

CONTROLE BIOLÓGICO DO FUNGO *Penicillium* sp. EM LARANJA UTILIZANDO KOMBUCHA

BIOLOGICAL CONTROL OF THE FUNGUS *Penicillium* sp. IN ORANGES USING KOMBUCHA

CONTROL BIOLÓGICO DEL HONGO *Penicillium* sp. EN NARANJAS MEDIANTE KOMBUCHA

Alessandra Macedo Barros

Doutoranda em Biodiversidade e Biotecnologia, Rede BIONORTE, TO/Brasil

E-mail: macedoalexandra@mail.uft.edu.br

Talita Pereira de Souza Ferreira

Docente no curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, UFT, Brasil

E-mail: talitapsf@mail.uft.edu.br

Bergmann Morais Ribeiro

Docente do departamento de Biologia Celular, Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, Brasil

E-mail: bergmann@unb.br

Ellen Caroline Feitoza Pires

Departamento de Biologia Celular, Universidade de Brasília, Brasil

E-mail: el.caroliine@gmail.com

Hélio Sousa Brito

Doutorando em Biodiversidade e Biotecnologia, Rede BIONORTE, TO/Brasil

E-mail: hellyosousa1245@gmail.com

Raphael Sanzio Pimenta

Docente Universidade Federal do Tocantins, Brasil

E-mail: pimentars@mail.uft.edu.br

Resumo

O mofo verde é causado por *Penicillium digitatum*, a doença afeta 90% da produção no período pós-colheita resultando em perda total dos frutos. O objetivo consistiu em isolar o *Penicillium* sp. e submetê-lo aos ensaios *in vitro* e *in vivo* com a kombucha. O fungo foi caracterizado morfológicamente, a gelatina foi uma alternativa conjunta a kombucha, testada nos ensaios *in vitro* (1%, 2%, 3%, 4% e 5%). A kombucha foi submetida aos ensaios nas concentrações de 50%, 60%, 70%, 80% e 100%, no controle positivo (CP) usou-se água destilada autoclavada e no controle negativo (CN) utilizou-se, Tiofanato metílico (0,2%). Nos testes *in vivo*, fez-se, o uso das mesmas concentrações de kombucha testadas *in vitro*. No teste de confronto direto, utilizou-se, a kombucha (50% e 100%), mais os frutos controle. Os resultados da metagenômica indicaram os gêneros *Komagotaeibacter* e *Pichiaceae* sp. como dominantes na kombucha. Nos testes *in vitro*, a kombucha apresentou inibição sobre *Penicillium* sp., sendo este efeito evidente a partir do quarto dia de avaliação. A gelatina exerceu efeito inibitório sobre *Penicillium* sp., com inibição significativa no décimo dia, com crescimento inferior ao controle positivo. A kombucha com gelatina (1%) foi eficaz em inibir o crescimento de *Penicillium* sp., o efeito inibitório foi estatisticamente significativo em comparação com os controles positivo e negativo. No teste *in vivo*, todas as concentrações resultaram em uma supressão total da progressão da doença, diferindo do Controle Positivo e Controle Negativo, que apresentou uma progressão intermediária da doença. No ensaio de confronto direto, a kombucha foi altamente eficaz, sendo, a progressão da doença zero sob essas condições de tratamento. O estudo demonstrou resultados que revelam o potencial da kombucha como biofungicida no controle de *Penicillium* sp., sendo, uma alternativa sustentável e promissora no controle completo da doença nas condições avaliadas.

Palavras-chave: Mofo verde; Biofungicida; Controle Alternativo.

Abstract

Green mold is caused by *Penicillium digitatum*, a disease that affects 90% of post-harvest production, resulting in total fruit loss. The objective was to isolate *Penicillium* sp. and subject it to *in vitro* and *in vivo* assays with kombucha. The fungus was morphologically characterized, and gelatin was used as a complementary alternative to kombucha, tested in *in vitro* assays (1%, 2%, 3%, 4%, and 5%). Kombucha was subjected to assays at concentrations of 50%, 60%, 70%, 80%, and 100%. Autoclaved distilled water was used as the positive control (PC), and methyl thiophanate (0.2%) was used as the negative control (NC). In *in vivo* tests, the same kombucha concentrations tested in *in vitro* were used. In the direct comparison test, kombucha (50% and 100%) was used, along with control fruits. Metagenomic results indicated the genera *Komagotaeibacter* and *Pichiaceae* sp. as dominant in kombucha. In *in vitro* tests, kombucha showed inhibition of *Penicillium* sp., with this effect evident from the fourth day of evaluation. Gelatin exerted an inhibitory effect on *Penicillium* sp., with significant inhibition on the tenth day, with growth lower than the positive control. Kombucha with gelatin (1%) was effective in inhibiting the growth of *Penicillium* sp., the inhibitory effect being statistically significant compared to the positive and negative controls. In the *in vivo* test, all concentrations resulted in a total suppression of disease progression, differing from the Positive Control and Negative Control, which showed an intermediate disease progression. In the direct confrontation assay, kombucha was highly effective, with zero disease progression under these treatment conditions. The study demonstrated results that reveal the potential of kombucha as a biofungicide in the control of *Penicillium* sp., representing a sustainable and promising alternative for the complete control of the disease under the evaluated conditions.

Keywords: Green mold; Biofungicide; Alternative control.

Resumen

El moho verde es causado por *Penicillium digitatum*, una enfermedad que afecta al 90% de la producción poscosecha, resultando en la pérdida total de fruta. El objetivo fue aislar *Penicillium* sp. y someterlo a ensayos *in vitro* e *in vivo* con kombucha. El hongo fue caracterizado morfológicamente, y la gelatina se utilizó como una alternativa complementaria a la kombucha, probada en ensayos *in vitro* (1%, 2%, 3%, 4% y

5%). La kombucha fue sometida a ensayos a concentraciones de 50%, 60%, 70%, 80% y 100%. Se utilizó agua destilada autoclavada como control positivo (CP) y metil tiofanato (0,2%) como control negativo (NC). En las pruebas *in vivo*, se utilizaron las mismas concentraciones de kombucha probadas *in vitro*. En la prueba de comparación directa, se utilizó kombucha (50% y 100%), junto con frutas de control. Los resultados metagenómicos indicaron que los géneros *Komagotaeibacter* y *Pichiaceae* sp. eran dominantes en kombucha. En pruebas *in vitro*, kombucha mostró inhibición de *Penicillium* sp., con este efecto evidente desde el cuarto día de evaluación. La gelatina ejerció un efecto inhibitorio sobre *Penicillium* sp., con inhibición significativa en el décimo día, con un crecimiento menor que el control positivo. Kombucha con gelatina (1%) fue eficaz en la inhibición del crecimiento de *Penicillium* sp., siendo el efecto inhibitorio estadísticamente significativo en comparación con los controles positivo y negativo. En la prueba *in vivo*, todas las concentraciones resultaron en una supresión total de la progresión de la enfermedad, a diferencia del Control Positivo y el Control Negativo, que mostraron una progresión de la enfermedad intermedia. En el ensayo de confrontación directa, kombucha fue altamente eficaz, con cero progresión de la enfermedad bajo estas condiciones de tratamiento. El estudio demostró resultados que revelan el potencial de la kombucha como biofungicida en el control de *Penicillium* sp., lo que representa una alternativa sostenible y prometedora para el control total de la enfermedad en las condiciones evaluadas.

Palabras clave: Moho verde; Biofungicida; Control alternativo.

1. Introdução

O mofo verde é considerado uma das doenças cítricas com maior ocorrência no período pós-colheita. A doença é causada por *Penicillium digitatum*, o principal agente causal do bolor verde durante as etapas de manuseio pós-colheita, sendo responsável por perdas econômicas expressivas, que podem atingir até 90% da produção mundial. O fungo infecta os tecidos do fruto principalmente por meio de ferimentos ocorridos na casca durante a colheita, transporte e armazenamento. A colonização fúngica promove a degradação dos tecidos, tornando o fruto impróprio para o consumo. Uma vez infectado, o fruto torna-se inviável para fins comerciais, visto que, o processo é irreversível e resulta em acentuada perda de qualidade e valor de mercado (KAASHYAP; COHEN; MANTRI, 2021).

As estratégias atuais de prevenção do mofo verde incluem a ampla aplicação de fungicidas sintéticos. No entanto, isso levou ao desenvolvimento de cepas resistentes de *P. digitatum*, complicando o tratamento pós-colheita de citros, uma vez que, a resistência múltipla a fungicidas complica o controle da doença. Apesar disso, o manejo do bolor verde, baseia-se predominantemente na aplicação de fungicidas químicos no período pós-colheita, sendo, o tiabendazol e o imazalil os princípios ativos mais utilizados e aplicados de forma isolada ou em associação durante o processamento dos frutos nas unidades de beneficiamento (RODRIGUES, 2022).

Além da indução de resistência, a aplicação intensiva de fungicidas reduz a confiança do consumidor em frutas cítricas e acarreta impactos negativos à integridade ambiental e a saúde humana. Segundo Jernej et al. (2025), resíduos de pesticidas aplicados em frutos de laranja no período pós-colheita têm sido detectados em todas as camadas dos frutos cítricos, com concentrações mais elevadas observadas na casca. De acordo com os autores, devido as propriedades químicas dos pesticidas, os resíduos persistem mesmo após a lavagem dos frutos com água corrente e, em alguns casos, após o processamento industrial do suco. Apesar disso, estratégias de controle mais seguras e ambientalmente sustentáveis para o manejo de infecções causadas pelo bolor verde ainda são pouco adotadas. Dessa forma, torna-se necessária a integração de novos métodos alternativos para o controle de infecções por *P. digitatum* na citricultura.

Em virtude disso, estudos tem comprovado a eficácia de métodos alternativos no controle de microrganismos patogênicos. Como os métodos alternativos realizados por meio do controle biológico utilizando bioprodutos de origem biotecnológica. O controle biológico, pode ser alcançado de maneira sustentável e eficaz através de diferentes fontes alternativas e disponíveis. O controle biológico baseia-se, na utilização de microrganismos antagonistas, como bactérias, fungos e leveduras, que competem com os patógenos reduzindo a incidência e a severidade das doenças. Entre os mecanismos envolvidos, destaca-se a capacidade dos agentes de controle biológico de formar biofilmes, estabelecendo uma barreira física entre a superfície lesionada e o patógeno. Esse processo pode interferir na aquisição de recursos essenciais ao desenvolvimento do patógeno ou promover a produção de compostos com atividade inibitória (KUPPER; MOURA; DE PAULA, 2023)

A competição, entendida como a interação entre dois ou mais organismos que disputam os mesmos recursos, ocorre principalmente por nutrientes, como carboidratos, fontes de nitrogênio e fatores de crescimento, bem como, por espaço e oxigênio. Esse mecanismo é considerado um dos principais modos de ação de leveduras no controle de patógenos fúngicos em pós-colheita. De modo geral, tais estratégias visam reduzir a incidência e a severidade das infecções, contribuindo para a manutenção da qualidade e da vida útil dos frutos durante o período pós-colheita (SULZBAKER, 2025).

No atual trabalho, a kombucha se insere como uma fonte alternativa de controle biológico. A kombucha é uma bebida tradicional obtida a partir da fermentação de chá verde (*Camellia sinensis*) ou preto adoçado com açúcar e fermentado por um consórcio microbiano simbiótico (SCOBY), composto principalmente por bactérias acéticas (BAA) (*Gluconacetobacter* sp.) e leveduras osmófilas (*Zygosaccharomyces* sp.). A bebida tem despertado atenção principalmente por seus potenciais benefícios à saúde humana, incluindo desde a redução da pressão arterial a redução do colesterol, além de efeitos hepatoprotetores, imunomoduladores e reguladores gastrointestinais (PRADHAN et al. 2023).

Estudos indicam que a kombucha apresenta potenciais propriedades anticancerígena e atividade antimicrobiana relevante, características que podem contribuir para seu crescente reconhecimento como bebida funcional. A atividade antimicrobiana atribuída à kombucha está associada, principalmente, à presença de ácidos orgânicos e ao consórcio microbiano simbiótico responsável pelo processo fermentativo. Esses componentes vêm sendo progressivamente investigados quanto ao seu uso em aplicações clínicas e terapêuticas. Nam et al. (2025), avaliaram a atividade antimicrobiana da kombucha contra várias bactérias e fungos patogênicos, constatando potencial inibitório para todos os patógenos, incluindo, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*.

De acordo com AUNG & KIM (2024), o biofilme de kombucha já foi investigado como material biodegradável para aplicação em embalagens alimentícias, visando prolongar a vida útil de produtos alimentícios e reduzir a contaminação microbiológica. No campo biomédico, esses biofilmes vêm sendo avaliados para uso em curativos e como condutos para regeneração de nervos periféricos no contexto da engenharia de tecidos. Embora as aplicações dos biofilmes de kombucha tenham se expandido em diferentes áreas, seu potencial específico no setor alimentício ainda demanda investigações mais aprofundadas. Portanto, neste trabalho, exploramos a kombucha, com o objetivo de elucidar seu potencial inexplorado como fonte de controle biológico do fungo *Penicillium* sp. agente patogênico do mofo verde em frutas de laranja na pós-colheita, visando implantar uma nova alternativa no desenvolvimento de produtos alimentícios sustentáveis.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi determinar o efeito da kombucha como produto biológico na qualidade pós-colheita de frutos de laranja (*Citrus sinensis*) e seu potencial no controle de *P. digitatum*. Os objetivos específicos foram: (a) avaliar o efeito da kombucha no controle *in vitro* de *P. digitatum*; (b) avaliar o controle *in vivo* e a severidade do bolor verde em laranjas; e (c) realizar ensaio de confronto direto entre frutos.

2. Revisão de Literatura

2.1 Problemática do mofo verde – frutas de laranja

O Brasil é líder na produção de laranja, fruta de importância econômica nacional e mundial. O país é o primeiro no ranking mundial, com uma produção de 15.688.409 milhões de toneladas colhidas na safra 2024/25, seguido da China, União Europeia e México. De acordo com o IBGE (2024), a safra apresentou um aumento de 6% em relação à safra anterior. No entanto, ao longo de uma década, observou-se uma queda de 10% nesse setor produtivo. O principal fator desse declínio, além das mudanças climáticas, está relacionado às doenças que acometem os frutos. Embora os registros indiquem uma produção ainda significativa, os frutos são altamente suscetíveis ao bolor verde no período pós-colheita (NAVES et al., 2021).

O mofo verde ou bolor verde, é uma doença fúngica considerada uma das causas que geram grandes perdas econômicas, principalmente por ocasionar a deterioração da fruta e afetar a qualidade nutricional da fruta no período pós-colheita. Além disso, a ocorrência do mofo verde reduz significativamente a vida útil dos frutos durante o armazenamento, uma vez que, as frutas contaminadas reduzem seu valor de mercado. A doença é causada pelo patógeno *Penicillium digitatum*, o fungo provoca apodrecimento e afeta 90% da produção no período pós-colheita resultando em perda total da fruta, tornando-a imprópria para consumo (Diaz et al., 2020). O agente causal da doença infecta a fruta por meio de lesões causadas durante o manuseio das operações de pós-colheita, ou por microferidas causadas por insetos e galhos durante o processo de colheita, uma vez que, é inevitável a ocorrência dessas microferidas (GARCÍA-CUSTODIO et al., 2025).

A doença é controlada aplicando métodos baseados em produtos químicos sintéticos desenvolvidos para reduzir as perdas pós-colheita, entretanto, o uso intensivo desses métodos gera cepas resistentes, reduzindo assim sua eficácia. Além da contaminação ambiental, devido a sua estrutura os produtos químicos levam mais tempo para se decomporem no meio ambiente, representando risco a saúde humana, dos animais e lençóis freáticos. Assim, a busca por métodos ecologicamente corretos e livres de resíduos químicos tem despertado interesse e desenvolvimento de diversos estudos que visam por medidas que apresentem potencial antifúngico e controle alternativo de doenças na pós-colheita de laranjas (YANG et al., 2025).

De acordo com García-Custódio et al. (2025), atualmente as tendências de consumo de frutas estão exigindo produtos livres de resíduos químicos e ecologicamente corretos. Isso porque, as exigências de frutos limpos de agrotóxicos estão cada vez maiores, e juntamente com as restrições legislativas ao uso de produtos fitossanitários, surge a necessidade de novos manejos pós-colheita considerado mais eficaz e ecologicamente correto. Alternativas de biocontrole já estão sendo empregadas como estratégias ao uso dos fungicidas químicos. Tais como, o uso de leveduras e bactérias antagonistas, produtos derivados de plantas medicinais como, óleos essenciais, extratos aquosos e compostos bioativos. Assim como também, revestimentos com potencial antifúngico a base de ceras naturais que abrangem desde a deterioração fisiológica ao controle de questões patológicas. Além de melhorar a estética dos frutos como o brilho, aumentam a vida útil e proporcionam conservação de umidade, sendo, portanto, os revestimentos considerados uma fonte tecnológica limpa, alternativa e ecologicamente promissora (YANG et al., 2025).

Os métodos alternativos de fontes naturais, podem apresentar dupla funcionalidade ao atuarem no biocontrole de determinado patógeno, podendo proporcionar atividade antifúngica direta e indução de defesa do hospedeiro, sendo, esta característica uma vantagem promissora na implementação e continuação deste método no gerenciamento de doenças fúngicas. Desta forma, diversas pesquisas tem estudado medidas que apresentem potencial antifúngico no controle alternativo de fungos do gênero *Penicillium* sp. com ocorrência no período pós-colheita (GANDÍA et al, 2021).

Todavia, a busca por métodos alternativos ao uso de produtos químicos é contínua, uma vez que diversos estudos comprovam a eficácia desses métodos, bem como sua baixa contribuição para a contaminação ambiental, já que apresentam características biodegradáveis que contribuem para a sustentabilidade ambiental. Nesse contexto, as películas biodegradáveis têm se destacado no que tange à inovação, à proteção dos frutos e ao menor tempo de degradação no ambiente (CARVALHO et al., 2022).

2.2 Revestimentos biodegradáveis

Após a colheita, naturalmente as frutas conservam um estado fisiológico e metabólico ativo. No entanto, a respiração e transpiração pode induzir a perda de água, ocasionando o amolecimento dos tecidos e encolhimento da epiderme, acarretando na perda de qualidade e deterioração. Outro fator que contribui para esta deterioração, são os danos mecânicos e as infecções fúngicas durante o armazenamento e transporte pós-colheita. Isso reflete a importância dos revestimentos biodegradáveis na conservação da qualidade dessas frutas na pós-colheita. Uma vez que, o mecanismo de preservação dos revestimentos, é constituído e caracterizado por formar uma barreira física de proteção no fruto, atuar na regulação metabólica fisiológica e apresentar efeito antifúngico e antioxidante (DAI et al. 2025).

Um dos principais mecanismo do revestimento biodegradável em frutas, é a função barreira física, que atua na conservação da fruta restringindo a troca de materiais entre o ambiente externo e a fruta. O revestimento atua na regulação da umidade, proporcionando o selamento dos estômatos e das fissuras na superfície da fruta, além de, reduzir a evaporação da água presente na fruta e manter o equilíbrio da umidade interna da fruta (Lin et al., 2025). Em termos de regulação do metabolismo fisiológico, o revestimento atua retardando o amadurecimento e a senescência dos frutos, conservando a qualidade ao intervir nos processos essenciais da fruta, como a respiração pós-colheita, a atividade enzimática, a sínteses de etileno e os metabólitos secundários (QIN et al., 2025).

De acordo com Dai et al. (2024), os compostos ativos presentes nos revestimentos são capazes de inibir especificamente a atividade de enzimas que estão diretamente

relacionadas na cadeia respiratória do fruto, como o piruvato descarboxilase e a enzima etanol desidrogenase. Segundo os autores, a redução da respiração e da atividade enzimática inibe a expressão de genes que estão diretamente relacionados a degradação da parede celular, como AcXETs, AcEXPs e AcPE, diminui a atividade da poligalacturonase, da pectina metilesterase e da celulase, inibindo assim, a degradação da parede celular e retardando o processo de amolecimento da fruta pós-colheita (DAI et al., 2024).

Já em termos de eficácia antioxidante, antifúngica e antibacteriana dos revestimentos aplicados em frutas, estes são alcançados por mecanismos sinérgicos multifacetados. Portanto, a potencial ação antimicrobiana dos revestimentos, atuam por meio de três vias principais, sendo, a ruptura das membranas celulares microbianas, interferência direta no metabolismo do ácido nucleico e a quelação de íons metálicos essenciais. Compreender estes mecanismos básicos de preservação, é fundamental para a seleção precisa e customização ideal das tecnologias de revestimentos, possibilitando alcançar os efeitos funcionais desejados para cada fruta específica (MEHMOOD et al., 2025).

Logo, os revestimentos biodegradáveis é uma tecnologia proposta para reduzir as perdas pós-colheita em frutas frescas. São caracterizados por atuarem na preservação da umidade das frutas, conservando a boa aparência a qualidade nutricional e valorizando os seus atributos comerciais. É uma tecnologia empregada para aumentar a vida útil dos frutos e conservar simultaneamente a qualidade. Carvalho et al. (2022) ressalva que, o revestimento biodegradável reduz as trocas gasosas impossibilitando a perda de água entre alimento e ambiente externo. Resultando no prolongamento da vida útil do fruto. Diferentes fontes de películas têm sido estudadas quanto ao seu potencial de revestimento, sendo destacado, o amido de milho, a fécula de mandioca, o sorbitol, pectina, quitosana e outros que vem sendo testados em frutas frescas comercializadas no Brasil.

Os revestimentos biodegradáveis são derivados de substâncias naturais, como proteínas (ex: gelatina, proteína do soro do leite), lipídios (ex: óleos, ceras) e carboidratos (ex: gomas e amidos), assim como, outros aditivos de grau alimentício. Esses revestimentos, podem ser aplicados por imersão, pulverização ou com o auxílio de um

pincel (El-rhouittais et al., 2025). Os revestimentos biodegradáveis estão recebendo cada vez mais atenção na indústria alimentícia, devido as suas características de atoxicidade, boa compatibilidade e excelente biodegradabilidade. Além disso, estudos comprovam que revestimentos comestíveis a base de polissacarídeos apresenta permeabilidade de oxigênio, regulando a migração de água e aumentando a vida útil dos frutos, contribuindo no retardamento da deterioração, e assim evitando a perda de nutrientes (YAN et al., 2019).

Xue et al., (2025) relatam que, os filmes e revestimentos além de prolongar a vida útil controlando a taxa de liberação de oxigênio em alimentos como frutas, também podem ser usados como aditivos alimentares para melhorar o sabor dos alimentos. Estes filmes, além de serem usados como revestimento direto para alimentos, como embalagens de conservação de frutas e vegetais, também podem ser usados no revestimento de superfície para alimentos fritos e carnes. Segundo os autores, outras aplicações também são realizadas, como encapsulamento de medicamentos e nutrientes, a fim, de obter efeitos de liberação controlada.

Alguns estudos relatam o uso de diferentes fontes de filmes e revestimentos comestíveis utilizados atualmente. Carvalho et al. (2022) testou fécula de mandioca e glicerol na qualidade pós-colheita do tomate variedade italiano híbrido "TY" à temperatura ambiente. Conforme os resultados os autores constaram que, a fécula de mandioca isolada a 5% e associada ao glicerol a 1% proporcionou ao tomate maior firmeza, menor perda de massa, retardando o amadurecimento e conservando o teor de ácidos orgânicos e luminosidade comparado ao tratamento controle. França et al. (2025) testaram fécula de mandioca a 7% na conservação de mangabas a temperatura ambiente, os autores concluíram que a fécula proporcionou maior firmeza e manteve o teor de sólidos solúveis, acidez e a relação SS/AT estável ao longo dos 5 dias de armazenamento.

Atualmente os revestimentos biodegradáveis, são vistos como uma tecnologia promissora e inovadora. Uma vez que, o desenvolvimento de filmes biodegradáveis a base de compostos ativos naturais, surge como uma fonte alternativa as embalagens convencionais que não são biodegradáveis e aos aditivos sintéticos. Portanto, baseado nas vantagens de uso alternativo dos revestimentos biodegradáveis, o presente estudo visa avaliar mais uma fonte integrativa de revestimento biodegradável ao meio ambiente,

visando contribuir com frutos saudáveis por mais tempo e um meio ambiente sustentável e limpo.

2.3 Kombucha

A kombucha é uma bebida fermentada produzida a partir do chá verde ou preto, com adição de açúcar e uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras (SCOBY). A bebida é caracterizada por possuir potenciais benefícios à saúde, que incluem a redução da pressão arterial, colesterol, além de efeitos imunomoduladores, hepatoprotetores, e reguladores gastrointestinais. Além disso, alguns estudos sugerem que a kombucha apresenta atividade antimicrobiana significativa e propriedades anticancerígenas que contribuem para seu crescente uso como bebida funcional. A atividade antimicrobiana descrita da kombucha pode ser atribuída aos seus ácidos orgânicos e ao complexo consórcio microbiano, que estão sendo investigados continuamente para uso clínico ou terapêutico (NAM et al., 2025).

De acordo com Aung & Eun (2021) o biofilme de kombucha é formado por uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras. Sendo as principais bactérias presentes no SCOBY da kombucha, as bactérias acéticas do gênero *Acetobacter* e *Gluconobacter*, no entanto, as leveduras presentes na kombucha, possuem diversos gêneros e espécies, tais como: *Lachancea*, *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Candida*, *Pichia*, *Saccharomycodes*, *Schizosaccharomyces*, *Brettanomyces/Cekkera*, *Kluyveromyces*. Todas essas bactérias e leveduras são responsáveis por realizarem a conversão metabólica, bem como, a produção de metabólitos primários e secundários ao longo do processo de fermentação. Estes fatores aprimoram a funcionalidade do produto final, caracterizada por suas propriedades benéficas.

As bactérias e leveduras presentes na kombucha participam de atividades metabólicas e utilização de substratos. Durante o processo de fermentação o açúcar é hidrolisado em glicose e frutose pelas leveduras, seguido de conversão da glicose em etanol e dióxido de carbono. Posterior a isso, o etanol é convertido em ácido acético por bactérias acéticas. Já o pH da bebida diminui devido à produção de ácidos orgânicos durante a fermentação (Valiyan et al. 2021).

O SCOBY é responsável por promover a fermentação da kombucha. É composto por bactérias ácido-acéticas (BAA), bactérias ácido-láticas (BAAL) e leveduras, formando uma nova camada de celulose na interface líquido - ar durante o processo de fermentação. O SCOBY é constituído de nanocelulose bacteriana e apresenta uma estrutura porosa que atua como uma matriz capaz de reter diferentes metabólitos bioativos produzidos durante o processo de fermentação, como ácidos orgânicos, polifenóis e compostos antimicrobianos. Segundo Bryszewska et al. (2024) o SCOBY atua como uma espécie de reservatório de metabólitos provenientes da fermentação e um alicerce fundamental para comunidades microbianas consideradas essenciais. Além disso, após obter a kombucha, o SCOBY é considerado um resíduo alimentar, no entanto, devido ao seu teor de compostos bioativos e propriedades essenciais, ele apresenta potencial de reaproveitamento em aplicações de uso em cosméticos e cuidados com a pele.

As nanofibras de celulose bacteriana têm como características alto grau de cristalinidade, baixa densidade, biodegradável e elevado grau de pureza, além de ser um material de fonte renovável. Estudos realizados por Aung & Kim (2024), mostram que a kombucha pode ser aplicada em diversos setores, desde setor alimentar a setores não alimentares. No âmbito alimentar, o filme de kombucha pode ser utilizado como filme e revestimento comestível, além de intensificadores de textura e sensação na boca, fonte de nutrientes, encapsulamento de ingredientes ativos e iniciadores de fermentação. Também pode ser utilizado na suplementação nutricional de ração animal, devido a sua característica de ser um biofilme rico em nutrientes como proteína bruta, fibra alimentar e outros minerais que contribuem para o seu valor nutricional como aditivo alimentar.

Já em setores não alimentares, como na biomedicina, o biofilme de kombucha quando preparado com extrato de café, pode ser utilizado na cicatrização de feridas. Na indústria de moda, o biofilme de kombucha é reconhecido como couro vegano, uma vez que, apresenta potencial dos têxteis derivados de celulose bacteriana. Pois, demonstram biocompatibilidade sem causar efeitos citotóxicos em tecidos nervosos. Logo, o estudo investiga o potencial das propriedades antimicrobianas e antiumidade da kombucha, assim como, o potencial de revestimento na proteção de frutas de laranja contra o desenvolvimento da doença mofo verde.

3. Metodologia

3.1 Isolamento do fungo

Frutos de laranja infectados pelo fungo causador do bolor verde foram adquiridos no mercado local da cidade de Gurupi. No laboratório, as áreas dos frutos com sintomas visíveis da doença foram cortadas em fragmentos de 5 mm. Com o auxílio de uma pinça, esses fragmentos foram transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura BDA, com adição do antibiótico Amoxicilina (500 mg/L). Posteriormente, as placas foram incubadas sob fotoperíodo por 10 dias, a 25 °C. Ao final do período de incubação, as placas de Petri que apresentaram colônias fúngicas sem contaminação foram repicadas em novas placas contendo o mesmo meio de cultura, obtendo-se, assim, culturas puras (Valadares et al., 2008).

Após o cultivo, as colônias foram identificadas com base em suas características morfológicas. Para isso, foram observadas a estrutura reprodutiva do fungo, a coloração e a presença de clamidósporos. Após a seleção do isolado, foi realizada microscopia eletrônica de varredura (MEV), conforme descrito por Zhang et al. (2000) e Morgulis et al. (2008).

3.2 Preparo da kombucha e Metagenômica

Para o preparo da kombucha, foi utilizado chá verde (*Camellia sinensis*). O chá (2 L) foi preparado por infusão em água destilada a 80 °C, por 10 min, na concentração de 4 g/L. Após o período de infusão, os sachês foram removidos e, em seguida, adicionou-se sacarose a 5% (m/v), seguida de resfriamento até aproximadamente 25 °C. Após o arrefecimento, foram adicionados 10% (v/v) de bebida previamente fermentada (starter) ao volume total do chá. Em seguida, a solução foi transferida para um recipiente de vidro esterilizado (2 L) e inoculada com um SCOBY. O recipiente foi coberto com papel toalha e fixado com elástico, sendo posteriormente armazenado em local escuro, à temperatura de 25 °C, por 14 dias (adaptado de ETGETON et al., 2022).

Após a obtenção da kombucha, foi realizada análise metagenômica da bebida, conforme a metodologia descrita por KAASHYAP et al. (2021).

3.3 Triagem *in vitro* da kombucha sobre *Penicillium* sp.

Após a obtenção da bebida chá kombucha, uma amostra de 100 mL foi retirada e diluída em água destilada esterilizada, obtendo-se cinco concentrações: 50%, 60%, 70%, 80% e 100%, em tubos de ensaio. Após o preparo das amostras, foi retirada uma alíquota de 200 μ L, a qual foi adicionada a placas de Petri contendo meio de cultura BDA sem adição de amoxicilina. Em seguida, a alíquota foi espalhada uniformemente com o auxílio de uma alça de Drigalski. Posteriormente, um disco de micélio-ágar de 5 mm do fungo *Penicillium* sp. foi adicionado ao meio de cultura contendo o tratamento, sendo esse procedimento repetido para todas as concentrações preparadas. Todo o experimento foi conduzido em triplicata. O controle negativo consistiu em placas contendo apenas o fungo e água destilada autoclavada, enquanto, no controle positivo, utilizaram-se 200 μ L do fungicida tiofanato metílico (0,2%). Posteriormente, as placas foram vedadas, armazenadas e avaliadas conforme descrito no item 3.3 (Adaptado de BARROS et al., 2019).

3.4 Triagem *in vitro* da gelatina sobre *Penicillium* sp.

Para a triagem *in vitro*, a gelatina foi pesada em béquer (50 mL) e preparada nas concentrações de 1%, 2%, 3%, 4% e 5%, sendo diluída em água destilada esterilizada. Após o preparo, 200 μ L de cada concentração foram adicionados a placas de Petri contendo meio de cultura BDA (Batata Dextrose Ágar) e espalhados sobre a superfície do meio com o auxílio de uma alça de Drigalski. Realizaram-se triplicatas para cada concentração testada. O controle negativo consistiu em placas contendo apenas o fungo e água destilada autoclavada (200 μ L), enquanto, no controle positivo, utilizaram-se 200 μ L do fungicida tiofanato metílico (0,2%). As placas foram vedadas com filme plástico e armazenadas em estufa a 28 °C. O experimento foi avaliado a cada 48 h, por um período

de 10 dias, com medições realizadas utilizando paquímetro digital (Adaptado de BARROS et al., 2019).

3.5 Triagem *in vitro* da kombucha com a gelatina (1%) sobre *Penicillium* sp.

Após os testes *in vitro* realizados anteriormente, procedeu-se à combinação da kombucha com gelatina (1%). As concentrações foram preparadas em 50%, 60%, 70%, 80% e 100%, com adição de gelatina a 1% em cada uma delas. Após a obtenção das concentrações, todo o processo de montagem do experimento *in vitro* foi realizado conforme descrito nos itens 3.3 e 3.4, assim como as condições de armazenamento e o tempo de avaliação (adaptado de BARROS et al., 2025).

3.6 Aplicação da kombucha como revestimento no controle preventivo da doença mofo verde em frutas de laranjas

O revestimento à base de kombucha foi preparado nas mesmas concentrações dos testes *in vitro*. Os frutos de laranja foram adquiridos no mercado local, sendo selecionados aqueles com boa aparência e frescor. Em seguida, os frutos foram submetidos à desinfecção com água destilada, seguida de imersão em hipoclorito de sódio (1%) por 2 min e posterior enxágue em água destilada, realizado três vezes consecutivas. Após a secagem, os frutos foram organizados em triplicata e cobertos com a solução de revestimento, utilizando-se uma haste flexível esterilizada para aplicação uniforme sobre a superfície. O controle negativo consistiu em frutos inoculados apenas com o fungo. Para o controle positivo, foram utilizados 200 µL do fungicida Tiofanato metílico (0,2%). Após um período de 2 h, realizou-se a inoculação do patógeno com o auxílio de um palito esterilizado, por meio do qual os esporos foram coletados diretamente da placa e transferidos para os frutos, simulando a contaminação durante os processos de colheita e transporte. Posteriormente, os frutos foram armazenados em ambiente com temperatura de 25 ± 2 °C, a fim de permitir o desenvolvimento da doença e a avaliação da eficácia do revestimento de kombucha. Decorridos quatro dias após a inoculação, foram realizadas cinco avaliações da severidade da doença, com intervalos de 72 horas, por meio da

escala de notas adotada por Costa (2017), na qual: 0 = fruto sadio; 1 = menos de 1% da área do fruto doente; 3 = 1 a 5% da área do fruto doente; 5 = 6 a 25% da área do fruto doente; 7 = 26 a 50% da área do fruto doente; 9 = mais de 50% da área do fruto doente. Após a obtenção dos dados experimentais, realizou-se o cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), conforme descrito por De Souza et al. (2018).

O cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) foi realizado de acordo com a seguinte fórmula:

$$AACPD = \sum_{i=1}^{n-1} \left(\frac{y_i + y_{i+1}}{2} \right) (t_{i+1} - t_i)$$

em que n é o número de avaliações, x corresponde à severidade da doença e $(t_{i+1} - t_i)$ representa o intervalo de tempo entre duas avaliações consecutivas (DE SOUZA et al., 2018).

3.7 Teste de confronto direto com aplicação do revestimento de kombucha

No teste de confronto direto, foi simulado um ambiente semelhante ao do mercado consumidor, no qual um fruto 100% contaminado foi exposto a frutos sadios tratados com kombucha, nas concentrações máxima (100%) e mínima (50%). Para ambas as concentrações testadas *in vivo*, foram utilizados frutos em triplicata; como controle, utilizaram-se três frutos sadios sem tratamento. O armazenamento foi realizado em bandejas, a uma temperatura de 20 ± 2 °C. As avaliações foram conduzidas por um período de 12 dias, com intervalos de 72 horas (Junior et al., 2022).

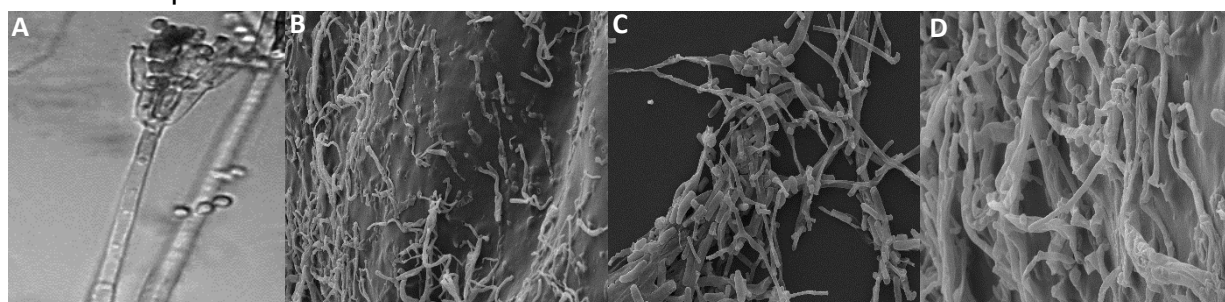
3.8 Análises Estatísticas

A análise estatística foi realizada por meio do software GraphPad Prisma (versão 8.0.1). Foram aplicados os testes de ANOVA e de Tukey ($p < 0,05$) para verificar a significância dos dados experimentais.

4. Resultados e Discussão

A imagem abaixo, ilustra a estrutura morfológica do fungo *Penicillium* sp. (Figura 1A) e a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), numa visão detalhada da estrutura morfológica do fungo *Penicillium* sp. a uma ampliação de 300X (Figura 1B), 550X (Figura 1C) e 800x (Figura 1D), com a barra de escala indicando 10 μ m, observe as características detalhadas na figura 1.

Figura 1 - Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da estrutura morfológica do fungo *Penicillium* sp.



Fonte: Autor, 2026.

A imagem ilustrada na Figura 1A representa a estrutura reprodutiva assexuada do fungo, conhecida como conidióforo, característica do gênero *Penicillium* sp. Analisando a imagem, podemos observar o conidióforo como a estrutura tubular vertical mais robusta e transparente. Na parte superior do conidióforo, este se ramifica em estruturas secundárias, que são os ramos metulares. Eles servem como hastes de suporte para as fiáldes. Além disso, há alguns conídios individuais ou em cadeias curtas visíveis mais abaixo, alguns aparentemente já liberados ou aderidos lateralmente.

O arranjo geral da estrutura de *Penicillium* sp. é característica do gênero, formando uma estrutura que lembra um pincel ou uma vassoura invertida. Essa organização estrutural facilita a dispersão eficiente dos esporos pelo ar. Portanto, confirma-se, que a estrutura morfológica ilustrada pertence ao fungo do gênero *Penicillium* sp. característico do mofo verde em frutas de laranja no período pós-colheita.

Na figura 1B, a imagem revela principalmente o micélio vegetativo de *Penicillium* sp., caracterizado por uma complexa rede de hifas filamentosas e ramificadas, com indícios de estruturas reprodutivas assexuadas (conidióforos/conídios) em processo de formação. As hifas mostram-se ligeiramente tortuosas, e superfície com textura sutilmente rugosa.

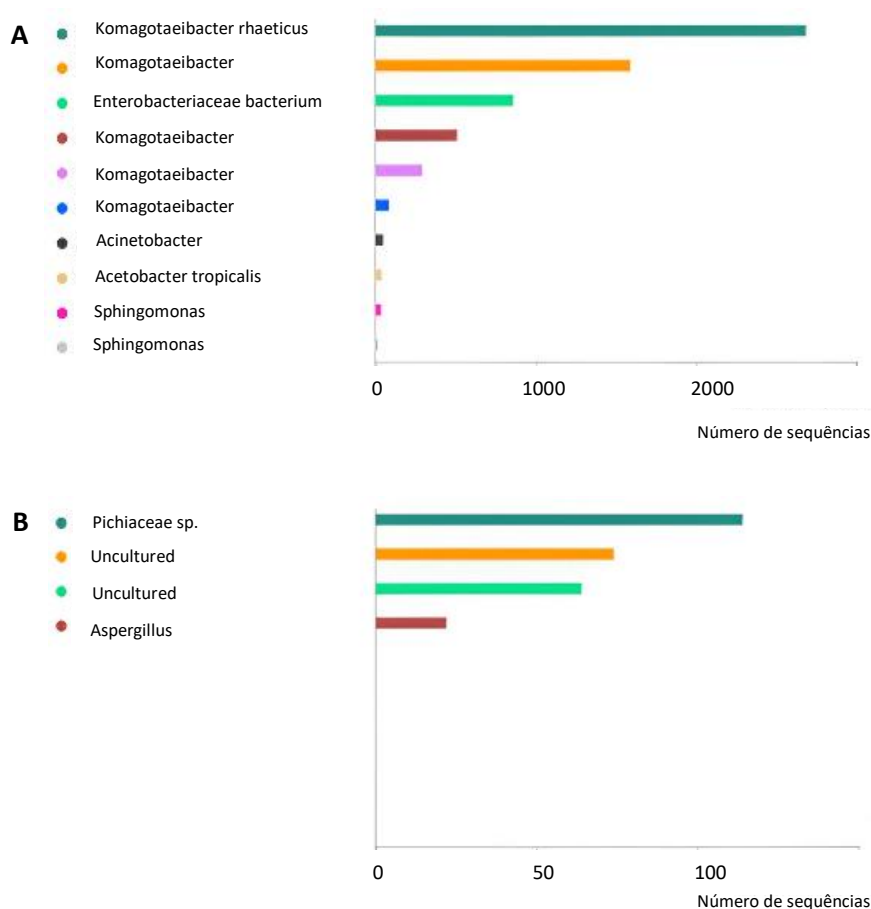
Na figura 1C, são visíveis filamentos alongados, ramificados e interconectados, formando uma complexa rede que constitui o micélio do fungo. A superfície das hifas parece ser predominantemente lisa, embora algumas áreas possam apresentar uma textura levemente irregular ou ondulada, típica de estruturas biológicas em MEV. A imagem revela um fungo filamentososo com um micélio bem desenvolvido de hifas ramificadas e a presença de uma grande quantidade de conídios alongados a ovoides, o que confirma a identificação para *Penicillium* sp. e ilustra sua capacidade de formar uma extensa rede vegetativa e produzir esporos para reprodução e dispersão.

Na figura 1D, as hifas aparecem ramificadas e interligadas. Embora a imagem forneça uma boa visão do micélio vegetativo, as estruturas reprodutivas assexuadas características de *Penicillium* sp. conhecidas como “conidióforos penicilados” com suas fiáides e cadeias de conídios, não estão claramente em foco na imagem. Pode ser que estejam submersas na densa rede hifal, ou a imagem esteja focada primariamente no crescimento vegetativo. Todavia, a imagem ilustra a complexa e interligada rede de hifas que forma o micélio de *Penicillium* sp., evidenciando sua capacidade de crescimento filamentososo e colonização de superfícies.

A estrutura morfológica identificada para o fungo isolado está de acordo com o trabalho de Ramos Suárez et al. (2025), os autores realizaram a identificação da característica microscópica em um aumento de 400x do corpo de frutificação do fungo e dos esporos, sendo o patógeno observado para identificação a nível de gênero. Segundo os autores, a microscopia realizada permitiu identificar o fungo *Penicillium* sp. cujas características identificadas, foram: micélio verde aveludado e corpo de frutificação em forma de pincel. Este resultado corrobora com as mesmas características identificadas para o patógeno do atual estudo, confirmando sua veracidade em nível de gênero.

A análise metagenômica da kombucha revelou uma predominância significativa de bactérias e fungos que compõem a microbiota da bebida utilizada como biofilme neste estudo. Observe os resultados dessa análise que expressa a abundância de diferentes microrganismos através do número de sequências detectadas. De acordo com a figura 2A e 2B.

Figura 2 – Metagenômica da kombucha. Bactérias (A) Fungos (B).



Fonte: Autora, 2026.

Conforme os resultados expressos no gráfico 1A, o gênero com maior predominância na kombucha analisada é o gênero *Komagotaeibacter*, sendo a espécie *Komagotaeibacter rhaeticus* a mais abundante, com aproximadamente 2800 sequências. Seguido da espécie *Komagotaeibacter europaeus*, a segunda espécie mais abundante, com cerca de 1600 sequências. Já a bactéria *Enterobacteriaceae bacterium*, foi o terceiro microrganismo mais abundante, expressando cerca de 800 sequências. As demais espécies de *Komagotaeibacter* (*saccharivorans*, *hansenii*, *intermedius*) também estão presentes na kombucha, porém, em menor quantidade, variando de 500 a 100 sequências.

Bactérias dos gêneros *Acinetobacter lwoffii*, *Acetobacter tropicalis*, *Sphingomonas melonis*, *Sphingomonas leidy* também foram identificadas na kombucha, no entanto, em

quantidades significativamente menores que 100 sequências. Logo, através do gráfico foi possível acordar que, a kombucha é dominada por espécies do gênero *Komagataeibacter*, entretanto, a presença de outras espécies em menor quantidade indica uma microbiota diversificada que em conjunto são responsáveis pelo processo de fermentação da kombucha e formação da celulose denominada “SCOBY”. Sendo, portanto, essas bactérias acéticas microrganismos essenciais para o processo de fermentação da kombucha.

Todavia, para a análise de identificação de fungos presentes na kombucha, o estudo mostrou a *Pichiaceae* sp. como o fungo mais abundante da kombucha, apresentando cerca de 110 a 115 sequências. Já o *Uncultured Phialosimplex* foi o segundo fungo mais prevalente, com aproximadamente 80 a 85 sequências. Em terceiro foi identificado o fungo *Uncultured* com quase 65 a 70 sequências, e o menos detectado foi o fungo *Aspergillus keratitidis* com cerca de 25 sequências. Em síntese, o estudo identificou a *Pichiaceae* sp. como sendo o grupo fúngico dominante na kombucha. Seguido por *Uncultured Phialosimplex* e em menor proporção, *Aspergillus keratitidis*.

Com relação a metagenômica da kombucha para bactérias, resultados semelhantes foram encontrados por Pradhan et al. (2023), os autores evidenciaram o filo Proteobacteria como dominante, com expressividade de 99%. Em nível de espécie observou-se, que *Komagataeibacter rhaeticus* (93%) e *Gluconobacter oxydans* (6%) foram as espécies dominantes encontradas na bebida kombucha. Resultados similares, também foram encontrados por outros autores como, Villarreal et al. (2020) e Gaggia et al. (2019). Os autores identificaram as mesmas bactérias como dominantes na kombucha preparada a partir do chá preto e do chá verde. Portanto, os gêneros bacterianos obtidos no atual estudo, estão de acordo com os resultados encontrados na literatura citada.

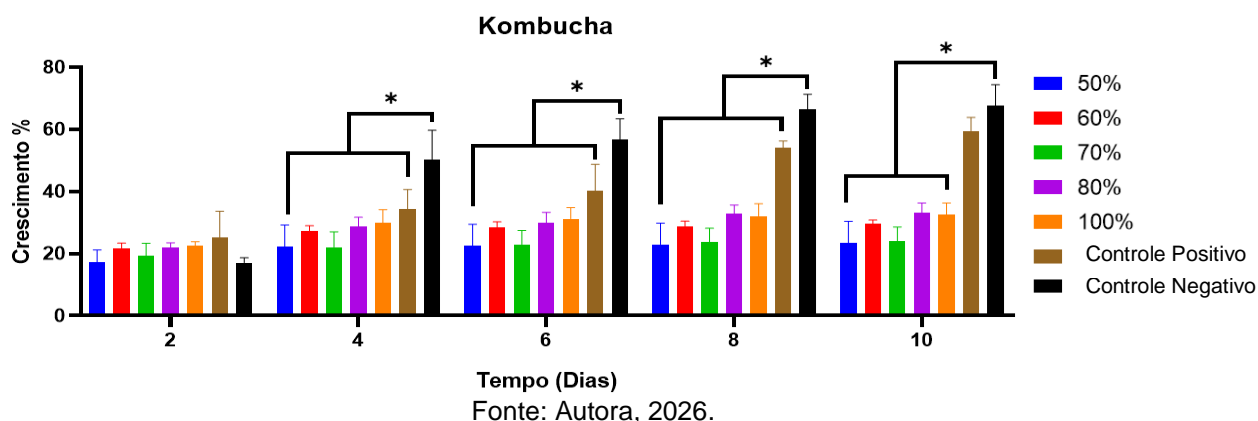
Kaashyap et al. (2021) identificaram 20 espécies bacterianas dominantes e 16 espécies de leveduras, dentre as quais se destacam os gêneros *Acetobacter*, *Komagataeibacter*, *Gluconobacter*, *Bacillus* e *Starmerella*, considerados os mais proeminentes na kombucha. De acordo com os autores, no corpo humano, essas espécies formam simbiose com cepas benéficas ao intestino, podendo inibir o crescimento de microrganismos infecciosos. Além disso, explicam que os ácidos

glucônicos são produzidos por *Komagataeibacter* tendo função importante como suplementos minerais para tratar hipocalcemia, hipomagnesemia e anemia. Já o *Acetobacter* é responsável por produzir subprodutos como ácido acético e ácido glicônico, que são eficazes na inibição do crescimento de bactérias patogênicas comuns em intoxicação alimentar.

Já a metagenômica realizada para identificação de fungos na kombucha, apresentou resultados consistentes com os de Villarreal-Soto et al. (2020), os autores identificaram a *Pichiacea* sp., *Brettanomyces bruxellensis* (62%) e *Zygosaccharomyces bailli* (24%), como fungos predominantes da kombucha. Resultados parecidos foram encontrados por WU et al. (2023), os autores identificaram *Aspergillus*, *Zygosaccharomyces* e *Derkella* como gêneros fúngicos dominantes com abundâncias relativas média de 43,23% e 43,48% respectivamente. De acordo com os autores, o fungo *Aspergillus* é responsável por conferir sabor especial e benéfico a saúde. Assim como, o *Derkella*, responsável por produzir substâncias aromatizantes na kombucha. Todavia, os resultados encontrados por estes autores demonstram similaridade com os resultados evidenciados neste estudo.

Nos ensaios *in vitro* com a kombucha frente ao *Penicillium* sp., os resultados (Figuras 3, 4, 5) demonstraram ser promissores como medida alternativa a este patógeno. Na figura 2, o gráfico mostra o efeito inibitório da Kombucha em diferentes concentrações (50%, 60%, 70%, 80%, 100%) sobre o crescimento do fungo *Penicillium* sp. ao longo do tempo, observe:

Figura 3 - Atividade fungistática *in vitro* da kombucha sobre *Penicillium* sp.



Nos primeiros dias, todas as concentrações de Kombucha e os grupos controle mostraram um crescimento percentual do fungo relativamente baixo e semelhante, variando aproximadamente entre 15% e 25%. A partir do dia 4, os grupos controle positivo e controle negativo exibiram um aumento contínuo e significativo no crescimento do fungo ao longo do tempo. Uma vez que, no dia 10, o crescimento do fungo atingiu cerca de 58% no controle positivo e aproximadamente 68% no controle negativo.

Em contrapartida, todas as concentrações de Kombucha testadas mantiveram o crescimento do *Penicillium* sp. em níveis consideravelmente mais baixos e estáveis. Observe que, do dia 4 até o dia 10, o crescimento do fungo nos grupos tratados com Kombucha permaneceu consistentemente abaixo de 35%, indicando um efeito de inibição satisfatória. Em termos de significância estatística, os asteriscos (*) indicam que a partir do dia 4, as concentrações de kombucha apresentaram diferença estatisticamente significativa no crescimento do fungo em comparação com os grupos controle (Positivo e Negativo). Em análise ao gráfico, todas as concentrações de kombucha apresentaram efeito inibitório similar sobre o crescimento do *Penicillium* sp.

Este resultado demonstrou de forma estatisticamente significativa que a Kombucha possui uma capacidade inibitória eficaz e promissora sobre o crescimento do fungo *Penicillium* sp. Este efeito foi evidente a partir do quarto dia e se mantém ao longo dos 10 dias de observação, com todas as concentrações testadas da Kombucha, sendo eficazes na redução do crescimento fúngico.

Não há registros na literatura pesquisada sobre o uso da kombucha em ensaios *in vitro* no controle do fungo *Penicillium* sp., no entanto, De Souza et al. (2023) testaram a kombucha no controle *in vitro* de *Botrytis cinerea* isolado de frutos de morangos. Os autores testaram a kombucha nas concentrações de 50%, 25%, 12,5% e 6,25%, os melhores resultados com relação ao crescimento micelial do fungo, foram identificados nas concentrações de 50% e 25%, com uma inibição de 88,9% e 46,7%. E quando estas concentrações foram aplicadas em frutos de morangos armazenados a 15°C os autores notaram redução da deterioração externa. Os resultados dos autores comprovam a eficácia da kombucha no controle biológico de fungos patogênicos, tal como, resultado encontrado para *Penicillium* sp.

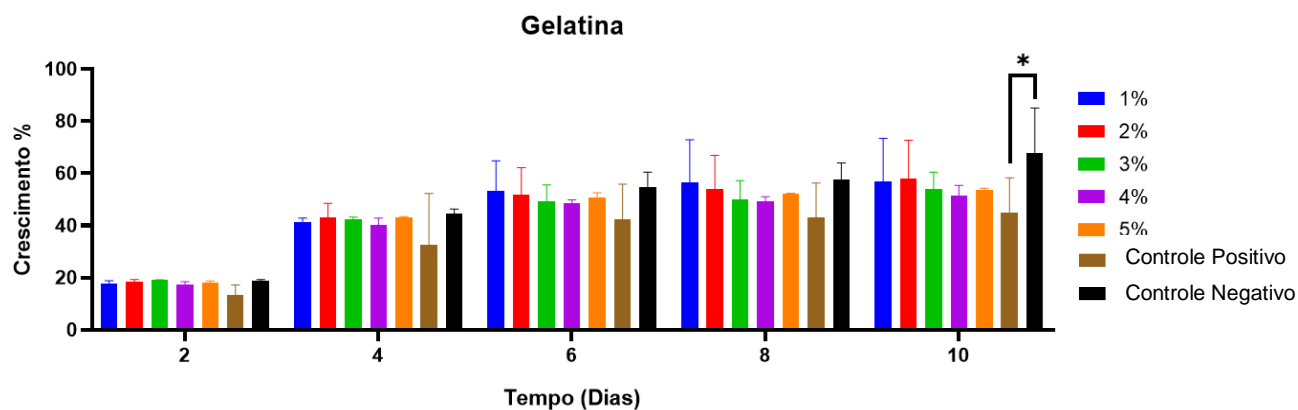
Matei et al. (2017) testaram a kombucha nos quatro fungos mais comuns que afetam as uvas nas etapas de pré e pós-colheita, sendo, *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum*, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus carbonarius*. A inibição mais significativa estatisticamente comprovada pelos autores, foi observada para *B. cinerea* no qual a kombucha proporcionou uma inibição de 55%, e a menos significativa foi notada para *P. expansum* com apenas 8% de inibição. Para os demais, *A. flavus* e *A. carbonarius* a kombucha não apresentou resultado estatisticamente significativo na inibição. Embora os fungos estudados pelos autores sejam de gêneros diferentes, os mesmos mostraram que a kombucha apresenta potencial de inibição no controle de alguns gêneros fúngicos, assim como, nos ensaios da kombucha frente ao *Penicillium* sp. investigados neste estudo atual.

Além disso, Li et al. (2025) elucidam que, os microrganismos que formam a comunidade microbiana da kombucha, principalmente em ação conjunta (*Saccharomyces*, *Acetobacter* e *Lactobacillus*) são responsáveis por produzirem compostos bioativos. Esses compostos bioativos incluem etanol e ácidos orgânicos (ácido acético, ácido glucônico, ácido glucurônico) que estão inteiramente relacionadas as propriedades de sabor e aos efeitos benéficos a saúde da microbiota da kombucha. Outros atributos importantes, são as bacteriocinas, proteínas, enzimas e os compostos fenólicos que contribuem significativamente com as propriedades antioxidantes e antimicrobianas que caracterizam a kombucha.

De acordo com Senthilkumar et al. (2026), o efeito antibacteriano da kombucha está diretamente relacionado ao seu ambiente ácido (pH ~ 2,5–3,5) produzido por ácidos orgânicos durante a fermentação. Explicam que, esses ácidos (acético, glucônico, glucurônico) são responsáveis por comprometerem a integridade da membrana celular impedindo a atividade metabólica. Além disso, a kombucha é caracterizada por um pH baixo contendo uma variedade de componentes bioativos, como enzimas, proteínas, fenólicos e bacteriocinas, que potencializam suas propriedades bacteriostáticas e bactericidas. Já as bacteriocinas tem o potencial de alterar a membrana, comprometendo o íon potássio e o ATP, induzindo a incapacidade da célula de equilibrar o pH intracelular. Essas características indutoras de inibição presente na kombucha, explicam o fator inibição encontrado para o fungo *Penicillium* sp. nos ensaios *in vitro*.

O resultado a seguir evidencia o potencial de diferentes concentrações de gelatina (1%, 2%, 3%, 4%, 5%) em inibir o crescimento do fungo *Penicillium* sp. Observe a figura 4, abaixo:

Figura 4 - Atividade fungistática *in vitro* da gelatina sobre *Penicillium* sp.



Fonte: Autora, 2026.

Inicialmente no dia 2 não há diferenças notáveis entre as diferentes concentrações de gelatina e os controles positivo e negativo. Sendo o crescimento de *Penicillium* sp. baixo em todos os grupos (aproximadamente 18-20%). Já nos dias 4, 6 e 8 as concentrações de gelatina mostram um crescimento de *Penicillium* sp. considerado ligeiramente menor ou comparável ao do controle negativo. O crescimento do fungo aumenta nesses dias para todos os grupos, exceto o controle positivo (fungicida comercial).

Assim sendo, no dia 10 foi possível observar uma diferença mais clara. Todas as concentrações de gelatina resultam em um crescimento de *Penicillium* sp. significativamente menor (variando de aproximadamente 50% a 55%) em comparação com o controle negativo (que está em cerca de 65-70%). Este resultado pode ser confirmado pela marca de significância estatística (*) associada ao controle negativo, indicando uma diferença estatisticamente significativa em comparação com os outros grupos tratados com gelatina nesse ponto.

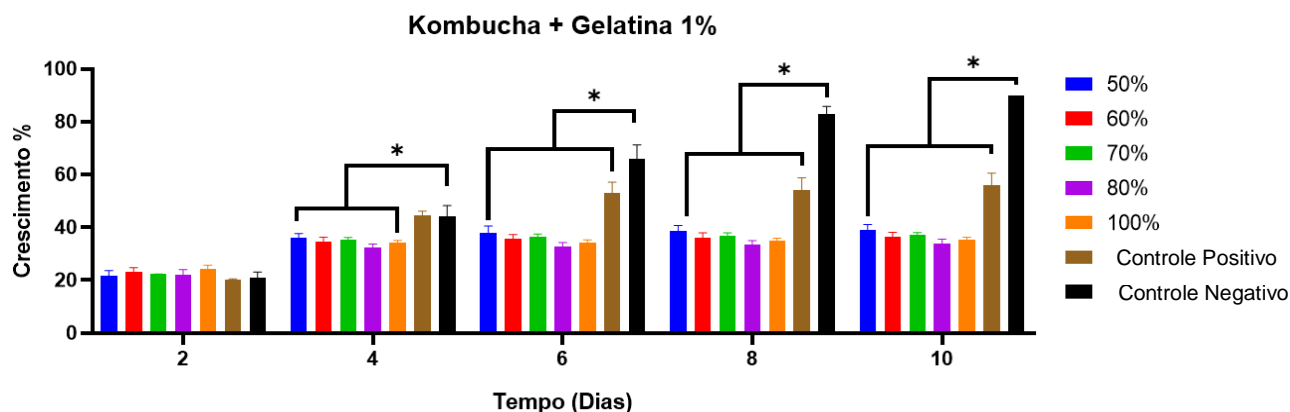
De modo geral, o gráfico demonstra que a gelatina, em todas as concentrações testadas, exerce um efeito inibitório sobre o crescimento de *Penicillium* sp. com uma inibição mais pronunciada e estatisticamente significativa no décimo dia, onde os

tratamentos com gelatina conseguem manter o crescimento do fungo em um nível consideravelmente inferior ao controle negativo. Isso confirma que a gelatina tem um efeito inibitório significativo sobre o fungo *Penicillium* sp., especialmente quando comparado ao controle negativo.

Não há estudos na literatura pesquisada, que comprovem a aplicação da gelatina como método de controle do fungo *Penicillium* sp., isso demonstra que o estudo atual é uma novidade no que tange a realização do primeiro ensaio *in vitro* com gelatina no controle do patógeno. Sendo, portanto, um resultado promissor, no qual mais estudos devem ser realizados visando a testagem em ensaios com dosagens maiores, uma vez que, as concentrações testadas proporcionaram inibição, porém, não tanto quanto o esperado. Todavia, estudos proeminentes demonstram potencialidade no uso da gelatina como fonte de biofilme aplicado em diversas frutas comercializadas no Brasil.

A seguir, tem-se o resultado da combinação da kombucha com gelatina (1%) em diferentes concentrações (50%, 60%, 70%, 80%, 100%) sobre o crescimento do fungo *Penicillium* sp. ao longo do tempo conforme representado na figura 5. Note:

Figura 5 - Atividade fungistática *in vitro* kombucha + gelatina (1%) sobre *Penicillium* sp.



Fonte: Autora, 2026.

A princípio, no Dia 0, não foi observado crescimento fúngico em nenhum dos grupos, conforme esperado. No dia 2, todas as amostras, incluindo os controles e os tratamentos com Kombucha, exibiram um crescimento fúngico semelhante e relativamente baixo, variando entre 20% e 25%. Este padrão sugere que a colonização inicial por *Penicillium* sp. não foi imediatamente afetada com o tratamento.

No entanto, a partir do dia 4, o crescimento fúngico começou a divergir significativamente entre os grupos. Os grupos tratados com as diferentes concentrações de Kombucha + Gelatina (1%) (50%, 60%, 70%, 80% e 100%) mantiveram um crescimento fúngico substancialmente menor em comparação com o Controle Negativo. A análise estatística (ANOVA) indicada pelos asteriscos (*), confirmou que, a partir do dia 4, o crescimento do *Penicillium* sp. nos grupos tratados com Kombucha + Gelatina (1%) foi estatisticamente menor do que no Controle Negativo.

Essa tendência de inibição se acentuou e manteve-se consistente nos dias subsequentes. Uma vez que, nos dias 6, 8 e 10, os grupos tratados com Kombucha + Gelatina (1%) continuaram a exibir os menores níveis de crescimento fúngico, com percentuais variando aproximadamente entre 35% e 40%. Em contraste, o Controle Positivo apresentou um crescimento progressivamente maior, atingindo cerca de 50-60% no dia 10. Do mesmo modo, o Controle Negativo demonstrou o maior crescimento fúngico, atingindo quase 90% no dia 10, evidenciando a virulência do *Penicillium* sp. na ausência de tratamento.

Baseado nisso, a significância estatística (*) confirmou que os tratamentos com Kombucha + Gelatina (1%) foram consistentemente mais eficazes na inibição do fungo do que ambos os controles a partir do dia 6. Adicionalmente, o Controle Positivo apresentou um crescimento estatisticamente inferior ao Controle Negativo a partir do dia 6, sugerindo que o fungicida químico utilizado não apresentou potencial em inibir o crescimento do fungo, sendo a Kombucha + Gelatina (1%) mais eficaz que o controle químico adotado como Controle Positivo no ensaio realizado.

Um achado notável nesse estudo, é a ausência de uma clara relação dose-resposta entre as diferentes concentrações de Kombucha testadas (50%, 60%, 70%, 80%, 100%). Uma vez que, todas as concentrações de Kombucha + Gelatina (1%) demonstraram um grau similar de inibição do crescimento de *Penicillium* sp. ao longo dos 10 dias de observação. Isso sugere que, dentro da faixa testada, mesmo as concentrações mais baixas de Kombucha foram suficientes para desencadear um efeito antifúngico, ou que o efeito máximo de inibição foi atingido e não se observou um aumento adicional de eficácia com concentrações mais elevadas.

Esse comportamento sugere a ocorrência de um efeito limiar, no qual concentrações a partir de 50% já seriam suficientes para promover o efeito antifúngico observado. Esse padrão pode estar associado à saturação dos alvos biológicos do patógeno, resultante da ação de metabólitos antimicrobianos presentes na kombucha, como ácidos orgânicos e compostos fenólicos. Além disso, a interação com a gelatina pode influenciar a difusão e disponibilidade desses compostos, resultando em respostas semelhantes entre as concentrações. Pois, de acordo com Battikh et al. (2012), esse tipo de resposta não linear é comum em sistemas biológicos complexos e já foi descrito em estudos envolvendo compostos naturais com atividade antimicrobiana.

Em suma, os dados deste estudo demonstram que a combinação de Kombucha com 1% de gelatina é uma estratégia eficaz na inibição do crescimento do fungo *Penicillium* sp. O efeito inibitório foi estatisticamente significativo em comparação com os controles positivo e negativo, podendo ser constatado no período de 10 dias de avaliação. A estabilidade de inibição em todas as concentrações de Kombucha testadas, se mostrou promissora, pois, indica que concentrações mais baixas podem ser igualmente eficazes, o que poderia ter implicações na otimização de custos e na aplicabilidade.

Portanto, estes resultados indicam ainda, o potencial da Kombucha + Gelatina (1%) como um biofungicida ou revestimento protetor para frutas cítricas, oferecendo uma alternativa mais natural ou complementar aos tratamentos convencionais como os químicos para o controle de doenças pós-colheita causadas por *Penicillium* sp.

Em toda a literatura pesquisa, não há metadados com registro de uso da kombucha + gelatina (1%) sendo empregada no controle *in vitro* de *Penicillium* sp., sendo, portanto, este o primeiro registro literário do ensaio realizado. Deste modo, pode se afirmar que, os resultados indicam que a kombucha individual ou associada a gelatina (1%) é uma fonte alternativa de controle biológico do fungo *Penicillium* sp., agente causal do mofo verde em frutos de laranja.

Alguns estudos como o de Valiyan et al. (2021), esclarecem um dos mecanismos mais importantes pelo qual a kombucha exerce ação antimicrobiana. De acordo com os autores, esse fator está diretamente relacionado com a produção de ácidos orgânicos, principalmente o ácido acético produzido durante a fermentação. Segundo relatos, o

efeito antimicrobiano exercido pelo ácido acético é atribuído a sua capacidade de diminuir o pH tanto em condições intra e extracelulares, alterando, portanto, o transporte e a integridade da membrana celular, bem como, a atividade enzimática, induzindo até mesmo a precipitação de proteínas citoplasmáticas. Além do ácido acético e outros ácidos orgânicos, os autores citam outros compostos biologicamente ativos, como polifenóis, proteínas, bacteriocinas e enzimas, que podem contribuir para a atividade antimicrobiana da Kombucha.

Darbandi et al. (2022) ressaltam que, as bacteriocinas atuam formando poros e rompendo a integridade da membrana da célula-alvo, levando a morte celular. Todavia, os autores explicam que, as bactérias do ácido láctico (BAL) são conhecidas por produzirem bacteriocinas com características que as tornam ideais para a inativação de patógenos, compreendendo seu amplo espectro de atividade antimicrobiana, tolerância ao pH e ao calor e natureza não tóxica. Contudo, a compreensão do principal mecanismo de ação da kombucha, elucida o potencial fungistático da mesma validado nos ensaios *in vitro* frente ao *Penicillium* sp.

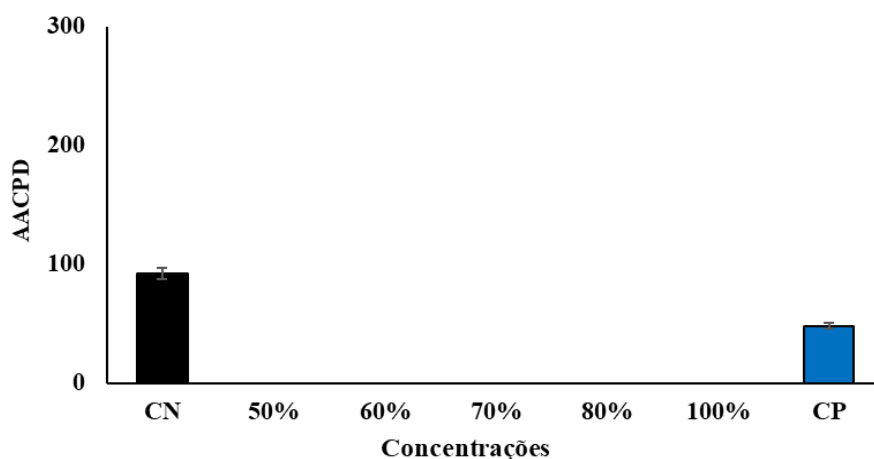
Importante ressaltar que, a kombucha apresenta um mecanismo de ação múltipla, enquanto que o controle químico possui um mecanismo de ação específico. Bai et al. (2024), explicam que, o tiofanato-metílico age ligando-se às subunidades da β -tubulina, interferindo na organização dos microtúbulos e interrompendo processos celulares essenciais, como mitose, divisão celular e transporte intracelular, impedindo assim, o crescimento micelial. Esse mecanismo específico contrasta com a ação multifatorial da kombucha, que envolve acidificação do meio e ação sinérgica de metabólitos bioativos. Essa diferença pode explicar a ausência de uma dose-resposta observada no presente estudo, uma vez que fungicidas sintéticos apresentam alvos específicos, enquanto sistemas naturais atuam por múltiplas vias.

Nos últimos anos, estudos tem relatado a diminuição de eficácia do tiofanato-metílico. Chen et al. (2025) relatam que, embora o fungicida desempenhe seu efeito biocida inibindo o complexo da succinato desidrogenase (SDH) na cadeia respiratória mitocondrial, interrompendo assim o metabolismo energético e conseqüentemente paralisando a reprodução e o crescimento do fungo. Ainda assim, o modo de ação do sitio único o torna eminentemente susceptível ao desenvolvimento de resistência,

permeada principalmente por mutações pontuais no gene *tub2*, que codifica a β -tubulina, essas mutações diminuem a afinidade de ligação entre o fungicida e seu sítio alvo, levando a um controle ineficaz do patógeno.

O gráfico abaixo (Figura 6) apresenta os resultados do estudo sobre a ação preventiva da Kombucha (50%, 60%, 70%, 80%, 100%) frente ao fungo *Penicillium* sp., avaliando a AACPD (Área Abaixo do Progresso da Doença) em frutos de laranjas.

Figura 6 - Área Abaixo do Progresso da Doença (AACPD) em frutos de laranjas tratadas com Kombucha.



Fonte: Autora, 2026

Os resultados expressos acima mostram que, o Controle Negativo (CN) apresentou maior AACPD, aproximadamente 95 (indicado pela barra preta). No entanto, para todas as concentrações de kombucha não houve barras visíveis no gráfico, sendo este, um indicativo de que a AACPD foi zero. Isso sugere uma inibição completa do crescimento do fungo *Penicillium* sp. em todas as concentrações testadas. Já o grupo controle positivo (CP) apresentou uma AACPD de aproximadamente 50 (indicado pela barra azul), o ideal para este grupo, o não desenvolvimento da doença, uma vez que, estes frutos identificados como Controle Positivo, foram tratados com fungicida químico de uso convencional. Porém, o fungicida químico não foi capaz de prevenir a ocorrência da doença, conforme observado.

Os resultados demonstram que a Kombucha teve um efeito preventivo altamente significativo sobre o crescimento do fungo *Penicillium* sp., em frutos de laranjas. Observe que todas as concentrações (50%, 60%, 70%, 80%, 100%) testadas resultaram em uma supressão total da progressão da doença, diferindo do Controle Negativo (CN) que teve alta progressão da doença, superando também, o Controle Positivo (CP), que apresentou uma progressão intermediária da doença. Logo, este estudo se mostrou promissor ao confirmar o potencial do efeito preventivo proporcionado pela Kombucha sobre a ocorrência do fungo *Penicillium* sp. em frutos de laranjas.

Para os ensaios *in vivo* a kombucha apresentou resultados altamente promissores ao proporcionar controle efetivo da doença, com ausência de sintomas observáveis nos frutos, evitando a contaminação e desenvolvimento do mofo verde ocasionado por *Penicillium* sp. Este resultado, se difere dos ensaios realizados por Júnior et al. (2022), os autores testaram a kombucha (25%, 50%, 75% e 100%) no controle preventivo de *Rhizopus* sp. em frutos de morangos sob diferentes temperaturas (25°C e 17°C), contudo, para este fungo a kombucha não apresentou potencial preventivo, a doença se desenvolveu em todos os frutos tratados. Essa diferença entre os resultados, potencializa a ideia de que a kombucha é um método eficaz no controle do fungo pertencente ao gênero *Penicillium* sp., todavia, mais estudos podem ser realizados a fim de investigar a individualidade de cada patógeno.

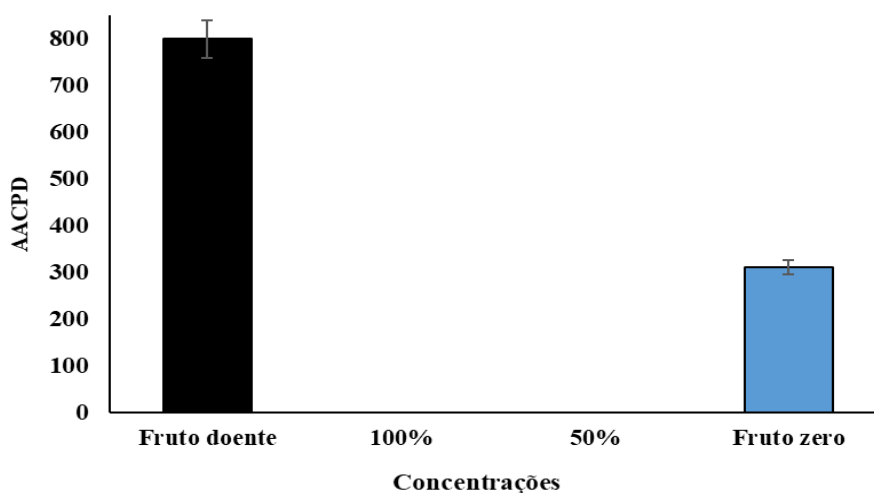
Já o estudo de Tan et al. (2019) demonstrara similaridade, corroborando com os resultados do estudo atual, os autores testaram a kombucha na conservação pós-colheita de peras. As peras da variedade Hosui foram imersas na kombucha por 15 min e armazenadas em temperatura ambiente por 18 dias. Após esse período, os resultados demonstraram que a kombucha prolongou a vida útil das peras, e a qualidade do grupo de peras tratadas foi 1,5 vezes maior do que a do grupo controle. De acordo com os autores, esse resultado indica que a kombucha pode inibir a transformação de polissacarídeos (amido e pectina), e retardar a degradação de nutrientes na fruta, resultando na redução da taxa de perda de peso, inibição da peroxidação lipídica da membrana, redução do teor de malondialdeído (MDA), da condutividade elétrica, da manutenção da estabilidade da membrana celular e retardo da senescência da pera. Além disso, os autores descreveram ainda que, a kombucha pode inibir o teor de H₂O₂ e

umentar a atividade da peroxidase (POD) e da dismutase (SOD), intensificando a estabilidade da fruta durante o armazenamento.

Desta forma, podemos associar esse mecanismo de ação da kombucha citado pelos autores, aos resultados encontrados para a Kombucha aplicada nas frutas de laranja no atual estudo. No qual a kombucha se mostrou fonte promissora com potencial ação biofúngica, associado a uma qualidade de biofilme na cobertura de frutos de laranja, protegendo-os ao ataque de *Penicillium* sp. e aumentando a vida útil dos mesmos.

O gráfico abaixo (Figura 7) ilustra os resultados do estudo que investigou o efeito preventivo da kombucha (100% e 50%) em um confronto direto (estudo de interação) com o fungo *Penicillium* sp. em frutos de laranja.

Figura 7 - Área Abaixo do Progresso da Doença (AACPD) em um confronto direto com frutos de laranjas.



Fonte: Autora, 2026.

A barra que ilustra o fruto doente, apresenta um valor de AACPD de aproximadamente 800, o mais alto nível de progressão da doença. Sendo este, o fruto contaminado submetido ao confronto/contato direto com os frutos que receberam as concentrações de 100% e 50% de kombucha. Desta forma, a ausência de barra para as concentrações testadas, sugere fortemente que a progressão da doença (AACPD) foi zero, tanto nas concentrações de 100% quanto nas de 50% de Kombucha. Sendo esta, a principal evidência de eficácia da Kombucha com um efeito preventivo considerado

significativo. Para o fruto zero, ou seja, fruto sem tratamento nenhum, o valor da AACPD foi de aproximadamente 311, com uma barra de erro associada indicando variabilidade. Comprovando que os frutos sem tratamento foram infectados por *Penicillium* sp.

Portanto, as concentrações de Kombucha demonstraram um efeito preventivo significativo contra o crescimento de *Penicillium* sp. em frutos de laranjas. Indicando que a Kombucha foi eficaz em inibir o desenvolvimento fúngico, uma vez que, a progressão da doença foi zero sob essas condições de tratamento. Visto que, o fruto doente serve como um ponto de referência no que tange a severidade da doença. Assim como, o fruto zero que apresentou um nível intermediário no desenvolvimento da doença conforme o esperado. Logo, neste estudo de interação por meio de um confronto direto similar a um ambiente onde os frutos são comercializados, a kombucha nas concentrações testadas se mostrou eficaz na proteção dos frutos de laranjas, evitando a contaminação por *Penicillium* sp., um patógeno que se dispersa facilmente, uma vez que se tenha frutos doentes em contato com frutos sadios, sendo, portanto, evidenciado a eficácia da kombucha como uma fonte alternativa de controle biológico e ao uso de fungicidas químicos.

Os autores Junior et al. (2022), testaram a kombucha nas concentrações de 50% e 100% em morangos no ensaio de confronto direto com o fungo *Rhizopus* sp. E comprovaram que a kombucha não foi eficaz na proteção dos frutos contra o ataque deste patógeno, resultando em uma contaminação total dos frutos de morangos. Este resultado, se difere do alcançado para a kombucha quando aplicada em frutos de laranja, conforme demonstrado neste estudo, pois, a kombucha protegeu os frutos e evitou a contaminação por *Penicillium* sp. ficando evidenciado a potencialidade da kombucha como fonte promissora na aplicação preventiva em frutas de laranjas.

Logo, o estudo elucidou sobre o potencial da kombucha como fonte promissora de controle biológico, tal como, um biofungicida natural e de fonte renovável, que atua na preservação do mecanismo fisiológico e preservação da qualidade pós-colheita de frutas de laranja. Além disso, a kombucha se destacou por aumentar a vida útil das frutas de laranja e proteger contra infecção por *Penicillium* sp. Tal resultado, pode contribuir a evitar perdas significativas, além de expandir o mercado comercial da fruta.

5. Conclusão

A microbiota da kombucha apresentou uma composição característica, com predominância dos táxons *Komagotaeibacter* e *Pichiaceae* sp. Os ensaios *in vitro* demonstraram potencial atividade antifúngica, sendo o crescimento de *Penicillium* sp. efetivamente inibido tanto pela bebida isolada quanto em associação à gelatina. Essa eficácia foi corroborada pelos testes *in vivo*, nos quais a kombucha controlou significativamente o mofo verde e exerceu uma ação protetiva nos frutos em condições simuladas de comercialização. Esses resultados fazem da kombucha uma alternativa biofúngica promissora, embora estudos complementares sejam necessários para avaliar o impacto do tratamento sobre as propriedades físico-químicas e nutricionais das laranjas.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Código de Financiamento 001. Agradecimentos também à Badu Kombucha pelo fornecimento da kombucha utilizada nos experimentos.

Referências

ALVAREZ, M. V. et al. Natural pectin-based edible composite coatings with antifungal properties to control green mold and reduce losses of 'Valencia' oranges. **Foods (Basel, Switzerland)**, v. 11, n. 8, p. 1083, 2022.

AUNG, Thinzar; KIM, Mi Jeong. A comprehensive review on kombucha biofilms: A promising candidate for sustainable food product development. **Trends in Food Science & Technology**, v. 144, p. 104325, 2024.

AUNG, Thinzar; EUN, Jong-Bang. Production and characterization of a novel beverage from laver (*Porphyra dentata*) through fermentation with kombucha consortium. **Food chemistry**, v. 350, p. 129274, 2021.

BAI, Song et al. Research progress on benzimidazole fungicides: A review. **Molecules**, v. 29, n. 6, p. 1218, 2024.

BATTIKH, Houda et al. Efeito antimicrobiano de análogos do Kombuchá. **LWT-Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 1, pág. 71-77, 2012.

BRYCZEWSKA, M. A. et al. SCOPY cellulose-based materials hydrophobized using stearic acid and apple powder. **International Journal of Molecular Sciences**, 25(24), 13746, 2024.

CARVALHO, Samira Abreu et al. Efeitos da aplicação de revestimentos biodegradáveis na conservação pós-colheita de tomate. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 9, p. e59011931677-e59011931677, 2022.

CHEN, Xiangmo et al. Resistance of Mulberry Fruit Sclerotiniosis Pathogens to Thiophanate-Methyl and Boscalid. **Horticulturae**, v. 12, n. 1, p. 9, 2025.

DAI, Limin et al. Recent advances in the application technologies of surface coatings for fruits. **Foods**, v. 14, n. 14, p. 2471, 2025.

DAI, Limin et al. Recent advances in starch-based coatings for the postharvest preservation of fruits and vegetables. **Carbohydrate Polymers**, v. 328, p. 121736, 2024.

DE SOUZA, Andressa Caroline Ferreira et al. Potencial antifúngico do chá de hibisco e da kombucha fermentada. **Chemical Engineering Transactions**, v. 102, p. 187-192, 2023.

DARBANDI, Atieh et al. Bacteriocins: properties and potential use as antimicrobials. **Journal of clinical laboratory analysis**, v. 36, n. 1, p. e24093, 2022.

DÍAZ, Mariana Andrea et al. Protection of citrus fruits from postharvest infection with *Penicillium digitatum* and degradation of patulin by biocontrol yeast *Clavispora lusitaniae* 146. **Microorganisms**, v. 8, n. 10, p. 1477, 2020.

EL-RHOUTTAIS, Chaimae et al. Effect of Xanthan gum-based edible coating enriched with cloves and cinnamon for extending the shelf-life of pomegranate fruit during cold storage. **Scientific Reports**, v. 15, n. 1, p. 31518, 2025.

ELSHARBINY, Elsherbiny A.; DAWOOD, Dawood H.; SAFWAT, Nesreen A. Ação antifúngica e indução de resistência pelo ácido β -aminobutírico contra *Penicillium digitatum* para o controle do mofo verde em laranjas. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 171, p. 104721, 2021.

GAGGIÀ, F. et al. Kombucha beverage from green, black and rooibos teas: a comparative study looking at microbiology, chemistry and antioxidant activity. *Nutrients* 20; 11 (1): 1 [em linha]. 2018.

GANDÍA, Mónica et al. Potencial de proteínas antifúngicas (AFPs) no controle da podridão pós-colheita de frutos de *Penicillium*. **Revista dos Fungos**, v. 7, n. 6, pág. 449, 2021.

GARCÍA-CUSTODIO, María del Carmen et al. Efeitos antioxidantes e antifúngicos de seis óleos essenciais vegetais contra *Penicillium digitatum* e *Penicillium italicum*. **Microorganisms**, v. 13, n. 9, p. 2042, 2025.

JERNEJ, Linda et al. Clorofilina e luz solar contra *Penicillium digitatum*: explorando a inativação fotodinâmica como uma tecnologia verde de pós-colheita na citricultura. **Photochemical & Photobiological Sciences**, p. 1-14, 2025.

JUNIOR, Aloisio Freitas Chagas et al. Controle biológico do fungo *Rhizopus* sp. em morangos pós-colheita. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 21, n. 1, p. 1-12, 2022.

KAASHYAP, Mayank; COHEN, Marc; MANTRI, Nitin. Microbial diversity and characteristics of kombucha as revealed by metagenomic and physicochemical analysis. **Nutrients**, v. 13, n. 12, p. 4446, 2021.

KUPPER, Katia Cristina; MOURA, Vanessa Santos; DE PAULA, Fernanda Barbosa Francisco. Leveduras como agentes de controle biológico de patógenos de pós-colheita em citros. **Rapp**, v. 29, p. 35-55, 2023.

LIN, Lin et al. Preparation and Characterization of Chitosan-Tremella fuciformis Polysaccharide Edible Films for Meat Preservation. **Packaging Technology and Science**, v. 38, n. 3, p. 211-226, 2025.

LI, Xinyao et al. A Comprehensive Evaluation of Microbial Synergistic Metabolic Mechanisms and Health Benefits in Kombucha Fermentation: A Review. **Biology**, v. 14, n. 8, p. 952, 2025.

MATEI, Bogdan et al. Potencial uso do extrato bruto de Kombucha no controle de fungos pós-colheita em uvas. 2017.

MEHMOOD, Arif et al. Visão geral dos avanços recentes no desenvolvimento de filmes comestíveis antimicrobianos para embalagens de alimentos. **Packaging Technology and Science**, v. 38, n. 6, p. 487-509, 2025.

NAM, Younhee et al. Isolamento e purificação de composto antibacteriano de kombucha de SCOBY. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 35, p. e2504012, 2025.

PRADHAN, Susanta et al. Análise metagenômica e físico-química da bebida Kombucha produzida a partir de resíduos de chá. **Journal of Food Science and Technology**, v. 60, n. 3, p. 1088-1096, 2023.

QIN, Yuyue et al. Efeitos de filmes compósitos de nanopartículas de IRMOF-3 carregadas com quitosana/eugenol no metabolismo de espécies reativas de oxigênio e na dinâmica da comunidade microbiana em morangos pós-colheita. **Food Bioscience**, v. 63, p. 105652, 2025.

RAMOS SUÁREZ, Denisse Elibeth et al. Tolerância ao cádmio e ao chumbo de fungos filamentosos isolados de solos de mineração contaminados. **Biology**, v. 14, n. 6, p. 688, 2025.

RODRIGUES, Antonio Rony da Silva Pereira. Controle biológico de fungos fitopatogênicos em citros pós-colheita. **Citrus Research & Technology**, v. 42, p. 1-7, 2022.

SENTHILKUMAR, Krishnaveni; MUTHIAH, Perumalsamy. A Comprehensive Review of Kombucha Fermentation and Probiotic Functional Mechanisms: Microbial Dynamics, Bioactive Compounds and Health Effects. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, p. 1-27, 2026.

SULZBAKER, Alana. Produção de biomoléculas por *Bacillus* spp. e *Trichoderma* spp. em fermentação submersa visando biocontrole de insetos-praga e fitopatógenos. 2025.

TAN, SALTANDO, et al. Biocontrole da decomposição pós-colheita de pera por Kombuchá. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 3, pág. 668–675, 2019.

VALIYAN, Fateme; KOOHSARI, Hadi; FADAVI, Abolfazl. Use of response surface methodology to investigate the effect of several fermentation conditions on the antibacterial activity of several kombucha beverages. **Journal of Food Science and Technology**, v. 58, n. 5, p. 1877-1891, 2021.

VILLARREAL-SOTO, Silvia Alejandra et al. Metabolome-microbiome signatures in the fermented beverage, Kombucha. **International Journal of Food Microbiology**, v. 333, p. 108778, 2020.

XUE, Hongkun et al. Insights into the preparation, properties, application in food of polysaccharide-based edible films and coatings: An updated overview. **Current Research in Food Science**, p. 101123, 2025

YANG, Mingchen et al. Cuminato de sódio inibe o crescimento micelial de *Penicillium digitatum* induzindo estresse oxidativo e danificando a membrana celular. **Journal of Fungi**, v. 11, n. 9, p. 612, 2025.

YAN, Jiawei et al. O efeito do revestimento comestível camada por camada (LBL) na qualidade e nos metabólitos do morango durante o armazenamento. **Biologia e Tecnologia Pós-Colheita**, v. 147, p. 29-38, 2019.

WU, Xiaoya et al. Mudanças dinâmicas nas comunidades microbianas, propriedades físico-químicas e sabor da kombucha feita com chá fu-brick. **Foods**, v. 12, n. 23, p. 4242, 2023.