

Ochrobactrum intermedium 培养条件优化及其对含蜡原油作用效果分析

何洋,董美,杜胜男*,李阔,王卫强

(辽宁石油化工大学石油天然气工程学院,辽宁抚顺 113001)

摘要:利用微生物对原油蜡组分的降解作用,解决含蜡原油开采与输送过程中的蜡沉积问题。从大庆油田受原油污染土壤中筛选出一株 *Ochrobactrum intermedium* H6,考察菌 H6 对含蜡原油的作用效果。实验结果表明,菌 H6 最优培养条件为温度 34℃,培养基初始 pH 为 6。菌 H6 可产生脂肽类生物表面活性剂,在与大庆原油作用 10 d 后,原油蜡含量降低 5.74%,当温度为菌株最优培养温度 34℃时,降黏率达到 49.37%。菌 H6 可对原油蜡组分进行降解,具有在油田清防蜡过程中发挥作用的潜力。

关键词:含蜡原油;中间苍白杆菌;生物表面活性剂;除蜡性能;原油流动性

中图分类号:TE832

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2022)S2-0196-05

DOI:10.16606/j.cnki.issn0253-4320.2022.S2.038

Optimization of culture conditions for *Ochrobactrum intermedium* and analysis on its effect on waxy crude oil

HE Yang, DONG Mei, DU Sheng-nan*, LI Kuo, WANG Wei-qiang

(College of Petroleum Engineering, Liaoning Petrochemical University, Fushun 113001, China)

Abstract:The wax deposition problem happened in the process of exploitation and transportation of waxy crude oil can be solved by means of the degradation of wax components by microorganisms. *Ochrobactrum intermedium* H6 is screened out from the soil contaminated by crude oil in Daqing Oilfield, and the effect of strain H6 on waxy crude oil is investigated. Experimental results show that the optimal culture temperature for strain H6 is 34℃, and the optimal initial pH value of the medium is 6. Strain H6 can produce lipopeptide biosurfactants with good emulsifying properties. After it has treated with Daqing crude oil for 10 days, the wax content of crude oil drops by 5.74%. The viscosity reduction rate of crude oil by Strain H6 reaches 49.37% when the treating temperature is at 34℃, equal to the optimal culture temperature for strain. Strain H6 can degrade the wax components in crude oil, and has the potential to play a role in the process of wax removal and prevention in oil field.

Key words: waxy crude oil; *Ochrobactrum intermedium*; biosurfactant; wax-removing performance; fluidity of crude oil

石蜡是天然存在于原油中的复杂混合物,主要由正构烷烃构成^[1]。含蜡原油含有大量石蜡,具有凝点高、低温流动性差等特点,其物理性质受热历史影响^[2]。当温度低于析蜡温度时,含蜡原油中蜡组分的溶解度降低并开始析出^[3-4]。蜡沉积物附着在管壁导致输送管道流通面积减少^[5],给含蜡原油的开采与输送带来困难。因此,蜡沉积是石油行业中一个复杂并亟待解决的问题。

解决蜡沉积问题的常用方法包括加热、清管、加入化学药剂等,但是这些方法都存在不可忽视的缺点,不适合长久使用^[6-8]。微生物能通过对原油中的石蜡组分进行作用而达到清防蜡目的,研究人员已在自然界中发现了不动杆菌、枯草芽孢杆菌、铜绿假单胞菌等多种具有清防蜡作用的微生物。微生物

清防蜡技术具有高效、环保和作用时间长等优点^[9],已经成为解决蜡沉积问题的重要技术之一,具有广阔的发展前景。

到目前为止,很多国家的研究人员已经对微生物清防蜡技术进行了大量研究,并取得显著成果。付亚荣等^[10]研究从油井采出液中得到的混合菌群对原油的作用效果,实验结果显示微生物菌群与含蜡原油作用 48 h 后,原油的凝固点、黏度和含蜡量有所降低,这说明微生物菌群具有清防蜡作用,后续进行的现场实验更是对这一结果进行了验证。Patel 等^[11]通过实验研究硝酸还原假单胞菌对含蜡原油的作用效果,气相色谱结果表明该菌对二十一烷、二十五烷和三十烷的降解率分别为 100%、79.74% 和 72.50%,是高效的石蜡降解菌。李彦

收稿日期:2022-03-16;修回日期:2022-04-19

基金项目:辽宁省教育厅项目(L2020027)

作者简介:何洋(1996-),女,硕士研究生,研究方向为油气储运,981960312@qq.com;杜胜男(1984-),女,博士,副教授,研究方向为油气输送技术,dusn808@163.com。

等^[12]通过实验发现混合后的铜绿假单胞菌、氧化亚铁杆菌和中间苍白杆菌对原油的降解作用高于单一菌株,混合菌种对原油的降解率在 70% 以上。

综上所述,不同微生物对烃类组分的降解效果有所差异,考虑到微生物对生存条件的要求和实际应用中降解性能的要求,需要发掘更多具有降解石蜡作用的微生物。本文从受原油污染土壤中筛选出一株石蜡降解菌 H6,对该菌的培养条件进行了优化,对菌 H6 所产生表面活性剂进行鉴定和分析,同时对该菌的除蜡降黏作用进行了考察。

1 实验部分

1.1 实验材料

1.1.1 原油和土壤

实验所用原油和筛菌土壤皆取自大庆油田。

1.1.2 培养基

无机盐培养基:纯水 1 000 mL,微量元素 10 mL,尿素 0.5 g, K_2HPO_4 5 g, KH_2PO_4 5 g, NaCl 5 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.25 g, $NaNO_3$ 1 g, $(NH_4)_2SO_4$ 1 g。

LB 固体培养基:纯水 1 000 mL,胰蛋白胨 10 g, 酵母浸粉 5 g,琼脂 15 g,NaCl 10 g。

1.2 实验方法

1.2.1 菌株的筛选及鉴定

将 10 g 受原油污染土壤加入到盛有 200 mL 培养基的锥形瓶内,液体石蜡加入量为 0.5%,在 37℃ 的温度下培养。3 d 后取 6 mL 富集液加入到新鲜的无菌无机盐培养基进行培养,此时培养基中液体石蜡加入量为 1%,直到培养基中出现明显浑浊现象再次进行富集液的转接,而液体石蜡加入量也随之增加,如此反复实验直到液体石蜡加入量达到 5%,取富集液在 LB 固体平板上进行涂布、划线实验,由此分离得到单一的石蜡降解菌。

对筛选得到的石蜡降解菌 H6 进行 16SrDNA 鉴定,将获得的基因序列提交到 NCBI 中,与基因库中的已知序列进行 Blast 比较确定菌株 H6 的种属,使用 MEGA7.0 软件构建菌株的系统发育树。

1.2.2 菌株培养条件优化

(1) 菌株生长条件优化:添加 3 mL 液体石蜡、3 mL 菌 H6 发酵液到 100 mL 无机盐培养基中,在不同温度(28、31、34、37、40、43℃)、不同培养基初始 pH(4、5、6、7、8、9)等条件下对菌株进行培养,通过分析培养期间菌株生长光密度值的变化趋势得到菌株生长条件。

(2) 菌株降解条件优化:取 1 g 切片固体石蜡,

将其添加到无机盐培养基中进行培养,此时培养基内菌接种量为 3%。在不同条件下培养 7 d 后,测定各条件下菌株处理后的固体石蜡质量,采用式(1)计算固体石蜡降解率 $S(\%)$ 。

$$S(\%) = (1 - q_2/q_1) \times 100\% \quad (1)$$

式中: q_1 为初始固体石蜡质量,g; q_2 表示经菌株处理后的固体石蜡质量,g。

1.2.3 细胞表面疏水性测定

细胞表面疏水性(CSH)与细菌对石油烃的降解效果相关,可以通过细菌粘附碳氢化合物(BATH)实验进行研究^[13]。BATH 实验过程如下:将菌液以 3% 的接种量加入到无机盐培养基,同时添加 3 mL 的液体石蜡作为碳源;培养 5 d 后,对细菌发酵液进行高速离心处理,随后去除上清液、收集菌体,并用缓冲液洗涤菌体;将菌体悬浮于缓冲液中,控制其光密度($OD_{600\text{nm}}$)值处于 0.3~0.6 之间,将此光密度值记为 OD_2 ;随后将 5 mL 液体石蜡与等体积的菌悬液混合,振荡 2 min 后在室温下静置 1 h,用移液枪吸取下层菌液,测量其光密度值,记为 OD_1 。用式(2)计算 CSH(%)。

$$CSH(\%) = (1 - OD_1/OD_2) \times 100\% \quad (2)$$

1.2.4 菌株代谢产物分析

将 3 mL 的菌发酵液加入到无机盐培养基中,置于恒温(34℃)培养箱中进行培养 5 d。取 50 mL 菌发酵液,使用离心机在 8 000 r/min 的转速下对其进行 10 min 的高速离心处理,将离心所得无菌上清液用于以下实验:

(1) 排油实验:取高速离心得到的无菌上清液对菌株代谢产物的排油性能进行测定。在直径为 15 cm 的玻璃平板中加入适量纯水,使用移液枪在水面中心滴加 1 mL 经油红染色的液体石蜡,液体石蜡以圆形油膜的形式浮在水面中心,在油膜中心滴加 50 μ L 无菌上清液,观察油膜变化情况。

(2) 乳化实验:从实验组与对照组中分别取出 4 mL 无菌上清液,将其分别与等量液体石蜡混合后,对离心管进行 2 min 的振荡处理,室温下静置 24 h 后观察乳化现象、测量乳化层高度,同时使用式(3)计算乳化系数 $E_{24}(\%)$ 。

$$E_{24}(\%) = (h/H) \times 100\% \quad (3)$$

式中: h 表示乳化层高度,cm; H 表示混合液总高度,cm。

(3) 生物表面活性剂的萃取和鉴定:使用氯仿和甲醇的混合液对无菌上清液进行多次萃取,随后将萃取得到的液体进行烘干处理,收集固体物质。

最后,使用傅里叶变换红外光谱仪对固体物质进行分析,判断物质种类。

1.2.5 菌株对原油的作用情况

将 40 g 原油和 6 mL 菌液一同加入到 200 mL 培养基中培养,在这期间菌 H6 与原油发生了复杂作用,10 d 后对菌株处理前后原油的蜡晶形态、蜡含量和黏度的变化情况进行对比分析。

2 结果与讨论

2.1 菌株鉴定结果

对菌 H6 进行 16SrDNA 测序,将通过 PCR 扩增、扩增产物电泳检测和扩增产物测序得到的菌株序列提交到 NCBI 中进行 Blast 对比,得知菌 H6 与中间苍白杆菌 (*Ochrobactrum intermedium*) 的同源性为 99.49%,使用 MEGA7.0 软件构建的菌株系统发育树见图 1。

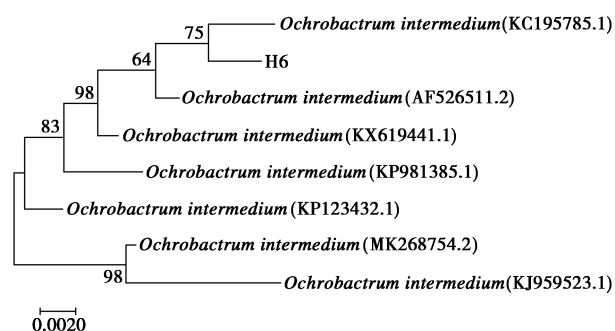
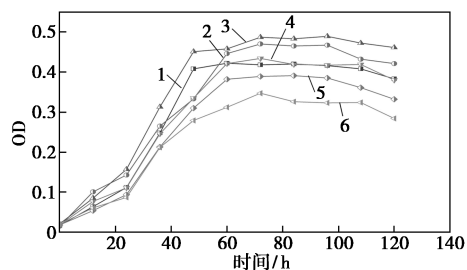


图 1 菌 H6 的系统发育树

2.2 菌株培养条件优化结果

2.2.1 菌株生长条件

温度是影响菌株生长活性的重要因素之一,不同菌株对生长环境温度的要求不同^[14]。图 2 表示菌株在不同温度条件下的生长情况。由图 2 可知,在 28~43℃ 的温度范围内,随温度的升高菌 H6 的生长 OD 值呈现先增大后减小的趋势。在温度为 34℃ 时,菌 H6 的生长状态最好,而温度为 43℃ 时,菌株的生长受到抑制。通过对各温度下菌株生长曲

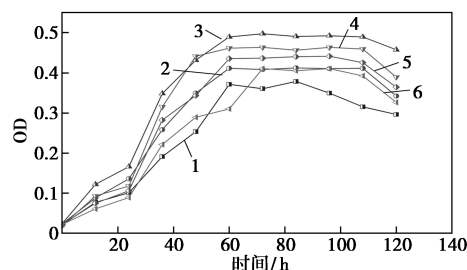


1—28℃;2—31℃;3—34℃;4—37℃;5—40℃;6—43℃

图 2 菌 H6 在不同温度下的生长曲线

线进行分析,可以初步判定菌 H6 是一株中温菌,最优生长温度为 34℃。

菌株的生长受到生存环境酸碱度的制约,pH 可通过影响菌株细胞膜的通透性进而影响菌株的生长活性^[15]。在不同培养基初始 pH 条件下的菌株生长曲线如图 3 所示。对曲线图进行分析可知,该菌对酸性和碱性环境的适应性都较为良好,当培养基初始 pH 为 6 时,菌 H6 的生长活性最好。菌株生长过程中,其培养基的 pH 并不是固定不变的,而在这个动态过程中,根据不同 pH 条件下菌株生长曲线的变化趋势可以确定,培养基初始 pH 为 6 时该菌生长状况最好。



1—pH 4;2—pH 5;3—pH 6;4—pH 7;5—pH 8;6—pH 9

图 3 菌 H6 在不同 pH 条件下的生长曲线

2.2.2 菌株降解固体石蜡的培养条件

图 4 显示不同温度条件下菌 H6 对固体石蜡的降解效率。由图 4 可知,温度在 28~34℃ 范围内,菌 H6 对固体石蜡的降解率呈增长趋势,且在 34℃ 时达到最大,为 33%。温度为 40~43℃ 时,菌株对石蜡的降解率低于 15%。因此,菌株最优生长温度和菌株降解固体石蜡的最优培养温度一致,均为 34℃。

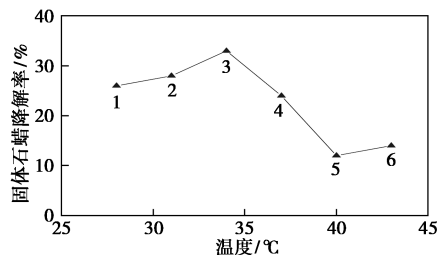


图 4 菌 H6 在不同温度下对固体石蜡的降解效率

图 5 表示培养基初始 pH 在 4~9 之间时,菌 H6 对固体石蜡的降解效率。可以看出,随 pH 的增加,固体石蜡降解率先增大后减小。在培养基初始 pH 为 6 时,菌 H6 对固体石蜡清除率最大,而这与 2.2.1 中分析得到的菌株最优生长 pH 一致,因此在 pH 为 6 的培养条件下,菌 H6 可以进行正常的生命活动并对固体石蜡具有良好的降解效果。

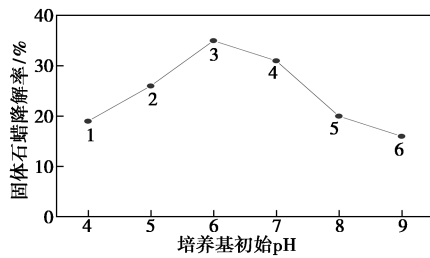


图5 菌 H6 在不同 pH 条件下对固体石蜡的降解效率

2.3 CSH

细菌对碳氢化合物的吸附能力与其对碳氢化合物的降解能力密切相关。使用紫外-可见分光光度计测量得到的 OD_2 为 0.485, OD_1 为 0.302, 通过式(2)计算得到 CSH 为 37.73%。这表明菌株 H6 对烃类底物的粘附性较强, 有助于增强菌株对烃类底物的接触与利用, 提高生物降解率。

2.4 生物表面活性剂分析结果

2.4.1 排油活性

排油圈法是一种可快速判断生物表面活性剂存在与否的方法。滴加对照组离心所得上清液后, 静置观察, 发现油膜并无扩散趋势, 如图 6(a) 所示。而滴加实验组无菌上清液后, 出现如图 6(b) 所示的排油现象, 以上清液滴入点为圆心, 油膜向四周排开, 形成内圈直径为 72.63 mm 的排油圈, 由此可知菌 H6 可生成具有排油能力的生物表面活性剂。生物表面活性剂的排油活性与生物表面活性剂的含量和活性有关。

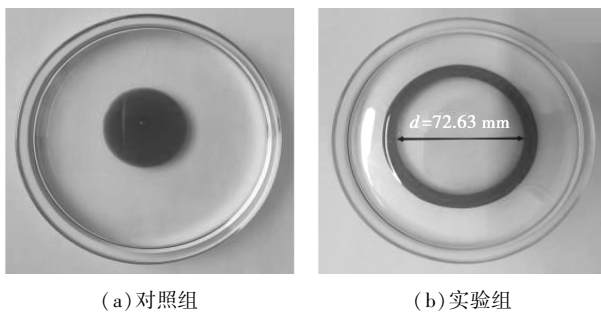


图6 排油实验结果

2.4.2 乳化性能

生物表面活性剂的乳化作用在微生物清防蜡领域十分重要。乳化作用有助于油水乳状液的形成, 增加菌株与原油的接触、作用面积, 降低原油黏度, 提高驱油效率^[16]。静置 24 h 后, 明显看出对照组无乳化现象产生, 而实验组乳化层高度为 3.8 cm, 混合液总高度为 8 cm, 经过式(3)计算得到乳化系数为 47.5%。菌 H6 具有较好的乳化性, 可增加烃类物质在水中的溶解度, 提高石蜡降解效率。

2.4.3 生物表面活性剂的萃取和鉴定结果

生物表面活性剂是一种同时具有极性亲水基团和非极性疏水基团的两亲性化合物, 它可协助微生物进行细胞发育, 促进微生物在非优势生长条件下生存^[17]。同时生物表面活性剂的乳化、增溶、降低体系界面张力等特性^[18], 在微生物作用于原油时起到了良好的促进效果, 在一定程度上提高了微生物的作用效率。萃取物的傅里叶变换红外光谱图如图 7 所示。对图中的各特征峰进行分析可知, 在 3446.64 cm^{-1} 处的特征峰表明 -NH 键的存在; 2924.20 和 2854.15 cm^{-1} 处的特征峰分别表示出现了脂肪族基团 -CH_2 的不对称和对称伸缩振动; 在 1643.59 和 1540.76 cm^{-1} 处的特征峰表明仲酰胺键 (-CO-N) 的存在; 1401.25 cm^{-1} 处的特征峰表示 -CH_3 基团的不对称形变振动; 在 1118.12 cm^{-1} 处的特征峰表明存在 C-O-C 的对称伸缩振动。分析表明菌 H6 可以生成脂肽类生物表面活性剂, 这与 Lyu 等^[19] 和 Kiran 等^[20] 的实验结果一致。

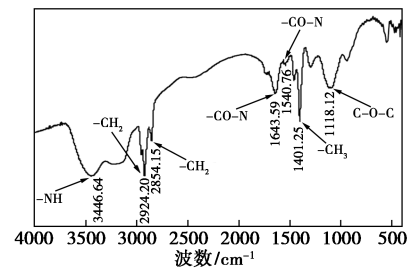


图7 生物表面活性剂的傅里叶红外光谱图

2.5 菌株对原油的作用效果分析

2.5.1 菌株对原油蜡晶形态的影响

含蜡原油内部蜡晶颗粒的微观特征对宏观物性参数具有直接影响^[21]。使用偏光显微镜拍摄得到菌株处理前后原油的蜡晶图像。从图 8 可以看出, 未经菌株处理的原油蜡晶聚集现象更为明显, 而经菌株处理后原油中的蜡晶分布相对稀疏, 尺寸较小, 这说明菌 H6 可以通过降解蜡组分使析出的蜡晶形态发生变化。微生物可以对原油中的蜡组分进行降解, 破坏蜡晶的聚集结构, 降低蜡沉积出现的概率。

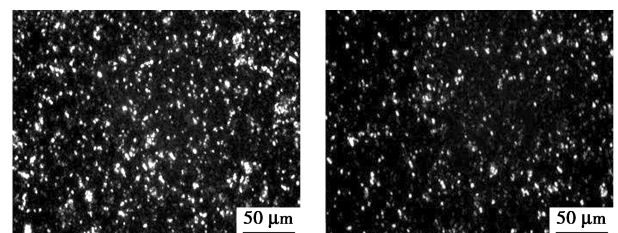


图8 菌株处理前后原油蜡晶形态

2.5.2 菌株对原油蜡组分的作用效果

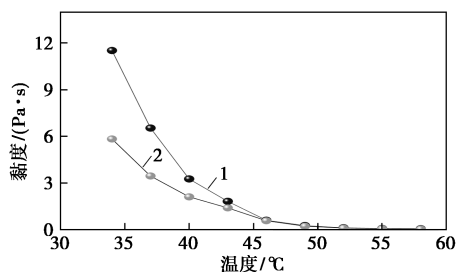
使用差式扫描量热仪对菌株处理前后原油的蜡含量进行测定,原油的析蜡温度、析蜡峰温以及蜡含量列于表 1。分析表中数据可知,经菌 H6 作用后,含蜡原油的析蜡温度降低 0.77℃,原油蜡含量从 18.41%降低至 12.67%,除蜡率达到 31.18%。低温条件下,含蜡原油中的蜡可结晶析出,并相互交联形成具有一定强度的三维网状结构,使原油流动性变差,而菌 H6 可降解原油中蜡组分,具有在现场实验中抑制并清除蜡沉积的潜力。

表 1 菌株处理前后原油参数

原油样品	析蜡 温度/℃	析蜡 峰温/℃	蜡含量/ %	除蜡率/ %
未经菌株处理的原油	50.01	23.06	18.41	—
菌株处理后的原油	49.24	23.90	12.67	31.18

2.5.3 菌株对原油流变性的影响

菌株处理前后原油的黏温曲线如图 9 所示。分析图中曲线可知,在 34~60℃ 的温度范围内,无论是否经过菌株处理,原油的黏度都随温度的增加而呈现持续下降趋势。含蜡原油流动情况受温度影响,高温条件下原油的流动性能良好,而低温条件下经菌株作用后的原油黏度明显下降。当温度处于 34~41℃ 范围内时,含蜡原油的降黏率高于 30%,在温度为菌株最优生长温度 34℃ 时降黏率达到 49.37%。因此可以初步推断菌 H6 可通过对原油蜡组分进行作用,有效降低原油黏度。石蜡降解菌株可以将蜡组分作为碳源进行生长代谢,使原油的蜡含量减少,降低低温条件下蜡组分与原油其他组分共同沉积的可能性,从而实现改善含蜡原油低温流动性能的目的,提高含蜡原油开采与输送效率。



1—处理前;2—处理后

图 9 菌株处理前后原油的黏温曲线

3 结论

(1) 从大庆油田受原油污染土壤中筛选出一株

Ochrobactrum intermedium H6, 通过单因素实验发现菌株最优生长条件和降解固体石蜡的培养条件相同,温度与培养基初始 pH 分别为 34℃ 和 6。

(2) 菌 H6 的 CSH 达到 37.73%, 乳化系数为 47.5%。菌 H6 产生的脂肽类生物表面活性剂在原油蜡组分降解过程中可起到良好的辅助作用。

(3) 菌 H6 对原油作用 10 d 后,原油蜡含量降低 5.74%,析蜡温度降低 0.77℃,在 34~41℃ 的温度范围内原油黏度的降低幅度更为显著。菌 H6 可有效降解含蜡原油中蜡组分,改善原油的流动性能,有望在现场应用中解决有氧条件下的蜡沉积问题。

参考文献

- [1] Fan K F, Huang Q Y, Li S. Determination of the optimizing operating procedure for DSC test of wax-solvent samples with narrow and sharp wax peak and error analysis of data reliability[J]. J Therm Anal Calorim, 2016, 126(3): 1713-1725.
- [2] Zhao Y S, Paso K, Sjöblom J. Thermal behavior and solid fraction dependent gel strength model of waxy oils[J]. J Therm Anal Calorim, 2014, 117(1): 403-411.
- [3] Yang F, Zhao Y S, Sjöblom J, et al. Polymeric wax inhibitors and pour point depressants for waxy crude oils: A critical review[J]. J Dispersion Sci Technol, 2015, 36(2): 213-225.
- [4] Yao B, Li C X, Yang F, et al. Organically modified nano-clay facilitates pour point depressing activity of polyoctadecylacrylate[J]. Fuel, 2016, 166: 96-105.
- [5] Yu X, Gao Y H, Cai D J, et al. Wax deposition law under a gas-liquid bubbly flow pattern[J]. ACS Omega, 2021, 6(36): 23015-23022.
- [6] Zhang Y L, Liu Z, Liu T. Isolation and characterization of a novel paraffin wax-degrading bacterium, *Pseudomonas* sp strain PW-1, from petroleum-contaminated sites[J]. Genet Mol Res, 2016, 15(2): 15028021.
- [7] Sood N, Lal B. Isolation and characterization of a potential paraffin-wax degrading thermophilic bacterial strain *Geobacillus kaustophilus* TERI NSM for application in oil wells with paraffin deposition problems[J]. Chemosphere, 2007, 70(8): 1445-1451.
- [8] 石凯. 微生物清防蜡技术在 SD 油田的应用[J]. 石化技术, 2019, 26(11): 42-43.
- [9] Sakthipriya N, Doble M, Sangwai J S. Fast degradation and viscosity reduction of waxy crude oil and model waxy crude oil using *Bacillus subtilis*[J]. J Pet Sci Eng, 2015, 134: 158-166.
- [10] 付亚荣, 翟胜强, 付森, 等. 微生物清蜡降黏的边零区块油井节能开采[J]. 石油石化节能, 2015, 5(2): 13-14.
- [11] Patel D D, Bhaskaran L. Study on paraffin wax degrading ability of *Pseudomonas nitroreducens* isolated from oil wells of Gujarat, India[J]. Pet Sci Technol, 2018, 36(8): 583-590.
- [12] 李彦, 李红, 王帆, 等. 高效石油降解菌群的构建及其耐盐性能研究[J]. 现代化工, 2021, 41(5): 114-119.

(下转第 204 页)

3 结论

利用微通道反应器来缩短反应时间和保证反应安全,使用绿色氧化剂双氧水进行氧化,解决涉氯行业中的盐酸过剩问题,并且甲苯氯化后得到的一氯甲苯作为精细有机化工原料,应用广泛。

(1)以甲苯为原料、盐酸为氯源、双氧水为绿色氧化剂,在碳化硅微通道反应器中对甲苯进行氧氯化得到氯代甲苯。探究了微通道连续合成工艺条件,用气相色谱定量分析确定了最佳工艺参数,当反应温度为 75℃、 $n(\text{甲苯}):n(\text{双氧水}):n(\text{盐酸})$ 为 1:7:3、停留时间为 3.5 min 时,一氯代甲苯的收率达到 71%。反应条件相对温和,符合国家对涉氯行业安全以及环保等要求。

(2)与常规的间歇反应相比,微通道原料消耗少、反应时间短、装置效率较高、操作安全性高。本方法为氯碱工业中解决副产盐酸问题提供了新的思路,可利用盐酸/双氧水体系对其他芳香烃化合物进行氧氯化,制备附加值高的有机氯化物。

参考文献

- [1] Lakshmanan S, Murugesan P. The chlor-alkali process: Work in progress [J]. *Energy Environ Sci*, 2014, 16(2): 225–234.
- [2] Han F, Li W, Yu F, *et al.* Industrial metabolism of chlorine: A case study of a chlor-alkali industrial chain [J]. *Environ Sci Pollut Res*, 2014, 21(9): 5810–5817.
- [3] Reddy U V, Cheedipudi V L, Bankupalli S, *et al.* Recovery of chlorine from anhydrous hydrogen chloride [J]. *Int J Chem Reactor Eng*, 2008, 6(1): 77–90.
- [4] Wang Y, Liu Y, Wiley D, *et al.* Recent advances in electrocatalytic chloride oxidation for chlorine gas production [J]. *J Mater Chem A*, 2021, 9(35): 18974–18993.
- [5] Butler A, Walker J V. Marine haloperoxidases [J]. *Chem Rev*, 1993, 93(5): 1937–1944.
- [6] Barhate N B, Gajare A S, Wakharkar R D, *et al.* Simple and efficient chlorination and bromination of aromatic compounds with aqueous TBHP (or H_2O_2) and a hydrohalic acid [J]. *Tetrahedron Lett*, 1998, 39(35): 6349–6350.
- [7] Cantillo D, Kappe C O. Halogenation of organic compounds using continuous flow and microreactor technology [J]. *React Chem Eng*, 2017, 2(1): 7–19.
- [8] Borukhova S, Noel T, Hessel V. Hydrogen chloride gas in solvent-free continuous conversion of alcohols to chlorides in microflow [J]. *Org Process Res Dev*, 2016, 20(2): 568–573.
- [9] Wu K J, Nappo V, Kuhn S. Hydrodynamic study of single- and two-phase flow in an advanced-flow reactor [J]. *Ind Eng Chem Res*, 2015, 54(30): 7554–7564.
- [10] Elvira K S, Solvas X C, Wootton R C R, *et al.* The past, present and potential for microfluidic reactor technology in chemical synthesis [J]. *Nat Chem*, 2013, 5(11): 905–915.
- [11] Gutmann B, Cantillo D, Kappe C O. Continuous-flow technology—A tool for the safe manufacturing of active pharmaceutical ingredients [J]. *Angew Chem Int Ed*, 2015, 54(23): 6688–6728.
- [12] Kockmann N, Thenée P, Fleischer-Trebes C, *et al.* Safety assessment in development and operation of modular continuous-flow processes [J]. *React Chem Eng*, 2017, 2(3): 258–280.
- [13] 梁诚. 氯甲苯的合成技术与生产应用概况 [J]. *江苏化工*, 2003, 31(1): 11–14.
- [14] 吕咏梅, 安立杰. 氯甲苯合成技术进展与应用 [J]. *氯碱工业*, 2005, (8): 15–22.
- [15] 石绍军, 吴卫. 氯甲苯的生产技术及应用 [J]. *化工设计通讯*, 2006, (4): 56–58.
- [16] 杨洲, 潘巧, 李菁, 等. 盐酸双氧水体系合成氯代甲苯 [J]. *应用化工*, 2013, 42(12): 2219–2221.
- [17] Terent'ev A O, Khodykin S V, Krylov I B, *et al.* A convenient synthesis of 2,2-dibromo-1-arylethanones by bromination of 1-arylethanones with the H_2O_2 -HBr system [J]. *ChemInform*, 2006, 37(7): 1087–1092.
- [18] Ben-Daniel R, De Visser S P, Shaik S, *et al.* Electrophilic aromatic chlorination and haloperoxidation of chloride catalyzed by polyfluorinated alcohols: A new manifestation of template catalysis [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2003, 125(40): 12116–12117. ■
- [18] 张鑫, 时冠兰. 脂肽类生物表面活性剂结构鉴定及驱油性能 [J]. *精细石油化工进展*, 2021, 22(3): 43–47.
- [19] Lyu Y H, Zhang T T, Dou B J, *et al.* A lipopeptide biosurfactant from *Bacillus* sp. Lv13 and their combined effects on biodesulfurization of dibenzothiophene [J]. *RSC Adv*, 2018, 8(68): 38787–38791.
- [20] Kiran G S, Priyadharsini S, Sajayan A, *et al.* Production of lipopeptide biosurfactant by a marine *Nesterenkonia* sp. and its application in food industry [J]. *Front Microbiol*, 2017, 8: 1–11.
- [21] 陈雷, 仝滢泽, 刘刚, 等. 压力作用下油品蜡晶颗粒微观特征 [J]. *中国石油大学学报(自然科学版)*, 2021, 45(3): 127–132. ■

(上接第 200 页)

- [13] Subbiahdoss G, Reimhult E. Biofilm formation at oil-water interfaces is not a simple function of bacterial hydrophobicity [J]. *Colloids Surf B*, 2020, 194: 111163.
- [14] Sakthipriya N, Doble M, Sangwai J S. Enhanced microbial degradation of waxy crude oil: A review on current status and future perspective [J]. *Int J Oil Gas Coal Technol*, 2017, 16(2): 130–165.
- [15] 冯宪明, 马火宝, 杜胜男, 等. 中间苍白杆菌对含蜡原油除蜡降黏效果分析 [J]. *精细化工*, 2020, 37(9): 1933–1939.
- [16] 王萍. 微生物乳化原油的机理及影响因素研究 [D]. 廊坊: 中国科学院研究生院(渗流流体力学研究所), 2013.
- [17] Vieira I M M, Santos B L P, Rezene D S, *et al.* An overview of current research and developments in biosurfactants [J]. *J Ind Eng*