



(10) 申请公布号 CN 116897192 A

(43) 申请公布日 2023.10.17

(21) 申请号 202180044735.2

(22) 申请日 2021.05.07

(30) 优先权数据

63/021,494 2020.05.07 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.12.22

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2021/031431 2021.05.07

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/226552 EN 2021.11.11

(71) 申请人 活墨水技术有限责任公司

地址 美国科罗拉多

(72) 发明人 A·纳加拉詹 F·戴维斯

S·富布赖特 S·阿尔贝斯

K·金

(74) 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

72002

专利代理师 过晓东

(51) Int.Cl.

G09C 1/52 (2006.01)

权利要求书2页 说明书17页 附图8页

(54) 发明名称

生物衍生的炭黑替代物及其制备方法

(57) 摘要

公开一种由微生物生物质制备炭黑颜料的方法。在某些方面,所述方法包括:提供在水性溶剂中包含多个微生物细胞的微生物生物质溶液;向所述微生物生物质溶液中加入第一可溶性离子,由此使所述多个微生物细胞成核;向所述微生物生物质溶液中加入第二可溶性离子,由此在所述多个微生物细胞中和/或在所述多个微生物细胞上引发晶体形成,形成多个晶体包覆的微生物细胞,其中所述第一可溶性离子的电荷与所述第二可溶性离子的电荷相反,并且其中所述晶体是由第一离子和第二离子的沉淀形成的;以及对所述多个晶体包覆的微生物细胞进行热处理以形成炭化生物质;洗涤所述炭化生物质以形成微生物炭。

1. 一种由微生物生物质制备炭黑颜料的方法,包括:
提供在水性溶剂中包含多个微生物细胞的微生物生物质溶液;
向所述微生物生物质溶液中加入第一可溶性离子,由此使所述多个微生物细胞成核;
向所述微生物生物质溶液中加入第二可溶性离子,由此在所述多个微生物细胞中和/或在所述多个微生物细胞上引发晶体形成,形成多个晶体包覆的微生物细胞,其中所述第一可溶性离子的电荷与所述第二可溶性离子的电荷相反,并且其中所述晶体是由所述第一离子和第二离子的沉淀形成的;以及
对所述多个晶体包覆的微生物细胞进行热处理以形成炭化生物质;
洗涤所述炭化生物质以形成微生物炭。
2. 根据权利要求1所述的方法,其中所述第一离子是阴离子,而所述第二离子是阳离子。
3. 根据权利要求1所述的方法,其中所述第一离子是阳离子,而所述第二离子是阴离子。
4. 根据权利要求3所述的方法,其中所述阳离子是钙,而所述阴离子是磷酸根。
5. 根据权利要求1所述的方法,其中所述第一离子和所述第二离子以化学计量比存在。
6. 根据权利要求1所述的方法,其中所述成核步骤进一步包括通过将所述第一离子与多个微生物细胞孵育约5分钟至约2小时来进行成核孵育。
7. 根据权利要求6所述的方法,其中所述孵育步骤进一步包括将所述微生物生物质溶液加热至约32°C至约65°C的温度。
8. 根据权利要求6所述的方法,其中所述孵育步骤进一步包括搅拌所述微生物生物质溶液。
9. 根据权利要求8所述的方法,其中所述搅拌步骤是通过以约2000RPM剪切混合所述微生物生物质溶液约两分钟来进行的。
10. 根据权利要求1所述的方法,其中所述晶体形成步骤进一步包括通过将所述成核的微生物生物质溶液与所述第二离子孵育约5分钟至约2小时的时间进行结晶孵育。
11. 根据权利要求1所述的方法,其中所述多个晶体包覆的微生物具有细胞表面晶体形成和/或其中所述多个晶体包覆的微生物具有细胞胞内晶体形成。
12. 根据权利要求1所述的方法,其中所述微生物生物质包括多个原核细胞,其中所述原核细胞的平均细胞尺寸低于约50 μm 。
13. 根据权利要求1所述的方法,其中在所述热处理步骤之前,所述微生物生物质在约30°C至约300°C的温度进行干燥,并且其中所述微生物生物质被干燥至水分含量降低至低于约15%。
14. 根据权利要求1所述的方法,其中进行所述热处理步骤直至所述炭化生物质包含约20%至约70%的固定碳。
15. 根据权利要求1所述的方法,其中进行所述热处理步骤直至氧的浓度为约10%至15%。
16. 根据权利要求1所述的方法,其中所述炭化生物质的洗涤是酸洗,其中所述酸洗包括在约1分钟至约1小时的时间间隔内将所述炭化生物质的pH降低至低于约2。
17. 根据权利要求16所述的方法,进一步包括在所述酸洗之后在水中洗涤所述炭化生

物质,并且其中所述酸洗和随后的水洗产生多孔微生物炭。

18. 根据权利要求1所述的方法,进一步包括在洗涤所述微生物炭之后的研磨步骤,其中进行所述研磨步骤直至磨碎的微生物炭的平均粒径小于约10微米。

19. 根据权利要求1所述的方法,其中所制备的炭黑颜料相对于具有相当的热处理但未经过晶体形成的微生物生物质具有增加的流动性。

20. 根据权利要求1所述的方法,其中所制备的炭黑颜料相对于具有相当的热处理但未经过晶体形成的微生物生物质具有增加的孔隙率和/或所制备的炭黑颜料相对于具有相当的热处理但未经过晶体形成的微生物生物质具有增加的黑度。

21. 一种由微生物生物质制备工程化炭黑颜料的方法,包括:

对所述微生物生物质进行热处理,其中所述微生物生物质包括多个晶体包覆的微生物细胞,以形成炭化生物质;以及

所述炭化生物质的洗涤是酸洗,其中所述洗涤步骤包括在约1分钟至约1小时的时间间隔内将所述炭化生物质的pH降低至低于约2,以形成微生物炭。

22. 一种工程化炭黑颜料,其包含:衍生自粒度为约0.01微米至约100微米的微生物生物质的炭化生物质。

生物衍生的炭黑替代物及其制备方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2020年5月7日提交的名称为“生物衍生的炭黑替代物及其制备方法 (Biologically-derived carbon black alternative and method of making the same)”的第63/021,494号美国临时申请的优先权,其依据35 U.S.C.§119(e)通过引用整体并入本文。

技术领域

[0003] 所公开的技术总体上涉及由微生物生物质制备颜料和着色剂。

背景技术

[0004] 颜料和着色剂代表着一个每年超过300亿美元的产业。然而这些组合物的生产与可能损害人类健康和环境的有毒生物制品的产生有关。先前由无毒生物质制备颜料的尝试在其产生足够小的粒度以适用于大多数工业应用的能力方面受到限制。因此,本领域需要一种由适于工业需要的可持续来源制备颜料/着色剂的方法。

发明内容

[0005] 在此公开一种由微生物生物质制备炭黑颜料的方法。在某些方面,该方法包括:提供在水性溶剂中具有多个微生物细胞的微生物生物质溶液;向所述微生物生物质溶液中加入第一可溶性离子,由此使所述多个微生物细胞成核;向所述微生物生物质溶液中加入第二可溶性离子,由此在所述多个微生物细胞中和/或在所述多个微生物细胞上引发晶体形成,形成多个晶体包覆的微生物细胞,其中所述第一可溶性离子的电荷与所述第二可溶性离子的电荷相反,并且其中所述晶体由该第一离子和第二离子的沉淀形成;以及对所述多个晶体包覆的微生物细胞进行热处理以形成炭化生物质;洗涤所述炭化生物质以形成微生物炭(microbechar)。

[0006] 在某些实施方案中,第一离子是阴离子,而第二离子是阳离子。在进一步的实施方案中,第一离子是阳离子,而第二离子是阴离子。在这些实施方案的示例性实施方式中,阳离子是钙,而阴离子是磷酸盐。根据某些实施方案,第一离子和第二离子以化学计量比存在。

[0007] 在某些方面,成核步骤可包括通过将第一离子与多个微生物细胞孵育约5分钟至约2小时来进行成核孵育。孵育步骤还可以包括将微生物生物质溶液加热至约32°C至约65°C的温度。孵育步骤还可以包括搅拌微生物生物质溶液。在某些实施方案中,搅拌步骤是通过以约2000rpm剪切所述混合微生物生物质溶液约两分钟来进行的。

[0008] 在某些实施方案中,晶体形成步骤还可以包括结晶孵育。在某些实施方式中,该步骤通过将微生物生物质溶液孵育约5分钟至约2小时来进行。在某些实施方式中,晶体形成步骤导致具有细胞表面晶体形成和/或细胞内晶体形成的多个晶体包覆的微生物的形成。

[0009] 在某些实施方案中,微生物生物质包括多个原核细胞,其中所述原核细胞的平均

细胞尺寸低于约50 μm 。

[0010] 在某些实施方案中,在热处理步骤之前,微生物生物质在约30 $^{\circ}\text{C}$ 至约300 $^{\circ}\text{C}$ 的温度下干燥,并且干燥微生物生物质直至水分含量降低至低于约15%。在某些实施方式中,进行热处理步骤直到炭化生物质具有约20%至约70%的量的固定碳。在进一步的实施方式中,进行热处理步骤直到氧的浓度为约10%至15%。

[0011] 在某些实施方案中,炭化生物质的洗涤是酸洗。在示例性实施方式中,酸洗是通过将炭化生物质在pH低于约2的溶液中洗涤来进行的。在某些实施方式中,该洗涤以约1分钟至约1小时的时间间隔进行。在示例性实施方案中,酸洗和随后的水洗产生多孔微生物炭。

[0012] 根据某些实施方案,在酸洗步骤之后,对微生物炭进行研磨步骤,以形成磨碎的微生物炭。在某些实施方式中,进行研磨步骤直到磨碎的微生物炭的平均粒径小于约10 μm 。

[0013] 在某些方面,通过本公开的方法制备的炭黑颜料相对于具有相当的热处理但未经过晶体形成步骤处理的微生物生物质具有增加的流动性。此外,所制备的炭黑颜料相对于具有相当的热处理但未经过晶体形成步骤处理的微生物生物质具有增加的孔隙率。在进一步的实施方案中,所制备的炭黑颜料相对于具有相当的热处理但未经过晶体形成步骤处理的微生物生物质具有增加的黑度(jetness)。

[0014] 在另外的方面,公开一种由微生物生物质制备工程化炭黑颜料的方法。该方法还包括对所述微生物生物质进行热处理,其中所述微生物生物质可以包括多个晶体包覆的微生物细胞以形成炭化生物质;并且炭化生物质的洗涤是酸洗,其中洗涤步骤可以包括在大约1分钟到大约1小时的时间间隔内将炭化生物质的pH降低到低于约2以形成微生物炭。

[0015] 在另一方面,公开一种工程化炭黑颜料,其可包括:粒度在约0.01微米至约100微米之间的衍生自微生物生物质的炭化生物质。

[0016] 虽然公开了多个实施方案,但是根据以下具体实施方式,本公开的其他实施方案对本领域技术人员而言将变得显而易见,具体实施方式示出并描述了所公开的设备、系统和方法的说明性实施方案。如将认识到的,所公开的设备、系统和方法能够在各种明显的方面进行修改,所有这些都脱离本公开的精神和范围。因此,附图和具体实施方式应被视为本质上是说明性的而非限制性的。

附图说明

[0017] 图1A是根据一个实施方案在炭化之前已经用可溶性阴离子/阳离子混合物处理的炭化螺旋藻(*Spirulina*)生物质(节旋藻属*Arthrospira*)的扫描电子显微照片(SEM)图像。

[0018] 图1B是根据一个实施方案在炭化之前洗涤了所有盐的炭化螺旋藻生物质(节旋藻属*Arthrospira*)的SEM图像。

[0019] 图1C是根据一个实施方案的炭化螺旋藻生物质(节旋藻属*Arthrospira*)的SEM图像,其中在炭化之前用可溶性阴离子/阳离子混合物使经洗涤且未盐化的生物质进行再处理。

[0020] 图2A是根据一个实施方案纯的且未处理的炭化螺旋藻生物质(节旋藻属*Arthrospira*)的图像。

[0021] 图2B是根据一个实施方案在炭化之前用可溶性阴离子/阳离子混合物处理的纯的未处理的炭化螺旋藻生物质(节旋藻属*Arthrospira*)的SEM图像。

[0022] 图3A是根据一个实施方案未处理的炭化酵母(酵母属Saccharomyces、假丝酵母属Candida或其它酵母属)生物质的SEM图像。

[0023] 图3B是根据一个实施方案在炭化之前用可溶性阴离子/阳离子混合物处理的炭化酵母属Saccharomyces/假丝酵母属Candida/或其它酵母属生物质的SEM图像。

[0024] 图4A显示了根据一个实施方案在炭化之前洗涤所有盐的炭化螺旋藻生物质。

[0025] 图4B显示了根据一个实施方案在炭化之前用可溶性阴离子/阳离子混合物处理的炭化螺旋藻生物质。

[0026] 图5A显示了根据一个实施方案在炭化之前洗涤所有盐的纯的未处理的炭化酵母生物质。

[0027] 图5B显示了根据一个实施方案在炭化之前用可溶性阴离子/阳离子混合物处理的炭化酵母生物质。

[0028] 图6A是根据一个实施方案在炭化之前用可溶性阴离子/阳离子混合物处理的炭化生物质的显微图像。

[0029] 图6B是根据一个实施方案的盐化的炭化生物质的显微图像,其中盐通过炭化后酸洗去除。

具体实施方式

[0030] 范围在本文中 can 表示为从“约”一个特定值和/或至“约”另一特定值。当表达这样的范围时,进一步的方面包括从一个特定值和/或至另一特定值。类似地,当通过使用先行词“约”将值表示为近似值时,将理解的是,该特定值形成另一方面。将进一步理解的是,每个范围的端点相对于另一端点以及独立于另一端点都是重要的。还应当理解,本文公开了多个值,并且除了该值本身之外,每个值在本文中还可公开为“约”该特定值。例如,如果公开值“10”,则也公开“约10”。还应当理解,还公开了两个特定单元之间的每个单元。例如,如果公开了10和15,则也公开了11、12、13和14。

[0031] 在说明书和最后的权利要求中提及的组合物中的特定元素或组分的重量份表示组合物或制品中的元素或组分与任何其它元素或组分之间的重量关系,其中重量份表示。因此,在含有2重量份的组分X和5重量份的组分Y的混合物中,X和Y以2:5的重量比存在,并且不管该混合物中是否含有另外的组分均以这样的比例存在。

[0032] 除非有明确的相反说明,否则组分的重量百分比(重量%)是基于其中包含该组分的制品或组合物的总重量。

[0033] 如本文所用,术语“任选的”或“任选地”是指随后描述的事件或情况可以发生或可以不发生,并且该描述包括其中所述事件或情况发生的情况以及其中所述事件或情况不发生的情况。

[0034] 如本文所用,术语“微生物炭(microbechar)”是指根据本公开的方法制备的热处理后炭化生物质。微生物炭无需进一步改性即可用作炭黑颜料。根据预期目的,微生物炭还可以通过机械(如研磨)或化学(如酸/碱洗涤)方法进一步处理。改性/处理微生物炭的方法公开于美国专利申请第16/677,644号(公开号US-2020-014069)中,出于所有目的,该申请通过引用并入本文。

[0035] 本文公开一种通过对微生物生物质进行热处理由微生物生物质制备工程化炭黑

颜料的方法,其中微生物生物质包括多个晶体包覆的微生物细胞。热处理的结果是形成炭化生物质。在某些实施方式中,该方法还包括将炭化生物质研磨至约0.01微米至约100微米之间的粒度,以形成磨碎的微生物炭。

[0036] 在某些方面,所公开的方法是由微生物生物质制备炭黑颜料的方法,其包括:提供在水性溶剂中包含多个微生物细胞的微生物生物质溶液;向所述微生物生物质溶液中加入第一可溶性离子,由此使所述多个微生物细胞成核;向所述微生物生物质溶液中加入第二可溶性离子,由此在所述多个微生物细胞中和/或在所述多个微生物细胞上引发晶体形成,形成多个晶体包覆的微生物细胞,其中所述第一可溶性离子的电荷与所述第二可溶性离子的电荷相反;对所述多个晶体包覆的微生物细胞进行热处理以形成炭化生物质,洗涤所述炭化生物质;以及将炭化生物质研磨至约0.01微米至约100微米的粒度,以形成磨碎的微生物炭。

[0037] 微生物生物质

[0038] 生物质主要由碳水化合物、蛋白质和脂质组成。当这些分子在500-600°C进行热解时,它们会经历复杂的解聚和脱水反应,随后进行各种破碎、消除和缩合反应,以产生不可冷凝的挥发物、可冷凝的蒸汽(冷却后的液体焦油)和作为固体残留物的碳质炭(carbonaceous char)。

[0039] 碳水化合物是由碳、氢和氧组成的分子。在细胞内,碳水化合物通常以长链多糖的形式储存,如纤维素和半纤维素(木本植物)、淀粉(植物和藻类)和糖原(蓝细菌、真菌、细菌)。糖原是蓝细菌(如螺旋藻Spirulina)中碳水化合物的主要储存形式。它是一种大的、广泛分支化的葡萄糖多糖,并且其具有类似于淀粉的结构,但分支程度更高。糖原在高温(500°C以上)热解产生与由淀粉获得的相似的产物。这些产物包括水、一氧化碳、乙烷、甲醛、乙烯酮、丙烯、二氧化碳、乙醛、甲酸、丙烯醛、羟基乙醛、丙酮醛、羟基丙烷、2-糠醛、糠醇、5-甲基-2-糠醛、左旋葡萄糖(levoglucosenone)、5-羟甲基-2-糠醛和左旋葡聚糖。这些产物中的许多作为挥发物损失,而其他则形成固体残余的碳质炭。

[0040] 多糖,如糖原,可以通过水解反应分解成更小的单糖结构单元。糖原水解的一种方法包括施加热和稀酸以水解来自糖原分支的葡萄糖单元。这种反应在100°C时很容易发生。当单糖单元,如葡萄糖加热到160°C时,它们经历称为焦糖化的过程,此时结晶糖融化成透明的熔融糖。当温度上升到165°C时,熔融糖可以倒出,但冷却后会变得坚硬、玻璃状和易碎。进一步加热到210°C,冷却后会产生更柔软、更粘的质地。当葡萄糖热解至500°C时,主要产物可分为三大类:(1)低分子量化合物,(2)呋喃/吡喃环衍生物和(3)脱水糖。具有高单糖(monosaccharide/simple sugar)含量的生物材料在热解加热至500°C的过程中可能表现出熔化特性,并且由于粘性物质中挥发物的释放而表现出生物质的蘑菇效应(mushrooming effect)。

[0041] 蛋白质是由肽键连接的氨基酸聚合物链,并且其在低至40°C的温度下极易受热变性。变性过程包括打破蛋白质分子内的弱键,导致结构变化。变性的蛋白质随后的凝固通常会发生在蛋白质“凝固”为固体或粘稠液体的地方,并且这是一个冷却时不可逆的过程。暴露于热解的极端温度将导致蛋白质通过脱羧、脱胺、烃残基断裂、二聚化和肽键断裂的途径热分解,形成酰胺/胺/腈、酯、烃和N-杂环化合物,尤其是二酮哌嗪化合物(DKPs)。

[0042] 脂质也易于热分解。当在水分存在下加热时,脂质的酯键水解以释放游离脂肪酸。

在热解过程中,脂质通过包括脱水、脱羧、酯键水解、双键共轭、聚合、脱氢环化、芳构化、脱氢和碳-碳裂解降解的途径热分解。

[0043] 根据某些实施方案,用于所公开方法的微生物生物质可以衍生自多种微生物来源。在某些实施方式中,微生物生物质包含多个微生物细胞。在某些实施方案中,这些细胞(或细胞的组)具有约10纳米至约300微米的平均尺寸。起始材料可以具有以下特征中的一种或多种:来源于单细胞、菌落、多细胞或丝状生物体的细胞、完整细胞、呈现球状形状的细胞或细胞团、其中某些细胞组分在热处理前被去除的细胞、和/或溶液中的细胞或可以是已经从溶液中去除的细胞。

[0044] 包含微生物生物质的多个细胞可以通过化养、异养或自养获得能量。在某些实施方案中,微生物是真核生物。在替代实施方案中,微生物是原核生物。在某些进一步的实施方案中,包含微生物生物质的多个微生物细胞是任何前述微生物的混合物,例如在自然界水体中发现的微生物。

[0045] 各种实施方式利用菌落形成类型的细菌、藻类和蓝细菌。在各种实施方式中,微生物生物质的多个细胞聚集体直径小于300微米。本公开的一个方面涉及颜料部分为约0.01-300微米的实施方式。应当理解,这种尺寸允许增加颜料颗粒的量以分散至可接受的密度,从而可以获得深色。在各种实施方式中,可以以若干方式实现0.01-300微米的尺寸。在某些实施方案中,所述尺寸可以通过生长适当大小的生物细胞来实现。在替代实施方式中,所述尺寸可以通过将细胞或细胞聚集体研磨至适当大小(0.01-300微米)来实现。在又一实施方式中,可以使用直径为0.01-300微米的细胞以及研磨聚集体。

[0046] 根据某些实施方式,微生物生物质包含多个微生物细胞。适用于所公开的微生物方法的微生物细胞包括异养微生物、自养微生物、混合营养微生物或嗜极端微生物,包括微藻类、藻类、大型藻类、蓝细菌、真菌和细菌。在某些实施方案中,多个细胞是前述的混合。根据某些实施方案,包含多个微生物细胞的微生物是选自以下的一种或多种:集胞藻(*Synechocystis*) PCC 6803、聚球藻(*Synechococcus*) PCC 6717、聚球藻PCC6301、聚球藻IU 625、聚球藻PCC 6312、细长聚球藻(*Synechococcus elongatus*) PCC 7942、念珠藻属(*Nostoc* sp.)、聚球藻6911、聚球藻(*Synechococcus leopoliensis*)、*plankthorax rubescens*、聚球藻PCC 7002、*Arthospira platensis* PCC 7345、雨生红球藻(*Haematococcus pluvialis*)、舟形藻(*Navicula pelliculosa*)、嗜蚀隐藻(*Cryptomonas erosa*)、*Rhodomonas minuta*、淡色紫球藻(*Porphyridium purpureum*)、三角褐指藻(*Phaeodactylum tricornutum*)、微拟球藻属(*Nannochloropsis* sp.)、集胞藻属(*Synechocystis* sp.)、聚球藻属(*Synechococcus* sp.)、念珠藻属(*Nostoc* sp.)、*plankthorax* sp.、*Arthospira* sp.、红球藻属(*Haematococcus* sp.)、舟形藻属(*Navicula* sp.)、隐藻属(*Cryptomonas* sp.)、红胞藻属(*Rhodomonas* sp.)、紫球藻属(*Porphyridium* sp.)、三角褐指藻属(*Phaeodactylum* sp.)、微拟球藻属(*Nannochloropsis* sp.)、团藻属(*Volvox* sp.)、太湖念珠藻属(*Anabena* sp.)、小球藻属(*Chlorella* sp.)、裸藻属(*Euglena* sp.)、硅藻属(*Achnantes* sp.)、葡萄藻属(*Botryococcus* sp.)、角毛藻属(*Chaetoceros* sp.)、色球藻属(*Chroococcus* sp.)、鼓藻属(*Cosmarium* sp.)、微胞藻属(*Microcystis* sp.)、微孢子门(*Microspora* sp.)、盘星藻属(*Pediastrum* sp.)、栅列藻属(*Scenedesmus* sp.)、水绵属(*Spirogyra* sp.)、螺旋藻属(*Spirulina* sp.)、双星藻属

(*Zygnema* sp.)、绿菌属(*Chlorobium* sp.)、埃希氏杆菌属(*Escherichia* sp.)、螺菌属(*Spirillum* sp.)、色杆菌属(*Chromobacterium* sp.)、紫色杆菌属(*Janthinobacterium* sp.)、链霉菌属(*Streptomyces* sp.)、黄杆菌属(*Xanthomonas* sp.)、八联球菌属(*Sarcina* sp.)、沙雷氏菌属(*Serratia* sp.)、根瘤菌属(*Rhizobium* sp.)、*Prevotella* sp.、放线菌属(*Actinomyces* sp.)、葡萄球菌属(*Staphylococcus* sp.)、变形菌属(*Proteus* sp.)、微球菌属(*Micrococcus* sp.)、皱纹单胞菌属(*Rugamonas* sp.)、假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.)、螺杆菌属(*Helicobacter* sp.)、酵母属(*Saccharomyces* sp.)、假丝酵母属(*Candida* sp.)、白冬孢酵母属(*Leucosporidium* sp.)、红酵母属(*Rhodotorula* sp.)、裂殖酵母属(*Schizosaccharomyces* sp.)、*Dekker* sp.、酒香酵母属(*Brettanomyces* sp.)、集胞藻属(*Synechocystis* sp.)、聚球藻属(*Synechococcus* sp.)、念珠藻属(*Nostoc* sp.)、*plankthorax* sp.、*Arthospira* sp.、红球藻属(*Haematococcus* sp.)、舟形藻属(*Navicula* sp.)、隐藻属(*Cryptomonas* sp.)、红胞藻属(*Rhodomonas* sp.)、紫球藻属(*Porphyridium* sp.)、三角褐指藻属(*Phaeodactylum* sp.)、微拟球藻属(*Nannochloropsis* sp.)、团藻属(*Volvox* sp.)、太湖念珠藻属(*Anabena* sp.)、小球藻属(*Chlorella* sp.)、裸藻属(*Euglena* sp.)、硅藻属(*Achnantes* sp.)、葡萄藻属(*Botryococcus* sp.)、角毛藻属(*Chaetoceros* sp.)、色球藻属(*Chroococcus* sp.)、鼓藻属(*Cosmarium* sp.)、微胞藻属(*Microcystis* sp.)、微孢子门(*Microspora* sp.)、盘星藻属(*Pediastrum* sp.)、栅列藻属(*Scenedesmus* sp.)、水绵属(*Spirogyra* sp.)、螺旋藻属(*Spirulina* sp.)、双星藻属(*Zygnema* sp.)、绿菌属(*Chlorobium* sp.)、埃希氏杆菌属(*Escherichia* sp.)、螺菌属(*Spirillum* sp.)、色杆菌属(*Chromobacterium* sp.)、紫色杆菌属(*Janthinobacterium* sp.)、链霉菌属(*Streptomyces* sp.)、黄杆菌属(*Xanthomonas* sp.)、八联球菌属(*Sarcina* sp.)、沙雷氏菌属(*Serratia* sp.)、根瘤菌属(*Rhizobium* sp.)、*Prevotella* sp.、放线菌属(*Actinomyces* sp.)、葡萄球菌属(*Staphylococcus* sp.)、变形菌属(*Proteus* sp.)、微球菌属(*Micrococcus* sp.)、皱纹单胞菌属(*Rugamonas* sp.)、假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.)、螺杆菌属(*Helicobacter* sp.)、酵母属(*Saccharomyces* sp.)、假丝酵母属(*Candida* sp.)、白冬孢酵母属(*Leucosporidium* sp.)、红酵母属(*Rhodotorula* sp.)、裂殖酵母属(*Schizosaccharomyces* sp.)、*Dekker* sp.以及酒香酵母属(*Brettanomyces* sp.)。本领域技术人员将理解其他微生物也是可能的。

[0047] 根据某些实施方案,每个完整微生物细胞的直径小于约300微米。根据这些实施方式的某些实施方式,微生物是红球藻属(*Haematococcus*)、裸藻属(*Euglena*)和/或齿状藻属(*Odontella* sp.)。

[0048] 根据进一步的实施方式,每个完整微生物细胞的直径小于约10微米。根据这些实施方案的某些实施方式,该微生物可以是以下中的一种或多种:*Plankthorax* sp.、*Arthospira* sp.、集胞藻属(*Synechocystis* sp.)、聚球藻属(*Synechococcus* sp.)、念珠藻属(*Nostoc* sp.)、*Plankthorax* sp.、*Arthospira* sp.、红球藻属(*Haematococcus* sp.)、舟形藻属(*Navicula* sp.)、隐藻属(*Cryptomonas* sp.)、红胞藻属(*Rhodomonas* sp.)、紫球藻属(*Porphyridium* sp.)、三角褐指藻属(*Phaeodactylum* sp.)、微拟球藻属(*Nannochloropsis* sp.)、硅藻属(*Achnantes* sp.)、葡萄藻属(*Botryococcus* sp.)、角毛藻属(*Chaetoceros* sp.)、色球藻属(*Chroococcus* sp.)、鼓藻属(*Cosmarium* sp.)、微胞藻属

(*Microcystis* sp.)、微孢子门(*Microspora* sp.)、盘星藻属(*Pediastrum* sp.)、栅列藻属(*Scenedesmus* sp.)、水绵属(*Spirogyra* sp.)、螺旋藻属(*Spirulina* sp.)、双星藻属(*Zygnema* sp.)、绿菌属(*Chlorobium* sp.)、埃希氏杆菌属(*Escherichia* sp.)、螺菌属(*Spirillum* sp.)、色杆菌属(*Chromobacterium* sp.)、紫色杆菌属(*Janthinobacterium* sp.)、链霉菌属(*Streptomyces* sp.)、黄杆菌属(*Xanthomonas* sp.)、八联球菌属(*Sarcina* sp.)、沙雷氏菌属(*Serratia* sp.)、根瘤菌属(*Rhizobium* sp.)、*Prevotella* sp.、放线菌属(*Actinomyces* sp.)、葡萄球菌属(*Staphylococcus* sp.)、变形菌属(*Proteus* sp.)、微球菌属(*Micrococcus* sp.)、皱纹单胞菌属(*Rugamonas* sp.)、假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.)、螺杆菌属(*Helicobacter* sp.)、酵母属(*Saccharomyces* sp.)、假丝酵母属(*Candida* sp.)、白冬孢酵母属(*Leucosporidium* sp.)、红酵母属(*Rhodotorula* sp.)、裂殖酵母属(*Schizosaccharomyces* sp.)、*Dekker* sp.、酒香酵母属(*Brettanomyces* sp.)、乳杆菌属(*Lactobacillus* sp.)、火球菌属(*Pyrococcus* sp.)、棒状杆菌属(*Corynebacterium* sp.)、曲霉属(*Aspergillus* sp.)、芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.)、链球菌属(*Streptococcus* sp.)、醋菌属(*Acetobacter* sp.)、梭菌属(*Clostridium* sp.)、木霉属(*Trichoderma* sp.)、青霉菌属(*Penicillium* sp.)、原绿球藻属(*Prochlorococcus* sp.)、太湖念珠藻属(*Anabena* sp.)、小球藻属(*Chlorella* sp.)、嗜热蓝细菌属(*Thermosynechococcus* sp.)、衣藻属(*Chlamydomonas* sp.)、粘球藻属(*Gloeocapsa* sp.)、项圈藻属(*Anabaenopsis* sp.)、眉藻属(*Calothrix* sp.)、颤藻属(*Oscillatoria* sp.)、粘杆菌属(*Gloeobacter* sp.)、*Cyanidioschyzon* sp.、隐甲藻属(*Cryptothecodinium* sp.)和/或*Galdieria* sp.。

[0049] 在某些实施方案中,包含微生物生物质的多个微生物细胞包含完整的全细胞微生物。在替代实施方案中,微生物生物质包含破裂的微生物细胞(例如,细胞壁和/或细胞膜的完整性已经被破坏)。在这些实施方案的某些方面中,微生物生物质包括破裂的微生物细胞组分。根据这些实施方案的某些实施方式,从微生物生物质中除去一种或多种微生物成分。在示例性实施方式中,从微生物生物质中除去脂质、氨基酸、碳水化合物、矿物质和/或着色剂分子。

[0050] 在某些实施方案中,细胞可以具有从整个生物质中提取的细胞组分。在示例性实施方案中,这些细胞组分是碳水化合物、蛋白质、脂肪、矿物质、核酸物质和/或前述物质的任意组合中的一种或多种。

[0051] 在某些实施方案中,在热处理之前,对构成微生物生物质的多个微生物细胞进行处理以去除某些细胞组分。示例性处理包括但不限于:盐溶/盐析、冷浸渍、超声波处理、高压均质化、冻融、酸提取、碱提取、有机萃取、无机萃取、溶菌酶提取、机械提取、膜过滤和/或高压萃取。

[0052] 在某些实施方案中,制备的微生物生物质用于在微生物生物质溶液中进行处理。在示例性实施方式中,将微生物生物质溶解到水性溶剂中以制备微生物生物质溶液。在某些实施方案中,水性溶剂是水。

[0053] 成核和晶体形成

[0054] 在某些方面,所公开的方法包括在包含微生物生物质的多个微生物细胞的细胞表面和/或细胞内空间中引起晶体形成的步骤。在某些实施方案中,引起细胞晶体形成的步骤包括两个步骤:成核步骤和晶体形成步骤。在示例性实施方式中,成核步骤是通过向微生物

生物质溶液中加入第一可溶性离子来进行的,而结晶步骤是通过向微生物生物质溶液中加入第二可溶性离子来进行的,其中第一可溶性离子的电荷与第二可溶性离子的电荷相反(例如,如果第一离子的电荷为正,则第二离子的电荷为负,并且如果第一离子的电荷为负,则第二离子的电荷为正)。第一离子和第二离子结合在细胞表面和/或细胞空间内形成不溶性晶体。

[0055] 在某些实施方案中,第一离子是阴离子,而第二离子是阳离子。在某些替代实施方案中,第一离子是阳离子,而第二离子是阴离子。在示例性实施方案中,通过分别添加第一离子溶液和第二离子溶液,将第一离子和第二离子依次添加到微生物生物质溶液中。这种第一和第二离子溶液可以通过将离子的可溶性盐溶解在水性溶剂(例如水)中来制备。在示例性实施方式中,在将第二离子溶液添加到微生物生物质时,第一和第二离子在细胞内/细胞上沉淀和结晶,而第一和第二离子的抗衡离子保持高度可溶并保持在溶液中。在这些实施方案的某些示例性实施方式中,阳离子是钙而阴离子是磷酸根。通过将氯化钙和磷酸钠分别溶解在水中来制备钙溶液和磷酸根溶液(根据某些实施方案)。当加入第二离子溶液时,钙和磷酸根在细胞内/细胞上形成晶体,而钠和氯仍然溶解在溶液中。

[0056] 在进一步的实施方案中,第一离子和第二离子可以是在微生物生物质溶液溶剂中沉淀/结晶的任何离子对。示例性离子对示于表1中,但这些不应被视为限制性的。应当理解,根据某些实施方案,列A和B中的离子可以各自是第一离子或第二离子。

[0057] 表3. 用于细胞内和表面结晶的示例性沉淀物

沉淀	A	B	沉淀物溶解度(H ₂ O)	沉淀物溶解度(其他)	熔点	沉淀物 pKa
CaHPO ₄ ·2H ₂ O 透钙磷石	CaCl	Na ₃ PO ₄	0.2g/100 mL(无水) 0.2g/100 mL(二水合物)	NA	-在约 100-220°C 分解成 CaHPO ₄ -在 270-450°C 左右进一步分解为 Ca ₂ O ₇ P ₂	12.2
Ca ₂ O ₇ P ₂ 焦磷酸钙	CaCl	Na ₄ P ₂ O ₇	不溶的	盐酸和硝酸	1,353°C	NA
[0058] Ca(OH) ₂ 氢氧化钙	CaCl	NaOH	1.73 g/L (20°C)	溶于甘油和酸	512-580°C(失去水分,分解成氧化钙和水)	12.63(第一) 11.57(第二)
CaSO ₄ 硫酸钙	CaCl	Na ₂ SO ₄	0.21g/100ml (20°C) (无水) 0.24g/100ml (20°C) (二水合物)	微溶于甘油	1,460°C (2,660°F; 1,730 K) (无水)	10.4 (无水) 7.3 (二水合物)
CaCO ₃ 碳酸钙	CaCl	Na ₂ CO ₃	0.13 g/L(25°C)	易溶于稀酸	825°C	9.0

[0059] 在某些实施方案中,第一离子和第二离子以化学计量比存在。在进一步的实施方案中,第一离子和第二离子以约2:1至约1:2的比例存在。

[0060] 虽然在一些实施例中,阴离子和阳离子的给定组合可以以任一顺序依次添加,但

在某些实施方案中,其中一种必须在另一种之前添加。例如,对于氯化钙和磷酸钠,顺序在某些实施方案中是重要的。独立地,这些离子在水溶液中是高度可溶的。加入含有这些离子的两种混合物产生不溶性磷酸钙和高溶性氯化钠。钙离子和磷酸根离子的选择是值得注意的,因为微生物细胞表面允许细胞外钙离子的被动扩散,而磷酸根离子在大多数活细胞中极其普遍。微生物生物质在氯化钙溶液中的溶胀是有益的,因为微生物细胞的表面倾向于负电荷,这将吸引正钙离子进入细胞膜并进一步进入细胞的内部空间。这使得细胞中有高浓度的钙离子,当加入磷酸钠溶液时,导致高度结晶。然而,当试图在磷酸钠溶液中溶胀藻类时,磷酸根将从膜中被排斥并留在细胞外的溶液中。当加入氯化钙时,沉淀物将主要在细胞外形成。

[0061] 回到成核步骤,本文也称为nucleation/nucleating步骤,将第一离子添加到微生物生物质溶液中以允许第一离子结合到细胞表面和细胞内的位点,为将来的晶体生长提供成核位点。在某些实施方案中,成核步骤还包括通过将第一离子与多个微生物细胞孵育约1分钟至约24小时来进行成核孵育。在进一步的实施方式中,孵育持续约5分钟至约2小时的时间。在进一步的实施方式中,孵育步骤为约1小时。

[0062] 在某些实施方案中,孵育步骤进一步包括将微生物生物质溶液加热至约32°C至约65°C的温度。

[0063] 在更进一步的实施方案中,成核步骤还包括进行搅拌步骤,目的是增加第一离子对细胞的渗透。在某些实施方案中,搅拌步骤是通过以约2000RPM剪切混合微生物生物质溶液约两分钟来进行的。在替代的实施方式中,搅拌步骤通过超声处理来进行。

[0064] 现在转向晶体形成步骤,在成核步骤之后,将第二离子添加到微生物生物质溶液中,并在细胞上/细胞内的成核位点进行沉淀/晶体形成。这种晶体的形成产生了许多晶体包覆的微生物。在某些实施方案中,晶体形成步骤还包括通过将微生物生物质溶液孵育约1分钟至约24小时来进行结晶孵育。在进一步的实施方式中,结晶孵育持续约5分钟至约2小时的时间。在进一步的实施方式中,孵育步骤为约1小时。在某些实施方式中,结晶孵育在约25°C。

[0065] 在某些实施方案中,多个晶体包覆的微生物具有细胞表面晶体形成。在进一步的实施方案中,多个晶体包覆的微生物具有细胞内晶体形成。在进一步的实施方案中,多个晶体包覆的微生物具有细胞表面和细胞内晶体形成。

[0066] 根据某些替代实施方案,过饱和及缓慢冷却是以受控的方式(溶液冷却)生长晶体的另一种方式。大多数化合物的溶解度随着温度的升高而增加。例如磷酸三钠(Na_3PO_4): 5.4g/100mL (0°C); 12g/100mL (20°C); 14.5g/100mL (25°C); 23.3g/100mL (40°C); 94.6g/100mL (100°C)。94.6g磷酸三钠可以溶解在100°C的100ml水中。当该溶液冷却到0°C时, 89.2g磷酸钠将沉淀。氯化钙也有类似的溶解度趋势,其中温度升高导致溶解度增加: 49.4g/100mL (-25°C)、59.5g/100mL (0°C)、65g/100mL (10°C)、81.1g/100mL (25°C)、102.2g/100mL (30.2°C)。存在一组有限的表现出相反溶解度趋势的化合物。例如,氢氧化钙($\text{Ca}(\text{OH})_2$)随着温度的升高具有降低的溶解度趋势: 1.89g/L (0°C)、1.73g/L (20°C)、0.66g/L (100°C),在这种情况下,温度的升高将导致沉淀。过饱和法可以产生细胞内和细胞外晶体,这取决于化学种类、藻类种类和浓度等。微生物细胞作为成核剂。这种方法的优点是用于顺序处理所添加的矿物的可再循环性以及由于添加了高可溶性矿物而易于炭洗涤。处理的实

例如下：在30℃将100g氯化钙溶解在100mL去离子水中，然后将8重量%的藻类加入氯化钙溶液中，其用剪切混合器在2000RPM剪切5分钟，并且然后在30℃搅拌1小时。然后将溶液冷却至25℃，其保持10分钟。将含有沉淀物的溶液离心并干燥。

[0067] 根据进一步的替代实施方案，另一种晶体形成方法是受控的干燥（溶剂蒸发）。在示例性实施方式中，随着溶剂蒸发，可溶性化合物的总容量随着溶剂量的减少而降低，尽管溶剂的溶解度由于恒定的环境而保持相同。在充分蒸发的情况下，溶剂化的化合物将以生长晶体的形式沉淀出来。例如，81g氯化钙可以在25℃溶解在100mL水中。如果将100mL水蒸发至50mL（25℃），将沉淀出40g氯化钙。微生物细胞将充当成核剂。这种方法的优点是可扩展性和可循环利用性。

[0068] 在又一替代实施方案中，进一步的结晶方法是将不良溶剂混合到离子溶液中（溶剂混合）。每种化合物都具有能溶解所述化合物和不能溶解所述化合物的溶剂。前者称为良溶剂，后者称为不良溶剂。磷酸三钠在水（又名良溶剂）中具有非常高的溶解度，而不溶于乙醇（又名不良溶剂）。因此，当在磷酸三钠水溶液中加入乙醇时，溶液（乙醇+水）的溶解度随着混合的溶液由良溶剂变为不良溶剂而逐渐降低。这种变化导致结晶。处理的实例如下：在25℃将14g磷酸三钠溶解在100mL去离子水中。然后将8重量%的藻类加入氯化钙溶液中，其用剪切混合器在2000RPM剪切5分钟，并且然后在25℃搅拌1小时。然后加入50毫升乙醇。将混合物过滤并干燥。

[0069] 如将理解的，每种结晶方法可与其它结晶方法相容。例如，热的过饱和溶液可以被冷却并加入不良溶剂以产生晶体。本文列出的方法并不全面。其他晶体生长方法包括从气体沉积（例如化学气相沉积）。

[0070] 不希望受理论约束，据信晶体形成处理产生1) 在细胞表面上的树枝状晶体生长，以作为物理屏障并在炭化期间保持细胞分离，从而防止细胞因温度熔化而融合在一起。大多数碳水化合物、脂类和蛋白质的熔化温度低于200℃，而在热处理过程中施加的温度可能超过500℃。2) 细胞空间内的晶体生长剪切细胞膜，同时防止内部褶皱相互结合，从而产生高孔隙率，这有助于高黑色着色。3) 基于矿物的热分配器，其从表面和内部空间均匀地对生物物质炭化。普通生物物质的热导率约为0.1W/m/K，而普通矿物的热导率高一个数量级（~1W/m/K）。

[0071] 在某些替代实施方案中，可将盐的干粉直接添加到生物物质中。这些添加的晶体可以是离子前体或沉淀物，或任何其他矿物质。优选地，这些矿物质粉末具有抗结块性能，同时具有高于炭化温度的熔化温度。这些矿物添加剂包括但不限于磷酸三钙、磷酸二钙、硅酸镁、二氧化硅和/或铝硅酸钠。矿物添加剂的尺寸优选等于或比生物物质颗粒小一个数量级，更优选小两个数量级。许多微生物生物物质的尺寸从1微米到几十微米甚至更大。因此，这些添加剂的尺寸优选为个位数微米。这些矿物粉末可以通过各种涂覆方法施加，包括但不限于流化床、粉末涂覆喷涂、使用各种研磨机的共研磨等。将干燥的矿物沉淀物添加到微生物生物物质中，其可以是溶液或干燥形式。这些实施方案可包括向生物物质中添加矿物质和/或其它转化剂和结合剂的步骤。这些矿物燥以稳定生物物质和/或在生物物质中存在的组分的方式起作用，使得在热处理期间生物物质的尺寸和结构不会发生实质性变化。

[0072] 在这些实施方案的示例性实施方式中，添加的矿物质占样品总质量的约0.1%至约70%。在某些实施方案中，可以以任何物质状态（例如，气体、液体或固体）添加矿物质。在

某些实施方案中,矿物质导致简单碳水化合物更快地挥发,从而导致生物质在炭化时不粘在一起。

[0073] 不希望受任何特定理论的束缚,预期矿物可以执行以下一种或多种功能:i) 通过在粒子本身表面上存在的官能团的变化引起粒子的电磁表面“电荷”的变化;ii) 作为不同的加热单元,其在不同的区域“燃烧”穿过细胞壁/膜-矿物吸收热能,并在非常高的温度下在非常不同的区域耗散该能量。这导致生物质表面上的特定位置经历表面上的“热点”,其中局部区域经历升高的温度,并且因此,独特的反应在矿物生物质周围的小区域内产生新的有机物。当矿物质在炭化过程之后发生的洗涤步骤中被冲走时,有机物内的不同孔洞出现并导致炭化颗粒上出现“模糊球体(fuzzy spheres)”;iii) 作为“粘合剂”,当生物质被炭化时,能够改变生物质内各种产物的演变;iv) 参与降低产生的气态氧总量的反应。这发生在添加到生物质中的各种矿物质进行能够从生物质中发现的有机物中去除氧的反应时;v) 导致碳水化合物降解为替代形式的有机物,从而减少导致生物质“熔化”的结构转变;vi) 加速有机物降解为气态物质,从而减少样品中“液化”的生物质的量;和/或vii) 对生物质成分贡献引起结构变化的元素。

[0074] 生物质包含有机物-蛋白质、碳水化合物和脂质以及无机元素,其既可以是内源矿物质,也可以是外源矿物质。矿物质为碱金属、碱土金属和过渡金属,如钙、钾、硅、镁、铝、硫、铁、磷、氯、钠和一些微量元素。这些矿物质在不同物种之间会有所不同。木本生物质中Cl、K、N、S和Si灰分含量较低,而Ca和Mg含量较高。已知矿物质通过热解过程中的抗氧化性来稳定生物炭。特别是碱金属和碱土金属催化生物质分解和成炭反应。降低灰分含量的预处理通常导致较低的木炭产量。用铁浸渍会影响芳烃缩合的程度和生物炭的孔隙率。类似地,某些碱金属如K和Na可以与氯反应形成气态化合物,如KOH、KCl、 K_2SO_4 、NaCl、 Na_2SO_4 在气相中释放。由于Si、K和Ca的熔融倾向,它们是导致团聚形成CaO、 SiO_2 、 K_2O 的主要元素。矿物质可以通过与某些糖副产物如左旋葡聚糖反应来催化二次反应,形成其他挥发物如左旋葡聚糖酮、呋喃衍生物和较轻的含氧化合物。生物质中高矿物质含量的存在通过降低油产量和增加炭和气体产物来影响产物分布。灰分的催化活性改变了燃烧和气化的动力学。通过洗涤降低生物质的灰分含量已经表明,提高了峰值燃烧温度,但降低了峰值气化质量损失率的温度。

[0075] 在进一步的实施方式中,对生物质的添加包括添加将简单碳水化合物转化为气态物质的物质。进一步的实施方式包括添加能够螯合(sequestering)简单碳水化合物和/或蛋白质的粘合剂。

[0076] 干燥微生物生物质

[0077] 在某些方面,干燥微生物生物质以降低水分含量并浓缩细胞。在某些实施方式中,将微生物生物质干燥直至达到约10%至约20%的水分含量,例如15%。在进一步的实施方案中,将微生物生物质干燥直至水分含量达到约5%或更低。

[0078] 干燥步骤可以根据本领域已知的多种技术来进行。在示例性实施方案中,将细胞通过以下方式干燥:滚筒过滤(drum filtration)、过滤/干燥、终端过滤、微滤、超滤、加压过滤、真空过滤、切向流过滤、硅藻土过滤、膜过滤、磁分离、正向渗透、电浮选、辊压机、带式收割机、毛细管提取、简单加热/蒸发、水力旋流器、错流、辅助分离(磁、电、介电、声)、颗粒床过滤器、预涂过滤器、盘堆离心(discstack centrifugation)、错流过滤、倾析器离心

(decanter centrifugation)、喷雾干燥或有机絮凝。干燥可以通过Advancement and Challenges in Harvesting Techniques for Recovery of Microalgae Biomass, Difusa et. al中描述的技术来完成,其以引用的方式整体并入本文。

[0079] 根据某些实施方案,该方法还包括干燥生物质的步骤。该干燥步骤可以通过本领域已知的多种技术中的一种来进行。示例性干燥方法包括但不限于:滚筒干燥、喷雾干燥、盘式干燥、脉冲燃烧干燥、蒸发干燥、对流干燥、冷冻干燥、螺旋板干燥、表面张力干燥器、真空盘式干燥器、太阳能传导干燥器、渗透干燥器、膜分离干燥器、沉积干燥器、絮凝干燥器、泡沫浮选分离、离心分离和/或过滤。

[0080] 在某些实施方案中,干燥步骤从生物质中除去约30%至约99%的任何溶液。在某些替代实施方式中,从所公开的方法中省略干燥步骤。

[0081] 热处理

[0082] 根据某些实施方案,在微生物生物质干燥后,对微生物生物质进行热处理以产生微生物炭。在某些方面,热处理在反应容器中进行。在示例性实施方式中,该反应容器能够产生气密密封,从而排除任何另外的气体被引入到制备过程中。在一个实施方案中,惰性气体可以被添加到容器中,以便驱除任何不需要的气体,如二氧化碳、氧气和任何其他反应性气体物质。在某些替代实施方案中,空气和其它反应性气体被添加到燃烧室中,以提高总燃烧温度并促进燃烧室内的化学反应。在另一个实施方案中,不同类型的惰性和反应性气体可以连续步骤引入反应室,以在加热过程中的不同点获得不同类型的反应。合适的反应容器包括本领域已知的各种反应容器。示例性反应容器包括但不限于:间歇式反应器、回转窑(立式或卧式)、竖炉、流化床、萌芽床(sprouted bed)、气流床(entrained bed)、螺旋反应器、赫里绍夫多膛烘干炉(herreshoff over)/多膛烘干炉、torbed反应器、微波反应器、紧凑型移动床、带式干燥机/反应器和固定床反应器。

[0083] 在某些方面,细胞的热处理通过选自以下组的方法进行:热解、气化、燃烧、热氧化分解、烘干(torrefaction)和水热碳化。在某些实施方案中,热处理步骤包括使用前述的组合。

[0084] 根据某些实施方式,热处理步骤是在约100°C至约2000°C的温度范围。在某些进一步的实施方式中,该温度范围为约100°C至约1000°C。在进一步的方面中,热处理温度范围为200°C至约800°C。在进一步的方面中,热处理温度范围为250°C至约750°C。在进一步的方面中,热处理温度范围为300°C至约700°C。在进一步的方面中,热处理温度范围为350°C至约750°C。在进一步的方面中,热处理温度范围为400°C至约700°C。在又进一步的实施方式中,热处理步骤约为550°C。在某些示例性实施方式中,温度以逐步的间隔升高。在某些替代实施方式中,温度在预定间隔内以恒定速率升高。

[0085] 在某些方面,热处理步骤以约1秒至约24小时的时间间隔进行。在进一步的方面中,该时间间隔为在约600°C进行热处理步骤且以约5-7分钟的时间间隔。

[0086] 根据某些实施方式,进行热处理步骤直到到达预定的终点。根据示例性实施方式,当炭化生物质包含约20%至约75%的固定碳时达到终点。根据进一步的实施方案,当炭化生物质包含约20%至约50%的固定碳时达到终点。在更进一步实施方案中,当炭化生物质包含约20%至约30%的固定碳时达到终点。

[0087] 在进一步的实施方案中,进行热处理步骤直到炭化生物质为初始起始质量的约

15%至约60%。

[0088] 在进一步的实施方案中,进行热处理步骤直到炭化生物质中的近似挥发物(proximate volatile)的水平低于约25%。在进一步的实施方案中,进行热处理步骤直到炭化生物质中的近似挥发物的水平低于约20%。在又进一步的实施方案中,进行热处理步骤直到炭化生物质中的近似挥发物的水平为约15%至约25%。

[0089] 在更进一步的实施方案中,进行热处理步骤直到炭化生物质中的氧浓度低于约20%。在更进一步的实施方案中,进行热处理步骤直至氧浓度为约10%至15%。

[0090] 根据更进一步的实施方案,进行热处理步骤直至炭化生物质中的灰分浓度低于约20%。根据某些进一步的实施方案,进行热处理步骤直至炭化生物质中的灰分浓度为约10%至20%。在更进一步的实施方案中,进行热处理步骤直至炭化生物质中的灰分浓度低于约10%。

[0091] 在某些方面,热处理步骤终点由氧和固定碳的预定比例限定。在这些实施方案的示例性实施方式中,当炭化生物质的最终氧与最终碳之比低于约0.30的氧:碳(例如,3份最终氧:10份最终碳)时,达到热处理终点。

[0092] 在某些实施方案中,当达到上述参数中的两个或更多个时达到终点。

[0093] 热处理后的洗涤

[0094] 在进一步的实施方式中,所公开的方法还包括生物质热处理后的洗涤/活化的步骤。在示例性实施方式中,洗涤可以通过用本质上使洗涤酸性或碱性的材料洗涤炭化的生物质来进行。在示例性实施方案中,使用以下一种或多种:氢氯酸、盐酸、漂白剂、磷酸、氢氧化钾、氢氧化钠、氯化钙和氯化锌。在某些实施方案中,酸或碱的浓度为洗涤液的约0.2%至约20%。在某些实施方式中,其中使用酸洗,洗涤液具有约-1.0至约6的pH。在示例性实施方式中,洗涤液具有约0.1至约3.0的pH。

[0095] 根据某些实施方案,热处理后的洗涤重复1至10次或更多次。在某些实施方案中,每次洗涤可具有从约30秒至约12小时的持续时间。这种洗涤可用于去除存在于炭化生物质中/周围/上的约60%至约100%的矿物质。

[0096] 在某些实施方案中,水洗也包括在热处理后的洗涤步骤中。在某些实施方案中,水洗发生在酸/碱洗涤之前、之后或之前和之后。

[0097] 不希望受任何特定理论的束缚,据信炭后洗涤步骤具有以下功能中的一种或多种:i)使较大的颗粒形成较小的颗粒(例如,溶解可引起细胞粘附和细胞结合的生物质材料改变颗粒的表面积以及与颗粒本身相关的电磁电荷);ii)去除导致矿物质含量(灰分含量)在材料总质量的1%-30%之间的矿物物质,在示例性实施方案中,灰分含量低于约10%。这允许样品中存在更高浓度的碳,因此作为矿物物质的更多的黑色物质通常是灰白色的颜色;iii)去除表面矿物质,当去除时,允许更高的表面积,同时保持颗粒体积不受干扰;iv)导致生物质更“粘”在一起的细胞组分的分解;酸洗可能会改变生物质的电荷。

[0098] 研磨

[0099] 在某些实施方案中,在热处理步骤之后不需要研磨,并且微生物炭可以用作颜料而无需进一步加工或仅通过化学加工。然而,在某些替代实施方案中,需要研磨微生物炭以获得粒径在0.01微米和100微米之间的目标颜料粒度或细胞聚集体直径。在某些实施方案中,研磨步骤通过选自以下的设备进行:研钵/研杵、旋转滚筒、振动滚筒、磁性滚筒、辊磨

机、珠磨机搅拌器、盘磨机、篮式研磨机、气流粉碎机、球磨机、颚式破碎机、转子磨机、切割磨机、刀磨机、低温研磨机、锤式磨机、针磨机、旋风研磨机和分级磨。

[0100] 根据进一步的实施方案,研磨步骤通过选自以下的方法进行:氨冷冻爆炸、蒸汽水解和湿氧化。

[0101] 根据更进一步的实施方案,研磨步骤通过超声处理来进行。

[0102] 根据某些实施方案,进行研磨步骤直至磨碎的微生物炭的平均粒径小于约10微米。

[0103] 在某些实施方案中,研磨步骤包括在研磨期间向炭化生物质添加一种或多种机械研磨添加剂。根据进一步的实施方案,该一种或多种机械研磨添加剂选自以下名单中:钢、铬、不锈钢、陶瓷、橡胶、石器、铝、镁、氧化锆、瓷器、二氧化硅和玻璃。根据某些进一步的实施方案,机械研磨添加剂具有直径约1/32英寸至约5英寸的粒度。

[0104] 在某些方面,研磨步骤包括在研磨期间向炭化生物质添加一种或多种化学研磨添加剂。在这些实施方案的某些实施方式中,该一种或多种化学研磨添加剂选自:分散剂、表面活性剂、润湿剂、抛光化合物、皂洗涤剂、超分散剂、非离子高HLB聚烷氧基化表面活性剂、非离子聚合物、消泡剂、水、树脂、表面张力改性剂、疏水阴离子聚合物、炔二醇和乙炔二醇。

[0105] 磨碎的微生物炭的研磨后改性

[0106] 根据某些实施方案,所公开的方法还包括在研磨步骤之后对磨碎的微生物炭进行改性。在某些方面,这些研磨后改性步骤旨在减小单个颗粒尺寸。在进一步的方面中,进行这些步骤以实现所需的颗粒表面特性,从而使微生物炭适合于特定的应用。根据某些实施方案,研磨后改性旨在降低微生物炭的重金属含量。在进一步的实施方案中,研磨后处理旨在去除可溶性无机盐和/或降低灰分含量。在更进一步的实施方案中,研磨后改性降低了总溶解固体的浓度。在进一步的实施方式中,研磨后改性包括调节pH和/或增加颗粒的表面积。在进一步的方面,研磨后处理旨在进一步降低微生物炭的水分含量。

[0107] 在某些方面,微生物炭的改性是通过向微生物炭添加化学添加剂的方式来进行的。根据这些实施方案的某些实施方式,该化学添加剂可以是:芳香族化合物、醇、盐(例如过硫酸铵)、表面活性剂(例如Avene1)、油/脂肪/脂肪酸/脂质、水(例如蒸汽)、离子液体、氢化、化学水解、酶促水解、碱性溶剂(例如氢氧化钠、氨、二氧化碳)、二氧化碳、氯气、硫气、氮气和氧气。

[0108] 在某些实施方案中,通过过氧化氢处理进行磨碎的微生物炭表面改性。在示例性实施方案中,在研磨之后,通过冷冻干燥分离微生物炭并分析纯度。分离后,用30% (w/w) 过氧化氢溶液进一步官能化微生物炭并回流。在某些实施方案中,回流在约60°C下进行约24小时。回流后,多余的过氧化氢被除去。在示例性实施方案中,通过对管中的DI水进行透析来去除过氧化氢,直至检测不到剩余的过氧化氢。然后可以将最终的功能化粉末再次冷冻干燥,并通过SEM EDS进行分析以帮助测量表面改性的程度。

[0109] 根据进一步的方面,微生物炭的改性包括干燥微生物炭。根据这些实施方案,该干燥步骤通过选自以下的方法进行:滚筒过滤、终端过滤、微滤、超滤、加压过滤、真空过滤、切向流过滤、硅藻土过滤、膜过滤、磁分离、正向渗透、电浮选、辊压机、带式收割机、毛细管提取、简单加热/蒸发、水力旋流器、错流、辅助分离(磁、电、介电、声)、颗粒床过滤器、预涂层过滤器、盘式堆叠离心、错流过滤、倾析器离心和有机絮凝。在某些实施方案中,干燥步骤通

过前述的组合来进行。

[0110] 在某些方面,进行研磨后干燥步骤直至达到预定的水分减少阈值。在某些示例性实施方案中,进行干燥步骤直至微生物炭的水分含量降低至约低于8%。

[0111] 这种干燥从生物质中除去30%至99%的任何溶液。

[0112] 这种干燥可包括或不包括在该方法中。

[0113] 上述任一项/全部或上述任一项的任何组合在某些实施方案中,该方法还包括在热处理步骤之前洗涤微生物生物质的步骤。

[0114] 根据某些方面,所公开的方法根据以下步骤来进行。在第一步骤中,将生物质(湿的或干的)加入钙盐(第一离子源或沉淀-前体)的水溶液中。在各种实施方式中,氯化钙是钙源。水悬浮液中钙盐的浓度为约0.75至30重量%,约1至20重量%,或约1.5至10重量%。

[0115] 在进一步的步骤中,生物质悬浮在溶液中。悬浮在钙盐水溶液中的生物质的浓度以固体含量计在约0.1至40重量%的范围内,或者可选地在约2至20重量%的范围内。悬浮液是在含水悬浮液的温度为约0-40°C,或约10-35°C的范围内制备的。

[0116] 在进一步任选步骤中,剪切或超声处理混合物以破坏细胞膜。这一步骤也可以加速细胞对钙盐的吸收。

[0117] 在另一步骤中,混合物在0-40°C搅拌0-20小时,或1-20小时,或0.5-2小时。

[0118] 在另一步骤中,将磷酸盐(第二离子源或沉淀前体抗衡离子)的水溶液加入到混合物中。磷酸盐(第二离子源或沉淀前体抗衡离子)也可以是固体形式。在某些实施方案中,使用磷酸三钠。基于生物质混合物的最终体积计算,磷酸盐浓度可为约1.25至50重量%,约2至30%,或约2.5至20%。

[0119] 在下一个任选步骤中,将混合物在0-40°C搅拌1-20小时。在某些实施方式中,混合物在0至35°C搅拌0至20小时,或在一些实施方式中搅拌约0.5至2小时。

[0120] 在下一步中,沉淀和生物质被过滤掉。可以使用多种过滤方法从液体中过滤沉淀和生物质,例如重力沉降、离心沉降、压滤等。在各种实施方式中,使用压滤机。

[0121] 在另一个步骤中,固体然后被干燥和炭化。

[0122] 在进一步的步骤中,炭被酸洗以除去灰分。在某些实施方式中,酸用于溶解各种矿物组分。在各种实施方式中,酸是盐酸。在某些实施方案中,所述酸具有约-1.0和6或约0.1至3.0的pH。

[0123] 实验实施例

[0124] 提出以下实施例以向本领域普通技术人员提供如何制造和评估本文要求保护的制品、装置和/或方法的完整公开和描述,并且旨在纯粹是本发明的示例,而不旨在限制发明人认为的其发明的范围。然而,根据本公开,本领域技术人员应当理解,在不脱离本发明的精神和范围的情况下,可以对所公开的具体实施方案进行许多改变,并且仍然获得类似或相似的结果。

[0125] 实施例1

[0126] 在本实施例中,将3.46g氯化钙加入到100.97g去离子水中。接下来,向氯化钙水溶液中加入8.28g酵母,得到生物质悬浮液。用剪切混合器以2000RPM和1.5英寸的叶片剪切混合物3分钟,并用磁力搅拌板在100°F搅拌。

[0127] 接着,将7.38g磷酸三钠加入到149.81g去离子水中。然后将磷酸三钠水溶液一次

性全部加入所述生物质混合物中。将最终得到的混合物在室温下搅拌1.5小时,并在2500RPM下离心5分钟。弃上清并在160°F下干燥固体。所有样品都用SPIRAJOULE® SPJ HT加热螺杆热解器在565°C的温度在氮气环境中处理20分钟。

[0128] 实施例2

[0129] 在本实施例中,将2.99g氯化钙加入到99.50g去离子水中。接下来,向氯化钙水溶液中加入8.11g螺旋藻,得到生物质悬浮液。用剪切混合器以2000RPM和1.5英寸的叶片剪切混合物2分钟,并用磁力搅拌板在150°F搅拌。

[0130] 接着,将7.49g磷酸三钠加入到149.52g去离子水中。将磷酸三钠水溶液一次性全部加入所述生物质混合物中。将最终得到的混合物在室温下搅拌2小时,并在2500RPM下离心5分钟。弃上清并在160°F干燥固体。所有样品都用SPIRAJOULE® SPJ HT加热螺杆热解器在565°C的温度下在氮气环境中处理20分钟。

[0131] 实施例3

[0132] 在一个实施例中,在炭化导致生物质熔化在一起之前从生物质中除去盐。生物质预炭化上盐的存在允许(i)颗粒保持不同和(ii)在生物质中形成孔隙。

[0133] 图1A显示了已经用可溶性阴离子/阳离子混合物处理然后炭化的生物质。图1B示出其中盐在炭化之前通过酸洗被除去,然后被炭化的生物质。在图1B中,生物质具有无定形特征。图1C示出了图1B的已经被“拯救”的生物质,即来自图1B的生物质用可溶性阴离子/阳离子混合物再处理,然后将再处理的材料炭化。在图1C中可以看到大量的孔。

[0134] 实施例4

[0135] 在本实施例中,所使用的生物质是在商店中作为全细胞蓝细菌出售的光合微生物,其洗涤了任何盐(Earthrise,螺旋藻(光合原核生物),Grocery store spirulina)。图2A示出了未接受任何处理的炭化生物质。图2B显示了用可溶性阴离子/阳离子混合物处理然后炭化的生物质。在图2B中,示出了具有大量多孔表面的不同颗粒。

[0136] 实施例5

[0137] 在本实施例中,使用的生物质是来自发酵罐的全细胞酵母(来自UC-Anschutz的Researcher,酵母(异养真核生物),酵母)。图3A显示未接受任何处理的炭化生物质。图3B显示了用可溶性阴离子/阳离子混合物处理然后炭化的生物质。

[0138] 实施例6

[0139] 在本实施例中,生物质在炭化之前的盐化产生了具有高流动性/可倾倒性特征的炭。实施例4的结果概要示于表1。图4A显示了洗涤全部盐然后炭化的螺旋藻生物质。在图4A中,生物质迅速发展成固体-不可流动的物质,与其原始状态不同。图4B显示了经洗涤,然后用连续的可溶性阴离子/阳离子混合物进行盐化,然后炭化的螺旋藻生物质。在图4B的实施例中,炭化生物质保持为未变形的可流动物质。

[0140] 图5A显示炭化并形成硬块的未盐化酵母生物质。如图5A所示,炭化生物质在容器中心硬化成圆盘状,扭曲成与其原始状态不同的形式。图5B显示在炭化之前用可溶性阴离子/阳离子混合物处理的酵母生物质。盐化和炭化生物质填充容器,并且不炭化成硬块,并且在炭化后保持可流动。

[0141] 实施例7

[0142] 如表2-4所示,炭化前的盐化生物质和炭化后的酸洗显示出显著增加黑度值。此

外,在炭化之前对生物质进行盐化大大增加了炭化生物质的流动性,这表现为炭化生物质不粘附于自身并自由流动。

[0143] 实施例8

[0144] 在图6A中,示出了在盐化-炭化生物质上形成的盐晶体的实施例。在图6B中,通过酸处理从盐化-炭化生物质中除去盐,因此,揭示了所得炭化生物质的多孔性。

[0145] 图像

[0146] 图1-3:获得所有样品在TGA后的扫描电子显微镜图像。使用Jeol/EQ InTouchscope获取图像。将5-10mg样品撒在固定在SEM短柱上的双面碳上。在减少成像期间的任何充电之前,用金和钨溅射涂覆样品。在150x、500x和1500x的放大倍率下获取图像。

[0147] 图4和5:样品的光学图像是在TGA后采集的,并在5ml体积的坩埚中采集,该坩埚用于在TGA中对所讨论的材料进行炭化。图像是用手机拍摄的。

[0148] 图6:TGA后获得所有样品的扫描电子显微镜图像。图像捕捉发生在配备有能量色散X射线光谱的Phenom Prox Desktop扫描电子显微照片上。将5-10mg样品撒在固定在SEM短柱上的双面碳上。在减少成像期间的任何充电之前,用金和钨溅射涂覆样品。图像放大了100,000X。

[0149] 尽管已经参考优选实施方案描述了本公开,但是本领域技术人员将认识到,在不脱离所公开的设备、系统和方法的精神和范围的情况下,可以在形式和细节上进行改变。

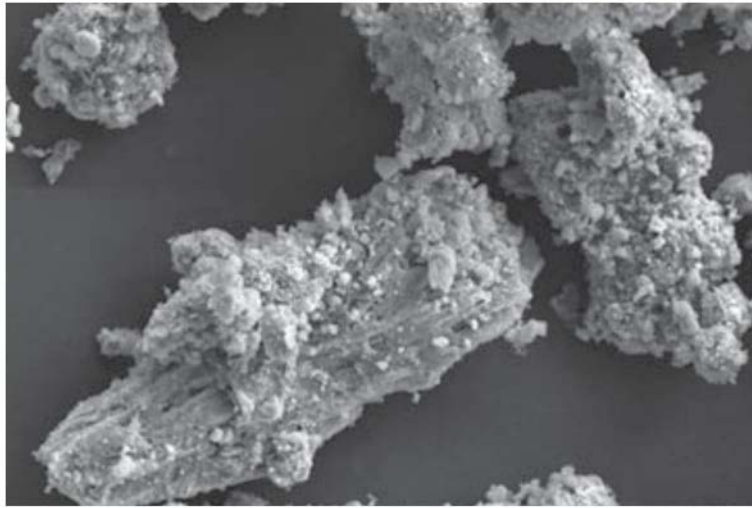


图1A

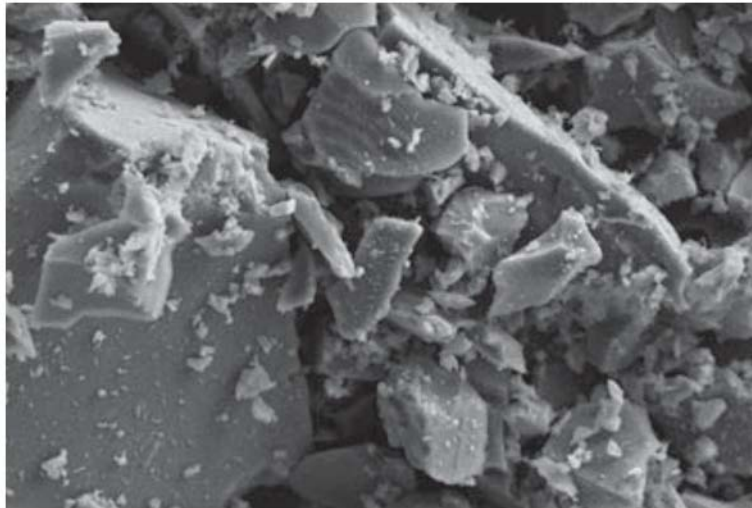


图1B

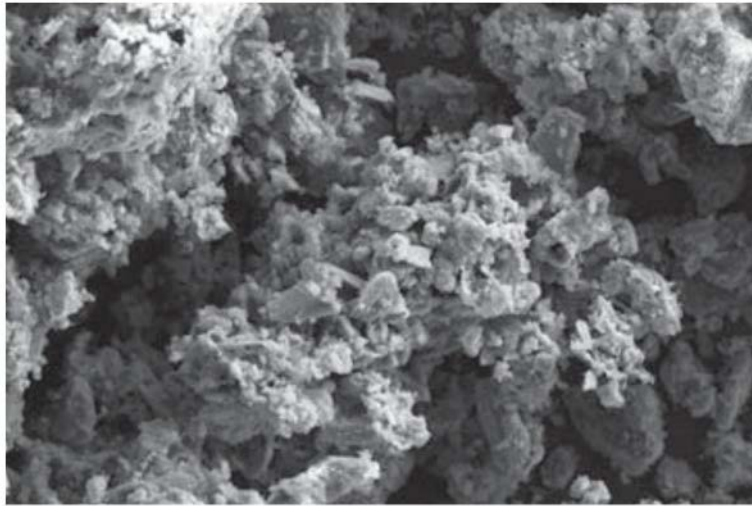


图1C

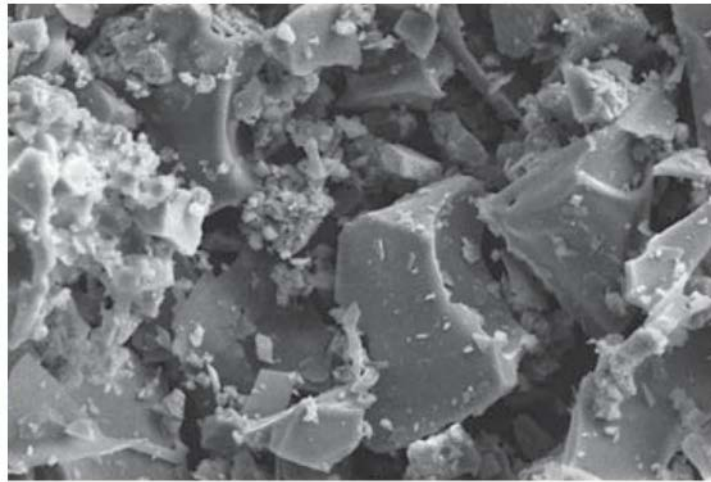


图2A

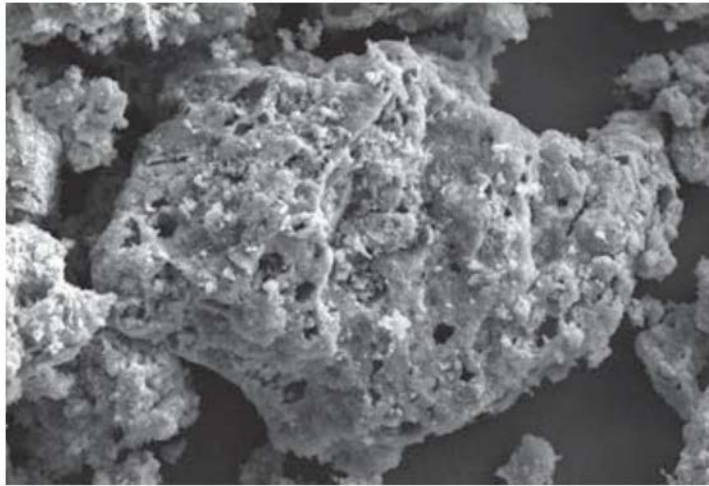


图2B

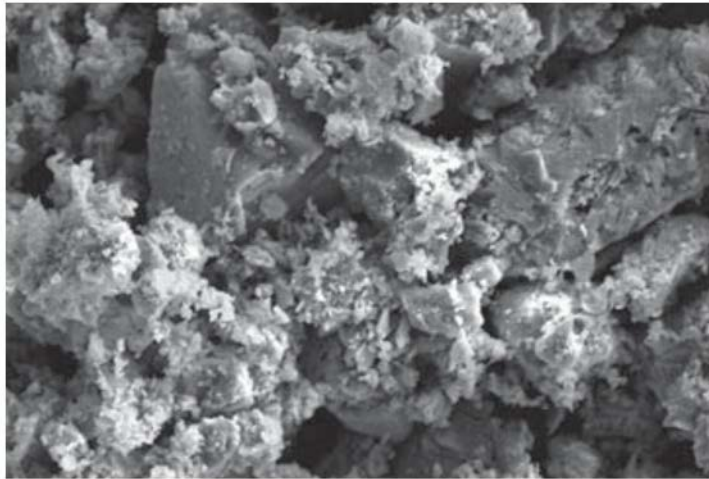


图3A

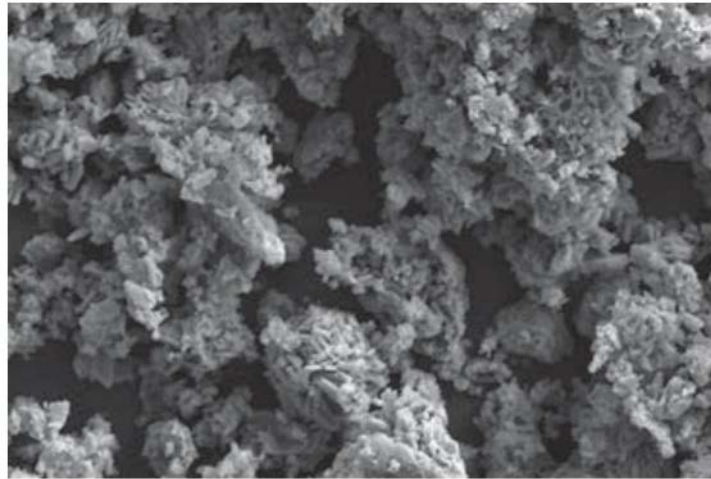


图3B

表1

	炭化前未盐化	炭化前盐化
螺旋藻生物质	无/低流动性	高流动性
酵母生物质	无/低流动性	高流动性



图4A



图4B



图5A



图5B

表2

酵母 (L值)	无炭化后的酸洗	炭化后酸洗
炭化前未盐化	23.69	18.90
炭化前盐化的酵母生物质	24.34	15.96

表3

样品	AVG. L	AVG. A	AVG. B	流动性
炭化前未盐化的酵母生物质	23.69	1.03	1.14	低
炭化前未盐化且炭化后酸洗的酵母生物质	18.90	0.06	0.01	低
炭化前盐化的酵母生物质	24.34	1.05	1.38	高
炭化前盐化且炭化后酸洗的酵母生物质	15.96	0.43	1.30	高

表4

微拟球藻	AVG. L	AVG. A	AVG. B	流动性
炭化前未盐化的微拟球藻生物质	24.34	0.05	-0.16	低
炭化前未盐化且炭化后酸洗的微拟球藻生物质	19.10	0.31	0.45	低
炭化前盐化的微拟球藻生物质	21.86	0.65	0.13	高
炭化前盐化且炭化后酸洗的微拟球藻生物质	14.11	0.35	1.17	高

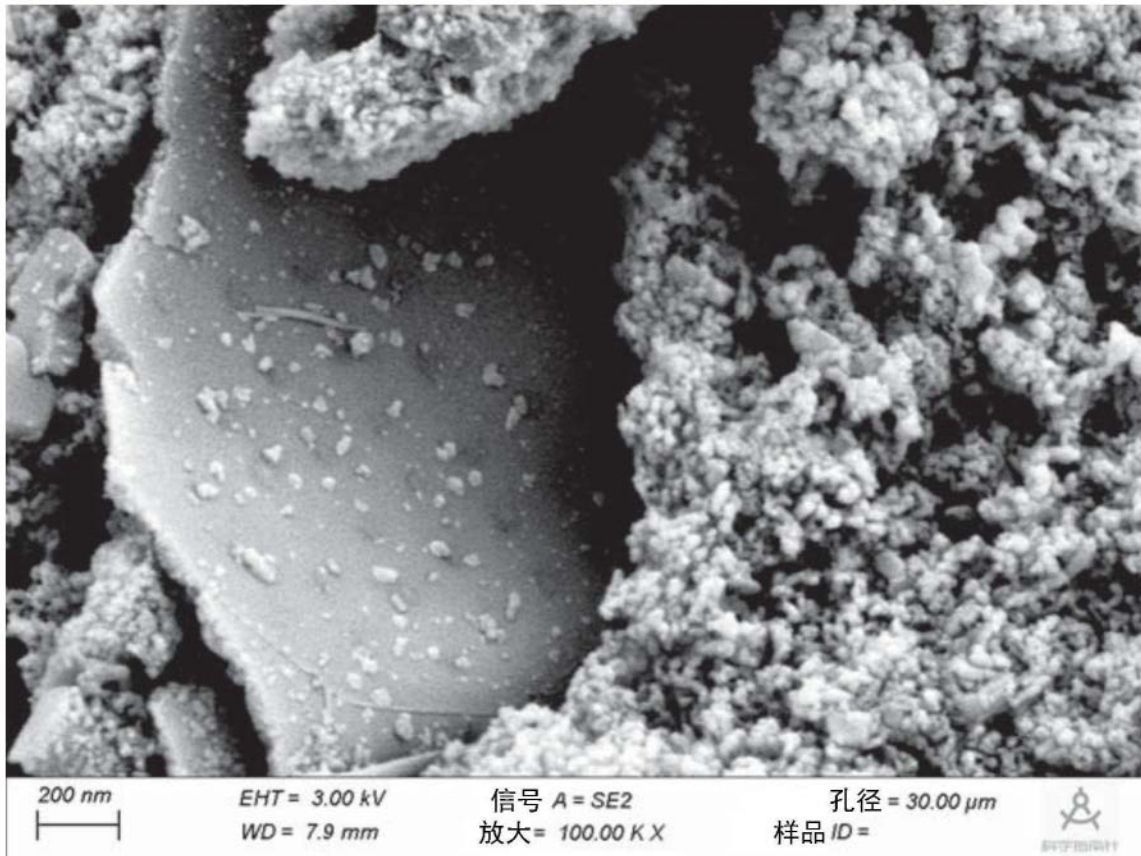


图6A

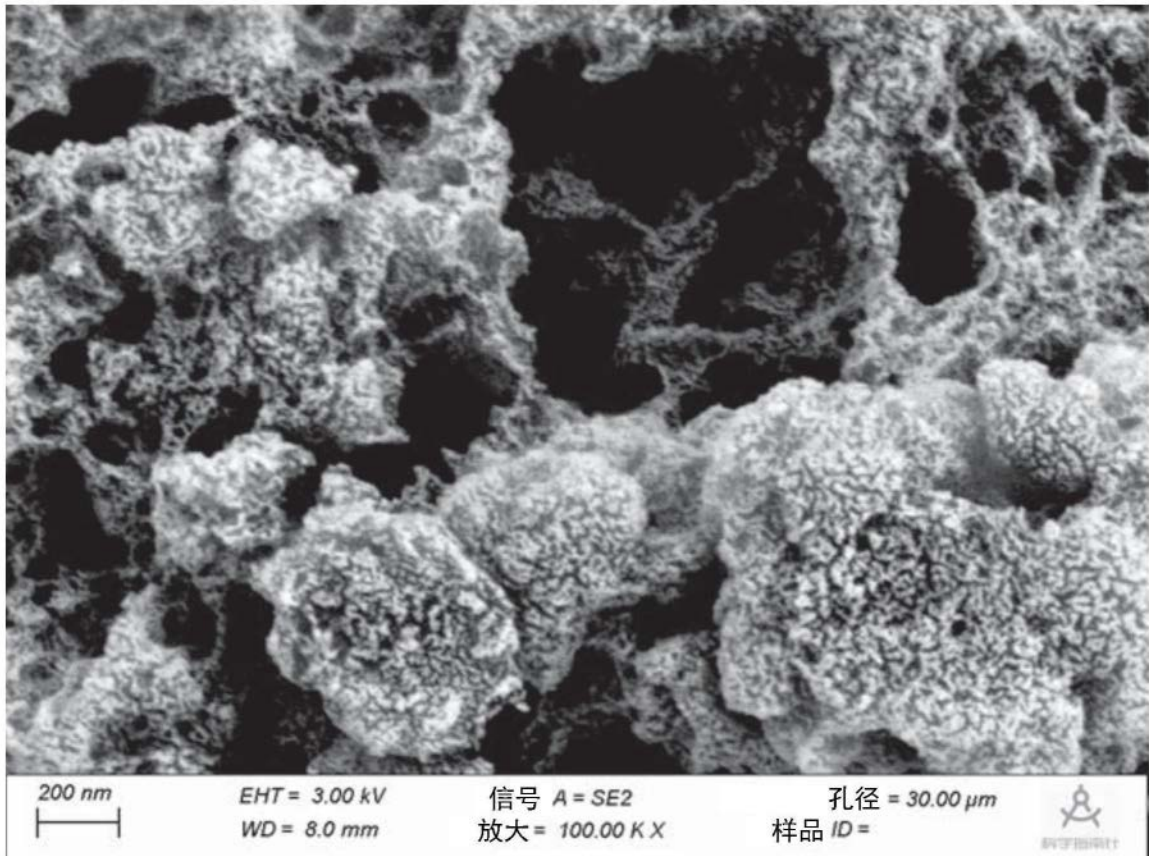


图6B