



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
ESCOLA DE NUTRIÇÃO
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS



TALITA LAFETÁ SANTOS

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE *CHIPS* DE INHAME (*Dioscorea*
sp.) *IN NATURA* E OBTIDO POR DIFERENTES MÉTODOS DE
COCÇÃO**

OURO PRETO

2021

TALITA LAFETÁ SANTOS

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE *CHIPS* DE INHAME (*Dioscorea*
sp.) *IN NATURA* E OBTIDO POR DIFERENTES MÉTODOS DE
COCCÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Colegiado do Curso de Nutrição da Escola de
Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto,
como requisito parcial para obtenção do grau de
Nutricionista.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria Tereza de Freitas
Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Simone de Fátima
Viana da Cunha

OURO PRETO

2021

FOLHA DE APROVAÇÃO



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
ESCOLA DE NUTRIÇÃO



Ata da Defesa do Trabalho de Conclusão de Curso intitulado:

“Qualidade microbiológica de *chips* de inhame (*Dioscorea sp.*) obtido por diferentes métodos de cocção”.

Aos dez dias do mês de dezembro de 2021, remotamente (on-line) pelo aplicativo Google Meet no link: <https://meet.google.com/fov-ownn-vxn?hs=122&authuser=0>, para a Escola de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto, reuniu-se a Banca Examinadora do Trabalho de Conclusão de Curso da estudante **Talita Lafetá Santos** orientada pela Profª. Maria Tereza de Freitas. A defesa iniciou-se pela apresentação oral feita pela estudante, seguida da arguição pelos membros da banca. Ao final, os membros da banca examinadora reuniram-se e decidiram por aprovar a estudante.

Membros da Banca Examinadora:

MARIA TEREZA DE FREITAS: 78990165687
Assinado de forma digital por MARIA TEREZA DE FREITAS: 78990165687
Dados: 2021.12.10 16:36:22 -03'00'
Profª. Maria Tereza de Freitas
Presidente (DEALI/ENUT/UFOP)

SIMONE DE FATIMA VIANA DA CUNHA: 00840016662
Assinado de forma digital por SIMONE DE FATIMA VIANA DA CUNHA: 00840016662
Dados: 2021.12.10 13:30:21 -03'00'
Profª. Simone de Fátima Viana da Cunha
Coorientadora

CLAUDIA ANTONIA A AMARAL: 75872730891
Assinado digitalmente por CLAUDIA ANTONIA A AMARAL: 75872730891
Dados: 2021.12.10 20:57:35-03'00'
Profª. Cláudia Antônia Alcântara Amaral
Examinadora (DEALI/ENUT/UFOP)

MICHELE CRISTINA VIEIRA: 06361372600
Assinado de forma digital por MICHELE CRISTINA VIEIRA: 06361372600
Dados: 2021.12.10 16:08:36 -03'00'
Mestra Michele Cristina Vieira
Examinadora (UFVJM)

AGRADECIMENTOS

Em especial agradeço a minha mãe, Marta, por acreditar em mim, me dar forças para alcançar meus objetivos e correr atrás deles. Nada seria possível sem você!

Ao meu irmão Victor, por ser meu porto seguro.

À minha família e amigos de anos, em especial à Camila por me ajudar quando eu não sabia o que fazer.

Às amigas feitas durante essa trajetória, em especial Isabella, Natalia e Sirlaine por tornarem essa caminhada mais leve.

À República Xamego por ter me acolhido por todos esses anos. Pelas amizades, ensinamentos e uma segunda família que vou levar para toda a vida.

Ao meu namorado Vinícius, por todo o cuidado e cumplicidade.

À minha orientadora Dra. Maria Tereza, que me recebeu com muito carinho e paciência, por toda a dedicação e confiança. Obrigada por me ensinar tanto e manter o pensamento positivo mesmo nas adversidades. Gratidão!

À minha coorientadora Dra. Simone, por toda a ajuda e dedicação.

À banca por aceitar contribuir com esse trabalho.

À Universidade Federal de Ouro Preto por me permitir vivenciar todos esses momentos e a crescer com eles

RESUMO

O inhame é um tubérculo nutritivo contendo principalmente carboidratos, vitaminas e minerais. A forma de consumo doméstica mais comum é a cozida, entretanto, assim como outras amiláceas, ele possui potencial para outras formas de consumo. Assim, foi desenvolvido um projeto para elaboração de *chips* de inhame em diferentes formas de cocção: fritura, assado em forno convencional e em forno combinado. Os *chips* foram confeccionados no Laboratório de Técnica Dietética da Escola de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto. As preparações obtidas foram submetidas a análises microbiológicas específicas para verificação da qualidade higiênico-sanitária e para estimar a durabilidade do produto. As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Escola de Nutrição. Foram feitas as análises de coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli* e bolores e leveduras para amostras de inhame *in natura* e nos três tipos de processamento do chips: frito, forno combinado e convencional. Os resultados das análises foram comparados aos padrões microbiológicos estipulados pela Resolução da Diretoria Colegiada 331/2019 e Instrução Normativa 60/2019 e à literatura. Os resultados demonstraram que tanto o inhame *in natura* quanto os diferentes tipos de *chips* encontram-se com padrões microbiológicos satisfatórios em relação à legislação vigente e à literatura, com valores $< 3,0 \text{ NMP g}^{-1}$ para coliformes totais e termotolerantes e ausência de *E. coli* bem como valores inferiores a 4 Log UFC g^{-1} de bolores e leveduras. Com base nestes parâmetros o armazenamento doméstico para *chips* obtido por forno convencional seria de até 5 dias e de 10 dias para os *chips* obtidos por fritura e assado em forno combinado. Vale ressaltar a importância da realização de um estudo de vida de prateleira destes produtos para se estipular a qualidade completa.

Palavras-chave: Bolores e leveduras. *Escherichia coli*. Microrganismos indicadores. Assado. Fritura por imersão.

ABSTRACT

Yam is a nutritious tuber vegetable containing mainly carbohydrates, vitamins and minerals. The most common form of domestic consumption is cooked, however, like other starches, it has the potential for other forms of consumption. Thus, a project was developed with the elaboration of yam chips in different ways of being cooked: frying, roasting in a conventional oven and in a combined oven. The chips were made in the Dietetic Technique Laboratory of the School of Nutrition (ENUT) of the Federal University of Ouro Preto. The preparations obtained were submitted for specific microbiological analysis to verify the hygienic-sanitary quality, as well as to support the verification of the product's durability. Microbiological analyses were performed at ENUT's Food Microbiology Laboratory. Analysis of total coliforms, thermotolerant coliforms, *Escherichia coli*, molds and yeasts were carried out for fresh yam samples and in the three types of chip processes: fried, combined oven and conventional. The results of the analyses were compared to the microbiological standards stipulated by the Collegiate Board Resolution 331/2019 and Normative Instruction 60/2019 and to the literature. The results showed that both the in “natura” yam and the different types of chips meet microbiological standards and the literature. The results showed that both in “natura” yam and the different types of chips meet satisfactory microbiological standards in relation to current legislation and the literature, with values < 3.0 NMP g⁻¹ for total and thermotolerant coliforms and absence of *E. coli* as well as values below 4 Log CFU g⁻¹ of molds and yeasts. Thus, based on these parameters, the domestic storage for chips obtained by conventional oven would be up to 5 days and 10 days for chips obtained by frying and roasting in a combined oven. It would also be important to carry out a complete shelf-life study of these products to determine the complete quality of the product.

Keywords: Molds and yeasts. *Escherichia coli*. Indicator microorganisms. Roast. Deep-frying.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Inhame <i>in natura</i>	14
Figura 2.	Distribuição dos 10 agentes etiológicos mais identificados nos surtos de DTA ² Brasil, 2009 a 2018.....	19
Figura 3.	Colônias típicas para <i>E. coli</i> no ágar EMB e resultados obtidos nos testes.....	28
Figura 4.	Resultados dos testes VM e produção de indol.....	28
Figura 5.	Crescimento fúngico visível na amostra de <i>chips</i> em forno convencional	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Resultados das triplicatas dos testes presuntivo e confirmativo para coliformes totais e termotolerantes da amostra de inhame <i>in natura</i> (NMP/g)	27
Tabela 2.	Características dos testes e resultados para confirmação da presença de <i>E. coli</i> a partir dos tubos positivos para coliformes termotolerantes.....	27
Tabela 3.	Média das contagens de coliformes totais, termotolerantes (NMP/g) nas amostras de <i>chips</i> de inhame preparados no forno convencional, forno combinado e por fritura nos diferentes tempos de armazenamento.....	30
Tabela 4.	Média das contagens de bolores e leveduras (Log UFC g ⁻¹) nas amostras de <i>chips</i> de inhame preparados no forno convencional, forno combinado e por fritura nos diferentes tempos de armazenamento.....	32

LISTA DE ABREVIações

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

APHA :*American Public Health Association*

BDA: Ágar Batata Dextrose

BOD: Demanda Bioquímica de Oxigênio

DTA: Doenças Transmitidas por Alimentos

EC: *Escherichia coli*

EMB: Eosina Azul de Metileno

ENUT: Escola de Nutrição

ICMSF: *International Commission on Microbiological Specifications for Foods*

IN: Instrução Normativa

LST: Lauril Sulfato Triptose

NMP: Número Mais Provável

POF: Pesquisa de Orçamentos Familiares

RDC: Resolução da Diretoria Colegiada

SIM: Indol Sulfeto Motilidade

UFOP: Universidade Federal de Ouro Preto

UFS: Universidade Federal de Sergipe

VB: Verde brilhante

VM: Vermelho de Metila

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS.....	13
3 REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
3.1 Inhame	14
3.2 Chips.....	15
3.3 Qualidade Microbiológica.....	16
3.3.1 Doenças transmitidas por alimentos.....	18
3.3.2 Deterioração de alimentos.....	19
3.3.3 Microrganismos Indicadores.....	20
3.3.3.1 Escherichia Coli.....	20
3.3.3.2 Bolores e Leveduras.....	21
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	23
4.1 Amostras.....	23
4.2 Análises Microbiológicas.....	23
4.2.1 Preparo das amostras.....	23
4.2.2 Contagem de coliformes totais e termotolerantes.....	23
4.2.3 Confirmação de Escherichia Coli.....	24
4.2.4 Contagem de bolores e leveduras.....	25
4.3 Análises dos Resultados.....	26
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
5.1 Coliformes Totais, Termotolerantes e <i>E. coli</i>.....	27
5.2 Contagem de Bolores e Leveduras.....	32
6 CONCLUSÃO.....	35
7 REFERÊNCIAS.....	36

1. INTRODUÇÃO

O inhame (*Dioscorea* sp.) é uma amilácea bastante cultivada, sendo produzido há mais de 2000 anos em regiões de clima tropical e subtropical (LEONEL, CEREDA 2002). É uma hortaliça, tipo tubérculo, rica em carboidratos, contendo também aminoácidos essenciais, minerais como o cloro, silício, fósforo, alumínio, ferro, manganês, potássio e sódio. Possui também vitaminas do complexo B: tiamina (vitamina B1), riboflavina (vitamina B2), niacina (vitamina B5), ácido ascórbico (vitamina C) e pró-vitamina A (MOLLICA, 2011).

O inhame também tem sido apontado como um alimento rico em diosgenina, alantoína e dioscorina (HATA, *et al.*, 2003; YANG, *et al.*, 2003) que são metabólitos secundários e bioativos importantes por seus efeitos farmacológicos apresentando atividades anti-inflamatórias e imunomoduladoras distintas (LIN, 2006; LIN, 2008).

O inhame possui uma tradição de cultivo e um apelo cultural que fomenta o interesse crescente pelo desenvolvimento de produtos que têm como base raízes tropicais. Tradicionalmente, o preparo do inhame na cozinha doméstica é na forma cozida, no entanto a indústria de alimentos já promove processos de obtenção de subprodutos de inhame. A industrialização do inhame inclui a obtenção de produtos pré-processados; produtos em conserva; assados ou forneados; desidratados como amido, goma, farinhas, grânulos e flocos; produtos fermentados; produtos panificáveis; produtos gelados e de sorveteria (LIMA, 2002).

Dentro dessa potencialidade, o *chips* de inhame se apresenta como outra alternativa de desenvolvimento industrial, mas que pode se tornar também habitual no preparo doméstico. O *chips* é tradicionalmente obtido a partir da desidratação, fritura ou forneamento. O termo *chips* foi criado por americanos para se referir a lâminas finas de batata inglesa, submetidas ao processo de fritura em óleo ou gordura. Posteriormente, o termo foi estendido para outras matérias-primas amiláceas, submetidas a processos tecnológicos diferenciados como desidratação e extrusão (FERRAREZZO, 2011). De forma geral, o *chips* não é consumido nas principais refeições, mas como pequeno lanche.

O mercado de *chips*, *snacks* e salgadinhos é crescente, principalmente nos grandes centros urbanos, devido à praticidade como umas das formas de compensar a falta de tempo das pessoas (MIN; KIN; HAN, 2010). Além disso, as pessoas estão cada vez mais preocupadas com a qualidade nutricional dos alimentos, daí a importância do desenvolvimento de produtos mais naturais, resgatando a culinária, avaliando-se o processo de cocção que proporcione o melhor resultado tanto de composição de nutrientes quanto das características sensoriais e

qualidades microbiológicas (CRUZ, SCHNEIDER 2010). No conceito de qualidade de alimentos muitas vezes se desconhece a condição intrínseca de segurança alimentar, referente à influência deste alimento sobre a saúde do consumidor. Os alimentos podem sofrer contaminações de origem biológica, física ou química durante as diversas etapas do processamento. Assim, é necessário o controle das condições higiênico-sanitárias nos locais onde os alimentos são manipulados para o consumo humano (KOCHANOSKI, 2009).

A análise microbiológica é muito importante como forma de monitorar a presença de microrganismos patogênicos e deteriorantes em alimentos, permitindo o monitoramento dos processos. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por meio da Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 331, de 23 de dezembro de 2019 estabelece os padrões microbiológicos de alimentos e sua aplicação e da Instrução Normativa 60 (IN 60), de 23 de dezembro de 2019, que estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. Assim, o inhame se enquadra na categoria geral “hortaliças, raízes, tubérculos, fungos comestíveis e derivados” e nas seguintes categorias específicas "In natura", inteiros, selecionados ou não para o inhame cru e na categoria “Secos, desidratados ou liofilizados” para os *chips* preparados (BRASIL, 2019a; BRASIL, 2019b).

Diante disso, o presente trabalho analisou a qualidade microbiológica do *chips* de inhame *in natura* e obtido por fritura, forneamento convencional e por forno combinado, visando verificar o enquadramento à legislação vigente em relação aos parâmetros microbiológicos de quantificação de *E. coli*, bolores e leveduras.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar a qualidade microbiológica dos *chips* de inhame obtidos por diferentes métodos de cocção.

2.2 Específicos

- Realizar a quantificação de microrganismos indicadores: bolores e leveduras; coliformes totais, termotolerantes e *E. coli* nas amostras de inhame cru e *chips* obtidos por fritura e assados.
- Comparar os resultados das análises com a legislação vigente e com a literatura.
- Estabelecer um prazo de consumo seguro do alimento com base nos resultados microbiológicos.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Inhame

O inhame é uma hortaliça do gênero *Dioscorea*, pertencente à família *Dioscoreaceae* (figura 1). É um tubérculo com afinidade à clima tropical e subtropical que está presente em diversos países. Possui sua origem em colônias inglesas e francesas do continente africano e, por meio de colonizadores portugueses e espanhóis, chegou à América do Sul. No Brasil, sua produção se apresenta em maior quantidade na região nordeste do país, visto que a região possui condições climatológicas e solo favoráveis ao crescimento da espécie (SILVA, 2019).

Figura 1 – Inhame (*Dioscorea* sp.)



Fonte: google imagens [https://Inhame \(saofranciscoonline.com\)](https://Inhame (saofranciscoonline.com))

Esta planta detém de uma alta qualidade tanto energética quanto nutritiva e possui um valor acessível à população, consoante ao baixo custo de produção devido a seu alto rendimento unitário por área plantada, sendo um alimento de baixo custo econômico (FILHO, RAMOS, HIANE 1997).

A partir do ponto de vista nutricional, o inhame possui em média 28,1 – 29,5% de matéria seca com 70,3 – 79,5% de amido, 1,7 – 4,3% de açúcares totais, 0,1 – 0,7% de açúcares redutores, 0,6 – 2,9% de fibras, 4,6 – 7,1% de proteínas (LEONEL, CEREDA 2002). Além disso, possui baixo índice glicêmico, ou seja, têm baixa capacidade de elevar a glicose sanguínea. É considerado um alimento com propriedade funcional, dado a possuir alguns compostos bioativos como vasantocianinas, os polifenóis e as saponinas que são considerados benéficos à saúde. Possui também um alto valor energético e uma gama de micronutrientes como as vitaminas, tanto lipossolúveis como as hidrossolúveis, principalmente as do complexo B (B1, B6), vitamina C e minerais como fósforo, cálcio e ferro (LEONEL, CEREDA 2002).

Segundo a última Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) 2017 – 2018, a participação do consumo de raízes e tubérculos da população brasileira, o qual se enquadra o inhame, corresponde a 1,2% do total de calorias por domicílio no país, medida por meio da compra alimentar domiciliar (IBGE, 2020).

Há diversas formas de consumo dessa hortaliça, sendo algumas delas como purê, torta, farinha, bolos, pães e sopas, incluindo as utilizadas na alimentação infantil, dado à fácil digestibilidade de seu amido. No entanto, como seu consumo se define em alimentos *in natura*, o inhame perde seu reconhecimento por não ser amplamente comercializado, como outros alimentos que ganharam um reconhecimento industrial como, por exemplo, a batata (BONETTI, 2017).

3.2 Chips

A expressão *chips* surgiu no continente norte americano no ano de 1853. O termo descrevia finas fatias de batata frita preparada em gordura ou óleo. Atualmente, o *chips* pode ser considerado fatias finas de diversas amiláceas, submetidos não apenas à fritura como também ao forno, extrusão e ao processo de secagem. Um dos pontos importantes na produção deste alimento é a sua crocância, sendo significativo para a aceitação do consumidor e como determinante de qualidade, seguido por aroma, cor e sabor (SILVA, 2019).

Nos dias atuais, entende-se a necessidade da reformulação de *chips* com melhores características, logo, pesquisadores vêm formulando diferentes formas de fabricação do *chips* para que seu consumo traga melhores características sensoriais e nutricionais. Já se têm estudos com *chips* de batata-doce, mandioquinha, aipim, inhame e algumas frutas como maçã e abacaxi, objetivando aumentar o consumo de alimentos nutritivos de forma mais rápida e prática (SILVA, 2019).

O *chips* é considerado um alimento de conveniência, não sendo ideal para consumo nas refeições principais e sim para o intervalo entre as refeições, como uma forma rápida de alimentação. Apesar de ser consumido em todas as idades, se destina em maior parte à população infantil e juvenil. No entanto, sob o ponto de vista nutricional, o *chips* tradicional não é uma boa alternativa para a alimentação, tendo em vista seu alto teor de ácidos graxos saturados, contendo ou não ácidos graxos *trans*. Seu elevado consumo pode causar problemas cardiovasculares (JORGE, 2010).

A obtenção do *chips* envolve a desidratação do produto e a fritura é um dos métodos de cocção mais empregados. O ato de fritar alimentos é um dos métodos de cocção de maior aceitação mundial, não apenas pelo sabor e textura crocante que ele proporciona ao alimento e pela rapidez do preparo. Contudo, o alto consumo de frituras é considerado um fator de risco para a saúde devido ao alto teor calórico que eles apresentam às custas do óleo absorvido e a formação de compostos tóxicos que são relacionados ao desenvolvimento da doença cardiovascular e a alguns tipos de câncer (HURTADO, 2008).

No processo de assar utilizam-se os fornos. No forno convencional o calor é transmitido por convecção, portanto a fonte de aquecimento localiza-se na parte inferior do equipamento. No processo de convecção o calor desloca-se para a porção superior, substituindo continuamente a porção mais fria. Assim, a corrente de convecção cria uma temperatura uniforme no centro do forno, com porções mais quentes próximas às paredes, possibilitando uma cocção mais adequada (ARAÚJO, 2013). Já o forno combinado surgiu na Alemanha por volta de 1976, sendo desenvolvido pela junção do “*steamer*” (cozimento a vapor) e do forno de convecção (calor seco, ar quente). Portanto, o forno combinado ao utilizar as duas funções combinadas, possibilita a obtenção de produtos com melhores características sensoriais (SANT’ANA, 1998).

O forno combinado se destaca por sua eficiência, reduzindo o tempo de preparo e o desperdício, melhorando a apresentação dos pratos e por não requerer a utilização de gordura. A combinação das formas de cocção proporciona ao alimento preparado no forno combinado um aquecimento homogêneo, prevenindo o ressecamento e garantindo uma cocção uniforme. A cocção no forno combinado preserva as características sensoriais e nutricionais dos alimentos (PROENÇA, 1997; ALVES, *et al.*, 2011).

3.3 Qualidade Microbiológica

A qualidade microbiológica de um alimento é fundamental para identificar medidas de controle que garantam sua segurança do consumo alimentar. Antes de um alimento ser comercializado há a necessidade de identificar seu grau de contaminação que é analisado a partir da carga microbiana presente. Quando os microrganismos se encontram em condições de crescimento, podem alterar os traços químicos e físicos causando adulteração nos alimentos (SILVA, 2002).

Para que haja condições sanitárias próprias para consumo é necessário que no objeto de análise não sejam encontrados microrganismos patogênicos. A presença de patógenos pode apresentar riscos à saúde do consumidor como infecções e intoxicações por meio do consumo de um alimento contaminado. Desta maneira a avaliação da qualidade microbiológica alimentar é importante para averiguar a segurança no consumo de alimentos (SILVA, 2002).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária publicou a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 331 de 23 de dezembro de 2019, que estabelece os padrões microbiológicos de alimentos e sua aplicação, o qual se estende a todas as etapas de produção (BRASIL, 2019a). Tal resolução é uma atualização da legislação anterior. Concomitantemente foi publicada a Instrução Normativa (IN) nº 60 de 23 de dezembro de 2019 (BRASIL, 2019b) que estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos prontos para oferta ao consumidor e se aplica de maneira complementar à RDC nº 331 (BRASIL, 2019a).

Os padrões microbiológicos são estabelecidos para apoiar a tomada de decisão sobre um alimento baseado em testes microbiológicos, ou seja, são parâmetros usados para verificar se o alimento à venda e ou pronto para o consumo, é seguro e adequado, e se os controles de manuseio e as práticas de higiene de uma empresa de alimentos são adequados (BRASIL, 2019a).

Dos requisitos gerais para os padrões microbiológicos, os alimentos não podem apresentar microrganismos patogênicos ou toxinas que causam danos à saúde do consumidor. Para isso, tem-se o prazo de validade, o qual garante padrões microbiológicos seguros durante sua vigência, as avaliações periódicas e frequências de análises como determina a IN nº 60 (BRASIL, 2019b). O inhame se enquadra nos padrões microbiológicos da categoria de “hortaliças, raízes, tubérculos, fungos comestíveis e derivados”. Nele temos categorias específicas que se enquadram em diferentes formas de preparação, com determinação de diferentes microrganismos para definição da qualidade microbiológica. Para a categoria *in natura* os microrganismos verificáveis são a *Salmonella* e *Escherichia coli*, já o *chips* se enquadra na categoria “secos, desidratados ou liofilizados” que têm como microrganismos a serem avaliados a *Salmonella*, *E. coli* e bolores e leveduras (BRASIL, 2019b).

3.3.1 Doenças Transmitidas por Alimentos

Ocasionadas pela ingestão de alimentos e ou água contaminados por microrganismos e ou suas toxinas, parasitas e agentes químicos, as Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA)

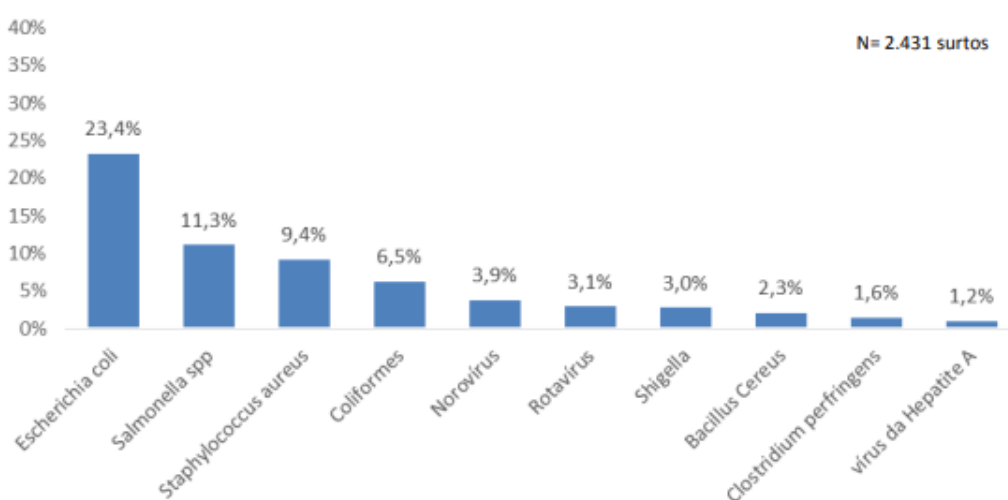
são causas de mortalidade e morbidade em todo o globo (BRASIL, 2020). Com o aumento da globalização, do processo desordenado da urbanização, da produção de alimentos em grande escala e dos famosos *fast-food*, a vigilância, prevenção e controle das DTA têm se tornado cada vez mais importantes (BRASIL, 2010).

Devido aos perigos oferecidos pela DTA, foi criado o Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos (VE-DTA), que possui como objetivo a redução de DTA no Brasil sendo dividido em áreas participantes a qual envolve a vigilância epidemiológica, vigilância sanitária, saneamento, entre outros, que em seus diferentes níveis hierárquicos, visam a proteção da saúde pública (BRASIL, 2010).

Dentre os dados epidemiológicos disponíveis, os surtos de DTA têm como principais agentes etiológicos os fungos, bactérias, parasitas, vírus, agentes químicos e substâncias tóxicas de origem vegetal e animal, sendo necessário o controle adequado da contaminação por meio da higiene e práticas de manipulações preestabelecidas pelas legislações vigentes oferecidas pela ANVISA (ÁVILA, 2016).

De acordo com os dados obtidos pela figura 2, observa-se que, entre os anos de 2009 a 2018, os agentes etiológicos com maior percentual de surtos de DTA foram a *E. Coli*, *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus* e os coliformes.

Figura 2 - Distribuição dos 10 agentes etiológicos mais identificados nos surtos de DTA² Brasil, 2009 a 2018*



Fonte: Sinan/SVS/Ministério da Saúde (2021)

*Dados preliminares, sujeitos a alteração

Dentre os fatores de risco, a susceptibilidade do indivíduo em relação à DTA está relacionada a sua idade, higiene pessoal, susceptibilidade genética, além de uma alimentação

inadequada (FORSYTHE, 2013). A DTA possui como sintomas mais comuns náusea, vômitos, dores abdominais, diarreia, falta de apetite e febre a depender do tipo de infecção, em alguns casos podem ocorrer sequelas mais graves e inclusive óbitos (BRASIL, 2020).

3.3.2 Deterioração dos alimentos

A deterioração dos alimentos consiste na alteração do alimento que o torna inaceitável para o consumo. Dentre as causas estão os danos causados por insetos, danos físicos (radiação, pressão, congelamento e batidas, cortes, perfurações), alterações químicas ou enzimáticas e atividade de bactérias, fungos filamentosos (bolors) e leveduras (FORSYTHE, 2013).

As reações ocasionadas por bactérias, bolors e leveduras é considerada como deterioração microbiana de alimentos, a qual vem sendo um problema econômico em todo o mundo, ocasionando em altas taxas de desperdício de alimentos (PINTO, LANDGRAF, FRANCO, 2019). Alguns microrganismos podem até mesmo estar presentes inicialmente no alimento e se desenvolver quando em condições favoráveis. No entanto, mecanismos que constituem a deterioração bacteriana de alimentos são pouco conhecidos, não havendo conhecimento sobre a identificação de microrganismos específicos relacionados à composição dos alimentos (FORSYTHE, 2013).

Durante o armazenamento, é possível o aumento da flora microbiana do alimento que pode ocasionar na deterioração específica por mudanças químicas e a produção de certos odores nos alimentos. A vida de prateleira é definida a partir da multiplicação da flora microbiana inicial e é fundamental para todos os alimentos. A vida de prateleira está relacionada à qualidade inicial do alimento até o ponto em que se torna inaceitável para o consumo. As embalagens em alguns casos podem inibir a proliferação deteriorante, como é o caso de embalagens com atmosfera modificada (FORSYTHE, 2013).

3.3.3 Microrganismos Indicadores

Realizar rotineiramente a análise microbiológica de alimentos identificando toda a microbiota presente é impraticável, portanto, o uso de microrganismos indicadores foi sugerido como forma de avaliação (HAYES, 1995).

Os microrganismos indicadores são microrganismos que possuem evidência direta a uma característica específica da amostra, sendo proporcionada por sua ausência ou presença.

Os indicadores avaliam a higiene e segurança dos alimentos, análise de tendências, análise investigativa e processamento inadequado. Os coliformes, por exemplo, são geralmente utilizados para analisar problemas relacionados ao tratamento térmico e ao pós-processamento (FORSYTHE, 2013; FOODS 2015).

Os microrganismos indicadores podem ser classificados em três condições, sendo elas respectivamente, aquelas em que o risco microbiológico diminui entre a produção e o consumo, aquelas a qual o nível não se altera e aquelas em que o perigo microbiológico aumenta entre a produção e o consumo (FOODS, 2015).

3.3.3.1 *Escherichia coli*

Em 1945, o John Brian confirmou que a bactéria *Escherichia coli*, já identificada em 1885 pelo médico Theodor Escherich, podia estar associada à diarreia em crianças na Inglaterra. Há diferentes tipos de *E. coli*, que se encontram no intestino de indivíduos saudáveis e as patogênicas associadas a quadros de diarreia. Algumas delas estão ligadas à lesão no epitélio intestinal, entre outras. Apesar de ter sido encontrada em países desenvolvidos, a bactéria também é causa de males nos países em desenvolvimento, a qual mesmo sendo mais comum em crianças, pode afetar os adultos, sendo uma problemática de saúde pública nesses locais (TRABULSI, ATHERUM, 2015).

Na produção de alimentos a *E. coli* é utilizada como microrganismo indicador para avaliar a condição sanitária e a contaminação fecal de um alimento. O uso da *E. coli* como indicador de contaminação fecal é válido para alimentos *in natura* já que esta bactéria pode se tornar comum nos ambientes de manufatura de alimentos, passando a fazer parte da microbiota residente, principalmente se as condições de limpeza forem inadequadas. Assim, para alimentos processados a *E. coli* indica condições de manuseio, higiene deficientes e processamento ineficaz. Ressaltando-se que outros patógenos e deterioradores também poderão estar (SILVA, 2010).

3.3.3.2 Bolores e Leveduras

Os bolores são microrganismos filamentosos, pertencentes ao gênero de fungos, geralmente aeróbios. Conseguem utilizar um grande número de substratos como ácidos orgânicos, proteínas, lipídios, mas principalmente os carboidratos. Como muitos são produtores de enzimas hidrolíticas conseguem degradar polissacarídeos como amido e pectina. Sua

deterioração torna os produtos alimentícios intoleráveis, visto que a deterioração pode ser vista a olho nu (PINTO, LANDGRAF, FRANCO, 2019).

As leveduras, assim como os bolores, são gêneros de fungos e deterioram carboidratos seja por oxidação ou fermentação, os alimentos que apresentem condições seletivas favoráveis ao seu desenvolvimento como baixo pH e atividade de água inferior a 0,94 serão os mais utilizados, o que é o caso de muitos vegetais (PINTO, LANDGRAF, FRANCO, 2019).

O crescimento de bolores e leveduras é mais lento do que o de bactérias, portanto em alimentos de baixa acidez e alta atividade de água, dificilmente serão responsáveis pela deterioração. Por outro lado, em alimentos ácidos e de baixa atividade de água, o crescimento de fungos é maior, provocando deterioração com grande prejuízo econômico em frutas frescas, vegetais e cereais. São também responsáveis pela deterioração de suco de frutas, queijos, alimentos congelados, desidratados e em conserva, quando armazenados em condições inadequadas. Portanto, em contagens elevadas indicam insatisfatórias condições higiênicas e sanitárias de processamento e ou estocagem inadequada. Também oferecem risco à saúde pública pela produção de micotoxinas, especificamente pelos bolores (FRANCO, LANDGRAF 2013).

A deterioração causada por bolores e leveduras é evidenciada por áreas amolecidas e crescimento de micélio (bolores) que pode ser visto por diferentes colorações na superfície do alimento (PINTO, LANDGRAF, FRANCO, 2019).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Amostras

As amostras foram obtidas das preparações elaboradas no Laboratório de Técnica Dietética da Escola de Nutrição (ENUT) da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP). Sendo preparados três tipos de *chips* de inhame pelos métodos de fritura por imersão, forno convencional e forno combinado. O preparo das amostras foi realizado em parceria ao trabalho “Avaliação Nutricional de *Chips* de Inhame Preparado por Diferentes Técnicas de Cocção” executado por Santos, 2021.

4.2 Análises microbiológicas

As análises foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos da ENUT da UFOP. Amostras do inhame *in natura* e as amostras de *chips* foram submetidas à análise de coliformes totais, termotolerantes e *Escherichia coli* e contagem de bolores e leveduras. As análises foram realizadas nos tempos de armazenamento do produto: tempo zero (no dia do preparo), 5 dias e 10 dias como indicadores da durabilidade do produto. As amostras permaneceram armazenadas em potes plásticos vedados à temperatura ambiente no Laboratório de Técnica Dietética.

Todas as análises foram feitas em triplicata e de acordo com as metodologias recomendadas pela *American Public Health Association* - APHA (SVEUM *et al.*, 1992), conforme descrito a seguir.

4.2.1 Preparo das Amostras

Foram pesados 25 gramas de cada amostra para cada análise (coliformes e bolores e leveduras). As amostras foram depositadas em erlenmeyer, previamente esterilizado, com solução salina peptonada tamponada estéril (225mL) e, em seguida, homogeneizadas por 2 minutos, resultando na diluição 10^{-1} .

4.2.2 Contagem de coliformes totais e termotolerantes

a) Prova Presuntiva

Para a contagem de coliformes totais e termotolerantes, inicialmente foi realizada a prova presuntiva pela técnica do Número Mais Provável (NMP) que se baseia na inoculação das diluições desejadas das amostras em caldo lauril sulfato triptose (caldo LST). Foram

preparadas três diluições decimais seriadas das amostras (10^{-1} ; 10^{-2} e 10^{-3}) e 1 ml de cada uma delas foi inoculado em três tubos de ensaio com o caldo LST estéril contendo tubos de Durhan invertidos, obtendo-se assim, três séries de três tubos. Os tubos foram incubados em estufa B.O.D a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 a 48h. Após a incubação os tubos que apresentaram positividade, ou seja, apresentaram turvação e presença de bolhas de gás nos tubos de Durhan (que evidencia a fermentação da lactose presente no meio) foram submetidos aos testes confirmativos para coliformes totais e termotolerantes.

b) Prova confirmativa

Os tubos positivos do teste presuntivo foram submetidos à prova confirmativa para coliformes totais. A confirmação da presença de coliformes totais foi feita por meio da inoculação de uma alçada dos tubos positivos do teste presuntivo, em tubos contendo caldo verde brilhante bile 2% lactose (caldo VB) e tubos de Durhan invertidos com posterior incubação a $35^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 a 48 horas em B.O.D.

A confirmação da presença de coliformes termotolerantes foi feita por meio da inoculação de uma alçada dos tubos positivos em tubos contendo caldo *Escherichia coli* EC e tubos de Durhan invertidos, com posterior incubação em temperatura seletiva de $45^\circ\text{C} \pm 0,2^\circ\text{C}$, em banho-maria com agitação ou circulação de água.

Novamente a positividade tanto no caldo VB quanto EC foi evidenciada pela turvação dos tubos e presença de gás nos tubos de Durhan.

4.2.3 Confirmação de *Escherichia Coli*

Os tubos que apresentaram positividade no caldo EC, foram submetidos aos testes para a confirmação da *E. coli*, sendo: inoculação em ágar Eosina Azul de Metileno (EMB); teste Vermelho de Metila e teste do Indol. No ágar EMB a inoculação foi realizada por estria simples, com posterior incubação a 37°C por 24 horas em B.O.D. O crescimento característico de *E. coli* neste ágar são colônias com o centro escuro, possuindo ou não brilho verde metálico.

Para o teste do indol a inoculação foi realizada a partir dos tubos positivos em caldo EC em ágar SIM também incubado a 37°C por 24 horas em B.O.D. Após esse período foi adicionado o reagente de Kovacs para verificação da formação de um anel vermelho indicativo da presença de indol (indol positivo) ou anel amarelo (indol negativo). A maioria das cepas de *E. coli* é indol positiva.

O teste Vermelho de Metila (VM) foi realizado após inoculação dos tubos positivos em caldo EC em meio Clark e Lubs e cultivado por 24 horas antes do teste. Adicionou-se 5 gotas do reagente VM sendo observado a formação de uma coloração avermelhada no tubo (VM positivo), ou coloração amarela (VM negativo). As cepas de *E. coli* são VM positivo.

4.2.4 Contagem de bolores e leveduras

Para a contagem de bolores e leveduras foi realizada a inoculação de 0,1 ml de cada diluição da amostra sobre a superfície seca de Ágar Batata Dextrose (BDA) acidificado com ácido tartárico a 10%, por meio da técnica *spread plate*. Essa técnica consiste em espalhar o inóculo cuidadosamente sobre toda a superfície do ágar com o auxílio da alça de Drigalski até sua completa absorção. As placas foram incubadas a 25°C em incubadora BOD, de 5 a 7 dias, sendo selecionadas as placas contendo entre 10 a 150 colônias para expressão do resultado final. As diluições foram realizadas da seguinte maneira, duas diluições para a análise de 0 horas correspondentes a 10^{-1} e 10^{-2} ; três diluições para a análise de 5 dias que correspondem a 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} e 4 diluições para a análise de 10 dias tendo como diluições 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} . Após o tempo de incubação foi realizada a contagem de colônias provenientes das placas.

Seguido da contagem de colônias foi conduzido o cálculo de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) pela fórmula geral.

$$UFC = \frac{n^{\circ} \text{ de colônias} \times FD}{\text{alíquota}}$$

Em que:

UFC: Unidades Formadoras de Colônias

FD: Fator de Diluição

4.3 Análise dos resultados

Após a realização das análises microbiológicas, os dados foram tabulados e expressos como média das replicatas. Os valores foram comparados à legislação vigente para verificação da adequação.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Coliformes totais, termotolerantes e *E. coli*

Os resultados da análise de coliformes nas amostras de inhame *in natura*, pelos testes presuntivo e confirmativo, encontram-se na tabela 1.

Tabela 1- Médias dos resultados dos testes presuntivo e confirmativo para coliformes totais e termotolerantes nas amostras de inhame (NMP/g)

Análises	Teste presuntivo		
	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Coliformes totais	43	<3,0	<3,0
Análises	Teste confirmativo		
	43	<3,0	<3,0
	43	<3,0	<3,0

Fonte: própria (2021)

A positividade verificada nos tubos do teste presuntivo foi confirmada posteriormente tanto no caldo VB (coliformes totais) quanto no caldo EC (coliformes termotolerantes). Assim, os tubos positivos de coliformes termotolerantes foram testados quanto à presença de *E. coli*. Os testes realizados encontram-se descritos na tabela 2.

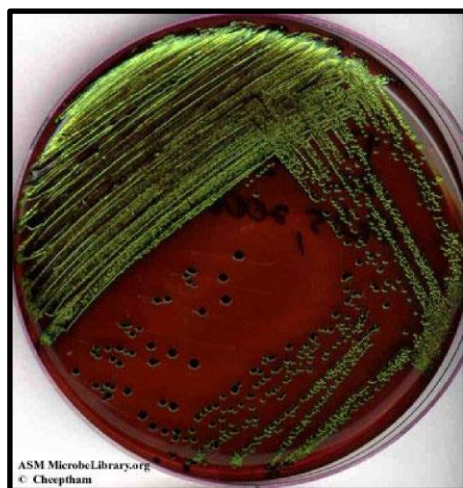
Tabela 2- Características dos testes e resultados para confirmação da presença de *E. coli* a partir dos tubos positivos para coliformes termotolerantes

Testes de confirmação			
	Ágar EMB	Vermelho de Metila	Indol
Características típicas de <i>E. coli</i>	Colônias com o centro escuro, possuindo ou não brilho verde metálico.	Positivo- formação de coloração vermelha rosada	Positivo- formação de um anel vermelho
Resultado Obtido	Atípico- colônias rosas escuras, sem centro negro, ausência de brilho verde metálico	Positivo- formação de coloração vermelha rosada	Negativo- formação de um anel amarelo

Fonte: própria (2021)

Na figura 3 estão demonstradas as colônias típicas para *E. coli* no ágar EMB (A) e os resultados obtidos nos testes realizados com a amostra de inhame *in natura* (B).

Figura 3- Colônias típicas de *E. coli* no ágar EMB (A) e colônias que cresceram no ágar EMB a partir da análise da amostra de inhame *in natura*



A

Fonte: google imagens



B

Fonte: própria (2021)

Na figura 4 estão os resultados do teste VM e de produção de indol demonstrando que os resultados foram todos positivos para VM e negativos para o indol, isto significa que o microrganismo presente é produtor de ácidos provenientes da fermentação de glicose e não degrada o triptofano, respectivamente.

Figura 4- Resultados dos testes VM positivo (A) e produção de indol negativo (B) a partir da análise da amostra de inhame *in natura*



A

Fonte: própria (2021)



B

Fonte: própria (2021)

Conforme descrito na tabela 2 e ilustrado nas figuras 3 e 4, dos três testes para a confirmação, somente o Vermelho de Metila apresentou-se típico, desta forma, o microrganismo que cresceu não é a *E. coli*. Trata-se de um microrganismo pertencente ao grupo de coliformes, já que foi confirmado nos testes anteriores.

Os resultados demonstraram que houve a confirmação da presença de coliformes totais e termotolerantes nas amostras de inhame *in natura*, com valores de 23 a 43 NMP/g nas amostra 1 e <3,0 para as amostras 2 e 3.

Aquino *et al.* (2011) realizaram a caracterização microbiológica de farinha de inhame no Sergipe e encontraram valores de coliformes totais e termotolerantes em amostras de inhame *in natura* de 46,0 NMP/g e 7,5 NMP/g, respectivamente. Tais resultados assemelham-se aos do presente trabalho para coliformes totais. Esse estudo foi realizado na Universidade Federal de Sergipe (UFS) pelo Laboratório de Tecnologia de Alimentos.

A contaminação de vegetais tem início desde a produção primária (plantio e cultivo) perpassando por todas as etapas (colheita, transporte, armazenamento, distribuição, comercialização) dependendo das condições higiênicas adotadas (FREITAS, *et al.*, 2000).

No presente estudo, as diferenças obtidas nas amostras são esperadas, uma vez que se trata de lotes distintos e, portanto, sujeitos a diferentes fontes de contaminação que podem resultar em uma carga microbiana maior ou menor. De acordo com Freitas, *et al.* (2000) ocorrem diferenças nas etapas de produção e manipulação que tendem a acontecer a contaminação por animais, pelo solo, pela água, pelo ar, pelo trajeto sofrido pelo alimento e sua manipulação. Porém, apesar da confirmação de coliformes totais e termotolerantes, não se confirmou a presença de *E. coli*. Desta forma as amostras de inhame *in natura* encontraram-se dentro dos parâmetros exigidos pela legislação, que inclusive estabelece um limite de tolerância para *E. coli* que varia de 10^2 a 10^3 NMP/g. Os resultados obtidos inferem que o produto não sofreu nenhum tipo de contaminação que tenha comprometido sua qualidade microbiológica inicial, principalmente considerando-se que a *E. coli* é adotada como indicador de contaminação fecal em alimentos *in natura*.

Ressalta-se que coliformes é um grupo amplo composto por bactérias da família das *Enterobacteriaceae*, que são capazes de fermentar a lactose com produção de gás, quando incubados a 35-37°C – por 48 h, são bacilos Gram-negativos e não formadores de esporos. Mais de 20 espécies se encaixam nessa definição dentre as quais encontram-se tanto bactérias originárias do trato gastrointestinal de humanos e outros animais de sangue quente (*Escherichia coli*), como também bactérias não entéricas (espécies de *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Serratia*, dentre outras). Destes, apenas a *E. coli* tem como *habitat* primário o trato intestinal do homem e dos animais. Os demais - *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia* - além de serem encontrados nas fezes estão presentes em outros ambientes como vegetais e solo, onde persistem por tempo superior ao de bactérias patogênicas de origem intestinal como *Salmonella*

e *Shigella*. Consequentemente, a presença de coliformes totais no alimento não indica, necessariamente, contaminação fecal recente ou ocorrência de enteropatógenos. Estas bactérias persistem por um tempo superior ao das bactérias patogênicas como *Salmonella* e *Shigella*, fora do trato intestinal. Já o grupo dos coliformes termotolerantes, anteriormente denominados de coliformes fecais, é um subgrupo dos coliformes totais, restrito aos membros capazes de fermentar a lactose em 24 horas a 44-45,5 °C, com produção de gás. Essa definição objetivou, em princípio, selecionar apenas as enterobactérias originárias do trato gastrointestinal (*E. coli*), porém, atualmente sabe-se que o grupo inclui membros de origem não fecal (várias cepas de *Klebsiella pneumoniae*, *Patoea agglomerans*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae* e *Citrobacter freundii*) (SILVA, 2010).

As contagens médias de coliformes totais, termotolerantes e *E. coli* (NMP/g) nas amostras de *chips* de inhame preparados no forno convencional, combinado e por fritura encontram-se na tabela 3. De acordo com os resultados, não houve positividade para nenhum dos tubos inoculados (<3,0 NMP/g), desta forma, descarta-se a contaminação por *E. coli*. De acordo com a RDC 331/2019 e IN 60/2019, seria aceitável até 10² NMP/g de *E. coli* nas amostras analisadas.

Tabela 3- Média das contagens de coliformes totais, termotolerantes (NMP/g) nas amostras de *chips* de inhame preparados no forno convencional, forno combinado e por fritura nos diferentes tempos de armazenamento.

Tempo (dias)	Coliformes totais (NMP/g)			Coliformes termotolerantes (NMP/g)		
	0	5	10	0	5	10
Tratamentos						
Forno convencional	< 3,0	< 3,0	< 3,0	< 3,0	< 3,0	< 3,0
Forno combinado	< 3,0	< 3,0	< 3,0	< 3,0	< 3,0	< 3,0
Fritura por imersão	< 3,0	< 3,0	< 3,0	< 3,0	< 3,0	< 3,0

Fonte: própria

A análise de coliformes totais em alimentos tem por finalidade avaliar as condições de higiene dos processos de fabricação, uma vez que este grupo de microrganismos são inativados pelos sanitizantes e facilmente destruídos pelo calor, portanto não devem sobreviver ao tratamento térmico (SILVA, 2010). Desta forma, a ausência apresentada nas amostras de *chips* de inhame foi totalmente coerente, indicando que os diferentes tratamentos térmicos foram adequados.

Souza (2019) encontrou o mesmo resultado (< 3,0 NMP g⁻¹) do presente estudo ao avaliar a presença de coliformes totais e termotolerantes em *chips* de banana verde obtidos por fritura em óleo de soja, nos períodos observados de 24 horas, 48 e 72 horas.

Em um estudo realizado por Omojasola e Sanu (2013) em amostras de inhames de diferentes mercados da Nigéria que foram secos ao sol, foi observado uma contagem de coliformes variando de 0,00 a $1,8 \times 10^6$ UFC g⁻¹ na pré-estocagem e de 0,0 a $3,1 \times 10^6$ UFC g⁻¹ na pós estocagem. Os autores sugeriram que para um menor risco biológico é recomendada uma substituição do método tradicional de secagem ao ar livre para a secagem em forno.

Um resultado diferente foi obtido por Djeri *et al.*, 2010, avaliaram os *chips* de inhame de diferentes mercados de Togo na África. Os percentuais de conformidade obtidos para a análise de coliformes totais, foi de 78,78% para as amostras de Bassar, 66,66 % para Kabou, 28% para Bandjéli, 26,66% para amostras de Bitchabé, 17,07% para Dimori, e 0% para o East-Mono. Os autores associaram a origem das contaminações a condições insalubres nas áreas de produção, armazenamento e venda dos *chips*. Além disso, também foi possível observar a contaminação por *E.coli* em *chips* obtidos nos diferentes mercados e também nos coletados diretamente dos produtores (DJERI *et al.*, 2010).

Os coliformes totais também foram detectados em 40% das amostras de *chips*, flocos e farinha de inhame adquiridos de processadores de mercados locais e supermercados no sudoeste da Nigéria. No entanto, a contagem de colônias foi sempre de cerca de 2×10^2 UFC g⁻¹, bem abaixo do limite preconizado pelo *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF) - que preconiza o valor máximo de 1×10^4 UFC g⁻¹. Para *Escherichia coli*, apenas duas amostras de um produtor apresentaram a presença desta bactéria (OMOHIMI *et al.*, 2019).

5.2 Contagem de bolores e leveduras

As médias das contagens de bolores e leveduras das amostras de inhame *in natura* e dos *chips* feitos em forno convencional, combinado e por fritura estão demonstrados na tabela 5. Ressalta-se que o inhame *in natura* foi avaliado apenas no dia da aquisição. De acordo com os valores encontrados, as amostras apresentaram contagens satisfatórias com valores inferiores ao valor máximo tolerado de acordo com a RDC 331/2019 e IN 60/2019 (3 a 4 Log UFC g⁻¹). Observou-se que o tratamento térmico reduziu a contagem no tempo zero, no entanto, houve um aumento progressivo à medida que o produto permaneceu armazenado. À medida que os produtos são expostos à temperatura ambiente, há o risco de multiplicação das células sobreviventes ao tratamento térmico. Este aumento é diretamente proporcional ao aumento do tempo de armazenamento. Descarta-se a possibilidade de contaminação pelo ambiente por ter ficado em vasilhame hermético.

Os padrões microbiológicos estipulados como valores aceitáveis para a contagem de bolores e leveduras na categoria do *chips* situam-se entre 3 a 4 Log UFC g⁻¹ (BRASIL, 2019b). Assim, os valores encontrados no presente estudo se encaixam nestes limites, demonstrando que os procedimentos adotados foram adequados. Valores semelhantes de bolores e leveduras aos encontrados foram relatados por Aquino *et al.*, (2011) que contabilizam em média 4 Log UFC g⁻¹ de bolores e leveduras em amostras de inhame *in natura* avaliadas na Universidade Federal de Sergipe no Laboratório de Tecnologia de Alimentos.

Tabela 4- Média das contagens de bolores e leveduras (Log UFC g⁻¹) nas amostras de *chips* de inhame preparados no forno convencional, forno combinado e por fritura nos diferentes tempos de armazenamento

Bolores e leveduras (Log UFC ⁻¹)			
Tratamentos	Tempo zero	5 dias	10 dias
<i>In natura</i>	3,3	NA	NA
Forno convencional	2,1	2,4*	**
Forno combinado	2,1	2,3	3,3
Fritura por imersão	2,2*	2,5*	2,7*

Padrão de referência (RDC 331/2019 e IN 60/2019) 3 a 4 Log UFC g⁻¹

NA- Não se aplica

*valor estimado devido a uma contagem inferior de colônias do que a estipulada pelo padrão de referência

** a análise não foi realizada porque já havia crescimento fúngico visível nas amostras

Ressalta-se, no entanto, que nas amostras do forno convencional, após 10 dias de armazenamento, já havia crescimento fúngico visível (presença de micélio) o que denota uma contaminação durante o armazenamento, sendo desnecessária a realização da análise microbiológica, conforme demonstrado na figura 5.

A contaminação fúngica pós-cocção pode ser proveniente da contaminação pelo ar, poeira, utensílios, equipamentos e o próprio manipulador. Portanto, em contagem elevada indicam insatisfatórias condições higiênicas e sanitárias de processamento e ou estocagem inadequada do alimento (FRANCO, LANDGRAF, 2013).

O *chips* foram preparados seguindo todas as recomendações de boas práticas durante o preparo e a armazenagem foi realizada em vasilhames previamente higienizados e vedados. Assim, pode-se inferir que a maior contaminação das amostras provenientes do forno convencional esteja mais relacionada às características intrínsecas do produto tais como teor de umidade e de atividade de água. Seria necessário realizar a análise de tais parâmetros para verificar se ocorreu diferenças significativas entre os diferentes tratamentos térmicos adotados.

Figura 5 - Crescimento fúngico visível na amostra de chips de inhame em forno convencional



Fonte: própria (2021)

Não foram encontrados estudos brasileiros envolvendo a qualidade microbiológica de preparações a base de inhame. Os resultados do presente estudo foram comparados a estudos publicados em outros países.

O estudo realizado na Índia por Soibam *et al.* (2017), demonstrou contagem fúngica em *chips* de inhame desidratado a diferentes temperaturas sendo que em temperaturas inferiores houve um maior crescimento fúngico que pode ter ocorrido devido a uma maior umidade. O estudo também demonstrou nas diferentes amostras que quanto maior o tempo de armazenamento, maior a contagem de fungos.

A partir do estudo de Soibam *et al.* (2017) e dos dados coletados no presente estudo, pode-se novamente correlacionar o aparecimento do bolor visível a uma provável umidade superior do *chips* assado em forno convencional em relação aos obtidos por fritura e assados em forno combinado, visto que esses não obtiveram crescimento fúngico visível no decorrer das análises.

A avaliação do *chips* de inhame de diferentes mercados de Togo na África (DJERI *et al.*, 2010) demonstrou que os percentuais de conformidade para a contagem de bolores e leveduras foi de 100% para as amostras colhidas em Bassar e Bandjéli em comparação com 90,24 para Dimori, 66,66% para Bitchabé, 60% para amostras de Kabou e 50% para amostras de Est Mono. Os autores ressaltaram que além da deterioração da qualidade nutricional e sabor dos alimentos, os fungos são produtores de micotoxinas responsáveis por DTA.

Omohimi (2019) relatou que todas as amostras de *chips*, flocos e farinha de inhame adquiridos de processadores de mercados locais e supermercados no sudoeste da Nigéria, apresentaram contaminação fúngica. Embora os flocos de inhame tenham, em geral, apresentado menor contaminação do que o *chips*, as diferenças nem sempre foram estatisticamente significativas.

Salienta-se que a garantia da qualidade dos *chips* de inhame obtidos nos diferentes tratamentos, do presente trabalho, requer um estudo completo de vida de prateleira. A vida de prateleira ou vida útil é considerada como o tempo no qual um produto alimentício se mantém seguro, mantendo suas características nutricionais, ou seja, sendo fiel à declaração nutricional contida no rótulo e mantendo suas características sensoriais, químicas, físicas e microbiológicas quando estocado dentro de determinadas condições (GIMÉNES; ARES; ARES, 2012).

5. CONCLUSÃO

A partir dos resultados encontrados, tanto o inhame *in natura* quanto o *chips* em seus diferentes métodos de cocção encontravam-se de acordo com a legislação vigente em relação aos parâmetros de *E. coli* e bolores e leveduras, sendo seguro ao consumo dentro do prazo de armazenamento avaliado. Para os *chips* submetidos à fritura e assado em forno combinado, é possível um armazenamento seguro até 10 dias. Já para o *chips* em forno convencional, deve-se analisar com mais cautela o tempo estipulado para o consumo seguro, visto que, em todas as amostras, ocorreu a formação de bolor visível anterior à submissão da análise microbiológica sob 10 dias de armazenamento, logo seu tempo de armazenamento pode ser de até 5 dias. Seria importante também realizar um estudo de vida de prateleira destes produtos para se estipular a qualidade completa do produto considerando as embalagens domésticas a qual o alimento pode ser submetido.

Destaca-se a importância de, no momento de aquisição do produto, verificar a sua procedência, pois essa importante avaliação irá influenciar na qualidade, tanto nutricional, quanto microbiológica do alimento.

6. REFERÊNCIAS conferir formatação das referência

- ALVES, N. E. G.; PAULA, L. R., CUNHA, A. C.; AMARAL, C. A. A.; FREITAS, M. T. Efeito dos diferentes métodos de cocção sobre os teores de nutrientes em brócolis (*Brassica oleracea* L. var. *italica*). Ouro Preto- MG: **Rev. Inst. Adolfo Lutz**. v.70, n. 4, p. 507-513, 2011.
- AQUINO, A. C. M. S; SANTOS, J. C. CASTRO, A. A; SILVA, G. F. Caracterização físico-química e microbiológica de farinha de inhame durante o armazenamento em diferentes embalagens. São Cristóvão – SE: **Rev: Scientia Plena**. V.7, n. 11, 2011.
- ARAÚJO, W. M. C. et al. **Alquimia dos alimentos**. 2ª ed. Brasília (DF): Editora SENA; 2013. *E-book*.
- ÁVILA, M. O. et al. A importância do controle das condições microbiológicas e higiênico sanitárias na prevenção de doenças transmitidas por alimentos – uma revisão de literatura. Sergipe – PE: **Editora IFS**, 2016.
- BELIK, W. Perspectivas para segurança alimentar e nutricional no Brasil. Campinas – SP: **Rev. Saúde Soc.** v.12 n.1, p 12-20, 2003.
- BONETTI, N. A. TEIXEIRA, E. M. B. Torta de inhame. **Boletim Técnico IFTM**, Uberaba-MG, ano 3, n.1, p.06-09, 2017.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária- ANVISA. **Resolução – RDC Nº 331, de 23 de dezembro de 2019. Dispõe sobre os padrões microbiológicos de alimentos e sua aplicação**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 26 de dezembro de 2019. 2019a.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Ministério da Saúde. **Instrução Normativa 60 de 23 de dezembro de 2019. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos prontos para oferta ao consumidor e se aplica de maneira complementar à RDC nº 331**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 26 de dezembro de 2019. 2019b.
- BRITO, T. T. et al. Composição centesimal de inhame (*Dioscorea* sp.) *in natura* e minimamente processado. São Cristóvão – SE. **Rev: Scientia plena**, v.7 n.6, 2011.
- CRUZ, F. T.; SCHNEIDER, S. Qualidade dos alimentos, escalas de produção e valorização de produtos tradicionais. Porto Alegre – RS: **Rev. Bras. de Agroecologia**, v.5 n.2 p.22-38, 2010.
- DJERI, B. et al. Assessment of Microbiological Qualities of Yam Chips Marketed in Togo. Togo: **Jornal of Food Science and Technology**, v.2 n.5 p. 236-241, 2010.
- FERRAREZZO, E. M. **Desenvolvimento de mandioca chips, moldada e frita**. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) Universidade de São Paulo, 2011. doi:10.11606/T.74.2011.tde-21112011-142728. Acesso em: 2021-11-26.

- FILHO, M. M. R. RAMOS M. I. L. HIANE, P. A. Avaliação química do inhame (colacasia seculenta L. Shott) cultivado em solo alagadiço na região pantaneira de Mato Grosso do Sul. Curitiba: **B. CEPPA**, v.15, n.2, p. 175-186, 1997.
- FRANCO, B. D. G. M. LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2013.
- FREITAS, A. C.; FIGUEIREDO, P. **Conservação de alimentos**. Lisboa, 2000. 203p.
- FOODS, I. C. M. S. F. **Microrganismos em alimentos**. Editora Blucher; São Paulo, 2015.
- FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da Segurança dos Alimentos. (2ª edição)**. Artmed; Porto Alegre, 2013.
- GIMÉNEZ, Ana; ARES, Florencia; ARES, Gastón. Sensory shelf-life estimation: A review of current methodological approaches. **Food Research International**, Montevideo, v. 1, n. 49, p.311-325, jul. 2012.
- HATA, Y; REGUERO, M. T.; GARCÍA, L. A.; BUITRAGO, G.; ALVAREZ, A. Evaluación del contenido de sapogeninas en variedades nativas de ñame (*Dioscorea* spp.) provenientes de la colección de La Universidad del Córdoba. Córdoba: **Rev. Col. Ciênc. Quím. Farm.**, v.32, 2003.
- HAYES, P.R. **Food microbiology and hygiene. 2.ed.** New York: Chapman and Hall, 1995. 516p.
- HUANG, C. H.; LIU, D. Z.; JAN, T. R. Diogenin, a plant-derived sapogenin, enhances regulatory T-cell immunity in the intestine of mice with food allergy. Taiwan: **J. Nat. Prod.**, v.73, p. 1033-1037, 2010.
- HURTADO, A. C. S. La fritura de los alimentos: pérdida y ganancia de nutrientes en los alimentos fritos. **Perspectivas en Nutrición Humana**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 77–88, 2011. Disponível em: <https://revistas.udea.edu.co/index.php/nutricion/article/view/9367>. Acesso em: 26 nov. 2021.
- IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa de orçamentos familiares 2017 2018**. Rio de Janeiro: IBGE, 2020.
- LEONEL, M. CEREDA, M. P. Caracterização físico-química de algumas tuberosas amiláceas. Campinas: **Rev. Cienc. Tecnol. Aliment.**, v. 22 n. 1, p.65-69, 2002.
- LIN, J. T. *Effects of domestic processing on steroidal saponins in taiwanese yam cultivar (Dioscorea pseudojaponica Yamamoto)*. Taiwan: **J. Agric. Food Chem.**, v.54, p. 9948-9954 2006.
- MIN, S. C.; KIM, Y. T.; HAN, J. H. *Packaging and the shelf life of cereals and snack foods*. Boca Raton: **CRC Press**, 2010.

MOLLICA, J.Q. **Potencial de *Dioscorea trifida* L.F. e *Dioscorea opposita thunb.* (dioscoreaceae, inhames) no tratamento da alergia alimentar induzida com ovalbumina em camundongos BALB.** Dissertação (pós-graduação em Ciências dos Alimentos), Belo horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2011

OLIVEIRA, J. N. M. C. Luzia, D. M. M. Perfil de ácidos graxos em batata *chips* comercializadas em São José do Rio Preto, SP, Brasil. São Paulo: UNOPAR **Cient., Ciênc. Biol. Saúde.** 2010.

OMOHIMI, C. Safety of Yam-Derived (*Dioscorea rotundata*) Foodstuffs—Chips, Flakes and Flour: Effect of Processing and Post-Processing Conditions. [S.I.] **FOODS**, v. 8, n.12, 2019.

PINTO, U. M. LANDGRAF, M. FRANCO, B. D. G M. Deterioração microbiana dos alimentos. In: **Microbiologia e higiene de alimentos: teoria e prática.** [S.l: s.n.], 2019.

PROENÇA, R. P. C. **Inovação tecnológica na produção de alimentação coletiva.** Florianópolis: Insular; 1997.

RODRIGUES, M. J. **Ocorrência de microrganismos indicadores e patogênicos em requeijões do norte.** Dissertação (pós-graduação em Ciência Animal) Cruz das almas: UFRB 2015.

SANT'ANA, H. M. P. **Análise de vitaminas do complexo B em carnes preparadas em serviço de alimentação.** Tese (doutorado) São Paulo: Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, 1998.

SANTOS, I.F.P. **Avaliação nutricional de chips de inhame preparado por diferentes tecnicas de cocção.** Trabalho de conclusão de curso (título em Nutrição). Ouro Preto, UFOP, 2021.

SILVA, G. A. A. **Elaboração e caracterização de chips de inhame (*Dioscoreaceae*).** Trabalho de conclusão de curso (título tecnólogo em Alimentos). João Pessoa: UFP, 2019.

SILVA, M. C. **Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos com a utilização de metodologias convencionais e do sistema *simplate*.** Dissertação (mestre em Ciências) Piracicaba: USP 2002.

SILVA, N. et al. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos. 4. ed.,** São Paulo: Livraria Varela, 2010.

SOIBAM, H. SINGH, V. MITRA, S. Effect of temperature treatment on the chemical composition, microbiology and sensory evaluation of Yam chips during storage. India: **Jornal of Pharmacognosy and Phytochemistry.** 2017.

SOUSA, P. B. Avaliação físico-química, microbiológica e sensorial de chips de banana verde (*Musa spp.*). Ceres – GO: Instituto federal goiano, 2019.

SVEUM, W. H.; MOBERG, L. J.; RUDE, R. A.; FRANK, J. F. Microbiological monitoring of the food processing environment. In: Vanderzant, C.; Splittstoesser, D. F.; Speck, M. L.

(Eds.). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3. ed.** Washington: APHA, 1992.

TRABULSI, R. ATHERUM, F. **Microbiologia**, 6^a ed. Editora Atenheu, São Paulo, 2015.

YANG, D. J.; LU, T. J.; HWANG, L. S. Isolation and identification of steroidal saponins in Taiwanese yam cultivar (*Dioscorea pseudo japonica* Yamamoto). **J. Agric. Food Chem.**, 2003.