

¹ZORICA T. RADULOVIĆ
²MIRELA D. ILIČIĆ
¹DRAGOSLAVA D. RADIN
¹DUŠANKA D. PAUNOVIĆ
¹NEMANJA L. MITROVIĆ
¹MILICA M. PETRUŠIĆ
¹DRAGOJLO B. OBRADOVIĆ

¹Univerzitet u Beogradu,
 Poljoprivredni fakultet
²Univerzitet u Novom Sadu,
 Tehnološki fakultet

NAUČNI RAD

UDK: 637.1461:637.146.3:637.047

KARAKTERIZACIJA MIKROFLORE KOMBUHE U FERMENTISANIM MLEČNIM NAPICIMA*

Primena čajna gljive je sve više rasprostranjena u svetu i koristi se za dobijanje fermentisanog čajnog napitka, sa potencijalnim terapijskim svojstvima. Poznato je da čajnu gljivu čini simbioza sirćetnih bakterija i kvasaca, ali su prisutne vrste veoma raznovrsne, zavisno od porekla i geografskog regiona. Identifikacijom prisutne mikroflore čajne gljive može se pokazati tipičnost same gljive, po kojoj se razlikuje od drugih. S obzirom da je dobijanje čajnog napitka primenom čajne gljive poznato veoma dugo, kao inovacija se javlja pitanje mogućnosti dobijanja fermentisanog mlečnog napitka.

U tom smislu, u radu je izvršena izolacija i identifikacija mikroflore čajne gljive, pri čemu je utvrđeno prisustvo sirćetnih bakterija *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus*, *Gluconobacter xylinum* i kvasaca koji pripadaju rodovima *Saccharomyces*, *Candida* i *Kloeckera*. Za dobijanje fermentisanog mlečnog napitka, primenjeni su inokulumi: fermentisani čaj, retentat dobijen ultrafiltriranjem i koncentrat dobijen uparavanjem, u mleku sa različitim sadržajem mlečne masti (0,9%, 1% i 2,2%) i različitim koncentracijama (10% i 15% čajnog napitka i retentata i 1,5% i 3% koncentrata).

Ispitana je sposobnost rasta sirćetnih bakterija i kvasaca u deset različitih varijanti fermentisanih mlečnih napitaka, gde je najbolja aktivnost bila u prisustvu 2,2% mlečne masti a vijabilnost sirćetnih bakterija i kvasaca pokazala se veoma dobrom u toku 15 dana čuvanja fermentisanog mlečnog napitka na 4°C.

Sa mikrobiološkog aspekta, primena čajne gljive u proizvodnji fermentisanih mlečnih napitaka daje osnov za dobijanje novog fermentisanog mlečnog proizvoda, ali neophodna su dalja istraživanja sa hemijskog, tehnološkog, nutritivnog i senzornog aspekta.

Ključne reči: čajna gljiva • sirćetne bakterije • kvasci • fermentisani mlečni napici

UVOD

Napitak od čajne gljive ili kombuhe je proizvod fermentacije simbiotske zajednice kvasaca i sirćetnih bakterija, nastao fermentacijom zaslađenog zelenog ili crnog čaja. Ovaj proizvod ima najširu primenu u Kini, Rusiji, Japanu, a poslednjih godina širi se na celu Evropu, SAD i Australiju. Razlog ovakvoj ekspanziji popularnosti ovog napitka je sve veći broj preporuka njene primene kod jačanja imunostistema, suzbijanja artritisa, prevenciji karcinoma i dr. Međutim, mora se naglasiti da povećani interes za zdravstvene efekte čajne gljive pobuđuje sve veći broj istraživanja, ali još uvek ne postoje čvrsti naučni dokazi (Greenwalt i sar. 2000).

Ovakve pretpostavke pobuđuju istraživanja u oblasti identifikacije mikroflore kombuhe, kao i njene sposobnosti rasta na različitim supstratima, o čemu svedoče veliki broj literaturnih podataka (Zahoor i sar., 2006, Blanc, 1996, Lončar i sar., 2001). Međutim, o sposobnosti rasta mikroflore čajne gljive u mleku skoro da nema podataka, što otvara novo polje istraživanja o mogućnosti njene primene za dobijanje novih fermentisanih mlečnih napitaka. Kako su trendovi u razvoju novih tehnologija funkcionalne hrane sve aktuelniji, pro-

izvodnja fermentisanih mlečnih napitaka primenom čajne gljive bi mogla imati značajnog udela u ovoj oblasti (Milanović i sar., 2002).

Cilj ovog rada bio je da se identifikuje mikroflora čajne gljive i ispita mogućnost njene primene za proizvodnju novog fermentisanog mlečnog napitka, koji pripada grupi proizvoda visoke nutritivne vrednosti.

MATERIJAL I METODI

U radu je izvršena izolacija i identifikacija sirćetnih bakterija i kvasaca iz tri različita inokuluma čajne gljive (čajni napitak, retentat dobijen ultrafiltracijom i koncentrat dobijen uparavanjem). Ovi inokulumi su primenjeni u proizvodnji fermentisanih mlečnih napitaka sa različitim sadržajem mlečne masti (0,9%, 1% i 2,2%). Inokulacija mleka je izvršena sa 10% i 15% inokuluma čajnog napitka, 10% i 15% retentata dobijenog ultrafiltracijom i 1,5% i 3% koncentrata dobijenog uparavanjem. Na ovaj način dobijeno je deset različitih fermentisanih mlečnih napitaka u kojima je praćen broj prisutnih ćelija kvasaca i sirćetnih bakterija.

Izolacija, a kasnije i određivanje broja ćelija sirćetnih bakterija i kvasaca izvršena je zasejavanjem na odgovarajućim selektivnim podlogama. Za rast sirćetnih bakterija korišćena je GYC podloga sledećeg sastava: 10 g kvašćevog ekstrakta, 50 g glukoze, 30 g CaCO₃, 25 g agar agara. Za rast kvasaca primenjena je selektivna podloga Saburov maltozni agar („Torlak“) koji sadrži 10 g peptona i 40 g maltoze. Za izolaciju čistih kultura bakterija i kvasaca izvršeno je zasejavanje na odgovarajućim selektivnim pod-

*Rad je deo istraživanja u okviru projekta TR 20008 "Funkcionalni fermentisani mlečni napitak – nova tehnologija" koji finansira Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije.

Adresa autora:
 Dr Zorica Radulović, Univerzitet u Beogradu,
 Poljoprivredni fakultet, Nemanjina 6, Zemun,
 tel.: 011 2615-315
 e-mail: zradulovic@agrif.bg.ac.rs

logama i inkubacija na 30°C. Pojedinačne kolonije su pikirane i presejane na Saburov maltoznom agar za kvasce, a na GYC agaru samo one koje daju prosvetljene zone oko nastalih kolonija. Bojenjem po Gramu je proverena čistoća izolovanih kultura. Za karakterizaciju sirćetnih bakterija, ispitano je prisustvo enzima katalaze, katalaza testom, sposobnost rasta u anaerobnim uslovima, sposobnost oksidacije etanola do sirćetne kiseline (De Ley, 1984), oksidacije acetata do CO₂ i H₂O, (Swings, 1992) kao i sposobnost korišćenja Na-acetata, metanola i etanola kao izvora ugljenika (De Ley, 1984). Za identifikaciju sirćetnih bakterija primenjen je biohemijski niz API 20 NE sistem (Bio Merieux France), za Gram negativne štapičaste bakterije. Izolati su pripremljeni prema protokolu proizvođača, a očitavanje je izvršeno primenom API LAB PLUS softverskog sistema.

Za preliminarnu identifikaciju kvasaca za svaki izolat je ispitana sposobnost stvaranja lažnih micelija zasejavanjem na krompirovom agaru (Lodder, 1974), a zatim je identifikacija izvršena na osnovu biohemijskog niza primenom API 20C AUX sistema za kvasce (Bio Merieux France), pri čemu su izolati pripremljeni i zasejani u stripove prema protokolu koje je preporučio proizvođač. Posle inkubacije stripova na 30°C, izvršeno je očitavanje stripova, a i identifikacija je utvrđena primenom softverskog sistema API LAB PLUS.

Promene broja prisutnih kvasaca i sirćetnih bakterija u uzorcima fermentisanih mlečnih napitaka, čuvanih na 4°C u toku 15 dana, utvrđene su primenom klasične metode razređenja i već pomenutih selektivnih podloga.

REZULTATI I DISKUSIJA

Izdvojene čiste kulture sirćetnih bakterija i kvasaca proverene su preparatom po Gramu, pri čemu su utvrđene i morfološke karakteristike izolovanih ćelija. Karakteristike sirćetnih bakterija koje su značajne za njihovu identifikaciju date su u tabeli 1.

Identifikacijom sirćetnih bakterija primenom API 20 NE sistema, u sva tri uzorka inokuluma utvrđeno je prisustvo tri vrste sirćetnih bakterija: *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus* i *Gluconobacter xylinum*.

Mikrobiološki sastav sirćetnih bakterija može da varira zavisno od geo-

Tabela 1: KARAKTERISTIKE SIRĆETNIH BAKTERIJA IZOLOVANIH IZ ČAJNE GLJIVE

Table 1: CHARACTERISTICS OF ACETIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM TEA FUNGUS

KARAKTERISTIKE	<i>Gluconobacter xylinus</i>	<i>Acetobacter aceti</i>	<i>Acetobacter pasteurianus</i>
Bojenje po Gramu	-	-	-
Katalaza	+	+	+
Odnos prema O ₂	Aerobna bak.	Aerobna bak.	Aerobna bak.
Oksidacija etanola do sirćetne kis.	+	+	+
Oksidacija acetata do CO ₂ i H ₂ O	+	+	+
Na-acetat kao izvor C	-	+	+
Etanol kao izvor C	-	+	+
Metanol kao izvor C	-	+	+

grafskog porekla. Međutim rodovi *Acetobacter* i *Gluconobacter* su najrasprostranjeniji u kulturama kombuhe. Mnoga istraživanja su potvrdila da je *Gluconobacter xylinum* primarna bakterija u ovoj simbiozi (Sievers i sar., 1995), a takođe i prisustvo vrste *Acetobacter aceti* (Zahoor i sar., 2006).

Na osnovu identifikacije kvasaca koja je obuhvatala sposobnost stvaranja pseudomicelija i fermentacije različitih šećera, na kojoj je bazirana determinacija API 20 C AUX sistemom, utvrđeno je prisustvo rodova: *Saccharomyces*, *Candida* i *Kloeckera*. Mikroflora kvasaca je mnogo raznovrsnija u odnosu na sirćetne bakterije, tako da se u istraživanjima različitih autora pojavljuje veliki broj različitih rodova

jim fiziološkim karakteristikama značajno razlikovala od sličnih vrsta *Zygosaccharomyces bailii* i *Zygosaccharomyces lentus*.

Ispitivanjem ukupnog broja prisutnih sirćetnih bakterija i kvasaca utvrđeno je da se ukupan broj kvasaca u sva tri uzorka inokuluma kretao u intervalu od 10³ do 10⁵ cfu/ml, pri čemu je najveći broj utvrđen u retentatu, a kod uparenog inokuluma je broj najmanji. To je i očekivano s obzirom na uticaj temperature pri postupku uparivanja. Broj sirćetnih bakterija bio je približan u sva tri uzorka i kretao se 10²-10³ cfu/mL (tabela 2).

Rezultati ukupnog broja sirćetnih bakterija i kvasaca u fermentisanim mlečnim napicima prikazani su u tabeli 3.

Tabela 2: UKUPAN BROJ SIRĆETNIH BAKTERIJA I KVASACA U INOKULUMU ČAJNE GLJIVE

Table 2: ACETIC ACID BACTERIA AND YEASTS TOTAL CELL COUNT IN TEA FUNGUS INOCULUM

INOKULUM	Sirćetne bakterije broj ćelija/mL	Kvasci broj ćelija/mL
1. čajni napitak	1 x 10 ²	4,2 x 10 ⁵
2. retentat	2 x 10 ³	8 x 10 ⁵
3. koncentrat	1 x 10 ³	1 x 10 ³

(Herrera i Calderon-Villagomez, 1989). Ai Leng Teoh i sar. (2004) utvrdili su prisustvo *Zygosaccharomyces bailii*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Rhodotorula*, *Brettanomyces*, *Candida*. Mayers i sar., (1995) pokazali su da su najčešći rodovi kvasaca koji se javljaju u sastavu uzoraka kombuhe sakupljenih iz različitih regiona Nemačke, najčešće *Saccharomyces* i *Zygosaccharomyces*. Steels i sar., (2002) su utvrdili specifičnost vrste *Zygosaccharomyces kombuchaensis* koja se svo-

Evidentno je da u fermentisanim mlečnim napicima sa sadržajem mlečne masti od 0,9% i 1% nisu utvrđene značajne razlike u broju sirćetnih bakterija, dok je u fermentisanom napitku sa 2,2% mlečne masti, broj sirćetnih bakterija bio znatno veći i kretao se od 10³-10⁴, zavisno od koncentracije inokuluma. Isti uticaj sadržaja mlečne masti je utvrđen i u odnosu na broj prisutnih kvasaca, tako da je ovaj broj najveći u fermentisanom napitku sa 2,2% mlečne masti. Takođe je poka-

Tabela 3: UKUPAN BROJ SIRČETNIH BAKTERIJA I KVASACA U FERMENTISANIM MLEČNIM NAPICIMA

Table 3: TOTAL COUNT NUMBER OF ACETIC ACID BACTERIA AND YEAST IN FERMENTED MILK BEVERAGE

FERMENTISANI MLEČNI NAPICI	Sirčetine bakterije broj ćelija/mL	Kvasci broj ćelija/mL
Sa 0,9 % mlečne masti		
1. 10% inokuluma	2×10^2	$5,6 \times 10^3$
2. 15% inokuluma	$2,7 \times 10^3$	9×10^3
3. 10% retentata	$4,5 \times 10^4$	9×10^4
4. 15% retentata	$1,7 \times 10^4$	9×10^4
5. 1,5% koncentrata	6×10^4	$3,3 \times 10^4$
6. 3% koncentrata	$7,6 \times 10^4$	1×10^5
Sa 1% mlečne masti		
7. 10% inokuluma	2×10^2	$1,7 \times 10^3$
8. 15% inokuluma	2×10^2	$4,5 \times 10^3$
Sa 2,2 % mlečne masti		
9. 10% inokuluma	7×10^3	$1,3 \times 10^4$
10. 15% inokuluma	$2,5 \times 10^4$	5×10^4

zано da je u napicima koji su inokulisani retentatom i uparenim koncentratom čajne gljive, broj sirčetnih bakterija i kvasaca veći nego u napitku koji je inokulisan čajnom gljivom bez primene ovih tretmana.

Interesantni su podaci poređenja broja ćelija prisutne mikroflore u fermentisanom čaju (koji je u radu primenjen kao inokulum) i fermentisanom mlečnom napitku (tabela 4).

njenicom da je crni čaj kompleksan rastvor, koji sadrži različite metil ksantane, polifenole i druga brojna jedinjenja, od kojih neka mogu imati inhibitorski efekat na rast organizama (Taylor i McDowell, 1993).

Utvrđivanje vijabilnosti sirčetnih bakterija i kvasaca tokom čuvanja fermentisanog mlečnog napitka na 4°C je od velike važnosti ako se ima u vidu značaj određivanja dužine roka tra-

Tabela 4: POREĐENJE UKUPNOG BROJA MIKROORGANIZAMA ČAJNE GLJIVE U ČAJNOM I MLEČNOM NAPITKU

Table 4: COMPARASION OF TEA FUNGUS MICROORGANISMS TOTAL CELL COUNT IN TEA AND MILK FERMENTED BEVERAGES

Supstrat	Mikroorganizmi	Ukupan broj (cfu/mL)
Čajni napitak	Sirčetine bakterije	$1,52 \times 10^3$
	Kvasci	$3,5 \times 10^2$
Mlečni napitak	Sirčetine bakterije	$1,52 \times 10^3$
	Kvasci	$1,2 \times 10^2$

Broj ćelija kvasaca u mlečnom napitku je niži u odnosu na broj u čaju, što je verovatno posledica slabije sposobnosti prisutne mikroflore kvasaca da fermentišu laktozu iz mleka (Malbaša i sar., 2008, 2009).

Nasuprot tome, broj sirčetnih bakterija u mlečnom napitku veći je u odnosu na čaj, što se može objasniti č-

janja fermentisanih mlečnih napitaka.

Sposobnost preživljavanja prisutnih mikroorganizama tokom čuvanja mlečnog napitka na temperaturi od 4°C u toku 15 dana, prikazana je u tabeli 5.

Utvrđeno je da prisutna mikroflora kvasaca i sirčetnih bakterija veoma dobro podnosi temperaturu hlađenja

Tabela 5: PROMENE BROJA KVASACA I SIRČETNIH BAKTERIJA TOKOM ČUVANJA FERMENTISANOG MLEČNOG NAPITKA PRI TEMPERATURI OD 4°C

Table 5: YEAST AND ACETIC ACID BACTERIA CELL COUNT CHANGES DURING FERMENTED MILK BEVERAGE STORAGE AT 4°C

Ukupan broj	0. DAN	10. DAN	15. DAN
Sirčetine bakterije	$1,52 \times 10^3$	$1,1 \times 10^3$	$9,4 \times 10^2$
Kvasci	$1,2 \times 10^2$	$4,4 \times 10^2$	$1,8 \times 10^2$

od 4°C, što potvrđuje veoma blag trend opadanja broja sirčetnih bakterija ($1,52 \times 10^3$ - $9,4 \times 10^2$ cfu/mL), dok se broj kvasaca uz neznatna variranja održavao na nivou od 10^2 cfu/mL. Dobijeni podaci o vijabilnosti mikroorganizama čajne gljive u fermentisanom mlečnom napitku ukazuju na mogućnost dubljih istraživanja sa hemijskog, mikrobiološkog, nutritivnog i senzornog aspekta, sa ciljem dobijanja novih fermentisanih mlečnih proizvoda koji bi doprineli proširenju asortima razvoju novih tehnologija.

ZAKLJUČAK

Na osnovu izolacije i identifikacije kvasaca i sirčetnih bakterija iz čajne gljive, utvrđeno je da mikrofloru sirčetnih bakterija sačinjavaju vrste *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus* i *Gluconobacter xylinum*. Od kvasaca utvrđeno je prisustvo vrsta koje pripadaju rodovima *Saccharomyces*, *Candida* i *Kloeckera*.

U fermentisanim mlečnim napicima privedenim sa različitim sadržajem mlečne masti, utvrđeno je da je najbolji porast mikroorganizama čajne gljive postignut u fermentisanom mlečnom napitku sa 2,2% mlečne masti.

U napicima koji su inokulisani retentatom i uparenim koncentratom čajne gljive, broj sirčetnih bakterija i kvasaca je bio veći nego u napitku koji je inokulisan čajnom gljivom bez primene ovih tretmana.

Poređenjem broja prisutnih mikroorganizama kombuhe u fermentisanom čaju i mlečnom napitku pokazano je da je broj kvasaca veći u čaju, a sirčetnih bakterija u mleku.

Utvrđivanjem vijabilnosti mikroorganizama u fermentisanom mlečnom napitku tokom 15 dana čuvanja na temperaturi od 4°C, ustanovljeno je da ovi uslovi čuvanja nemaju značajan uticaj na promene broja prisutne mikroflore.

Dalja istraživanja u ovoj oblasti bi mogla doprineti proširenju asortimana i razvoju novih tehnologija fermentisanih mlečnih proizvoda.

LITERATURA

- Blanc, P.: Characterization of the Tea Fungus metabolites. *Biotechnology Letters* 18 (1996) 139-142.
- De Lay J.: Family VI Acetobacteriaceae, in: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, eds. Kreig R.N., Holt, G.J., Williams & Wilkins Co., Baltimore (1984), pp. 267-278.

- Greenwalt, C.J., Steinkraus, K.H. and Ledford, R.: Kombucha, the Fermented Tea: Microbiology, Composition and Claimed health Effects. *Journal of Food Protection* 63(7) (2000) 976-981.
- Harrera, T., Calderon-Villagomez, A.: Species of yeasts isolated in Mexico from the tea fungus. *Rev. Mex. Microbiol.*, 5 (1989) 205-210.
- Lodder, J.: The yeasts. North Holland Publishing Company, Amsterdam. (1974).
- Lončar E., Milanović S., Carić, M., Malbaša R., Panić M.: Metabolička aktivnost čajne gljive u mleku. *Prehrambena industrija–Mleko i mlečni proizvodi*, 12 (1-2) (2001) 13-17.
- Malbaša, R., Lončar, E. and Đurić, M.: Comparison of the products of Kombucha fermentation on source and molasses. *Food Chemistry*, 106 (2008) 1039-1045.
- Malbaša, R., Milovanović, S., Lončar, E., Đurić, M., Carić, M., Iličić, M. and Kolarov, Lj.: Milk-based beverages obtained by Kombucha application. *Food Chemistry*, 112 (2009) 178-184.
- Mayser, P., Fromme, S., Leitzmann, C. and Grunder, K.: The yeast spectrum of the "tea fungus Kombucha". *Mycoses*, 38 (1995) 289-295.
- Milovanović, D. S., Carić, Đ. M., Lončar, S. E., Panić, D. M., Malbaša, V. R., Dobrić, Đ. D.: Primena koncentrata čajne gljive u proizvodnji fermentisanih mlečnih napitaka. *Prehrambena industrija–Mleko i mlečni proizvodi*, 13 (1-2) (2002) 8-13.
- Sievers, M., Lanini, C., Weber, A., Schuler-Schmid, U. and Teuber, M.: Microbiology and Fermentation Balance in a Kombucha Beverage Obtained from a Tea Fungus Fermentation System. *Appl. Microbiol.*, 18 (1995) 590-594.
- Steels, H., James, A. J., Bond, C. J., Roberts, N. I., Stratfore, M.: *Zygosaccharomyces kombuchaensis*: the physiology of a new species related to the spoilage yeasts *Zygosaccharomyces lentus* and *Zygosaccharomyces bailii*. *FEMS Yeast research*, 2(2) (2002) 113-121.
- Swings J.: *The Prokaryotes*, 2nd ed, eds. By A. Balows, Springer-Verlag, p. 2268-2286 (1992).
- Taylor, S. and McDowell, I.: *Tea. Chemistry. Encyclopedia of Food Science, Technology and Nutrition*, 7 (1993) 4527-4533.
- Zahoor, T., Siddique, F. and Farooq U.: Isolation and characterization of vinegar culture (*Acetobacter acetii*) from indigenous sources. *British Food Journal*, 109 (6) (2006) 429-439.

SUMMARY

CHARACTERIZATION OF KOMBUCHA MICROFLORA IN FERMENTED MILK BEVERAGES

¹Zorica T. Radulović, ²Mirela D. Iličić, ¹Dragoslava D. Radin, ¹Dušanka D. Paunović, ¹Nemanja L. Mitrović, ¹Milica M. Petrušić, ¹Dragojlo B. Obradović

¹University of Belgrade, Faculty of Agriculture

²University of Novi Sad, Faculty of Technology

Application of tea fungus has been increasing world-wide as it is useful for obtaining fermented tea beverages with potential therapeutic characteristics. It is known that tea fungus is composed of acetic acid bacteria and yeasts, but involved species in these consortia are various, depending on its origin and the geographical region from which it comes from. By identifying present microflora of some tea fungus, it is possible to show its typicality and differentiate it from others. Considering that obtaining tea beverages by application of tea fungus has been known for a long time, possibility of fermented milk beverages appeared as an innovative question.

Hence, in this paper isolation and identification of tea fungus microflora, where presence of acetic acid bacteria *Acetobacter acetii*, *Acetobacter pasteurianus*, *Gluconobacter xylinum* and yeasts belonged to the genera *Saccharomyces*, *Candida* and *Kloeckera* was noted, has been carried out. For the making of fermented milk beverages, subsequent inoculums were applied: fermented tea, retentate obtained by ultrafiltration and concentrate obtained by evaporation in milk with different fat content (0.9%, 1% and 2.2%) and different concentration (10%, 15% fermented tea and retentates and 1.5%, 3% concentrates). Growth ability of acetic acid bacteria and yeasts in 10 different fermented milk beverages was examined, and best activity was detected in the sample with 2.2% milk fat. During 15 days storage of the fermented milk beverages at 4°C, viability of acetic acid bacteria and yeasts was very good. From microbiological aspect, application of tea fungus in fermented milk beverages production could be the base for obtaining new fermented milk beverages, but additional research of the chemical, technological, nutritive and sensorial aspects are necessary.

Key words: tea fungus • acetic acid bacteria • yeast • fermented milk beverages