

苯丙氨酸及苯丙酮酸对 *Lactobacillus* sp. SK007 合成苯乳酸的影响

李兴峰¹, 江波¹, 潘蓓蓓², 沐万孟¹, 张涛¹

(1. 江南大学食品科学与技术国家重点实验室, 江苏 无锡 214122; 2. 中国食品科学技术学会, 北京 100833)

摘要: 从自然发酵泡菜中分离筛选到一株乳杆菌(*Lactobacillus* sp.)SK007, 研究了 *Lactobacillus* sp. SK007 利用苯丙氨酸合成苯乳酸的过程, 结果发现, 在 MRS 培养基中最高可产生 0.55 mmol/L 苯乳酸, 苯丙氨酸剩余 94%, 但检测不到中间产物苯丙酮酸, 这表明苯丙氨酸的转氨反应是苯乳酸合成的限速步骤. 用苯丙酮酸代替苯丙氨酸作为底物可有效突破这一瓶颈, 进一步优化了 *Lactobacillus* sp. SK007 利用苯丙酮酸合成苯乳酸的发酵条件. 当苯丙酮酸为 18.3 mmol/L, 30 °C 静置培养 24 h, 苯乳酸产量可达 10.25 mmol/L.

关键词: 苯乳酸; 苯丙氨酸; 苯丙酮酸; 生物合成; 乳杆菌

中图分类号: TS201 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-606X(2007)06-1202-05

1 前言

苯乳酸(Phenyllactic Acid, PLA), 也称β-苯乳酸或3-苯基乳酸, 是1998年由Dieuleveux等^[1]在干酪中发现的一种新型天然抑菌物质. 现已证明苯乳酸能够抑制多种食源性致病菌, 如致病性大肠杆菌(*Escherichia coli* O157:H7)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、单核细胞增生李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)等, 特别是对引起食物腐败的真菌包括产毒素的真菌有广谱的抑制作用, 其抑菌活性强于常见的化学防腐剂^[2,3], 已成为乳酸菌抗真菌能力的有效标志之一^[4]. 与Nisin(乳链球菌素)相比, 苯乳酸抑菌谱宽、稳定性高、溶解性好, 有望开发为一种新型生物防腐剂应用于食品工业^[2,5].

某些微生物可产生苯乳酸, 如白地霉、丙酸菌和乳酸菌^[3]. 在已报道的微生物菌株中, 仅有一株白地霉能合成苯乳酸, 产量较高(3.61~6.02 mmol/L)^[1], 而丙酸菌和乳酸菌的许多属种可以产生苯乳酸, 但产量低^[5]. 由于乳酸菌是GRAS(Generally Recognized as Safe, 公认为安全)微生物, 千百年来用于食品加工、保藏, 更适于工业化生产, 因此近年来作为乳酸菌来源的苯乳酸成为研究的重点. Lavermicocca等^[6]从酸面团中分离到植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)21B, 这是关于乳酸菌产生苯乳酸的首次报道. 随后, 相继获得了产苯乳酸的乳酸菌菌株^[7,8]. Valerio等^[9]报道了多种乳酸菌能够在MRS (Man-Rogosa-Sharpe)培养基中产生苯乳酸, 但苯乳酸产量取决于菌株个体, 因此大量筛选乳酸菌非常必要.

通常认为苯乳酸是苯丙氨酸的代谢产物, 即苯丙氨酸经转氨反应生成苯丙酮酸, 进而合成苯乳酸. 当前的

研究都是乳酸菌利用苯丙氨酸的降解合成苯乳酸^[10]. 但以苯丙氨酸为底物, 产量低、成本高、发酵周期长, 不适合大规模生产. 本工作从自然发酵泡菜中分离产苯乳酸的乳酸菌, 探讨苯丙氨酸、苯丙酮酸对苯乳酸合成过程的影响, 以苯丙酮酸代替苯丙氨酸可提高苯乳酸产量并缩短发酵时间.

2 材料与amp;方法

2.1 实验材料

2.1.1 菌种

Lactobacillus sp. SK007, 从自然发酵泡菜中分离、筛选获得, 并鉴定.

2.1.2 试剂

苯乳酸、苯丙氨酸购自Sigma公司, 苯丙酮酸购自Fluka公司, 转化用苯丙酮酸由南京工业大学提供, 甲醇为色谱纯, 试剂为分析纯, 其他材料为市售.

2.1.3 培养基

MRS培养基(% w): 葡萄糖 2, 酵母膏 0.5, 蛋白胨 1, 牛肉膏 1, K₂HPO₄ 0.2, 乙酸钠 0.5, 柠檬酸二铵 0.2, MgSO₄·7H₂O 0.058, MnSO₄·4H₂O 0.025, Tween-80 1 mL. pH调至6.2~6.4.

初筛培养基: MRS培养基中添加3% CaCO₃, 2%琼脂.

复筛培养基: 同MRS培养基.

发酵培养基: MRS培养基中添加苯丙氨酸、苯丙酮酸(预先用氨水溶解)后调节pH至6.2~6.4.

2.2 实验方法

2.2.1 苯乳酸产生菌的分离、筛选及鉴定

收稿日期: 2007-01-23, 修回日期: 2007-04-16

基金项目: 国家自然科学基金重点基金资助项目(编号: 20436020)

作者简介: 李兴峰(1979-), 男, 河北省沧州市人, 博士研究生, 研究方向: 食品生物技术; 江波, 通讯联系人, Tel: 0510-83405368, E-mail: bjiang@sytu.edu.cn.

取不同泡菜汁液(自然发酵泡菜, 购于无锡大润发超市)5 mL 接种于 MRS 液体培养基, 30 °C 培养 24 h 进行富集. 取 0.1 mL 适当稀释的菌液倒平板上, 30 °C 培养 18~24 h. 挑取有碳酸钙溶解圈的单菌落划线纯化并镜检. 将初筛获得的乳酸菌接种到复筛培养基, 30 °C 培养 72 h 后检测发酵液中的苯乳酸含量, 得到高产菌株保藏. 高产菌株的 16S rDNA 扩增及序列测定由宝生物工程(大连)有限公司完成, 将测序结果在 NCBI 中进行 BLAST 后提交 GenBank.

2.2.2 发酵过程

从菌种斜面取一环菌体接种于 MRS 培养基, 30 °C 下活化培养 18 h 后, 取 5 环转接 MRS 培养基再次培养 12 h, 将 2 代活化的菌种按 2% 接种量接种于发酵培养基, 静置发酵. 每个样品做 3 个平行.

2.2.3 反相高效液相色谱测定苯乳酸、苯丙酮酸和苯丙氨酸

参考 Valerio 等^[9]提出的方法, 并作适当修改. 即发酵液先经 15000 r/min 离心处理 20 min, 将上清液用微滤膜(0.22 μm)过滤, 进行 HPLC(高效液相色谱仪, Agilent1100)检测. 色谱条件为反相色谱柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm, Agilent Zorbax SB-C₁₈), 流动相为 0.05% 的三氟乙酸/甲醇(A)和 0.05% 的三氟乙酸/水(B)的混合液, 梯度洗脱程序为: 0~20 min A 由 10% 线性变化至 100%, 20~23 min 保持 100% A, 23~25 min A 100% 线性变化至 10%. 流速 1 mL/min, 苯乳酸、苯丙酮酸和苯丙氨酸的检测波长 210 nm, 柱温 30 °C, 进样量 10 μL.

2.2.4 菌体生物量测定

细胞生长的测定采用分光光度法, 菌液适当稀释后 600 nm 下测定吸光值.

3 结果与分析

3.1 泡菜中产苯乳酸的乳酸菌筛选及鉴定

从自然发酵泡菜中分离出 175 株菌, 经初筛、复筛发现, 菌株 SK007 显示出最高的苯乳酸合成能力, 6 h 开始产生, 72 h 达到最高(0.55 mmol/L), 与目前报道的产苯乳酸最高的乳酸菌(*Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* ITMY30)产量(0.57 mmol/L)^[10]接近. 高产菌株经 16S rDNA 序列初步鉴定为 *Lactobacillus*, GenBank 接受号为 DQ534529, 本研究以该菌作为实验菌株.

3.2 苯丙氨酸对 *Lactobacillus* sp. SK007 合成苯乳酸的影响

3.2.1 苯丙氨酸浓度对 *Lactobacillus* sp. SK007 合成苯乳酸的影响

在 SD 培养基中添加苯丙氨酸可以提高 *L. plantarum* ITM21B 合成苯乳酸的产量^[9]. 本研究在 MRS 培养基中加入不同浓度的苯丙氨酸, 30 °C 培养 72 h 后检测苯乳酸的含量. 图 1 表明, 添加苯丙氨酸可以提高苯乳酸的产量, 当苯丙氨酸浓度为 9.15 mmol/L 时, 发酵液中总苯乳酸可达 1.10 mmol/L. 与对照(MRS 培养基, 自身可产生 0.55 mmol/L 苯乳酸)相比增加了 1 倍.

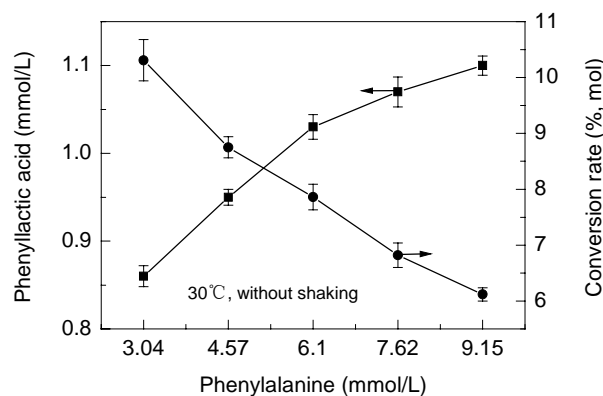


图 1 苯丙氨酸浓度对 *Lactobacillus* sp. SK007 产生苯乳酸的影响

Fig.1 Effect of phenylalanine concentration on phenyllactic acid production by *Lactobacillus* sp. SK007

微生物利用苯丙氨酸代谢合成苯乳酸的代谢途径为苯丙氨酸→苯丙酮酸→苯乳酸, 即苯丙氨酸经两步反应生成苯乳酸(见图 2): (1) 转氨反应, 苯丙氨酸在转氨酶的作用下生成苯丙酮酸; (2) 还原反应, 苯丙酮酸在脱氢酶的作用下进一步生成苯乳酸^[3]. 增加苯丙氨酸浓度使转氨反应向苯丙酮酸方向进行, 从而提高了苯乳酸的产量. 但是随着苯丙氨酸浓度的增加, 苯乳酸含量增加缓慢, 转化率急剧下降. 因此, 进一步考察了以苯丙氨酸为底物合成苯乳酸的过程.

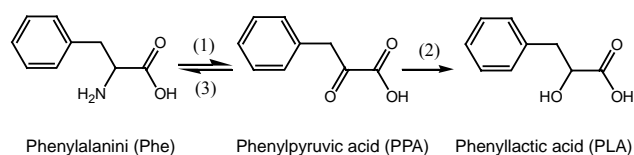


图 2 *Lactobacillus* sp. SK007 利用苯丙酮酸的反应式
Fig.2 Reaction formula for phenylpyruvic acid by *Lactobacillus* sp. SK007

3.2.2 *Lactobacillus* sp. SK007 转化苯丙氨酸合成苯乳酸过程

MRS 培养基中苯丙氨酸浓度为 9.15 mmol/L, 30 °C 培养 96 h, 考察苯乳酸合成过程中苯丙氨酸、苯丙酮酸和苯乳酸的变化. 从表 1 可以看出, *Lactobacillus* sp. SK007 转化苯丙氨酸生成苯乳酸过程中, 苯丙氨酸减少

非常缓慢, 苯乳酸缓慢增加, 检测不到中间产物苯丙酮酸; 培养 72 h 后苯乳酸浓度达到最高, 但苯丙氨酸仍剩余 94%, 这表明只有 6% 的苯丙氨酸发生了转氨反应, 而生成的苯丙酮酸迅速产生苯乳酸. 因此, 苯丙氨酸的转氨反应是苯乳酸合成的限速步骤之一, 这与 Vermeulen 等^[10]的结果相似, *L. sanfranciscensis* DSM20451^T 和 *L. plantarum* TMW1.468 仅能转化 1% 的苯丙氨酸生成苯乳酸. 可能的原因是乳酸菌利用氨基酸合成代谢产物时, 转氨反应受多种因素的影响, 如菌株自身转氨酶的活力及专一性、氨基受体(如 α -酮戊二酸)的浓度等, 导致转氨反应成为限制因素.

表 1 *Lactobacillus* sp. SK007 转化苯丙氨酸生成苯乳酸过程
Table 1 Phenyllactic acid production from phenylalanine by *Lactobacillus* sp. SK007

Time (h)	Phenylalanine ¹⁾ (mmol/L)	Phenylpyruvic acid ¹⁾ (mmol/L)	Phenyllactic acid ¹⁾ (mmol/L)
0	9.15±0.14	0	0
2	9.11±0.11	0	0
4	9.08±0.06	0	0
6	8.97±0.09	0	0.07±0.01 ²⁾
12	8.84±0.15	0	0.17±0.01 ²⁾
24	8.78±0.12 ²⁾	0	0.27±0.01 ²⁾
48	8.67±0.12 ²⁾	0	0.45±0.02 ²⁾
72	8.60±0.08 ²⁾	0	0.55±0.02 ²⁾
96	8.57±0.12 ²⁾	0	0.54±0.02 ²⁾

Note: Conditions: 9.15 mmol/L phenylalanine and 96 h cultivation at 30 °C without shaking. 1) Data were expressed as means±SD ($n=3$), significant difference from that of 0 h fermentation by Student's *t*-test; 2) $P<0.05$.

3.3 苯丙酮酸对 *Lactobacillus* sp. SK007 合成苯乳酸的影响及其代谢途径

苯丙氨酸的转氨反应成为合成苯乳酸的限制因素. 生产上, 苯丙酮酸通常作为底物生成苯丙氨酸进而合成高甜度二肽甜味剂—Aspartame(阿斯巴甜)^[11]. 苯丙酮酸作为原料已实现工业化生产, 我国在该领域具有领先优势^[12]. 因此用苯丙酮酸代替苯丙氨酸作为底物, 研究

表 2 *Lactobacillus* sp. SK007 转化苯丙酮酸生成苯乳酸过程
Table 2 Phenyllactic acid production from phenylpyruvic acid by *Lactobacillus* sp. SK007

Time (h)	Phenylalanine ¹⁾ (mmol/L)	Phenylpyruvic acid ¹⁾ (mmol/L)	Phenyllactic acid ¹⁾ (mmol/L)
0	0	9.15±0.14	0
2	0	8.40±0.13 ²⁾	0.73±0.04 ²⁾
4	0	6.78±0.19 ²⁾	2.35±0.06 ²⁾
6	0.04±0.003 ²⁾	3.79±0.12 ²⁾	5.30±0.10 ²⁾
12	0.08±0.005 ²⁾	1.97±0.08 ²⁾	6.91±0.06 ²⁾
24	0.12±0.007 ²⁾	1.76±0.07 ²⁾	7.00±0.07 ²⁾
48	0.16±0.008 ²⁾	1.56±0.08 ²⁾	6.93±0.14 ²⁾
72	0.18±0.01 ²⁾	1.45±0.06 ²⁾	6.89±0.11 ²⁾
96	0.17±0.01 ²⁾	1.39±0.04 ²⁾	6.88±0.15 ²⁾

Note: Conditions: 9.15 mmol/L phenylpyruvic acid and 96 h cultivation at 30 °C without shaking. 1) Data were expressed as means±SD ($n=3$), significant difference from that of 0 h fermentation by Student's *t*-test; 2) $P<0.05$.

其能否促进苯乳酸的生成, 转化过程见表 2. 从表可见, 苯丙酮酸加入后, 2 h 即有苯乳酸产生, 然后迅速增加, 24 h 时达到最高. 与以苯丙氨酸为底物两步转化相比, 苯乳酸产量提高了 11 倍, 摩尔转化率为 77%. Vermeulen 等^[9]以苯丙氨酸为底物两步合成苯乳酸时, 为了克服转氨瓶颈, 加入 α -酮戊二酸作为氨基受体, 结果苯乳酸浓度增加了约 1.5 倍, 达到 0.6 mmol/L. 本工作结果表明, 以苯丙酮酸为底物一步反应能有效提高苯乳酸产量.

此外, 苯乳酸产生的过程中还有少量的苯丙氨酸生成. 原因可能为苯丙酮酸是中间代谢产物, 在转氨酶的作用下, 以氨水为氨基供体生成苯丙氨酸. 推测乳杆菌利用苯丙酮酸的反应式见图 2. 以加入的苯丙酮酸量为 100%, 大部分苯丙酮酸(约 77%)经还原反应生成苯乳酸, 而小部分(约 2%)参加了转氨反应的逆反应.

3.4 *Lactobacillus* sp. SK007 转化苯丙酮酸产生苯乳酸的发酵条件

3.4.1 苯丙酮酸浓度对 *Lactobacillus* sp. SK007 产生苯乳酸的影响

考察了不同苯丙酮酸浓度对苯乳酸合成的影响, 结果如图 3 所示. 由图可见, 随着底物浓度的增加, 苯乳酸产量提高, 但苯丙酮酸超过 18.3 mmol/L 时, 菌体的生长受到明显抑制, 苯乳酸的产量也开始下降. 因此, 确定苯丙酮酸的浓度为 18.3 mmol/L.

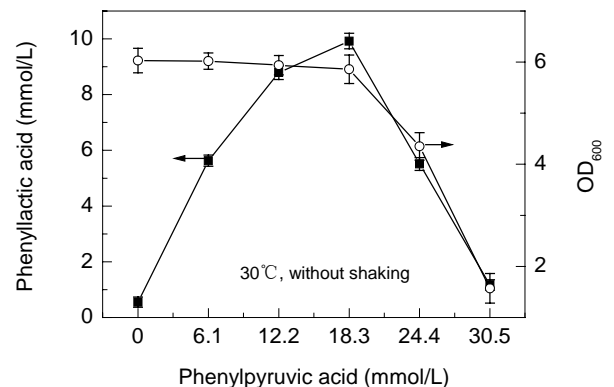


图 3 苯丙酮酸浓度对 *Lactobacillus* sp. SK007 产生苯乳酸的影响

Fig.3 Effect of phenylpyruvic acid concentration on PLA production by *Lactobacillus* sp. SK007

3.4.2 温度对 *Lactobacillus* sp. SK007 产生苯乳酸的影响

温度是影响发酵转化的重要因素, 考虑到乳杆菌的生长特性, 选取 25, 30, 37, 43 °C 作为培养温度, 培养 24 h 后测定苯乳酸及生物量. 结果发现, 30 °C 是 *Lactobacillus* sp. SK007 最适生长温度, 苯乳酸产量也最高; 25 °C 菌体生长缓慢; 37 和 43 °C 时菌体生长和苯乳酸合成均受到抑制, 结果见图 4.

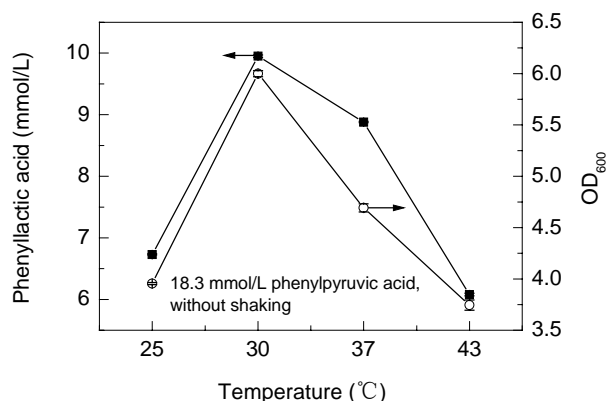


图4 培养温度对菌体生长和苯乳酸产生的影响
Fig.4 Effect of temperature on phenyllactic acid production by *Lactobacillus* sp. SK007

3.4.3 培养方式对 *Lactobacillus* sp. SK007 产生苯乳酸的影响

考察了培养方式对菌体生长和苯乳酸产生的影响. 实验中选取静置发酵、振荡培养(60, 120, 180 r/min), 得到了图5的结果. 由图可见, 在实验室摇瓶条件下, 振荡培养对菌体生长和苯乳酸合成均不利, 静置发酵更适合菌体生长. 此外, 振荡培养增加了副产物的产生, 可能是部分苯丙酮酸经化学氧化脱羧产生了苯甲醛^[10].

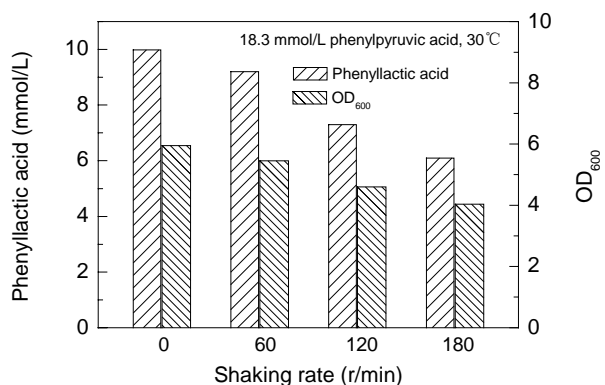


图5 培养方式对菌体生长和苯乳酸合成的影响
Fig.5 Effect of cultivation mode on phenyllactic acid production by *Lactobacillus* sp. SK007

3.4.4 *Lactobacillus* sp. SK007 转化苯丙酮酸合成苯乳酸的发酵过程

在上述优化培养条件下(苯丙酮酸浓度为 18.3 mmol/L, 30°C 静置培养), 考察 *Lactobacillus* sp. SK007 的发酵过程. 从图6可以看出, 2 h 即有苯乳酸产生, 4~12 h 迅速增加, 至 24 h 达到最高的 10.25 mmol/L, 这期间苯丙酮酸迅速转化为苯乳酸, 摩尔转化率为 56%. pH 在 12 h 内降至 4.0, 随后保持在 3.8 左右. 结合生长曲线, 苯乳酸的合成与细胞生长同步, 即在延滞期开始

产生, 在对数期迅速增加, 在稳定期达到高峰. 与以苯丙氨酸为底物相比, 苯乳酸产生高峰时间提前了 48 h. 原因可能是转氨反应在对数期开始, 持续至衰亡期^[9]; 而还原反应与菌体生长同步, 延滞期即开始进行, 稳定期达到平台后不再增加. 详细的苯乳酸合成机理有待于进一步探讨.

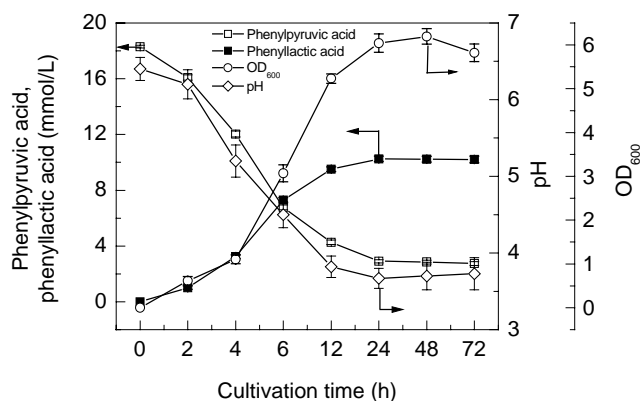


图6 *Lactobacillus* sp. SK007 利用苯丙酮酸合成苯乳酸的发酵过程
Fig.6 Time course of phenyllactic acid synthesis from phenylpyruvic acid by *Lactobacillus* sp. SK007

4 结论

(1) 从泡菜中筛选出一株乳杆菌(*Lactobacillus* sp.) SK007, 可产生 0.55 mmol/L 苯乳酸, 与目前已报道的产苯乳酸最高的乳酸菌产量(0.57 mmol/L)接近.

(2) 研究发现苯丙氨酸的转氨反应是苯乳酸合成的限制因素, 用苯丙酮酸为底物代替苯丙氨酸, 苯乳酸的产量提高了 11 倍、发酵时间缩短 48 h. 当底物浓度为 18.3 mmol/L、于 30°C 静置培养 24 h, *Lactobacillus* sp. SK007 可产生 10.25 mmol/L 的苯乳酸.

(3) 与苯丙氨酸经转氨反应两步生成苯乳酸相比, 以苯丙酮酸为底物一步合成苯乳酸, 在降低发酵成本的同时可获得高苯乳酸产率、缩短发酵周期, 为苯乳酸工业化提供了可行性.

参考文献:

- [1] Dieuleveux V, Van der Pyl D, Chataud J, et al. Purification and Characterization of Anti-*Listeria* Compounds Produced by *Geotrichum candidum* [J]. Appl. Environ. Microbiol., 1998, 64(2): 800-803.
- [2] Dieuleveux V, Lemarinier S, Gueguen M. Antimicrobial Spectrum and Target Site of D-3-Phenyllactic Acid [J]. Int. J. Food Microbiol., 1998, 40(3): 177-183.
- [3] Lavermicocca P, Valerio F, Visconti A. Antifungal Activity of Phenyllactic Acid against Molds Isolated from Bakery Products [J]. Appl. Environ. Microbiol., 2003, 69(1): 634-640.
- [4] Armaforte E, Carri S, Ferri G, et al. High-performance Liquid Chromatography Determination of Phenyllactic Acid in MRS Broth

- [J]. *J. Chromatogr. A.*, 2006, 1131(10): 281–284.
- [5] Schnurer J, Magnusson J. Antifungal Lactic Acid Bacteria as Biopreservatives [J]. *Trends Food Sci. Technol.*, 2005, 16: 70–78.
- [6] Lavermicocca P, Valerio F, Evidente A, et al. Purification and Characterization of Novel Antifungal Compounds from the Sourdough *Lactobacillus plantarum* Strain 21B [J]. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2000, 66(9): 4084–4090.
- [7] Strom K, Sjogren J, Broberg A, et al. *Lactobacillus plantarum* MiLAB 393 Produces the Antifungal Cyclic Dipeptides Cyclo(L-Phe-L-Pro) and Cyclo(L-Phe-*trans*-4-OH-L-Pro) and 3-Phenylactic Acid [J]. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2002, 68(9): 4322–4327.
- [8] Magnusson J, Strom K, Roos S, et al. Broad and Complex Antifungal Activity among Environmental Isolates of Lactic Acid Bacteria [J]. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2003, 219(1): 129–135.
- [9] Valerio F, Lavermicocca P, Pascale M, et al. Production of Phenylactic Acid by Lactic Acid Bacteria: An Approach to the Selection of Strains Contributing to Food Quality and Preservation [J]. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2004, 233(2): 289–295.
- [10] Vermeulen N, Ganzle M G, Vogel R F. Influence of Peptide Supply and Cosubstrates on Phenylalanine Metabolism of *Lactobacillus sanfranciscensis* DSM20451^T and *Lactobacillus plantarum* TMW1.468 [J]. *J. Agric. Food Chem.*, 2006, 54(11): 3832–3839.
- [11] 徐虹, 欧阳平凯. 大肠杆菌 EP8-10 转化苯丙酮酸生成 L-苯丙氨酸的研究 [J]. *微生物学报*, 1999, 39(3): 272–274.
- [12] 周华, 韦萍, 欧阳平凯. 亚苄基海因水解制备苯丙酮酸的动力学 [J]. *化工学报*, 2001, 52(2): 184–187.

Effects of Phenylalanine and Phenylpyruvic Acid on Biosynthesis of Phenylactic Acid with *Lactobacillus* sp. SK007

LI Xing-feng¹, JIANG Bo¹, PAN Bei-lei², MU Wan-meng¹, ZHANG Tao¹

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China;

2. Chinese Institute of Food Science and Technology, Beijing 100833, China)

Abstract: One strain, *Lactobacillus* sp. SK007, which was isolated from Chinese traditional pickles, could produce the highest phenylactic acid (PLA) yield (0.55 mmol/L) in the Man–Rogosa–Sharpe (MRS) medium. The PLA production from phenylalanine (Phe) by *Lactobacillus* sp. SK007 was investigated. It was found that Phe remained 94%, but the intermediate metabolite phenylpyruvic acid (PPA) stayed below the detection level. These results indicated that the transamination of Phe to PPA is a rate-limiting step. The bottleneck was overcome using PPA to replace Phe as substrate. Furthermore, the fermentation conditions of PLA production from PPA by *Lactobacillus* sp. SK007 were optimized. Under the optimal conditions of 18.3 mmol/L PPA, and 24 h cultivation at 30 °C without shaking, PLA concentration reached 10.25 mmol/L.

Key words: phenylactic acid; phenylalanine; phenylpyruvic acid; biosynthesis; *Lactobacillus* sp.