

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

ANDRESSA CAROLINE FERREIRA DE SOUZA

**VERIFICAÇÃO ANTIFÚNGICA FRENTE AO CHÁ DE HIBISCO E FERMENTADOS
DE KOMBUCHA**

CAMPO MOURÃO

2022

ANDRESSA CAROLINE FERREIRA DE SOUZA

**VERIFICAÇÃO ANTIFÚNGICA FRENTE AO CHÁ DE HIBISCO E FERMENTADOS
DE KOMBUCHA**

Antifungal check in front of hibiscus tea and fermented kombucha

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador(a): Dra. Marcia Regina Ferreira Geraldo Perdoncini.

Coorientador(a): Dra. Leila Larisa Medeiros Marques.

CAMPO MOURÃO

2022



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

ANDRESSA CAROLINE FERREIRA DE SOUZA

**VERIFICAÇÃO ANTIFÚNGICA FRENTE AO CHÁ DE HIBISCO E FERMENTADOS
DE KOMBUCHA**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
apresentado como requisito para obtenção do título de
Bacharel em Engenharia de Alimentos da
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
(UTFPR).

Data de aprovação: 24/novembro/2022.

Marcia Regina Ferreira Geraldo Perdoncini
Doutorado em Ciências Biológicas na área de Química e Fisiologia de Microrganismos pela
Universidade Estadual de Maringá
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Aline Takaoka Alves Baptista
Doutorado em Ciências de Alimentos pela Universidade Estadual de Maringá
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Bogdan Demczuk Junior
Doutorado em Engenharia de Alimentos pela Universidade Federal do Paraná
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

CAMPO MOURÃO

2022

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e aos meus pais por terem me mantido na trilha certa durante esses anos de graduação me dando todo apoio e forças para chegar até o final.

Deixo um agradecimento especial a todos aqueles que estão presentes na minha vida de alguma forma. Tenho gratidão por vocês compartilharem comigo inúmeros desafios e vitórias. Agradeço especialmente a Caroline, a Júlia, o Igor e a Karoline, por compartilharem comigo muitos momentos difíceis, importantes e decisivos, além da gratidão por me motivarem e apoiarem sempre.

Agradeço à minha orientadora e aos membros da banca examinadora por todo apoio, orientação e ideias que fizeram deste projeto uma experiência inspiradora. Sem a assistência e envolvimento dedicado em todas as etapas do processo, este projeto nunca teria sido realizado.

Também quero agradecer à Universidade Tecnológica Federal do Paraná e a todos os professores do meu curso pela elevada qualidade do ensino oferecido.

RESUMO

Kombucha é uma bebida fermentada por uma simbiose de bactérias e leveduras a partir de chás, sendo ela de origem asiática. Podem ser feitas fermentações secundárias utilizando frutas, chás, especiarias, folhas, como o hibisco por exemplo. *Hibiscus sabdariffa* L. é conhecido pela sua cor vermelha profunda, aroma e sabor ácido único, sendo uma planta herbácea do gênero *Hibiscus* da família *Malvaceae*. A kombucha fermentada com hibisco, além de proporcionar um sabor diferente, pode fornecer propriedades funcionais como ação antimicrobiana e antioxidante. *Botrytis cinerea* é um fungo fitopatogênico, causador da podridão cinzenta em frutas, onde se destaca o morango, que por possuir teor de umidade, açúcares e ácidos o torna suscetível ao ataque pelo fungo. *B. cinerea* é um fungo de difícil controle podendo apresentar resistência quanto aos produtos químicos utilizados para seu controle. Desta forma, técnicas como aplicação de compostos naturais e tratamentos físicos vêm sendo estudadas para o emprego na prevenção do mofo cinzento. O objetivo desse trabalho foi avaliar atividade antifúngica da 1ª fermentação de kombucha (F1), da 2ª fermentação de kombucha com hibisco (F2H) e o chá de hibisco frente ao fungo *Botrytis cinerea*, para uma possível alternativa de controle fúngico em morangos. *B. cinerea* foi inoculado em meio BDA nas concentrações de 50%, 25%, 12,5% e 6,25% de chá de hibisco e fermentados de kombucha e avaliados após 7 dias quanto ao crescimento micelial, verificada pelo diâmetro do mesmo. BDA sem adição de chá ou kombucha foram utilizados como controle. Morangos foram mergulhados em solução aquosa de chá de hibisco e fermentados de kombucha. Os resultados obtidos mostraram inibição do crescimento micelial de *B. cinerea* nos meios com concentrações de 50 % e 25 % de kombucha (F1 e F2H) e chá de hibisco, onde a inibição para F1 foi de 88,9% e 46,7%. Para F2H foi de 58,9% e 20%. E para o chá de hibisco foi de 21,1% e 12,2%, respectivamente. Quando esses compostos puros foram aplicados por imersão nos morangos e armazenados a 15 °C, obteve-se alguns sinais de diminuição da deterioração exterior, sendo que o chá de hibisco demonstrou melhor controle.

Palavras-chave: *Botrytis cinerea*; composto naturais; deterioração de alimentos; atividade antifúngica.

ABSTRACT

Kombucha is a beverage fermented by a symbiosis of bacteria and yeast from teas, and it is of Asian origin. Secondary fermentations can be made using fruits, teas, spices, leaves, such as hibiscus for example. *Hibiscus sabdariffa* L. is known for its deep red color, aroma and unique acidic taste, being an herbaceous plant of the genus *Hibiscus* of the *Malvaceae* family. The kombucha fermented with hibiscus, in addition to providing a different flavor, can provide functional properties such as antimicrobial and antioxidant action. *Botrytis cinerea* is a phytopathogenic fungus, which causes gray rot in fruits, in which strawberry stands out, which, due to its moisture content, sugars and acids, makes it susceptible to attack by the fungus. *B. cinerea* is a fungus that is difficult to control and may be resistant to the chemicals used to control it. Thus, techniques such as the application of natural compounds and physical treatments have been studied for use in the prevention of gray mold. The objective of this work was to evaluate the antifungal activity of the 1st fermentation of kombucha (F1), the 2nd fermentation of kombucha with hibiscus (F2H) and hibiscus tea against the fungus *Botrytis cinerea*, for a possible alternative for fungal control in strawberries. *B. cinerea* was inoculated in PDA medium at concentrations of 50%, 25%, 12.5% and 6.25% of hibiscus tea and fermented kombucha and evaluated after 7 days for mycelial growth, verified by its diameter. PDA without added tea or kombucha were used as a control. Strawberries were steeped in an aqueous solution of hibiscus tea and fermented into kombucha. The results obtained showed inhibition of the mycelial growth of *B. cinerea* in the media with concentrations of 50% and 25% of kombucha (F1 and F2H) and hibiscus tea, where the inhibition for F1 was 88.9% and 46.7%. For F2H it was 58.9% and 20%. And for hibiscus tea it was 21.1% and 12.2% respectively. When these pure compounds were applied by immersion on strawberries and stored at 15 °C, there were some signs of reduced external deterioration, with hibiscus tea showing better control.

Keywords: *Botrytis cinerea*; natural compounds; food spoilage; antifungal activity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Flor do hibisco natural e desidratado	18
Figura 2- Visão reverso do <i>B. cinerea</i> em meio BDA	23
Figura 3- Visão frontal do <i>B. cinerea</i> em meio BDA.....	24
Figura 4- Visão reverso da colônia na F1 da Kombucha	25
Figura 5- Visão frontal da colônia na F1 da Kombucha.....	25
Figura 6- Visão reverso do fungo na F2H da kombucha.....	27
Figura 7- Visão frontal do fungo na F2H da kombucha	27
Figura 8- Visão reverso do fungo no chá de hibisco	28
Figura 9- Visão frontal do fungo no chá de hibisco	29
Figura 10- Morangos tratados no tempo zero de armazenamento	30
Figura 11- Morangos tratados após 3 dias de armazenamento	31
Figura 12- Morangos tratados após 6 dias de armazenamento	32

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	OBJETIVOS	11
2.1	Objetivo geral	11
2.2	Objetivos específicos	11
3	REVISÃO DE LITERATURA	12
3.1	<i>Botrytis cinerea</i>	12
3.2	Morango e formas de conservação	13
3.3	Kombucha	14
3.3.1	Benefícios da kombucha	15
3.3.2	Atividade antimicrobiana	16
3.4	Hibisco	17
4	MATERIAIS E MÉTODOS	20
4.1	Produção da kombucha	20
4.1.1	Fermentação 1 (F1).....	20
4.1.2	Fermentação 2 (F2H)	20
4.2	Produção do chá de hibisco	20
4.3	Produção do meio de cultura com o chá e os fermentados de kombucha	20
4.3.1	Esterilização da F1 e meio de cultura com (F1)	21
4.3.2	Esterilização do chá e a F2H.....	21
4.4	Inoculação do fungo aos meios de cultura	21
4.5	Aplicação do chá e dos fermentados da kombucha no morango	22
4.6	Avaliação visual do crescimento do fungo	22
5	RESULTADOS	23
6	CONCLUSÃO	34
	REFERÊNCIAS	35

1 INTRODUÇÃO

Kombucha é uma bebida fermentada por uma simbiose de bactérias e leveduras a partir de chás, sendo ela de origem asiática. No entanto, ganhou popularidade devido aos seus efeitos terapêuticos, como antimicrobiano, antioxidante, anticancerígeno, antidiabético, tratamento de úlceras gástricas e colesterol alto (BRUSCHI; SOUSA; MODESTO, 2018; CHAKRAVORTY *et al.*, 2016). Também mostrou um impacto na resposta imune e na desintoxicação do fígado, tornando-a conhecida como uma bebida funcional, e, por esse motivo ela vem se popularizando no Brasil (BRUSCHI; SOUSA; MODESTO, 2018; CHAKRAVORTY *et al.*, 2016).

Na sua produção da kombucha é comumente utilizado chá preto, mas o chá verde também é uma opção. Esse chá é adoçado, e nele é inserido a “mãe da kombucha” ou SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts*), responsável pelo processo fermentativo, formado pela associação de bactérias do gênero *Acetobacter* e fungos *Sacharomyces*, acomodadas numa matriz de celulose sintetizada por bactérias acéticas. Sua fermentação é em torno de 7 a 10 dias e, se caso estender este tempo, desenvolve-se um sabor avinagrado (HOHMANN; KUNZ; VANDRESEN, 2020). Também pode ser realizada uma segunda fermentação, onde costuma-se adicionar vegetais, frutas, sucos, chás e especiarias, como por exemplo, o hibisco, proporcionando assim uma saborização, e outras propriedades da bebida.

Hibiscus sabdariffa L. é conhecido pela sua cor vermelha profunda, aroma e sabor ácido único, sendo uma planta herbácea do gênero *Hibiscus* da família *Malvaceae*. Os cálices de hibisco têm sido utilizados mundialmente em estudos, produção de alimentos, bebidas e produtos farmacêuticos (MONTEIRO *et al.*, 2017).

A utilização do hibisco vem de vários estudos existentes que revelam a presença de compostos com propriedades antimicrobianas em várias partes da planta (SORACHAI *et al.*, 2011). Segundo Chao e Yin (2009), existe uma possível relação entre a quantidade de antocianinas e a atividade antimicrobiana do hibisco.

Estudos foram realizados na kombucha e sua fermentação com hibisco, onde apresentou-se notáveis atividade antimicrobiana em cima de uma ampla gama de microrganismos. Na fermentação secundária com hibisco, Mazuchi-Brizzott *et al.* (2021) avaliaram a atividade antifúngica da kombucha com hibisco para o fungo *T. rubrum*, onde obtiveram bons resultados de inibição com esses componentes.

Existe também estudos da kombucha em sua fermentação primária, que demonstrou atividade inibitória contra diversos microrganismos patogênicos, bactérias Gram positiva e Gram negativa. Alguns estudos demonstraram que a kombucha também demonstra uma atividade antifúngica, além da antibacteriana já estudada (MENDONÇA, 2020). Segundo Yuniarto, Anggadiredja e Aqidah (2016), foram obtidos resultados de atividade antifúngica da kombucha contra fungos patogênicos como *A. flavus*, *C. albicans* e *M. Gypseum*, indicando que o aumento do período de fermentação diminui a atividade antifúngica, pois existe uma tendência de declínio do diâmetro inibitório durante 6, 12 e 18 dias de fermentação nos resultados. Os prováveis compostos que atuam como agentes antifúngicos, são ácido acético, ácido láctico, etanol, ácido glicurônico, que se originam da fermentação da kombucha, tornando-a uma possível agente inibidora de microrganismo nas indústrias de alimentos que é uma das mais afetadas por fungos.

Segundo Savvaidis e Ayala-Zavala (2021), a indústria alimentícia tem um grande desafio e a necessidade de agentes antimicrobianos e antifúngicos mais eficazes e seguros. As substâncias antimicrobianas e antifúngicas convencionais estão perdendo a eficácia causando o aumento do desperdício de alimentos, iniciado principalmente por microrganismos deteriorantes. Pode ser observado o surgimento contínuo de surtos, ocasionados pela aparição de cepas patogênicas de microrganismos em alimentos com resistência e persistência aos antimicrobianos convencionais. Também existe a preocupação com os efeitos colaterais indesejados dos agentes antimicrobianos e antifúngicos sintéticos, incluindo subprodutos tóxicos e danos corrosivos às superfícies de contato com alimentos, tornando de extrema necessidade a disponibilidade de substâncias seguras e eficazes.

Por várias décadas, estudos propuseram o uso de substâncias naturais, atualmente, alguns casos de sucesso podem ser observados nos mercados internacionais com resultados efetivos em sistemas alimentares. Porém, é necessário intensificar pesquisas mais originais sobre substâncias antimicrobianas e antifúngicas naturais em sistemas alimentares reais, pois os fungos estão cada vez mais se tornando prejudiciais na produção dos alimentos (SAVVAIDIS; AYALA-ZAVALA, 2021).

Os fungos são microrganismos eucarióticos, multicelulares e filamentosos, vindo a ocasionar alterações no sabor e qualidade dos alimentos. Existem casos em que essas alterações são desejáveis, como na fabricação de queijos. Porém, em

muitos outros, podem ser causadores de transformações indesejáveis, produzindo sabores e odores desagradáveis, causados por diferentes graus de deterioração ou ainda trazer riscos à saúde humana e animal devido à produção de micotoxinas (OLIVEIRA *et al.*, 2018). Os fungos possuem a capacidade de entrar de forma direta na epiderme dos tecidos vegetais, seja por ferimentos acidentais ou aberturas naturais e por ação de enzimas que fazem a degradação de paredes (RHODEN *et al.*, 2019).

Botrytis cinerea é um fungo patógeno de plantas e frutas importantes, sendo de difícil controle, ele é um dos agentes causadores de podridão mais comum, conhecido como mofo cinzento, podendo atingir mais de 200 espécies, atacando folhas, hastes, frutas e flores, no período de pré e pós-colheita (BATISTA, 2017). Além disso, este patógeno é geneticamente variável adquirindo resistência aos produtos químicos utilizados para o controle. A infecção do fungo em frutas e vegetais deteriora rapidamente causando descarte desses alimentos e perdas econômicas (SANSONE *et al.*, 2018).

O morango é um dos frutos mais acometidos pela presença desse fungo, pois seu teor de umidade, açúcares, ácidos o torna suscetíveis a ele (JIA *et al.*, 2016). Assim, com o intuito de prevenir a doença do mofo cinzento, técnicas como aplicação de compostos naturais e tratamentos físicos são utilizadas e buscadas como medida alternativa (FREITAS *et al.*, 2015).

Com base nesses conceitos, o objetivo desse trabalho é avaliar atividade antifúngica da primeira fermentação da kombucha, da segunda fermentação de kombucha com hibisco e chá de *Hibiscus sabdariffa* L. frente ao fungo *Botrytis cinerea*, tendo como meta auxiliar ao encontro de substâncias antifúngicas como alternativas naturais, que apresentam menores efeitos colaterais e menor custo.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar atividade antifúngica primeira fermentação da kombucha, da segunda fermentação de kombucha com hibisco e chá de *Hibiscus sabdariffa* L frente ao fungo *Botrytis cinerea*, e identificar visualmente suas ações na conservação de morangos.

2.2 Objetivos específicos

- Preparar kombucha utilizando folhas de chá verde em uma concentração pré determinada (F1);
- Preparar a segunda fermentação da kombucha com o *Hibiscus sabdariffa* L desidratado (F2H);
- Preparar chá de hibisco para avaliação antifúngica;
- Preparar os meios de cultura com a F1, F2H e o chá de hibisco.
- Avaliar a ação antifúngica de fermentados de kombucha (F1, F2H e chá de hibisco) frente ao fungo *Botrytis cinerea* pelo diâmetro micelial;
- Comparar os resultados das diferentes concentrações e a diferença entre F1, F2H e o chá de hibisco;
- Imergir os morangos nos fermentados de kombucha e o chá de hibisco puros.
- Identificar visualmente os sinais de deterioração dos morangos, de 3 em 3 dias por 6 dias à temperatura de 15 °C.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 *Botrytis cinerea*

Botrytis cinerea é um fungo ascomiceto da classe *Leotiomycetes*, ordem *Helotiales* e família *Sclerotiniaceae* que causa doenças em mais de 200 espécies, 15 tipos de plantas, atacando folhas, hastes, frutas e flores, no período de pré e pós-colheita (BATISTA, 2017). Este fungo, conhecido como agente causador do mofo cinzento, é o principal patógeno que potencializa danos aos tecidos das plantas (HERRERA-ROMERO *et al.*, 2017).

Este fungo age de maneira necrotrófica, isto é, matando as células hospedeiras da planta, além de produzir vários compostos fitotóxicos e enzimas que degradam a parede celular vegetal (PLAZA *et al.*, 2015). Também age removendo a água dos tecidos do parênquima e quando os recursos estão esgotados, surgem as estruturas reprodutoras (ARAÚJO *et al.*, 2005; BATISTA, 2017).

O *B. cinerea* sobrevive durante o inverno na superfície ou no próprio solo (HAUGLAND, 2018). Os esporos do fungo resistentes ao calor sobrevivem por longos períodos em estado de dormência, contaminando as matérias primas em contato com o solo, antes de irem para o processamento industrial, gerando grandes problemas para o setor alimentício, prejudicando a qualidade do produto final (BERNI *et al.*, 2017; RIBES *et al.*, 2016).

O controle desse patógeno é difícil, uma vez que este ataca de várias maneiras, além de sobreviver em condições pouco favoráveis por períodos prolongados através do desenvolvimento de cepas resistentes a fungicidas (ARAÚJO *et al.*, 2005; BATISTA, 2017). O uso de fungicidas químicos é a principal abordagem para o controle do *B. cinerea*. No entanto, o uso destes pode ser problemático, pois pode ser fonte de problemas ambientais, além de representar um risco potencial para a saúde humana (VALCKE *et al.*, 2017).

Devido à aplicação de grandes quantidades de fungicidas no controle dessas infecções, tornam-se necessárias medidas alternativas à prática de manejo com objetivo de diminuir o impacto no meio ambiente, na saúde humana e animal (JIN *et al.*, 2016). Assim, é conveniente buscar novas estratégias para controlar a deterioração pós-colheita em frutas acometidas pela ação do mofo cinzento (CONTIGIANI *et al.*, 2018; JIN *et al.*, 2016).

Este fungo causa a doença pós-colheita mais importante do kiwi, resultando em uma perda de 20 a 30% no seu rendimento global (WILLIAMSON *et al.*, 2007). A fruta mais afetada por esse fungo é o morango, pois seu teor de umidade, açúcares, ácidos o torna suscetíveis a ele (JIA *et al.*, 2016).

3.2 Morango e formas de conservação

O morango é mundialmente popular devido sua aparência única, sabor e aromas característicos, elevado valor nutricional e pela sua grande variedade de compostos bioativos (LAN *et al.*, 2019), sendo amplamente consumido tanto na forma *in natura* como processado na indústria (BARRAZUETA -ROJAS *et al.*, 2018; SIEDLISKA *et al.*, 2018; SANTOS *et al.*, 2019).

O morango possui atividades metabólicas altas, como também elevado teor de umidade, açúcares, ácidos, sendo suscetível a degradação por microrganismos, podendo ser afetado por 8 espécies de nematóides, 26 vírus diferentes, 3 espécies de bactérias e 51 espécies de fungos (JIA *et al.*, 2016). No morango, a infecção por *B. cinerea* reduz a vida de prateleira dos pseudofrutos, pela contaminação durante o cultivo ou até mesmo no período pós-colheita (PLAZA *et al.*, 2015).

Por sua estrutura delicada e por possuir alta taxa metabólica, o morango torna-se muito suscetível a danos e infecções causadas por bactérias, fungos e vírus (CONTIGIANI *et al.*, 2018). Esses microrganismos podem danificá-lo completamente, provocando alterações sensoriais, físicas, químicas e gerar perda de massa (OLIVEIRA, 2017).

Por ser um fruto altamente perecível e devendo ser armazenado por apenas alguns dias, faz-se necessário a utilização de tecnologias adequadas para melhorar a sua conservação e aumentar o seu tempo de prateleira. O uso de agentes antimicrobianos naturais na forma de filmes e revestimentos comestíveis vem sendo amplamente estudados e aplicados, obtendo eficácia no aumento de validade dos frutos (DONG; WANG, 2017).

A utilização de revestimentos comestíveis para o prolongamento da vida útil de frutas e hortaliças não tem como objetivo substituir o uso de embalagens ou o uso da refrigeração, mas sim para atuarem como coadjuvantes (SPAGNOL *et al.*, 2018). Vários são os benefícios que os revestimentos comestíveis possuem, como sendo biodegradáveis, preservam as características dos frutos, melhoram as características nutricionais e sensoriais por ser veículo transportador de compostos ativos. Além

disso, por serem oriundos de produtos naturais, são fáceis de serem encontrados e sem gerar custos elevados para o produtor (DHUMAL; SARKAR, 2018).

Sua ação na fruta ocorre pela ação de uma barreira física, transformando trocas gasosas com a atmosfera em seu redor, servindo como atenuante da taxa respiratória e no crescimento microbiano, fazendo com que o fruto possua maior vida útil (DONG; WANG, 2017). Esses revestimentos podem ser utilizados com adição de produtos que possuam características antioxidantes e antimicrobianas, melhorando sua composição (ZHANG; JUNG; ZHAO, 2017).

3.3 Kombucha

Kombucha é uma bebida fermentada de origem asiática. Acredita-se que o chá fermentado tenha sido usado pela primeira vez no leste da Ásia por seus benefícios terapêuticos em 220 a.C. No entanto, ganhou popularidade no ocidente devido aos seus efeitos terapêuticos, antimicrobiano, antioxidante, anticancerígeno, antidiabético, tratamento de úlceras gástricas e colesterol alto. Também mostrou um impacto na resposta imune e na desintoxicação do fígado (CHAKRAVORTY *et al.*, 2016).

A preparação da kombucha utiliza tradicionalmente os chás preto e verde (BATTIKH *et al.*, 2012; JAYABALAN *et al.*, 2014). Ambos vêm das folhas da planta *Camellia sinensis*, sendo que a diferença entre eles consiste apenas no tipo de processamento ao qual as folhas são submetidas (AHMED; STEPP, 2013). A kombucha tem sabor refrescante, levemente gaseificado devido à fermentação, com sabor ácido. Ela tem se difundido devido às potenciais propriedades benéficas à saúde (LEAL *et al.*, 2018). O chá produzido a partir das folhas da planta é a segunda bebida não alcoólica mais consumida no mundo, sendo uma cultura de grande importância econômica e social (SANTOS *et al.*, 2016). O chá preto e o chá verde utilizados para sua fermentação se destacam devido ao teor de cafeína que apresentam e que é necessária para o desenvolvimento da cultura. Porém, é possível obter esta bebida utilizando outras matérias-primas base nas quais a cultura simbiótica se desenvolve adequadamente, mesmo sem a presença de cafeína (RODRIGUES *et al.*, 2018).

De acordo com Belitz, Grosch e Schieberle (2009), em geral, esses chás possuem polifenóis, aminoácidos, cafeína, compostos voláteis e minerais em sua composição. No entanto, os diferentes processos de obtenção e as reações de

oxidação que ocorrem em alguns métodos fazem com que esses chás apresentem uma composição química diferente (LEE *et al.*, 2015).

A kombucha é preparada a partir da utilização das folhas da planta, acrescido de sacarose e um filme de celulose chamado de SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts), também conhecido como “mãe kombucha” (FILIPPIS *et al.*, 2018; CHAKRAVORTY *et al.*, 2016; SANTOS, 2016). Esse filme de celulose é responsável pelo processo fermentativo, formado pela associação de bactérias do gênero *Acetobacter* e fungos *Saccharomyces*, acomodadas na matriz de celulose sintetizada por bactérias acéticas (HOHMANN; KUNZ; VANDRESEN, 2020). O tempo ideal de fermentação é de 7 a 12 dias e a temperatura é de 22 a 30 °C. O valor do pH decresce ao longo da fermentação devido à produção de ácidos orgânicos (DUFRESNE; FARNWORTH, 2000). Enquanto as leveduras osmofílicas fermentam o açúcar do chá e produzem etanol, as bactérias oxidam o álcool e produzem ácido acético (TEOH *et al.*, 2004). Outros ácidos orgânicos são formados além do ácido acético, como glucônico, láctico, málico, cítrico e tartárico, que possuem atividade antibacteriana e previnem a contaminação da kombucha por bactérias patogênicas (NEFFE-SKOCINSKA *et al.*, 2017; LEAL *et al.*, 2018).

As propriedades medicinais assim como os componentes bioativos são muito conhecidos, sua composição química é bastante variável em função do tempo, temperatura de fermentação, quantidade de açúcar, tipo de chá e os microrganismos presentes na cultura. Os ácidos orgânicos, vitaminas e polifenóis estão presentes em grande parte das kombuchas estudadas (PETRY; WESCHENFELDER, 2020).

3.3.1 Benefícios da kombucha

Vários benefícios para a saúde humana são atribuídos à kombucha (JAYABALAN *et al.*, 2014). Estudos comprovaram suas propriedades antibacterianas, antioxidantes, antidiabéticas, bem como sua capacidade de reduzir a concentração de colesterol, apoiar o sistema imunológico e estimular a desintoxicação do fígado (VILLARREAL-SOTO *et al.*, 2018; KAPP; SUMNER, 2019). A bebida Kombucha também apresenta minerais originários principalmente do chá (potássio, manganês, íons de flúor), vitaminas (E, K, B), aminoácidos (especialmente teanina, um derivado da glutamina), bem como outros compostos que são formados como resultado de inúmeras reações que ocorrem durante a fermentação do chá. Durante a oxidação de

compostos polifenólicos, catequinas, flavonóides e outros compostos com benefícios para a saúde do organismo são formados (VILARREAL-SOTO *et al.*, 2018).

Um dos compostos característicos antioxidantes que a kombucha possui é a vitamina C, que se mostra uma poderosa propriedade de eliminação contra os radicais livres e espécies reativas de oxigênio (VITAS *et al.*, 2013). Em um estudo realizado por Jakubczyk *et al.* (2020), para mensurar as propriedades antioxidantes da bebida, foi feita uma comparação entre o chá verde e o chá preto, em que o chá verde demonstrou uma quantidade maior de antioxidantes em relação ao chá preto, sendo observado logo no primeiro dia um valor alto.

Os microrganismos presentes nessa bebida não só atuam como probióticos, mas a microcelulose que também está presente, atua no crescimento das bactérias benéficas já existentes no intestino (DUFRESNE; FARNWORTH, 2000). Além disso, produzem um coquetel de diversos metabólitos, e é rico em fibras, ácidos orgânicos e aminoácidos, especialmente, em lisina, vitaminas, antioxidantes, enzimas e elementos essenciais como Na, K, Ca, Cu, Fe, Mn, Ni e Zn (JAYABALAN, 2010).

3.3.2 Atividade antimicrobiana

A Kombucha tem sido amplamente estudada por muitos pesquisadores devido sua atividade inibitória sobre muitos microrganismos patogênicos (JAYABALAN *et al.*, 2014; VILLARREAL-SOTO *et al.*, 2018).

De acordo com Battikh *et al.* (2012), vários estudos já foram relatados para indicar que a kombucha exerce atividade antimicrobiana contra *Helicobacter pylori*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Bacillus cereus*, *Shigella sonnei*, *Salmonella enteritidis* e *Escherichia coli*. Pesquisas sobre o kombucha demonstraram sua eficácia antimicrobiana contra bactérias patogênicas gram-positivas e gram-negativas. A atividade antimicrobiana da kombucha é atribuída principalmente aos ácidos orgânicos, particularmente ácido acético, proteínas abundantes e catequinas. Uma vez que o ácido acético e as catequinas são conhecidos por inibir microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos (JAYABALAN *et al.*, 2014).

kombucha com erva-cidreira em diferentes concentrações de acidez, soluções de ácido acético, e a kombucha desnaturadas pelo calor mostraram atividades antibacterianas contra diversas cepas selvagens testadas. Esses estudos sugerem a atividade antimicrobiana contra as cepas de bactéria Gram-negativas. Demonstram

também que algumas amostras de Kombucha em soluções de ácido acético reduziram o crescimento de algumas bactérias Gram-positivas como *Staphylococcus equorum*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Bacillus sp.* e *Listeria*. (LYNCH *et al.*, 2019).

Em estudo desenvolvido por Bhattacharya *et al.* (2016), eles observaram a eficácia da kombucha, contra *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Shigella flexneri* e *Salmonella typhimurium*, seguido pela identificação dos componentes antibacterianos presentes na bebida. A atividade antibacteriana foi avaliada através da determinação do diâmetro da zona de inibição, concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima. A Kombucha fermentada por 14 dias, mostrou atividade máxima contra as cepas bacterianas.

Outros autores observaram os mesmos resultados em suas análises, podendo observar atividade antimicrobiana em infusões fermentadas de kombucha contra bactérias patogênicas Gram-positivas e Gram- negativas testadas, além de efeito inibitório do crescimento de cepas de fungos, como *Candida spp.* (ROSSETO; MIKCHA, 2018; VILLARREAL-SOTO *et al.*, 2020; TRAN *et al.*, 2020).

Autores analisaram a segunda fermentação da kombucha com hibisco, onde encontraram uma notável atividade antifúngica. Mazuchi-Brizzott *et al.* (2021) avaliaram a atividade antifúngica da kombucha com hibisco para o fungo *T. rubrum*, onde obtiveram bons resultados de inibição com esse composto.

3.4 Hibisco

O hibisco (figura 1) destaca-se por ter várias utilidades como hortaliça, medicinal e ornamental, sendo assim uma fonte de renda para numerosas famílias que dela tiram seu sustento. A mesma pertence à família das *Malváceas*, do gênero *Hibisco*, que compreende cerca de 200 espécies de plantas. Concretamente, sabe-se que sua distribuição abrange os continentes Africanos, Asiático, Europeu e Americano. É conhecido popularmente como hibisco, Hibiscus, rosélia, groselha, azedinha, quiabo azedo, caruru-azedo, caruru-da-guiné e quiabo-de-angola (BARRETTO *et al.*, 2014). Trata-se de uma planta adaptada ao clima quente, que se desenvolve bem em temperatura superior a 21 °C e 35 °C, cultivada em uma ampla faixa de condições ambientais. Com isso, torna-se mais adequado para seu cultivo, as regiões quentes e com precipitações anuais bem distribuídas, sendo prejudicado por épocas frias e secas (BARRETTO *et al.*, 2014).

Figura 1- Flor do hibisco natural e desidratado



Fonte: Freepik company (2022).

As plantas medicinais se tornaram fonte riquíssima para descobertas de novos antibacterianos, devido ao alto índice de resistência bacteriana aos fármacos já existentes, sendo constatado que o *Hibiscus sabdariffa* L. possui propriedades antimicrobianas em confronto com bactérias de padrão internacional (MACIEL *et al.*, 2012).

Existem vários estudos que revelam a presença de compostos como antocianinas, compostos fenólicos e fitoquímicos com propriedades antimicrobianas em várias partes da planta (SORACHAI *et al.*, 2011). Alguns autores, como Chao e Yin (2009), relatam uma possível relação entre a quantidade de antocianinas e a atividade antimicrobiana do hibisco. As pesquisas sobre a atividade antibacteriana desta variedade foram caracterizadas frente a diversos microrganismos com resultados satisfatórios (MACIEL *et al.*, 2012).

Em um levantamento feito por Gautam, Saklani e Jachak (2007) de espécies vegetais com ação antibacteriana promissora estava o *Hibiscus syriacus*, onde o extrato aquoso desta planta demonstrou atividade antibacteriana em ensaios de diluição em caldo contra o microrganismo *Mycobacterium tuberculosis*.

O extrato aquoso e o etanólico do hibisco são utilizados em sistemas alimentares para prevenir a contaminação bacteriana (FAROMBI e FAKOYA, 2005). Estudos mostraram que o extrato aquoso do hibisco inibe várias bactérias hospitalares

infecciosas como *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae* (LIU; TSAO; YIN 2005).

Olaleye (2007) testou o extrato alcoólico de cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. como um agente antibacteriano frente aos microrganismos: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus stearothermophilus*, *Micrococcus luteus*, *Serratia marcescens*, *Clostridium sporogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas fluorescens*. O extrato obteve uma excelente atividade antibacteriana frente aos microrganismos testados.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Produção da kombucha

4.1.1 Fermentação 1 (F1)

Para a F1 foi utilizado chá verde (folhas desidratadas de *Camellia sinensis*), adquiridas no mercado local de Campo Mourão-PR, açúcar cristal, SCOOPY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts*), obtido por doação; starter (F1 anterior). A F1 ocorreu em frasco de 3 L, tampado com guardanapo de papel, preso por elástico.

Para o preparo da F1, inicialmente 1 L de água filtrada sem cloro foi aquecida à 93 °C, a qual foi adicionado 12,5 g de chá verde (5 g/L) para preparar 2,5 L de kombucha, seguido por repouso de 15 minutos. Após peneirado, acrescentou-se açúcar (50 g/L) à infusão, e completou-se o restante de água (1,25 L) em temperatura ambiente, e por fim, 250 mL de starter com SCOOPY foi adicionado. O pote foi tampado com papel toalha preso por elástico e acondicionado por sete dias em local escuro e seco, para ocorrer a fermentação.

4.1.2 Fermentação 2 (F2H)

Após a finalização da primeira fermentação, retirou-se o SCOOPY presente na F1, em seguida, coletou-se 600 mL do líquido da primeira fermentação, e separou-o em duas garrafas plásticas com tampa e adicionou-se 7,5 g da planta *Hibiscus sabdariffa L.* desidratada (2,5% de 300 mL de kombucha), adquirida no mercado local de Campo Mourão-PR.

4.2 Produção do chá de hibisco

Inicialmente, a água filtrada sem cloro foi aquecida até 93 °C, após adicionou-se 3,75 g de *Hibiscus sabdariffa L.* desidratada (2,5% de 150 mL de água).

4.3 Produção do meio de cultura com o chá e os fermentados de kombucha

Preparou-se 1 L de meio de cultura, utilizando 42 g de BDA desidratado (Agar Batata Dextrose) e 1 L de água destilada obtidos no laboratório de microbiologia da UTFPR- CM. A mistura foi aquecida até a dissolução do ágar.

Para se obter concentrações diferentes, efetuou-se o fracionamento da F1, da F2H e do chá de hibisco em meio de cultura, formando 4 concentrações (50%, 25%,

12,5% e 6,25%) para cada um. Inicialmente adicionou-se em frascos de vidro esterilizados, 50% (125 mL), 75% (187,5 mL), 87,5% (218,75 mL) e 93,75% (234,4 mL) de meio de cultura. Nesses frascos foram adicionadas respectivamente 50% (125 mL), 25% (62,5 mL), 12,5% (31,25 mL) e 6,25% (15,62 mL) de chá de hibisco, F1 e F2H, formando assim, 4 frascos com 250 mL de meio de cultura com concentrações diferentes para cada um dos chás, sendo eles chá de hibisco, F1 e F2H, logo totalizando 12 frascos.

4.3.1 Esterilização da F1 e meio de cultura com (F1)

Os frascos com os meios de cultura com F1 foram colocados na autoclave vertical à 121 °C por 15 minutos para se obter a esterilização. Em seguida, aguardou-se até que o conteúdo dos frascos estivesse uma temperatura em torno de 45 °C e assim verte-los em placas de Petri estéril, sendo 12 placas por frasco, totalizando 48 placas de Petri (9 cm de diâmetro) previamente identificadas e esterilizadas.

A fermentação 1 pura foi armazenada em pote de vidro com tampa e esterilizadas pelo mesmo método acima para ser aplicado posteriormente no morango.

4.3.2 Esterilização do chá e a F2H

Para obter a esterilização desses compostos foi necessário utilizar o método de filtração por membrana. Realizou-se a filtração de 150 mL que foram colocadas em um vidro com tampa previamente esterilizado. Após misturou-se o meio (esterilizado em autoclave) com chá de hibisco e a F2H esterilizados, em seguida verteu-os em placas.

Também foi realizada a mesma esterilização por membrana nesses compostos para aplicá-los nos morangos.

4.4 Inoculação do fungo aos meios de cultura

O fungo utilizado foi o *Botrytis cinerea* CCT 1251 da coleção André Toselo armazenado no laboratório de microbiologia da UTFPR-CM. Para as inoculações, utilizou-se a metodologia de disco de micélio descrita por Migliorini *et al.* (2016) com algumas modificações.

Inicialmente se fez necessário a ativação do fungo, inoculado-o em placas com meio BDA por 7 dias. Posteriormente, inoculou-se o fungo ao meio preparado com concentrações diferentes dos fermentados de kombucha e do chá de hibisco, a fim de avaliar seu crescimento micelial. A cada meio de cultura foram adicionados discos de micélio de 5 mm de diâmetro de *B. cinerea* cultivado em BDA.

4.5 Aplicação do chá e dos fermentados da kombucha no morango

A aplicação dos tratamentos na superfície dos morangos, ocorreu por meio da utilização do chá de hibisco e fermentados de kombucha (F1 e F2H) (produzidos em meio aquoso), e a utilização de um controle (morangos in natura, ou seja, sem aplicação de nenhum tratamento), a fim de comparar o desenvolvimento da deterioração no morango.

Os morangos foram selecionados visualmente na câmara de fluxo laminar para os três tratamentos e o controle, sendo escolhidos os mais parecidos em tamanho e cor.

Posteriormente, os morangos foram tratados em chá de hibisco e fermentados da kombucha, onde foram submersos por 30 segundos, seguidos de repouso em peneiras por 35 minutos à temperatura ambiente, dentro da câmara de fluxo laminar para secagem. Após secagem completa da superfície do fruto, estes foram transferidos para caixas plásticas de polietileno tereftalato (PET) com tampa. Em seguida, armazenados na geladeira com temperatura em torno de 12 °C.

4.6 Avaliação visual do crescimento do fungo

O crescimento do fungo foi avaliado visualmente em placa de petri após sete dias de incubação, onde realizou-se a medição (com o auxílio de uma régua) do crescimento micelial.

Os morangos foram avaliados visualmente quanto ao surgimento de deterioração fúngica de três em três dias, durante seis dias.

5 RESULTADOS

Para determinar a ação inibidora da F1, F2H e do chá de hibisco, cada um dos três foi dividido em quatro concentrações (50%, 25%, 12,5% e 6,25%) e os diâmetros do crescimento micelial para cada uma foram medidos (tabela 1). Utilizando esses diâmetros e a Equação 1, encontrou-se a porcentagem de inibição, expressas na Tabela 1.

$$\text{Porcentagem de inibição (\%)} = 100 - \left(100 * \frac{\text{Diâmetro de Crescimento micelial}}{\text{Diâmetro do controle}} \right) \quad (1)$$

Tabela 1- Diâmetro do crescimento micelial e porcentagem de inibição em chá de hibisco e fermentados de kombucha

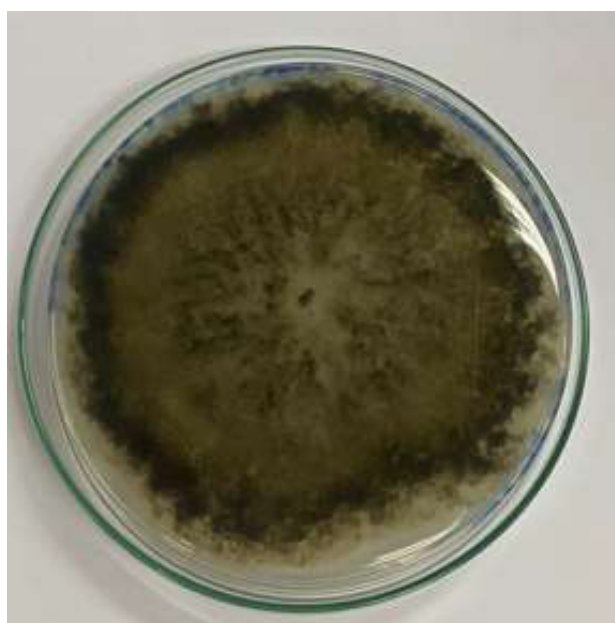
	Diâmetro (cm)* e Porcentagem de inibição(%)									
	50%**		25%**		12,50%**		6,25%**		CONTROLE	
	(cm)	(%)	(cm)	(%)	(cm)	(%)	(cm)	(%)	(cm)	(%)
F1	1	88,9	4,8	46,7	7,4	17,8	7,8	13,3	9	0
F2H	3,7	58,9	7,2	20	7,8	13,3	8,2	8,9	9	0
CHÁ DE HIBISCO	7,1	21,1	7,9	12,2	8,8	2,2	9	0	9	0

Notas: (*) Diâmetro micelial do *B. cinerea* em centímetros;
()** Concentrações dos compostos;

Fonte: Autoria própria (2022)

Nas figuras (2) e (3), observa-se o controle em sua visão reversa e frontal, respectivamente, onde o fungo *B. cinerea* preenche a placa toda (9 cm de diâmetro) com meio de cultura BDA controle (puro).

Figura 2- Visão reverso do *B. cinerea* em meio BDA



Fonte: Autoria própria (2022)

Figura 3- Visão frontal do *B. cinerea* em meio BDA



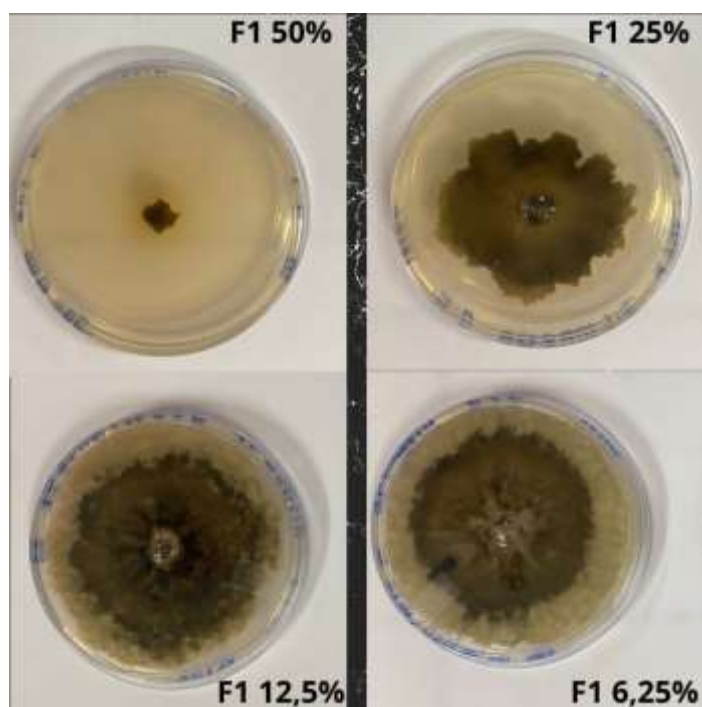
Fonte: Autoria própria (2022)

Estudos vêm sendo desenvolvidos para determinar quais compostos presentes na kombucha proporciona sua ação antimicrobiana, como o estudo proposto por Bhattacharya *et al.* (2016), onde eles observaram a eficácia da kombucha, contra alguns microrganismos, seguido pela identificação dos componentes antibacterianos presentes na bebida, encontrando que os possíveis compostos são os fenólicos, flavonóides, ácidos orgânicos e o acetato de etila.

Esse trabalho busca resultados da kombucha contra o fungo *B. cinerea*, onde temos visão reversa (figura 4) e frontal (figura 5) do fungo na F1, em suas quatro concentrações. Observa-se que a concentração de 50% gerou o resultado mais satisfatório contra o crescimento micelial do fungo. Quando as figuras (4) e (5) são avaliadas em conjunto com a Tabela 1, vemos que foi uma inibição de 88,9 %. A segunda melhor foi a concentração de 25 %, que também gerou uma inibição considerável e visível, sendo ela de 46,7 % como expresso na Tabela 1.

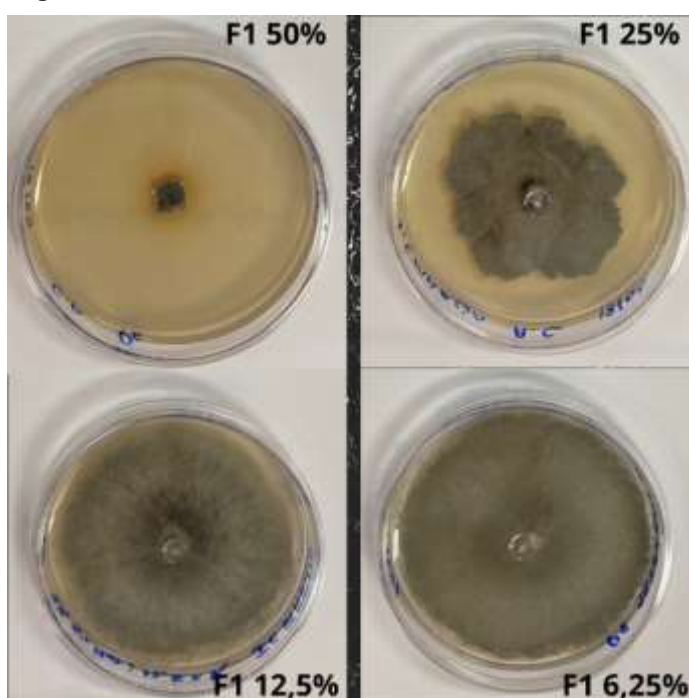
As concentrações de 12,5 % e 6,25 % também tiveram inibições, porém foram pequenas e de resultados aproximados, sendo elas 17,8% e 13,3% respectivamente, tornando essas concentrações menos satisfatórias que as outras.

Figura 4- Visão reverso da colônia na F1 da Kombucha



Fonte: Autoria própria (2022)

Figura 5- Visão frontal da colônia na F1 da Kombucha



Fonte: Autoria própria (2022)

Yuniarto, Anggadiredja e Aqidah (2016) avaliaram a atividade antifúngica da kombucha realizada com chá preto em diferentes tempos de fermentação contra fungos patogênicos prejudiciais à saúde humana, sendo eles *M. gypseum*, *C. albicans* e *A. flavus*, utilizou-se a técnica de disco difusão, onde encontraram halos de inibição

promitentes. Logo, afirmaram que a kombucha tem uma genuína atividade antifúngica, mas que essa diminui conforme o tempo de fermentação aumenta. Neste trabalho foi analisado a kombucha com fermentação de 7 dias, obtendo bons resultados, assim como o apresentado por Yuniarto, Anggadiredja e Aqidah (2016) na fermentação de 7 dias.

Estudos realizados por Četojević-Simin *et al.* (2008) e Vukmanović *et al.* (2022), evidenciaram resultados de inibição testando a kombucha para alguns microrganismos Gram positivos e Gram negativos, sendo alguns deles *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus* (bactérias esporogênicas), onde o diâmetro da zona de halo apresentou resultados de inibição satisfatório, quando compararam essas inibições com ácido acético, concluíram que esse ácido presente na kombucha é um dos principais compostos geradores de inibições em microrganismos.

Battikh *et al.* (2012) estudaram a kombucha comparando a realização dela com chá verde e chá preto, e sua atividade antifúngica. Onde eles exerceram grande atividade antifúngica contra uma ampla gama de cândida patogênica envolvida em várias candidoses. Porém, um maior potencial antifúngico foi visto na kombucha com o chá verde. Os autores além de apontar a atividade antifúngica, também demonstraram resultados sobre possibilidade de existirem outros compostos envolvidos na atividade antifúngica e antibacteriana da kombucha, além do ácido acético ou ácidos orgânicos. Sugeriram que esses compostos podem ser componentes biologicamente ativos, como bacteriocinas, proteínas e enzimas, além dos compostos fenólicos derivados do chá.

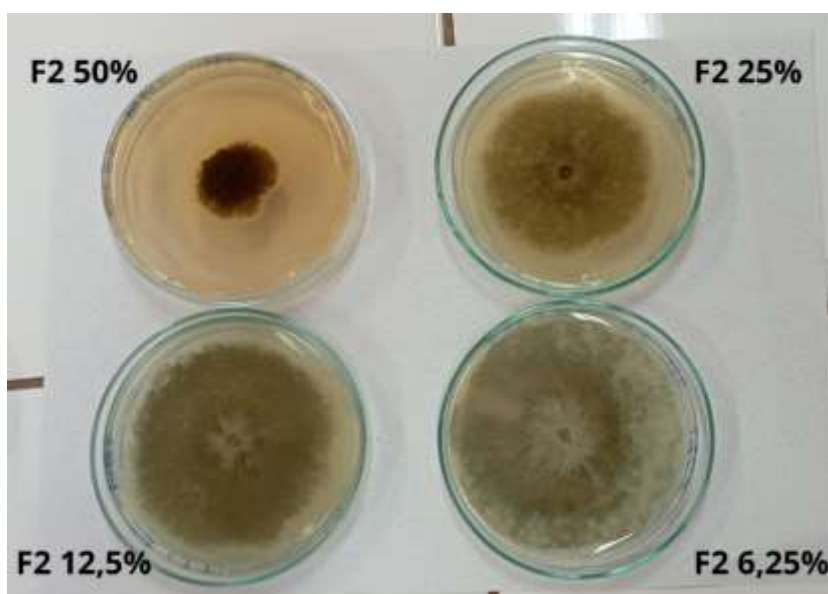
Alguns autores realizaram estudos sobre o hibisco revelando a presença compostos que possivelmente atuam na atividade antimicrobiana, como Chao e Yin (2009), que utilizaram o cálice de hibisco tanto alcoólico, quanto aquoso e ácido protocatecuico contra bactérias, e relataram uma possível relação entre a quantidade de compostos fenólicos, antocianinas e a atividade antimicrobiana do hibisco. Sugerem ainda que assim como extrato etanólico, quanto o ácido protocatecuico são capazes de ser agentes eficientes para uso como aditivos alimentares para evitar a contaminação por bactérias (YIN e CHAO, 2008).

Logo nas figuras (6) e (7), contempla-se resultados de inibição do fungo inoculado na F2H (fermentação da kombucha com hibisco), onde a maior inibição ocorreu na concentração de 50% de F2H, sendo sua porcentagem de inibição de

58,9% (Tabela 1) quando comparada ao controle. Seguida da concentração de 25 %, que obteve 20% de controle de crescimento micelial, como observado na Tabela 1.

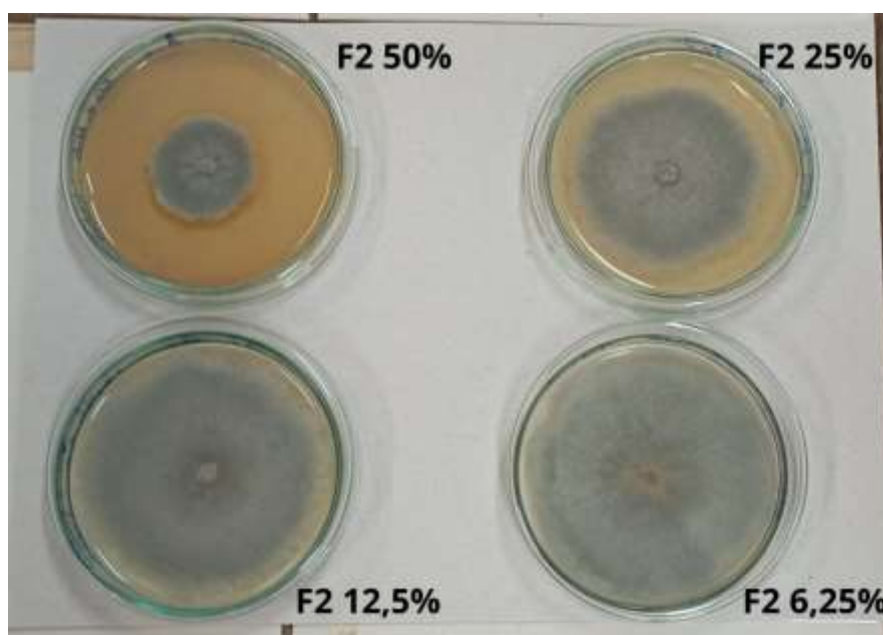
Já as concentrações de 12,5 % e 6,25 % tiveram pouca reação ao impedir o crescimento micelial, sendo elas 13,3% e 8,9% respectivamente, essas concentrações foram menos satisfatórias que as outras.

Figura 6- Visão reverso do fungo na F2H da kombucha



Fonte: Autoria própria (2022)

Figura 7- Visão frontal do fungo na F2H da kombucha



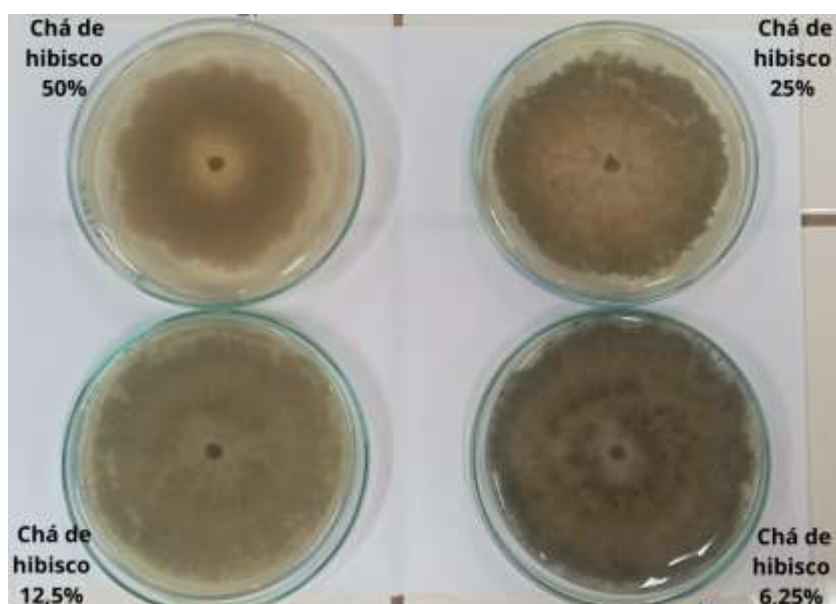
Fonte: Autoria própria (2022)

Mazuchi-Brizzott *et al.* (2021) avaliaram a atividade antifúngica da kombucha com hibisco para o fungo *T. rubrum*, os resultados mostraram valores de concentração inibitória mínima do extrato de Kombucha contra as linhagens de *T. rubrum* de 62,5 µg/mL e de concentração fungicida mínima de 125 µg/mL. Apesar da metodologia utilizada ter sido diferente da exposta neste trabalho, foram encontrados resultados positivos de atividade antifúngica.

Estudo realizado por Reis, Azevedo e Casteluber (2021), pela concentração inibitória mínima (CIM) utilizando a técnica de microdiluição em caldo eles avaliaram atividade antifúngica dos extratos de *Ruta graveolens*, *Pelargonium graveolens* e *Hibiscus cannabinus* contra o crescimento de *Candida albicans*, comparando a eficácia desses extratos vegetais com fluconazol . Onde o extrato de *Hibiscus cannabinus* demonstrou capacidade de inibir a propagação fúngica de *C. albicans*, porém de forma menos eficiente quando comparados ao medicamento usado no tratamento (fluconazol).

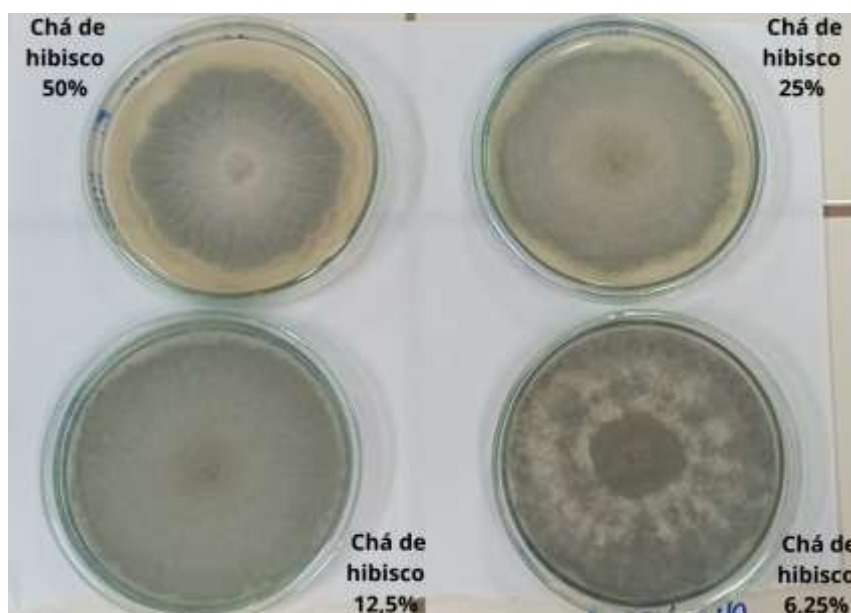
Esse estudo utilizou o chá do *Hibiscus sabdariffa* L contra o fungo *B. cinerea*. Onde contemplou-se os seguintes resultados expressos na Tabela 1 e nas figuras (8) e (9), o chá concentrado em 50% obteve uma porcentagem de inibição(Tabela 1) de 21,1%. Seguida da concentração de 25 % que foi de 12,2%. Já a concentração de 12,5 %, teve uma inibição mínima de 2,2 % quase invisível a olho nu, e a concentração de 6,25% não teve nenhuma ação contra o crescimento micelial quando comparado ao controle.

Figura 8- Visão reverso do fungo no chá de hibisco



Fonte: Autoria própria (2022)

Figura 9- Visão frontal do fungo no chá de hibisco



Fonte: Autoria própria (2022)

Autores como Hemaiswarya *et al.* (2009) e Goussous *et al.* (2010) apresentaram que o extrato aquoso de *H. tiliaceus* (50 mg·mL⁻¹) e *H. sabdariffa* (0,5 g de pó de planta seco mL⁻¹ de meio) promovem uma inibição total *in vitro* do crescimento micelial de *Aspergillus niger* e *Alternaria solani*, respectivamente.

Vale ressaltar que alguns autores encontraram resultados satisfatórios no estudo da atividade antibacteriana das espécies de hibisco existentes, trabalhando com o hibisco em solução alcoólica, sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Enteritidis*, *Clostridium sporogenes*, *Escherichia coli* e *Bacillus cereus*. Os resultados apresentaram níveis de inibição contra esses microrganismos, demonstrando atividade antimicrobiana (FULLERTON, 2001; LIU; TSAO; YIN, 2005; MACIEL *et al.*, 2012).

De maneira geral, quando compara-se a F1, a F2H e o chá de hibisco, observamos que a melhor inibição ocorreu na F1, seguido da F2H e por último o chá de hibisco apresentou menor inibição. Ainda, pode se perceber que quando o hibisco foi misturado a kombucha (F2H), seu efeito de inibição do crescimento micelial foi potencializado pela kombucha.

Segundo Elmanama, Alyazji e Abu-Gheneima (2011), o extrato aquoso de *H. sabdariffa* (250 mg·mL⁻¹ de extrato bruto) apresentou 1,4 vezes mais atividade antimicrobiana contra o crescimento *in vitro* de *Escherichia coli* do que o extrato metanólico, e 30 vezes mais do que a gentamicina ou amicacina como medicamentos comerciais. Além disso, quando o extrato aquoso de *H. sabdariffa* foi misturado com

fluconazol, seu efeito fungicida aumentou 30 vezes em comparação com o fluconazol sozinho.

Para observar como a F1, F2H e o chá de hibisco se comportam em relação a deterioração visual em frutas, aplicou-as diretamente ao morango e inseriu-os em potes plástico e armazenou-os em uma temperatura de 15 °C por 6 dias, observando-as de 3 em 3 dias. Em relação aos tratamentos dos morangos com F1, F2H e chá de hibisco, podemos observar na Figura 10, que demonstra o tempo zero imediatamente após a aplicação dos tratamentos, os morangos não apresentavam nenhum sinal visível de deterioração.

Figura 10- Morangos tratados no tempo zero de armazenamento

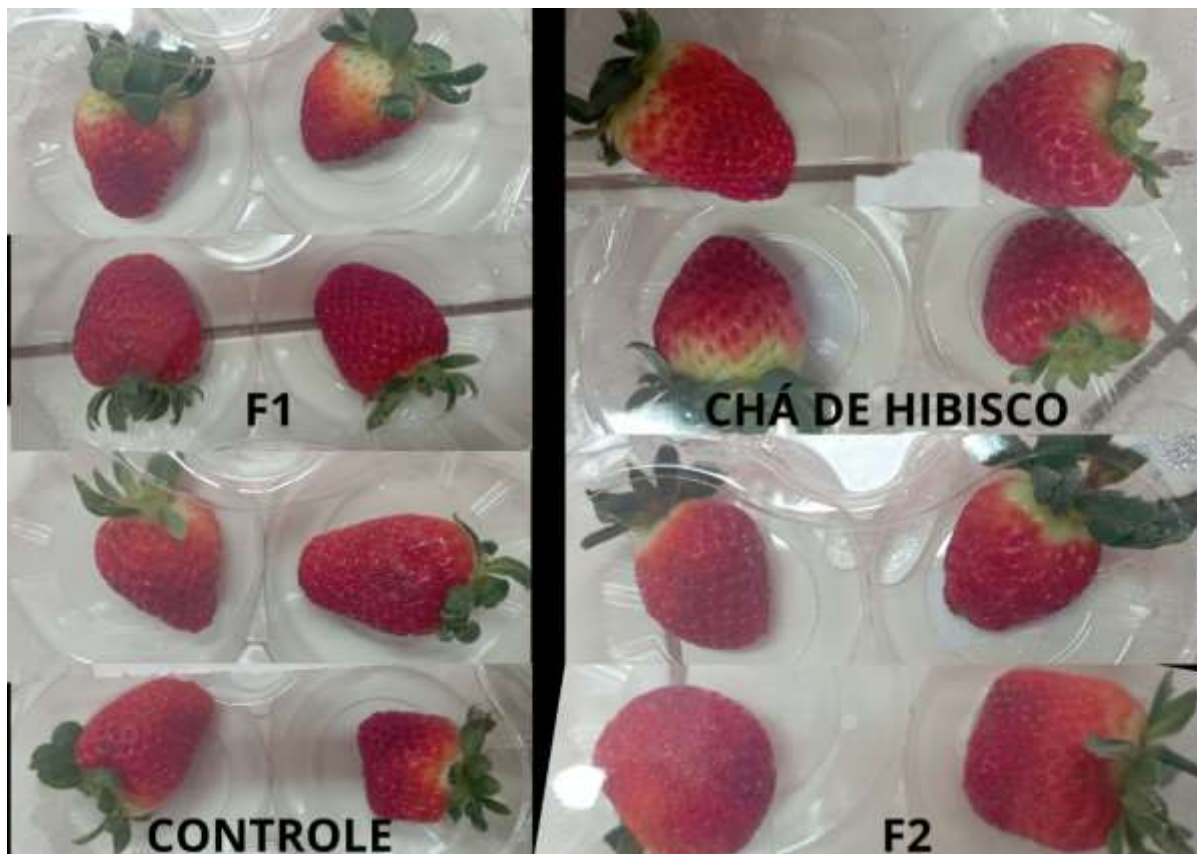


Fonte: Autoria própria (2022)

No terceiro dia (figura 11), a partir do tratamento, os morangos começaram a apresentar os primeiros sinais de deterioração fúngica. Naqueles tratados com F1 identificou-se uma média de 3 pontos de deterioração; com F2H observou-se em torno

de 2 pontos de deterioração; com chá de hibisco 1 ponto de deterioração. Nos morangos controle (sem tratamento) de 3 a 4 sinais de deterioração.

Figura 11- Morangos tratados após 3 dias de armazenamento

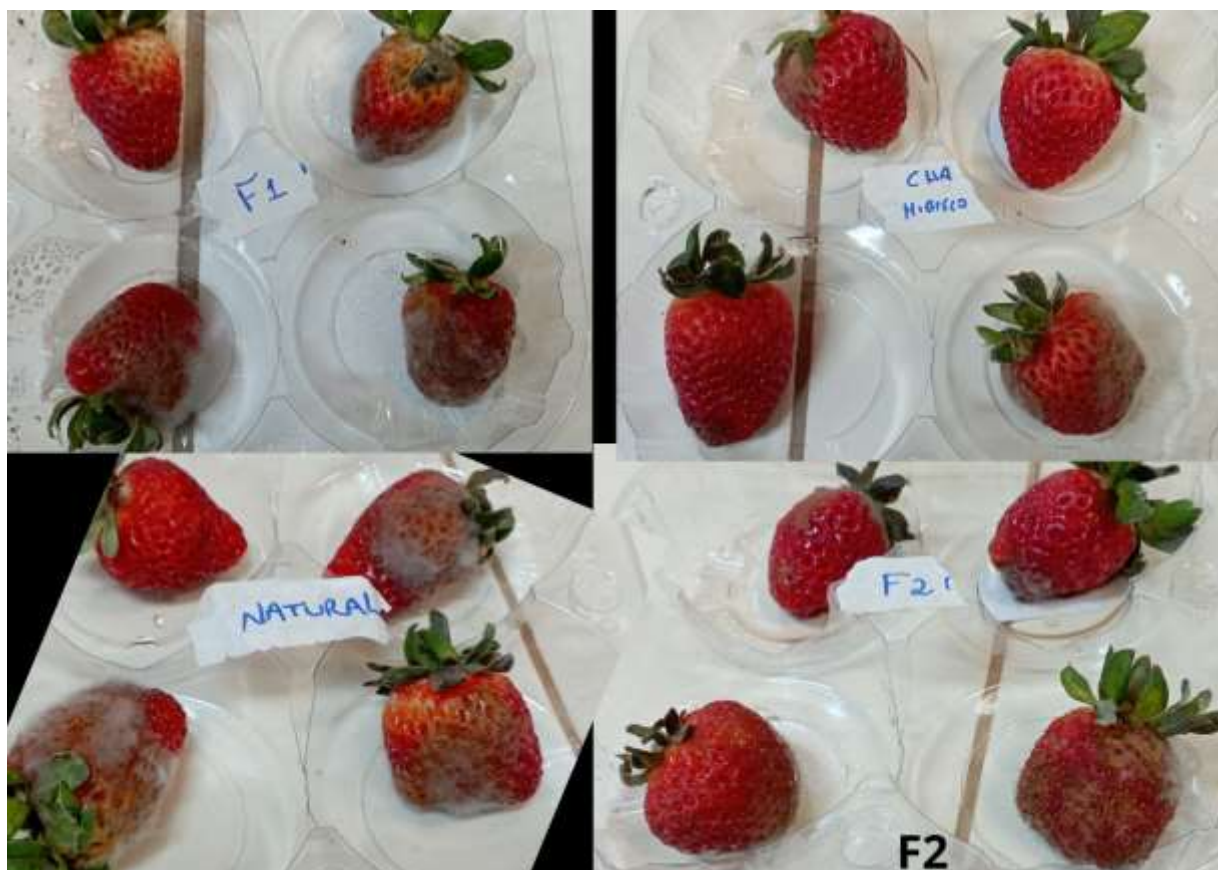


Fonte: Autoria própria (2022)

Após seis dias de armazenamento a 15 °C (figura 12), observou-se aumento do processo de deterioração em todos os morangos, representados por crescimento dos pontos inicialmente visualizados. Comparando visualmente todas as amostras tratadas com o controle, observa-se que os morangos tratados com chá de hibisco apresentaram menor deterioração, seguido daqueles tratados com F2H. Já os morangos tratados com F1 expressaram pouca inibição da deterioração, semelhante ao que ocorreu com os morangos denominados controle.

Vale lembrar que esses resultados foram obtidos de modo visual, a olho nú, e que estudos quantitativos futuros poderão ser realizados.

Figura 12- Morangos tratados após 6 dias de armazenamento



Fonte: Autoria própria (2022)

Ventura-Aguilar *et al.* (2018) concluíram que *Hibiscus sabdariffa* L. foi eficaz contra *Colletotrichum fragariae*, quando aplicado ao morango o mesmo manteve a aparência e as propriedades do morango, além de aumentar sua capacidade antioxidante. Por tanto, o hibisco demonstra capacidade de ser uma tecnologia pós-colheita eficaz para o controle de microrganismo (VENTURA-AGUILAR *et al.*, 2018). Logo observamos um pouco disso no nosso estudo visual, onde ele foi o que mais se destacou ao controle de deterioração da fruta.

Estudos semelhantes foram realizados, utilizando outros compostos e metodologia de aplicação no morango diferentes. Borges *et al.* (2013), concluiu que a conservação dos morangos se ampliou quando utilizou os revestimentos com goma xantana e óleo essencial de sálvia, indicando boa capacidade desta associação para ampliar a vida útil dos produtos minimamente processados.

Leite (2021) realizou o estudo do controle da deterioração fúngica em morangos utilizando extratos brutos vegetais, frente ao fungo *Botrytis cinerea*, onde os resultados mostraram a sinergia dos extratos com o método de refrigeração na

conservação do morango, visto que portam substâncias que inibe o fungo *B. cinerea* causador da deterioração e perda dos frutos.

6 CONCLUSÃO

A inibição de *B. cinerea* foi demonstrada pela redução do crescimento micelial em BDA com concentrações de 50%, 25%, 12,5 % e 6,25% de F1, visto que as concentrações de 50% e 25% apresentaram resultados mais satisfatórios, nas quais obtiveram porcentagens de inibição no que diz respeito ao controle de 88,9% e 46,7%, respectivamente.

Meio BDA com concentrações 50%, 25%, 12,5% e 6,25% de F2H com hibisco inibiram *B. cinerea*, sendo que sua inibição mais expressiva foi demonstrada pela concentração de 50%, inibindo o crescimento micelial em 58,9% em referência ao controle.

O chá de hibisco também estava nessas quatro concentrações demonstrando resultados menos satisfatórios que os outros, porém ainda apresentou uma pequena inibição considerável na concentração de 50 %, obtendo uma inibição do crescimento micelial de 21,1% no que se refere ao controle.

Conclui-se que dos tratamentos testados, *Botrytis cinerea* tem crescimento micelial inibido expressivamente, quando cultivado em BDA com kombucha (F1) kombucha com hibisco (F2H). Logo, esses compostos naturais apresentaram ação antifúngica contra o *B. cinerea*, sendo possíveis agentes antifúngicos naturais de menor risco à saúde humana. Porém testes mais aprofundados precisam ser realizados para que se afirme tal alternativa.

Quando os morangos foram submersos nesses compostos, apresentaram menor deterioração visual nos morangos com o chá de hibisco, seguido daqueles tratados com F2H e F1. Outros métodos para aplicação de kombucha em morangos, tais como revestimentos com filmes, poderão ser analisados para verificação da aplicação, buscando eficácia da ação antifúngica desses compostos nos morangos.

REFERÊNCIAS

- AHMED, S.; STEPP, J. R. Chapter 2 - Green Tea: The Plants, Processing, Manufacturing and Production. In: PREEDY, V. R. (Ed.). **Tea in Health and Disease Prevention**. Academic Press, 2013. p. 19–31. ISBN 978-0-12-384937-3. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123849373000021>. Acesso em: 11 set. 2022.
- ARAÚJO, A. E.; MAFIA, L. A.; MIZUBUTI, E.S.G.; ALFENAS, A. C. Survival of *Botrytis cinerea* as *Mycelium* in Rose Crop Debris and as Sclerotia in Soil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 5, p. 515-521, 2005. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/fb/a/q3NfSVZXspKXT7H8z3fkQnJ/?lang=en>. Acesso em: 17 set. 2022.
- BARRAZUETA-ROJAS, S. G.; FALCONÍ, J.; F.; NAVARROOJEDA, M. N.; OLEASLÓPEZ, J. M.; MENDOZAZURITA, G. X. Psychochemical properties and application of edible coatings in strawberry (*Fragaria x ananassa*) preservation. **Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín**, v. 71, n. 3, p. 86318641, 2018. Disponível em: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0304-28472018000308631&lng=pt&nrm=iso. Acesso em: 20 set. 2022.
- BARRETTO L. C. O.; FREITAS, S. P. M. J. J. S. S. G. S. B. L. B. *Anacardium occidentale* L.: Prospecção tecnológica aplicada à tecnologia de compostos bioativos em produtos alimentícios. **Revista Gestão, Inovação e Tecnologias**, São Cristóvão/SE, v. 4, n. 4, p. 1356–1366, 2014. ISSN 2237-0722. Disponível em: <http://revistageintec.net/wp-content/uploads/2022/03/p-1356-1366.pdf>. Acesso em: 20 set. 2022.
- BATISTA, S. R. D. **Avaliação da atividade antimalárica in vitro de extratos vegetais obtidos de *Solanum pseudoquina***. 2017. 27f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) - Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal. Disponível em: https://repositorio.ufrn.br/bitstream/123456789/43159/3/AvaliacaoAtividadeAntimal%20c3%a1rica%20_Batista_2017.pdf. Acesso em: 20 set. 2022.
- BATTIKH, H.; BAKHROUF, A.; AMMAR, E. Antimicrobial effect of kombucha analogues. **Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie - Food Science and Technology**, v. 47, n. 1, p. 71–77, 2012. ISSN 0023-6438. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643812000023>. Acesso em: 05 nov. 2022.
- BATTIKH, H.; CHAIEB, K.; BAKHROUF, A.; AMMAR, E. Atividades antibacterianas e antifúngicas de chás de kombucha preto e verde. **Journal of Food Biochemistry**, v. 37, p. 231-236, 2013. ISSN 1745-4514. Disponível em: <https://onlinelibrary-wiley.ez48.periodicos.capes.gov.br/doi/epdf/10.1111/j.1745-4514.2011.00629.x>. Acesso em: 05 nov. 2022.
- BELITZ, H.-D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. **Food Chemistry**, Springer Berlim, Heidelberg, 2009. v. 4. 1070 p. ISBN 978-3-540-69933-0.

BERNI, E.; TRANQUILLINI, R.; SCARAMUZZA, N.; BRUTTI, A.; BERNINI, V. *Aspergilli* with *Neosartorya*-type ascospores: heat resistance and effect of sugar concentration on growth and spoilage incidence in berry products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 258, p. 81–88, 2017. ISSN 0168-1605. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160517303057>. Acesso em: 22 set. 2022.

BHATTACHARYA, D.; BHATTACHARYA, S.; PATRA, M.M.; CHAKRAVORTY, S.; SARKAR, S.; CHAKRABORTY, W.; KOLEY, H.; GACHHUI, R. Antibacterial activity of polyphenolic fraction of Kombucha against enteric bacterial pathogens. **Current Microbiology**, v. 73, n.1, p. 885-896, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27638313/#:~:text=The%20overall%20study%20suggests%20that,attributed%20to%20its%20polyphenolic%20content>. Acesso em: 05 out. 2022.

BORGES, C. D.; MENDONÇA, C. R. B.; ZAMBIAZI, R. C.; NOGUEIRA, D.; PINTO, E. M.; PAIVA, F. F. Conservação de morangos com revestimentos à base de goma xantana e óleo essencial de sálvia. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 5, p. 1071-1083, 2013. Disponível em: https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/10/946722/conservacao-de-morangos-com-revestimentos-a-base-de-goma-xantan_OGqbeQi.pdf. Acesso em: 17 set. 2022.

BRUSCHI, J. S.; SOUSA, R. C.; MODESTO, K. R. O ressurgimento do chá de kombucha. **Revista de Iniciação Científica e Extensão**, Faculdade Sena Aires-FACESA, p. 162-168, 2018. Disponível em: <https://revistasfacesa.senaaires.com.br/index.php/iniciacao-cientifica/article/view/68/35>. Acesso em: 18 set. 2022.

ČETOJEVIĆ-SIMIN, D. D.; BOGDANOVIC, G. M.; CVETKOVIĆ, D. D.; VELIĆANSKI, A. S. Antiproliferative and antimicrobial activity of traditional Kombucha and *Satureja montana* L. Kombucha, **Journal of BUON**, v.13, p. 395-401, 2008. Disponível em : <https://jbuon.com/archive/13-3-395.pdf>. Acesso em: 30 ago. 2022.

CHAKRAVORTY, S.; BHATTACHARYA, S.; CHATZINOTAS, A.; CHAKRABORTY, W.; BHATTACHARYA, D.; GACHHUI, R. Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. **International Journal of Food Microbiology**, p. 63-72, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160515301951?via%3DiHub>. Acesso em: 19 set. 2022.

CHAO, C. Y.; YIN, M. C. Antibacterial Effects of Roselle Calyx Extracts and Protocatechuic Acid in Ground Beef and Apple Juice. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 6, n. 2, p. 201-206, 2009. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/23680897_Antibacterial_Effects_of_Roselle_Calyx_Extracts_and_Protocatechuic_Acid_in_Ground_Beef_and_Apple_Juice. Acesso em: 19 out. 2022.

CONTIGIANI, E. V.; JARAMILLO-SÁNCHEZ, G.; CASTRO, M. A.; GOMEZ, P. L.; ALZAMORA, S. M. Postharvest quality of strawberry fruit (*Fragaria x Ananassa Duch* cv. Albion) as affected by ozone washing: fungal spoilage, mechanical properties, and structure. **Food and Bioprocess Technology**, v. 11, n. 9, p. 1639–1650, 2018.

Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11947-018-2127-0>. Acesso em: 18 out. 2022.

DHUMAL, C. V.; SARKAR, P. Composite edible films and coatings from food-grade biopolymers. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n. 11, p. 4369-4383, 2018. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/327404678_Composite_edible_films_and_coatings_from_food-grade_biopolymers. Acesso em: 25 set. 2022.

DONG, F.; WANG, X. Effects of carboxymethyl cellulose incorporated with garlic essential oil composite coatings for improving quality of strawberry. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 821-826, 2017. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/317941925_Effects_of_carboxymethyl_cellulose_incorporated_with_garlic_essential_oil_composite_coatings_for_improving_quality_of_strawberries. Acesso em: 27 set. 2022.

DUFRESNE, C.; FARNWORTH, E. "Tea, Kombucha, and health: a review" **Food Research International**, v. 33, n. 6, p. 409– 421, 2000. Disponível em : https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996900000673?casa_token=mJMQTtBvn74AAAAA:DaEHgHmoOG7vSgPHb0NFFQnbToANfGr5YlclJ7fYcgMDodDlpxOX9NOdWfQffnSOyLOsvuo-iajO. Acesso em: 30 set. 2022.

ELMANAMA, A. A.; ALYAZJI, A. A.; ABU-GHENEIMA, N.A. Antibacterial, antifungal and synergistic effect of *Lawsonia inermis*, *Punica granatum* and *Hibiscus sabdariffa*. **Annals of Alquds Medicine**, v. 7, p. 33-41, 2011. Disponível em:

<https://www.semanticscholar.org/paper/Antibacterial%2C-antifungal-and-synergistic-effect-of-Elmanama-Alyazji/21f24608c90730b451fe7ab66cf5d02f994dea7a>. Acesso em: 28 set. 2022.

FAROMBI, E. O.; FAKOYA, A. Free radical scavenging and antigenotoxic activities of natural phenolic compounds in dried flowers of *Hibiscus sabdariffa* L. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 49, p. 1120-1128, 2005. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/7511793_Free_radical_scavenging_and_antigenotoxic_activities_of_natural_phenolic_compounds_in_dried_flowers_ofHibiscus_sabdariffa_L. Acesso em: 29 set. 2022.

FILIPPIS, F.; TROISE, A. D.; VITAGLIONE, P.; ERCOLINI, D. Different temperatures select distinctive acetic acid bacteria species and promotes organic acids production during Kombucha tea fermentation. **Food Microbiology**, v. 17, p. 11-16, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29526195/>. Acesso em: 20 set. 2022.

FREEPIKCOMPANY, Flor de hibisco fresco e seco em uma velha de madeira. **Freepik Company Limited Society**, 2022. Disponível em:

https://br.freepik.com/fotos-premium/flor-de-hibisco-fresco-e-seco-em-uma-velha-de-madeira_12501671.htm#query=hibisco%20sabdariffa&position=8&from_view=search&track=ais. Acesso em: 05 nov. 2022.

FREITAS, P. M.; LÓPEZ-GÁVEZ, F.; TUDELA, J. A.; GIL, M. I.; ALLENDE, A. Postharvest treatment of table grapes with ultraviolet-C and chitosan coating preserves quality and increases stilbene content. **Postharvest Biology and Technology**, v. 105, n. 1, p. 51-57, 2015. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S092552141500054X>. Acesso em: 22 set. 2022.

FULLERTON, M.; KHATIWADA, J.; JOHNSON, J. U.; DAVIS, S.; WILLIAMS, L. L. Determination of antimicrobial activity of sorrel (*Hibiscus sabdariffa*) on *Escherichia coli* O157:H7 isolated from food, veterinary, and clinical samples. **Journal of Medicinal Food**, v. 14, n. 9, p. 950-956, 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21548802/>. Acesso em: 14 set. 2022.

GAUTAM, E.; SAKLANI, A.; JACHAK, S. M. Indian medicinal plants as a source of antimycobacterial agents. **Ethnopharmacology**, v. 110, p. 200-234, 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874107000037>. Acesso em: 17 set. 2022.

HAUGLAND, L. K. **Defense priming and epigenetic mechanisms in regulating resistance against *Botrytis cinerea* in strawberry**. Tese (Doutorado em Biosciences) - Department of Plant Sciences Faculty, Norwegian University of Life Sciences, 2018. Disponível em: <https://nmbu.brage.unit.no/nmbu-xmlui/bitstream/handle/11250/2569486/Haugland2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 22 set. 2022.

HEMAISWARYA, S.; POONKOTHAI, M.; RAJA, R.; ANBAZHAGAN, C. Estudo comparativo das atividades antimicrobianas de três plantas medicinais indianas, **Jornal Egípcio de Biologia**, v. 11, p. 52-57, 2009. Disponível: <https://www.ajol.info/index.php/ejb/article/view/56562>. Acesso: 05 nov. 2022.

HERRERA-ROMERO, I.; RUAS, C.; CAVIEDES, M.; LEON-REYES, A. Postharvest evaluation of natural coatings and antifungal agents to control *Botrytis cinerea* in Rosa sp. **Phytoparasitica**, v. 45, n. 1, p. 9-20, 2017. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s12600-017-0565-2.pdf>. Acesso em: 20 set. 2022.

HOHMANN, F.; KUNZ, M. D.; VANDRESEN, D. F. Análise da atividade antibacteriana da kombucha em chá preto e verde. **Revista de Iniciação Científica e Extensão**, v. 3, n. 2, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874107000037>. Acesso em: 17 set. 2022.

JAKUBCZYK, K.; KAŁDUN'SKA, J.; KOCHMAN, J.; JANDA, K. Chemical profile and antioxidant activity of the kombucha beverage derived from white, green, black and red tea. **Antioxidants**, v. 9, n. 5, 2020. ISSN 2076-3921. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3921/9/5/447>. Acesso em: 30 set. 2022.

JAYABALAN, R.; MALBASA, R. V.; LONCAR, E. S.; VITAS, J. S.; SATHISHKUMAR, M. A. Review on kombucha tea— Microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, p. 538-550, 2014. Disponível em: <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/1541-4337.12073>. Acesso em: 22 set. 2022.

JAYABALAN, R.; MALINI, K.; SATHISHKUMAR, M.; SWAMINATHAN, K.; YUN, S.-E. Biochemical characteristics of tea fungus produced during kombucha fermentation. **Food Science and Biotechnology**, v. 19, p. 843–847, 2010. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s10068-010-0119-6.pdf>. Acesso em: 20 set. 2022.

JIA, H.; ZHAO, P.; WANG, B.; TARIQ, P.; ZHAO, F.; ZHAO, M.; WANG, Q.; YANG, T.; FANG, J. Overexpression of polyphenol oxidase gene in strawberry fruit delays the fungus infection process. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 34, n. 1, p. 592–606, 2016. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s11105-015-0946-y.pdf>. Acesso em: 22 set. 2022.

JIN, P.; ZHENG, C.; HUANG, Y.; WANG, X.; LUO, Z.; ZHENG, Y. Hot air treatment activates defense responses and induces resistance against *Botrytis cinerea* in strawberry fruit. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 15, n. 11, p. 2658–2665, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2095311916613874>. Acesso em: 22 set. 2022.

KAPP, J.M.; SUMNER, W. Kombucha: A systematic review of the empirical evidence of human health benefit. **Annals of Epidemiology**, V. 30, p. 66–70, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1047279718307385>. Acesso em: 17 set. 2022.

LAN, W.; ZHANG, R.; AHMED, S.; QIN, W.; LIU, Y. Effects of various antimicrobial polyvinyl alcohol/tea polyphenol composite films on the shelf-life packaged strawberries. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, v. 113, p. 108-297. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643819306371>. Acesso em: 16 set. 2022.

LEAL, M., SUAREZ, V., JAYABALAN, R., OROS, H., ESCARLANTE-ABURTO, A., 2018. A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. **CyTA - Journal of Food**, v. 16, n. 1, p. 390–399, 2018. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/323136183_A_review_on_health_benefits_of_kombucha_nutritional_compounds_and_metabolites. Acesso em: 16 set. 2022.

LEE, J.-E., LEE, B.-J., CHUNG, J.-O., KIM, H.-N., KIM, E.-H., JUNG, S., LEE, H., LEE, S.-J., HONG, Y.-S. Metabolomic unveiling of a diverse range of green tea (*Camellia sinensis*) metabolites dependent on geography. **Food Chemistry**, v. 174, P. 452–459, 2015. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/269934683_Metabolomic_unveiling_of_a_diverse_range_of_green_tea_Camellia_sinensis_metabolites_dependent_on_geography. Acesso em 15 set. 2022.

LEITE, A. R. Z. **Controle da deterioração fúngica em morangos utilizando extratos brutos vegetais, frente ao fungo *Botrytis cinerea***. 2021. 51 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Alimentos) - Departamento de Alimentos e Engenharia Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/26590>. Acesso em: 17 set. 2022.

LIU, K. S.; TSAO, S. M.; YIN, M. C. In vitro antibacterial activity of roselle calyx and protocatechuic acid. **Phytotherapy Research**, v. 19, p. 942-945, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16317650/>. Acesso em: 12 set. 2022.

LYNCH, K. M.; ZANNINI, E.; WILKINSON, S.; DAENEN, L.; ARENDT, E. K. Physiology of Acetic Acid Bacteria and Their Role in Vinegar and Fermented Beverages. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food**, v. 18, n. 3, p. 587-625, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33336918/>. DOI: 10.1111/1541-4337.12440. Acesso em: 29 out. 2022.

MACIEL, M. J.; PAIM, M. P.; CARVALHO, H. H. C.; WIEST, J. M. Avaliação do extrato alcoólico de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) como fator de proteção antibacteriana e antioxidante. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 71, n. 3, p. 462-470, 2012. Disponível em: <https://docs.bvsalud.org/biblioref/ses-sp/2012/ses-26940/ses-26940-3995.pdf>. Acesso em: 12 set. 2022.

MAZUCHI-BRIZZOTTI; LEMES, N. S.; SIQUEIRA, T. H.; RIBEIRO, J. P. Z.; MASCHIO-LIMA, M. D.; ALMEIDA, T.; POLAQUINI, B. G.; REGASINI, C. R.; CASTILHO, L. O.; ALMEIDA, E. M.; GOTTARDO, M. T. Atividade antifúngica do extrato da infusão de *Hibiscus sabdariffa* com kombucha contra *Trichophyton rubrum*. In: Simpósio de Microbiologia de Rondônia: Saúde, Ambiente e Inovação, 1, 2021, Rondônia. **Resumo** [...] São Paulo: Faculdade de Medicina de Rio Preto, 2021. Disponível em: <https://eventos.congresse.me/simicron/resumos/8687.pdf>. Acesso em: 04 set. 2022.

MENDONÇA, G. R.; PEREIRA, A. L. F.; FERREIRA, A. G. N.; NETO, M. S.; DUTRA, R. P.; ABREU, V. K. G. Propriedades Antioxidantes e Efeitos Antimicrobianos da Kombucha: Revisão da Evidência Científica. Editora Unijuí. **Revista Contexto & Saúde**, 2020. Disponível em: <https://www.revistas.unijui.edu.br/index.php/contextoesaude/article/view/10523>. Acesso em: 18 set. 2022.

MONTEIRO, M. J. P.; COSTA, A. I. A.; FLIEDEL, G.; CISSÉ, M.; BECHOFF, A.; PALLET, D.; TOMLINS, K.; PINHATO, M. M. Chemical-sensory properties and consumer preference of hibiscos beverages produced by improved industrial processes. **Food Chemistry**, v. 225, p. 2012, 2017. Disponível em : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814616319768?via%3Dihub>. Acesso em: 12 out. 2022.

NEFFE-SKOCINSKA, K., SIOANEK, B., SCIBISZ, I., KOLOZYN-KRAJEWSKA, D. Acid contents and the effect of fermentation condition of Kombucha tea beverages on physicochemical, microbiological and sensory properties. **CyTA - Journal of Food**, v. 15, n. 4, p. 601-607, 2017. Disponível em : <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19476337.2017.1321588?scroll=top&needAccess=true>. Acesso em: 12 out. 2022.

OLALEYE, M. T. Cytotoxicity and antibacterial activity of Methanolic extract of *Hibiscus sabdariffa*. **Journal of Medicine Plants Research**, v.1, n. 1, p. 9-13, 2007. Disponível em: https://academicjournals.org/article/article1380368836_Olaleye.pdf. Acesso em 13 out. 2022.

OLIVEIRA, J. C. F. **Efeito no revestimento de própolis verde na qualidade de frutos de mamão formosa (*Carica papaya* L.)**. 2018. 40 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais, Sinop, Universidade Federal de Mato Grosso, Mato Grosso. Disponível em: <https://bdm.ufmt.br/bitstream/1/936/1/TCC-2018-JULIAN%20DO%20CARMO%20FONSECA%20DE%20OLIVEIRA.pdf>. Acesso em: 14 set. 2022.

OLIVEIRA, J. F. **Cobertura comestível de quitosana adicionada de óleo essencial de *Sálvia esclareia* na conservação de morangos**. 2017. 36 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Alimentos) - Departamento Acadêmico de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão. Disponível em: <http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/8315/1/coberturacomestivelconservevacamorangos.pdf>. Acesso em: 26 set. 2021.

PETRY, A. D.; WESCHENFELDER, S. Benefícios e características da kombucha: uma revisão. **Revista Brasileira de Agrotecnologia**, v. 10, n. 1, p. 1-12, 2020. Disponível em: <https://www.gvaa.com.br/revista/index.php/REBAGRO/article/view/7539/7561>. Acesso em: 19 set. 2022.

PLAZA, V.; LAGUES, Y.; CARVAJAL, M.; GARCÁ, L. A. P.; MORA-MONTES, H. M.; CANESSA, P.; LARRONDO, L. F.; CASTILLO, L. bcpmr1 encodes a P-type Ca²⁺ / Mn²⁺ -ATPase mediating cell-wall integrity and virulence in the phytopathogen *Botrytis cinerea*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 76, n. 1, p. 36-46, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25677379/>. Acesso em: 20 set. 2022.

REIS, C. M.; AZEVEDO, L. M. S.; CASTELUBER, M. C. F. *Ruta graveolens*, *Pelargonium graveolens* e *Hibiscus cannabinus* como inibidores naturais do crescimento de *Candida albicans*. **Uningá Journal**, v. 58, 2021. Disponível em: <https://revista.uninga.br/uninga/article/download/4124/2443>. Acesso em: 12 set. 2022.

RIBES, S.; FUENTES, A.; TALENS, P.; BARAT, J. M. Combination of different antifungal agents in oil-in-water emulsions to control strawberry jam spoilage. **Food Chemistry**, v. 239, n. 1, p. 704-711, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814617311500?via%3Dihub>. Acesso em: 18 set. 2022.

RHODEN, S. A.; LUCAS, A. P. C.; EVANGELISTA, C. L.; LIMA, F. S.; DEPRÁ, I. C.; NASCIMENTO, R. A.; PAMPHILE, J. A. Aspectos físicos, químicos e genéticos na interação patógeno planta hospedeira. **Revista de Saúde e Biologia**, v. 14, p. 34-41, 2019. Disponível em: <https://revista2.grupointegrado.br/revista/index.php/sabios/article/view/1338#:~:text=A%20intera%C3%A7%C3%A3o%20din%C3%A2mica%20das%20formas,o%20para%20e%20o%20parasitado>. Acesso em: 15 set. 2022.

RODRIGUES, R. S.; MACHADO M. R. G.; BARBOZA G. G. R.; SOARES L. S.; HEBERLE T.; LEIVAS Y. M. Características físicas e químicas de kombucha a base de chá de hibisco (*Hibiscus sabdariffa*, L.). In: Simposio de Segurança Alimentar, 6,

2018, Gramado. **Anais** [...] Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2018. Disponível em: http://www.schenautomacao.com.br/ssa/envio/files/83_arqnovo.pdf. Acesso em : 22 set. 2022.

ROSSETO, F. G.; MIKCHA, J. M. G. Potencial antibacteriano do chá kombucha e sua associação com sorbato de potássio sobre bactérias de interesse em alimentos. *In*: Encontro Anual de Iniciação Científica, 27, 2018, Maringá. **Anais** [...] Maringá: Universidade Estadual de Maringá/ Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2018. Disponível em: <http://www.eaic.uem.br/eaic2018/anais/artigos/2703.pdf>. Acesso em: 18 set. 2022.

SANSONE, G.; LAMVRESE, Y.; CALVENTE, V.; FERNÁNDEZ, G.; BENUZZI, D.; FERRAMOLA, M. S. Evaluation of *Rhodosporidium fluviale* as biocontrol agent against *Botrytis cinerea* on apple fruit. **Letters in applied microbiology**, v. 66, n. 5, p. 455-461, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29495073/>. Acesso em: 18 set. 2022.

SANTOS, E. M.; VIANA, T. V. A.; SOUSA, G. G.; AZEVEDO, B. M.; MORAES, J. G. L. Yield and quality of strawberry fruits fertilized with bovine biofertilizer. **Revista Caatinga**, v. 32, n. 1, p. 1626, 2019. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rcaat/a/SpXFcFsNmnhLxzXmKDbrt6g/?lang=en>. Acesso em: 19 set. 2022.

SANTOS, M. J. **Kombucha: caracterização da microbiota e desenvolvimento de novos produtos alimentares para uso em restauração**. 2016, 100 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Gastronômicas) - Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2016. Disponível em: https://run.unl.pt/bitstream/10362/19346/1/Santos_2016.pdf. Acesso em: 17 set. 2022.

SAVVAIDIS, I. N.; AYALA-ZAVALA, J. F. Editorial for special issue of food natural antimicrobials. **International Journal of Food Microbiology**, v. 358, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160521003731>. Acesso em: 15 set. 2022.

SIEDLISKA, A.; BARANOWSKI, M.; ZUBIK, M.; MAZUREK, W.; SOSNOWSKA, B. Detection of fungal infections in strawberry fruit by VNIR/SWIR hyperspectral imaging. **Postharvest Biology and Technology**, v. 139, n. 1, p. 115-126, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0925521417308888#:~:text=The%20results%20demonstrated%20that%20hyperspectral,in%20strawberry%20fruit%20during%20storage>. Acesso em: 16 set. 2022.

SORACHAI, K.; BOONSOM, L.; SAISUNEE, L.; APHIWAT, T.; STEPHEN, G.; MARY, J. Antimalarial, anticancer, antimicrobial activities and chemical constituents of essential oil from the aerial parts of *Cyperus kyllingia* Endl. **Records of Natural Products**, v. 4, p. 324-327, 2011. Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/paper/Antimalarial%2C-Anticancer%2C-Antimicrobial-activities-Khamsan-Liawruangrath/a41f1d18a175b4591641a1008cc09c76cde51f4d>. Acesso em: 29 set. 2022.

SPAGNOL, W. A.; JUNIOR, V. S.; PEREIRA, E.; FILHO, N. G. Redução de perdas nas cadeias de frutas e hortaliças pela análise da vida útil dinâmica. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21. 2018. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjft/a/6bs6q5QrNhWWGND7FdhqFHk/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 30 set. 2022.

TEOH, A.L.; HEARD, G.; COX, J. Yeast ecology of Kombucha fermentation. **International Journal of Food Microbiology**, v.95, p. 119–126, 2004. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160504001072?via%3Dihub>. Acesso em: 22 set. 2022.

TRAN, T.; GRANDVALET, C.; VERDIER, F.; MARTIN, A.; ALEXANDRE, H.; TOURDOT-MARECHAL, R. Microbiological and technological parameters impacting the chemical composition and sensory quality of kombucha. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 19, n. 4, p. 2050-2070, 2020. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/341832481_Microbiological_and_technological_parameters_impacting_the_chemical_composition_and_sensory_quality_of_kombucha. Acesso em: 19 set. 2022.

VALCKE, M., BOURGAULT, M.H., ROCHETTE, L., NORMANDIN, L., SAMUEL, O., BELLEVILLE, D., BLANCHET, C., PHANEUF, D. Human health risk assessment on the consumption of fruits and vegetables containing residual pesticides: a cancer and non-cancer risk/ benefit perspective. **Environment International**, v. 108, p. 63-74, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412017308875>. Acesso em: 20 set. 2022.

VENTURA-AGUILAR, R. I.; BAUTISTA-BAÑOS, S.; FLORES-GARCÍA, G.; ZAVALETA-AVEJAR, L. Impacto de revestimentos comestíveis à base de quitosana funcionalizados com compostos naturais no desenvolvimento de *Colletotrichum fragariae* e na qualidade de morangos. **Food Chemistry**, v. 262, p. 142-149, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814618306861>. Acesso em: 05 nov. 2022.

VILLARREAL-SOTO, S. A.; BEAUFORT, S.; BOUJILA, J.; SOUCHARD, J. P.; TAILLANDIER, P. Understanding Kombucha Tea Fermentation: A Review. **Journal of Food Science**, v. 83, 580–588, 2018. Disponível em: <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/1750-3841.14068>. Acesso em: 22 set. 2022.

VITAS, J. S.; MALBASA, R. V.; GRAHOVAC, J. A.; LONCAR, E. S. The antioxidant activity of kombucha fermented milk products with stinging nettle and winter savory. **Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly**, v. 19, n. 1, p. 129-139, 2013. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/258383007_The_antioxidant_activity_of_kombucha_fermented_milk_products_with_stinging_nettle_and_winter_savory#:~:text=Antioxidant%20activity%20to%20hydroxyl%20and,different%20response%20to%20DPPH%20radicals. Acesso em: 29 ago. 2022.

VUKMANOVIĆ S.; VITAS J.; RANITOVIĆ, A.; CVETKOVIĆ, D.; TOMIĆ, A.; MALBAŠA, R. Certas variáveis de produção e atividade antimicrobiana do novo kombucha à base de efluente de vinícola, **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie - Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 154, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002364382101879X#bib29>. Acesso em: 30 ago. 2022.

WILLIAMSON, B., TUDZYNSKI, B., TUDZYNSKI, P., VAN KAN, J. A. *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. **Molecular Plant Pathology**, v. 8, n.5, p. 561–580, 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20507522/>. Acesso em: 18 set. 2022.

YIN, M. C.; CHAO, C.Y. Efeitos anti-Campylobacter, anti-aeróbicos e antioxidantes do extrato de cálice de rosela e ácido protocatecuico em carne moída, **International Journal of Food Microbiology**, v. 2, p. 73-77, 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160508003127>. Acesso em: 05 nov. 2022.

YUNIARTO, A. ANGGADIREDDA, K. AQIDAH, R. A. N. Antifungal activity of kombucha tea against human pathogenic fungi. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 9, 2016. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Ari-Yuniarto/publication/304673640_Antifungal_Activity_of_Kombucha_Tea_against_Human_Pathogenic_Fungi_Accepted/links/57db298108ae72d72ea37827/Antifungal-Activity-of-Kombucha-Tea-against-Human-Pathogenic-Fungi-Accepted.pdf. Acesso em: 04 set. 2022.

ZHANG, H.; JUNG, J.; ZHAO, Y. Preparation and characterization of cellulose nanocrystals films incorporated with essential oil loaded β -chitosan beads. **Food Hydrocolloids**, v.69, p. 164– 172, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X16307457>. Acesso em: 23 set. 2022.