

解淀粉乳酸细菌在厨余垃圾乳酸发酵中的应用

王旭明^{1,2}, 汪群慧^{1,3*}, 任南琪¹, 王孝强¹, 马鸿志¹

(1. 哈尔滨工业大学市政环境工程学院, 哈尔滨 150090; 2. 吉林大学植物科学学院, 长春 130062; 3. 北京科技大学环境工程系, 北京 100083)

摘要: 研究了水解淀粉乳酸细菌对厨余垃圾发酵生产乳酸的强化作用. 从厌氧发酵的厨余垃圾中分离到 6 株水解淀粉的乳酸细菌, 其中菌株 FH164 具有最高的淀粉降解率和乳酸产量. 在 pH 5.5~6.0 条件下, 经 48h 发酵, 菌株 FH164 从 $40.50\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的可溶性淀粉产生 $32.67\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的乳酸. 根据形态、生理生化特征和 16S rDNA 序列分析结果, 可将菌株 FH164 鉴定为链球菌属 (*Streptococcus* sp.) 细菌. 接种菌株 FH164 可强化厨余垃圾的乳酸发酵, 采用垃圾不灭菌的开放式发酵, 菌株 FH164 可得到 $28.23\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的乳酸, 比自然发酵(不接种的对照)的乳酸浓度高 19.2%.

关键词: 厨余垃圾; 乳酸; 解淀粉乳酸细菌; 分离; 发酵

中图分类号: X705 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2006)04-0800-05

Isolation of an Amylolytic Lactic Acid Bacterium and Its Application on Lactic Acid Production from Kitchen Waste

WANG Xurming^{1,2}, WANG Qunhui^{1,3}, REN Nanqi¹, WANG Xiaoliang¹, MA Hongzhi¹

(1. School of Municipal & Environmental Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China; 2. School of Plant Science, Jilin University, Changchun 130062, China; 3. Department of Environmental Engineering, University of Science and Technology Beijing, Beijing 100083, China)

Abstract: In order to realize resource recycling of kitchen waste, the enhancement of fermentative production of lactic acid (LA) by a strain of amylolytic lactic acid bacterium (ALAB) isolated from kitchen waste was investigated. A total of 6 strains of ALAB were isolated from anaerobically fermented kitchen waste. Among these isolates, the strain FH164 exhibited the highest starch hydrolyzing rate and LA production. $32.67\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ of LA was produced from $40.50\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ of soluble starch by strain FH164 at pH 5.5~6.0 in 48h of fermentation. On the basis of its morphological and physiochemical characteristics as well as 16S rDNA sequence, the strain FH164 was tentatively identified as *Streptococcus* sp.. $28.23\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ of LA was obtained from kitchen waste by the strain FH164 employing an open fermentation mode (substrate non-autoclaved), which was 19.2% higher than that of the fermentation without inoculum (control).

Key words: kitchen waste; lactic acid; amylolytic lactic acid bacteria; isolation; fermentation

厨余垃圾是家庭、餐饮业废弃的食物垃圾通称, 在城市生活垃圾中占较大的比重. 我国一些城市厨余垃圾占生活垃圾的比例为: 北京 37%, 天津 54%, 上海 59%, 沈阳 62%, 深圳 57%, 广州 57%, 济南 41%^[1]. 由于它含水率高, 不适于焚烧处理, 且易腐败发臭, 现已成为环境治理的难题. 1999 年, Shirai^[2]提出了一种厨余垃圾减量化与资源化的新思路, 即用厨余垃圾生产乳酸, 进而合成聚乳酸这种可生物降解塑料.

乳酸是一种需求量仅次于柠檬酸的重要有机酸, 广泛应用于食品、医药、皮革、纺织等工业领域. 由于它在合成可生物降解材料——聚乳酸上的潜在应用, 其市场潜力巨大. 目前发酵工业上生产乳酸的原料主要是玉米、大米等粮食, 这是造成乳酸生产成本较高的原因之一. 利用厨余垃圾等有机废弃物生产乳酸不但可以消除废物的环境污染, 还能够生产

乳酸这种有用的化工产品, 因此具有广阔的开发前景^[3,4].

具有淀粉水解活性的乳酸细菌 (lactic acid bacteria, LAB) 在乳酸发酵工业上有着重要应用^[5,6]. 当以淀粉质原料生产乳酸时, 以解淀粉乳酸细菌作为菌种, 可以不必加淀粉酶糖化, 有利于生产工艺的简化. 由于淀粉是厨余垃圾的主要碳源物质, 因此以解淀粉乳酸细菌作为菌种, 将有利于厨余垃圾的乳酸发酵. 本文研究了解淀粉乳酸细菌 (amylolytic lactic acid bacteria, ALAB) 的分离筛选及其对厨余垃圾乳酸发酵的促进作用, 旨在为强化

收稿日期: 2005-04-23; 修订日期: 2005-05-31

基金项目: 国家自然科学基金项目 (50278024); 黑龙江省自然科学基金项目 (E0316)

作者简介: 王旭明 (1971~), 男, 博士研究生, 副教授, 主要从事环境微生物技术的研究.

* 通讯联系人, E-mail: wangqh59@hit.edu.cn

厨余垃圾的乳酸发酵,提高乳酸产量,以及实现其工业化生产提供高效菌株.

1 材料与方法

1.1 厨余垃圾来源及特性

厨余垃圾取自哈尔滨工业大学二校区学生食堂,其理化性质如表 1 所示.新鲜垃圾粉碎后一部分用于乳酸细菌的分离,其余部分-20℃冷冻保存.

1.2 分离培养基

MRS^[7] 琼脂培养基,用 2% 可溶性淀粉代替其

表 1 厨余垃圾理化性质
Table 1 Characteristics of solid phase waste

TS/ %	DS/ %	SS/ %	pH	总糖/ %	淀粉/ %	粗蛋白/ %	粗脂肪/ %	粗纤维/ %
17.22	7.58	9.64	6.08	62.68	53.12	15.56	18.06	2.26

中的葡萄糖,常规灭菌后,加入 1% 已灭菌的 CaCO₃ 和 1.5% 已灭菌的垃圾浸出液(将新鲜垃圾加入 1 倍重量的水,过滤后制得).

1.3 乳酸细菌的分离纯化

把新鲜的垃圾粉碎后,加入 1 倍重量的无菌水,装入自制的密闭塑料容器中,通入高纯氮气,35℃厌氧发酵.分别于发酵的第 1、2、3、5、7d 取样,按常规方法分离具有溶钙透明圈的单菌落,反复纯化,直至得到纯培养.对分离菌株进行革兰氏染色、过氧化氢酶实验、运动性观察和水解淀粉实验^[8].

1.4 解淀粉乳酸细菌的筛选

具有过氧化氢酶阴性,不运动,不形成芽孢的 G⁺ 细菌为乳酸细菌^[9].选择淀粉水解实验阳性的菌株进行淀粉发酵实验.培养基组分如下(g·L⁻¹):可溶性淀粉 8.52;蛋白胨 10;酵母提取物 5;K₂HPO₄ 2;柠檬酸铵 2;MgSO₄·7H₂O 0.58;MnSO₄·H₂O 0.2;pH6.2.菌种使用前在 MRS 淀粉培养基中活化 2 次,接种量为 1%,发酵过程中不控制 pH.在控制 pH 的发酵中,初始淀粉浓度为 40.50g·L⁻¹,以 50% 质量浓度 CaCO₃ 维持 pH 在 5.5~6.0 之间.

1.5 生理生化特征测定

选择淀粉水解能力强的菌株进行表型鉴定,主要实验项目包括形态特征、菌落特征、H₂S 产生、精氨酸产氨、生长温度等,按照文献[8]的方法进行.采用 API 50CHL 培养基及 API 50CH 试验条(Bio-Merieux 公司生产,法国)进行 49 种碳水化合物的发酵实验.发酵葡萄糖产 CO₂ 实验采用“hot-loop”法^[10],不产生 CO₂ 的菌株认为是同型发酵的乳酸细菌^[11].

1.6 16S rDNA 序列测定

以基因组 DNA 为模板,PCR 扩增 16S rDNA,扩增引物采用细菌通用引物,正向引物 BSF8/20: 5'-AG AGTTTGATCCTGGCTCAG-3';反向引物 BSR1541/20: 5'-AAG GAG GTG AAC CAG CCG

CA-3',分别对应于 *E. coli* 16S rRNA 的 8~27bp 和 1541~1522bp. PCR 扩增采用 PE9700(美国应用生物系统公司)进行. PCR 反应体系选用 100μL 反应体系: 10×缓冲液 10μL, 3μL (0.6μmol/L) 引物 BSF8/20, 3μL (0.6μmol/L) 引物 BSR1541/20, 8μL (200μmol/L) dNTP, 0.5μL (5U/μL) *Taq* 酶, DNA 模板 1μL (0.05~1μg/μL), 去离子水 74.5μL.

PCR 扩增条件: 94℃预变性 4min; 94℃变性 1.5min; 55℃退火 1min; 72℃延伸 1.5min,共 30 个循环,72℃延伸 10min. 扩增的 PCR 产物纯化后与 pMD18-T 载体连接,并转化 *E. coli* DH5α,采用质粒抽提试剂盒(美国 MOBIO 公司)提取有 16S rDNA 插入的质粒并测序(美国 AB 公司的 ABI3730 测序仪,引物为 pUC 载体通用引物),序列测定由上海博亚生物技术公司完成.

1.7 厨余垃圾的乳酸发酵

采用垃圾不灭菌的开放式发酵.100g 粉碎后的垃圾加入 150mL 水,装入 500mL 具塞玻璃瓶中,通入高纯氮气造成厌氧环境.接种量为 15%.以 50% 质量浓度 CaCO₃ 调节 pH 为 5.5~6.0.

1.8 分析方法

淀粉含量的测定:培养基中淀粉含量采用碘-淀粉复合物比色法^[12]测定;垃圾中淀粉含量测定参见文献[13].

细胞生物量的测定:在 650nm 下测定样品的吸光度(A₆₅₀),并将样品在 4000r/min 条件下离心 15min,用生理盐水洗 2 次,105℃烘干至恒重,得到 A₆₅₀与干重(DW)的关系曲线,用 DW 表示生物量.

pH 值与乳酸浓度的测定:上清液经 0.45μm 微孔滤膜过滤后,用 pH-3C 型酸度计(上海大普仪器有限公司)测定 pH 值;用 DIONEX 2010i 型离子色谱仪(美国)测定乳酸含量:HPICE-ASI 柱子;电导检测器;淋洗液:辛烷磺酸 1mmol/L;再生液:TBA (OH) (四丁基氢氧化胺);温度 25℃;流速

0.9 mL/min.

2 结果与讨论

2.1 解淀粉乳酸细菌的分离筛选

从厌氧发酵的厨余垃圾中分离到 6 株水解淀粉的乳酸细菌: FH164、DH161、DH162、DH163、DH164、TD27, 其中菌株 DH163 为异型发酵乳酸细菌, 其它为同型发酵菌株. 它们降解淀粉的特性及发酵淀粉生成乳酸的情况如图 1 所示. 从图 1 可以看出, 以上 6 株乳酸细菌对淀粉都有降解能力, 其中菌株 FH164 水解淀粉的能力最强, 生成乳酸的浓度也最高. 当初始淀粉浓度为 $8.5\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 不控制 pH 条件下, 菌株 FH164 在 $38\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下发酵 24h 后, 可以得到 51.9% 的淀粉降解率, 产生 $4.03\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的乳酸.

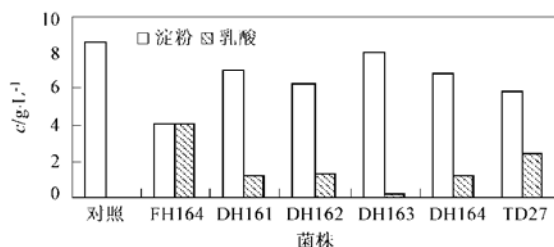


图 1 解淀粉乳酸细菌降解淀粉生成乳酸的结果

Fig. 1 Conversion of soluble starch to LA by ALAB isolated from kitchen waste

能水解淀粉的乳酸细菌在发酵淀粉质的废弃物生产乳酸中具有明显的优势, 可以不必经过糖化阶段(通常需加入淀粉酶使淀粉转化为乳酸细菌能利用的糖), 而直接发酵产生乳酸. 水解淀粉不是乳酸细菌常见的特征, 在《伯杰氏细菌鉴定手册》(第八版)及以前的版本中, 未对乳酸细菌的解淀粉特性进行描述^[13]. 后来才发现某些种的部分菌株具有水解淀粉的特性. 目前已报道的能水解淀粉的乳酸细菌包括: *Streptococcus bovis*, *S. equinus*, *Lactobacillus amylophilus*, *L. amylovorus*, *L. acidophilus*, *L. cellobiosus*, *L. plantarum*, *L. manihotivorans*, *L. fermentum*, *Leuconostoc* 和 *Lactococcus lactis* 中的某些菌株^[5, 6, 14~18], 它们分离自发酵食品, 动物消化道以及其他的自然发酵过程.

2.2 菌株 FH164 发酵淀粉生成乳酸的特性

图 2 为控制 pH 5.5~6.0 条件下, 菌株 FH164 发酵淀粉产生乳酸的情况. 当初始淀粉浓度为 $40.50\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $38\text{ }^{\circ}\text{C}$ 发酵 48h 后, 有 $38.75\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的淀粉被水解, 得到 $32.67\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的乳酸, 淀粉对乳酸的

转化率(乳酸生成量/已水解的淀粉量)为 84.3%, 同时产生 $1.03\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的生物量(干重).

从图 2 可以看出, 随发酵时间的延长, 生物量逐渐增加, 同时乳酸浓度也逐渐增大, 这表明乳酸的产生与菌体细胞的生长繁殖呈正相关. 24h 时生物量达到最大($1.07\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), 随后略有下降. 这是由于代谢产物的不断积累, 细胞的生长进入衰亡期, 细胞自溶后造成生物量的降低. 但 24h 后, 乳酸浓度仍然继续增大, 表现出与细胞生长不相关的特性. 这一结果表明, 即使菌体细胞不再增加, 甚至出现负生长时, 合成乳酸的酶系仍然具有活性. 即: 乳酸的生成既与菌体细胞的生长密切相关, 又能表现出与之不相关的特性, Pintado^[12] 和 Giraud^[17] 的研究都证实了这一点.

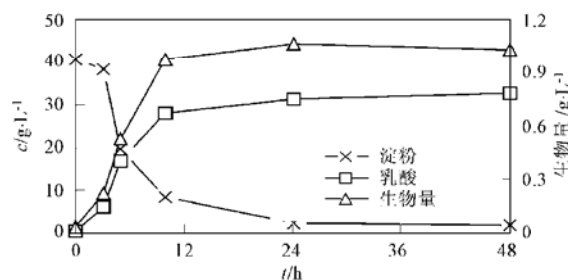


图 2 控制 pH 条件下菌株 FH164 发酵淀粉产乳酸的结果

Fig. 2 LA production from soluble starch with pH controlled at 5.5~6.0 by strain FH164

2.3 菌株 FH164 的鉴定

2.3.1 菌株 FH164 的表型特征

菌株 FH164 为卵圆形 G^+ 菌, 常成对或短链状排列, 细胞大小为 $0.6\sim 0.8\mu\text{m}\times 0.8\sim 1.0\mu\text{m}$. 在 MRS 琼脂上形成乳白色圆形菌落, 直径 1mm 左右(培养 48h). 能在 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 pH4.5 条件下生长, 最适生长温度 $38\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 40\text{ }^{\circ}\text{C}$, 不从精氨酸产 NH_3 , 不产 H_2S . 菌株 FH164 对 49 种不同碳水化合物的利用情况如表 2 所示.

2.3.2 16S rDNA 序列测定结果分析

菌株 FH164 的 16S rDNA 共测得 1445 个碱基, 将测序结果以 BLASTn 软件在 GenBank(www.ncbi.nlm.nih.gov) 中进行相似性检索. 检索和比对结果表明, 与菌株 FH164 最接近的菌株为 *Streptococcus bovis* AY442813, 其相似性达到 99% (1437/1445). 结合菌株 FH164 的形态与生理生化特征可以确定该菌为链球菌属.

2.4 菌株 FH164 对厨余垃圾乳酸发酵的促进作用

表 2 菌株 FH164 碳水化合物发酵结果(培养 48h)
Table 2 Carbohydrate fermentation profiles of the strain FH164 (incubation for 48h)

碳水化合物	反应	碳水化合物	反应	碳水化合物	反应	碳水化合物	反应	碳水化合物	反应
对照	-	D-阿拉伯糖	-	D-核糖	-	L-木糖	-	甘油	-
赤藓醇	-	L-阿拉伯糖	-	D-木糖	-	阿东醇	-	D-半乳糖	+
D-葡萄糖	+	D-果糖	+	D-甘露糖	+	山梨糖	-	D-阿拉伯糖醇	-
卫茅醇	-	肌醇	-	D-甘露醇	-	山梨醇	-	α -甲基-D-甘露糖甙	-
苦杏仁甙	-	熊果甙	-	七叶灵	-	柳醇	+	α -甲基-D-葡萄糖甙	-
D-纤维二糖	+	D-麦芽糖	+	D-乳糖	+	蜜二糖	+	N-乙酰葡萄糖胺	+
蔗糖	+	D-海藻糖	-	菊糖	-	松叁糖	-	葡萄糖酸盐	-
淀粉	+	糖原	+	木糖醇	-	龙胆二糖	-	2-酮基-葡萄糖酸盐	-
D-来苏糖	-	D-塔格糖	-	D-岩糖	-	L-岩糖	-	5-酮基-葡萄糖酸盐	-
L-阿拉伯糖醇	-	D-棉子糖	+	D-松二糖	-	L-鼠李糖	-	β -甲基-D-木糖甙	-

厨余垃圾的自然发酵会产生一定量的乳酸,但乳酸的积累是不稳定的,这与垃圾中的微生物种群特征密切相关^[19].如果乳酸细菌占优势,将有助于乳酸的产生,从而进一步抑制其他杂菌的活性,保证乳酸发酵的顺利进行.

用菌株 FH164 接种厨余垃圾,控制 pH5.5~6.0,38℃厌氧发酵 72h 后,可得到 28.23g·L⁻¹的乳酸(表 3),比不接种的自然发酵(对照)的乳酸浓度高 19.2%.这是因为通过加入菌株 FH164,不但提高了乳酸发酵功能菌群——乳酸细菌的数量,还会促进垃圾中的淀粉水解成更容易被发酵的可溶性糖,起到了一种生物强化的作用.

当不控制 pH 时,无论是接种菌株 FH164 的发酵还是自然发酵,乳酸浓度都明显低于控制 pH 的发酵(表 3).这是由于乳酸发酵是一个产物抑制的过程,产物乳酸不但抑制乳酸细菌的活性,也抑制乳酸的进一步产生^[20].Hofvendahl 和 Hahr-Hagerdal^[21]用乳酸乳球菌(*Lactococcus lactis*)发酵面粉水解液 24h 后,pH 由最初的 5.85 降至 3.2,只有 3.3g·L⁻¹的乳酸产生;如果维持 pH6.0,可得到 96g·L⁻¹的乳酸.以上结果说明,在乳酸发酵过程中,维持乳酸细菌生长的适宜 pH 值对乳酸产量的提高至关重要.

表 3 菌株 FH164 及 pH 调节对厨余垃圾乳酸发酵的影响

Table 3 Effects of strain FH164 and pH adjustment on LA fermentation of kitchen waste

发酵条件		发酵前		发酵 72h 后		
		pH	淀粉 /g·L ⁻¹	pH	淀粉 /g·L ⁻¹	乳酸 /g·L ⁻¹
不控制 pH	FH164	6.12	39.24	3.31	28.07	7.23
	对照	6.12	39.24	3.42	32.59	5.46
pH5.5~6.0	FH164	6.0	39.24	5.76	2.46	28.23
	对照	6.0	39.24	5.82	4.98	23.69

本研究应用基质不灭菌的开放式发酵,接种解

淀粉乳酸细菌,强化厨余垃圾的乳酸发酵.由于在发酵过程中省略了灭菌程序,不但简化了生产工艺,而且在实际生产中可以节约大量的冷却水,不失为一种经济有效的乳酸发酵方式.要将这种乳酸生产方式付诸实践,还有一些问题需要解决,例如复杂的垃圾发酵液中乳酸的提取难度大,产物乳酸的光学纯度低,以及垃圾成分变化对乳酸产量的影响等.

由于腐败菌的增殖,会使厨余垃圾在搜集和处置时产生不良的气味,加大了它对环境 的污染.笔者前期的工作已经证实了强化厨余垃圾的乳酸发酵有利于它在搜集和处理过程中的除臭^[22].因此,利用厨余垃圾发酵生成乳酸,不仅是一种简易和廉价的乳酸生产方式,还有利于消除厨余垃圾的环境污染.

3 结论

(1)从厌氧发酵的厨余垃圾中分离到 6 株能水解淀粉的乳酸细菌,其中菌株 FH164 降解淀粉的能力最强.当初始淀粉浓度为 8.5g·L⁻¹,不控制 pH 值发酵 24h,菌株 FH164 可以得到 51.9% 的淀粉降解率,产生 4.03g·L⁻¹的乳酸.

(2)当初始淀粉浓度为 40.50g·L⁻¹,控制 pH5.5~6.0,发酵 48h 后,菌株 FH164 产生 32.67g·L⁻¹的乳酸.

(3)根据形态、生理生化特征,以及 16S rDNA 序列分析结果,可将菌株 FH164 鉴定为链球菌属.

(4)接种菌株 FH164,采用垃圾不灭菌的开放式发酵,在 pH5.5~6.0 条件下,发酵 72h,可得到 28.23g·L⁻¹的乳酸,比不接种发酵的乳酸浓度高 19.2%.

参考文献:

[1] 耿士锁.高含水率有机垃圾资源化处置对策[J].江苏环境科技,2002,15(2):24~25.

- [2] Shirai Y. Lactic acid production from urban refuses [A]. In: Proc. Asia-Pacific Chemical Reaction Engineering Symposium [C]. Hong Kong, 1999. 383~ 386.
- [3] 王旭明, 汪群慧, 马鸿志, 等. 用乳酸细菌从有机废弃物生产乳酸 [J]. 现代化工, 2003, **23**(11): 50~ 53.
- [4] Hofvendahl K, Hagerdal Hahn B. Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources [J]. Enzyme Microb. Technol., 2000, **26**(2): 87~ 107.
- [5] Muyanja C M B K, Narvhus J A, Treimo J, *et al.* Isolation, characterization and identification of lactic acid bacteria from *bushera*: a Ugandan traditional fermented beverage [J]. Int. J. Food Microbiol., 2002, **80**(2): 201~ 210.
- [6] Vishnu C, Seenayya G, Reddy G. Direct fermentation of various pure and crude starchy substrates to L(+) lactic acid using *Lactobacillus amylophilus* GV6 [J]. World J. Microbiol. Biotechnol., 2002, **18**(5): 429~ 433.
- [7] Man J C, Rogosa M, Sharpe M E. A medium for cultivation of *Lactobacillus* [J]. J. Appl. Bacteriol., 1960, **23**(2): 130~ 135.
- [8] 凌代文, 东秀珠. 乳酸细菌分类鉴定及实验方法 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999.
- [9] Axelsson L. Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology [A]. In: Salminen S, Von Wright A. (Eds). Lactic Acid Bacteria Microbiology and Functional Aspects (2nd) [M]. New York, Basel, Hong Kong: Marcel Dekker, 1998, 1~ 72.
- [10] Sperber W H, Swan J. Hot-loop test for the determination of carbon dioxide production from glucose by lactic acid bacteria [J]. Appl. Environ. Microbiol., 1976, **31**(6): 990~ 991.
- [11] Sujaya I N, Amachi S, Yokota A, *et al.* Identification and characterization of lactic acid bacteria in ragi tape [J]. World J. Microbiol. Biotechnol., 2001, **17**(4): 349~ 357.
- [12] Pintado J, Guyot J P, Raimbault M. Lactic acid production from mussel processing wastes with an amylolytic bacterial strain [J]. Enzyme Microb. Technol., 1999, **24**(8~ 9): 590~ 598.
- [13] 王肇慈. 粮油食品品质分析(第二版) [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2000. 104~ 107.
- [14] Lindgren S, Refai O. Amylolytic lactic acid bacteria in fish silage [J]. J. Appl. Bacteriol., 1984, **57**(2): 221~ 228.
- [15] Nakamura L K. *Lactobacillus amylovorus*, a new starch hydrolyzing species from cattle waste corn fermentation [J]. Int. J. Syst. Bacteriol., 1981, **31**(1): 56~ 63.
- [16] Kandler O, Weiss N. Genus *Lactobacillus* [A]. In: Sneath P H A, Mair N C, Sharpe M E, *et al.* Bergey's Manual of Systematic Bacteriology [M]. Baltimore: Williams and Wilkins, 1986, Vol. 2: 1209~ 1234.
- [17] Giraud E, Brauman A, Keleke S, *et al.* Isolation and physiological study of an amylolytic strain of *Lactobacillus plantatum* [J]. Appl. Microbiol. Biotechnol., 1991, **36**(4): 379~ 383.
- [18] Hardie J M. Genus *Streptococcus* [A]. In: Sneath P H A, Mair N C, Sharpe M E, *et al.* Bergey's Manual of Systematic Bacteriology [M]. Baltimore: Williams and Wilkins, 1986, Vol. 2: 1043~ 1071.
- [19] Sakai K, Murata Y, Yamazumi H, *et al.* Selective proliferation of lactic acid bacteria and accumulation of lactic acid during open fermentation of kitchen refuse with intermittent pH adjustment [J]. Food Sci. Technol. Res., 2000, **6**(2): 140~ 145.
- [20] Iyer P V, Lee Y Y. Product inhibition in simultaneous saccharification and fermentation of cellulose into lactic acid [J]. Biotechnol. Lett., 1999, **21**(5): 371~ 373.
- [21] Hofvendahl K, Hahr-Hagerdal B. L-Lactic acid production from whole wheat flour hydrolysate using strains of *Lactobacilli* and *Lactococci* [J]. Enzyme Microb. Technol., 1997, **20**(4): 301~ 307.
- [22] Wang Q H, Narita J, Xie W M, *et al.* Effects of anaerobic/aerobic incubation and storage temperature on preservation and deodorization of kitchen garbage [J]. Biores. Technol., 2002, **84**(3): 213~ 220.