



---

## MÉTODOS INDUSTRIAIS PARA MENSURAÇÃO DO TEOR DE ETANOL EM KOMBUCHAS

Adriano Acioly Ponte<sup>1</sup>  
carla.mendonca@estacio.br

Valéria Dias<sup>2</sup>  
carla.mendonca@estacio.br

Elaine Maria<sup>3</sup>  
carla.mendonca@estacio.br

Carla Eliária Alves de Mendonça<sup>4</sup>  
carla.mendonca@estacio.br

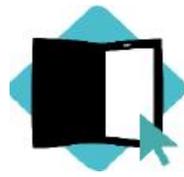
**Resumo:** Introdução: A kombucha é uma bebida de origem asiática obtida através da respiração aeróbia e fermentação anaeróbia do mosto do extrato de *Camelia Sinenses* e açúcares, com a participação de uma colônia simbiótica de bactérias e leveduras. Atualmente recebe atenção crescente por seus benefícios terapêuticos. Tais propriedades são especialmente atribuídas à presença de microrganismos probióticos, ácidos orgânicos, aminoácidos e outros nutrientes resultantes da fermentação. Com isso a kombucha se enquadra dentro da categoria de alimento funcional e benéfico à saúde. Atualmente tem franco crescimento no mercado nacional, exigindo legislação regulatória específica para sua produção e comercialização, bem como uma rigorosa especialização dos produtores para atender a demanda em escala industrial. De acordo com a Instrução Normativa N° 41 de 17 de setembro de 2019 do mapa, apenas as kombuchas com teor alcoólico menor ou igual a 0,5% v/v são consideradas não alcoólicas. Sendo este critério importante para avaliação dos padrões de qualidade, rotulagem e segurança do consumo. Este trabalho é importante, pois uma das funções do Nutricionista conhecer e avaliar os métodos de controle de qualidade em uma produção industrial para garantir segurança alimentar dos consumidores. Objetivos: Realizar revisão bibliográfica e catalogação dos principais métodos de mensuração do teor alcoólico em uma produção industrial de kombucha. Metodologia: Uma revisão integrativa da literatura com a seleção de trabalhos científicos dos últimos 5 anos. Foram consultadas as plataformas eletrônicas *Google Academic*, *Scientific Electronic Library Online*, Literatura Latino-americana e do Caribe em Ciências da Saúde e *Medical Literature Analysis and Retrieval System Online* Resultados: Nesta revisão bibliográfica foram encontrados cinco métodos laboratoriais para determinação de teor alcoólico: a cromatografia gasosa, método enzimático, método calorimétrico e densimetria. Todos se apresentaram eficientes e capazes de mensurar concentrações baixas de etanol em amostras de bebida.

**Palavras-Chave:** Kombucha, Álcool, Etanol

---

<sup>1,2,3</sup> Graduandos do Curso de Nutrição do Centro Universitário Estácio do Recife.

<sup>4</sup> Docente em Nutrição do Curso de Graduação em Nutrição do Centro Universitário Estácio de Recife



**Abstract:** Introduction: Kombucha is a beverage of Asian origin obtained through aerobic respiration and anaerobic fermentation of the must of *Camellia Sinensis* extract and sugars, with the participation of a symbiotic colony of bacteria and yeasts. It currently receives increasing attention for its therapeutic benefits. Such properties are especially attributed to the presence of probiotic microorganisms, organic acids, amino acids and other nutrients resulting from fermentation. With this, kombucha falls within the category of functional and health-beneficial food. Currently, it has a strong growth in the national market, demanding specific regulatory legislation for its production and commercialization, as well as a rigorous specialization of the producers to meet the demand on an industrial scale. According to Normative Instruction No. 41 of September 17, 2019 of the map, only kombuchas with an alcohol content of less than or equal to 0.5% v/v are considered non-alcoholic. This criterion is important for the evaluation of quality standards, labeling and consumer safety. This work is important, because one of the functions of the Nutritionist is to know and evaluate the quality control methods in an industrial production to guarantee food safety for consumers. Objectives: To carry out a bibliographic review and catalog the main methods for measuring the alcohol content in an industrial production of kombucha. Methodology: An integrative literature review with the selection of scientific papers from the last 5 years. The electronic platforms Google Academic, Scientific Electronic Library Online, Latin American and Caribbean Health Sciences Literature and Medical Literature Analysis and Retrieval System Online were consulted. Results: In this literature review, five laboratory methods were found to determine alcohol content: chromatography gas, enzymatic method, calorimetric method and densimetry. All were efficient and capable of measuring low concentrations of ethanol in beverage samples.

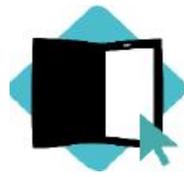
**Keywords:** Kombucha, Alcohol, Ethanol

## INTRODUÇÃO

A kombucha é uma bebida de origem asiática produzida a partir da fermentação de chá adoçado. O chá normalmente é uma infusão de chá preto (*Camellia sinensis*) ou combinações de ervas, desde que estas possuam cafeína. (RODRIGUES et al., 2018) Atualmente recebe atenção crescente por suas propriedades terapêuticas. Tais propriedades são especialmente atribuídas pela presença de microrganismos probióticos, ácidos orgânicos, aminoácidos e outros nutrientes resultantes da fermentação. Outra característica notável e apreciada pelos consumidores é a carbonatação natural propiciada pela fermentação. (PALUDO, 2017)

Por outro lado, existem bebidas industrializadas largamente consumidas produzidas no mercado. Como os refrigerantes gaseificados, por exemplo. Nos últimos 10 anos, o consumo de refrigerantes pelas crianças quase dobrou nos Estados Unidos. (FIALHO et al., 2019). Embora existam vantagens nutricionais do consumo da kombucha sobre o consumo de refrigerantes artificiais, a bebida fermentada ainda se encontra em um nicho de consumo reduzido e pouco conhecido. Pois a segunda a Associação Brasileira de kombucha, a produção nacional kombucha gira em torno 500 mil litros mensais. (ABKOM, 2020). No entanto, a kombucha está se tornando uma bebida popular com vendas globais atingindo US\$ 1,5 bilhão em 2017, com estimativas de crescimento projetadas de vendas globais atingindo US\$ 5,45 bilhões até 2025 (CHAN et al., 2020).

Ademais, segundo a Instrução Normativa número 41 de 2019 do Ministério da Agricultura e Pecuária, só deve ser enquadrada como não alcoólica a kombucha que tiver o teor menor ou igual a 0,5% v/v. Estando com estes valores discriminados no rótulo caso o produto seja do tipo alcoólico com o valor em porcentagem em volume (% v/v), em complementação à expressão “Teor alcoólico”. (MAPA, 2019).



Observa-se ainda que a refrigeração da bebida reduz a produção de etanol, quando comparado às amostras armazenadas durante período semelhante à temperatura ambiente (22°C). Isto indica que é possível a presença de açúcar e leveduras ativas em kombuchas resulte em uma fermentação contínua, aumentando a concentração de etanol, enquanto os produtos ficam nas prateleiras. (TALEBI et al., 2017)

No entanto, verificando-se as embalagens de kombuchas disponíveis no mercado brasileiro, não foram encontradas informações nos rótulos quanto ao teor alcoólico dessas bebidas. Nem mesmo considerações acerca dos riscos de armazenamento por conta da fermentação contínua, que pode ocorrer durante o transporte e armazenamento. Desse modo, é importante que os produtores sigam protocolos mínimos, como a mensuração e recomendações de uso e armazenamento. (MOURA, 2019)

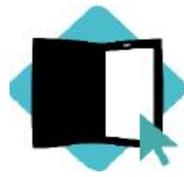
Segundo a Legislação Brasileira, fraudar, adulterar produtos alimentícios destinados ao consumo, tornando-os nocivos à saúde dos consumidores ou diminuindo o seu valor nutritivo, é considerado crime grave. (MAPA, 2017). A alteração dos alimentos só é considerada fraude se o vendedor permitir que este alimento seja comercializado, sabendo que se encontra em condições impróprias para consumo. Uma das alterações que podem ocorrer nos alimentos são as de ordem química, quando substâncias indesejadas promovem mudanças nos gêneros alimentícios. (MOYER et al., 2017)

Há questões de saúde e segurança preocupações associadas ao consumo de bebidas alcoólicas, particularmente entre populações de risco, incluindo grávidas, crianças, pessoas com insuficiência renal, pulmonar e doença hepática. A intoxicação alcoólica aguda é proporcional à concentração de álcool sendo as crianças potencialmente mais suscetíveis. As reações tóxicas em crianças foram relatadas a partir de doses tão baixas quanto 0,6 g/kg. O etanol é apontado como um teratôgeno, podendo produzir grande variedade de anormalidades, por isso também não deve ser consumido por gestantes. (CHAN et al., 2020)

Deste modo, fica clara a importância deste conhecimento por parte dos responsáveis técnicos de produção para assegurar o padrão de qualidade e identidade do produto em questão. Este estudo tem como objetivo geral levantar os métodos utilizados para análise quantitativa de etanol em kombucha com base em uma revisão de literatura. Como objetivo específico, criar uma descrição comparativa com as características de cada método.

## **METODOLOGIA**

Mesmo a metodologia utilizada foi a revisão narrativa de artigos publicados nas plataformas de dados *Google Academic*, *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), *Literatura Latino-americana e do Caribe em Ciências da Saúde* (LILACS) e *Medical Literature Analysis and Retrieval System Online* (MEDLINE) dos últimos 5 anos. Com uso de obras de referência para embasar conceitos e técnicas de uso e prepare da kombucha. Bem como sua história e prováveis benefícios à saúde. Os termos empregados para as pesquisas preliminares foram: kombucha artesanal, fermentação e chá fermentado.



A busca foi efetuada com o auxílio de palavras-chave, levantadas pelo Descritor em Ciências da Saúde (DeCS), sendo elas: “kombucha”, “Etanol” e “Fermentação”.

Foram elencados alguns critérios de inclusão e exclusão, visando reunir obras com conteúdo pertinentes ao desenvolvimento da pesquisa, elencando se artigos completos, elaborados e publicados de 01 de janeiro de 2017 a 30 de junho de 2022.

A etapa correspondente ao levantamento bibliográfico nos repositórios resultou num total 125 estudos encontrados acerca do assunto. Dos quais foram selecionadas 8 obras que tratavam de forma específica para a área de alimentos e estavam incluídos nos critérios necessários para a apreciação. Também foram trazidas obras específicas para elucidar cada método encontrado na busca inicial. Os artigos selecionados foram catalogados em uma tabela dividida em colunas com os dados: autoria, ano de publicação, título, objetivo, metodologia e resultados.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre as obras encontradas na busca inicial utilizando-se os parâmetros de busca destacados na metodologia, 10 foram catalogados para leitura aprofundada. Na Tabela 1 que consta a seguir, estão os autores, anos de publicação e o título. Assim como o resumo dos objetivos, metodologias e conclusões.

Tabela 1: Síntese dos artigos selecionados

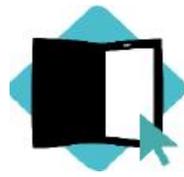
<b>Autoria e Ano</b>	<b>Título</b>	<b>Objetivo</b>	<b>Metodologia</b>	<b>Resultados</b>
VOHRA ET AL, 2019	Efeitos da variação do meio e tempo de fermentação sobre nível de pH e teor de etanol da kombucha	Caracterizar o nível de pH e o teor de etanol do kombucha variando as fontes de carbono	Testes laboratoriais com método calorimétrico utilizando dicromato.	Teor de etanol do kombucha feito com açúcar branco, chá preto e verde atingem o ponto mais alto em torno de 2,5% de etanol aos 60 dias. O mel e o açúcar mascavo mostraram-se bons substitutos do açúcar refinado para produzir kombucha com menor teor de etanol em tempo de fermentação prolongado.



IHSANI ET AL, 2020	A variação da concentração de etanol em kombucha e caracterização em vários períodos de incubação	Mensuração da concentração de álcool em vários tempos de incubação: 5, 6, 7 e 8 dias	Testes laboratoriais com a mensuração de álcool realizada por picnômetro e densimetria.	O resultado mostra que o tempo de incubação, de 5 a 8 dias, não produziu álcool superior a 0,5% v/v
EMILJANOWICZ ET AL, 2019	Kombucha a partir de matérias-primas alternativas	Descrever o progresso na obtenção de uma bebida fermentada e celulose bacteriana usando kombucha em matérias-primas alternativas	Revisão bibliográfica sobre as propriedades das bebidas de kombucha obtidas matérias-primas alternativas	Mais pesquisas devem ser realizadas para preencher um lacuna existente na evidência direta sobre a funcionalidade de produtos produzidos com a kombucha. Bem como os fatores que afetam as características e segurança
HILLBERG, 2020	Quantificação de etanol em bebidas de kombucha fermentada em garrafas por cromatografia gasosa	O objetivo deste estudo foi determinar o percentual de álcool por volume em diversas bebidas de chá de kombucha e determinar se a fermentação da garrafa pode levar a aumentos significativos na concentração de álcool	Testes laboratoriais com a mensuração de álcool realizada por cromatografia gasosa.	O teor alcoólico de kombuchas engarrafadas continuam a subir durante a fermentação. Isso levanta uma preocupação com a distribuição e rotulagem dos chás de kombucha que são vendidos como bebidas não alcoólicas.
IVORY, 2021	Determinação da concentração de etanol em bebidas: Validação de único laboratório com método enzimático	Validação do kit de teste enzimático de determinação de teor alcoólico em bebidas fermentadas kombucha, sucos de frutas e amostras de cerveja de baixo teor alcoólico	Testes laboratoriais com a mensuração de teor alcoólico em amostras de bebidas realizada por kit de teste enzimático.	O método enzimático para a determinação de etanol é um método robusto, rápido e fácil para a medição de etanol na kombucha. Os dados sugerem que esse método também é confiável para matrizes semelhantes, como cerveja com baixo teor alcoólico e suco de frutas



LACORN, 2018	Determinação de etanol em Kombucha, Sucos, e cerveja Sem Álcool da Enzytec Liquid Ethanol: Validação de laboratório único	Validação do Kit de teste enzimático de determinação de teor alcoólico em bebidas fermentadas Kombucha, sucos de frutas e amostras de cerveja de baixo teor alcoólico	Testes laboratoriais com a mensuração de teor alcoólico em amostras de bebidas realizada por Kit de teste enzimático da Enzytec.	Os dados do estudo de validação provaram que as reivindicações de desempenho para teste enzimático da Enzytec são satisfatórias.
EMILJANOWICZ ET AL, 2020	Determinação do teor de etanol no kombucha usando cromatografia gasosa e espectrometria de massa: validação de laboratório único	Descrição e validação de um método sensível, rápido simples de cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massa para determinação de etanol em kombucha.	Testes laboratoriais para verificação das características de desempenho da cromatografia gasosa com espectrometria de massa	Este método é simples, rápido e pode ser integrado por laboratórios comerciais e indústrias para determinar o teor de etanol nos produtos da kombucha com a finalidade de garantir que os requisitos sejam atendidos
SURE, T. 2020	Kombuchas produzidas e comercializadas no Brasil	Realizar a caracterização físico-química e do microbioma de seis marcas de kombuchas produzidas e comercializadas no Brasil	Revisão bibliográfica, análises microbiológicas e físico-químicas. A determinação do grau alcoólico de três lotes de cada marca foi realizada em duplicata, através de densímetro eletrônico acoplado a espectrofotômetro NIR (Near Infra-red) Anton Paar DMA 4500M Alcolyzer ME, pelo método Alcolyzer Beer	Em relação à metodologia utilizada para examinar o teor alcoólico, a Alcolyzer, empregado nesse estudo, pode ser considerado uma tecnologia adequada, acessível e com menores tempos de medição, com resultados compatíveis aos obtidos por Cromatografia Gasosa (CG) (PAAR, 2018)
MOURA, A. B., 2019	Monitoramento do processo fermentativo da kombucha de chá mate.	Realizar o processo fermentativo para a produção da bebida Kombucha utilizando o chá de erva-mate como substrato	Revisão bibliográfica, análises, sensorial microbiológicas e físico-químicas.	A Kombucha produzida neste estudo demonstrou resultados satisfatórios. Nas análises da bebida não saborizada apenas a acidez titulável apresentou resultados inferiores ao estabelecido na legislação



TALEBI, 2017	Exame da concentração de etanol em variações de produtos comerciais da kombucha	Descrição e avaliação da concentração de etanol em amostras de kombuchas comerciais usando cromatografia gasosa.	Testes laboratoriais para verificação das características de desempenho da cromatografia gasosa	A técnica de cromatografia gasosa é uma metodologia viável para determinar o teor de etanol em produtos complexos de kombucha comercial.
--------------	---	--	---	--

## FERMENTAÇÃO

Segundo KATZ (2017) no livro a Arte da Fermentação, afirma que a fermentação tem desempenhado um papel instrumental na evolução humana. No entanto ressalta a fermentação é um fenômeno natural muito mais antigo que a espécie humana e hoje a ação das bactérias e leveduras são vitais para a ciclagem de nutrientes do solo agricultável ao nosso trato gastrointestinal. Portanto não poderíamos existir sem nossos parceiros microbianos.

A fermentação também é o método para a conservação de alimentos de menor custo por sua baixa demanda energética. Diversas alterações bioquímicas podem agir sobre os compostos nutricionais alterando características como a biodisponibilidade e digestibilidade dos produtos fermentados. (VILLARREAL-SOTO et al., 2018)

Os produtos da fermentação, os fermentados, são definidos como “alimentos ou bebidas produzidas por meio de controle microbiano crescimento e a conversão de componentes alimentares através da ação enzimática. Muitos alimentos têm fermentados historicamente, incluindo carnes e peixes, laticínios, vegetais, soja, outros leguminosas, cereais e frutas. Existem várias variáveis no processo de fermentação, incluindo a microrganismos, os ingredientes nutricionais e as condições ambientais, dando origem a milhares de diferentes variações de alimentos fermentados. (EMILJANOWICZ et al., 2020)

Recentemente os alimentos fermentados, como a Kombucha, receberam a alcunha de alimento funcional. Este conceito é derivado da tradição filosófica do Oriente, na qual não há diferença entre medicamentos e nutrição. Foi introduzido ao ocidente no início década de 1990 e definido como alimento que fornece não apenas alimentos básicos nutrição, mas também exerce um efeito positivo sobre o ser humano. (EMILJANOWICZ et al., 2020)

## KOMBUCHA

A kombucha surgiu durante a dinastia Tsin (“LingChi”), por volta de 220 aC, e foi difundida por seus supostos benefícios à saúde. Com a expansão das rotas comerciais, passou a migrar para outras partes do mundo. Além da China, Coréia e Japão, a prática popular de consumo de kombucha tornou-se predominante na Rússia e em outros países do Leste Europeu, expandindo-se para o restante da Europa. (MIRANDA et al., 2021).

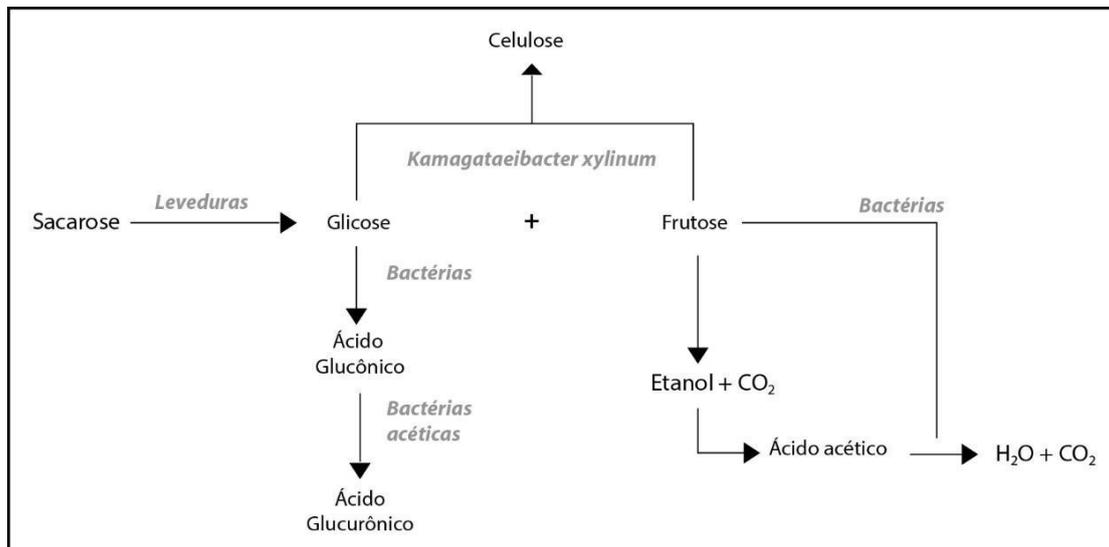
Se trata uma bebida naturalmente fermentada que é adquirida a partir de chá açucarado, com uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras por meio de um processo de fermentação que geralmente dura de 7 a 10 dias. Um biofilme de SCOBY, acrônimo de Symbiotic Culture of Bacterium and Yeast, que é mais semelhante a uma tampa de cogumelo, pode atuar como iniciador para qualquer fermentação. A colônia é criada a partir do aglomerado de Rhodospirillales (bactérias *Acetobacter xylinum* e *Gluconobacter*), ascomiceto e *Saccharomyces ludwigii*. Ácido carboxílico e gás carbônico produzidos pela fermentação polissacarídeos para carboidratos mais simples. (MOUSAVI et al., 2020).

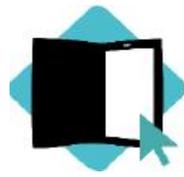
Os substratos primários para a produção de kombucha bebidas são chá verde ou preto adoçado. Após a fermentação, os produtos finais têm uma composição química complexa e contêm diversos compostos, ou seja, ácidos orgânicos, vitaminas, enzimas ativas, polifenóis e uma variedade de micronutrientes. (KATARYNA et al., 2020).

Kombucha é uma bebida rica em substâncias bioativas, principalmente compostos fenólicos. Estes representam o principal grupo de antioxidantes presentes no kombucha e são responsáveis pelos supostos benefícios à saúde da bebida atualmente é sua popularidade na década de 1960. (CARDOSO et al., 2020)

As diferentes espécies de leveduras e bactérias atuam em paralelo produzindo dois produtos finais diferentes: o chá fermentado e o biofilme. No início da fermentação, a levedura hidrolisa a sacarose em glicose e frutose, o etanol é produzido e finalmente as bactérias ácido acéticas transformam o etanol em ácido acético em fermentação aeróbica, assim como há a produção de ácidos glucônico e glucurônico (Figura 1). (VILLARREAL-SOTO et al., 2018).

Figura 1: Atividade metabólica principal da kombucha. Adaptado de Villarreal-Soto (2018)





## O ETANOL NA KOMBUCHA

Após a inoculação do mosto com a kombucha, a fonte de carbono é decomposta em glicose e frutose. Maioria de frutose permanece não fermentada, enquanto o etanol e a glicose produzidos são oxidados a dióxido de carbono e ácidos orgânicos. Os ácidos presentes na bebida após a fermentação conferem-lhe um sabor agridoce suave. Presença de compostos ácidos reduz o pH desta bebida. Demasiada produção de ácido e teor de etanol pode, no entanto, ser prejudicial para o corpo. (VOHRA et al., 2020)

IHSANI (2020) em seu trabalho, realizou a incubação da kombucha por 8 dias para avaliar a concentração de álcool ao longo deste tempo de fermentação. O Método escolhido foi a destilação com a utilização amostras de 50ml do mosto da kombucha.

Observou-se que no quinto, sexto e sétimo dias as concentrações de etanol apresentaram um crescimento de 0,02% v/v, 0,16% v/v, 0,32% v/v respectivamente. Quando no oitavo dia a concentração decaiu para 0,2% v/v. Esta medição foi realizada utilizando-se o método de Destilação e dessimetria. Este método utiliza um destilador laboratorial e um picnômetro para avaliação da densidade. (IHSANI et al., 2020)

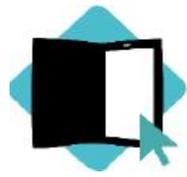
Em outro estudo caracterizou o nível de pH e o teor de etanol da kombucha variando as fontes de carbono (açúcar branco, mel e açúcar mascavo) em meios de chá preto e verde durante um período de 7 dias, 14 dias, 28 dias e 60 dias de fermentação. O teor de etanol foi testado usando o método calorimétrico com dicromato. (POURKARIM et al., 2022)

HILLBERG (2020) realizou testes em kombuchas comerciais por mais de quatro semanas e constatou um aumento significativo do etanol utilizando cromatografia gasosa para a análise. Também concluiu que a kombucha não pasteurizada contém culturas ativas de leveduras e bactérias. Portanto, continuará a fermentar quando não é armazenada em local refrigerado, criando mais dióxido de carbono e álcool a partir do açúcar residual presente na bebida. (HILLBERG, 2020)

## CROMATOGRAFIA GASOSA (*HEADSPACE GAS CHROMATOGRAPHY CG-EM*)

A cromatografia é, antes de tudo, um método físico-químico de análise largamente empregado tanto na separação de compostos químicos como na identificação (análise qualitativa) e quantificação (análise quantitativa) das espécies separadas. A palavra cromatografia é derivada das palavras gregas  $\chi\rho\acute{o}\mu\alpha$ : chroma, que significa cor, e  $\gamma\rho\alpha\phi\epsilon\upsilon\nu$ : grafein, que significa escrita. Consiste em uma técnica de separação que, quando acoplada a técnicas hífenadas, torna-se uma ferramenta muito importante na investigação de compostos químicos. (MIRANDA et al., 2021).

Cromatografia gasosa e espectrometria de massa (CG-EM), ou espectrometria de massa por cromatografia em fase gasosa (*Headspace Gas Chromatography*) é um método analítico que combina os recursos de cromatografia em fase gasosa e espectrometria de massa para identificar diferentes substâncias em uma amostra de teste. É um processo de separação em que a fase móvel é um gás, e a fase estacionária é um sólido (cromatografia gás-sólido) ou um líquido (cromatografia gás-líquido). Na cromatografia gás-líquido,



temos um gás passando por uma coluna com um líquido de alta viscosidade revestindo as suas paredes internas. (MIRANDA et al., 2021).

Segundo Chan et al (2020), em estudo publicado no Journal of AOAC INTERNATIONAL EM a cromatografia é um método adequado, rápido e preciso para o uso em laboratório e indústria alimentícias produtoras de kombucha. Nos experimentos conduzidos foram analisadas 9 amostras de kombucha comercial com amostras de calibração para análise comparação dos resultados. Todo o experimento foi conduzido segundo diretrizes do AOAC. (*Association of Official Agricultural Chemists*).

Esta metodologia é considerada o padrão ouro de análise de percentual alcoólico, no entanto possui um valor alto além de operadores altamente capacitados, alto custo de manutenção exige tempo na preparação das amostras. (KBI, 2018)

## MÉTODO ENZIMÁTICO

Os testes enzimáticos são largamente utilizados como ferramentas analíticas de produtos alimentares, como sumos de fruta, vinho ou cerveja, laticínios, ovos e carne. Sendo altamente precisos na determinação da presença de açúcares, ácidos, álcoois e outros componentes alimentares. (LACORN, 2018)

A reação enzimática requer uma enzima e uma coenzima catalizadora. Na reação o etanol é oxidado pela ação da enzima álcool desidrogenase (ADH) na presença do catalizador de nucleotídeo de nicotinamida-adenina (NAD<sup>+</sup>). Como resultado há formação de acetaldeído e Nicotinamida Adenina dinucleotídeo (NADH), que é mensurado com a utilização de um espectrofotômetro. O resultado expressa valores que demonstram o volume de álcool da mistura analisada. (LACORN, 2018). O método enzimático é o que mais se aproxima da Cromatografia Gasosa, no entanto tem um custo menor e menor exigência de formação dos operadores. (KBI, 2018)

## MÉTODO CALORIMÉTRICO

O método calorimétrico é baseado em uma reação redução do etanol com dicromato de potássio que possuem cor amarela intensa. Nesta reação o etanol é oxidado a ácido etanoico com liberação de íons cromato, estes possuem cor verde intensa. A partir da mistura das duas cores é possível reconhecer o percentual de etanol em uma mistura com base em uma tabela pré-definida. Este método é largamente utilizado na indústria e na detecção de vapores com presença de álcool. (POURKARIM, 2020) No entanto, não foram encontrados estudos referenciais deste método que pudessem estabelecer uma comparação com os demais.

## DESTILAÇÃO E DENSIMETRIA

Os líquidos apresentam volume definido, imutável e tendem a minimizar suas áreas superficiais. Forças coesivas das moléculas dos líquidos conferem propriedades como a capilaridade e tensão superficial. Quando o líquido é acondicionado em um tubo muito estreito ou capilar vertical, o mesmo tende a vencer a força da gravidade até que a pressão hidrostática do líquido se iguale à pressão atmosférica. Cada líquido possui



densidade diferente, por isso tendem a ter um comportamento diferente. Como é o caso de misturas de álcool e outros líquidos em proporções distintas. (MONTEIRO et al., 2012)

Neste método as amostras são pesadas, em seguida, destiladas e o teor do álcool após a destilação é conhecido utilizando-se o picnômetro. Este instrumento trata-se de um frasco dotado de capilar capaz de ser medido visualmente graças à propriedade dos líquidos. (MONTEIRO et al., 2012)

### ANTON – PAAR ALCOLYZER

O Anton-Paar Alcolyzer é a tecnologia mais fácil de usar, oferece tempos de medição curtos e é mais acessível que o GC. As medições de etanol feitas com esta tecnologia foram precisas, mas consistentemente inferiores às medições de Cromatografia Gasosa. (KBI, 2018).

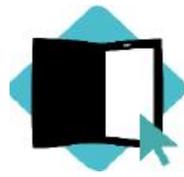
Este procedimento técnico utiliza densímetro eletrônico com o método *Alcolyzer Beer*, para bebidas de baixo grau alcoólico, com tolerância de até 0,3%. Pode ser considerado uma tecnologia adequada, acessível e com menores tempos de medição, com resultados compatíveis aos obtidos por Cromatografia Gasosa. Além disso, este é um equipamento usualmente utilizado em práticas de fiscalização de bebidas alcoólicas realizadas pelo MAPA. (SUHRE, 2020).

### QUADRO COMPARATIVO

Abaixo está um quadro comparativo com os métodos encontrados. Os parâmetros foram analisados em comparação com método de cromatografia gasosa, por ser a tecnologia considerada de alto padrão e de custo mais elevados. Entre os trabalhos realizados não foram encontrados mais detalhes que pudessem contribuir com mais informações acerca do método calorimétrico.

Tabela 2: Quadro comparativo de métodos de mensuração de etanol. Adaptado de KBI (2018)

	<b>Cromatografia Gasosa</b>	<b>Método enzimático</b>	<b>Anton-Paar Alcolizer</b>	<b>Destilação e densimetria</b>	<b>Método calorimétrico</b>
<b>CUSTO</b>					
Insumos	\$\$	\$	Nenhum	Nenhum	Não avaliado
Equipamentos	\$\$\$\$	\$	\$\$\$	\$	Não avaliado
<b>TEMPO</b>					
Preparação da amostra	Longo	Curto	Médio	Longo	Longo
Mensuração	Longo	Curto	Curto	Curto	Curto
<b>FACILIDADE</b>					
Nível de conhecimento	Químico	Técnico	Técnico	Químico	Técnico
<b>PERFORMANCE</b>					
Precisão	4	3	3	Não avaliado	Não avaliado
Acurácia	5	5	5	4	Não avaliado



## CONCLUSÃO

É fato conhecido que o consumo da kombucha está crescendo no país e ainda tem muito potencial para alcançar mais consumidores e se difundir como produto popular. Técnicas empregadas para controle de qualidade se fazem necessárias na produção e aperfeiçoamento de bebidas fermentadas. Entre estas técnicas, as de determinação do teor alcoólico são de suma importância para a adequação regulatória necessária para este tipo de produto.

Dos trabalhos selecionados, foram observadas a preocupação com o controle da concentração de álcool em bebidas fermentadas. Especialmente por este produto apresentar variações que fogem do controle do fabricante após ser produzido. Entretanto, durante o processo produtivo, é crucial para a regularização das bebidas um controle de qualidade rigoroso e baseado em métodos de mensuração confiáveis com o objetivo de instruir fabricantes, revendedores e usuários acerca da concentração de álcool e da possibilidade de esta medida variar ao longo do tempo. Foram encontrados 5 métodos, entre eles: a cromatografia gasosa, método enzimático, método calorimétrico e destilação com dessimetria e dessimetria eletrônica. Todos se apresentaram eficientes e capazes de mensurar concentrações baixas de etanol em amostras de bebida.

Em todos os achados foram observados padrões e técnicas laboratoriais complexos com uso de aparato instrumental específico para atividade analítica. Tais técnicas estão mais próximas da química analítica do que da nutrição. No entanto, ter o acervo teórico, bem como reconhecimento de cada tecnologia é importante para o responsável técnico que atua no setor. Uma vez que o dado profissional precisa orientar os produtores para a garantia dos padrões de qualidade e identidade dos produtos atendendo de forma satisfatória o anseio dos consumidores.

Cabe um estudo mais aprofundado de cada técnica, assim como testes laboratoriais com o objetivo de contribuir ainda mais com a difusão deste aparato técnico entre os profissionais da crescente indústria de fermentados, especialmente de kombucha.

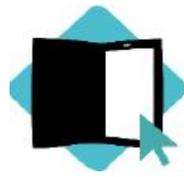
## REFERÊNCIAS

ABKOM. ABKOM. **ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE KOMBUCHA**, 2018. Disponível em: <https://www.abkom.org.br/>. Acesso em: 31 março. 2022.

BRASIL. **Lei no 8.234, de 17 de setembro de 1991**. Regulamenta a profissão de Nutricionista e determina outras providências. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/1989\\_1994/18234.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/1989_1994/18234.htm). Acesso em: 22 março. 2022.

CARDOSO, Rodrigo R. *et al.* Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. **Food Research International**, v. 128, fevereiro. 2020.

CHAN, M; SY, H; FINLEY, J; ROBERTSON; BROWN, P; Determination of Ethanol Content in Kombucha Using Headspace Gas Chromatography with Mass Spectrometry Detection: Single-Laboratory Validation. Burnaby, Canadá. **Journal of AOAC**



INTERNATIONAL, 104(1), 2021, P. 122–128, agosto 2020. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/en/mdl-33099632> Acesso em: 20 mar. 2022.

DE MIRANDA, J. F. *et al.* Kombucha: A review of substrates, regulations, composition, and biological properties. **J Food Sci**, v. 87, fevereiro. 2022.

EMILJANOWICZ, Katarzyna E.; MALINOWSKA-PAŃCZYK, Edyta. Kombucha from alternative raw materials – The review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. **Crit Rev Food Sci Nutr**, 28 out. 2019.

HILLBERG, L. E. Quantitation of ethanol in kombucha beverages with evidence of bottle fermentation by gas chromatography. **Department of Biological Sciences, California State University**, Stanislaus, 1 University Circle, Turlock. <https://doi.org/10.1093/jaoacint/qsaa094>, maio 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jaoacint/qsaa094>. Acesso em: 9 maio. 2022.

KATZ, Sandor E. **A arte da Fermentação**. [S.l.]: SESI-SP Editora, 2017.  
IHSANI, N; , HERNAHADINI, N; FAUZI, M. The variation of ethanol concentration and kombucha characterization on several incubation periods. **Universitas Muhammadiyah Bandung**. Kota Bandung, Indonésia, doi:10.1088/1742-6596/1764/1/012008, out. 2020. Disponível em: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1742-6596/1764/1/012008/pdf>. Acesso em: 4 maio. 2022.

LACORN, M; HEKTOR, T. Determination of Ethanol in Kombucha, Juices, and Alcohol-Free Beer by EnzytecTMLiquid Ethanol: Single-Laboratory Validation, First Action 2017.07. **Journal of AOAC International** Vol. 101, No. 4, 2018. Darmstadt, Alemanha, <https://doi.org/10.5740/jaoacint.17-0466>, mai 2018. Disponível em: <https://academic.oup.com/jaoac/article/101/4/1101/5654040>. Acesso em: 1 maio. 2022.

MOURA, A. B. Monitoramento do processo fermentativo da kombucha de chá mate. **Universidade Federal de Pernambuco - Vitória de Santo Antão**. setembro 2019, Pernambuco. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/33633>. Acesso em: 1 maio. 2022.

MOUSAVI, S. M.; HASHEMI, S. A.; ZAREI, M. Recent Progress in Chemical Composition, Production, and Pharmaceutical Effects of Kombucha Beverage: A Complementary and Alternative Medicine. **Evid Based Complement Alternat Med**, nov. 2020.

MONTEIRO, M. A. A.;VAZ, E. L. S.; MONTEIRO, C. C. I.; CORDARO, N. E.; ACCIARI, A. H. Determinação do teor alcoólico da cachaça: uma discussão sobre o conceito de tensão superficial em uma perspectiva interdisciplinar. **UNESP, Guaratinguetá – São Paulo** <https://doi.org/10.5007/2175-7941.2012v29n2p229>, mai 2012. Disponível em: <https://periodicos.ufsc.br/index.php/fisica/article/view/2175-7941.2012v29n2p229>. Acesso em: 1 maio. 2022.



NASCIMENTO R. F.; BARBOSA P. G. A.; SILVA V. P. A.; Cromatografia Gasosa Aspectos Teóricos e Práticos. **Universidade Federal do Ceará**. Fortaleza, 2018. Disponível em: <https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/39260> Acesso em: 24 abril 2022

PALUDO, N. Desenvolvimento e caracterização de kombucha obtida a partir de chá Verde e extrato de erva-mate: processo artesanal e escala laboratorial. **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, jun. 2020.

POURKARIM, F; RAHIMPOUR, E; KHOUBNASABJAFARI, M; JOUYBAN-GHARAMALEKI, V; FARHANG, S; JOUYBAN, A. A Simple Colorimetric Method for Determination of Ethanol in Exhaled Breath Condensate. **Biotechnology Research Center, Pharmaceutical Sciences**, 2021, 27(2), 297-301. Tabriz University of Medical Sciences. Tabriz, Iran, <https://doi.org/10.34172/PS.2020.40>, mai 2020. Disponível em: <https://ps.tbzmed.ac.ir/>. Acesso em: 1 maio. 2022.

RODRIGUES, R. D. S. *et al.* Características físicas e químicas de kombucha à base de chá de hibisco (*Hibiscus Sabdariffa*, L.). Desvendando mitos. **6º Simpósio de Segurança Alimentar**, Gramado/RS, maio 2018.

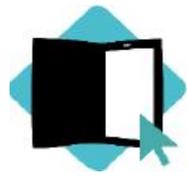
SURE, T. Kombuchas produzidas e comercializadas no Brasil: características físico-químicas e composição microbiana. **UFRS - Instituto de ciência e tecnologia de alimentos programa de pós-graduação em ciência e tecnologia de alimentos**. maio 2020. Porto Alegre, Brasil, Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/211888/001115269.pdf>, Acesso em: 24 abril 2022.

TALEBI, M., FRINK, L.A., PATIL, R.A.. Examination of the Varied and Changing Ethanol Content of Commercial Kombucha Products. *Food Anal. Methods* 10, 4062–4067 (2017). **Tabriz University of Medical Sciences**. Tabriz, Iran, <https://doi.org/10.1007/s12161-017-0980-5>, junho 2017. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12161-017-0980-5>. Acesso em: 1 maio. 2022.

VILLARREAL-SOTO SA, BEAUFORT S. B. J. S. J. T. P. Understanding Kombucha Tea Fermentation: A Review. **Journal of food science**, v. 83, n. 3, p. 580-588, mar. 2018.

KOMBUCHA BREWERS INTERNATIONAL. Measuring Ethanol in Kombucha: Instrument Comparison Study. **Kombucha Brewers International**. Colorado. agosto 2018. Disponível em: <https://kombuchabrewers.org/measuring-ethanol-in-kombucha-instrument-comparison-study/>. Acesso em: 20 de jun. de 2022.

VOHRA, B; FAZRY, S; SAIRI, F. OTHMAN, B. A. Effects of Medium Variation and Fermentation Time Towards the pH Level and Ethanol Content of Kombucha. **School of Biosciences and Biotechnology**. Selangor, Malaysia ,



<https://doi.org/10.1063/1.5111247>, jun. 2020. Disponível em:  
<https://aip.scitation.org/doi/abs/10.1063/1.5111247>. Acesso em: 4 maio. 2022.

WIRTH, M. Consumo de sucos e refrigerantes: um risco maior para crianças e adolescentes. **Sistema Integrado de informação em Saúde**, 2010. Disponível em: <http://www.sissaude.com.br/sis/inicial.php?case=2&idnot=5819>. Acesso em: 21 abr. 2022.