

微生物合成茴香醛的研究进展

林 谦

玉林师范学院生物与制药学院, 广西 玉林

收稿日期: 2021年10月9日; 录用日期: 2021年11月4日; 发布日期: 2021年11月15日

摘 要

八角是著名的香料和中药, 在食品和医药有广泛应用。广西作为八角的主产区, 八角及其提取物茴香油是目前主要的产品形式, 在深加工方面仍然薄弱, 附加值低。茴香油中的主要成分是反式茴脑, 用生物合成法将反式茴脑转化生成的茴香醛可归为天然香料, 对提高广西八角产业的附加值具有重要意义。目前已经发现多种真菌、细菌可以合成茴香醛, 相关的酶主要包括反式茴脑加氧酶、芳基醇氧化酶、染料脱色过氧化物酶、依赖于 Mn^{3+} 的蛋白酶。菌体合成茴香醛的代谢途径、酶的反应机制也有少量报道。总体来看, 虽然已经发现多种能够合成茴香醛的微生物, 但相关的酶、代谢途径研究仍然偏少, 微生物合成茴香醛的产量、时空产率仍然偏低, 国内关于这方面的分子生物学研究尤其缺乏。由于茴香醛对微生物本身具有毒性, 与茴香醛合成相关的酶仍有很多未被发现, 在利用微生物合成茴香醛时, 一方面发掘更多的反式茴脑加氧酶, 实现酶的高效表达及固定化; 另一方面, 建立原位产物分离工艺, 探索高效的茴香醛生物合成与分离方法, 这对八角产业水平的提升具有重要的理论及应用价值。

关键词

茴香醛, 反式茴脑, 反式茴脑加氧酶, 八角茴油, 微生物

Research Progress in Synthesis of *p*-Anisaldehyde by Microorganisms

Qian Lin

College of Biology and Pharmacy, Yulin Normal University, Yulin Guangxi

Received: Oct. 9th, 2021; accepted: Nov. 4th, 2021; published: Nov. 15th, 2021

Abstract

As a well-known spice and traditional Chinese medicine, star anise has been used widely in food and drug industry. In Guangxi, the major production region, star anise and star anise oil are main

product forms with little deep processing and low added value. The main constituent of star anise is *trans*-anethole, and *p*-anisaldehyde produced from *trans*-anethole by biosynthesis can be considered natural flavor, which is important for improvement of added values of Guangxi star anise industry. Several microorganisms have been found to produce *p*-anisaldehyde, and enzymes involved include *trans*-anethole oxygenase, aryl-alcohol oxidase, dye-decolorizing peroxidase, and Mn³⁺-dependent proteinase. The synthesis pathway of *p*-anisaldehyde in microorganisms and enzyme reaction mechanism is also investigated by some researchers. In general, investigations of enzymes and pathways involved in *p*-anisaldehyde production are still inadequate, although some *p*-anisaldehyde producing strains have been isolated. Production yield of *p*-anisaldehyde by microorganisms and space-time productivity are still low, and domestic molecular biology researches on this area are especially rare. In view of the toxicity of *p*-anisaldehyde on microbial cells and little amount of enzymes discovered, to synthesize *p*-anisaldehyde using microbial cells, on the one hand, researchers should explore more *trans*-anethole oxygenases and realize high level expression and immobilization. On the other hand, researchers should establish process of *in situ* product removal for cost-effective biosynthesis of *p*-anisaldehyde, which has important theoretical and practical value in increasing industry level of star anise.

Keywords

p-Anisaldehyde, *Trans*-Anethole, *Trans*-Anethole Oxygenase, Star Anise Oil, Microorganisms

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

茴香醛(*p*-anisaldehyde, 4-methoxybenzaldehyde)又称对茴香醛、对甲氧基苯甲醛、4-甲氧基苯甲醛、大茴香醛,是一种重要的香料,具有强烈的茴芹和山楂香气,芬芳持久,在很多日用化工、食品加工中被广泛用于香精的生产;作为无氰镀锌添加剂的优良光亮剂,它能在较宽的电流范围内提高阳极极化,获得光亮镀层;在医药工业用于制造抗微生物的药物羟氨苄基青霉素等,是抗组织胺药物的中间体。

八角(大茴香,大料,star anise,拉丁学名:*Illicium verum*)是著名的调味香料和中药,在食品和医药有重要应用。广西是八角的主产区,八角及其提取物茴香油是目前主要的产品形式,在深加工方面仍然薄弱,附加值低。茴香油中的主要成分是反式茴脑(在茴香油中的含量为85%~95%),用生物合成法将反式茴脑转化生成的茴香醛可归为天然香料,对提高广西八角产业的附加值具有重要意义。

反式茴脑(*trans*-anethole)又称反式茴香烯、反式对甲氧基丙烯基苯(*trans*-*p*-methoxypropenylbenzene)、反式对丙烯基苯甲醚(*trans*-*p*-propenylanisole),是八角茴香油中的主要成分。自然界存在很多可以反式茴脑为唯一碳源的微生物,它们可将反式茴脑代谢为一系列产物,其中就包括茴香醛。目前市场上的茴香醛大部分产品是用化学法合成,存在分离困难、反应条件苛刻、污染严重等问题。根据欧洲和美国的法律规定,“天然”香料只能从物理过程(从天然原料中萃取)或酶、微生物工艺来制备,因此用微生物、酶来合成的茴香醛可归为更受市场欢迎的“天然”香料[1][2][3],而且不会受到季节、气候的限制。

2. 产茴香醛的真菌

目前文献报道的合成茴香醛的真菌大部分是白腐菌,也有极少量霉菌、酵母菌。担子菌 *Pleurotus* 菌丝体在 MYG (麦芽浸膏,酵母粉,葡萄糖)培养基生长,发酵液中会出现茴香醛。这个培养过程没有涉及

到反式茴脑,一般认为是由芳基醇氧化酶(aryl-alcohol oxidase, AAO)将从莽草酸途径生成的茴香醇氧化生成茴香醛,同时将分子氧转变为过氧化氢[4] [5] [6]。担子菌 *Pleurotus sapidus* 的菌丝体可将反式茴脑转化为茴香醛。经过疏水作用层析与离子交换层析纯化、质谱分析,研究人员鉴定出催化生成茴香醛的酶是染料脱色过氧化物酶(DyP)。Mn²⁺和过氧化氢酶可提高酶的催化活性[7] [8]。

奥地利 Wolfgang Kroutil 课题组筛选出一株白腐担子菌 *Trametes hirsuta* G FCC047, 可以将反式茴脑转化为茴香醛,用细胞裂解液作催化剂的反应得率为 83% [9]。此后,该课题组进行了一系列深入研究,包括底物特异性、金属离子的影响、氧的影响、反应条件的优化,克隆了该酶的基因并在大肠杆菌中表达出了重组酶[10]。研究表明,催化反式茴脑生成茴香醛的酶 AlkCE 是一种依赖于 Mn³⁺的蛋白酶,与 *Trametes versicolor* FP-101664 SS1 的天冬氨酸肽酶 A1 有 90% 的一致性。该酶含 412 个氨基酸残基,在大肠杆菌中表达量极低,SDS-PAGE 无法检出。当用大肠杆菌表达缺失 N-端 84 个氨基酸残基的截短 AlkCE 时,SDS-PAGE 可检测到重组酶条带,但大部分不可溶,可溶部分的重组蛋白可将反式茴脑转变成茴香醛,而且该蛋白会降解自己,降低可溶部分的蛋白量,无法满足动力学研究要求[11] [12] [13]。该酶催化反应的机制不是经典的双加氧酶或单加氧酶机制[14]。该课题组还意外发现辣根过氧化物酶、木质素过氧化物酶、*Coprinus cinereus* 过氧化物酶可催化反式茴脑生成茴香醛,同时生成副产物 1-(4'-甲氧基苯基)丙烷-1,2-二醇[15]。

国内也有一些真菌合成茴香醛的报道,但没有任何一篇分离鉴定出相关的酶。广西大学粟桂娇等筛选出一株黑曲霉 ZJ-9, 可将反式茴脑转化为茴香醛、茴香酸[16]。广西大学李海云分离出多株可降解反式茴脑的真菌,其中 *Lasiodiplodia pseudotheobromae* BJEF32 可利用反式茴脑合成异香兰酸,推测其代谢途径为:反式茴脑、反式茴脑环氧化物、反式茴脑二醇、茴香醛/茴香醇、茴香酸、异香兰酸[17]。苏畅等筛选得到一株转化茴香醛能力较高的菌株 *Saccharomyces cerevisiae* S11, 并初步研究了其培养转化条件,转化 12 h, 茴香醛的产率达到 0.19% [18]。

3. 产茴香醛的细菌

以色列 Eyal Shimoni 等从土壤中筛选到一株以反式茴脑、茴香酸或茴香醇为唯一碳源的细菌 *Arthrobacter aurescens* TA13。反式茴脑可诱导菌体表达出 4-甲氧基苯甲酸 O-脱甲基酶,对羟基苯甲酸 3-羟化酶,原儿茶酸 4,5-双加氧酶。由此作者推测反式茴脑的中间代谢产物有反式茴脑二醇、茴香醛、茴香酸、对羟基苯甲酸、原儿茶酸。通过对突变株的分析,作者推测出反式茴脑的代谢途径及催化每个步骤的酶[19] [20]。

奥地利 Kerstin Steiner 课题组从嗜嗜热厌氧菌 *Thermotoga maritima* 中分离出一个金属蛋白 TM1459, 对苯乙烯衍生物有活性, 可将反式茴脑转化成茴香醛, 转化率为 11% [21] [22]。

韩国光州科技院的 Hor-Gil Hur 研究组从土壤中分离到 *Pseudomonas putida* JYR-1, 该菌能以高浓度的反式茴脑(100 mM)为唯一碳源和能源, 代谢产物包括茴香脑环氧化物、茴香酸和对羟基苯甲酸[23]。推断的代谢途径与 *Arthrobacter aurescens* TA13 的非常相似。该研究组通过构建菌株 JYR-1 的基因组文库、Tn5 突变分析, 分离出一个长度为 1047 nt 的 ORF, 该 ORF 可使大肠杆菌将反式茴脑转变为茴香醛, 证实 ORF 编码的产物为反式茴脑加氧酶(TAO, *trans-anethole oxygenase*)。该酶催化反式茴脑的加氧反应, 需要 NADH 辅酶, 不需要类似辅助蛋白的电子传递黄素还原酶, 因此属于自给自足类型(self-sufficient)的单组分黄素蛋白单加氧酶。与异丁香酚单加氧酶的底物谱相比, TAO 的底物谱较宽, 除了反式茴脑, 还能够催化异丁香酚、O-甲基异丁香酚、异黄樟素分别生成香草醛、藜芦醛、洋茉莉醛[24] [25] [26]。在四种底物中, TAO 对反式茴脑的催化效率最高, 但最高的转换数却是以异丁香酚作底物时得到。FAD 与 NADH 是 TAO 催化反应时需要的辅因子, FMN、NADPH 也可作辅因子, 但催化效率较低。Trp-38、Thr-43、

Tyr-55 可能涉及到 TAO 与 FAD 的结合, 突变体(W38A/T43A/Y55A)的活力仅为野生型的 1.6%, 可见这三个氨基酸残基有关键作用。TAO 催化反式茴脑转变为茴香醛的过程, 很可能经历了环氧化、环氧基的水解、C-C 键的断裂等过程。目前发现的催化环氧化反应的天然黄素蛋白单加氧酶, 大多数都是双组分单加氧酶, 而 TAO 与它们不同, 只是一个组分, 就可催化环氧化反应。与双组分的单加氧酶相比, 自给自足的单加氧酶表现出更高的催化效率。这是国际上首次报道的反式茴脑加氧酶(*trans*-anethole oxygenase, TAO), 其反应如图 1 所示。底物为反式茴脑, 被 TAO 催化变成茴香醛, 同时 NADH 被氧化为 NAD⁺。该研究组还进一步分离出了将茴香醛氧化为茴香酸的茴香醛脱氢酶基因 *paadh*。将 *tao* 基因与 *paadh* 基因在大肠杆菌中共表达, 可从反式茴脑生成茴香酸[21]。

江南大学闻鹏等对 *Pseudomonas putida* JYR-1 的 *tao* 基因(GenBank No: HQ889281)进行定向进化, 不过他们的研究目的不是为了提高茴香醛产量, 而是通过易错 PCR 筛选出突变的 TAO, 得到的突变酶可高效地将反式茴脑转变为茴香醛、将异黄樟素转变为洋茉莉醛[27]。

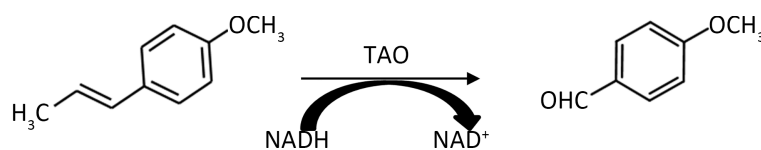


Figure 1. Reaction catalyzed by *trans*-anethole oxygenase
图 1. 反式茴脑加氧酶催化的反应

广西大学武波课题组以反式茴脑为唯一碳源, 筛选得到一株细菌 *Burkholderia* WGB30, 培养 60 h 茴香醛的摩尔转化率达到 5.08% [28]。此外, 他们还筛选到可以催化反式茴脑生成茴香酸的 WGBP9、*Burkholderia* sp. WGB31 以及 *Pseudomonas* sp. AT39 [29] [30] [31], 从 *Pseudomonas* sp. AT39 的 DNA 中克隆了反式茴脑加氧酶基因 *tao*, 再通过质粒导入 AT39 菌体细胞, 显著提高了茴香酸的产量及转化率。广西大学粟桂娇、广西中医药大学张健等也分离出了利用反式茴脑合成茴香酸的假单胞菌[32] [33], 但均未涉及到酶的分离和基因的克隆。虽然这几篇论文关注的重点是茴香酸, 均未提到茴香醛, 但从现有的文献来看, 细菌降解反式茴脑都要经过中间产物茴香醛才能得到茴香酸。

目前文献公开报道的反式茴脑加氧酶均来自 *Pseudomonas* 假单胞菌属, 没有发现其他细菌的反式茴脑加氧酶。鉴于能够将反式茴脑转化生成茴香醛的细菌有多种, 不仅仅局限于假单胞菌属, 因此随着研究的深入, 应该会发现更多其他种类细菌的反式茴脑加氧酶。

4. 展望

从已经发表的文献来看, 虽然发现了多种微生物可以合成茴香醛, 但产量、时空产率都比较低, 无法达到工业生产的要求。反式茴脑、茴香醛对微生物均有较强的毒性[34], 因此在利用微生物合成茴香醛时要设法克服。一方面通过反式茴脑加氧酶基因的克隆与改造, 实现酶的高效表达及固定化; 另一方面, 建立原位产物分离工艺(*in situ* product removal, ISPR), 探索高效的茴香醛生物合成与分离方法, 这对广西八角产业水平的提升具有重要的理论及应用价值。

基金项目

玉林市自然科学基金(玉市科能 20183201), 广西自然科学基金(2020GXNSFAA259015)。

参考文献

[1] Krings, U. and Berger, R.G. (1998) Biotechnological Production of Flavours and Fragrances. *Applied Microbiology*

- and *Biotechnology*, **49**, 1-8. <https://doi.org/10.1007/s002530051129>
- [2] Serra, S., Fuganti, C. and Brenna, E. (2005) Biocatalytic Preparation of Natural Flavours and Fragrances. *Trends in Biotechnology*, **23**, 193-198. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2005.02.003>
- [3] Xu, P., Hua, D. and Ma, C. (2007) Microbial Transformation of Propenylbenzenes for Natural Flavour Production. *Trends in Biotechnology*, **25**, 571-576. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2007.08.011>
- [4] Guillen, F. and Evans, C.S. (1994) Anisaldehyde and Veratraldehyde Acting as Redox Cycling Agents for H₂O₂ Production by *Pleurotus eryngii*. *Applied and Environmental Microbiology*, **60**, 2811-2817. <https://doi.org/10.1128/aem.60.8.2811-2817.1994>
- [5] Gutierrez, A., Caramelo, L., Prieto, A., Martínez, M.J. and Martínez, A.T. (1994) Anisaldehyde Production and Aryl-Alcohol Oxidase and Dehydrogenase Activities in *Ligninolytic fungi* from the Genus *Pleurotus*. *Applied and Environmental Microbiology*, **60**, 1783-1788. <https://doi.org/10.1128/aem.60.6.1783-1788.1994>
- [6] Okamoto, K., Narayama, S., Katsuo, A., Shigematsu, I. and Yanase, H. (2002) Biosynthesis of *p*-Anisaldehyde by the White-Rot Basidiomycete *Pleurotus ostreatus*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **93**, 207-210. [https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(02\)80015-9](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(02)80015-9)
- [7] Krahe, N.K., Berger, R.G. and Ersoy, F. (2020) A DyP-type Peroxidase of *Pleurotus sapidus* with Alkene Cleaving Activity. *Molecules*, **25**, Article No. 1536. <https://doi.org/10.3390/molecules25071536>
- [8] Krahe, N.K., Berger, R.G., Witt, M., Zorn, H., Omarini, A.B. and Ersoy, F. (2021) Monokaryotic *Pleurotus sapidus* Strains with Intraspecific Variability of an Alkene Cleaving DyP-Type Peroxidase Activity as a Result of Gene Mutation and Differential Gene Expression. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, Article No. 1363. <https://doi.org/10.3390/ijms22031363>
- [9] Mang, H., Gross, J., Lara, M., Goessler, C., Schoemaker, H.E., Guebitz, G.M., *et al.* (2006) Biocatalytic Single-Step Alkene Cleavage from Aryl Alkenes: An Enzymatic Equivalent to Reductive Ozonization. *Angewandte Chemie International Edition*, **45**, 5201-5203. <https://doi.org/10.1002/anie.200601574>
- [10] Mang, H., Gross, J., Lara, M., Goessler, C., Schoemaker, H.E., Guebitz, G.M., *et al.* (2007) Optimization of a Biocatalytic Single-Step Alkene Cleavage of Aryl Alkenes. *Tetrahedron*, **63**, 3350-3354. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2007.02.034>
- [11] Lara, M., Mutti, F.G., Glueck, S.M. and Kroutil, W. (2008) Biocatalytic Cleavage of Alkenes with O₂ and *Trametes hirsuta* G FCC 047. *European Journal of Organic Chemistry*, **2008**, 3668-3672. <https://doi.org/10.1002/ejoc.200800261>
- [12] Rajagopalan, A., Seisser, B., Mutti, F.G., Schober, M. and Kroutil, W. (2013) Alkene Cleavage by White-Rot *Trametes hirsuta*: Inducing Enzyme Activity by a Fungicide. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, **90**, 118-122. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2013.02.002>
- [13] Rajagopalan, A., Schober, M., Emmerstorfer, A., Hammerer, L., Migglautsch, A., Seisser, B., *et al.* (2013) Enzymatic Aerobic Alkene Cleavage Catalyzed by a Mn³⁺-Dependent Proteinase A Homologue. *ChemBioChem*, **14**, 2427-2430. <https://doi.org/10.1002/cbic.201300601>
- [14] Lara, M., Mutti, F.G., Glueck, S.M. and Kroutil, W. (2009) Oxidative Enzymatic Alkene Cleavage: Indications for a Non-Classical Enzyme Mechanism. *Journal of American Chemical Society*, **131**, 5368-5369. <https://doi.org/10.1021/ja8097096>
- [15] Mutti, F.G., Lara, M., Kroutil, M. and Kroutil, W. (2010) Ostensible Enzyme Promiscuity: Alkene Cleavage by Peroxidases. *Chemistry*, **16**, 14142-14148. <https://doi.org/10.1002/chem.201002265>
- [16] 粟桂娇, 刘雄民, 陈敏, 李伟光, 马丽. 反相高效液相色谱法同时测定生物转化液中的反式茴脑、茴香醛和茴香酸[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(7): 167-170.
- [17] 李海云. 八角内生真菌的分离及其生物转化苯类香料的研究[D]: [博士学位论文]. 南宁: 广西大学, 2016.
- [18] 苏畅, 胡娟, 易封萍. 微生物转化法合成茴香醛的初步研究[J]. 食品科技, 2011, 36(8): 212-214.
- [19] Shimoni, E., Baasov, T., Ravid, U. and Shoham, Y. (2002) The *trans*-Anethole Degradation Pathway in an *Arthrobacter* sp. *Journal of Biological Chemistry*, **277**, 11866-11872. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109593200>
- [20] Shimoni, E., Baasov, T., Ravid, U. and Shoham, Y. (2003) Biotransformations of Propenylbenzenes by an *Arthrobacter* sp. and Its *t*-Anethole Blocked Mutants. *Journal of Biotechnology*, **105**, 61-70. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(03\)00141-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(03)00141-X)
- [21] Hajnal, I., Faber, K., Schwab, H., Hall, M. and Steiner, K. (2015) Oxidative Alkene Cleavage Catalysed by Manganese-Dependent Cupin TM1459 from *Thermotoga maritima*. *Advanced Synthesis and Catalysis*, **357**, 3309-3316. <https://doi.org/10.1002/adsc.201500608>
- [22] Fink, M., Trunk, S., Hall, M., *et al.* (2016) Engineering of TM1459 from *Thermotoga maritima* for Increased Oxida-

- tive Alkene Cleavage Activity. *Frontiers in Microbiology*, **7**, Article No. 1511. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01511>
- [23] Ryu, J., Seo, J., Lee, Y., Lim, Y., Ahn, J.-H. and Hur, H.-G. (2005) Identification of *Syn*- and *Anti*-Anethole-2,3-Epoxides in the Metabolism of *Trans*-Anethole by the Newly Isolated Bacterium *Pseudomonas putida* JYR-1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 5954-5958. <https://doi.org/10.1021/jf040445x>
- [24] Han, D., Ryu, J.-Y., Kanaly, R.A. and Hur, H.-G. (2012) Isolation of a Gene Responsible for the Oxidation of *Trans*-Anethole to *Para*-Anisaldehyde by *Pseudomonas putida* JYR-1 and Its Expression in *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, **78**, 5238-5246. <https://doi.org/10.1128/AEM.00781-12>
- [25] Han, D., Sadowsky, M.J., Chong, Y. and Hur, H.-G. (2013) Characterization of a Self-Sufficient *Trans*-Anethole Oxygenase from *Pseudomonas putida* JYR-1. *PLoS ONE*, **8**, Article ID: e73350. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073350>
- [26] Han, D., Kurusarttra, S., Ryu, J.-Y., Kanaly, R.A. and Hur, H.-G. (2012) Production of Natural Fragrance Aromatic Acids by Coexpression of *Trans*-Anethole Oxygenase and *p*-Anisaldehyde Dehydrogenase Genes of *Pseudomonas putida* JYR-1 in *Escherichia coli*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **60**, 11972-11979. <https://doi.org/10.1021/jf303531u>
- [27] Wen, P., Wu, D., Zheng, P., Chen, P., Liu, S. and Fu, Y. (2019) Highly Efficient Biosynthesis of Heliotropin by Engineered *Escherichia coli* Coexpressing *Trans*-Anethole Oxygenase and Formate Dehydrogenase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **67**, 14121-14128. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b05382>
- [28] 梁肖仍, 宋张扬, 曾华贺, 申佩弘, 蒋承建, 张敏, 等. 一株转化茴脑生成茴香醛的菌株筛选与鉴定[J]. 食品与生物技术学报, 2011, 30(6): 956-961.
- [29] Shen, P., Song, Z., Zhang, Z., Zeng, H., Tang, X., Jiang, C., et al. (2014) Screening of *Burkholderia* sp. WGB31 Producing Anisic Acid from Anethole and Optimization of Fermentation Conditions. *Journal of Basic Microbiology*, **54**, 1251-1257. <https://doi.org/10.1002/jobm.201400049>
- [30] 王辛艳, 申佩弘, 华燕飞, 李俊芳, 张敏, 武波. 一株转化反式茴香脑产茴香酸菌株的筛选鉴定[J]. 广西师范大学学报(自然科学版), 2016, 34(4): 121-128.
- [31] 蒋琼, 武波, 黄罗冬, 华燕飞, 申佩弘. 假单胞菌 *Pseudomonas* sp. AT39 反式茴脑氧化酶基因(*tao*)对产茴香酸的影响[J]. 工业微生物, 2020, 50(6): 7-11.
- [32] 粟桂娇, 刘雄民, 李伟光, 陈敏, 周永红, 郭驰, 等. 假单胞菌 BT-13 生物催化反式茴脑合成茴香酸的条件优化[J]. 高校化学工程学报, 2011, 25(4): 643-649.
- [33] 张健, 郑景辉, 高程海, 林瑜, 李学坚, 冯玉燕, 等. 茴香酸产生菌发酵条件的优化[J]. 工业微生物, 2021, 51(2): 22-30.
- [34] 郭媛. 八角茴香精油的抗菌机理研究及其在冷却肉保鲜中的应用[D]: [硕士学位论文]. 上海: 上海应用技术学院, 2011.