-,0010	-,0007	3
C1	-,020733	,0072666	-,0288	-,0147	3
C2	-,073133	,0050895	-,0790	-,0699	3
C3	-,119267	,0029569	-,1225	-,1167	3
TOTAL	-,038470	,0392591	-,1225	-,0001	27

1= *Citrus paradisi*; 2= *Citrus limon*; 3= *Citrus sinensis*; 4= *Cymbopogon martinii*; 5= *Cymbopogon nardus*; 6= *Cymbopogon schoenathus*; C1= Eucaliptol; C2= endosolv® E; C3= Clorofórmio; n= número de amostras.

Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

Após a análise ANOVA, optou-se por verificar a existência de diferença estatística entre os grupos utilizando o teste *post-hoc Tukey-HSD*, com intervalo de confiança de 95% (Tabela 6). Constatou-se que a maior perda de massa dos cones de guta-percha foi obtida pelo uso do clorofórmio (C3). A segunda substância que provocou a maior perda de massa foi o endosolv® E (C2), seguido do óleo 3 (*Citrus sinensis*). Destaca-se que o óleo 3 (laranja sanguínea) teve ação superior ao eucaliptol (C1), e se apresentou com resultado estatisticamente igual ao C2. Vale ressaltar também a ação do óleo 1 (*Citrus paradisi*), visto que seus resultados de perda de massa mostraram-se superiores aos do eucaliptol (C1). O O2 mostrou-se estaticamente semelhante ao C1. Todos os óleos do gênero *Cymbopogon* foram estatisticamente iguais entre si. De todas as substâncias testadas, o óleo 5 provocou a menor perda de massa nos cones de guta-percha.

Tabela 6 – Avaliação estatística dos dados de desintegração pelo teste *post-hoc* Tukey-HSD.

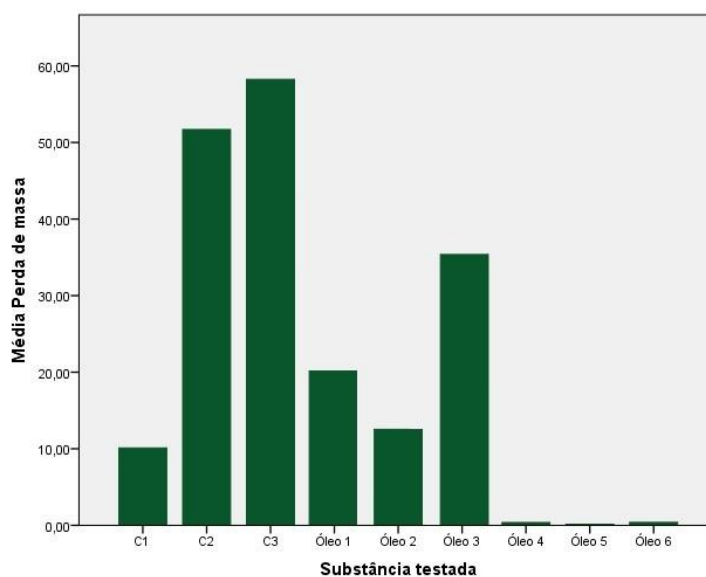
subs.teste	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
5	3	0,000300				
4	3	0,000800				
6	3	0,000833				
C1	3		0,020733			
2	3		0,025833	0,025833		
1	3			0,041500		
C2	3				0,063833	
3	3				0,073133	
C3	3					0,119267
Sig.		1,0000	0,973	0,081	0,604	1,000

1= *Citrus paradisi*; 2= *Citrus limon*; 3= *Citrus sinensis*; 4= *Cymbopogon martinii*; 5= *Cymbopogon nardus*; 6= *Cymbopogon schoenathus*; C1= Eucaliptol; C2= endosolv[®] E; C3= Clorofórmio; n= número de amostras; Sig. = Significância.

Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

Através do Gráfico 1 podemos observar claramente a perda média de massa de todas as substâncias de interesse.

Gráfico 1 – Representação da perda de massa (%) dos cones de guta-percha após a exposição aos solventes.



Óleo 1 = *Citrus paradisi*; Óleo 2 = *Citrus limon*; Óleo 3 = *Citrus sinensis*; Óleo 4 = *Cymbopogon martinii*; Óleo 5 = *Cymbopogon nardus*; Óleo 6 = *Cymbopogon schoenathus*. C1 = Eucaliptol; C2 = endosolv[®] E; C3 = Clorofórmio. Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

O OE de laranja (óleo 3 – laranja sanguínea) apresentou ação superior ao eucaliptol no tempo de 5 minutos. Já no estudo de Ramos, Câmara e Aguiar (2016), utilizado como modelo de metodologia de perda de massa para o presente estudo, o OE de laranja e o eucaliptol não apresentaram diferenças estatísticas entre si em nenhum tempo de exposição à substância. Ademais, é cabível destacar que os autores não especificaram a espécie vegetal da qual foi extraída o óleo essencial de laranja.

Magalhães (2007) empregou metodologia com pesagem dos cones de guta-percha antes e após exposição aos solventes de escolha pelo tempo de 5 minutos; o clorofórmio, o eucaliptol e o OE de laranja apresentaram resultados estatisticamente similares, com satisfatória ação dissolutiva. Já no presente estudo, o clorofórmio mostrou-se superior a todas as substâncias-teste, e o OE de laranja apresentou ação dissolutiva superior ao eucaliptol.

Karatas e colaboradores (2016) compararam *in vitro* a eficiência da remoção de guta-percha pelos solventes clorofórmio, óleo de laranja e eucaliptol durante o retratamento endodôntico. Os resultados dos referidos autores corroboram com o encontrado no presente estudo, pois o clorofórmio apresentou maior eficiência na remoção da guta-percha em comparação aos outros solventes.

De todos os OEs testados, *Citrus sinensis* (O3) apresentou maior média de perda de massa e mostrou-se superior ao eucaliptol e estatisticamente semelhante ao endosolv® E. Ao analisar o perfil químico, observamos que *C. sinensis* é o OE do estudo que apresenta maior percentual de D-limoneno (71,07%), seguido do *C. paradisi* (70,04%).

Dado o exposto, podemos sugerir que um maior percentual de D-limoneno pode resultar em uma maior dissolução de GP, visto que o D-limoneno (refinado do óleo de laranja) é utilizado como um solvente endodôntico alternativo, chamado GP-solvent (Nippon Shika Yakuhin, Shimonoseki, Japan), cuja composição é de 97% de D-limoneno e apresenta eficiência no amolecimento do material obturador (VILLAS BOAS, 2015; MORAIS et al., 2017). Porém, foi demonstrado que o solvente pode ser tóxico para algumas linhagens celulares (VAJRABHAYA et al., 2004). Sendo assim, produtos naturais contendo D-limoneno, especialmente óleos cítricos, vêm sendo investigados por sua segurança e eficácia na remoção de guta-percha (JANTARAT, MALHOTRA e SUTIMUNTANAKUL, 2013; ESPÍRITO SANTO, 2022).

5.3 TESTE DE DUREZA

Os controles empregados neste estudo, a saber: eucaliptol (C1), endosolv® E (C2) e clorofórmio (C3) apresentaram uma força média necessária para deslocar o espaçador por 10 mm de 7,24 N; 4,14 N e 3,79 N, respectivamente. Nota-se que o controle com melhor resultado foi o clorofórmio, ou seja, amoleceu de forma mais intensa a guta-percha, sendo necessária menor força para deslocar o espaçador.

Os óleos essenciais do gênero *Citrus*: *Citrus paradisi* (6,03 N), *Citrus limon* (6,21 N) e *Citrus sinensis* (6,04 N) apresentam resultados médios melhores do que o controle 1 (Eucaliptol) no ensaio de dureza por penetração. Já os óleos essenciais do gênero *Cymbopogon*: *Cymbopogon martinii* (8,86 N), *Cymbopogon nardus* (8,27 N) e *Cymbopogon schoenanthus* (8,34 N) apresentam resultados médios piores que todos os controles avaliados no ensaio de dureza por penetração (Tabela 7).

Tabela 7 - Força média necessária para mover o espaçador endodôntico.

Substância-teste	Força (Newton) (média ± desvio padrão, n=3)
Eucaliptol (C1)	7,24 ± 1,12
Endosolv® E (C2)	4,14 ± 0,10
Clorofórmio (C3)	3,79 ± 0,59
<i>Citrus paradisi</i> (O1)	6,03 ± 0,35
<i>Citrus limon</i> (O2)	6,21 ± 0,28
<i>Citrus sinensis</i> (O3)	6,04 ± 0,41
<i>Cymbopogon martinii</i> (O4)	8,86 ± 0,85
<i>Cymbopogon nardus</i> (O5)	8,27 ± 1,03
<i>Cymbopogon schoenanthus</i> (O6)	8,34 ± 0,58

Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

Em relação à análise estatística, foi verificada a normalidade da amostra por meio dos testes de Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk. Foi constatada uma distribuição normal ao nível de significância de 95% - $p > 0,05$, sendo o sig=0,200 para o teste de Kolmogorov-Smirnov e sig=0,464 para o teste de Shapiro-Wilk (Tabela 8).

Tabela 8 – Avaliações preliminares para verificação do pressuposto estatístico de Normalidade.

5 min	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estatística	df	Sig.	Estatística	Df	Sig.
Força máxima (N)	0,117	27	0,200*	0,964	27	0,464

N= Newton; Df= graus de liberdade; Sig. = significância.
 Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

Após a verificação da normalidade, a homogeneidade de variância dos dados foi analisada pelo teste estatístico de Levene. Ao nível de confiança de 95% $p > 0,05$, foi constatada a homogeneidade dos dados, sendo o valor de sig=0,185 (Tabela 9).

Tabela 9 - Avaliações preliminares para verificação do pressuposto estatístico de Homogeneidade.

Estatística de Levene	df1	df2	Sig.
1,630	8	18	,185

df1= graus de liberdade 1; df2= graus de liberdade 2; Sig. = significância.
 Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

Devido à constatação da normalidade e homogeneidade dos dados, optou-se pelo teste estatístico ANOVA. O mesmo tem como objetivo verificar a existência de diferença estatística entre as médias das forças (N) e as substâncias utilizadas. Após análise, verificou-se que houve diferença estatística entre os grupos, sendo o valor de $p < 0,05$ (Tabela 10).

Tabela 10 - Teste estatístico ANOVA para verificação de diferença entre as médias das forças (N).

	Soma dos Quadrados	Df	Quadrado Médio	F	Sig.
Entre Grupos	59,355	8	7,419	16,128	0,000
Nos grupos	8,281	18	0,460		
Total	67,636	26			

Df = graus de liberdade; F = estatística de Fischer;
 Sig. = significância.
 Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

Após a análise ANOVA, optou-se por verificar a existência de diferença estatística entre os grupos utilizando o teste *post-hoc* Tukey-HSD, com intervalo de confiança de 95% (Tabela 11). Constatou-se que o grupo 1 apresentou os melhores resultados, ou seja utilizou as menores forças para deslocar o espaçador por 10 mm. Dentro do grupo citado temos as substâncias controle clorofórmio (C3) e endosolv[®] E (C2), estatisticamente semelhantes. O OE 4 (*Cymbopogon martinii*) apresentou a menor efetividade entre todas as substâncias-teste.

Tabela 11 – Avaliação estatística dos dados de dureza pelo teste *post-hoc* Tukey-HSD.

	Substância teste	n	Subconjunto para alfa = 0.05				
			1	2	3	4	5
Tukey HSD ^a	C3	3	3,4467				
	C2	3	4,0200	4,0200			
	3	3		5,6467	5,6467		
	1	3		5,7433	5,7433	5,7433	
	2	3			6,0133	6,0133	
	C1	3			6,0900	6,0900	
	5	3			7,2967	7,2967	7,2967
	6	3				7,6733	7,6733
	4	3					8,1600
	Sig.			0,977	0,105	0,134	0,052

1 = *Citrus paradisi*; 2 = *Citrus limon*; 3 = *Citrus sinensis*; 4 = *Cymbopogon martinii*; 5 = *Cymbopogon nardus*; 6 = *Cymbopogon schoenathus*; C1 = Eucalipto; C2 = endosolv[®] E; C3 = Clorofórmio; n = número de amostras.

Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

Os resultados obtidos no teste de dureza corroboram com o encontrado no teste de desintegração, visto que dentre os OEs testados, o O1 (*Citrus paradisi*) e o O3 (*Citrus sinensis*) também apresentaram os melhores resultados, sendo estes estatisticamente semelhantes ao C2 (endosolv[®] E) e superiores ao C1 (eucalipto) no teste de dureza.

Jantarat, Malhotra e Sutimuntanakul (2013) empregaram metodologia similar a do presente estudo, foi avaliada a dureza por penetração de quatro OEs do gênero *Citrus* adquiridos comercialmente (óleos de grapefruit, tangerina, lima, e limão) e estes foram comparados ao controle clorofórmio. Vale destacar que os autores não informaram o tipo de óleo (nome completo da substância), de qual parte da planta estes óleos foram extraídos, e também não houve análise da composição dos óleos (perfil fitoquímico).

Como resultado, os autores demonstraram que o solvente mais eficaz foi o clorofórmio, seguido pelos óleos de grapefruit e tangerina, enquanto que os OEs menos efetivos foram os de lima e limão. Fato este, que concorda com os resultados obtidos no presente estudo, visto que o clorofórmio também demonstrou a melhor efetividade, e o óleo de grapefruit (O1) e o óleo de laranja (O3) foram os OEs mais efetivos nesta análise. Dentre os óleos do gênero *Citrus* avaliados no presente estudo, o menos efetivo foi o óleo de limão (O2), corroborando com o resultado obtido pelos autores.

Espírito Santo (2022) realizou estudo semelhante ao nosso no que diz respeito à metodologia, porém, avaliou apenas óleos essenciais do gênero *Citrus*, enquanto que para o presente estudo foram avaliados OEs provenientes de dois gêneros (*Citrus* e *Cymbopogon*), os controles utilizados foram os mesmos. Os resultados obtidos pela autora no teste de dureza discordam do presente estudo, visto que o OE de laranja (*Citrus aurantium dulcis*) se mostrou estatisticamente semelhante ao C3 (clorofórmio) e ao C2 (endosolv[®] E), e superior ao C1 (eucaliptol). No presente estudo o OE de laranja (*Citrus sinensis*) não foi tão efetivo quanto o C3, porém concorda sendo estatisticamente semelhante ao C2 e superior ao C1. Mesmo se tratando de óleos de laranja, estes são de tipos distintos, e conseqüentemente apresentam ações distintas, bem como, perfil fitoquímico distinto (demonstrado por CG-EM), justificando a diferença nos resultados encontrados. Fato este que reforça a necessidade de informações completas (gênero, variação, parte da planta, local de cultivo, perfil fitoquímico, etc.) acerca dos óleos essenciais analisados.

5.4 ANÁLISE DE SUPERFÍCIE DOS CONES DE GUTA-PERCHA

Os resultados das análises das imagens obtidas por MEV (aumento de 1000x) sobre as alterações superficiais nos cones de guta-percha submetidos ao tratamento com os diferentes óleos essenciais e controles estão dispostos na Figura 4. Na Figura 5 pode-se observar a superfície do cone de guta-percha sem exposição a agentes químicos.

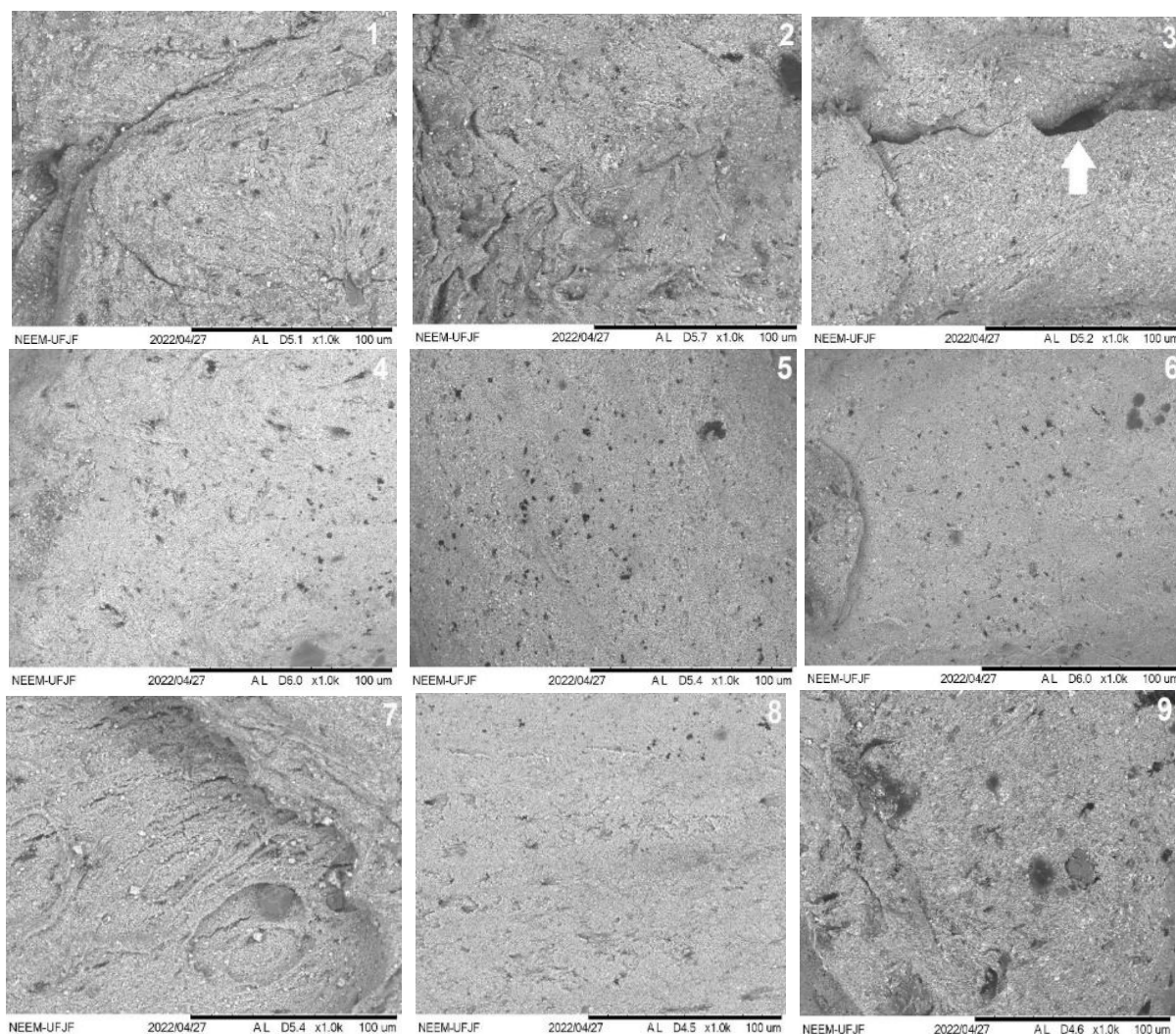


Figura 4 - Eletromicrografias de cada grupo experimental pós exposição do cone de guta-percha às substâncias-teste por 5 minutos. Aumento de 1000x.
Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

Nas figuras 4 e 5 observa-se no canto superior direito o número que indica a substância a qual a guta-percha foi submetida (1-*Citrus paradisi*, 2- *Citrus limon*, 3- *Citrus sinensis*, 4- *Cymbopogon martinii*, 5- *Cymbopogon nardus*, 6- *Cymbopogon schoenanthus*, 7- eucaliptol, 8- endosolv® E, 9- clorofórmio, 10 – cone sem exposição a agentes químicos). Evidencia-se que o cone de guta-percha exposto ao óleo 3 (*Citrus sinensis*- laranja sanguínea) apresenta uma rachadura (*gap*) parcial da superfície, com perda de continuidade do material, indicado pela seta branca.

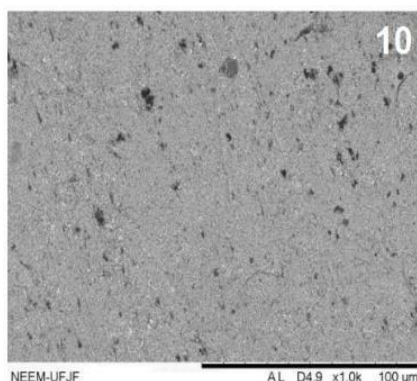


Figura 5 - Eletromicrografia de cone de guta-percha sem exposição a agentes químicos. Aumento de 1000x.
Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

As amostras do presente estudo foram analisadas em Microscopia Eletrônica de Varredura, visto que este equipamento é capaz de reproduzir imagens tridimensionais de alta resolução da superfície das amostras (SLONGO et al., 2016), possibilitando desta forma visualizar as alterações causadas no material obturador após ação das substâncias solventes.

Dentre os óleos, destaca-se a ação dissolutiva apresentada pelo óleo 3 (*Citrus sinensis*), um tipo de óleo de laranja (popularmente conhecido como laranja sanguínea), evidenciada pelas rachaduras observadas na Figura 4 (eletromicrografia 3). O óleo de laranja é amplamente utilizado como solvente endodôntico, por apresentar capacidade satisfatória de dissolução, ser natural, biocompatível, ter baixa citotoxicidade, possuir odor agradável e não apresentar efeitos nocivos à saúde (FARIA-JÚNIOR et al., 2011; BARRETO et al., 2016). Óleos essenciais advindos do gênero *Citrus* representam uma alternativa natural viável aos solventes convencionais, porém na literatura as pesquisas existentes na área odontológica não especificam de qual planta o óleo foi extraído, qual parte da planta foi utilizada, e qual a composição química da substância. Como mencionado anteriormente, estes são fatores importantes não só para a padronização/normatização, mas também para o reconhecimento dos ativos responsáveis pela ação de interesse.

Peruchi e colaboradores (2013) realizaram um estudo *in vitro* no qual demonstraram que o óleo de laranja dissolveu de maneira satisfatória e rápida os cones de GP, corroborando os nossos achados para o óleo da mesma fruta (O3).

Slongo e colaboradores (2016) avaliaram através de MEV a remoção de material obturador das paredes dos canais radiculares, utilizando eucaliptol como solvente e obtiveram resultados satisfatórios. Camões e colaboradores (2010) demonstraram através de MEV, que tanto o óleo de laranja quanto o eucaliptol foram igualmente eficientes na dissolução da GP dos canais radiculares. Dado este que conflita com o apresentado nesta dissertação, visto que o óleo 3 (laranja sanguínea) apresentou resultado superior ao eucaliptol tanto evidenciado nas eletromicrografias, quanto pelo teste de perda de massa e de dureza.

Ramzi e colaboradores (2010) avaliaram 3 diferentes métodos de remoção do material obturador e demonstraram suas eficiências através da análise de imagens obtidas por MEV. No primeiro grupo, o material foi removido sem uso de solvente, no segundo grupo foi utilizado clorofórmio, e no terceiro grupo empregou-se auxílio do solvente endosolv[®] R. Todos os grupos apresentaram diferença estatística entre si, e o grupo 3 obteve o melhor resultado, sendo assim, a combinação de instrumentação com o uso do endosolv[®] R mostrou, através da eletromicrografia, a menor presença de detritos residuais ao longo dos canais radiculares. Nossos resultados são discordantes, visto que em relação à perda de massa, o clorofórmio apresentou o melhor resultado, seguido do óleo 3 e endosolv[®] E. Em relação às imagens obtidas por MEV, é possível observar as deformações causadas na superfície do cone de guta-percha, tanto pela ação do endosolv[®] E, quanto pela ação do clorofórmio. Porém a deformação causada pelo clorofórmio e pelo óleo 3 se mostra mais evidente do que a causada pelo endosolv[®] E.

5.5 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Foram realizados a CIM e CFM para a cepa de *Candida albicans* ATCC 10231. Apenas os óleos essenciais (óleo 1 - *Citrus paradisi*, óleo 3 – *Citrus sinensis*, óleo 5 – *Cymbopogon nardus* e óleo 6 – *Cymbopogon schoenathus*) apresentaram eficácia contra o fungo testado. Nenhum dos controles avaliados apresentou eficácia contra esta cepa nas condições experimentais, conforme observado na Tabela 12.

Tabela 12 - Atividade antifúngica das substâncias de interesse frente à *Candida albicans* ATCC 10231.

Substância-teste	CIM ($\mu\text{g/mL}$)	CFM ($\mu\text{g/mL}$)
Óleos 1, 3 e 6	250	500
Óleos 2 e 4	>1000	>1000
Óleo 5	500	1000
C1 – Eucaliptol	>1000	>1000
C2 – Endosolv [®] E	>1000	>1000
C3-Clorofórmio	>1000	>1000
Nistatina	8 UI	32 UI

Óleo 1= *Citrus paradisi*; Óleo 2= *Citrus limon*; Óleo 3= *Citrus sinensis*; Óleo 4= *Cymbopogon martinii*; Óleo 5= *Cymbopogon nardus*; Óleo 6= *Cymbopogon schoenathus*. CIM= concentração inibitória mínima; CFM= Concentração fungicida mínima; UI= unidades internacionais; $\mu\text{g/mL}$ = micrograma por mililitro. Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

Os óleos 1 (*Citrus paradisi*), 3 (*Citrus sinensis*) e 6 (*Cymbopogon schoenathus*) demonstraram ação fungicida frente à *Candida albicans* ATCC 10231 (CFM = 500 $\mu\text{g/mL}$), sendo, portanto, os óleos com melhor atividade antimicrobiana.

Delgado e colaboradores (2020) avaliaram o óleo essencial de *Citrus paradisi* extraído da casca como um tratamento alternativo frente à *Candida albicans* e obtiveram resultados satisfatórios (CIM = 2,5 $\mu\text{g/mL}$). Ruiz-Pérez e colaboradores (2016) avaliaram a inibição da *C. albicans* utilizando o óleo essencial de *Citrus sinensis* pelo método de difusão em ágar e o óleo foi capaz de inibir o fungo, porém não foi tão eficaz quanto o controle utilizado (anfotericina B). Lima (2022) avaliou através de microdiluição em caldo a ação antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon schoenathus* obtido da mesma empresa do OE do presente estudo (WNF Óleos essenciais) frente aos microrganismos de interesse odontológico (*S. mutans*, *S. aureus*, *C. albicans*, *C. krusei* e *C. dubliniensis*) e obtiveram a CMM (concentração microbicida mínima) de 0,06% para *C. albicans*, sendo o OE efetivo para este fungo.

Os óleos 1 e 3 apresentaram ação fungicida frente à *C. albicans* (CFM = 500 $\mu\text{g/mL}$), e foi demonstrado no presente estudo através de CG/EM que estes foram os óleos cítricos com os maiores percentuais de D-limoneno (70,04% e 71,07%, respectivamente). Já o óleo 2 apresentou menor percentual de D-limoneno (53,83%), e este não demonstrou ação fungicida frente à *C. albicans* (CFM > 1000 $\mu\text{g/mL}$). Diversos estudos demonstraram a atividade fungicida do D-limoneno frente à *C. albicans* (THAKRE et al., 2018; MUÑOZ

et al., 2020; DENKOVA-KOSTOVA et al., 2021). Munõz e colaboradores (2020) demonstraram que o D-limoneno é capaz de gerar danos na parede celular das leveduras de *C. albicans*, podendo causar a ruptura desta estrutura. O estudo de Thakre e colaboradores (2018) sugere que o D-limoneno atua inibindo o crescimento de *C. albicans* por estresse oxidativo induzido por danos na parede celular, conseqüentemente gerando danos no DNA e apoptose.

Verificou-se na análise por CG/EM que o Citral foi o componente majoritário (33,31%) para óleo 6 (*Cymbopogon schoenathus*). Freire e colaboradores (2022) realizaram uma revisão de literatura sobre a atividade antimicrobiana e efeitos do Citral em espécies causadoras de doenças bucais, e concluíram que o Citral apresenta atividade antibacteriana e antifúngica satisfatória sobre microrganismos de interesse odontológico, como *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans*, porém os autores sugerem pesquisas que avaliem a toxicidade da substância.

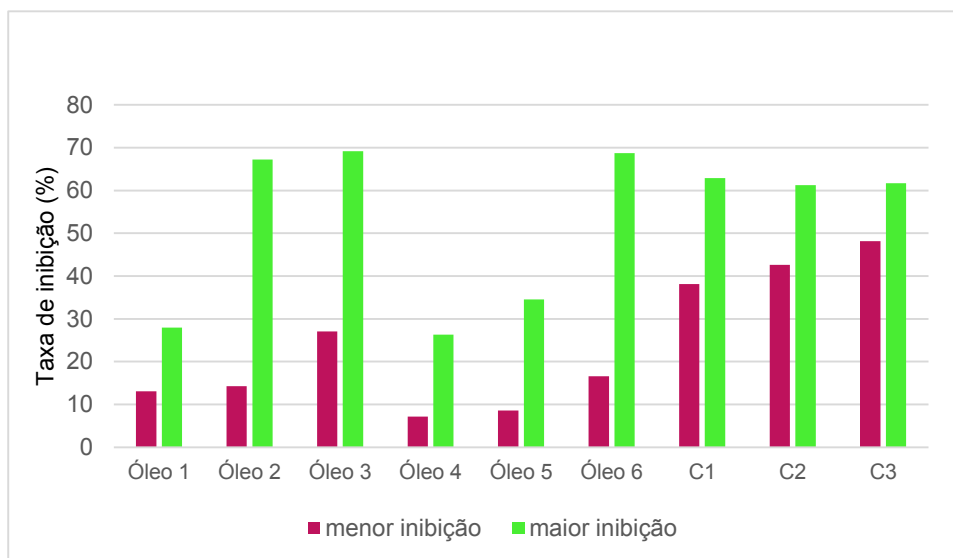
O Citral (3,7-dimetil-2,6-octadienal) é um composto ativo presente em diversos óleos essenciais, como o óleo essencial de Capim-limão, e possui propriedades biológicas, que incluem atividades antibacteriana, antifúngica, antiinflamatória, antialérgica, antiviral e antioxidante (SHI et al., 2016; MARTINS et al., 2017; LASKAR et al., 2020).

Freire e colaboradores (2022) demonstraram a satisfatória atividade antifúngica *in vitro* do Citral contra cepas de *Candida albicans* isoladas de usuários de próteses dentárias, através da microdiluição em caldo (CIM = 32 µg/mL e CFM = 64 µg/mL).

Em relação à bactéria *Enterococcus faecalis* ATCC 51299, nenhum óleo essencial ou controle apresentou efeito bactericida. Porém, as substâncias testadas apresentaram efeito bacteriostático, ou seja, ocorreu inibição do crescimento bacteriano, quando comparado ao grupo controle da metodologia (inóculos sem adição da substância-teste).

As maiores taxas de inibição de crescimento variaram de 26,34% no óleo 4 (*Cymbopogon martinii*) e 69,19% no óleo 3 (*Citrus sinensis*), conforme Gráfico 2.

Gráfico 2 - Taxa de inibição de crescimento de *Enterococcus faecalis* ATCC 51299 demonstrada para cada substância testada.



Óleo 1= *Citrus paradisi*; Óleo 2= *Citrus limon*; Óleo 3= *Citrus sinensis*; Óleo 4= *Cymbopogon martinii*; Óleo 5= *Cymbopogon nardus*; Óleo 6= *Cymbopogon schoenathus*; C1= Eucalipto; C2= endosolv® E; C3= Clorofórmio.

A barra rosa indica a menor taxa de inibição de crescimento encontrada em relação ao grupo controle (inóculos sem adição da substância-teste) da metodologia. A barra verde indica a maior taxa de inibição de crescimento em relação ao mesmo grupo controle.

Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

O óleo 3 (*Citrus sinensis*) apresentou a maior taxa de inibição de crescimento do microrganismo *E. faecalis*, atingindo 69,19%. Observa-se que os óleos 2, 3 e 6 apresentaram uma maior inibição do crescimento bacteriano que os controles. Na Tabela 13 é possível visualizar as taxas de inibição mínima e máxima e a concentração referente.

Ramesh e Keerthana (2021) demonstraram a efetividade do óleo extraído da casca de *Citrus sinensis* frente ao *E. faecalis* (CIM = 37,5 µg/mL e CBM = 59,42 µg/mL), corroborando com a atividade satisfatória do OE no presente estudo. Os autores sugerem que sejam realizados testes de citotoxicidade para que o OE possa ser utilizado *in vivo*.

Como já mencionado anteriormente, o D-limoneno é o composto majoritário do OE de *C. sinensis* (71,07%) e este é o óleo do estudo com o maior percentual do referido composto. O D-limoneno apresenta potencial antimicrobiano frente ao *E. faecalis* demonstrado pela literatura, fato este que pode justificar a inibição do microrganismo encontrada no presente estudo. Bogojevic e colaboradores (2016) demonstraram a satisfatória atividade antimicrobiana do composto isolado D-limoneno frente ao *E. Faecalis*

(CIM < 200 µg/mL). Villa-ruano e colaboradores (2018) também demonstraram a atividade bacteriostática do composto frente ao microrganismo, e este exibiu atividade bacteriostática na concentração de 189 µg/mL, concordando com os resultados obtidos no presente estudo.

O segundo óleo que apresentou a maior taxa de inibição contra *E. faecalis* foi o óleo 6 (*Cymbopogon schoenathus*), atingindo 68,76%. Chaves-Quirós e colaboradores (2020) avaliaram a atividade antimicrobiana dos compostos Citral e Mirceno frente as bactérias *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus rhamnosus*. O mirceno não demonstrou atividade bacteriostática contra as bactérias. Já o citral exibiu atividade bacteriostática para todas as cepas na concentração de 1 mg/mL. O citral é um dos principais constituintes de óleos essenciais com atividade antimicrobiana contra *Enterococcus faecalis* (FISHER e PHILLIPS, 2009; PANT et al., 2012; SILVA, 2014). Pode-se sugerir, que a satisfatória atividade bacteriostática frente à *E. faecalis* exibida pelo óleo 6 no presente estudo, tenha relação com a presença do Citral (componente majoritário do óleo).

Tabela 13 - Inibição mínima e máxima do *Enterococcus faecalis* ATCC 51299 para as substâncias de interesse.

Substância-teste	Inibição mínima/ máxima (%)	Concentração referente à inibição (µg/mL)
Óleo 1	13,07	62,5
	27,98	250
Óleo 2	14,26	15,62
	67,05	1000
Óleo 3	27,03	15,62
	69,19	500
Óleo 4	7,16	62,5
	26,34	250
Óleo 5	8,57	62,5
	34,56	250
Óleo 6	16,58	15,62
	68,76	500
C1- eucaliptol	38,17	3,9
	62,89	7,81
C2- endosolv® E	42,59	500
	61,24	3,9
C3- clorofórmio	48,16	125
	61,74	1000

Óleo 1= *Citrus paradisi*; Óleo 2= *Citrus limon*; Óleo 3= *Citrus sinensis*; Óleo 4= *Cymbopogon martinii*; Óleo 5= *Cymbopogon nardus*; Óleo 6= *Cymbopogon schoenathus*; %= porcentagem; µg/mL= micrograma por mililitro.

Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

5.6 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os OEs do gênero *Citrus* e do gênero *Cymbopogon* foram avaliados e apresentaram atividade antioxidante não considerada dose-dependente, ou seja, não houve uma relação linear entre a atividade biológica e a concentração testada. Dado o exposto, não foi possível realizar o cálculo da concentração inibitória 50% (CI₅₀), ou seja, a concentração necessária para consumir metade (50%) dos radicais livres presentes no DPPH. Os resultados estão demonstrados na Tabela 14.

Tabela 14 - Atividade antioxidante das substâncias-teste pelo método de DPPH.

Substância-teste	Atividade antioxidante (% mínima e máxima)
Óleo 1	17 e 22
Óleo 2	18 e 22
Óleo 3	21 e 33
Óleo 4	18 e 22
Óleo 5	15 e 27
Óleo 6	22 e 34
Eucaliptol (C1)	13 e 18
Endosolv [®] E (C2)	14 e 19
Ácido ascórbico (fármaco de referência)	11 e 64*

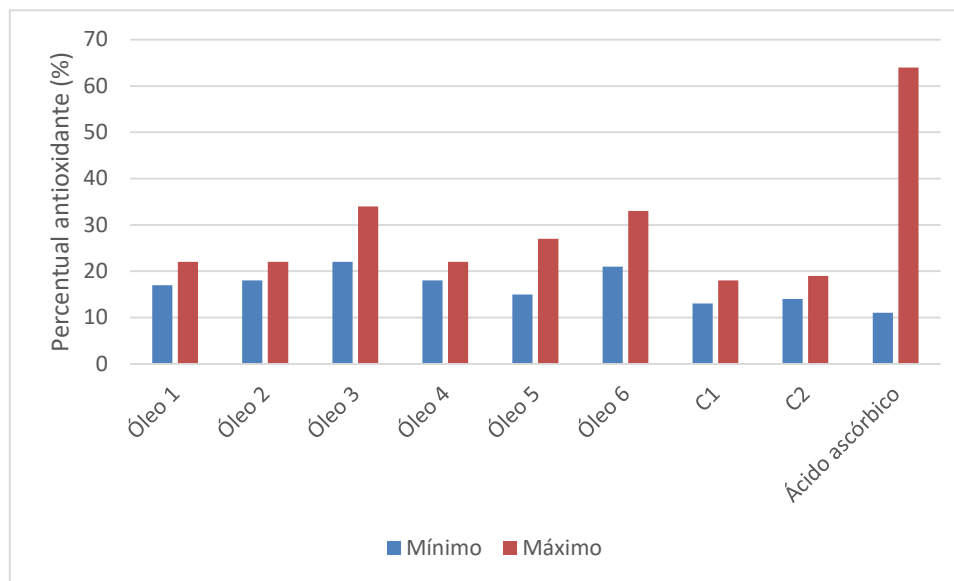
Óleo 1= *Citrus paradisi*; Óleo 2= *Citrus limon*; Óleo 3= *Citrus sinensis*; Óleo 4= *Cymbopogon martinii*; Óleo 5= *Cymbopogon nardus*; Óleo 6= *Cymbopogon schoenanthus*.

*O ácido ascórbico apresentou relação de dose dependência (CI_{50} = concentração inibitória 50%). Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

A faixa de inibição dos óleos essenciais variou de 17 até 34%; e para os controles testados (eucaliptol e endosolv[®] E) foi de 13 % (atividade antioxidante mínima) até 19% (atividade antioxidante máxima). Todos os OEs apresentaram maior atividade antioxidante (mínima e máxima) do que os controles (C1 e C2). Dentre todas as substâncias, o óleo 6 (*Cymbopogon schoenanthus*), apresentou a maior atividade antioxidante absoluta (mínima e máxima), seguido do óleo 3 (*Citrus sinensis*).

Dentre os controles testados, o endosolv[®] E apresentou a maior porcentagem de atividade antioxidante máxima, no valor de 19%. Todos os óleos essenciais testados apresentaram maior atividade antioxidante máxima do que o controle supracitado (Gráfico 3).

Gráfico 3 - Percentual antioxidante mínimo e máximo das substâncias de interesse.



Óleo 1= *Citrus paradisi*; Óleo 2= *Citrus limon*; Óleo 3= *Citrus sinensis*; Óleo 4= *Cymbopogon martinii*; Óleo 5= *Cymbopogon nardus*; Óleo 6= *Cymbopogon schoenathus*; C1= Eucaliptol; C2= endosolv® E. Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

A inflamação é uma série complexa de reações que são executadas pelo hospedeiro para prevenir danos teciduais contínuos e ativar processos de reparo, sendo que o processo inflamatório é geralmente acompanhado de estresse oxidativo (DALLA VECHIA, GNOATTO e GOSMANN, 2009). A agressão celular e molecular resultante da falta de equilíbrio entre a formação de radicais livres e a resposta fisiológica de defesa antioxidante é conhecida como estresse oxidativo, o qual compromete a funcionalidade adequada das células (BARBOSA et al., 2010).

O estresse oxidativo acontece quando há um desequilíbrio entre compostos oxidantes e antioxidantes, culminando em geração excessiva de radicais livres e/ou espécies reativas não radicais. Este processo favorece a oxidação de moléculas com consequente perda de suas funções biológicas, cuja manifestação é o dano oxidativo contra células e tecidos, ameaçando suas funções normais (KARLSEN et al., 2007; BARBOSA et al., 2010). A ação de radicais livres mostra um importante papel na contribuição do desenvolvimento de diversas doenças, como por exemplo câncer, diabetes e doenças degenerativas (HALLIWELL e WHITEMAN, 2004). Os antioxidantes são definidos como qualquer substância que, presente em menores concentrações que as do substrato oxidável, seja capaz de atrasar ou inibir a oxidação deste de maneira eficaz (LOBO et al., 2010).

A presença de satisfatória atividade antioxidante nos solventes pode se mostrar interessante para o retratamento endodôntico, visto que na maioria dos casos de insucesso observa-se presença de infecção e/ou inflamação dos tecidos perirradiculares (PATEL e BARNES, 2011; LOPES e SIQUEIRA JR., 2015).

A atividade antioxidante do óleo essencial 1 extraído da casca de *Citrus paradisi* variou de 17% a 22%, concordando com o estudo de Ou e colaboradores (2015) em que o óleo essencial de *C. paradisi* (também extraído da casca do fruto) apresentou atividade de 20%, sendo um valor bem próximo ao encontrado em nosso experimento. Já o estudo de Pellicano e colaboradores (2018) discorda do presente estudo, pois *C. paradisi* apresentou atividade antioxidante máxima de aproximadamente 35% pelo método de DPPH. Esta diferença pode ser justificada pelo fato do presente estudo ter avaliado o óleo essencial, enquanto que o estudo realizado em 2018 avaliou o suco extraído do fruto de *C. paradisi*.

A atividade antioxidante do óleo essencial 2 extraído da casca de *Citrus limon* variou de 18% a 22%, concordando com o estudo de Moosavy e colaboradores (2017), que também encontrou atividade antioxidante para o óleo extraído da casca de *C. limon*. Já no estudo de Luzia e Jorge (2010) obteve-se 70% de atividade antioxidante máxima, porém foi utilizado extrato obtido das sementes de *C. limon*, sendo este o provável motivo da discordância entre os trabalhos.

A atividade antioxidante do óleo essencial 3 extraído da casca de *Citrus sinensis* variou de 21% a 33%, concordando com o estudo de Farahmandfar e colaboradores (2020), que encontrou atividade antioxidante de 30% utilizando óleo essencial obtido da casca de *C. sinensis* na concentração de 5 mg/ mL. Apesar de não ser possível o cálculo da CI_{50} no presente estudo (não houve relação dose dependência), na pesquisa dos autores supracitados a CI_{50} foi encontrada na concentração de 7,8 mg/ mL. Já o estudo de Chalova, Crandall e Rickie (2010) discorda desta pesquisa, visto que os autores demonstraram a atividade antioxidante máxima de 18% utilizando óleo essencial de *C. sinensis* pelo método de DPPH, porém não foi especificado de qual parte da planta o óleo foi extraído, e os autores não realizaram a análise do perfil fitoquímico do referido óleo, não sendo possível identificar os compostos presentes no mesmo.

A atividade antioxidante do óleo essencial 4 extraído do capim de *Cymbopogon martinii* variou de 18% a 22%, corroborando com outros estudos que também encontraram presença de atividade antioxidante para o referido óleo (LAWRENCE et al., 2012; JUMMES et al., 2020). A atividade antioxidante apresentada pelo óleo essencial 5 extraído

das folhas de *Cymbopogon nardus* variou de 15% a 27%, sendo também concordante com estudos que demonstraram o potencial antioxidante do OE supracitado (KACANIOVA et al., 2017; BAYALA et al., 2020).

A atividade antioxidante do óleo essencial 6 extraído das folhas de *Cymbopogon schoenathus* variou de 22% a 34%. O estudo de Kadri e colaboradores (2017) obteve percentual máximo antioxidante de 31%, sendo próximo ao encontrado no presente estudo para *C. schoenathus*, porém os autores utilizaram o extrato metanólico da planta. Oliveira e Colaboradores (2019) demonstraram a satisfatória atividade antioxidante de *C. schoenathus*, sendo esta dose dependente, e a Cl_{50} encontrada foi de 99 $\mu\text{g/mL}$. Esta diferença pode ser justificada pelo fato do estudo supracitado ter utilizado o extrato bruto hidroalcoólico, enquanto que no presente estudo foi utilizado o óleo essencial da planta.

5.7 CITOTOXIDADE

Avaliou-se a viabilidade celular frente à células saudáveis de fibroblastos murinos (L929). De acordo com a ISO 10993-5/2009, relativa à avaliação da citotoxicidade *in vitro* para dispositivos médicos, a substância testada é considerada citotóxica se a viabilidade celular for menor que 70%. Na Tabela 15, é possível observar os valores médios de viabilidade celular encontrados para cada substância de interesse de acordo com a concentração. Destaque colorido para as substâncias que não se apresentaram citotóxicas (> 70%).

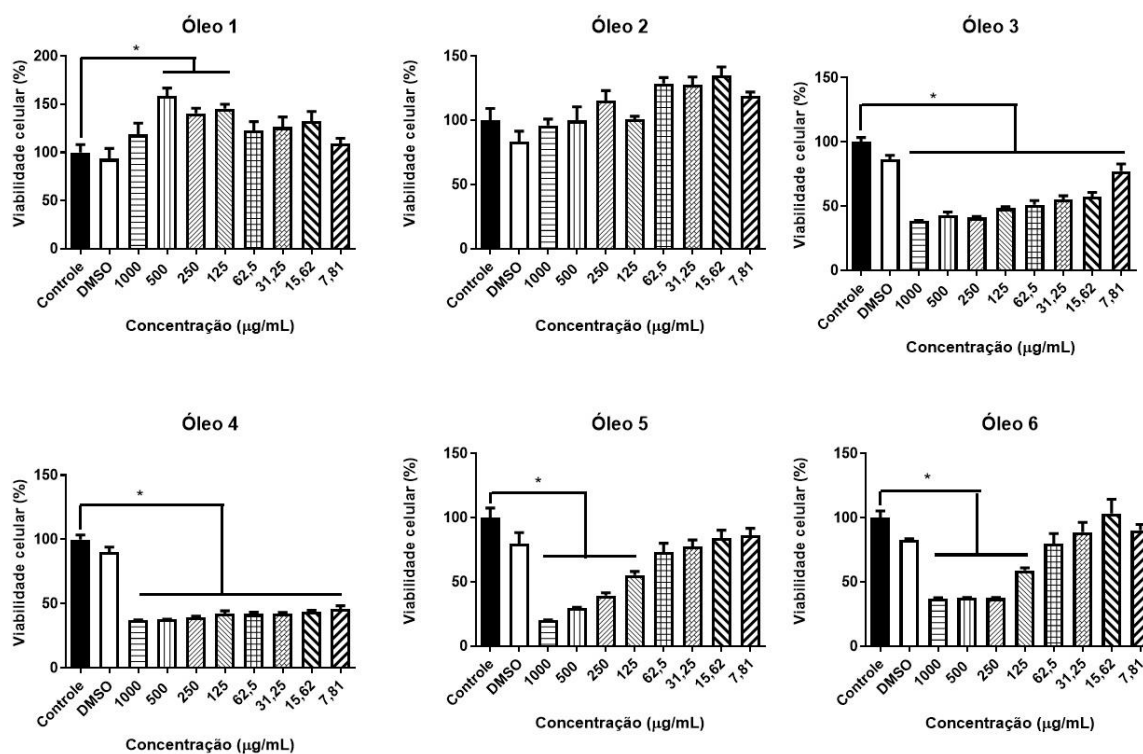
Tabela 15 - Viabilidade celular (%) das substâncias de interesse em cultura de fibroblastos murinos (L929).

CONCENTRAÇÃO ($\mu\text{g/mL}$)	O1	O2	O3	O4	O5	O6	C1	C2
7,813	109,3	118,9	77,34	46,03	86,3	90,28	95,07	98,3
15,625	132,8	135	57,14	43,68	83,88	103,3	99,31	98,04
31,25	126,2	127,4	55,11	42,27	77,51	88,87	96,77	98,65
62,5	122,5	128,7	51,19	41,96	73,08	79,93	96,13	99,64
125	145,3	100,8	48,38	42,27	55,36	59,01	94,63	92,62
250	140,6	115,4	41,17	39,14	39,46	37,46	95,38	98,45
500	158,5	99,87	43,37	37,89	29,73	37,61	92,77	91,72
1000	118,5	96,05	38,36	37,26	20,29	37,18	93,92	35,26

O1= *Citrus paradisi*; O2= *Citrus limon*; O3= *Citrus sinensis*; O4= *Cymbopogon martinii*; O5= *Cymbopogon nardus*; O6= *Cymbopogon schoenathus*; C1= eucalipto; C2= endosolv® E; $\mu\text{g/mL}$ = micrograma por mililitro. Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

Dentre as substâncias testadas, o C1 (eucaliptol), o O1 (*Citrus paradisi*) e o O2 (*Citrus limon*) foram as únicas que não apresentaram citotoxicidade em nenhuma das concentrações testadas, nem mesmo para a máxima concentração (1000 µg/mL). Dentre os óleos, o O1 e o O2 foram os menos citotóxicos, e o O4 (*Cymbopogon martinii*) o que exibiu maior citotoxicidade. É possível observar as representações gráficas da viabilidade celular dos OEs avaliados na Figura 6.

Figura 6 - Representações gráficas da viabilidade celular para os OEs frente aos fibroblastos murinos (L929).



Óleo 1= *Citrus paradisi*; Óleo 2= *Citrus limon*; Óleo 3= *Citrus sinensis*; Óleo 4= *Cymbopogon martinii*; Óleo 5= *Cymbopogon nardus*; Óleo 6= *Cymbopogon schoenathus*; µg/mL= micrograma por mililitro.

* = Presença de diferença estatística dos valores de viabilidade celular do OE em relação ao controle do meio e ao DMSO. Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

O O4 (*Cymbopogon martinii*) exibiu citotoxicidade para todas as concentrações do ensaio (viabilidade celular <70%). Andrade e colaboradores (2014) discordam do presente estudo, os autores avaliaram a citotoxicidade do OE de *C. martinii* e de seu componente majoritário geraniol através do método de MTT frente à monócitos. Nenhum efeito citotóxico foi observado para o geraniol e para o OE, nas concentrações de 0,1 até 10 µg/mL, e a viabilidade celular foi de aproximadamente 100% em comparação com o

controle. Esta diferença pode ser explicada devido às diferentes concentrações testadas e às diferentes linhagens celulares utilizadas.

Sinha e colaboradores (2014) avaliaram o potencial citotóxico do OE de palmarosa (*C. martinii*) e do monoterpenóide geraniol (componente majoritário do óleo) frente a linfócitos humanos utilizando o método de MTT. Tanto o OE quanto o geraniol foram citotóxicos em concentrações mais elevadas (1500 e 2000 µg/mL), demonstrando redução na viabilidade de linfócitos humanos. Já no presente estudo *C. martinii* demonstrou citotoxicidade nas concentrações de 7,813 a 1000 µg/mL, e a linhagem celular utilizada foi a de fibroblastos murinos (L929).

O O1 (*Citrus paradisi*) não se mostrou citotóxico em nenhuma concentração testada (7,813 a 1000 µg/mL). Não foram encontrados na literatura dados referentes à citotoxicidade de *C. paradisi* frente aos fibroblastos murinos (L929). No entanto, Zanganeh e colaboradores (2021) demonstraram a atividade inibitória do crescimento de linhagens de células HT29 (câncer de cólon) utilizando o OE de *C. paradisi*, sendo a citotoxicidade dose-dependente, com 7,96% de viabilidade celular na concentração de 200 mg/mL. Esta diferença pode ser justificada pelas diferentes linhagens celulares analisadas.

O O2 (*Citrus limon*) não se mostrou citotóxico em nenhuma concentração testada (7,81 a 1000 µg/mL). Li e colaboradores (2022) avaliaram pelo ensaio de MTT a citotoxicidade de dois óleos essenciais do gênero *Citrus* (*C. limon* e *C. paradisi*) e nenhum se mostrou citotóxico até a concentração de 1558 µg/L, corroborando com os resultados obtidos no presente estudo.

O O3 (*Citrus sinensis*) não apresentou citotoxicidade na concentração de 7,81 µg/mL conforme a ISO 10993-5/2009, porém, foi citotóxico nas demais concentrações (15, 62 a 1000 µg/mL). Gomes (2014), utilizando células Vero (fibroblastos de rim de macaco-verde da África) demonstraram que a citotoxicidade do OE de *C. sinensis* foi dose dependente, ou seja, quanto maior a concentração, maior o efeito citotóxico do óleo, corroborando com o presente estudo. Na concentração de 173,7 µg/mL havia viabilidade em apenas 50% das células. O autor também avaliou a citotoxicidade do padrão de D-limoneno (composto majoritário do OE) e na concentração de 23 µg/mL, apenas 50% das células estavam viáveis. Esta diferença pode ser justificada pelo fato do padrão ser uma molécula única e os OEs uma mistura, e também pelas diferentes linhagens celulares utilizadas no presente estudo e na referida pesquisa. Outro estudo conduzido por Najjar e colaboradores (2020) demonstrou a citotoxicidade do OE supracitado na concentração de 87,9 µg/mL utilizando células de neuroblastoma.

Estudos demonstram que a molécula D-limoneno pode ser citotóxica para algumas linhagens celulares humanas, destacando-se sua ação citotóxica frente à células tumorais (VAJRABHAYA et al., 2004; JOOMA et al., 2012; MAURO et al., 2013; NAJAR et al., 2020). Fato este que pode justificar o O3 ter se apresentado como o mais citotóxico dentre o gênero *Citrus*, pois este é o OE com maior percentual de D-limoneno (71,07%). Porém para o presente estudo o OE não foi citotóxico na concentração de 7,81 µg/mL exibindo viabilidade celular de 77,34%. Souza e colaboradores (2021) também não demonstraram a citotoxicidade do OE de *C. sinensis* na concentração de 150 µg/mL. A presença da maior porcentagem do composto majoritário também pode ser utilizada como justificativa para os melhores resultados mecânicos apresentados por *Citrus sinensis*, uma vez que o composto D-limoneno já é utilizado e reconhecido na odontologia por sua satisfatória atividade dissolutiva de guta percha (VILLAS BOAS, 2015; MORAIS et al., 2017).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise conjunta dos resultados demonstrou que o óleo 3 (*Citrus sinensis*) parece ser uma alternativa natural, viável e segura quando comparado aos solventes endodônticos convencionais, pois em relação a todos os óleos essenciais testados exibiu os melhores resultados de desintegração, dureza, foi capaz de causar alterações na superfície dos cones de guta percha (observadas através de MEV) e ainda exibiu atividades complementares desejáveis como antioxidante, bacteriostática contra *Enterococcus faecalis* ATCC 51299, fungicida frente à *Candida albicans* ATCC 10231 e mostrou baixa citotoxicidade frente a fibroblastos murinos (L929).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, Robert. **Identification of essential oil components by gas chromatography / mass spectrometry**. 4th ed: Allured Publishing Corporation, 2007.
- AGRAWAL, P. et al. Evaluation of Efficacy of Different Instrumentation for Removal of Gutta-percha and Sealers in Endodontic Retreatment: an in vitro study. **The Journal Of Contemporary Dental Practice**, v. 20, n. 11, p. 1269-1273, 2019.
- ALAMEEN, Salma Mohammed Ahmed. **Chemical Characterization of Marhabaib (Cymbopogon) Leaves, Spikes and their Essential Oil**. 2020. Dissertação (Mestrado em Química) - Sudan University of Science and Technology, 2020.
- ALI, N. et al. Antimicrobial, antioxidant, and cytotoxic activities of *Ocimum forskolei* and *Teucrium yemense* (Lamiaceae) essential oils. **Medicines**, v. 4, n. 2, 2017.
- ALMEIDA, J. et al. Tratamento do biofilme intracanal de *Enterococcus faecalis* com suspensões de diferentes nanopartículas e irrigantes convencionais. **Arquivos em Odontologia**, v. 51, n. 1, p. 32-38, 2015.
- ALMEIDA, L. F. D. et al. Atividade antifúngica de óleos essenciais frente a amostras clínicas de *Candida albicans* isoladas de pacientes HIV positivos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 4, p. 649-655, 2011.
- AL-RUBAYE, A. F.; HAMEED, I. H.; KADHIM, M. J. A Review: Uses of Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) Technique for Analysis of Bioactive Natural Compounds of Some Plants. **International Journal of Toxicological and Pharmacological Research**, v. 9, n. 1, p. 81-85, 2017.
- ALVARENGA, A. C. et al. Aplicações terapêuticas do *Cymbopogon citratus* (capim-limão) na odontologia: uma revisão de literatura integrative. **International Journal of Science Dentistry**, v. 3, n. 59, p. 85-106, 2022.
- ALZRAIKAT, H.; TAHA, N. A.; HASSOUNEH, L. Dissolution of a mineral trioxide aggregate sealer in endodontic solvents compared to conventional sealers. **Brazilian Oral Research**, v. 30, n. 1, p. 1-8, 2016.
- AMINSOBHANI, M. et al. Evaluation of the Antibacterial Effect of Xylene, Chloroform, Eucalyptol, and Orange Oil on *Enterococcus faecalis* in Nonsurgical Root Canal Retreatment: an ex vivo study. **Biomed Research International**, v. 2022, n. 1, p. 1-9, 2022.
- ANANDAKUMAR, P.; KAMARAJ, S.; VANITHA, M. K. D-limonene: a multifunctional compound with potent therapeutic effects. **Journal Of Food Biochemistry**, v. 45, n. 1, p. 135-166, 2021.
- ANDRADE, B. F. M. T. et al. *Cymbopogon martinii* essential oil and geraniol at noncytotoxic concentrations exerted immunomodulatory/anti-inflammatory effects in human monocytes. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 66, n. 10, p. 1491–1496, 2014.

ARAGON, L. E. A dimensão internacional da Amazônia: um aporte para sua interpretação. **Revista NERA**, v. 21, n. 42, p.15-33, 2018.

AROOJ, N.; DAR, N.; SAMRA, Z. Q. Stable Silver Nanoparticles Synthesis by Citrus Sinensis (Orange) and Assessing Activity Against Food Poisoning Microbes. **Biomedical and Environmental Sciences**, v. 27, n. 10, p. 815-818, 2014.

AVOSEH, O. *et al.* Cymbopogon Species; Ethnopharmacology, Phytochemistry and the Pharmacological Importance. **Molecules**, v. 20, n. 5, p. 7438–7453, 2015.

BALOGUN, F.; ASHAF, A. A Review of Plants Used in South African Traditional Medicine for the Management and Treatment of Hypertension. **Planta Medica**, v. 85, n. 4, p. 312-334, 2019.

BARBOSA, K. B. F. *et al.* Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629–643, 2010.

BARBOSA, S. V.; BURKARD, D. H.; SPANGBERG, L. S. W. Cytotoxic Effects of Gutta-percha Solvents. **Journal Of Endodontics**, v. 20, n. 1, p. 6-8, 1994.

BARRETO, M. S. *et al.* Efficacy of ultrasonic activation of NaOCl and orange oil in removing filling material from mesial canals of mandibular molars with and without isthmus. **Journal of Applied Oral Science**, v. 24, n. 1, p. 37-44, 2016.

BASSAM, S. *et al.* Endodontic postoperative flare-up: an update. **The Saudi Dental Journal**, v. 33, n. 7, p. 386-394, 2021.

BAYALA, B. *et al.* Chemical composition, antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative activities of the essential oil of Cymbopogon nardus, a plant used in traditional medicine. **Biomolecular Concepts**, v. 11, n. 1, p. 86–96, 2020.

BAYRAM, E. *et al.* Evaluation of Calcium Silicate Cement Bond Strength after Using Gutta-percha Solvents. **Nigerian Journal of Clinical Practice**, v. 20, n. 11, p. 1417-1421, 2017.

BETTEGA, P. V. C. *et al.* Phytotherapy: from greenhouses to drugstore's bench. **Archives of oral research**, v. 7, n. 1, p. 89-97, 2011.

BISPO, A. L. C. O. *et al.* Tratamento de insucesso endodôntico com instrumental e material obturador nos tecidos apicais. **Revista Eletrônica Acervo Odontológico**, v. 3, n. 9240e, p. 1-7, 2021.

BOGOJEVIĆ, J. *et al.* Analysis of chemical composition of the most efficient essential oils towards Enterococcus faecalis referent strain ATCC 29212 and clinical isolates. **Lekovite sirovine**, n. 36, p. 3–25, 2016.

BORGES, A. D. C. *et al.* Avaliação da composição química e atividade larvicida do óleo essencial de cymbopogon nardus no controle de aedes aegypti na amazônia sul-ocidental. **Holos**, v. 5, p. 1-13, 2021.

BOUKHATEM, M. N. *et al.* Lemon grass (Cymbopogon citratus) essential oil as a potent anti-inflammatory and antifungal drugs. **Libyan Journal Of Medicine**, v. 9, n. 1, p. 1-18, 2014.

BRAGA, K. A. S. *et al.* Influência das condições de cultivo sobre a produção de óleo essencial do capim citronela (*Cymbopogon nardus*). **Brazilian Journal of Health and Pharmacy**, v. 2, n. 1, 2020.

BRASIL. CONSELHO FEDERAL DE ODONTOLOGIA, Resolução CFO – 82, de 25 de setembro de 2008. Reconhece e regulamenta o uso pelo cirurgião-dentista de práticas integrativas e complementares à saúde bucal. Rio de Janeiro, 2008.

BUENO, C. E. S.; VALDRIGHI, L. Efetividade de solventes e de técnicas na desobturação dos canais radiculares: estudo in vitro. **Revista brasileira de Odontologia**, v. 55, n. 4, p. 251-255, 1998.

CAMÕES, I.G.Z., *et al.* Comparação entre os solventes: Óleo de laranja e Eucaliptol no retratamento de canais radiculares. **Revista Fluminense de Odontologia**, n.34, p.29-35, 2010.

CAMPOS, F. L. *et al.* Causas de insucessos no tratamento endodôntico – análise dos casos de retratamento atendidos no projeto de extensão da Faculdade de Odontologia da UFMG. **Arquivos em Odontologia**, v. 53, n. 20, p. 1-8, 2017.

CANDAN, F. *et al.* Antioxidant and antimicrobial activity of essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 87, p. 215-220, 2003.

CAPETTI, F. *et al.* Citral-Containing Essential Oils as Potential Tyrosinase Inhibitors: A Bio-Guided Fractionation Approach. **Plants**, v. 10, n. 5, p. 969-9988, 2021.

CARVALHO, C. S. *et al.* Decontamination of Gutta-percha Cones employed in Endodontics. **Acta odontológica Latinoamericana**, v. 33, n. 1, p. 45-49, 2020.

CARVALHO, M. A. *et al.* Influence of the intertropical convergence zone on early cretaceous plant distribution in the South Atlantic. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 1-21, 2022.

CASTRO, H. G. *et al.* Avaliação do teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.) em diferentes épocas de colheita. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 2, p. 308–314, 2010.

CATAZONE, Isabela Araguê. **Avaliação in vitro de formulações do óleo essencial de citronela (*Cymbopogon nardus*) sobre propriedades biológicas, físicas e mecânicas de resina acrílica para prótese dentária**. 2022. Tese (Doutorado em Ciência Odontológica) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araçatuba, 2022.

CAVALCANTI, Y. W. *et al.* Efeito inibitório de óleos essenciais sobre microrganismos do canal radicular. **Revista de Odontologia da Unesp**, v. 40, n. 5, p. 208-214, 2011.

CHALOVA, V. I.; CRANDALL, P. G.; RICKE, S. C. Microbial inhibitory and radical scavenging activities of cold-pressed terpeneless Valencia orange (*Citrus sinensis*) oil in different dispersing agents: Solvent effect on antimicrobial and antioxidant activities of CPT Valencia orange oil. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, n. 5, p. 870–876, 2010.

CHAVES-QUIRÓS, C. *et al.* Assessment of cytotoxic and antimicrobial activities of two components of *Cymbopogon citratus* essential oil. **Journal of Clinical and Experimental Dentistry**, v. 12, n. 8, p. 749-754, 2020.

CHEN, Y. *et al.* Effect of second cooling on the chemical components of essential oils from orange peel (*Citrus sinensis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 35, p. 8786–8790, 2014.

CICHOCKI, J. *et al.* Modulation of Tetrachloroethylene-Associated Kidney Effects by Nonalcoholic Fatty Liver or Steatohepatitis in Male C57BL/6J Mice. **Toxicological Sciences**, v. 167, n. 1, p. 126-137, 2019.

COSTA, G. V. D.; NEVES, C. S. V. J.; TELLES, T. S. Spatial dynamics of orange production in the state of Paraná, Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 42, n. 2, p. 525, 2020.

DALLA VECHIA, L.; GNOATTO, S. C. B.; GOSMANN, G. Derivados oleananos e ursanos e sua importância na descoberta de novos fármacos com atividade antitumoral, anti-inflamatória e antioxidante. **Química Nova**, v. 32, n. 5, p. 1245–1252, 2009.

DANY, S. S. *et al.* Efficacy of 0.25% Lemongrass Oil Mouthwash: A Three Arm Prospective Parallel Clinical Study. **Journal of clinical and diagnostic research**, v. 9, n. 10, p. 7-13, 2015.

DEHKORDI, A. *et al.* Chemical Compositions of the Peel Essential Oil of *Citrus aurantium* and Its Natural Larvicidal Activity against the Malaria Vector *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae) in Comparison with *Citrus paradisi*. **Journal of Arthropod-Borne Diseases**, v. 10, n. 4, p. 577-585, 2016.

DELGADO, A. J. M. *et al.* Evaluation of the Essential Oil of *Citrus paradisi* as an Alternative Treatment against *Candida albicans*. **Open Journal of Stomatology**, v. 10, n. 9, p. 1-19, 2020.

DELGADO, R. J. R. *et al.* Antimicrobial activity of calcium hydroxide and chlorhexidine on intratubular *Candida albicans*. **International Journal of Oral Science**, v. 5, n. 1, p. 32-36, 2013.

DENKOVA-KOSTOVA, R. *et al.* Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of essential oils from tangerine (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.), lemon (*Citrus lemon* L.) and cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Blume). **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 76, n. 5–6, p. 175–185, 2021.

DIOGUARDI, M. *et al.* Comparison of Endodontic Failures between Nonsurgical Retreatment and Endodontic Surgery: systematic review and meta-analysis with trial sequential analysis. **Medicina**, v. 58, n. 7, p. 894-910, 2022.

DOSOKY, N.; SETZER, W. Biological Activities and Safety of *Citrus* spp. Essential Oils. **International Journal Of Molecular Sciences**, v. 19, n. 7, p. 1966-1999, 2018.

DOTTO, L. *et al.* The use of solvents for gutta-percha dissolution/removal during endodontic retreatments: a scoping review. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 109, n. 6, p. 890-901, 2020.

DUARTE-ALMEIDA, J. M. *et al.* Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema beta-caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 446-452, 2006.

EDGAR, S; MARSHALL, J; BAUMGARTNER, J. The Antimicrobial Effect of Chloroform on *Enterococcus faecalis* After Gutta-Percha Removal. **Journal Of Endodontics**, v. 32, n. 12, p. 1185-1187, 2006.

EPA, Toxicological review of tetrachloroethylene (perchloroethylene). **United States Environmental Protection Agency**, Washington DC, n. 635/R-08/011F, p. 1-1077, 2012.

ESPÍRITO SANTO, Roberta Passos do. **Óleos essenciais do gênero Citrus como alternativa aos solventes endodônticos convencionais**: importância no cenário pandêmico da COVID-19. 2022. Tese (Doutorado em Saúde) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2022.

ESTRELA, Carlos; FIGUEIREDO, José Antônio Poli de. Endodontia: princípios biológicos e mecânicos. São Paulo: Artes Médicas, 1999.

EVANS, M. *et al.* Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. **International Endodontic Journal**, v. 35, n. 1, p. 221-228, 2002.

FARAHMANDFAR, R. *et al.* Changes in chemical composition and biological activity of essential oil from Thomson navel orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) peel under freezing, convective, vacuum, and microwave drying methods. **Food Science & Nutrition**, v. 8, n. 1, p. 124–138, 2020.

FARIA-JÚNIOR, N. B. *et al.* Effectiveness of Three Solvents and Two Associations of Solvents on Gutta-Percha and Resilon. **Brazilian dental journal**, v. 22, n. 1, p. 41-44, 2011.

FAVELA-HERNÁNDEZ, J. *et al.* Chemistry and Pharmacology of *Citrus sinensis*. **Molecules**, v. 21, n. 2, p. 247-271, 2016.

FERREIRA, I.; BRAGA, A. C.; VAZ, I. Effect of Gutta-percha Solvents on the Bond Strength of Sealers to Intraradicular Dentin: a systematic review. **Iranian Endodontic Journal**, v. 16, n. 1, p. 17-25, 2021.

FISHER, K.; PHILLIPS, C. In Vitro Inhibition of Vancomycin-Susceptible and Vancomycin-Resistant *Enterococcus Faecium* and *E. Faecalis* in the Presence of Citrus Essential Oils. **British Journal of Biomedical Science**, v. 66, n. 4, p. 180–85, 2009.

FISHER, K.; PHILLIPS, C. The mechanism of action of a citrus oil blend against *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*. **Journal of applied microbiology**, v. 106, n. 4, p. 1343–1349, 2009.

FRANCO, J. D.; CAMARGO, A. R.; PERES, M. P. S. M. ental care in the COVID-19 era: recommendations for dental procedures and professionals. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões-Dentistas**, v. 74, n. 1, p. 18-21, 2020.

FREIRE, J. C. P. *et al.* Atividade antimicrobiana e efeitos do Citral em espécies causadoras de doenças bucais: revisão de literatura. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 5, p. 1-10, 2022.

GANJEWALA, D.; LUTHRA, R. Essential Oil Biosynthesis and Regulation in the Genus *Cymbopogon*. **Natural Product Communications**, v. 5, n. 1, p. 163-172, 2010.

GERACI, A. *et al.* Essential oil components of orange peels and antimicrobial activity. **Natural Product Research**, v. 31, n. 6, p. 653–659, 2017.

GIARD, J. C. *et al.* Starvation-induced multiresistance in *Enterococcus faecalis* JH2-2. **Current microbiology**, v. 32, n. 5, p. 264-71, 1996.

GILMORE, M. S. *et al.* Genes Contributing to the Unique Biology and Intrinsic Antibiotic Resistance of *Enterococcus faecalis*. **Mbio**, v. 11, n. 6, p. 20-29, 2020.

GOMES, E. C.; NEGRELLE, R. R. B. *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf: Aspectos botânicos e ecológicos. **Visão Acadêmica**, v. 4, n. 2, p. 137-144, 2003.

GOMES, Marcos de Souza. **Atividades biológicas dos óleos essenciais de três espécies do gênero citrus e de seus componentes majoritários**. 2014. Tese (Doutorado em Agroquímica) - Faculdade de Agroquímica, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

GONZALES, P. J. S; IBERICO, M. A. C. Estudio in vitro del efecto de tres solventes comerciales sobre conos de gutapercha utilizados para técnica en frío y termoplastificada. **Revista Científica Odontológica**, v. 10, n. 2, p. 1-5, 2022.

GONZÁLEZ-MAS, M. C. *et al.* Volatile Compounds in Citrus Essential Oils: A Comprehensive Review. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, n. 12, p. 1-35, 2019.

GOOD, M. L.; MC CAMMON, A. Removal of gutta-percha and root canal sealer: a literature review and an audit comparing current practice in dental schools. **Dental Update**, v. 39, n. 10, p. 703-708, 2012.

GRICE, I. D.; ROGERS, K. L.; GRIFFITHS, L. R. Isolation of Bioactive Compounds That Relate to the Anti-Platelet Activity of *Cymbopogon ambiguus*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, p. 1–8, 2011.

GUIOTTI, A. M. *et al.* Comparison of conventional and plant-extract disinfectant solutions on the hardness and color stability of a maxillofacial elastomer after artificial aging. **The Journal of Prosthetic Dentistry**, v. 115, n. 4, p. 501–508, 2016.

GULATI, M.; NOBILE, C. J. *Candida albicans* biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. **Microbes and Infection**, v. 18, n. 5, p. 310–321, 2016.

HALLIWELL, B.; WHITEMAN, M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean?. **British Journal of Pharmacology**, v. 142, n. 2, p. 231–255, 2004.

HARGREAVES, Kenneth, M.; BERMAN, Louis, H. **Cohen caminhos da polpa**. 11ª edição: Elsevier, 2017.

HASHIM, G. M. *et al.* Biological activity of *Cymbopogon schoenanthus* essential oil. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 24, n. 7, p. 1458–1464, 2017.

HASSAN, S. A. *et al.* Coronavirus (COVID-19): a review of clinical features, diagnosis, and treatment. **Cureus**, v. 3, n. 12, p. 1-8, 2020.

HUTH, K. C. *et al.* Effectiveness of ozone against endodontopathogenic microorganisms in a root canal biofilm model. **International Endodontic Journal**, v. 42, n. 1, p. 3-13, 2009.

HWANG, J. I. *et al.* The Effectiveness of Endodontic Solvents to Remove Endodontic Sealers. **Military medicine**, v. 180, n. 3, p. 92-95, 2015.

IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans (2014). Trichloroethylene, tetrachloroethylene, and some other chlorinated agents. vol. 106. International agency for research on cancer, 2014.

IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans (1999). Some chemicals that cause tumours of the kidney or urinary bladder in rodents and some other substances. vol. 73. International agency for research on cancer, 1999.

IVOKE, N. *et al.* Effects of grapefruit (*Citrus paradisi* MACF) (Rutaceae) peel oil against developmental stages of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Southeast Asian Journal Medical Public Health**, v. 44, n. 6, p. 970-978, 2013.

JANTARAT, J.; MALHOTRA, W.; SUTIMUNTANAKUL, S. Efficacy of grapefruit, tangerine, lime, and lemon oils as solvents for softening gutta-percha in root canal retreatment procedures. **Journal of Investigative and Clinical Dentistry**, v.4, p. 60-63, 2013.

JHAJHARIA, K. *et al.* Biofilm in endodontics: a review. **Journal Of International Society Of Preventive And Community Dentistry**, v. 5, n. 1, p. 1-21, 2015.

JING, L. *et al.* Antifungal Activity of Citrus Essential Oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 14, p. 3011–3033, 2014.

JUMMES, B. *et al.* Antioxidant and antimicrobial poly- ϵ -caprolactone nanoparticles loaded with *Cymbopogon martinii* essential oil. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 23, 2020.

KACANIOVA, M. *et al.* The antioxidant and antimicrobial activity of essential oils against *Pseudomonas* spp. isolated from fish. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 25, n. 8, p. 1108–1116, 2017.

KADHIM, M. J.; SOSA, A. B.; HAMEED, I. H. Evaluation of anti-bacterial activity and bioactive chemical analysis of *Ocimum basilicum* using Fourier transform infrared (FT-IR) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) techniques. **Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy**, v. 8, n. 6, p. 127-146, 2016.

KADRI, M. *et al.* Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities from extracts of *Cymbopogon schoenanthus* L. (Spreng) of Algeria. **International Journal of Biosciences**, v. 10, n. 1, p. 318-326, 2017.

KARAMIFAR, K.; TONDARI, A.; SAGHIRI, M. A Endodontic Periapical Lesion: an overview on etiology, diagnosis and current treatment modalities. **European Endodontic Journal**, v. 2, n. 5, p. 54-67, 2020.

KARATAS, E. *et al.* The effect of chloroform, orange oil and eucalyptol on root canal transportation in endodontic retreatment. **Australian Endodontic Journal**, v. 42, n. 1, p. 37-40, 2016.

KARLSEN, A. *et al.* Effects of a daily intake of one glass of red wine on biomarkers of antioxidant status, oxidative stress and inflammation in healthy adults. **The European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism**, v. 2, n. 6, p. 127-133, 2007.

KATIKI, L. M. *et al.* Anthelmintic activity of *Cymbopogon martinii*, *Cymbopogon schoenanthus* and *Mentha piperita* essential oils evaluated in four different in vitro tests. **Veterinary Parasitology**, v. 183, n. 1, p. 103–108, 2011.

KAUR, A. *et al.* Biotoxicity of commonly used root canal sealers: a meta-analysis. **Journal Of Conservative Dentistry**, v. 18, n. 2, p. 83, 2015.

KAVIYA, S. *et al.* Biosynthesis of silver nanoparticles using citrus sinensis peel extract and its antibacterial activity. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 79, n. 3, p. 594–598, 2011.

KLIMEK-SZCZYKUTOWICZ, M.; SZOPA, A.; EKIERT, H. Citrus limon (Lemon) Phenomenon—A Review of the Chemistry, Pharmacological Properties, Applications in the Modern Pharmaceutical, Food, and Cosmetics Industries, and Biotechnological Studies. **Plants (Basel)**, v. 9, n. 1, p. 119, 2020.

KUMAR, M. S.; GURUNATHAN, D. Lemongrass in dental health. **Drug Invention Today**, v. 11, n. 3, p. 780-785, 2019.

LASH, L. H. Environmental and Genetic Factors Influencing Kidney Toxicity. **Seminars In Nephrology**, v. 39, n. 2, p. 132-140, 2019.

LASKAR, A. A. *et al.* Citral Inhibition of Human Salivary Aldehyde Dehydrogenase. **Cell Biochemistry and Biophysics**, v. 78, n. 1, p. 31-42, 2020.

LAWRENCE, K. *et al.* Antioxidant activity of Palmarosa essential oil (*Cymbopogon martini*) grown in north Indian plains. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, n. 2, p. 888–891, 2012.

LEE, C.; SONG, M. Failure of Regenerative Endodontic Procedures: case analysis and subsequent treatment options. **Journal Of Endodontics**, v. 48, n. 9, p. 1137-1145, 2022.

LEHRNER, J. *et al.* Ambient odor of orange in a dental office reduces anxiety and improves mood in female patients. **Physiology & Behavior**, v. 71, n. 2, p. 83–86, 2000.

LI, C. *et al.* Variation in Compositions and Biological Activities of Essential Oils from Four Citrus Species: citrus limon, citrus sinensis, citrus paradisi, and citrus reticulata. **Chemistry & Biodiversity**, v. 19, n. 4, p. 1-3, 2022.

LIMA, Patrícia Michelle Nagai. **Efeitos sinérgicos antimicrobianos da combinação dos óleos essenciais de gerânio e lemongrass sobre streptococcus mutans, staphylococcus aureus e candida spp.** 2022. Dissertação (Mestrado em Ciências Aplicadas à saúde bucal) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José dos Campos, 2022.

LIMONGI, O. *et al.* O desempenho dos solventes óleo de laranja e eucaliptol. **Revista Gaúcha de Odontologia**, v. 53, n. 4, p. 341-345, 2004.

LIN, S. Y. *et al.* Volatile Organic Components of Fresh Leaves as Indicators of Indigenous and Cultivated Citrus Species in Taiwan. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 74, n. 4, p. 1-6, 2010.

LOBO, V. *et al.* Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. **Pharmacognosy Reviews**, v. 4, n. 8, p. 118, 2010.

LOPES, Hélio Pereira; SIQUEIRA JR., José Freitas. **Endodontia: Biologia e técnica**. 4ª edição. São Paulo: Elsevier Brasil, 2015.

LUO, Y. *et al.* Using Collaborative Cross Mouse Population to Fill Data Gaps in Risk Assessment: a case study of population-based analysis of toxicokinetics and kidney toxicodynamics of tetrachloroethylene. **Environmental Health Perspectives**, v. 127, n. 6, p. 1-10, 2019.

LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Potencial antioxidante de extratos de sementes de limão (Citrus limon). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 2, p. 489–493, 2010.

MAGALHÃES, B. S. *et al.* Dissolving efficacy of some organic solvents on gutta-percha. **Brazilian Oral Research**, v. 21, n. 4, p. 303-307, 2007.

MALTI, C. E. W. *et al.* Composition, Chemical Variability and Biological Activity of Cymbopogon schoenanthus Essential Oil from Central Algeria. **Chemistry & Biodiversity**, v. 17, n. 6, p. 1-13, 2020.

MANFREDI, M. *et al.* Single versus multiple visits for endodontic treatment of permanent teeth. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, v. 2016, n. 12, p. 1-72, 2016.

MANIGLIA-FERREIRA, C. *et al.* Analysis of gutta-percha's root canal filling capacity through three different obturation techniques. **Revista sul-brasileira de Odontologia**, v. 8, n. 1, p. 19-26, 2011.

MANIGLIA-FERREIRA, C. *et al.* Brazilian gutta-percha points. Part I: chemical composition and X-ray diffraction analysis. **Brazilian oral research**, v. 19, n. 3, p. 193-197, 2005.

MARINKOVIC, J. *et al.* Antimicrobial potential of irrigants based on essential oils of Cymbopogon martinii and Thymus zygis towards in vitro multispecies biofilm cultured in ex vivo root canals. **Archives of Oral Biology**, v. 117, p. 104842, 2022.

MARTÍNEZ-PABÓN, M. C.; ORTEGA-CUADROS, M. Thymol, menthol and eucalyptol as agents for microbiological control in the oral cavity: a scoping review. **Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas**, v. 49, n. 1, p. 1-16, 2020.

MARTINS, G. D. S. O. *et al.* Chemical composition and toxicity of citrus essential oils on dysmicoccus brevipes (hemiptera: pseudococcidae). **Revista Caatinga**, v. 30, p. 811–817, 2017.

MARTINS, H. B. *et al.* Anti-inflammatory activity of the essential oil citral in experimental infection with Staphylococcus aureus in a model air pouch. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, n. 1, p. 1–10, 2017.

MAURO, M. *et al.* Abnormal mitotic spindle assembly and cytokinesis induced by D-Limonene in cultured mammalian cells. **Mutagenesis**, v. 28, n. 6, p. 631–635, 2013.

- MERGONI, G. *et al.* Prevalence of Candida Species in Endodontic Infections: systematic review and meta-analysis. **Journal of Endodontics**, v. 44, n. 11, p. 1616-1625, 2018.
- MOOSAVY, M. H. *et al.* Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of lemon (Citrus limon) peel in vitro and in a food model. **Journal of Food Quality and Hazards Control**, v. 4, n. 1, p. 42-48, 2017.
- MORAIS, C. A. H. D. *et al.* Avaliação de substâncias químicas utilizadas como solventes no retratamento endodôntico. **Dental Press Endodontics**, v. 7, n. 3, p. 62-65, 2017.
- MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, n. 1, p. 55-63, 1983.
- MUHLEN, C. V. Índices de retenção em cromatografia gasosa bidimensional abrangente. **Scientia Chromatographica**, v. 1, n. 3, p. 21-29, 2009.
- MUÑOZ, J. E. *et al.* In Vitro and In Vivo Inhibitory Activity of Limonene against Different Isolates of Candida spp. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 3, p. 183, 2020.
- NABAVIZADEH, M. *et al.* Chemical constituent and antimicrobial effect of essential oil from Myrtus communis leaves on microorganisms involved in persistent endodontic Infection compared to two common endodontic irrigants: An in vitro study. **Journal of conservative dentistry**, v. 17, n. 5, p. 449-453, 2014.
- NABESHIMA, C. K. *et al.* Effectiveness of different chemical agents for disinfection of gutta-percha cones: Disinfection of gutta-percha cones. **Australian Endodontic Journal**, v. 37, n. 3, p. 118–121, 2011.
- NAGAI, K. *et al.* Olfactory stimulatory with grapefruit and lavender oils change autonomic nerve activity and physiological function. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, v. 185, n. 1, p. 29–35, 2014.
- NAJAR, B. *et al.* Chemical Composition and in Vitro Cytotoxic Screening of Sixteen Commercial Essential Oils on Five Cancer Cell Lines. **Chemistry & Biodiversity**, v. 17, n. 1, 2020.
- NARAYANAN, L.; VAISHNAVI, C. Endodontic microbiology. **Journal Of Conservative Dentistry**, v. 13, n. 4, p. 233, 2010.
- NASCIMENTO, P. F. C. *et al.* Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 108-113, 2007.
- NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, Approved Standard--Eighth Edition. NCCLS document M2-A8 (ISBN 1-56238- 485-6). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087 - 1898 USA, 2003.
- O'BRYAN, C. A. *et al.* Orange Essential Oils Antimicrobial Activities against Salmonella spp. **Journal Of Food Science**, v. 73, n. 6, p. 264-267, 2008.
- OKUNOWO, W. O. *et al.* Essential Oil of Grape Fruit (Citrus paradisi) Peels and Its Antimicrobial Activities. **American Journal of Plant Sciences**, v. 4, n. 1, p. 1-9, 2013.

OLIVEIRA, L. *et al.* Estudo da atividade antioxidante do extrato bruto hidroalcoólico do capim-cidreira (*Cymbopogon citratus*) pelo método dp_{ph}. **Enciclopédia Biosfera**, v. 16, n. 29, p. 2034–2042, 2019.

OLIVEIRA, M. M. M. *et al.* Rendimento, composição química e atividade antilisterial de óleos essenciais de espécies de *Cymbopogon*. **Revista Brasileira de plantas medicinais**, v. 13, n. 1, p. 8-16, 2011.

OLIVEIRA, S.; MORAES, P. C. A. Desenvolvimento de uma emulsão o/a associada ao óleo essencial de gerânio (*Pelargonium graveolens*) e ao óleo essencial de palmarosa (*Cymbopogon martinii*). **Brazilian Journal of Natural Sciences**, v. 2, n. 3, p. 127, 2019.

OU, M.C. *et al.* The Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities of Cold-Pressed and Distilled Essential Oils of *Citrus paradisi* and *Citrus grandis* (L.) Osbeck. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, n.1, p. 1–9, 2015.

OYAMA, K. O. N.; SIQUEIRA, E. L.; SANTOS, M. In Vitro Study of Effect of Solvent on Root Canal Retreatment. **Brazilian Dental Journal**, v. 13, n. 3, p. 208-211, 2002.

OYEDEJI, A. O. *et al.* Insecticidal and biochemical activity of essential oil from *Citrus sinensis* peel and constituents on *Callosobruchus maculatus* and *Sitophilus zeamais*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 168, p. 1043-1046, 2020.

PACE, Pierfrancesco. **Desinfecção dos cones de gutta-percha: revisão da literature**. 2021. Dissertação (Mestrado em Medicina Dentária) - Faculdade de Medicina dentária, Universidade católica Portuguesa, Viseu, 2021.

PANT, C. C. *et al.* Composition and antibacterial activity of essential oil from *Scutellaria grossa* Wall ex Benth. **Natural Product Research**, v. 26, n. 2, p. 190-1922, 2012.

PAPP, N. *et al.* Traditional uses of medicinal plants for respiratory diseases in Transylvania. **Natural Product Comumunications**, v. 6, n. 10, p. 1459-1460, 2011.

PATEL, S.; BARNES, J. J. Contemporary endodontics – part 2. **British Dental Journal**, v. 211, n. 11, p. 517-524, 2011.

PÉCORA, J. D.; SPANÓ, J. C. E.; BARBIN, E. L. Estudo "in vitro" sobre o amolecimento de cones de guta-percha no re-tratamento endodôntico. **Brazilian Dental Journal**, v. 4, n.1, p. 43-47, 1993.

PELLICANO, S. V. *et al.* Physical chemical properties and antioxidant capacities of grapefruit juice (*Citrus paradisi*) extracted from two different varieties. **International Food Research Journal**, v. 25, n. 5, p.1978-1984, 2018.

PERUCHI, C. T. R. *et al.* Eficácia dos solventes no retratamento endodôntico de obturações realizadas com resilon/epiphany. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas**, v. 67, n. 1, p. 70-74, 2013.

PIASECKI, B. *et al.* Composition, Anti-MRSA Activity and Toxicity of Essential Oils from *Cymbopogon* Species. **Molecules**, v. 26, n. 24, p. 7542-7558, 2021.

PINHEIRO, E. T. *et al.* Evaluation of root canal microorganisms isolated from teeth with endodontic failure and their antimicrobial susceptibility. **Oral Microbiology And Immunology**, v. 18, n. 2, p. 100-103, 2003.

- PRADA, I. *et al.* Influence of microbiology on endodontic failure. Literature review. **Medicina Oral Patología Oral y Cirugía Bucal**, v. 24, n. 3, p. 364-372, 2019.
- PRASHAR, A. *et al.* Antimicrobial action of palmarosa oil (*Cymbopogon martinii*) on *Saccharomyces cerevisiae*. **Phytochemistry**, v. 63, n. 5, p. 569–575, 2003.
- RAMESH, S.; KEERTHANA, T. Antibacterial Efficacy of *Citrus sinensis* (Sweet Orange) against *Enterococcus faecalis*-An In vitro Study. **Annals of Medical and Health Sciences Research**, v. 11, n. 2, p. 127-131, 2021.
- RAMOS, T. I. F.; CÂMARA, A. C.; AGUIAR, C. M. Evaluation of Capacity of Essential Oils in Dissolving ProTaper Universal Gutta-Percha points. **Acta stomatol Croat**, v. 50, n. 1, p. 128-133, 2016.
- RAMZI, H. *et al.* Efficacy of Three Different Methods in the Retreatment of Root Canals Filled with Resilon/Epiphany SE. **Iranian Endodontic Journal**, v. 5, n. 4, p. 161–166, 2010.
- RAUF, A.; UDDIN, G.; ALI, J. Phytochemical analysis and radical scavenging profile of juices of *Citrus sinensis*, *Citrus anrantifolia*, and *Citrus limonum*. **Organic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 4, n. 1, p. 5, 2014.
- RICUCCI, D.; SIQUEIRA JR., J. F. Recurrent apical periodontitis and late endodontic treatment failure related to coronal leakage: a case report. **International Endodontic Journal**, v. 37, n. 8, p. 1171-1175, 2011.
- RICUCCI, D.; SIQUEIRA, J. F. Biofilms and Apical Periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. **Journal of Endodontics**, v. 36, n. 8, p. 1277-1288, 2010.
- RÔÇAS, I. N. *et al.* Polymerase chain reaction identification of microorganisms in previously root-filled teeth in a South Korean population. **International Endodontic Journal**, v. 30, n. 7, p. 504-508, 2004.
- RUIZ-PÉREZ, N. J. *et al.* Antimycotic Activity and Genotoxic Evaluation of *Citrus sinensis* and *Citrus latifolia* Essential Oils. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, 2016.
- SALEEM, M.; SAEED, M. T. Potential application of waste fruit peels (orange, yellow lemon and banana) as wide range natural antimicrobial agent. **Journal of King Saud University Science**, v. 32, n. 1, p. 805–810, 2020.
- SALEHRAB, R.; ROTSTEIN, L. Epidemiologic evaluation of the outcomes of orthograde endodontic retreatment. **International Endodontic Journal**, v. 36, p. 790-792, 2010.
- SANTOS, A. E. Importância química e biológica dos óleos voláteis de espécies do gênero *Eucalyptus*. **Scientia Naturalis**, v. 3, n. 1, p. 370-383, 2021.
- SAWADOGO, I. *et al.* Antifungal and Antiaflatoxinogenic Effects of *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, and *Cymbopogon schoenanthus* Essential Oils Alone and in Combination. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 2, p. 117-137, 2022.
- SCHAFER, E.; ZANDBIGLARI T. A comparison of the effectiveness of chloroform and eucalyptus oil in dissolving root canal sealers. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology and endodontics**, v. 93, n. 61, p. 1-6, 2002.

SCHMIDT, M. H. M. *et al.* Effectiveness of different auxiliary chemical substances in the rapid disinfection of gutta-percha points - an in vitro study. **Revista da Faculdade de Odontologia - Upf**, v. 20, n. 1, p. 64-68, 2015.

SEDGLEY, C. M. *et al.* Virulence, phenotype and genotype characteristics of endodontic *Enterococcus* spp. **Oral Microbiology and Immunology**, v. 20, n. 1, p. 10-9, 2006.

SHARMA, K. *et al.* Converting citrus wastes into value-added products: Economic and environmentally friendly approaches. **Nutrition**, v. 34, p. 29-46, 2017.

SHARMA, R. *et al.* Therapeutic Potential of Citronella Essential Oil: A Review. **Current Drug Discovery Technologies**, v. 16, n. 4, p. 330–339, 2019.

SHI, C. *et al.* Antimicrobial Activity and Possible Mechanism of Action of Citral against *Cronobacter sakazakii*. **PLOS ONE**, v. 11, n. 7, 2016.

SIDDIQUE, R. *et al.* Clinical Quantitative Antibacterial Potency of Garlic-Lemon Against Sodium Hypochlorite in Infected Root Canals: A Double-blinded, Randomized, Controlled Clinical Trial. **Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry**, v. 10, n. 6, p. 771–778, 2020.

SIGNOR, B. *et al.* Root canal retreatment: a retrospective investigation using regression and data mining methods for the prediction of technical quality and periapical healing. **Journal Of Applied Oral Science**, v. 29, n. 1, p. 1-14, 2021.

SILVA, Kimberly Stefanny da. **Composição química, avaliação antidepressiva e antioxidante do óleo essencial de Citrus sinensis (laranja doce)**. Dissertação (Mestrado em Produtos naturais e sintéticos bioativos) – Centro de ciências em saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2021.

SILVA, Renata Alexandre Ramos da. **Atividade sinérgica do citral em associação com antimicrobianos convencionais frente à *Enterococcus faecalis* multirresistentes**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2014.

SINGH, P. *et al.* Chemical profile, antifungal, antiaflatoxic and antioxidant activity of *Citrus maxima* Burm. and *Citrus sinensis* (L.) Osbeck essential oils and their cyclic monoterpene, dl-limonene. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 6, p. 1734-1740, 2010.

SINHA, S. *et al.* Evaluation of toxicity of essential oils palmarosa, citronella, lemongrass and vetiver in human lymphocytes. **Food and Chemical Toxicology**, v. 68, p. 71–77, 2014.

SIQUEIRA JR, J. F.; BILGE, H. S. Fungi in endodontic infections. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology and endodontics**, v. 97, n. 1, p. 632-641, 2004.

SIQUEIRA JR, J. F.; RÔÇAS, I. N. Present status and future directions: microbiology of endodontic infections. **International Endodontic Journal**, v. 55, n. 3, p. 512-530, 2022.

SIQUEIRA JR., J. F. A etiology of root canal treatment failure: Why well-treated teeth can fail. **International Endodontic Journal**, v. 34, n. 1, p. 1-10, 2001.

SIQUEIRA JR., J. F. Fungi in endodontic infections. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology and endodontics**, v. 97, n. 5, p. 632-641, 2004.

SIQUEIRA JR., J. F., JR., RÔÇAS, I. N. Polymerase chain reaction-based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology and endodontics**, v. 97, n. 1, p. 85-94, 2004.

SIQUEIRA JR., J. F.; RÔÇAS, I. N. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. **International Endodontic Journal**, v. 34, n. 11, p. 1291-1301, 2008.

SIQUEIRA JR., J. F.; RÔÇAS, I. N. Distinctive features of the microbiota associated with different forms of apical periodontitis. **Journal of Oral Microbiology**, v. 10, n. 1, p. 1-12, 2009.

SIQUEIRA JR., J. F.; RÔÇAS, I. N. Present status and future directions in endodontic microbiology. **Endodontic Topics**, v. 30, n. 1, p. 3-22, 2014.

SLONGO, P. L. *et al.* Avaliação por Microscopia Eletrônica de Varredura da Remoção de Guta-Percha dos Canais Radiculares Durante o Retratamento Endodôntico. **Journal of Oral Investigations**, v. 5, n. 1, p. 19–26, 2016.

SOUSA, E. M. B. D. *et al.* Evaluation of the extraction process of the essential oil from *Cymbopogon schoenanthus* with pressurized carbon dioxide. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 48, n. 1, p. 231–236, 2005.

SPANÓ, J. C. E. *et al.* Eficácia dos óleos essenciais na desobturação dos canais radiculares. **Revista Odontológica do Brasil central**, v. 5, n. 14, p. 25-2, 1995.

SREEJAYAN, N.; RAO, M. N. Free radical scavenging activity of curcuminoids. **Drug research (Arzneimittelforschung)**, v. 46, p. 169–171, 1996.

SUN, J. D. D-Limonene: Safety and clinical applications. **Alternative Medicine Review**, v. 12, n. 1, p. 259-264, 2007.

TABASSUM, S.; KHAN, F. R. Failure of endodontic treatment: the usual suspects. **European Journal Of Dentistry**, v. 10, n. 01, p. 144-147, jan. 2016.

THAKRE, A. *et al.* Limonene inhibits *Candida albicans* growth by inducing apoptosis. **Medical Mycology**, v. 56, n. 5, p. 565–578, 2018.

TORABINEJAD, M. *et al.* Outcomes of Nonsurgical Retreatment and Endodontic Surgery: a systematic review. **Journal Of Endodontics**, v. 35, n. 7, p. 930-937, 2009.

TRINDADE, Leonardo Antunes. **Avaliação da atividade biológica do óleo essencial de *cymbopogon nardus* (L.) rendle e do fitoconstituente citronelal sobre *Candida albicans***. 2021. Tese (Doutorado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2021.

TROVATO, A. *et al.* In vitro anti-mycotic activity of some medicinal plants containing flavonoids. **Bollettino Chimico Farmaceutico**, v. 139, n. 5, p. 225–227, 2000.

TURK, B. T.; SEN, B. H.; OZTURK, T. In vitro antimicrobial activity of calcium hydroxide mixed with different vehicles against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. **Oral**

surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology and endodontics, v. 108, n. 1, p. 297-301, 2009.

VAJRABHAYA, L. *et al.* Cytotoxicity evaluation of gutta-percha solvents: Chloroform and GP-Solvent (limonene). **Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology and endodontics**, v. 98, n. 6, p. 756-759, 2004.

VERMA, P.; TORDIK, P.; NOSRAT, A. Hazards of Improper Dispensary: Literature Review and Report of an Accidental Chloroform Injection. **Journal of Endodontics**, v. 44, n. 6, p. 1042–1047, 2018.

VILLA-RUANO, N. *et al.* Volatile profiling, insecticidal, antibacterial and antiproliferative properties of the leaf essential oil of *Bursera glabrifolia*. **Chemical Biodiversity**, v. 15, n.11, p.1-13, 2018.

VILLAS BOAS, Marcelo Haas. **Análise das propriedades químicas, biológicas e antimicrobianas de solventes endodônticos**. 2015. Tese (Doutorado em Ciências Odontológicas aplicadas) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade Federal de São Paulo, Bauru, 2015.

VIRDEE, S. S.; THOMAS, M. B. M. A practitioner's guide to gutta-percha removal during endodontic retreatment. **British Dental Journal**, v. 222, n. 4, p. 251-257, 2017.

VISHWANATH, V.; RAO, H. Gutta-percha in endodontics - A comprehensive review of material science. **Journal Of Conservative Dentistry**, v. 22, n. 3, p. 216-222, 2019.

VITALI, Filipe Colombo. **Eficácia do hipoclorito de sódio com surfactante na desinfecção de cones de gutta-percha e análise de alterações superficiais em MEV**. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.

VIUDA-MARTOS, M. *et al.* Antifungal activity of lemon (*Citrus limon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. **Food Control**, v. 19, n. 2, p. 1130-1138, 2008.

WANG, L.; LI, X.; CHEN, C. 3-methyadenine attenuates chloroform-induced hepatotoxicity via autophagy activation. **Biomedical Research**, v. 39, n. 2, p. 87–94, 2018.

WENNERBERG, A.; ORSTAVIK, D. Evaluation of alternatives to chloroform in endodontic practice. **Endodontics and dental traumatology**, v. 5, n. 5, p. 234-237, 1989.

WOLFFENBÜTTEL. *et al.* Chemical Components of Citrus Essential Oils from Brazil. **The Natural Products Journal**, v. 5, n. 1, p. 14-27, 2014.

WOURMS, D. J. *et al.* Alternative solvents to chloroform for gutta-percha removal. **Journal of Endodontics**, v. 16, n. 5, p. 224-226, 1990.

WRIGHT, S. C.; MAREE, J. E.; SIBANYONI, M. Treatment of oral thrush in HIV/AIDS patients with lemon juice and lemon grass (*Cymbopogon citratus*) and gentian violet. **Phytomedicine**, v. 16, n. 2, p. 118-124, 2009.

YAGI, S. *et al.* Chemical composition, antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities of essential oils from aromatic plants growing in Sudan. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 9, n. 8, p. 763–770, 2016.

YANG, S. A. *et al.* Comparative study of the chemical composition and antioxidant activity of six essential oils and their components. **Natural Product Research**, v. 24, n. 2, p. 140-151, 2010.

YOO, Y. J. *et al.* Candida albicans Virulence Factors and Pathogenicity for Endodontic Infections. **Microorganisms**, v. 8, n. 9, p. 1300-1318, 2020.

YU, L.; YAN, J.; SUN, Z. D-limonene exhibits anti-inflammatory and antioxidant properties in an ulcerative colitis rat model via regulation of iNOS, COX-2, PGE2 and ERK signaling pathways. **Molecular Medicine Reports**, v. 15, n. 4, p. 2339–2346, 2017.

ZANGANEH, H. *et al.* Evaluation of the chemical and antibacterial properties of Citrus paradise essential oil and its application in Lallelantia iberica seed mucilage edible coating to improve the physicochemical, microbiological and sensory properties of lamb during refrigerated storage. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 15, n. 6, p. 5556-5571, 2021.

ZUBIZARRETA-MACHO, A. *et al.* Endodontic re-treatment and restorative treatment of a dens invaginatus type II through new technologies. **Journal of Clinical and Experimental Dentistry**, v. 11, n. 6, p. 570-576, 2019.