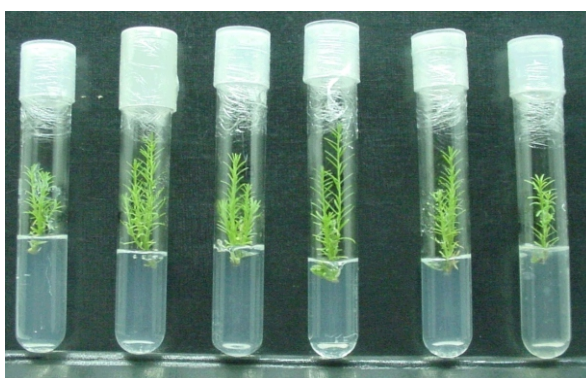


Compostos Clorados: Aspectos Gerais e sua Utilização como Agente Sanitizante na Agricultura, Micropropagação e Pecuária



ISSN 1808-9992

Abril, 2008

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Semi-Árido
Ministério da Agricultura, pecuária e Abastecimento*

Documentos 207

Compostos Clorados: Aspectos Gerais e sua Utilização como Agen- te Sanitizante na Agricultura, Micropropagação e Pecuária

Juliana Martins Ribeiro

Kirley Marques Canuto

Josir Laine Aparecida Veschi

Embrapa Semi-Árido
Petrolina - PE
2008

Esta publicação está disponibilizada no endereço:

<http://www.cpatsa.embrapa.br>

Exemplares da mesma podem ser adquiridos na:

Embrapa Semi-Árido

BR 428, km 152, Zona Rural

Caixa Postal 23 56302-970 Petrolina-PE

Fone: (87) 3862-1711 Fax: (87) 3862-1744

sac@cpatsa.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade (Gestão 01/2007-12/2007)

Presidente: Nataniel Franklin de Melo

Secretário-Executivo: Eduardo Assis Menezes

Membros: Mirtes Freitas Lima

Maria Auxiliadora Coelho de Lima

Geraldo Milanez de Resende

Josir Laine Aparecida Veschi

Diógenes da Cruz Batista

Tony Jarbas Ferreira Cunha

Gislene Feitosa Brito Gama

Elder Manoel de Moura Rocha

Supervisor editorial: Eduardo Assis Menezes

Revisor de texto: Eduardo Assis Menezes

Normalização bibliográfica: Helena Moreira de Queiroga

Foto(s) da capa: Josir Laine Aparecida Veschi e Juliana Martins Ribeiro

Editoração eletrônica: Nivaldo Torres dos Santos

1ª edição (2008): Formato digital

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

É permitida a reprodução parcial do conteúdo desta publicação desde que citada a fonte.

CIP - Brasil. Catalogação na publicação

Embrapa Semi-Árido

Ribeiro, Juliana Martins

Compostos clorados : aspectos gerais e sua utilização como agente sanitizante na agricultura, micropropagação e pecuária / Juliana Martins Ribeiro, Kirley Marques Canuto, Josir Laine Aparecida Veschi. — Petrolina : Embrapa Semi-Árido , 2008.

26 p. — (Embrapa Semi-Árido . Documentos, 207).

1. Composto clorado - Uso - Tratamento - Desinfecção.
2. Composto clorado - Origem inorgânica . 3. Composto clorado - Origem orgânica. 4. Composto clorado - Uso na agropecuária. 5. Micropropagação. Composto clorado - Uso.
- I. Canuto, Kirley Marques. II. Veschi, Josir Laine Aparecida. III. Título. IV. Série.

CDD 628.1662

© Embrapa 2008

Autores

Juliana Martins Ribeiro

Bióloga, Doutora, Pesquisadora da Embrapa Semi-Árido.
Cx. Postal 23, 56302-970, Petrolina-PE.
E-mail: juliana.ribeiro@cpatsa.embrapa.br

Kirley Marques Canuto

Graduado em Farmácia, Doutor, Pesquisador da Embrapa
Semi-Árido.
E-mail: kirley.canuto@cpatsa.embrapa.br

Josir Laine Aparecida Veschi

Médica Veterinária, Doutora, Pesquisadora da Embrapa
Semi-Árido.
E-mail: josir.veschi@cpatsa.embrapa.br

Apresentação

Os compostos clorados são substâncias amplamente utilizadas como agente sanitizante na higienização e desinfecção de alimentos, pisos, utensílios em áreas industriais e residenciais, no controle de doenças oriundas de água e alimentos, bem como no tratamento de água para abastecimento público. Possuem um amplo espectro de atividade biocida contra bactérias, fungos e vírus, sendo suas atividades biocida e oxidante aumentadas significativamente com a formação do ácido hipocloroso. Na agricultura, os compostos clorados são utilizados em larga escala na pós-colheita para a desinfecção de superfícies de frutas, legumes, sementes, vegetais folhosos, entre outros. Também, podem ser utilizados na desobstrução de gotejadores entupidos pela deposição de sais de óxido de ferro e na inibição de enzimas responsáveis pelo escurecimento de alguns alimentos.

Na micropropagação, os compostos clorados são amplamente utilizados para promover a desinfecção da superfície de explantes e de sementes. Também, podem ser utilizados como uma alternativa para a esterilização química de meios nutritivos, visando a redução do tempo para a esterilização de meios de cultura, redução de custos de manutenção e consumo pelo uso da autoclave e como uma maneira de se evitar a degradação de determinados componentes do meio de cultura em altas temperaturas durante o processo de autoclavagem.

Diversas são as utilizações dos compostos clorados nos vários segmentos da pecuária, incluindo higienização de equipamentos e materiais, tais como conjunto de teteiras de ordenhadeiras mecânicas, tanques de expansão para resfriamento de leite, bebedouros e água de bebida dos animais, principalmente aves de criações comerciais confinadas.

Diante da diversidade de utilização destes compostos, ressalta-se a sua grande importância em diversas áreas de produção de alimentos de origem animal e vegetal, indústria química e alimentícia e também em laboratórios diagnósticos, de pesquisa e hospitais.

Sumário

	Pág.
Compostos Clorados.....	9
Modo de Ação dos Compostos Clorados.....	9
Fatores que Influenciam no Processo de Desinfecção	
Utilizando Compostos Clorados.....	11
Espécie e concentração do microorganismo a ser destruído	11
Espécie, concentração e tempo de contato com desinfetante.....	11
Características químicas e físicas da água	12
Temperatura do meio	12
Grau de dispersão do desinfetante na água	12
Tipos de Compostos Clorados e sua Utilização.....	12
Compostos clorados de origem inorgânica.....	13
Gás cloro	13
Hipoclorito de sódio	13
Hipoclorito de cálcio	13
Compostos clorados de origem orgânica.....	13
Aspectos Negativos mais Comuns da Utilização de Compostos Clorados como Agentes Sanitizantes e como Contorná-los.....	14
Utilização de Compostos Clorados como Agentes Sanitizantes na Agricultura	16

Utilização de Compostos Clorados como Agentes Sanitizantes na Pecuária	17
Utilização de Compostos Clorados como Agentes Sanitizantes na micropropagação.....	19
Referências Bibliográficas	21

Compostos Clorados: Aspectos Gerais e sua Utilização como Agente Sanitizante na Agricultura, Micropropagação e Pecuária

Juliana Martins Ribeiro

Kirley Marques Canuto

Josir Laine Aparecida Veschi

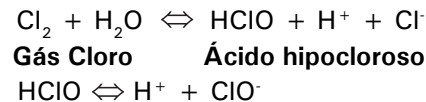
Compostos Clorados

Compostos clorados são substâncias que contêm um átomo de cloro em sua composição, podendo ser de origem inorgânica ou orgânica (Macedo, 2004). São substâncias amplamente utilizadas como agente sanitizante na higienização e desinfecção de alimentos, pisos, utensílios em áreas industriais e residenciais, no controle de patógenos veiculados pela água e alimentos, bem como no tratamento de água para abastecimento público (Meyer, 1994; Macedo, 2000).

Modo de Ação dos Compostos Clorados

Os compostos clorados possuem um amplo espectro de atividade biocida contra bactérias, fungos e vírus. As atividades biocida e oxidante destes compostos são aumentadas significativamente com a formação do ácido hipocloroso (HClO), em sua forma não dissociada, quando em solução aquosa pura. O ácido hipocloroso é um ácido fraco, cuja formação é influenciada pelo pH do meio, visto que em meio ácido a sua concentração é baixa, devido à pouca ionização do gás cloro e, em meio extremamente alcalino, o equilíbrio favorece a formação de hipoclorito. O valor de pH

considerado ótimo fica entre 6 e 9 (Saran et al., 1998; Emmanuel et al., 2004). O ácido hipocloroso é formado a partir da reação abaixo:



O alto poder de desinfecção do ácido hipocloroso em relação às demais formas cloradas deve-se não somente à sua forte capacidade oxidativa, mas, principalmente, ao pequeno tamanho de sua molécula e à sua neutralidade elétrica, características que aumentam o seu poder de penetração nas membranas das células (Meyer, 1994). Segundo Estrela et al. (2003), os compostos clorados, por meio do ácido hipocloroso, causam uma série de reações bioquímicas e alterações celulares, como:

- Alterações biossintéticas no metabolismo celular - podem ocorrer tanto por meio da oxidação das bases da molécula de DNA, quanto pela oxidação irreversível dos grupamentos sulfidrílicos presentes em algumas das principais enzimas metabólicas, como, por exemplo, a triosefosfato dihidrogenase, que é uma enzima essencial envolvida na oxidação da glicose no processo de fosforilação oxidativa.
- Destruição de fosfolipídios, formando cloraminas - por meio da reação de cloraminação, os compostos clorados em contato com tecidos orgânicos agem como solvente, liberando cloro que se combina com o grupamento amino dos aminoácidos, originando as cloraminas. Os compostos clorados causam danos à membrana plasmática, dificultando o transporte de carboidratos e aminoácidos, podendo resultar em extravazamento de componentes celulares.
- Degradação de lipídios e ácidos graxos - reação de saponificação, em que os compostos clorados reagem com os ácidos graxos, transformando-os em sais orgânicos (sabões) e glicerol, reduzindo a tensão superficial do meio.

- Combinação com proteínas celulares - o cloro pode combinar diretamente com as proteínas celulares e inibir suas atividades biológicas.
- Reação de neutralização - os compostos clorados provocam a descarboxilação oxidativa de aminoácidos, gerando nitrilas e aldeídos.
- Alterações cromossômicas por meio da oxidação das bases da molécula de DNA.

Fatores que Influenciam no Processo de Desinfecção Utilizando Compostos Clorados

Para Laubush (1971), os principais fatores que influenciam no processo de desinfecção são:

- **espécie e concentração do microorganismo a ser destruído**

Alguns tipos de bactérias podem formar esporos. Dentre os mais conhecidos, estão os gêneros *Bacillus* e *Clostridium*. Na formação do esporo, a célula vegetativa desloca o material genético e parte da sua reserva alimentar para um local da célula, formando o esporo. Após a formação do esporo, a célula bacteriana morre e se dissolve, liberando, assim, o esporo. Esta forma de perpetuação da bactéria não possui metabolismo e é altamente resistente às condições ambientais, desinfetantes (físicos e químicos), dessecação, entre outros. Em condições ambientais favoráveis, os esporos se transformam nas células vegetativas (Dricks, 2007).

- **espécie, concentração e tempo de contato com desinfetante**

Existe uma relação inversa entre o tempo da reação de desinfecção e a concentração do agente desinfetante, ou seja, quanto maior a concentração do desinfetante, menor o tempo de reação para promover a morte de microorganismos, e vice-versa. Fixando-se fatores como pH e temperatura, pode-se dizer que a morte dos microorganismos está diretamente relacionada com a concentração do desinfetante e com o tempo da reação de desinfecção.

- **características químicas e físicas da água**

As características da água a ser tratada irão influenciar diretamente no processo de desinfecção, pois quando o agente desinfetante é oxidante, a presença de material orgânico e de outros compostos oxidáveis consumirá parte do agente desinfetante necessário para destruir os microorganismos, diminuindo a concentração inicial do produto. Certos tipos de desinfetantes sofrem hidrólise quando colocados em contato com a água e se dissociam, formando compostos com ação germicida diferente daquela correspondente à substância inicial.

- **temperatura do meio**

O processo de desinfecção também sofre influência térmica do meio aquoso, pois a temperatura pode modificar as propriedades físico-químicas da água e determinar a forma de apresentação de alguns compostos clorados. Em geral, temperaturas elevadas favorecem a ação do desinfetante (Meyer, 1994).

- **grau de dispersão do desinfetante na água**

É necessária uma dispersão uniforme dos desinfetantes químicos na água, a fim de que seja obtida uma solução com concentração homogênea.

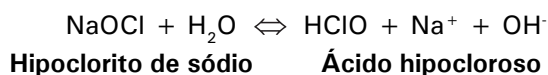
Tipos de compostos clorados e sua utilização

O cloro é um dos desinfetantes mais difundidos atualmente, possuindo ações detergente e bactericida. Devido a esse fato, o uso do cloro tornou-se obrigatório em todos os tratamentos de água para o consumo humano, sendo o mais importante desinfetante de uso doméstico. Entre todos os compostos clorados, o hipoclorito de cálcio ou de sódio são os mais usados.

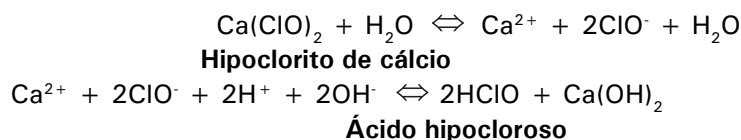
Compostos Clorados de Origem Inorgânica

Gás cloro: É utilizado apenas em grandes estações de tratamento de água para abastecimento público, é de difícil manuseio, exige pessoal especializado e equipamentos adequados. É comercializado em cilindros de aço, na forma comprimida.

Hipoclorito de sódio: É uma das fontes de cloro mais utilizadas para esterilização de superfícies, alimentos, água, entre outros. Sua utilização em larga escala é devida ao seu amplo espectro de atividade biocida contra microrganismos, além do fato de ser um produto de baixo custo (Tsai et al., 1998; Emmanuel et al., 2004). A reação para formação do ácido hipocloroso segue abaixo:



Hipoclorito de cálcio: É utilizado em tratamentos de água potável e em piscinas. Por ser um produto à base de cálcio, tem problemas de solubilidade. A reação para formação do ácido hipocloroso ocorre da seguinte maneira (Macedo, 2004):



Compostos Clorados de Origem Orgânica

São utilizados como agentes sanitizantes. Por exemplo, o dicloro isocianurato de sódio e o ácido tricloroisocianúrico, que são comercializados na forma de pó e possuem maior estabilidade ao armazenamento do que os compostos clorados de origem inorgânica. São estáveis em solução aquosa, o que implica em uma liberação mais lenta do ácido hipocloroso e, conseqüentemente, permanecem efetivos por períodos maiores de tempo, mesmo na presença da matéria orgânica (Macedo, 2004).

Aspectos Negativos mais Comuns da Utilização de Compostos Clorados como Agentes Sanitizantes e Como Contorná-los

Uma das grandes preocupações decorrentes da utilização de compostos clorados como agentes sanitizantes são os efeitos negativos que esses podem causar ao ambiente e ao ser humano. Em relação ao ambiente, a preocupação está relacionada com a maneira com que esses compostos reagem com os componentes do meio e se os produtos oriundos de tais reações seriam tóxicos para a natureza. A preocupação com o ser humano está relacionada com os efeitos colaterais que os compostos clorados podem causar ao organismo humano quando utilizados como agentes na desinfecção, principalmente, de alimentos e água.

De acordo com o Programa Nacional de Toxicologia dos Estados Unidos, a liberação de compostos clorados e, conseqüentemente, do cloro no ambiente não é decorrente apenas de águas cloradas, mas, também, do transporte desses compostos. Esse fato foi determinado por meio de estudos de monitoramento da quantidade de cloro da atmosfera, que detectaram uma quantidade variando de 0,344 a 1,27 ppm. Entretanto, as quantidades detectadas não levam a uma bioacumulação de cloro no ambiente (NTP, 1992).

Dentre os efeitos colaterais que os compostos clorados podem causar ao ser humano, estão a irritação das membranas mucosas dos olhos, garganta, nariz e trato respiratório. No caso de ingestão do produto, pode haver irritação da garganta e membranas da boca e, no caso de inalação de tais compostos, pode ocorrer degeneração de células sensoriais do olfato, perda de cílios do epitélio respiratório e esfoliação das células nasais (NTP, 1992; U.S. EPA, 1994).

As quantidades de gás cloro ou de hipoclorito de sódio adicionadas à água, que inativam eficientemente bactérias em 20 minutos, são de 0,03 a 0,06 ppm, enquanto as quantidades de cloro responsáveis pela irritação da garganta e membranas da boca são superiores a 90 ppm (NTP, 1992). Adicionalmente, estudos realizados pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (U.S.EPA, 1994) demonstraram que quantidades de 9 a 11 ppm, por um período de 6 dias, foram responsáveis pela degeneração

de células sensoriais, perda de cílios do epitélio respiratório e esfoliação das células nasais em ratos e camundongos. Entretanto, como citado anteriormente, a quantidade de cloro liberada na atmosfera foi de 0,344 a 1,27 ppm.

Os compostos clorados também são muito utilizados para o tratamento de águas residuais, visando à eliminação de microorganismos patogênicos. Uma das grandes preocupações decorrentes da utilização destes compostos no tratamento de águas residuais é a quantidade de trihalometanos resultantes de seu uso (Tsai et al., 1998; Emmanuel et al., 2004). Trihalometanos são substâncias orgânicas resultantes da combinação de cloro com compostos orgânicos, que são tóxicas para organismos aquáticos e contaminantes persistentes do ambiente.

A quantidade formada destes compostos depende da concentração do composto clorado utilizado e da quantidade de compostos orgânicos presentes no meio em que o esterilizante será aplicado (Emmanuel et al., 2004). Para evitar a formação de tais compostos, pode-se otimizar os protocolos de esterilização, para que se chegue a uma condição ótima de eliminação máxima dos microorganismos patogênicos sem que haja formação de uma quantidade nociva de trihalometanos para o ambiente (Tsai et al., 1998; Emmanuel et al., 2004).

Tanto para a saúde pública quanto para a preservação ambiental, o que deve ser feito com relação à utilização de compostos clorados como agentes sanitizantes é a utilização de concentrações que permitam a eliminação de organismos patogênicos sem agredir o ambiente e a saúde humana.

A viabilidade e a segurança da utilização de compostos clorados para eliminação de microorganismos patogênicos já foram demonstradas cientificamente. Entretanto, na maioria dos trabalhos, foi utilizado o hipoclorito de sódio por ser de fácil manuseio e aquisição e de baixo custo. A maior parte dos demais compostos clorados são utilizados apenas nas grandes estações de tratamento de água para abastecimento público ou em piscinas, além de serem de difícil manuseio, exigindo pessoal especializado e equipamentos adequados, podendo, ainda, apresentar problemas de solubilidade.

Utilização de Compostos Clorados como Agentes Sanitizantes na Agricultura

Os compostos clorados são utilizados em larga escala na pós-colheita para a desinfecção de superfícies de alimentos. Baruffaldi et al. (1984) demonstraram a eficácia do tratamento químico de folhas de alface com solução de hipoclorito de sódio, em uma concentração de 40 ppm de cloro ativo durante 10 minutos, na redução da quantidade de organismos patogênicos ao ser humano.

Araújo et al. (2004) realizaram experimentos nos quais foi observada uma menor ocorrência de *Rhizopus* spp. e *Aspergillus niger* nas sementes de amendoim que foram desinfectadas em soluções de hipoclorito de sódio a 1, 2, 3, 5 e 10%.

Antoniolli et al. (2005) procuraram determinar a menor concentração eficiente de hipoclorito de sódio (NaOCl) para desinfecção da casca, bem como avaliar a necessidade de utilização do mesmo agente sanitizante no banho de imersão da polpa de abacaxi minimamente processada. A desinfecção da casca com NaOCl 200 ppm, associada à sanitização da polpa do abacaxi com NaOCl 20 ppm, proporcionou menores populações de microrganismos aeróbios mesófilos e de bolores, e leveduras. Concluiu-se que tais procedimentos são imprescindíveis na obtenção de produtos minimamente processados que ofereçam garantia de qualidade ao consumidor.

Hipoclorito de sódio numa concentração de 150 ppm (pH = 5,0) mostrou-se eficaz na desobstrução de gotejadores entupidos pela deposição de sais de óxido de ferro. A obstrução de emissores é o maior impasse do sistema de irrigação e a maior causa de variação de vazão. Portanto, o uso de compostos clorados consiste em um tratamento de baixo custo e de resultados satisfatórios para este tipo de transtorno (Souza et al, 2003).

O escurecimento afeta as propriedades sensoriais, causando desordens que implicam na rejeição de frutas minimamente processadas, necessitando de agentes que inibam esta alteração. Ácido ascórbico e sulfetos são substâncias utilizadas atualmente; entretanto, apresentam deficiências ou inconvenientes que desmotivam seu uso. O ácido ascórbico é exclusivamente anti-escurecedor, requerendo a presença de um

sanitizante. No entanto, esta união tende a ser quimicamente incompatível, porque um é agente redutor e os sanitizantes são, geralmente, oxidantes. Os sulfetos são antimicrobianos e anti-escurecedores, porém interferem no odor e provocam reações alérgicas. Desta forma, o uso de cloretos como inibidores da polifenoloxidase (enzima catalisadora do escurecimento) tem se mostrado bastante promissor. Uma solução 8 mM de cloreto de sódio (pH = 4,5) é eficiente tanto na inibição do crescimento microbiano como no escurecimento de maçãs minimamente processadas (Lu et al., 2006).

Utilização de Compostos Clorados como Agentes Sanitizantes na Pecuária

A água é indispensável à vida e tem grande importância na saúde humana e animal. Diante disso, são necessárias medidas de controle para que a qualidade da água seja própria para o consumo. A verificação da qualidade higiênico-sanitária da água é realizada pelas análises microbiológicas e podem indicar a presença de agentes poluidores (Sguizzardi, 1979).

De acordo com a Resolução número 20 do Conselho Nacional do Meio Ambiente, de 18 de junho de 1986, as águas que se destinam à dessedentação de animais devem ter um número de coliformes fecais até 4.000 por 100 mL e de coliformes totais até 20.000 por 100 mL, em, pelo menos, 80% das amostras analisadas em qualquer mês do ano.

A cloração da água visa, sobretudo, à sanidade. O cloro reage com os microrganismos e também com muitos outros elementos orgânicos ou inorgânicos que podem estar presentes, os quais criam, juntos, uma demanda de cloro. Para Tsai et al. (1992), a demanda de cloro é uma propriedade extrínseca da água, que representa sua capacidade de consumir o cloro em um determinado período de tempo.

Amaral et al. (1999) avaliaram dois tipos de bebedouros utilizados para aves e o incremento da demanda de cloro oferecido na água, realizando contagem de coliformes totais e fecais. Segundo estes autores, independente do tipo de bebedouro utilizado na dessedentação das aves, o tratamento da água é imprescindível à manutenção da qualidade e à eliminação de patógenos. A utilização de bebedouros pendulares, que são

menos deletérios à qualidade da água, e o monitoramento semanal do cloro residual nos bebedouros, visando uma desinfecção satisfatória da água, são medidas preconizadas por Barros et al. (2001).

O cloro é produto comumente utilizado como agente desinfetante nas propriedades leiteiras do Brasil, por ser eficiente e de baixo custo. Entretanto, apresenta, como desvantagem, a sua baixa estabilidade e ocorre a falta de observação dos produtores quanto aos critérios de utilização, pois não se avalia a eficiência e o seu efeito residual (Amaral et al., 2004). Margatho et al. (1998) indicam uma concentração de 150 ppm de cloro ativo para higienização de teteiras, entre uma ordenha de uma vaca e de outra. Entretanto, Amaral et al. (2004) concluíram que a utilização de 150 a 200 ppm de cloro livre, preconizada por Margatho et al. (1998) e indicada pelo BRASIL (1994), para higiene de ordenha (150 ppm), não foi capaz de reduzir o número de microrganismos presentes na superfície interna das teteiras. Portanto, é um procedimento que não contribui para prevenir a transferência de microrganismos para o leite e/ou para a glândula mamária.

Amaral et al. (2004) demonstraram que a quantidade de cloro livre presente na solução utilizada para higienização das teteiras entre as ordenhas de uma vaca e de outra ao final da ordenha é muito pequena, chegando a quase zero, quando se utilizou cloreto de sódio, ou seja, a ação do desinfetante foi praticamente inexistente após a ordenha de 12 vacas.

Os compostos clorados podem ser utilizados na desinfecção de ordenhadeiras, na anti-sepsia dos tetos dos animais e nas mãos dos ordenhadores, visando minimizar a transmissão de agentes patogênicos causadores de mastite e de contaminantes do leite que podem transmitir enfermidades ao homem. Os agentes clorados constituem-se numa eficiente medida profilática da mastite, pelo controle dos microrganismos patogênicos: coliformes fecais e *Staphylococcus* spp., entre outros. Entretanto, deve-se obedecer aos níveis de concentração de cloro ativo preconizados pela OMS, de 200 ppm de hipoclorito ou dicloroisocianurato de sódio durante uma hora de exposição ou 1.000-2.000 ppm por dois minutos. Tratamento com 150 ppm de cloro ativo por 30 segundos, conforme recomendado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, mostrou-se incapaz de reduzir significativamente a população microbiana (Conama, 1986).

O dióxido de cloro é um potente agente oxidante e sanitizante empregado na indústria alimentícia, cujo poder bactericida é sete vezes maior do que o do cloro. Comercializado na forma de gás ou em solução aquosa, o dióxido de cloro é utilizado para desinfecção de verduras, frutas, peixes, frangos e carnes processados, para os quais o Food and Drug Administration (FDA) sugere 3 ppm de dióxido de cloro residual. Han et al. (1999) demonstraram vantagens do uso do gás dióxido de cloro na esterilização de tanques de armazenamento de suco, em relação aos métodos convencionais: fácil controle de fluxo, aplicação prática, custo acessível e ação bactericida e esporicida. Os microorganismos sensíveis à sua ação biocida foram fungos (*Saccharomyces cerevisiae*, *Penicillium* spp. e *Eurotium* spp.) e bactérias (*Bacillus* spp., *Lactobacillus plantarum*, *L. Buchneri*, *Clostridium* spp. e *Leuconostoc mesenteroides*), quando submetidos a uma concentração de 8-10 ppm de gás durante 10-30 min, considerando-se a umidade relativa entre 85 e 95% (Han et al., 1999).

O carpa capim é um peixe de água doce de fácil cultivo, que é utilizado para consumo humano. Por ser de rápida perecibilidade, esta espécie tem limitações de produção e comercialização. A conservação em gelo eleva a vida útil, mas pode ser fonte de contaminação por microorganismos coliformes. Indica-se a adição de cloro ao gelo como método de preservação das propriedades sensoriais do pescado, ao mesmo tempo que se evita a proliferação microbiana. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento recomenda um nível máximo de 5 ppm de cloro residual para que o sabor do produto não seja alterado e sua vida útil seja incrementada em três dias (Scherer et al., 2004).

Utilização de Compostos Clorados como Agentes Sanitizantes na Micropropagação

Na área de micropropagação, os compostos clorados são amplamente utilizados para promover a desinfecção da superfície de explantes e de sementes. A Tabela 1 mostra dados comparativos de alguns dos compostos clorados mais utilizados na micropropagação relacionados à concentração utilizada, tempo da reação e efetividade. O hipoclorito de sódio é comumente utilizado devido à sua eficiência comprovada como agente sanitizante, por ser um produto de fácil aquisição e manuseio e de baixo custo.

Tabela 1: Compostos clorados mais utilizados na micropropagação para desinfecção de superfícies de sementes e explantes (Chawla, 2004)

Agente esterilizante	Concentração utilizada (v/v)	Tempo do tratamento	Efetividade
Hipoclorito de sódio	1 - 1,4%	5 - 30 minutos	Muito efetivo
Hipoclorito de cálcio	9 - 10%	5 - 30 minutos	Muito efetivo
Cloreto de mercúrio	0,01 - 1%	2 - 10 minutos	Satisfatório

Podemos citar, como exemplos, a utilização de compostos clorados para desinfecção de esporos de samambaia (Cox et al., 2003), de explantes de goiaba (Ramirez e Salazar, 2001; Guerra et al., 2001), de juazeiro-de-bode (Sato et al., 2001), de fáfia (Flores et al., 2006), de pessegueiro (Chaves et al., 2004), de sementes de pinus (Von Arnold e Ericksson, 1980), de aroeira (Andrade et al., 2000), entre outros.

Uma nova abordagem que vem sendo utilizada na micropropagação é a adição de hipoclorito de sódio como esterilizante químico do meio nutritivo. Tal procedimento visa à redução do tempo para a esterilização de meios nutritivos, redução de custos de manutenção e consumo pelo uso da autoclave, bem como é uma maneira de se evitar a degradação de determinados componentes do meio de cultura em altas temperaturas durante o processo de autoclavagem.

Nesse sentido, Yanagawa et al. (1995) realizaram o cultivo *in vitro* de sementes de orquídea em meio de cultura, em condições não assépticas, esterilizando o meio nutritivo com hipoclorito de sódio ou água oxigenada, ambos a 0,01%, e pulverizando o interior do frasco de cultura com solução de hipoclorito de sódio a 0,5%, após a inoculação das sementes. Entretanto, Teixeira (2005) estabeleceu um protocolo de preparo de meios de cultura que utiliza o hipoclorito de sódio em concentrações muito abaixo daquelas citadas por Yanagawa et al. (1995). Atualmente, Teixeira et al. (2005a, b, c, d) desenvolveram um protocolo de preparo de meio de cultura utilizando o hipoclorito de sódio com eficiência total.

Teixeira et al. (2006) testaram diferentes concentrações de hipoclorito de sódio como esterilizante do meio nutritivo. Foram realizados seis tratamentos, constituídos de diferentes concentrações de hipoclorito de sódio (p/v): a) meio de cultura sem adição de NaClO, autoclavado (controle A); b) meio de cultura adicionado de 0,0001% de NaClO; c) meio de cultura adicionado de 0,0003% de NaClO; d) meio de cultura adicionado de 0,0005% de NaClO; e) meio de cultura adicionado de 0,0007% de NaClO; f) meio de cultura adicionado de 0,0009% de NaClO, e g) meio sem adição de NaClO, mas sem autoclavar (controle B). Foi observado que as concentrações a partir de 0,0003% de cloro ativo total adicionado ao meio nutritivo resultaram na sua completa esterilização, bem como em culturas com maiores números de brotações e pesos de biomassa fresca.

Referências Bibliográficas

AMARAL, L. A.; ISA, H.; DIAS, L. T.; ROSSI-Jr, O. D.; NADER-FILHO, A. Avaliação da eficiência da desinfecção de teteiras e dos tetos no processo de ordenha mecânica de vacas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 4, p. 173-177, 2004.

AMARAL, L. A.; ROSSI JÚNIOR, O. D.; CARDOSO, V. Qualidade higiênico-sanitária da água de bebedouros pendular e nipple utilizados na criação de frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 1, n. 2, p. 145-148, 1999.

ANDRADE, M. W.; LUZ, J. M. Q.; LACERDA, A. S.; DE MELO, P. R. A. Micropropagação de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 1, p. 174-180, 2000.

ANTONIOLLI, L. R.; BENEDETTI, B. C.; FILHO, M. S. M. S.; BORGES, M. F. Efeito do hipoclorito de sódio sobre a microbiota de abacaxi "Pérola" minimamente processado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, p.157-160, 2005.

ARAÚJO, A. E. S.; CASTRO, A. P. G.; ROSSETTO, C. A. V. Avaliação de metodologia para detecção de fungos em sementes de amendoim. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 26, p. 45-54, 2004.

BARROS, L. S. S.; AMARAL, L. A.; ROSSI JÚNIOR, O. D. Aspectos microbiológicos e demanda de cloro de amostras de água de dessedentação de frangos de corte coletadas em bebedouros pendulares. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 3, n. 2, p. 193-198, 2001.

BARUFFALDI, R.; PENNA, T. C. V.; MACHOSHVILI, I. A.; ABE, L. E. Tratamento químico de hortaliças poluídas. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 18, p. 225-234, 1984.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Normas Técnicas e Higiênico-Sanitárias para produção de Leite tipo B**. Brasília, DF, 1994.

CHAVES, A. C.; SCHUCH, M. W.; BIANCHI, V. J. Desinfestação de explantes de *Prunus* cv. Mr. S. 2/5 com hipoclorito de sódio e cálcio. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 10, n. 2, p. 249-250, 2004.

CHAWLA, H. S. **Introduction to plant biotechnology**. 2. ed. Enfield: Science Publishers, 2004. 538 p.

CONAMA. Resolução nº 20 de 18 de junho de 1986. Diário Oficial da União de 30/7/86.

COX, J.; BHATIA, P.; ASHWATH, N. *In vitro* spore germination of the fern *Schizaea dichotoma*. **Scientia Horticulture**, Amsterdam, v. 97, p. 369-378, 2003.

DRICKS, A. Surface appendages of bacterial spores. **Molecular Microbiology**, Oxford, v. 63, n. 3, p. 623-625, 2007.

EMMANUEL, E.; KECK, G.; BLANCHARD, J.; VERMANDE, P.; PERRODIN, Y. Toxicological effects of disinfections using sodium hypochlorite on aquatic organisms and its contribution to AOX formation in hospital wastewater. **Environment International**, Oxford, v. 30, p. 891-900, 2004.

ESTADOS UNIDOS. Environmental Protection Agency. **Drinking water criteria document for chlorine, hypochlorous acid and hypochlorite ion**. Washington: US Environmental Protection Agency, 1994. 165 p.

ESTRELA, C.; RIBEIRO, R. G.; ESTRELA, C. R. A.; PÉCOR, J. D.; SOUSA-NETO, M. D. Antimicrobial effect of 2% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine tested by different methods. **Brazilian Dental Journal**, Ribeirão Preto, v. 14, n. 1, p. 58-62, 2003.

FLORES, R.; MALDANER, J.; NICOLOSO, F. Otimização da micropropagação de *Pfaffia tuberosa* (Spreng.) Hicken. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 3, p. 845-851, 2006.

GUERRA, M. P.; DAL VESCO, L. L.; DUCROQUET, J. P. H. J.; NODARI, R. O.; REIS, M. S. Somatic embryogenesis in goiabeira serrana: genotype response, auxinic shock and synthetic seeds. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 13, n. 2, p. 117-128, 2001.

HAN, Y.; GUENTERT, A. M.; SMITH, R. S.; LINTON, R. H.; NELSON, P. E. Efficacy of chlorine dioxide gas as a sanitizer for tanks used for aseptic juice storage. **Food Microbiology**, London, v. 16, p. 53-61, 1999.

LAUBUSCH, E. J. Chlorination and other disinfection process. In: AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION. **Water quality and treatment: a handbook of public water supplies**. New York: McGraw-Hill, 1971. p. 158-224.

LU, S.; LUO, Y.; FENG, H.; Inhibition of apple polyphenoloxidase activity by sodium chlorite. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 54, n. 10, p. 3693-3696, 2006.

MACEDO, J. A. B. **Águas & Águas**. Belo Horizonte: ORTFOFARMA, 2000. 505 p..

MACEDO, J. A. B. Uso de derivados clorados orgânicos no processo de desinfecção de água para abastecimento público. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 44., 2004, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Associação Brasileira de Química, 2004.

MARGATHO, L. F.; HIPOLITO, M.; KANETO, C. N. Métodos de prevenção e controle de mastite bovina. **Boletim Técnico**, São Paulo, n. 9, p. 5-35, 1998.

MEYER, S. T. O uso do cloro na desinfecção de águas, a formação de trihalometanos e os riscos potenciais à saúde pública. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 1, p. 99-110, 1994.

NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM. **Toxicology and carcinogenesis studies of chlorinated water (CAS NOS 7782-50-5 and 7681-52-9) and chloraminated water (CAS No. 10599-90-3) (Deionized and charcoal-filtered) in F344/N rats and B6C3F1 mice (drinking water studies).** North Caroline: U.S. Dept. of Health and Human Services, 1992.

RAMIREZ, M.; SALAZAR, E. Establecimiento in vitro de segmentos nodales de guayabo (*Psidium guajava* L.). **Revista de la Facultad de Agronomía**, Maracay, v. 14, p. 497-506, 2001.

SARAN M.; SPEIER, I. B.; FELLERHOFF, B.; BAUER, G. Phagocytic killing of microorganisms by radical processes consequences of the reaction of hydroxyl radicals with chloride yielding chlorine atoms. **Free Radical Biology and Medicina**, New York, v. 26, p. 482-490, 1998.

SATO, A. Y.; DIAS, H. C. T.; ANDRADE, L. A.; SOUZA, V. C. Micropropagação de *Celtis* sp: controle da contaminação e oxidação. **CERNE**, Lavras, v. 7, n. 2, p. 117-123, 2001.

SCHERER, R.; DANIEL, A. P.; AUGUST, P. R.; LAZZARI, R.; LIMA, R. L.; FRIES, L. L. M.; RADUNZ-NETO, J.; EMANUELLI, T. Efeito do gelo clorado sobre parâmetros químicos e microbiológicos da carne de carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 4, p. 680-684, 2004.

SGUIZZARDI, T. I. A água como nutriente para as aves. **Avicultura Industrial**, São Paulo, v. 70, p. 112-122, 1979.

SOUZA, J. A. A. de; CORDEIRO, E. A.; DA COSTA, E. L. Aplicação de hipoclorito de sódio para recuperação de gotejadores entupidos em irrigação com água ferruginosa. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 10, n. 1, p. 5-9, 2003.

TSAI, C. T.; KUO, C. T.; LIN, S. T. Analysis of organic halides in hospital waste sludge disinfected using sodium hypochlorite (NaOCl). **Water Research**, Amsterdam, v. 33, p. 778-784, 1998.

TSAI, L. S.; SCHADE, J. E.; MOLYNEUX, B. T. Chlorination of poultry chiller water: chlorine demand and disinfection efficiency. **Poultry Science**, Champaign, v. 71, n. 1, p. 188-196, 1992.

TEIXEIRA, S. L. Chemical sterilization of culture media. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 23, n. 2, p. 668, 2005.

TEIXEIRA, S. L.; CAMPANATI, M.; TEIXEIRA, M. T.; ALMEIDA, R. F. Sterilization of nutrient medium for plant tissue culture, by combining chemical sterilants with microwave oven. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 52, n. 301, p. 343-349, 2005a.

TEIXEIRA, S. L.; TEIXEIRA, M. T.; RIBEIRO, J. M. Chemical sterilization of culture medium: 1. culture flasks and covers - rinsing with chlorinated water. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 23, n.2, p. 591, 2005b.

TEIXEIRA, S.L.; TEIXEIRA, M. T.; RIBEIRO, J. M. Chemical sterilization of culture medium: addition of sodium hypochlorite to the medium. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 23, n. 2, p. 591, 2005c.

TEIXEIRA, S. L.; RIBEIRO, J. M.; TEIXEIRA, M. T. Chemical sterilization of culture medium: 3. flasks filling and medium inoculation under non-sterile environment. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 23, n.2, p. 592, 2005d.

TEIXEIRA, S. L.; RIBEIRO, J. M.; TEIXEIRA, M. T. Influence of NaClO on nutrient medium sterilization and on pineapple (*Ananas comosus* cv Smooth cayenne) behavior. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Hague, v. 86, n. 3, p. 375-378, 2006.

VON ARNOLD, S.; ERICKSSON, T. *In vitro* studies of adventitious shoot formation in *Pinus contorta*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 59, p. 870-874, 1980.

YANAGAWA, T.; NAGAI, M., OGINO, T.; MAEGUCHI, R. Application of disinfectants to orchid seeds, plantlets and media as a means to prevent *in vitro* contamination. **Lindleyana**, West Palm Beach, v. 10, n. 1, p.33-36, 1995.



Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento



CGPE 6760