

## *Investigation the Effect of Environmental Factors on the Sodium Hypochlorite Solution Stability as Disinfection of Environmental Surfaces*

Mohammad Ali Zazouli<sup>1,2</sup>

Yalda Hashempour<sup>3</sup>

Nafiseh Dashtban<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Professor, Department of Environmental Health Engineering, Health Sciences research center, Faculty of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>2</sup> The Health of Plant and Livestock Products Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>3</sup> Assistant Professor, Department of Environmental Health Engineering, Faculty of Health, Health Sciences Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>4</sup> MSc in Environmental Health Engineering, Student Research Committee, Faculty of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received May 8, 2023; Accepted October 21, 2023)

### **Abstract**

**Background and purpose:** Considering that chlorine disinfectants are one of the most common disinfectants for disinfecting water and wastewater, hospital environments, etc., and there are questions about the stability of chlorine in solutions and on surfaces. So, the purpose of this study is to investigate the effect of environmental factors on the stability of sodium hypochlorite solutions stored in different conditions.

**Materials and methods:** In this study, sodium hypochlorite solution was used for solution preparation. According to the number of parameters and based on the design of the experiment (DoE) and the response surface modeling (RSM) using the Box-Benken design (BBD), 29 experiments were performed. The solutions were stored in opaque plastic bottles covered with aluminum foil. The stability of solution in concentration of 0.05, 0.5 and 1% with the pHs of 5, 7.5 and 10 stored at 4, 25 and at 45°C, and the storage time of 15, 30, and 60 days was examined. The residual chlorine concentration was determined by the iodometric method according to the standard method.

**Results:** The results of this study showed that the chlorine stability decreases with increasing concentration of chlorine solution, increasing temperature and storage time. Solutions with neutral pH (7.5) showed less stability than acidic and alkaline solutions. Based on the experimental design and RSM using BBD, the linear effect of the temperature, pH, initial concentration and time was significant ( $P < 0.05$ ). There was a negative correlation between the amount of available chlorine and time.

**Conclusion:** This study showed that different storage conditions of sodium hypochlorite solution strongly affect the stability of its chlorine, so it is recommended to pay attention to these factors when using this solution for disinfection.

**Keywords:** disinfection, chlorine stability, environment disinfection, water and sewage disinfection, Sodium hypochlorite

**J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 33 (Supple 1): 274-286 (Persian).**

**Corresponding Author:** Nafiseh Dashtban- Faculty of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.  
(E-mail: nafisedashtban2019@gmail.com)

# بررسی تأثیر عوامل محیطی بر پایداری محلول هیپوکلریت سدیم به عنوان گندزدای سطوح محیطی

محمد علی ززولی<sup>1،2</sup>یلدا هاشم پور<sup>3</sup>نفیسه دشتبان<sup>4</sup>

## چکیده

**سابقه و هدف:** باتوجه به اینکه گندزدهای کلره یکی از گندزدهای رایج برای گندزدایی آب و فاضلاب، محیط های بیمارستانی و... هستند و پرسش هایی درباره ماندگاری کلر در محلول ها و سطوح مطرح است، هدف این تحقیق بررسی تأثیر عوامل محیطی بر پایداری محلول های هیپوکلریت سدیم نگهداری شده در شرایط مختلف است.

**مواد و روش ها:** در این تحقیق، از محلول هیپوکلریت سدیم برای محلول سازی استفاده شد. باتوجه به تعداد پارامترها و بر اساس طراحی آزمایش و مدل سازی سطح پاسخ با استفاده از طرح باکس بنکن، تعداد 29 آزمایش انجام شد. محلول ها در بطری های پلاستیکی مات که با فویل آلومینیومی پوشانده شده بودند، نگهداری شدند. پایداری محلول ها در غلظت های 0/05، 0/5، 1 درصد، با pH های 5، 7/5 و 10، در دمای 4، 25 و 45 درجه ی سانتی گراد و زمان نگهداری 0، 15، 30 و 60 روز بررسی شد. غلظت باقی مانده ی کلر به روش یدومتريک مطابق روش استاندارد تعیین شد.

**یافته ها:** نتایج این مطالعه نشان داد که با افزایش غلظت محلول کلر، افزایش دما و زمان نگهداری، پایداری کلر کاهش می یابد. محلول ها با pH خنثی، پایداری کم تری نسبت به محلول های اسیدی و قلیایی نشان دادند. بر اساس طراحی آزمایش و مدل سازی سطح پاسخ با استفاده از طراحی فاکتوریل باکس بنکن، تأثیر خطی ضرایب دما، pH، غلظت اولیه و زمان نگهداری معنی دار بود ( $P>0/05$ ). بین مقدار کلر موجود و زمان هم بستگی منفی وجود داشت.

**استنتاج:** این مطالعه نشان داد که شرایط مختلف نگهداری محلول هیپوکلریت سدیم به شدت بر پایداری کلر تأثیر دارد؛ لذا توصیه می شود که هنگام کاربرد این ترکیب برای گندزدایی، به این عوامل توجه شود.

**واژه های کلیدی:** گندزدایی، پایداری کلر، گندزدایی محیط، گندزدایی آب و فاضلاب، هیپوکلریت سدیم

## مقدمه

ویژگی های گندزدایی و بوزدایی کلر برای اولین بار در آغاز قرن نوزدهم شناخته شد. از بین گندزدها، هیپوکلریت ها مفیدترین گندزدهای کلردار هستند، به طوری که محلول های غیر آلی هیپوکلریت گندزدهایی شیمیایی و ضروری هستند که به طور گسترده ای، وجود دارند (1،2). یون هیپوکلریت (OCl) به طور گسترده ای

E-mail: nafisedashtban2019@gmail.com

مؤلف مسئول: نفیسه دشتبان - ساری: 17 کیلومتر فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده بهداشت

1. استاد، گروه مهندسی بهداشت محیط، مرکز تحقیقات علوم بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

2. مرکز تحقیقات سلامت فرآورده های گیاهی و دامی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

3. استادیار، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، مرکز تحقیقات علوم بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

4. کارشناس ارشد مهندسی بهداشت محیط، کمیته ی تحقیقات دانشجویی، دانشکده ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: 1402/2/18 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1402/3/22 تاریخ تصویب: 1402/7/29

برای گندزدایی آب استفاده می‌شود.

سه منبع صنعتی رایج یون هیپوکلریت گاز کلر، محلول‌های هیپوکلریت سدیم (NaOCl) و فرمولاسیون جامد هیپوکلریت کلسیم ( $\text{Ca(OCl)}_2$ ) هستند (4,3). از سفیدکننده‌ی مایع (هیپوکلریت سدیم) که با نام سفیدکننده‌ی خانگی نیز شناخته می‌شود، در حدود دهه 1930، استفاده گسترده شد و امروزه، بیش‌ترین استفاده را در بین سفیدکننده‌های کلردار دارد. هیپوکلریت سدیم نوعی ماده گندزدای عالی است که در غلظت‌های مختلف (5 تا 5/25 درصد تجاری) موجود است و از آن در منازل و اماکن تجاری، در کلینیک‌ها و بیمارستان‌ها، در صنعت و خدمات بهداشتی درمانی برای گندزدایی از سطوح مختلف آشپزخانه و حمام و در صنایع تصفیه‌ی آب و فاضلاب به‌عنوان ماده گندزدای اصلی استفاده می‌شود (5,6). هیپوکلریت سدیم بازی قوی با pH حدود 11 است. خصوصیات آن را می‌توان با مقدار کلر فعال موجود ارزیابی کرد. غلظت محلول‌های NaOCl برای تضمین اثرهای ضد میکروبی و حلالیت آن‌ها باید کافی باشد (7). کلر موجود در محلول NaOCl با توجه به pH، چندین شکل شیمیایی دارد:  $\text{Cl}_2$  شکل اسیدی، HOCl شکل خنثی و  $\text{ClO}^-$  شکل قلیایی آن است (8). امروزه، با اصلاح روش لاباراک، با ترکیب یک واحد کلر عنصری ( $\text{Cl}_2$ ) با دو واحد هیدروکسید سدیم، هیپوکلریت سدیم (NaOCl)، کلرید سدیم (NaCl) و آب ( $\text{H}_2\text{O}$ ) تولید می‌شود (9,10).



هیپوکلریت سدیم (NaOCl) بدون آب نمی‌تواند وجود داشته باشد. تلاش برای تبخیر آب از محلول‌های هیپوکلریت سدیم به تجزیه‌ی آن به کلرات سدیم، کلرید سدیم و آب تبخیر شده منجر می‌شود. هیپوکلریت سدیم باید در محلول آبی تولید شود که از نظر شیمیایی، پایدار است. این ماده در محلول آبی نگهداری می‌شود. هیپوکلریت سدیم در طول زمان، به آرامی،

تجزیه می‌شود و کلرید سدیم، کلرات سدیم و اکسیژن تشکیل می‌دهد. فرایند تجزیه باعث کاهش محتوای کلر موجود و تولید محصولات جانبی نامطلوب می‌شود. به‌طور کلی، واکنش آهسته است و طی روزها و هفته‌ها، در شرایط محیطی، رخ می‌دهد. pH هیپوکلریت سدیم موضوعی حساس و عاملی مهم در پایداری آن است (9). محلول‌های NaOCl ذاتاً ناپایدار هستند. اگرچه NaOCl مزایای بسیاری دارد، بی‌ثباتی شیمیایی از معایب مهم این محلول است (1). بی‌ثباتی شیمیایی آن‌ها که با قرار گرفتن در معرض گرما، نور و هوا افزایش می‌یابد، می‌تواند بحرانی تلقی شود که نشان‌دهنده‌ی کاهش ماندگاری NaOCl است. علاوه بر این، NaOCl دارای کشش سطحی نسبتاً بالایی است (7). خصوصیات شیمیایی مانند غلظت کلر، pH و خصوصیات فعال سطح ممکن است با اثر احتمالی بعدی بر درجه تاثیر آن، در طی زمان، تغییر کند. به‌عنوان مثال، تجزیه خودبه‌خود گونه‌های کلر به از دست دادن کلر آزاد موجود و بنابراین، فعالیت ضد میکروبی منجر می‌شود. pH محلول‌های حاوی کلر بر پایداری کلی آن‌ها تأثیر می‌گذارد (2). محلول‌های کلر به دنبال واکنش بسیار وابسته و به‌طور غیرمعمولی حساس به pH، دما و غلظت تخریب می‌شوند (12). تولیدکنندگان حداقل از تاریخ انقضای دوساله برای محلول‌های NaOCl رقیق نشده‌ی پلمب‌شده استفاده می‌کنند (1). در خصوص پایداری شیمیایی محلول پس از باز شدن بطری‌ها، نگرانی‌هایی وجود دارد. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که پایداری محلول‌های NaOCl از دما، غلظت، نور، مواد آلی، هوا، وجود کاتالیزورها، pH و وجود دی‌اکسید کربن جو اثر می‌پذیرد (11, 13, 14). در مقابل، دما بر اثرهای حلالیت محلول‌های شست‌وشوی NaOCl تأثیر مثبت دارد (13). ماندگاری هیپوکلریت سدیم (NaOCl) محدود است. درصد غلظت NaOCl در محلول‌های آبی، به نسبت وزن در هر حجم کلر آزاد (FAC) که فرم اسید هیپوکلروس (HOCl) و فرم  $\text{OCl}^-$  کلر است، مربوط

می‌شود. NaOCl نمک سدیم HOCl است (14). محلول‌های هیپوکلریت سدیم اگر به‌درستی ذخیره شوند، ماندگاری خوبی دارند، ارزان هستند و از منابع بسیاری به‌راحتی، در دسترس قرار می‌گیرند (15). پیشنهاد کرده‌اند که محلول‌های کلر هنگام استفاده برای گندزدایی، به‌صورت روزانه تهیه شوند. با این حال، مطالعاتی نشان داده‌اند که تحت شرایط نگهداری متفاوت، محلول‌های کلر برای زمان طولانی پایدار هستند (7، 12، 14، 16، 17).

Pipkin و همکاران در سال 1995، به بررسی اثرهای دمای ذخیره‌سازی، غلظت و زمان بر ثبات شیمیایی سه مارک مختلف از مواد سفیدکننده خانگی تجاری به‌عنوان منبع NaOCl و مقایسه‌ی پایداری این مارک‌های تجاری پرداختند. همه‌ی گروه‌ها رابطه‌ی منفی بین تیتراژ کلر موجود و زمان را نشان دادند (1).

Iqbal و همکاران در سال 2016، ماندگاری محلول‌های کلر پیشنهادشده در پاسخ به بیماری ویروس ابولا را بررسی کردند. نتایج نشان داد که در دمای 25 تا 35 درجه‌ی سانتیگراد، حداکثر ماندگاری محلول‌های خنثی NaOCl (pH=7) چند ساعت، محلول‌های NaDCC (pH=6) دو روز، محلول‌های NaOCl تولیدشده (pH=9) شش روز و HTH و محلول‌های NaOCl تثبیت‌شده (Ph= 9-11) بیش‌تر از 30 روز است (12). به علت شیوع کووید در اسفندماه سال 1398، سازمان جهانی بهداشت برای عملیات گندزدایی سطوح بیمارستانی، اجساد، آمبولانس، لباس‌ها و محیط‌های آلوده، استفاده از هیپوکلریت‌ها از جمله هیپوکلریت سدیم را در غلظت‌های مختلف توصیه کرد. به علت تفاوت پایداری کروناویروس در محیط‌های مختلف و متأثر از عوامل مختلف، ضروری است که به نوع گندزدای انتخابی و شیوه‌ی گندزدایی توجه شود (18-20). در دوره شیوع کووید، یکی از سؤالات کارشناسان بهداشت محیط میزان پایداری گندزدهای هیپوکلریت بود؛ لذا، هدف این مطالعه تعیین تأثیر عوامل محیطی بر پایداری

محلول‌های هیپوکلریت سدیم نگهداری‌شده در شرایط مختلف محیطی است.

## مواد و روش‌ها

### آماده‌سازی محلول‌ها

محلول‌های کلر حاوی هیپوکلریت سدیم (NaOCl) در این مطالعه تجربی و توصیفی، با هدف بررسی تأثیر عوامل محیطی بر پایداری محلول‌های هیپوکلریت سدیم نگهداری‌شده در شرایط مختلف، با غلظت‌های مختلف (0/05، 0/5 و 1 درصد) توسط آب مقطر بدون کلر، تهیه شدند. مقادیر pH محلول‌ها 5، 7/5 و 10 در نظر گرفته شد. محلول‌ها در بطری‌های پلاستیکی مات که با فویل آلومینیمی کاملاً پوشانده شده بودند، از نور محافظت شدند. زیرا محلول‌های قلیایی حاوی هیدروکسیدسدیم، سطوح شیشه را حل می‌کنند. تمام بطری‌ها ابتدا کاملاً پر شدند تا فضای بین محلول و درپوش بطری به حداقل برسد و فقط هنگام نمونه‌گیری باز شدند. محلول‌ها در دمای 4 درجه‌ی سانتی‌گراد یخچال، 25 درجه‌ی سانتی‌گراد اتاق و 45 درجه‌ی سانتی‌گراد آون برای دوره‌های مختلف (15، 30 و 60 روز) نگهداری شدند و سپس، پایداری آن‌ها سنجیده شد.

### طراحی آزمایش

روش‌شناسی سطح پاسخ (Response Surface Methodology: RSM)، مجموعه‌ای از روش‌های ریاضی است که رابطه‌ی بین یک یا چند متغیر پاسخ را با چندین متغیر مستقل (مورد مطالعه) تعیین می‌کند. این روش را در سال 1951، باکس و ویلسون معرفی کردند و تا به امروز نیز از آن به‌عنوان یکی از ابزارهای طراحی آزمایش استفاده می‌شود. هرچند بسیاری این روش را نوعی شبه‌مدل می‌دانند، مطالعات زیادی این روش سطح پاسخ را روشی پذیرفتنی در مقایسه با روش‌های سنتی مدل‌سازی نشان داده‌اند (21، 22). در هر آزمایش، تغییرات در متغیرهای

بهینه برای متغیرهای مورد بررسی در میزان ناپایداری محلول‌های هیپوکلریت سدیم با حل کردن معادله رگرسیون و با آنالیز سطح - پاسخ پلات‌ها به دست آمد. نقطه هدف برای ناپایداری محلول‌ها جایی بود که کم‌ترین تغییر را در غلظت اولیه‌ی محلول‌ها داشت.

#### اندازه‌گیری pH

pH محلول‌ها با استفاده از هیدروکسید سدیم و اسیدسولفوریک به 5، 7/5 و 10 تنظیم شد. پس از اعمال شرایط نگهداری، pH با استفاده از pH متر دیجیتال در دمای 25 درجه‌ی سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد (EUTECH INSTRUMENTS, CyberScan pH 5500, Netherlands).

#### تخمین مقدار کلر موجود

درصد کلر موجود تمام محلول‌ها بلافاصله پس از آماده‌سازی و پس از دوره‌های مختلف (15، 30 و 60 روز)، با استفاده از روش اندازه‌گیری با تیتراسیون یدومتریک، طبق استاندارد ASTM D2022، اندازه‌گیری شد (24).

### یافته‌ها

جدول شماره 2 ماتریکس مدل Box-Behnken را نشان می‌دهد. از آن جایی که داده‌های حاصل از آزمایش‌ها نرمال نبود، برای نرمال کردن آن‌ها در نرم‌افزار design expert از گزینه transformation و در ادامه، از گزینه square root استفاده شد. اعداد پیش‌بینی‌شده برای درصد ناپایداری محلول‌ها با استفاده از مدل درجه دوم (نرم‌افزار Design Expert نسخه 7) به دست آمدند. جدول شماره 2 نشان می‌دهد که تغییرات چشمگیری در میزان ناپایداری محلول‌ها در دامنه‌های مختلف پارامترهای مورد بررسی مشاهده شده است. این داده‌ها با استفاده از روش آنالیز رگرسیونی چندمتغیره و بر اساس معادله شماره 2، آنالیز

ورودی به‌منظور تعیین علل تغییرات در متغیر پاسخ ایجاد می‌شوند (21). از این‌رو، در این مطالعه، از مدل آماری RSM برای ایجاد ارتباط بین فاکتورها یا متغیرهای مستقل و متغیر پاسخ استفاده شد. از بین سایر تکنیک‌های طراحی مبتنی بر RSM، BBD Box- Behnken Design، یکی از ابزارهای قوی و مؤثر آماری است (22، 23). در این پژوهش، برای طراحی آزمایش، از نرم‌افزار design expert مدل 7، 1، 3 و روش طراحی BBD استفاده شده است. از چهار فاکتور در سه سطح (پایین، متوسط و بالا به‌صورت -1، 0 و +1) برای مدل کردن میزان ناپایداری محلول‌های هیپوکلریت سدیم استفاده شد. این چهار فاکتور دما (°C)، زمان ماند (روز)، pH و غلظت اولیه‌ی محلول‌ها (درصد) بودند که به ترتیب، به‌صورت  $X_1$ ،  $X_2$ ،  $X_3$  و  $X_4$  نشان داده شدند. میزان ناپایداری محلول‌ها (Y) متغیر پاسخ در نظر گرفته شد. طراحی کامل صورت گرفته با این نرم‌افزار شامل 29 آزمایش بود. چهار متغیر مستقل در جدول شماره 1 نشان داده شده‌اند. در نهایت، جواب نهایی با استفاده از معادله‌ی شماره 1 محاسبه شد:

معادله‌ی شماره 1:

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ii} X_i^2 + \sum \beta_{ij} X_i X_j \quad (1)$$

که در آن، Y متغیر پاسخ پیش‌بینی‌شده،  $\beta_0$ ،  $\beta_i$ ،  $\beta_{ii}$  و  $\beta_{ij}$  ضرایب ثابت مربوط به مدل رگرسیونی و  $X_i$  و  $X_j$  متغیرهای مستقل هستند. دقت و صحت این مدل بر اساس ضریب تعیین ( $R^2$ ) و عدد F ارزیابی شد.

جدول شماره 1: دامنه و سطوح متغیرهای مستقل برای روش BBD

| فاکتور ها | سطوح |     |      |
|-----------|------|-----|------|
|           | -1   | 0   | +1   |
| $X_1$     | 45   | 25  | 4    |
| $X_2$     | 60   | 30  | 15   |
| $X_3$     | 10   | 7   | 5    |
| $X_4$     | 1    | 0/5 | 0/05 |

ترتیب اجرای آزمایش‌ها مطابق با طراحی صورت گرفته با نرم‌افزار design expert است. اعداد

$$Y = -40.21 + 0.04X_1 + 0.25X_2 + 10.16X_3 + 25.83X_4 - 3.32X_1X_2 - 1.51X_1X_3 - 0.11X_1X_4 - 9.82X_2X_3 - 0.08X_2X_4 - 1.2X_3X_4 + 1.64X_1^2 - 1.26X_2^2 - 0.66X_3^2 - 7.02X_4^2$$

معادله شماره 2:

فیت کردن داده‌های مربوط به متغیرهای مستقل و متغیر پاسخ در مدل درجه دوم سطح پاسخ تأیید شدند. معنی دار بودن هریک از ضرایب در معادله، با استفاده از t-test و عدد سطح معنی داری در جدول شماره 3 نشان داده شده است. مجموع مربعات (Sum of squared) انحراف نقاط داده را از مقدار میانگین اندازه گیری می‌کند. هر قدر این عدد بالاتر باشد، برازش مدل بیش تر است. در این مطالعه، عدد 258/72 نشان دهنده‌ی مدل معنی دار است. میانگین توان دوم خطاها (Mean squared error یا MSE) روشی برای برآورد میزان خطاست که در واقع، تفاوت بین مقادیر تخمینی است با آنچه تخمین زده شده است. هر قدر مقدار آن به صفر نزدیک تر باشد، میزان خطا کم تر است. در جدول شماره 3، تمام سطح معناداری کم تر از 0/05، نشان دهنده معنی دار بودن آن‌ها هستند. اثر خطی ضرایب  $X_1$ ،  $X_2$ ،  $X_3$  و  $X_4$  که به ترتیب، برابر با دما ( $P=0/0002$ )، زمان ماند ( $P=0/0134$ )، pH ( $P<0/0001$ ) و غلظت اولیه‌ی محلول‌ها ( $P<0/0001$ ) هستند، معنی دار بود.

اثرهای برهم کنش دما و غلظت اولیه‌ی محلول‌ها ( $P=0/0076$ ) و pH و غلظت اولیه‌ی محلول‌ها ( $P=0/0054$ ) معنی دار بود. سایر اثرهای برهم کنش بین متغیرها معنی دار نبود. درباره‌ی ضرایب درجه‌ی دوم متغیرها، متغیر pH ( $P<0/0001$ ) و غلظت اولیه‌ی محلول‌ها ( $P=0/0001$ ) معنی دار بودند. در این مدل،  $X_1$ ،  $X_2$ ،  $X_3$ ،  $X_4$ ،  $X_1X_4$ ،  $X_3X_4$ ،  $X_3^2$  و  $X_4^2$  معنی دار بودند. بر اساس آنالیز واریانس (ANOVA) و هم چنین بر اساس مدل درجه‌ی دوم، عدد F برابر 36/14،  $R^2$  برابر 0/97 و احتمال کوچک تر از 0/0001 بود که درجه‌ی اعتبار این مدل را تأیید می‌کند (جدول شماره 3). بدین طریق که هر قدر عدد F بزرگ تر و  $R^2$  به 1 نزدیک تر باشد و سطح معنی داری زیر 0/05 باشد، درجه اعتبار مدل بالاتر است. همچنین، همان طور که در جدول شماره 2 دیده می‌شود، در مجموع، اعداد به دست آمده

شدند. متغیر پاسخ پیش بینی شده (Y) برای درصد ناپایداری محلول‌ها به صورت زیر به دست آمد:

در این معادله، Y متغیر پاسخ پیش بینی شده (درصد ناپایداری محلول‌ها)،  $X_1$ ،  $X_2$ ،  $X_3$  و  $X_4$  متغیرهای مستقل و به ترتیب، برابر با دما ( $^{\circ}C$ )، زمان ماند (روز)، pH و غلظت اولیه‌ی محلول‌ها (درصد) بودند.

جدول شماره 2: ماتریکس طراحی Box-Behnken و سطوح متفاوت انتخاب شده از متغیرها برای ناپایداری محلول‌ها

| شماره‌ی<br>آزمایش | متغیر های مستقل<br>(کد شده) |                |                |                | درصد ناپایداری محلول ها |              |
|-------------------|-----------------------------|----------------|----------------|----------------|-------------------------|--------------|
|                   | X <sub>1</sub>              | X <sub>2</sub> | X <sub>3</sub> | X <sub>4</sub> | آزمایش شده              | پیش‌بینی شده |
| 1                 | 25                          | 30             | 7/5            | 0/5            | 82/84                   | 88/54        |
| 2                 | 4                           | 30             | 10             | 0/5            | 6/39                    | 26/90        |
| 3                 | 25                          | 30             | 5              | 0/05           | 6/39                    | 14/57        |
| 4                 | 4                           | 60             | 7/5            | 0/5            | 89/08                   | 90/52        |
| 5                 | 25                          | 60             | 7/5            | 1              | 89/86                   | 86/69        |
| 6                 | 25                          | 30             | 5              | 1              | 58/65                   | 84/00        |
| 7                 | 25                          | 15             | 7/5            | 1              | 86/74                   | 89/59        |
| 8                 | 25                          | 15             | 5              | 0/5            | 21/99                   | 48/87        |
| 9                 | 4                           | 30             | 7/5            | 0/05           | 14/19                   | 38/45        |
| 10                | 25                          | 15             | 7/5            | 0/05           | 14/19                   | 37/25        |
| 11                | 45                          | 30             | 5              | 0/5            | 84/40                   | 81/07        |
| 12                | 25                          | 15             | 10             | 0/5            | 1/70                    | 24/31        |
| 13                | 45                          | 30             | 10             | 0/5            | 18/09                   | 48/99        |
| 14                | 25                          | 30             | 10             | 1              | 4/05                    | 22/08        |
| 15                | 25                          | 60             | 7/5            | 0/05           | 27/59                   | 68/55        |
| 16                | 4                           | 30             | 5              | 0/5            | 26/67                   | 58/66        |
| 17                | 25                          | 60             | 5              | 0/5            | 54/75                   | 75/01        |
| 18                | 45                          | 15             | 7/5            | 0/5            | 93/78                   | 96/58        |
| 19                | 25                          | 60             | 10             | 0/5            | 4/83                    | 28/36        |
| 20                | 25                          | 30             | 7/5            | 0/5            | 82/84                   | 88/54        |
| 21                | 4                           | 15             | 7/5            | 0/5            | 78/16                   | 72/29        |
| 22                | 25                          | 30             | 10             | 0/05           | 2/48                    | 9/65         |
| 23                | 45                          | 30             | 7/5            | 1              | 96/88                   | 101/03       |
| 24                | 45                          | 30             | 7/5            | 0/05           | 76/60                   | 80/99        |
| 25                | 25                          | 30             | 7/5            | 0/5            | 82/84                   | 88/54        |
| 26                | 25                          | 30             | 7/5            | 0/5            | 82/84                   | 88/54        |
| 27                | 25                          | 30             | 7/5            | 0/5            | 82/84                   | 88/54        |
| 28                | 45                          | 60             | 7/5            | 0/5            | 99/22                   | 108/69       |
| 29                | 4                           | 30             | 7/5            | 1              | 86/74                   | 101/33       |

ضرایب به دست آمده از معادلات رگرسیون بالا، square root داده‌ها است. برای به دست آوردن ضرایب واقعی، باید هر یک از این ضرایب به توان 2 رسانده شوند. داده‌های به دست آمده از معادله معنی دار بودند و با استفاده از عدد F و آنالیز واریانس (ANOVA)

جدول شماره 3: آنالیز واریانس (ANOVA)، تخمین ضرایب رگرسیون و تست معنی داری ناپایداری محلول ها (مدل درجه‌ی دوم)

| فاکتور                        | مجموع مربعات <sup>1</sup> | میانگین مجذور <sup>2</sup> | درجه‌ی آزادی | ضرایب تخمین زده شده $\pm$ SE | عدد F  | احتمال F<(P) |
|-------------------------------|---------------------------|----------------------------|--------------|------------------------------|--------|--------------|
| عرض از مبدأ (مدل)             | 258/72                    | 18/48                      | 14           | 9/10 $\pm$ 0/32              | 36/14  | <0/0001      |
| X <sub>1</sub>                | 13/29                     | 13/29                      | 1            | 1/05 $\pm$ 0/21              | 25/99  | 0/0002       |
| X <sub>2</sub>                | 4/09                      | 4/09                       | 1            | 0/58 $\pm$ 0/21              | 8      | 0/0134       |
| X <sub>3</sub>                | 34/15                     | 43/15                      | 1            | -1/90 $\pm$ 0/21             | 84/39  | <0/0001      |
| X <sub>4</sub>                | 37/10                     | 37/1                       | 1            | 1/76 $\pm$ 0/21              | 72/56  | <0/0001      |
| X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> | 0/02                      | 0/0255                     | 1            | -0/08 $\pm$ 0/36             | 0/05   | 0/8264       |
| X <sub>1</sub> X <sub>3</sub> | 1/32                      | 1/32                       | 1            | -0/57 $\pm$ 0/36             | 2/58   | 0/1306       |
| X <sub>1</sub> X <sub>4</sub> | 4/96                      | 4/96                       | 1            | -1/11 $\pm$ 0/36             | 9/71   | 0/0076       |
| X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> | 0/8276                    | 0/8276                     | 1            | -0/45 $\pm$ 0/36             | 1/62   | 0/224        |
| X <sub>2</sub> X <sub>4</sub> | 1/21                      | 1/21                       | 1            | -0/55 $\pm$ 0/36             | 2/36   | 0/1465       |
| X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> | 5/51                      | 5/51                       | 1            | -1/17 $\pm$ 0/36             | 10/79  | 0/0054       |
| X <sub>1</sub> <sup>2</sup>   | 2/27                      | 2/27                       | 1            | 0/59 $\pm$ 0/28              | 4/43   | 0/0538       |
| X <sub>2</sub> <sup>2</sup>   | 1/46                      | 1/46                       | 1            | -0/47 $\pm$ 0/28             | 2/86   | 0/1131       |
| X <sub>3</sub> <sup>2</sup>   | 127/76                    | 127/76                     | 1            | -4/44 $\pm$ 0/28             | 249/89 | <0/0001      |
| X <sub>4</sub> <sup>2</sup>   | 14/26                     | 14/26                      | 1            | -1/48 $\pm$ 0/28             | 27/89  | 0/0001       |
| Residual                      | 7/16                      | 0/51                       | 14           |                              |        |              |
| مقدار نهایی تصحیح شده         | 265/88                    |                            | 28           |                              |        |              |

R<sup>2</sup>=0.97, Adj. R<sup>2</sup>=0.94, Pred. R<sup>2</sup>=0.84, and C.V=10.67percent\* R<sup>2</sup> تغییرات یک مدل رگرسیونی را اندازه گیری می کند و بر اساس داده‌های گذشته است.

Adjusted R-squared تغییر را برای یک مدل رگرسیونی چندگانه اندازه گیری می کند و کمک می کند خوب بودن تناسب تعیین شود.

Predicted R<sup>2</sup> تغییرات یک مدل رگرسیونی را بر اساس داده‌های آینده نشان می دهد.

CV نیز ضریب تغییرات داده‌ها را نشان می دهد.

را بر ناپایداری آن‌ها نشان می دهد. با افزایش دما، میزان ناپایداری محلول‌ها کاهش می یابد. در صورتی که با افزایش غلظت اولیه، میزان ناپایداری محلول‌ها افزایش می یابد.

## بحث

تأثیر دما بر پایداری محلول‌های هیپوکلریت سدیم

این مطالعه در دمای 4 درجه‌ی سانتی گراد در یخچال، در دمای اتاق (میانگین 25 درجه‌ی سانتی گراد) و در دمای 45 درجه سانتی گراد انکوباتور انجام شد.

دمای ذخیره سازی بر پایداری محلول‌ها مؤثر بود. باتوجه به نتایج، در تمام محلول‌ها با افزایش دما، میزان پایداری کاهش یافت. مطالعات مشابه به نتایج مشابهی دست یافتند. Qais Iqbal و همکاران در سال 2016، در مطالعه‌ای با عنوان ماندگاری محلول‌های کلر پیشنهاد شده در پاسخ به بیماری ویروس ابولا نشان دادند زمانی که دما 35 درجه‌ی سانتی گراد باشد، حداکثر ماندگاری توصیه شده (در شرایط تولید و ذخیره سازی ایدئال) 30 روز برای محلول‌های NaOCl است. با افزایش دما، کاهش کلر بیشتر می شود (12).

از آزمایش‌ها و اعداد پیش‌بینی شده توسط مدل دارای فاصله‌ی کمی بودند که این امر نیز نشان دهنده‌ی برازندگی مدل و معادلات مربوط به آن است. 3D پلات برای نشان دادن اثرهای ترکیبی pH و غلظت اولیه‌ی محلول‌ها بر میزان ناپایداری محلول‌ها استفاده شده است. سایر متغیرها ثابت و در حد میانه در نظر گرفته شده اند. همان‌طور که در تصویر شماره 1 دیده می شود، با افزایش غلظت اولیه، میزان ناپایداری محلول‌ها افزایش می یابد.

همچنین ناپایداری در محلول‌ها با pH خنثی بیشتر از اسیدی و قلیایی است و محلول‌های اسیدی ناپایداری بیشتری نسبت به محلول‌های قلیایی دارند. تغییرات رنگی مشاهده شده در تصویر شماره 1 نیز مشخص کننده میزان ناپایداری محلول‌ها است. به طوری که هرچه از رنگ آبی به سمت رنگ سبز و رنگ قرمز می رویم، ناپایداری بیشتر می شود. گفتنی است که در این نمودار، ناپایداری محلول‌ها به صورت ریشه‌ی دوم نشان داده شده است. برای به دست آوردن درصد ناپایداری واقعی، باید اعداد نوشته شده روی نمودار به توان دوم برسند. تصویر شماره 2 اثر دما و غلظت اولیه‌ی محلول‌ها (درصد)



## Design-Expert® Software

Factor Coding: Actual

Original Scale

R<sup>2</sup> (%)

● Design points above predicted value

○ Design points below predicted value

1.70488 99.2199

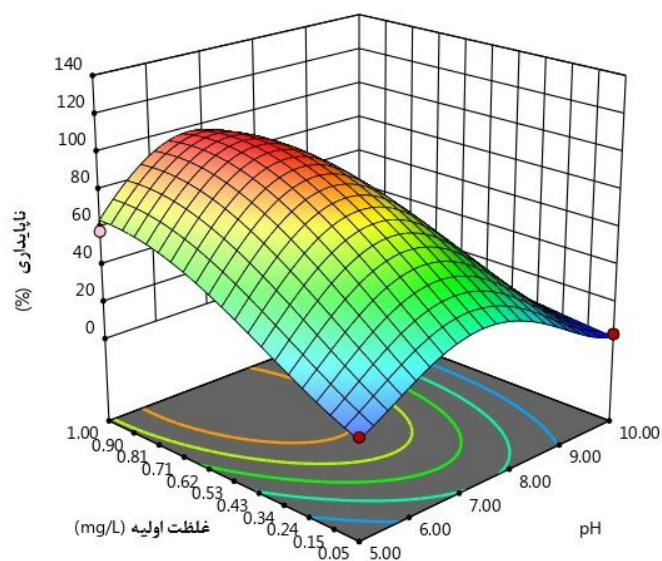
X1 = C: pH

X2 = D: Concentration 1

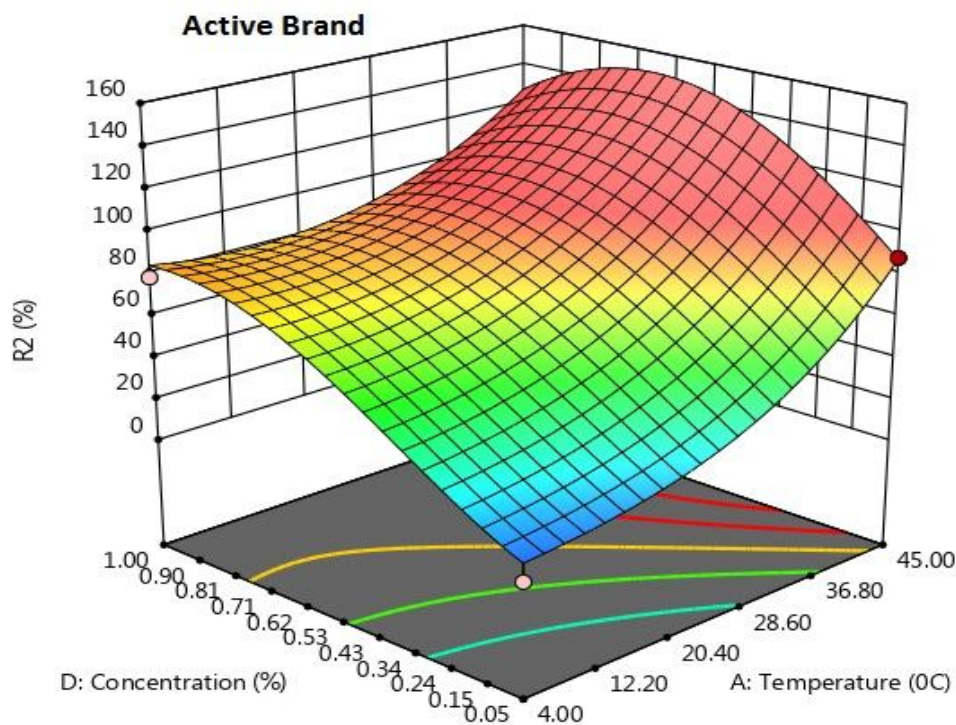
## Actual Factors

A: Temperature = 24.50

B: Time = 37.50



تصویر شماره 1: 3D پلات حاصل از مدل نشان دهنده‌ی اثر pH و غلظت اولیه محلول‌ها (درصد) بر ناپایداری محلول‌ها



تصویر شماره 2: 3D پلات حاصل از مدل نشان دهنده‌ی اثر دما و غلظت اولیه‌ی محلول‌ها (درصد) بر ناپایداری محلول‌ها



Gomes و همکاران در سال 2016، اثر شرایط مختلف نگهداری و زمان نگهداری را بر pH و کلر موجود در محلول های هیپوکلریت کلسیم بررسی کردند. نتایج نشان داد که NaOCl و  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  پایداری خود را تحت تأثیر گرما حفظ کردند (به خصوص محلول های 0/5 و 1 درصد) (7). برخی از مطالعات گرم کردن محلول های NaOCl در دندان پزشکی را به این صورت توجیه می کنند که افزایش دما باعث افزایش آزادسازی کلر فعال می شود که به انحلال پالپ و اثر ضد میکروبی کمک می کند (13، 25، 26). با این حال، همان طور که نتایج مطالعه Fraiss و همکاران در سال 2001 نشان داد، قرار گرفتن مداوم در معرض گرما به تسریع کاهش کلر تمایل دارد و کارایی محلول ها را در طول دوره های طولانی ذخیره سازی، کاهش می دهد (25).

تأثیر زمان ماند بر پایداری محلول های هیپوکلریت سدیم در این مطالعه، کلر آزاد موجود در محلول ها 15، 30 و 60 روز پس از تهیه، با استفاده از تیتراسیون یدومتری اندازه گیری شد. با افزایش زمان ماند از 15 به 60 روز، میزان پایداری این محلول ها کاهش یافت. همان طور که در مطالعه Iqbal و همکاران (2016) نشان داده شد، محلول های NaOCl را می توان بیش از 30 روز نگه داشت. حداکثر ماندگاری توصیه شده (در شرایط تولید و نگهداری ابدئال) در دمای 20 الی 35 درجه سانتی گراد، برای محلول های NaOCl (pH برابر 7) چند ساعت، برای محلول های NaDCC (pH برابر 6) دو روز، برای محلول های NaOCl (pH برابر 9) شش روز و برای محلول های NaOCl تثبیت شده و HTH (pH برابر 9 الی 11) بیش تر از 30 روز بود (12). Guastalli و همکاران در سال 2015، اثر سورفاکتانت ها را بر پایداری آماده سازی هیپوکلریت سدیم بررسی کردند. نتایج کاهش درخور توجهی در کلر موجود، در مراحل اولیه آزمایش، نشان داد. با گذشت زمان، کاهش کلر به صورت تدریجی صورت گرفت (2). هم چنین،

مطالعات دیگری نیز کاهش تدریجی مداوم در محلول های نگهداری شده را گزارش دادند؛ نظیر مطالعه Nicoletti و همکاران (27)، Rutala و همکاران (16) و Gambarini و همکاران (13).

تأثیر pH بر پایداری محلول های هیپوکلریت سدیم کاهش تدریجی pH تمام محلول های نگهداری شده در شرایط مختلف، در طول زمان، در این مطالعه مشاهده شد. Jean Camps و همکاران عمر ماندگاری، عمل انحلال و فعالیت ضد باکتریایی محلول 2/5 درصد هیپوکلریت سدیم خنثی را در سال 2009، بررسی کردند. pH محلول در طی دو ساعت اول، به آرامی کاهش یافت (7/3 تا 6/4) و سپس، در طی سه ساعت بعد، با سرعت بیشتری کاهش یافت (6/4 تا 4/9). این تغییر pH ممکن است به دلیل دو پدیده ترکیبی باشد: 1. محتوای هیدروکسید سدیم آزاد در محلول NaOCl 10 درصد بسیار کم است، کمی اسید می تواند به راحتی یون های OH را خنثی کند؛ 2. HOCl که در محلول NaOCl خنثی شده ی 2/5 درصد غالب است، به راحتی به H و Cl تبدیل می شود، زیرا تجزیه ی HOCl به کلر ( $\text{Cl}_2$ ) و سپس، کلرید (Cl) بسیار سریع است. از آنجا که حلالیت  $\text{Cl}_2$  در آب بسیار کم است، کلرید از محلول خارج می شود. این درباره ی یون های H صدق نمی کند که به کاهش سریع pH منجر می شوند. علاوه بر این، هوایی در سطح محلول حاوی  $\text{CO}_2$  وجود دارد که می تواند در محلول حل شود و اسید کربنیک ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ) تشکیل دهد. این پدیده های ترکیبی می توانند کاهش pH و محتوای بسیار کم کلر موجود پس از پنج ساعت را توجیه کنند. نتایج مطالعات Johnson و Remeikus (1993)، Fabian و همکاران (1982) و Clarkson و همکاران (2001) خلاف این مطالعه بود. نتایج مطالعه آن ها حاکی از آن است که محلول های NaOCl قلیایی می توانند برای هفته ها یا ماه ها تقریباً پایدار بمانند؛ حتی اگر در معرض نور قرار گیرند، مایع آزمایش باید در دو

ساعت اول پس از اختلاط، استفاده شود (8، 28، 30). مطابق تصویر شماره 1 که اثر برهم کنش بین pH و غلظت اولیه‌ی محلول‌ها را نشان می‌دهد، به‌طور کلی، با افزایش pH، میزان پایداری محلول‌ها افزایش می‌یابد. کمترین پایداری در pH خنثی مشاهده شد. شرایط اسیدی و قلیایی برای پایداری محلول‌ها مناسب‌تر بود و از میان این دو، شرایط قلیایی مناسب‌تر از شرایط اسیدی بود. در مطالعه Pişkin و همکاران در سال 1995، پایداری محلول‌های مختلف هیپوکلریت سدیم بررسی شد. نتایج نشان داد که pH محلول‌های استفاده‌شده در مطالعه‌ی آن‌ها تأثیری بر پایداری ندارد (1). با توجه به نتایج مطالعه‌ی Natalia Gomes و همکاران درباره‌ی محلول‌های هیپوکلریت کلسیم در سال 2016 و همچنین طبق برخی از مطالعات، NaOCl در محلول آبی یونیزه می‌شود تا اسیدهیپوکلروس (HOCl) و یون‌های هیدروکسیل آزاد شود. یون‌های هیپوکلریت ( $\text{OCl}^-$ ) در pH قلیایی غالب هستند، درحالی‌که HOCl در pH اسیدی غالب است. HOCl و  $\text{OCl}^-$  به در دسترس بودن کلر آزاد در محلول کمک می‌کنند.  $\text{OCl}^-$  به‌عنوان مخزنی برای تشکیل HOCl عمل می‌کند و هنگامی که مصرف می‌شود، کاهش pH در محلول رخ می‌دهد و باعث افزایش آزاد شدن کلر و تغییر ماندگاری می‌شود (7، 31، 32). علاوه بر آن، Remeikus و Johnson در سال 1993، کاهش تدریجی pH محلول‌های NaOCl را از 5/25 درصد تا 1 درصد، در طول زمان، مشاهده کردند (29).

تأثیر غلظت اولیه‌ی محلول‌های هیپوکلریت سدیم بر پایداری آن‌ها

غلظت اولیه محلول‌ها یکی دیگر از عوامل مهم در پایداری آن‌هاست. با توجه به نتایج، مطابق شکل 1، برای غلظت محلول‌های کلردار نتیجه‌ای مشابه دما مشاهده شد، به‌طوری که با افزایش غلظت، میزان پایداری این محلول‌ها کاهش یافت. نتایج مطالعه‌ی Clarkson و

همکاران در سال 2001، نشان داد که محلول‌های غلیظ‌تر در مقایسه با محلول‌های رقیق‌تر در طول زمان، بیشتر پایدار می‌مانند (28). در مطالعه Hoffman و همکاران در سال 1981 که پایداری محلول‌های هیپوکلریت سدیم را بررسی کردند، کاهش سریع‌تری در محلول رقیق‌نشده (کلر موجود 10 درصد) نسبت به محلول رقیق‌شده (1:2) مشاهده شد (33). همچنین، نتایج مطالعه‌ی Pappalardo و همکاران نشان داد که محلول داکسین (0/5 درصد کلر موجود) نسبت به اشکال رقیق‌شده، سرعت تجزیه‌ی بیشتری دارد (34). Piskin و Turkun در سال 1995، نتایج متفاوتی را گزارش کردند. محلول‌های NaOCl 5 درصد پس از 200 روز نگهداری در دمای اتاق، کاهش 34 درصدی در محتوای کلر موجود نشان دادند (1). Fraix و همکاران در سال 2001، کاهش 14/1 درصدی در محتوای کلر موجود در NaOCl 15 درصد را پس از 81 روز، گزارش کردند (25). بنابراین، این مطالعه نشان داد که شرایط مختلف نگهداری محلول هیپوکلریت سدیم به‌شدت بر پایداری کلر تأثیر دارد. با افزایش غلظت محلول کلر، افزایش دما و زمان نگهداری، پایداری کلر کاهش می‌یابد. محلول‌های خنثی، پایداری کمتری نسبت به محلول‌های اسیدی و قلیایی نشان دادند؛ لذا توصیه می‌شود که هنگام کاربرد این ترکیب برای گندزدایی، به این عوامل توجه شود.

## سپاسگزاری

این مقاله حاصل بخشی از طرح پایان‌نامه‌ی مقطع کارشناسی ارشد مصوب معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران با کد اخلاق IR.MAZUMS..REC.1400.9212 است. بدین وسیله، از آن معاونت محترم و کارشناسان آزمایشگاه گروه مهندسی بهداشت محیط دانشکده بهداشت قدرتدانی می‌شود.

## References

1. Pişkin B, Türkün M. Stability of various sodium hypochlorite solutions. *J Endod* 1995; 21(5): 253-255.
2. Guastalli AR, Clarkson RM, Rossi-Fedele G. The effect of surfactants on the stability of sodium hypochlorite preparations. *J Endod* 2015; 41(8): 1344-1348.
3. Su YS, Morrison III DT, Ogle RA. Chemical kinetics of calcium hypochlorite decomposition in aqueous solutions. *Journal of Chemical Health and Safety* 2009; 16(3): 21-25.
4. Jefri UHNM, Khan A, Lim YC, Lee KS, Liew KB, Kassab YW, et al. A systematic review on chlorine dioxide as a disinfectant. *J Med Life* 2022; 15(3): 313-318.
5. Mehendale FV, Clayton G, Homyer KM, Reynolds DM. HOCl vs OCl<sup>-</sup>: clarification on chlorine-based disinfectants used within clinical settings. *Journal of Global Health Reports* 2023; 7: e2023052.
6. Byun KH, Han SH, Yoon JW, Park SH, Ha SD. Efficacy of chlorine-based disinfectants (sodium hypochlorite and chlorine dioxide) on *Salmonella* Enteritidis planktonic cells, biofilms on food contact surfaces and chicken skin. *Food Control* 2021; 123(2): 107838.
7. Leonardo NGeS, Carlotto IB, Luisi SB, Kopper PMP, Grecca FS, Montagner F. Calcium hypochlorite solutions: evaluation of surface tension and effect of different storage conditions and time periods over pH and available chlorine content. *J Endod* 2016; 42(4): 641-645.
8. Camps J, Pommel L, Aubut V, Verhille B, Satoshi F, Lascola B, et al. Shelf life, dissolving action, and antibacterial activity of a neutralized 2.5% sodium hypochlorite solution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009; 108(2): e66-e73.
9. Wan Z, Zhu C, Francisco JS. Molecular Insights into the Spontaneous Generation of Cl<sub>2</sub>O in the Reaction of ClONO<sub>2</sub> and HOCl at the Air–Water Interface. *J Am Chem Soc* 2023; 145(31): 17478-17484.
10. Nasyrov N, Zaiko E, Grudistova M, Reshchikov M. Evaluating the effect of various types of disinfectants on bacterial biofilms. *Theory and Practice Meat Processing* 2023; 8(2): 162-167.
11. White GC. White's handbook of chlorination and alternative disinfectants: Wiley; 2010.
12. Iqbal Q, Lubeck-Schricker M, Wells E, Wolfe MK, Lantagne D. Shelf-life of chlorine solutions recommended in Ebola virus disease response. *PLoS One* 2016; 11(5): e0156136.
13. Gambarini G, De Luca M, Gerosa R. Chemical stability of heated sodium hypochlorite endodontic irrigants. *J Endod* 1998; 24(6): 432-434.
14. Van der Waal SV, Van Dusseldorp NE, De Soet JJ. An evaluation of the accuracy of labeling of percent sodium hypochlorite on various commercial and professional sources: is sodium hypochlorite from these sources equally suitable for endodontic irrigation? *J Endod* 2014; 40(12): 2049-2052.
15. Sirtes G, Waltimo T, Schaetzle M, Zehnder M. The effects of temperature on sodium hypochlorite short-term stability, pulp dissolution capacity, and antimicrobial efficacy. *Journal of Endodontics* 2005; 31(9): 669-671.
16. Rutala WA, Cole EC, Thomann CA, Weber DJ. Stability and bactericidal activity of

- chlorine solutions. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1998; 19(5): 323-327.
17. Dehbandi R, Zazouli MA. Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions. *Lancet Microbe* 2020; 1(4): e145.
  18. Zazouli MA, Hashempour Y. A Review of the Stability of Coronaviruses in Different Environments. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2021; 31(195): 141-155 (Persian).
  19. Lawal-Ayinde BM, Morita T, Oda K, Nazmul T, Kurose M, Nomura T, et al. Virus purification highlights the high susceptibility of SARS-CoV-2 to a chlorine-based disinfectant, chlorous acid. *Plos One* 2023; 18(7): e0288634.
  20. Parveen N, Chowdhury S, Goel S. Environmental impacts of the widespread use of chlorine-based disinfectants during the COVID-19 pandemic. *Environ Sci Pollut Res Int* 2022; 29(57): 85742-85760.
  21. Yazdanbakhsh A, Hashempour Y, Ghaderpour M. Performance of granular activated carbon/nanoscale zero-valent iron for removal of humic substances from aqueous solution based on Experimental Design and Response Surface Modeling. *Global Nest Journal* 2018; 20(1): 57-68.
  22. Majlesi M, Hashempour Y. Removal of 4-chlorophenol from aqueous solution by granular activated carbon/nanoscale zero valent iron based on Response Surface Modeling. *Archives of Environmental Protection* 2017; 43(4): 13-25.
  23. Zazouli MA, Veisi F, Veisi A. Modeling Bisphenol A Removal from Aqueous Solution by Activated Carbon and Eggshell. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2012; 21(2): 129-138 (Persian).
  24. ASTM. American Society for Testing and Materials Standard, Test Methods of Sampling and Chemical Analysis of Chlorine-Containing Bleaches (D2022). 2017. Available from: <https://cdn.standards.iteh.ai/samples/95017/2380d392db9441df84e9b43dfc509407/ASTM-D2022-89-2016-.pdf>.
  25. Fraiss S, Ng YL, Gulabivala K. Some factors affecting the concentration of available chlorine in commercial sources of sodium hypochlorite. *Int Endod J* 2001; 34(3): 206-215.
  26. Abou-Rass M, Oglesby SW. The effects of temperature, concentration, and tissue type on the solvent ability of sodium hypochlorite. *J Endod* 1981; 7(8): 376-377.
  27. Aparecida Nicoletti M, Fernandes Magalhães J. Influence of the container and environmental factors in the stability of sodium hypochlorite. *Bol Oficina Sanit Panam* 1996; 121(4): 301-309.
  28. Clarkson RM, Moule AJ, Podlich HM. The shelf-life of sodium hypochlorite irrigating solutions. *Aust Dent J* 2001; 46(4): 269-276.
  29. Johnson BR, Remeikis NA. Effective shelf-life of prepared sodium hypochlorite solution. *J Endod* 1993; 19(1): 40-43.
  30. Fabian TM, Walker SE. Stability of sodium hypochlorite solutions. *Am J Hosp Pharm* 1982; 39(6): 1016-1017.
  31. Dutta A, Saunders WP. Comparative evaluation of calcium hypochlorite and sodium hypochlorite on soft-tissue dissolution. *J Endod* 2012; 38(10): 1395-1398.
  32. Rossi-Fedele G, Guastalli AR, Doğramacı EJ, Steier L, De Figueiredo JA. Influence of pH changes on chlorine-containing endodontic irrigating solutions. *Int Endod J* 2011; 44(9): 792-799.
  33. Hoffman PN, Death JE, Coates D. The stability of sodium hypochlorite solutions. In: Collins CH, Aiiwood MC, Bloomfield SF. *Disinfectants: their use and evaluation of*

- effectiveness. Academic Press, London; 1981: 77-83.
34. Pappalardo G, Tanner F, Roussianos D, Pannatier A. Efficacy and stability of two chlorine-containing antiseptics. *Drugs Exp Clin Res* 1986; 12(11): 905-909.