

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2018-509516

(P2018-509516A)

(43) 公表日 平成30年4月5日(2018.4.5)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 O M 105/38 (2006.01)	C 1 O M 105/38	4 H 1 0 4
C 1 O M 101/02 (2006.01)	C 1 O M 101/02	
C 1 O M 105/34 (2006.01)	C 1 O M 105/34	
C 1 O M 107/34 (2006.01)	C 1 O M 107/34	
C 1 O M 103/02 (2006.01)	C 1 O M 103/02	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 59 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2017-550104 (P2017-550104)	(71) 出願人	509328423
(86) (22) 出願日	平成28年3月24日 (2016. 3. 24)		テラヴィア ホールディングス, インコーポレイテッド
(85) 翻訳文提出日	平成29年11月15日 (2017. 11. 15)		アメリカ合衆国、94080 カリフォルニア州 南サンフランシスコ ブルーバード ゲートウェイ 225
(86) 国際出願番号	PCT/US2016/024106		225 Gateway Boulevard South San Francisco, CA 94080 United States of America
(87) 国際公開番号	W02016/154490	(74) 代理人	100078282
(87) 国際公開日	平成28年9月29日 (2016. 9. 29)		弁理士 山本 秀策
(31) 優先権主張番号	62/137, 784	(74) 代理人	100113413
(32) 優先日	平成27年3月24日 (2015. 3. 24)		弁理士 森下 夏樹
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	62/162, 553		
(32) 優先日	平成27年5月15日 (2015. 5. 15)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	62/175, 014		
(32) 優先日	平成27年6月12日 (2015. 6. 12)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 微細藻類組成物およびその使用

(57) 【要約】

微細藻類組成物およびそれらの使用方法が提供される。微細藻類組成物としては、工業的用途およびその他の用途に使用される潤滑剤が挙げられる。一実施形態では、少なくとも50%のトリグリセリド油を含有する無傷細胞を含んでなる、油性微生物バイオマスを含んでなる、潤滑剤が提供される。別の実施形態では、少なくとも50%のトリグリセリド油を含有する無傷細胞を含んでなる、油性微生物バイオマスを含んでなる、床掃除用組成物が提供される。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

少なくとも50%のトリグリセリド油を含有する無傷細胞を含んでなる、油性微生物バイオマスを含んでなる潤滑剤。

【請求項 2】

前記潤滑剤が、スプレーオイル、食品等級潤滑剤、鉄道潤滑剤、ギア潤滑剤、ベアリング潤滑剤、クランクケース潤滑剤、シリンダー潤滑剤、コンプレッサー潤滑剤、タービン潤滑剤、チェーン潤滑剤、オープンチェーン潤滑剤、ワイヤーロープ潤滑剤、コンベヤー潤滑剤、燃焼エンジン潤滑剤、電気モーター潤滑剤、全損潤滑剤、繊維製品潤滑剤、熱伝導流体、剥離剤、油圧液、金属加工油剤、およびグリースからなる群から選択される、請求項 1 に記載の潤滑剤。

10

【請求項 3】

前記潤滑剤が、抗酸化剤、防蝕剤、金属不活性化剤、結合剤、キレート化剤、金属キレート剤、酸素スカベンジャー、耐摩耗剤、極圧耐性添加剤、抗微生物剤、殺生剤、殺菌剤、殺真菌剤、pH調整剤、乳化剤、潤滑剤性、植物油、石油由来油、高粘度石油炭化水素油、石油誘導体、流動点降下剤、水分スカベンジャー、脱泡剤、曇り防止剤、付臭剤、界面活性剤、湿潤剤、レオロジー改質剤または着色剤の1つまたは複数を含んでなる、請求項 1 ~ 2 のいずれか一項に記載の潤滑剤。

【請求項 4】

前記潤滑剤が金属加工油剤である、請求項 1 に記載の潤滑剤。

20

【請求項 5】

前記金属加工油剤が、切削潤滑剤、ガンドリル加工潤滑剤、スタンピング潤滑剤、金属形成潤滑剤、およびウェイ潤滑剤である、請求項 4 に記載の潤滑剤。

【請求項 6】

前記潤滑剤が、ナフテン(naphthenic)油、パラフィン(paraffinic)油、脂肪酸エステル、高分子量エステル、グリコールエステル、酸化エチレン共重合体、ポリプロピレンオキシド共重合体、天然(naturally occurring)トリグリセリド、黒鉛、黒鉛フッ化物、二硫化モリブデン、二硫化タングステン、スズ硫化物、窒化ホウ素の1つまたは複数を含んでなる、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の潤滑剤。

30

【請求項 7】

前記油性バイオマスが、少なくとも90%、80%、70%、60%、または50%の無傷細胞を含んでなる、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の潤滑剤。

【請求項 8】

前記無傷細胞が、少なくとも60%、65%、70%、80%、85%、または90%のトリグリセリド油を含んでなる、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の潤滑剤。

【請求項 9】

前記潤滑剤が、溶解細胞をさらに含んでなる、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の潤滑剤。

【請求項 10】

前記油性微生物バイオマスが微細藻類から得られる、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の潤滑剤。

40

【請求項 11】

前記微細藻類が、プロトセカ属(Prototheca)、オーキセノクロレラ属(Auxenochlorella)、クロレラ属(Chlorella)、またはパラクロレラ属(Parachlorella)である、請求項 10 に記載の潤滑剤。

【請求項 12】

前記微細藻類が、プロトセカ・モリホルミス(Prototheca moriformis)種である、請求項 11 に記載の潤滑剤。

【請求項 13】

50

前記微細藻類が、オーキセオクロレラ・プロトコイデス (*Auxeocholella protocooides*) 種である、請求項 1 2 に記載の潤滑剤。

【請求項 1 4】

前記油が、少なくとも 7 5 %、8 0 %、または 8 5 % の C 1 8 : 1 を有する、脂肪酸プロファイル有する、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の潤滑剤。

【請求項 1 5】

前記油が、8 5 % を超える C 1 8 : 1 および 3 % 未満の多価不飽和脂肪酸の脂肪酸プロファイル有する、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の潤滑剤。

【請求項 1 6】

前記油が、6 %、5 %、4 %、3 %、2 %、1 %、0 . 9 %、0 . 8 %、0 . 7 %、0 . 6 %、0 . 5 %、0 . 4 %、0 . 3 %、0 . 2 %、0 . 1 %、0 . 0 5 %、または 0 . 0 1 % 未満の多価不飽和脂肪酸を有する脂肪酸プロファイル有する、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の潤滑剤。

10

【請求項 1 7】

前記油が、1 5 % を超える C 1 6 : 0 および 5 5 % を超える 1 8 : 1 の脂肪酸プロファイル有する、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の潤滑剤。

【請求項 1 8】

前記油が、5 0 %、6 0 %、7 0 %、または 8 0 % を超える、合わせた C 1 0 : 0 および C 1 2 : 0 の脂肪酸プロファイル有する、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の潤滑剤。

20

【請求項 1 9】

前記油が、6 0 % を超える C 1 0 : 0 および C 1 2 : 0、および 1 0 % を超える C 1 4 : 0 の脂肪酸プロファイル有する、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の潤滑剤。

【請求項 2 0】

前記油が、4 0 %、4 5 %、または 5 0 % を超える C 1 4 : 0 の脂肪酸プロファイル有する、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の潤滑剤。

【請求項 2 1】

前記油が、少なくとも 7 0 % の S O S および 4 % 以下の三飽和の脂肪酸プロファイル有する、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の潤滑剤。

【請求項 2 2】

前記油が、5 0 % を超える C 1 8 : 0 および 3 0 % を超える C 1 8 : 1 の脂肪酸プロファイル有する、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の潤滑剤。

30

【請求項 2 3】

請求項 1 ~ 2 2 のいずれか一項に記載の潤滑剤を表面に塗布するステップを含んでなる、潤滑特性を表面に施す方法。

【請求項 2 4】

前記表面が金属である、請求項 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 5】

前記潤滑剤が、金属同士の摩擦を低下させる、請求項 2 4 に記載の方法。

【請求項 2 6】

前記潤滑剤が表面に皮膜を形成する、請求項 2 3 ~ 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 2 7】

前記潤滑剤中の固体粒子が前記潤滑剤の潤滑性に寄与し、前記固体粒子が 1 0 0 ~ 5 0 0 μ m の粒度分布 d 5 0 値を有し、前記 d 5 0 値が分布の 5 0 % における粒度分布の中位径であり、前記粒子の 5 0 % が前記 d 5 0 値を上回り、5 0 % が前記 d 5 0 値未満である、請求項 1 ~ 2 6 のいずれか一項に記載の潤滑剤または方法。

【請求項 2 8】

前記 d 5 0 値が 2 0 0 ~ 4 0 0 μ m である、請求項 2 7 に記載の潤滑剤または方法。

【請求項 2 9】

前記 d 5 0 値が 3 0 0 ~ 4 0 0 μ m である、請求項 2 8 に記載の潤滑剤または方法。

50

【請求項 30】

前記潤滑剤が、黒鉛（典型的な d50 値は 1 ~ 10 μm）および / または二硫化モリブデン（MoS₂、典型的な d50 値は 0.9 ~ 30 μm）を含有するものなどの従来の固体被膜潤滑剤と比較して、低下した健康上のリスク（例えば、吸入に起因する健康上のリスク）を有する、請求項 1 ~ 29 のいずれか一項に記載の潤滑剤または方法。

【請求項 31】

前記潤滑剤が、除去困難な残渣を残す黒鉛および / または二硫化モリブデンを含有するものなどの従来の固体被膜潤滑剤と比較して、使用後に、前記潤滑剤が接触する表面（例えば、工作物またはヒト皮膚）からより容易に除去され得る、請求項 1 ~ 30 のいずれか一項に記載の潤滑剤または方法。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、35 USC 119(e) に基づく利益を主張し、そのそれぞれの内容全体が参照により本明細書に援用される、2015年3月24日に出願された米国仮特許出願第62/137,784号明細書、2015年5月15日に出願された米国仮特許出願第62/162,553号明細書、および2015年6月12日に出願された米国仮特許出願第62/175,014号明細書の優先権を主張する。

【背景技術】

20

【0002】

固体または乾燥被膜潤滑剤は、移動表面間の摩擦低減剤として機能する。一般的な固体潤滑剤としては、二硫化モリブデンおよび二硫化タングステン、窒化ホウ素、および黒鉛が挙げられる。代案の改良された固体潤滑剤に対する必要性が存在する。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0003】

本開示は、微細藻類組成物およびそれらの使用方法を提供する。

【0004】

一実施形態では、少なくとも50%のトリグリセリド油を含有する無傷細胞を含んでなる、油性微生物バイオマスを含んでなる、潤滑剤が提供される。

30

【0005】

別の実施形態では、少なくとも50%のトリグリセリド油を含有する無傷細胞を含んでなる、油性微生物バイオマスを含んでなる、床掃除用組成物が提供される。

【0006】

一実施形態では、油性微生物バイオマスを含む、3D印刷で使用するのに適した材料が提供される。いくつかの実施形態では、油性微生物バイオマスを含む、3D印刷材料を使用して印刷された物体が提供される。いくつかの実施形態では、3D印刷材料は粉末形態である。このような形態は、物体を印刷するために焼結工程が使用される場合に、容易に使用され得る。材料はまた、熱溶解積層法モデリング(FDM)を使用して印刷するのに適した、フィラメント形態であってもよい。いくつかの実施形態では、微細藻類バイオマスは、3D印刷材料の1~85重量%を構成する。他の実施形態では、微細藻類バイオマスは、3D印刷材料の少なくとも5重量%、10重量%、15重量%、20重量%、または25重量%を構成する。いくつかの実施形態では、3D印刷材料は、微細藻類バイオマスおよび熱可塑性物質を含んでなる。いくつかの実施形態では、熱可塑性物質は、ポリ乳酸(PLA)またはアクリロニトリルブタジエンスチレン(ABS)である。3D印刷材料のいくつかの実施形態では、微細藻類バイオマスは、無傷細胞を含んでなる。

40

【0007】

いくつかの実施形態では、潤滑剤は、スプレーオイル、食品等級潤滑剤、鉄道潤滑剤、ギア潤滑剤、ベアリング潤滑剤、クランクケース潤滑剤、シリンダー潤滑剤、コンプレッ

50

サー潤滑剤、タービン潤滑剤、チェーン潤滑剤、オープンチェーン潤滑剤、ワイヤーロープ潤滑剤、コンベヤー潤滑剤、燃焼エンジン潤滑剤、電気モーター潤滑剤、全損潤滑剤、繊維製品潤滑剤、熱伝導流体、剥離剤、油圧液、金属加工油剤、およびグリースからなる群から選択される。

【0008】

いくつかの実施形態では、潤滑剤は、抗酸化剤、防蝕剤、金属不活性化剤、結合剤、キレート化剤、金属キレート剤、酸素スカベンジャー、耐摩耗剤、極圧耐性添加剤、抗微生物剤、殺生剤、殺菌剤、殺真菌剤、pH調整剤、乳化剤、潤滑剤性、植物油、石油由来の油、高粘度石油炭化水素油、石油誘導体、流動点降下剤、水分スカベンジャー、脱泡剤、曇り防止剤、付臭剤、界面活性剤、湿潤剤、レオロジー改質剤または着色剤の1つまたは複数を含んでなる。

10

【0009】

いくつかの実施形態では、潤滑剤は金属加工油剤である。他の実施形態では、金属加工油剤は、切削潤滑剤、ガンドリル加工潤滑剤、スタンピング潤滑剤、金属形成潤滑剤、およびウェイ潤滑剤である。なおも別の実施形態では、潤滑剤は、ナフテン(naphthenic)油、パラフィン(paraffinic)油、脂肪酸エステル、高分子量エステル、グリコールエステル、酸化エチレン共重合体、ポリプロピレンオキシド共重合体、天然(naturally occurring)トリグリセリド、黒鉛、黒鉛フッ化物、二硫化モリブデン、二硫化タングステン、スズ硫化物、窒化ホウ素の1つまたは複数を含んでなる。

20

【0010】

いくつかの実施形態では、油性バイオマスは、少なくとも90%、80%、70%、60%、または50%の無傷細胞を含んでなる。

【0011】

いくつかの実施形態では、無傷細胞は、少なくとも60%、65%、70%、80%、85%、または90%のトリグリセリド油を含んでなる。

【0012】

いくつかの実施形態では、本明細書で提供される潤滑剤または組成物は、溶解細胞をさらに含んでなる。

【0013】

いくつかの実施形態では、油性微生物バイオマスは微細藻類から得られる。

30

【0014】

いくつかの実施形態では、微細藻類は、プロトセカ属(Prototheca)、オーキセノクロレラ属(Auxenochlorella)、クロレラ属(Chlorella)、またはパラクロレラ属(Parachlorella)である。他の実施形態では、微細藻類は、プロトセカ・モリホルミス(Prototheca moriformis)種である。なおも別の実施形態では、微細藻類は、オーキセオクロレラ・プロトコイデス(Auxeochochlorella protothecooides)種である。

【0015】

いくつかの実施形態では、トリグリセリド油は、少なくとも75%、80%、または85%のC18:1を有する、脂肪酸プロファイルを有する。

40

【0016】

いくつかの実施形態では、油は、85%を超えるC18:1および3%未満の多価不飽和脂肪酸の脂肪酸プロファイルを有する。

【0017】

いくつかの実施形態では、油は、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.9%、0.8%、0.7%、0.6%、0.5%、0.4%、0.3%、0.2%、0.1%、0.05%、または0.01%未満の多価不飽和脂肪酸を有する、脂肪酸プロファイルを有する。

【0018】

50

いくつかの実施形態では、油は、15%を超えるC16:0および55%を超える18:1の脂肪酸プロファイルを有する。

【0019】

いくつかの実施形態では、油は、50%、60%、70%、または80%を超える合わせたC10:0およびC12:0の脂肪酸プロファイルを有する。

【0020】

いくつかの実施形態では、油は、60%を超えるC10:0およびC12:0、ならびに10%を超えるC14:0の脂肪酸プロファイルを有する。

【0021】

いくつかの実施形態では、油は、40%、45%、または50%を超えるC14:0の脂肪酸プロファイルを有する。

【0022】

いくつかの実施形態では、油は、少なくとも70%のSOSおよび4%以下の三飽和の脂肪酸プロファイルを有する。

【0023】

いくつかの実施形態では、油は、50%を超えるC18:0および30%を超えるC18:1の脂肪酸プロファイルを有する。

【0024】

いくつかの実施形態では、本明細書で開示される滑剤を表面に塗布するステップを含んでなる、潤滑特性を表面に施す方法が提供される。

【0025】

いくつかの実施形態では、表面は金属である。他の実施形態では、潤滑剤は、金属同士の摩擦を低下させる。

【0026】

いくつかの実施形態では、潤滑剤は、表面に被膜を形成する。

【0027】

いくつかの実施形態では、潤滑剤は油性潤滑剤である。いくつかの実施形態では、潤滑剤は水性潤滑剤である。いくつかの実施形態では、油性潤滑剤は5~25%の水を含有する。

【0028】

いくつかの実施形態では、潤滑剤は、主に無傷細胞を含んでなる。いくつかの実施形態では、細胞の50%超が無傷である。いくつかの実施形態では、細胞の75%超が無傷である。いくつかの実施形態では、細胞の90%超が無傷である。

【0029】

いくつかの実施形態では、潤滑剤は、主に溶解細胞を含んでなる。いくつかの実施形態では、少なくとも75重量%の細胞が溶解される。いくつかの実施形態では、少なくとも85重量%の細胞が溶解される。いくつかの実施形態では、少なくとも90重量%の細胞が溶解される。

【0030】

いくつかの実施形態では、潤滑剤は、脱脂細胞を含んでなる。いくつかの実施形態では、少なくとも70重量%の油が抽出されている。いくつかの実施形態では、少なくとも80重量%の油が抽出されている。いくつかの実施形態では、少なくとも85重量%の油が抽出されている。いくつかの実施形態では、少なくとも90重量%の油が細胞から抽出されている。

【0031】

いくつかの実施形態では、脱脂細胞は酸および/または塩基で処理される。酸および/または塩基処理は、細胞を消化する。

【0032】

上記および本明細書で考察される様々な潤滑剤および/または方法において、潤滑剤中の固体粒子は、潤滑剤の潤滑性に寄与し得る。場合によっては、固体粒子は100~50

10

20

30

40

50

0 μmの粒度分布d50値を有し、d50値は分布の50%における粒度分布の中位径であり、粒子の50%はd50値を上回り、50%はd50値未満である。例えば、100 μmのd50の粒度分布があるサンプルでは、50%の粒子は100 μmを超え、50%の粒子は100 μm未満である。いくつかの実施形態では、d50値は200 ~ 400 μmである。いくつかの実施形態では、d50値は300 ~ 400 μmである。100 μmのd10の粒度分布があるサンプルでは、90%の粒子は100 μmを超え、10%の粒子は100 μm未満である。同様に、100 μmのd90の粒度分布があるサンプルでは、10%の粒子は100 μmを超え、90%の粒子は100 μm未満である。

【0033】

いくつかの実施形態では、主に無傷細胞を含んでなる水性潤滑剤が提供される。いくつかのこのような実施形態では、潤滑剤は5 ~ 30 μmの粒度分布d50値を有する。いくつかのこのような実施形態では、潤滑剤は7 ~ 12 μmの粒度分布d50値を有する。

10

【0034】

いくつかの実施形態では、主に無傷細胞を含んでなる油性潤滑剤が提供される。いくつかのこのような実施形態では、潤滑剤は100 ~ 500 μmの粒度分布d50値を有する。いくつかのこのような実施形態では、潤滑剤は100 ~ 250 μmの粒度分布d50値を有する。

【0035】

いくつかの実施形態では、主に溶解細胞を含んでなる水性潤滑剤が提供される。いくつかのこのような実施形態では、潤滑剤は0.5 ~ 15 μmの粒度分布d50値を有する。いくつかのこのような実施形態では、潤滑剤は6 ~ 12 μmの粒度分布d50値を有する。

20

【0036】

いくつかの実施形態では、主に溶解細胞を含んでなる油性潤滑剤が提供される。いくつかのこのような実施形態では、潤滑剤は5 ~ 20 μmの粒度分布d50値を有する。いくつかのこのような実施形態では、潤滑剤は8 ~ 14 μmの粒度分布d50値を有する。

【0037】

いくつかの実施形態では、脱脂細胞を含んでなる水性潤滑剤が提供される。いくつかのこのような実施形態では、潤滑剤は0.5 ~ 20 μmの粒度分布d50値を有する。いくつかのこのような実施形態では、潤滑剤は5 ~ 15 μmの粒度分布d50値を有する。

30

【0038】

いくつかの実施形態では、脱脂細胞を含んでなる油性滑剤が提供される。いくつかのこのような実施形態では、潤滑剤は0.5 ~ 200 μmの粒度分布d50値を有する。いくつかのこのような実施形態では、潤滑剤は10 ~ 100 μmの粒度分布d50値を有する。

【0039】

上記および本明細書で考察される様々な潤滑剤および/または方法において、潤滑剤は、黒鉛(典型的なd50値が1 ~ 10 μm)および/または二硫化モリブデン(MoS₂、典型的なd50値が0.9 ~ 30 μm)を含有するものなどの従来の固体皮膜潤滑剤と比較して、低下した健康上のリスク(例えば、吸入に起因する健康上のリスク)を有し得る。

40

【0040】

上記および本明細書で考察される様々な潤滑剤および/または方法において、潤滑剤は、除去困難な残渣を残す黒鉛および/または二硫化モリブデンを含有するものなどの従来の固体被膜潤滑剤と比較して、使用後に、潤滑剤と接触する表面(例えば、工作物またはヒト皮膚)からより容易に除去され得る。

【発明を実施するための形態】

【0041】

定義

「油性」細胞は、乾燥細胞重量で少なくとも20%の脂質を天然に、または組換えまた

50

は古典的な菌株改良によって、産生できる細胞である。「油性微生物 (microbe)」または「油性微生物 (microorganism)」は、油性である微細藻類をはじめとする単細胞微生物である。油性細胞はまた、その脂質またはその他の内容物の一部または全部が除去された細胞、および生存細胞および死細胞の双方を包含する。「油性微生物バイオマス」は、細胞および/または細胞内内容物、ならびに細胞外物質を含有してもよい。細胞外物質としては、細胞によって分泌される化合物が挙げられるが、これに限定されるものではない。

【0042】

「微細藻類」は、葉緑体またはその他の色素体を含有し、任意選択的に光合成を行い得る真核微生物、または光合成を行い得る原核生物微生物を指す。微細藻類は、固定炭素源をエネルギーとして代謝し得ない偏性光独立栄養生物、ならびに固定炭素源のみによって生存することができる従属栄養生物を含む。微細藻類としては、クラミドモナス属 (*Chlamydomonas*) などの細胞分裂後間もなく姉妹細胞から分離する単細胞生物、ならびに例えば、2つの異なる細胞型の単純な多細胞光合成微生物である、ボルボックス属 (*Volvox*) などの微生物が挙げられる。微細藻類としては、クロレラ属 (*Chlorella*)、ドナリエラ属 (*Dunaliella*)、およびプロトセカ属 (*Prototheca*) などの細胞が挙げられる。微細藻類としてはまた、アグメネルム属 (*Agmenellum*)、アナベナ属 (*Anabaena*)、およびピロボトリス属 (*Pyrobotryis*) などの細胞間接着を示す、その他の微生物光合成生物も挙げられる。微細藻類としてはまた、光合成を行う能力を失った偏性従属栄養微生物も挙げられる。偏性従属栄養生物の例としては、特定の渦鞭毛藻類の藻類種およびプロトセカ属 (*Prototheca*) の種が挙げられる。微細藻類としては、緑藻植物門 (*Chlorophyta*) およびクラストレポウクシア藻綱 (*Trebouxiophyceae*) に属するものが挙げられる。このクラス内に、クロレラ目 (*Chlorellales*)、任意選択的にクロレラ科 (*Chlorellaceae*)、および任意選択的にプロトセカ属 (*Prototheca*)、オーキセノクロレラ属 (*Auxenochlorella*)、クロレラ属 (*Chlorella*)、またはパラクロレラ属 (*Parachlorella*) に属する微細藻類が含まれる。

【0043】

「微細藻類抽出物」は、細胞から抽出されるか、または細胞によって分泌される任意の細胞内成分を指す。抽出物としては、細胞の機械的圧搾または溶媒抽出によって得られ得るものが挙げられる。細胞内成分としては、微細藻類油、タンパク質、炭水化物、リン脂質、多糖類、巨大分子、ミネラル、細胞壁、微量成分、カロテノイド、およびステロールが挙げられるが、これに限定されるものではない。場合によっては、抽出物は、細胞から細胞外環境に分泌され、細胞とのあらゆる物理的結合を失った多糖類である。他の事例では、多糖類は細胞壁に結合したままである。多糖類は、典型的には単糖単位のポリマーであり、断片の大きさはより小型でもあり得るが、通常は平均200万ダルトン以上の高い分子量を有する。

【0044】

「微細藻類油」または「細胞油」は、微細藻類細胞によって産生される、トリグリセリドなどの脂質構成成分を指す。

【0045】

「改変微細藻類抽出物」は、化学的または酵素的に改変された抽出物を指す。例えば、トリグリセリド抽出物は、エステル交換によって、脂肪酸アルキルエステル (例えば、脂肪酸メチルエステル) に変換され得る。

【0046】

「微細藻類バイオマス」、「藻類バイオマス」または「バイオマス」とは、微細藻類細胞の成長および/または繁殖によって産生された物質を意味する。バイオマスは細胞および/または細胞内容物および細胞外溶物を含んでもよい。細胞外溶物は細胞によって分泌された化合物を含むが、これに限定されない。

10

20

30

40

50

【0047】

「床掃除用成分」は、本明細書に記載される微細藻類構成成分と物理的または化学的に不適合でない、床掃除用組成物に従来使用されている成分を指す。「床掃除用成分」としては、限定されるものではないが、吸収剤、研磨材、結合剤、植物油、石油由来の油、石油誘導体、抗菌剤、増量剤、および化学添加剤が挙げられる。このような「床掃除用成分」は、当該技術分野で公知である。

【0048】

「金属加工」は、金属の切削、研削、打ち抜き、または成形を指す。金属形成は、小さな金属片（チップ）の生成を最小化しながら、金属の形状を変えるように設計された任意の工程を含む。これらの工程としては、鍛錬；押出；ロッド、ワイヤーまたはチューブの延伸；圧延；シート成形が挙げられるが、これに限定されるものではない。鍛錬の例は、自由鍛造、展伸鍛錬、閉塞型鍛造、圧印加工、玉縁、据込み加工、頭造、穿孔、ホブ切り、回転鍛造、揺動鍛造、リングローリング、バーおよびチューブの回転スエージ加工、およびラジアル鍛造などの操作である。圧延の例は、平面圧延または形状圧延である。シート成形の例は、板貫き、穿孔、プレス曲げ、深絞り、スタンピング、伸展成形、旋圧、油圧成形、ゴムパッド成形、浅絞り、爆発成形、ディンプル加工、ロール成形またはフランジ加工である。

10

【0049】

「金属加工油剤成分」は、本明細書に記載される微細藻類構成成分と物理的または化学的に不適合でない、金属加工油剤組成物に従来使用されている成分を指す。「金属加工油剤成分」としては、限定されるものではないが、消泡剤、抗菌剤、結合剤、殺生剤、殺菌剤、殺真菌剤、緩衝剤、化学添加剤、pH調整剤、乳化剤、潤滑剤、植物油、石油由来の油、石油誘導体、防蝕剤、極圧添加剤、脱泡剤、アルカリ予備、曇り防止剤、発色剤、付臭剤、界面活性剤、湿潤剤、増粘剤、キレート化剤、および染料が挙げられる。このような「金属加工油剤成分」は、当該技術分野で公知である。

20

【0050】

「乾燥重量」または「乾燥細胞重量」は、水の相対的不在下で測定された重量を指す。例えば、特定の乾燥重量百分率を構成する微細藻類バイオマス成分への言及は、百分率が全てのまたは実質的に全ての水が除去された後に、バイオマスの重量を基準として計算されたことを意味する。

30

【0051】

「外因性遺伝子」は、細胞に形質転換された核酸を指す。形質転換された細胞は組換え細胞と称されてもよく、その中に追加的な外因性遺伝子が導入されてもよい。外因性遺伝子は、形質転換される細胞に対して異なる種（すなわち異種）由来であってもよく、または同じ種（すなわち同種）由来であってもよい。相同遺伝子の場合、それは、遺伝子の内因性コピーと比較して、細胞のゲノム中の異なる位置を占める。外因性遺伝子は、細胞内において、2つ以上のコピーで存在してもよい。外因性遺伝子は、ゲノムへの挿入物として、またはエピソーム分子として、細胞内で維持されてもよい。

【0052】

「外因的に提供される」とは、細胞培養の培地に提供される分子を表す。

40

【0053】

「固定炭素源」は、周囲温度および圧力において固体または液体の形態で存在する、炭素、好ましくは有機炭素を含む、分子を意味する。

【0054】

「脂肪酸プロファイル」は、特定のバイオマスまたは油のサンプルにおける、脂肪酸部分の異なる炭素鎖長および飽和レベルの分布を指す。「トリグリセリド」は、3つの脂肪酸部分がグリセロール部分に付着する脂質である。サンプルは、脂肪酸部分の約60%がC18：1、20%がC18：0、15%がC16：0、5%がC14：0である脂質を含有し得る。「C18」のように炭素の長さが包括的に言及される場合、そのような言及には任意の量の飽和が含まれ得る：例えば、C18として20%の脂質を含有する微細藻

50

類バイオマスは、C 1 8 : 0、C 1 8 : 1、C 1 8 : 2などを等量または様々な量で含み得て、その合計はバイオマスの20%を構成する。

【0055】

「脂質」は、非極性溶媒（エーテルおよびヘキサンなど）に可溶性であり、水に比較的または完全に不溶性の分子のクラスである。脂質分子は、本質的に疎水性である長い炭化水素尾部から大部分が構成されるため、これらの特性を有する。脂質の例としては、脂肪酸（飽和および不飽和）；グリセリドまたはグリセロ脂質（モノグリセリド、ジグリセリド、トリグリセリドまたは中性脂肪、およびホスホグリセリドまたはグリセロリン脂質など）；非グリセリド（スフィンゴ脂質、トコフェロール、トコトリエノール、コレステロールおよびステロイドホルモンをはじめとするステロール脂質、テルペノイドをはじめとするプレノール脂質、脂肪アルコール、ワックス、およびポリケチド）；および複合脂質誘導体（糖結合脂質、または糖脂質、およびタンパク質結合脂質）が挙げられる。

10

【0056】

「ホモジネート」は、物理的に破壊されたバイオマスを意味する。

【0057】

「均質化する」は、2つ以上の物質を均質または均一な混合物に混合することを意味する。いくつかの実施形態では、ホモジネートが作製される。他の実施形態では、バイオマスは主に無傷であるが、混合物全体を通じて均質に分布する。

【0058】

「主に無傷細胞」は、50%、75%、または90%を超える無傷細胞を含んでなる細胞集団を指す。「無傷」は、細胞の細胞内成分を封入する細胞膜の物理的連続性を指し、細胞膜が、従来の培養条件下または本明細書に記載される培養条件下における細胞膜の透過性を超える程度まで細胞の細胞内成分を放出するような、いかなる様式でも破壊されていないことを意味する。

20

【0059】

「主に溶解細胞」とは、少なくとも75%、55%、または90%の溶解細胞を含む細胞集団を指す。

【0060】

「脱脂細胞」は、抽出された油が細胞と物理的に接触しないように、細胞から油が抽出されている細胞集団を指す。いくつかの実施形態では、50~95重量%の油が細胞から抽出されている。いくつかの実施形態では、5~30重量%の油が脱脂細胞内に残留する。いくつかの実施形態では、10~15重量%の油が脱脂細胞内に残留する。

30

【0061】

体積比、すなわち「v/v」への言及は、第2の物質または組成物の体積に対する、1つの物質または組成物の体積の比率を意味する。例えば、5% v/vの微細藻類油と少なくとも1つの他の成分とを含む組成物への言及は、組成物の体積の5%が微細藻類油から構成されることを意味し；例えば、100 mm³の体積を有する組成物は、5 mm³の微細藻類油および95 mm³のその他の構成物を含有するであろう。

【0062】

重量比、すなわち「w/w」への言及は、第2の物質または組成物の重量に対する1つの物質または組成物の重量の比率を意味する。例えば、5% w/w微細藻類バイオマスと少なくとも1つの他の成分とを含む組成物への言及は、組成物の5%が微細藻類バイオマスから構成されることを意味し；例えば、100 gの組成物は、5 gの微細藻類バイオマスおよび95 gのその他の構成物を含有するであろう。

40

【0063】

微細藻類細胞および抽出物

微細藻類細胞は、2014年1月3日に出願された国際公開第2008/151149号パンフレット、国際公開第2010/063031号パンフレット、国際公開第2010/045368号パンフレット、国際公開第2010/063032号パンフレット、国際公開第2011/150411号パンフレット、国際公開第2013/158938

50

号パンフレット、61/923, 327号明細書、2014年5月13日に出願されたPCT/US2014/037898号明細書、および米国特許第8,557,249号明細書に記載されるような方法に従って調製され、従属栄養的に培養され得る。微細藻類細胞は、野生型細胞であり得て、または遺伝子操作および/または古典的変異誘発によって改変されて、脂肪酸プロファイルおよび/または脂質生産性、または色などのその他の物理的特性が変更され得る。

【0064】

いくつかの実施形態では、活性成分を放出するために、工業製品の使用中に微細藻類の細胞壁が破壊されなくてはならない。したがって、いくつかの実施形態では、破壊され易い細胞壁を有する微細藻類の株を有することが好ましい。

10

【0065】

特定の実施形態では、野生型または遺伝子操作微細藻類は、乾燥重量で、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、または少なくとも80%以上が油である細胞を含んでなる。好ましい生物は、従属栄養的に（光の不在下では糖類上で）増殖する。

【0066】

いくつかの実施形態では、微細藻類はクロレラ属 (*Chlorella*) 由来である。クロレラ属 (*Chlorella*) は、緑藻植物門 (*Chlorophyta*) に属する単細胞緑藻類の属である。クロレラ属 (*Chlorella*) 細胞は、概して、直径約2~10 μmの球形であり、鞭毛を欠いている。クロレラ属 (*Chlorella*) のいくつかの種は、天然に従属栄養性である。いくつかの実施形態では、微細藻類は、クロレラ (オーキセノクロレラ)・プロトコイデス (*Chlorella (auxenochlorella) protothecoides*)、クロレラ・エリプソイデア (*Chlorella ellipsoidea*)、クロレラ・ミヌチシマ (*Chlorella minutissima*)、クロレラ・ゾフィニエネシ (*Chlorella zofinienesi*)、クロレラ・ルテオビリディス (*Chlorella luteoviridis*)、クロレラ・ケスレリ (*Chlorella kessleri*)、クロレラ・ソロキニアナ (*Chlorella sorokiniana*)、クロレラ・フスカ・バキュオラータ変種 (*Chlorella fusca var. vacuolata*) クロレラ種 (*Chlorella sp.*)、クロレラ・ミヌチシマ参照種 (*Chlorella cf. minutissima*) またはクロレラ・エメルソニー (*Chlorella emersonii*) である。クロレラ属 (*Chlorella*) の他の種には、アニトラタ (*anitrata*)、アンタルクティカ (*Antarctica*)、アウレオビリディス (*aureoviridis*)、キャンディダ (*candida*)、キャプスラタ (*capsulate*)、デシカート (*desiccata*)、エリプソイデア (*ellipsoidea*) (CCAP211/42株を含む)、エメルソニー (*emersonii*)、フスカ (*fusca*) (バキュオラータ変種 (*var. vacuolata*) を含む)、グルコトロファ (*glucotropha*)、インフシオナム (*infusium*) (アクトフィラ変種 (*var. actophila*) およびアウエノフィラ変種 (*var. auxenophila*) を含む)、ケッセレリ (*kessleri*) (UTEX397、2229、398株のいずれかを含む)、ロボフォラ (*lobophora*) (SAG37.88株を含む)、ルテオビリディス (*luteoviridis*) (SAG2203株、ならびにアウレオビリディス変種 (*var. aureoviridis*) およびルテスセンス (*lutescens*) を含む)、ミニアタ (*miniata*)、ミヌチシマ参照種 (*cf. minutissima*)、ミヌチシマ (*minutissima*) (UTEX2341株を含む)、ムタビリス (*mutabilis*)、ノクツルナ (*nocturna*)、オパリス (*ovalis*)、パルバ (*parva*)、ファトフィリア (*photophila*)、プリングシェイミー (*pringshe*

20

30

40

50

imii)、プロトセコイデス(*protothecoides*)(UTEX1806、411、264、256、255、250、249、31、29、25、もしくはCCAP211/8D株のいずれかを含む、またはCCAP211/17およびアシジコラ変種(*var. acidicola*)を含む)、レグラリス(*regularis*)(ミニマ変種(*var. minima*)およびウンブリカタ(*umbricata*)を含む)、レイシグリア(*reisiglii*)(CCP11/8株を含む)、サッカロフィア(*sacccharophila*)(CCAP211/31、CCAP211/32株、およびエリプソイダ変種(*var. ellipsoidea*)を含む)、サリナ(*salina*)、シンプレックス(*simplex*)、ソロキニアナ(*sorokiniana*)(SAG211.40B株を含む)、属の一種(UTEX2068株およびCCAP211/92を含む)、スファエリカ(*sphaerica*)、ステイグマトフォラ(*stigmatophora*)、ツレボウシオイデス(*trebouxioides*)、バニエリイ(*vannielli*)、ブルガリス(*vulgaris*)(CCAP211/11K、CCAP211/80株、ならびに*f. terttia*)およびアウトトロフィカ変種(*var. autotrophica*)、ヴィリディス(*viridis*)、ブルガリス(*vulgaris*)、ブルガリス・*f. terttia*、およびブルガリス・*f. viridis*を含む)、シャンセラ(*xanthella*)、およびゾフィンジエンシス(*zofingiensis*)からなる群から選択される種が含まれる。

10

【0067】

20

クロレラ属(*Chlorella*)に加えて、微細藻類の他の属もまた、本明細書で提供される方法および組成物で使用され得る。いくつかの実施形態では、微細藻類は、パラクロレラ・ケッセレリ(*Parachlorella kessleri*)、パラクロレラ・ベイエリンキイ(*Parachlorella beijerinckii*)、ネオクロリス・オレオアブندانズ(*Neochloris oleabundans*)、*B. grandis*、*B. cinnabarinas*、および*B. aerius*を含むブラクテアコッカス(*Bracteococcus*)、ブラクテオコッカス種(*Bracteococcus sp.*)、またはセネデスムス・ルベッセンス(*Scenedesmus rebescens*)からなる群から選択される種である。微細藻類種の他の非限定的な例としては、アクナンセス・オリエンタイルス(*Achnanthes orientalis*)；アグメネルム(*Agmenellum*)；アンフィプロラ・ヒアリン(*Amphiproora hyaline*)；*A. c. linea*、*A. c. punctata*、*A. c. taylori*、*A. c. tenuis*、*A. c. delicatissima*、*A. c. delicatissima capitata*を含む、*A. coffeiformis*を含む、アンフォラ(*Amphora*)；アナバエナ(*Anabaena*)；*A. falcatus*を含む、アンキストロデスムス(*Ankistrodesmus*)；ボエケロヴィア・ホオグランディ(*Boekelovia hooglandii*)；ボロディネラ(*Borodinella*)；*B. sudeticus*を含む、ボツリオコッカス・ブラウニイ(*Botryococcus braunii*)；*B. aerius*、*B. grandis*、*B. cinnabarinas*、*B. minor*、および*B. medionucleatus*を含む、ブラクテオコッカス(*Bracteococcus*)；カルテリア(*Carteria*)；*C. gracilis*、*C. muelleri*、および*C. muelleri subsalsum*を含むカエトセロス(*Chaetoceros*)；*C. infusio-num*を含む、クロコッカム(*Chlorococcum*)；クロゴニウム(

30

40

50

Chlorogonium); クロオモナス (*Chroomonas*); クリソスファエラ (*Chryso-sphaera*); クリコスファエラ (*Cricosphaera*);
 クリプトコディニウム・コーニイ (*Cryptothecodinium cohnii*);
 クリプトモナス (*Cryptomonas*); *C. クリプティカ* (*C. cryptica*)
) および *C. メネグヒニアナ* (*C. meneghiniana*) を含む、サイクロテラ (*Cyclotella*);
D. パルダウィル (*D. bardawil*)、*D. バイオクラ*
タ (*D. bioculata*)、*D. グラヌラテ* (*D. granulate*)、*D. マリ*
タイム (*D. maritime*)、*D. ミヌタ* (*D. minuta*)、*D. パルバ* (*D.*
parva)、*D. ペイルセイ* (*D. peircei*)、*D. プリモレクタ* (*D. pri-*
molecta)、*D. サリナ* (*D. salina*)、*D. テリコラ* (*D. terric*
ola)、*D. テルチオレクタ* (*D. tertiolecta*)、および *D. ヴィリディ*
ス (*D. viridis*) を含む、*ドナリエラ* (*Dunalialla*); *E. ヴィリディ*
ス (*E. viridis*) を含む、*エレモスファエラ* (*Eremosphaera*);
エリプソイデン (*Ellipsoidon*); *エウグレナ* (*Euglena*); *フランセ*
イア (*Franceia*); *F. クロトネンシス* (*F. crotonensis*) を含む
 、*フラギラリア* (*Fragilaria*); *グレオカプサ* (*Gleocapsa*); *グロ*
エオサムニオン (*Gloeothamnion*); *ヒメノモナス* (*Hymenomonas*)
); *I. aff. ガルバナ* (*I. aff. galbana*) および *I. ガルバナ* (*I.*
galbana) を含む、*イソクリシス* (*Isochrysis*); *レボシンクリス* (*L-*
epocinclis); *ミクラクチニウム* (*Micractinium*) (*UTEX*
LB2614 を含む); *M. ミヌツム* (*M. minutum*) を含む、*モノラフィディウ*
ム (*Monoraphidium*); *モノラフィディウム* (*Monoraphidium*)
); *ナンノクロリス* (*Nannochloris*); *N. サリナ* (*N. salina*) を
 含む、*ナンノクロロプシス* (*Nannochloropsis*); *N. アクセプタタ* (*N.*
acceptata)、*N. ビスカンテラエ* (*N. biskanterae*)、*N. シ*
ュードテネロイデス (*N. pseudotenelloides*)、*N. ペリクロサ* (*N.*
pelliculosa)、および *N. サプロフィラ* (*N. saprophila*) を
 含む、*ナビクラ* (*Navicula*); *ネオクロリス・オレオアブندان* (*Neoch-*
loris oleabundans); *ネフロクロリス* (*Nephrochloris*)
); *ネフロセルミス* (*Nephroselmis*); *ニツスチア・コムニス* (*Nitsc*
hia communis); *N. アレクサンドリア* (*N. alexandrina*)、
N. コムニス (*N. communis*)、*N. デイシパタ* (*N. dissipata*)、
N. フルスツルム (*N. frustulum*)、*N. ハンツスチアナ* (*N. hantz-*
schiana)、*N. インコンスピクア* (*N. inconspicua*)、*N. インテル*
メディア (*N. intermedia*)、*N. マイクロセファラ* (*N. microcep-*
hala)、*N. プシラ* (*N. pusilla*)、*N. プシラ・エリプティカ* (*N. pu-*
silla elliptica)、*N. プシラ・モノエンシス* (*N. pusilla*
monoensis)、および *N. クアヅラングラー* (*N. quadrangular*)
 を含む、*ニツスチア* (*Nitzschia*); *オクロモナス* (*Ochromonas*);
O. パルバ (*O. parva*) および *O. プシラ* (*O. pusilla*) を含む、*オオサ*
イステイス (*Oocystis*); *O. リムネティカ* (*O. limnetica*) および
O. スブレヴィス (*O. subbrevis*) を含む、*オスシラトリア* (*Oscilla-*
toria); *P. ベイエリンキイ* (*P. Beijerinckii*) (*SAG2046*
株 を含む) および *P. ケッセレリ* (*P. Kessleri*) (*SAG11.80, 14.*
82, 21.11H9 株 のいずれかを含む) を含む、*パラクロレラ* (*Parachlor-*
ella); *P. アシドフィラ* (*P. acidophila*) を含む、*パスケリア* (*Pa-*
scheria); *パブロバ* (*Pavlova*); *ファンガス* (*Phagus*); *フォル*
ミディウム (*Phormidium*); *プラティモナス* (*Platymonas*); *P.*
カーターアエ (*P. Carterae*) および *P. デンタテ* (*P. dentate*) を含
 む、*プレウロクリシス* (*Pleurochrysis*); *P. スタグノラ* (*P. stag*

10

20

30

40

50

nora) (UTEX 327株を含む)、P. ボルトリセンシス (P. portoricensis)、およびP. モリフォルミス (P. moriformis) (UTEX 1441、1435、1436、1437、1439株を含む) を含む、プロトテカ (Prototheca); シュードクロレラ・アクアティカ (Pseudochlorella aquatica); ピラミモナス (Pyramimonas); ピロボツリス (Pyrobotryps); ロドコッカス・オパクス (Rhodococcus opacus); サルシノイド・クリソフィテ (Sarcinoid chrysophyte); S. アルマツス (S. armatus) およびS. ルベッセンス (S. rubescens) を含む、セネデスムス (Scenedesmus); シゾシツリウム (Schizochytrium); スピロギラ (Spirogyra); スピルリナ・プラテンシス (Spirulina platensis); スチココッカス (Stichococcus); シネココッカス (Synechococcus); テトラエズロン (Tetraedron); T. スエシカ (T. suecica) を含む、テトラセルミス (Tetraselmis); タラッシオシラ・ウェイッスフロギイ (Thalassiosira weissflogii); およびヴィリデイエラ・フリデリシアナ (Viridielia fredericiana) からなる種および属の群からのそれらの種が含まれる。

10

【0068】

微細藻類のための培地および培養条件

微細藻類は、バイオマスを繁殖させるために、液体培地で培養される。微細藻類種は、光の非存在下で、固定炭素および/または固定窒素源を含有する培地で成長させられる。かかる成長は、従属栄養成長として既知である。微細藻類のいくつかの種については、例えば、窒素制限条件下での、10~15日またはそれ以上の日数等の長期間の従属栄養成長は、細胞内の高脂質含量の蓄積をもたらす。

20

【0069】

微細藻類培養培地は、一般的に固定炭素源 (以下で説明される)、固定窒素源 (タンパク質、大豆ミール、酵母エキス、コーンステーパーリカー、アンモニア (純粋または塩の形態)、硝酸エステル、または硝酸塩等)、微量元素 (例えば、亜鉛、ホウ素、コバルト、銅、マンガン、およびモリブデン等の成分を、例えば、 $ZnCl_2$ 、 H_3BO_3 、 $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 、 $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ 、 $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 、および $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$) のそれぞれの形態で含有し、任意にpH維持管理のために緩衝液、およびリン酸エステル (リンの源; 他のリン酸塩を使用することができる) を含有する。他の成分には、特に海水微細藻類のために、塩化ナトリウム等の塩が含まれる。

30

【0070】

特定の例では、クロレラ・プロトテコイデス (Chlorella protothecoides) を培養するのに適した培地には、Proteose Mediumが含まれる。この培地は、純粋培養に適し、1gのプロテオースペプトンを1リットルのBristol Mediumへ添加することによって、1L体積の培地 (pH約6.8) を調製することができる。Bristol培地は、水溶液中に2.94mM $NaNO_3$ 、0.17mM $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 、0.3mM $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 、0.43mM、1.29mM KH_2PO_4 、および1.43mM $NaCl$ を含む。1.5%寒天培地については、15gの寒天を、1Lの溶液に添加することができる。溶液は蓋をされ、加圧滅菌され、次いで使用前に冷蔵温度で保管される。クロレラ・プロトテコイデス (Chlorella protothecoides) を、乾燥重量の割合として高い油量に成長および繁殖させるための他の方法が説明されている (例えば、Miao and Wu, J. Biotechnology, 2004, 11: 85-93 および Miao and Wu, Biosource Technology (2006) 97: 841-846 (55%の油乾燥細胞重量を獲得するための発酵方法を説明している) を参照のこと)。高油藻類は、一般的に、窒素制限下で過剰の炭素源を提供しながら、発酵の期間を延長させることによって生成され得る。

40

【0071】

50

固体および液体成長培地は、一般的に多種多様の源から入手可能であり、多種多様の微生物株に適した特定の培地の調整についての指示は、例えば、Austin、University of Texas (UTEX) により藻類の培養収集について維持管理されるサイトにて、オンラインで見出され得る。例えば、種々の未使用の水培地には、1/2、1/3、1/5、1X、2/3、2X CHEV Diatom Medium; 1:1 DYIII/PEA+Gr+; Ag Diatom Medium; Allen Medium; BG11-1 Medium; Bold 1NV and 3N Medium; Botryococcus Medium; Bristol Medium; Chu's Medium; CR1、CR1-S、and CR1+Diatom Medium; Cyanidium Medium; Cyanophycean Medium; Desmid Medium; DYIII Medium; Euglena Medium; HEPES Medium; J Medium; Malt Medium; MES Medium; Modified Bold3N Medium; Modified COMBO Medium; N/20 Medium; Ochromonas Medium; P49 Medium; Polytomella Medium; Proteose Medium; Snow Algae Media; Soil Extract Medium; Soilwater: BAR、GR-、GR-/NH4、GR+、GR+/NH4、PEA、Peat、およびVT Medium; Spirulina Medium; Tap Medium; Trebouxia Medium; Volvocacean Medium; Volvocacean-3N Medium; Volvox Medium; Volvox-Dextrose Medium; Waris Medium; ならびに Waris+Soil Extract Medium が含まれる。Various Salt Water Media には、1%、5%、および 1X F/2 Medium; 1/2、1X、および 2X Erdschreiber's Medium; 1/2、1/3、1/4、1/5、1X、5/3、および 2X Soil+Seawater Medium; 1/4 ERD; 2/3 Enriched Seawater Medium; 20% Allen+80% ERD; Artificial Seawater Medium; BG11-1+36% NaCl Medium; BG11-1+1% NaCl Medium; Bold 1NV: Erdshreiber (1:1) および (4:1); Bristol-NaCl Medium; Dasycladales Seawater Medium; ES/10、ES/2、および ES/4 を含む、1/2 および 1X Enriched Seawater Medium; F/2+NH4; LDM Medium; Modified 1X および 2X CHEV; Modified 2X CHEV+Soil; Modified Artificial Seawater Medium; Porphyridium Medium; ならびに SS Diatom Medium が含まれる。

【0072】

本明細書で提供される方法と共に使用するための他の好適な培地は、SAG、CCAP、または CCALA 等の微生物の培養物を維持管理する他の組織を閲覧することによって、容易に特定され得る。SAG は、University of Goettingen (Goettingen、Germany) における、藻類の培養収集 (Culture Collection of Algae) に言及し、CCAP は、Scottish Association for Marine Science (Scotland、United Kingdom) によって管理される、藻類および原生動物の培養収集 (culture collection of algae and protozoa) に言及し、CCALA は、Institute of Botany (Trebouk、Czech Republic) における、藻類研究所の培養収集 (culture collection of algal laboratory) に言及する。

【0073】

本開示の方法に基づき有用な微生物は、世界中の種々の場所および環境で見出される。

他の種からのそれらの単離、およびそれらの得られた進化分岐の結果として、油および/または脂質および/またはタンパク質を、微小生命体のあらゆる特定の種から最適に成長させ、生成するための特定の成長培地は、予測が困難または不可能であり得るが、当業者は、本明細書の開示を考慮した所定の試験によって、適切な培地を容易に見出すことができる。ある場合には、微生物のある種は、一部の阻害成分の存在のために、または微生物の特定株によって必要とされる一部の必須栄養要件の非存在のために、特定の成長培地上で成長できない可能性がある。以下の例は、乾燥細胞重量の割合として高体積の脂質を蓄積するために、微細藻類の種々の種を培養する例示的方法を提供する。

【0074】

培地に使用するための固定炭素源には、例えば、ブドウ糖、果糖、ショ糖、ガラクトース、キシロース、マンノース、ラムノース、アラビノース、N-アセチルグルコサミン、グリセロール、フロリドシド、グルクロン酸、および/またはアセテートが含まれる。

10

【0075】

加工条件は、脂質である細胞の重量パーセントを増加させるために調節され得る。例えば、ある実施形態では、微細藻類は、ブドウ糖等の過剰の炭素源を提供しながら、例えば、窒素、リン、または硫黄等の1つ以上栄養素の制限濃度の存在下で培養される。窒素制限は、窒素が過剰に提供される培養物内の微生物脂質収率を上回って、微生物脂質収率を増加させる傾向がある。特定の実施形態では、脂質収率の増加は、少なくとも約10%、50%、100%、200%、または500%である。微小生命体は、全培養期間の一部、または期間全体にわたり、制限量の栄養素の存在下で培養され得る。いくつかの実施形態では、栄養素濃度は、全培養期間中に少なくとも2回、制限濃度と非制限濃度との間で循環させられる。

20

【0076】

安定した成長状態で、細胞は油を蓄積するが、細胞分割を経ることはない。一実施形態では、成長状態は、固定窒素源を除いて、元の成長培地の全ての成分を細胞に提供し続けることによって維持される。細胞に、固定窒素源を除いて、元々提供された全ての栄養素を、細胞に長期間供給することを通じて等で、供給することによって、微細藻類細胞を栽培することは、乾燥細胞重量で高い割合の脂質をもたらす。

【0077】

他の実施形態では、高脂質バイオマスは、全ての固定窒素が、少なくとも1週間または2週間等の長期間にわたり消費された後に、固定炭素源を細胞に供給することによって生成される。いくつかの実施形態では、細胞は、固定炭素源の存在下および固定窒素源の非存在下で、20日以上にわたり油を蓄積させられる。本明細書で説明される条件を用いて、または当技術分野で既知の他の方法で成長した微細藻類は、乾燥重量で少なくとも約20%の脂質を含み得、しばしば乾燥重量で35%、45%、55%、65%、および75%以上もの脂質を含む。したがって、微生物脂質の産生における、脂質としての乾燥細胞重量の割合は、細胞が炭素を消費し、油を蓄積するが、細胞分割を経ることはないような従属栄養成長状態に細胞を保持することによって、改善され得る。

30

【0078】

有機窒素源は、1900代初期以来、微生物培養に使用されている。コーンステープリカー等の有機窒素源の使用は、ペニシリンのかびからの産生と共に一般に普及した。研究者らは、コーンステープリカーの培養培地への含有が、微生物の成長を促進させ、生成物(ペニシリン等)における収率増加をもたらすことを見出した。コーンステープリカーの分析により、それが窒素、またさらにB複合ビタミン、リボフラビン、パントテン酸、ナイアシン、イノシトール等のビタミン、ならびにカルシウム、鉄分、マグネシウム、リン、およびカリウム等の無機栄養素の豊富な源であることが決定された(Liggett and Koffler, *Bacteriological Reviews* (1948); 12(4): 297-311)。コーンステープリカー等の有機窒素源は、酵母、バクテリア、菌類、および他の微生物のための発酵培地に使用されている。有機窒素源の非限定的例としては、酵母エキス、ペプトン、コーンステープリカー、およびコー

40

50

ンステープパウダーが挙げられる。好ましい無機窒素源の非限定的例としては、例えば、制限なしに $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ および NH_4OH が挙げられる。一実施形態では、培養培地は、無機窒素源のみを含有する。別の実施形態では、培養培地は、有機窒素源のみを含有する。さらに別の実施形態では、培養培地は、有機および無機窒素源の混合物を含有する。

【0079】

いくつかの実施形態では、それらの生理的循環の種々の期を通じて、微細藻類細胞を培養するために、バイオリアクタまたは発酵槽が使用される。例としては、脂質を産生する微細藻類細胞の接種材料は、培地内に導入されるが、細胞が繁殖し始める前に、遅滞期間（遅滞期）が存在する。遅滞期間に続いて、繁殖率は安定的に増加し、対数または指数増殖期に入る。指数増殖期に続き、窒素等の栄養素の減少、有害物質の増加、および菌体密度感知機構に起因する繁殖の減速が生じる。この減速の後に、繁殖は停止し、細胞は、細胞に提供される特定の環境に依存して、静止期または安定的成長状態に入る。タンパク質の豊富なバイオマスを獲得するために、培養物は、一般的に指数増殖期の間または直後に収集される。脂質の豊富なバイオマスを獲得するために、培養物は、一般的に指数増殖期のかなり後に収集されるが、指数増殖期は、窒素または別の主要な栄養素（炭素以外）を枯渇させることによって早期に終了され得、それにより過剰に存在する炭素源を脂質に変換することを細胞に強いる。培養物条件パラメータは、産生された脂質の種の組み合わせ、および/または特定の油の産生である、総計の油の産生を最適化するために操作され得る。

10

20

【0080】

バイオリアクタは、従属栄養成長および繁殖方法に使用するための多くの利点を提供する。理解されるであろうが、従属栄養成長において固定炭素源を用いる場合、光合成成長方法での細胞に対して光を利用可能にするようにされた設備は不要であり、繁殖方法は本明細書で説明される。工業製品に使用するためのバイオマスを生産するために、微細藻類は好ましくは、例として懸濁培養液等の液体で、大量に発酵させられる。スチール発酵槽等のバイオリアクタ（5000リットル、10,000リットル、40,000リットル、およびそれを上回るサイズ）は、非常に大きい培養体積を収容することができる。バイオリアクタはまた、一般的に温度、pH、酸素圧、および二酸化炭素濃度等の培養条件の制御を可能にする。例えば、バイオリアクタは、一般的に、例えば、管材に連結されたポートを用いて、酸素または窒素等のガスを含む構成要素が、液体培養中で泡立つことを可能するように構成可能である。

30

【0081】

バイオリアクタは、微細藻類が繁殖し、数を増加させる間である期間を通じて、培養培地を、バイオリアクタに流入されるように構成され得る。いくつかの実施形態では、例えば、培地は、接種後であるが、細胞が所望の密度に到達する前に、バイオリアクタに注入され得る。他の例では、バイオリアクタは、培養の初めに培養培地で満たされ、培養培地は、培養物が接種された後は注入されない。言い換えれば、微細藻類バイオマスは、微細藻類が繁殖し、数を増加させる間である一定期間に水性培地で培養される。しかしながら、多量の水性培養培地は、この期間を通じてバイオリアクタへ流入されない。したがっていくつかの実施形態では、水性培養培地は、接種後、バイオリアクタへ流入されない。

40

【0082】

加圧ガス注入のための手段である、回転刃および羽根、振動機構、攪拌バー等の装置を装備されたバイオリアクタは、微細藻類培養物を混合に供するために使用され得る。混合は、継続的または間欠的であってもよい。例えば、いくつかの実施形態では、ガス注入および培地注入の乱流様式は、該微細藻類の数の所望の増加が達成されるまで、微細藻類の繁殖のために維持されない。

【0083】

以上で簡単に言及したとおり、バイオリアクタはしばしば、例えば、微細藻類の培養物のガス含量を操作することを可能にするような、種々のポートを装備される。例示すると

50

、バイオリアクタの体積の一部は、液体よりはむしろガスであり得、バイオリアクタのガス注入口は、ガスの、バイオリアクタ内へのポンプ注入を可能にする。バイオリアクタ内に有益にポンプ注入され得るガスには、大気、大気/CO₂混合物、アルゴン等の希ガス、および他のガスが含まれる。バイオリアクタは、一般的に、ユーザが、ガスのバイオリアクタへの注入率を制御することを可能にするように装備される。上述のとおり、バイオリアクタへのガス流入を増加させることは、培養物の混合を増加させるために使用される。

【0084】

ガス流入の増加は、培養物の濁度にも影響する。乱流は、バイオリアクタに入るガスが、培養物の表面に向かって泡立つように、ガス注入ポートを、水性培養培地の位置より下に配置することによって達成され得る。1つ以上のガス排出ポートは、ガスが脱出することを可能にし、それによってバイオリアクタ内の圧力の蓄積を防止する。好ましくは、ガス排出ポートは、汚染微生物がバイオリアクタに入ることを防止する「一方向」弁につながる。

10

【0085】

本明細書で説明されるバイオリアクタ、培養条件、ならびに従属栄養成長および繁殖方法の特定の例は、微生物成長ならびに脂質および/またはタンパク質産生の効率を改善するためのあらゆる好適な方法で組み合わせることができる。

【0086】

発酵後の微細藻類の濃縮

以上で説明される方法に従って生成される微細藻類培養物は、発酵培地内で微細藻類バイオマスを生産する。工業製品組成物として使用するためのバイオマスを調製するために、バイオマスは、発酵培地から濃縮または収集される。微細藻類バイオマスを発酵培地から収集した時点で、バイオマスは、水性培養培地に懸濁した、主に無処置の細胞を含む。バイオマスを濃縮するために、脱水ステップが実施される。脱水または濃縮は、バイオマスの発酵培養液または他の液体培地からの分離に言及し、したがってそれは固体-液体分離である。したがって、脱水の間、培養培地は、バイオマスから除去されるか（例えば、発酵培養液を、バイオマスを保持するろ過器を通して排水することによって）、またはバイオマスが他の方法で、培養培地から除去される。脱水のための一般的な加工には、遠心分離、ろ過、および機械的圧力の使用が含まれる。これらの加工は、個別でまたはあらゆる組み合わせで使用されることができる。

20

30

【0087】

遠心分離は、混合物を分離するための遠心力の使用を伴う。遠心分離の間、混合物のより高密度の成分は、遠心分離機の軸から離れて移動する一方で、混合物のそれほど高密度でない成分は軸の方向へ移動する。有効重力を増加させることによって（すなわち、遠心分離速度を高めることによって）、固体等のより高密度の物質は、液体等のそれほど高密度でない物質から分離し、そのようにして密度に従って分離される。バイオマスおよび培養液、または他の水溶液の遠心分離により、微細藻類細胞を含む濃縮ペーストが形成される。遠心分離は、有意な量の細胞内水分を除去しない。実際、遠心分離の後、バイオマス中に依然としてかなりの量の表面水分または自由水分が存在し得（例えば、70%を上回る）、したがって遠心分離は、乾燥させるステップであると見なされない。

40

【0088】

ろ過はまた、脱水のために使用されてもよい。ろ過の一例としては、直交流ろ過としても知られる、タンジェント流ろ過(TFF)がある。タンジェント流ろ過は、固体を液体から分離するために、膜システムおよび流体力を使用する分離技術である。例示的な好適ろ過方法については、Geresch, Carb. Polym. 50; 183-189 (2002)を参照されたく、それはMaxCell A/G Technologiesの0.45 μMの中空繊維ろ過器の使用を説明する。また、例えば、100 kD、300 kD、1000 kD膜(カタログ番号P2C01MC01)、0.1 μM膜(カタログ番号P2VVPV01)、0.22 μM(カタログ番号P2GVPPV01)、および0.

50

45 μ M膜（カタログ番号P2HVMPV01）と共に使用されるMillipore Pellicon（登録商標）装置も参照のこと。残余分は、好ましくはろ過器を有意な水準で通過せず、残余分中の生成物は、好ましくはろ過器物質に付着しない。TFFはまた、中空繊維ろ過システムを用いて行われ得る。少なくとも約0.1マイクロメートルの細孔径、例えば、約0.12、0.14、0.16、0.18、0.2、0.22、0.45、または少なくとも約0.65マイクロメートルの細孔径を備えるろ過器が好適である。TFFの好ましい細孔径は、発酵培養液中の溶質および残屑が流入することを可能にするが、微生物細胞が流入することは可能にしない。

【0089】

脱水はまた、液体発酵培養液を、バイオマスを脱水するのに十分であるが、細胞の主要な溶解を引き起こさない微生物バイオマスから分離するために、バイオマスに直接に適用された機械的圧力で達成され得る。微生物バイオマスを脱水するための機械的圧力は、例えば、ベルトフィルタプレスを用いて適用され得る。ベルトフィルタプレスは、2つの張力をかけたベルトの間から、次第に狭まるロール径の蛇行路を通過させられるスラリーに、機械的圧力を適用する脱水装置である（例えば、発酵槽またはバイオリアクタから直接に取得される微生物バイオマス）。ベルトフィルタプレスは、実際は3つのゾーンに分割され得る：自由排水水/液体が多孔質ベルトを通して重力によって排水される、重力ゾーン；固体が、圧力適用のために調製される、くさびゾーン；および調節可能な圧力が重力により排水された固体に適用される、圧力ゾーン。

【0090】

濃縮後、微細藻類バイオマスは、本明細書の以下で説明されるとおり、真空包装固形物、藻類フレーク、藻類ホモジネート、藻類粉末、藻類粉、または藻類油を産生するために加工されることができる。

【0091】

微細藻類バイオマスの化学組成

本明細書で説明される培養方法によって生成される微細藻類バイオマスは、微細藻類油および/またはタンパク質、ならびに微生物によって生成されるか、発酵の間に培養地からの微生物によって組み込まれる他の成分を含む。

【0092】

乾燥重量で高い割合の油/脂質蓄積を備える微細藻類バイオマスは、当技術分野で既知の方法を含む、異なる培養の方法を用いて生成されている。高い割合の蓄積された油/脂質を備える微細藻類バイオマスは、本開示に基づいて有用である。高鉄分（Fe）濃度を用いて、独立栄養条件下で成長した静置培養内の、乾燥細胞重量（DCW）で上限56.6%の脂質を備えるクロレラ・ブルガリス（*Chlorella vulgaris*）培養物が、説明されている（Li et al., *Bioresource Technology* 99(11): 4717-22 (2008)）。光バイオリアクタ窒素飢餓条件下で成長した、それぞれDCWで60%の脂質およびDCWで39.8%の脂質を備える、ナンノクロロプシス種（*Nannochloropsis* sp.）およびキートセラスカリストランス（*Chaetoceros calcitrans*）培養物もまた説明されている（Rodolfi et al., *Biotechnology & Bioengineering* (2008)）。光合成および低窒素条件下で成長した場合の、DCWで約30%の脂質を備えるパリエトクロリス・インシサ（*Parietochloris incise*）培養物が、説明されている（Solovchenko et al., *Journal of Applied Phycology* 20: 245-251 (2008)）。窒素飢餓状態の特定の従属栄養条件下で成長した場合、クロレラ・プロトテコイデス（*Chlorella protothecoides*）は、DCWで上限55%の脂質を産生することができる（Miao and Wu, *Bioresource Technology* 97: 841-846 (2006)）。低窒素培地条件下で、攪拌タンクバイオリアクタ内で成長した場合、クロレラ・エメルソニー（*Chlorella emersonii*）、クロレラ・ソロキニアナ（*Chlorella sorokii*

niana)、およびクロレラ・ミヌチシマ(*Chlorella minutissima*)を含む他のクロレラ(*Chlorella*)種は、DCWで上限63%の油を蓄積していることが説明されている(Illman et al., *Enzyme and Microbial Technology* 27: 631-635 (2000))。DCWでさらに高い割合の脂質が報告されており、それらは高濃度NaCl条件下で成長したデュナリエラ・ターティオレクタ(*Dumaliella tertiolecta*)培養物における70%の脂質(Takagi et al., *Journal of Bioscience and Bioengineering* 101(3): 223-226 (2006))およびボツリオコッカス・ブラウニイ(*Botryococcus braunii*)培養物における75%の脂質(Banerjee et al., *Critical Reviews in Biotechnology* 22(3): 245-279 (2002))を含む。

10

【0093】

従属栄養成長は、相対的に低クロロフィル含量をもたらす(開放池または閉鎖型光バイオリアクタ系等の栄養系と比較して)。従属栄養的に成長した微細藻類中に見出される低減されたクロロフィル含量(例えば、クロレラ)はまた、光合成で成長した微細藻類と比較して、バイオマス中の緑色を低減する。

【0094】

本明細書で説明される培養方法によって生成され、本開示に基づいて有用な、油の豊富な微細藻類バイオマスは、DCW(乾燥細胞重量)で少なくとも10%の微細藻類油を含む。いくつかの実施形態では、微細藻類バイオマスは、DCWで少なくとも15%、25%、50%、75%、または少なくとも90%の微細藻類油を含む。

20

【0095】

本明細書で説明される(またはバイオマスから抽出された)バイオマスの微細藻類油は、1つ以上の独特な脂肪酸エステル側鎖を備えるグリセロ脂質を含み得る。グリセロ脂質は、1個、2個、または3個の脂肪酸分子とエステル結合したグリセロール分子からなり、それは種々の長さであり得、種々の飽和度を有し得る。藻類油の特定の混合物は、藻類の単一種内で、または微細藻類の2つ以上の種からのバイオマス(または藻類油)を共に混合することによるいずれかで調製され得る。

【0096】

したがって、油組成、すなわち、グリセロ脂質の脂肪酸成分の特性および割合もまた、微細藻類の少なくとも2つの独特な種からのバイオマス(または油)を組み合わせることによって、操作され得る。いくつかの実施形態では、微細藻類の少なくとも2つの独特な種は、異なるグリセロ脂質プロファイルを有する。微細藻類の独特な種は、それぞれの油を生成するために、好ましくは従属栄養条件下で、本明細書で説明されるとおり共にまたは別個で培養され得る。微細藻類の異なる種は、細胞のグリセロ脂質内に、異なる割合の独特な脂肪酸成分を含有し得る。

30

【0097】

いくつかの実施態様では、微細藻類油は、主として一不飽和油を含んでなる。ある場合には、藻類油は重量で少なくとも20%の一不飽和油である。様々な実施態様で、藻類油は重量または体積で少なくとも25%、50%、75%以上が一不飽和油である。いくつかの実施態様では、一不飽和油は18:1、16:1、14:1または12:1である。いくつかの実施態様では、微細藻類油は、重量または体積で少なくとも10%、20%、25%、または50%以上のエステル化オレイン酸またはエステル化-リノレン酸を含んでなる。少なくとも1つの実施態様では、藻類油は重量または体積で10%未満、5%未満、3%未満、2%未満、または1%未満のエステル化ドコサヘキサン酸(DHA(22:6))を含んでなり、またはそれを実質的に含まない。クリプトコジニウム・コーニイ(クリプトコジニウム(*Cryptocodinium*) *cohnii*)中などでの高DHA含有微細藻類産生の例については、米国特許第7,252,979号明細書、米国特許第6,812,009号明細書、および米国特許第6,372,460号明細書

40

50

を参照されたい。

【0098】

本開示で説明される培養方法によって生成され、高タンパク質に関連する本発明のそれらの実施形態に基づいて有用な微細藻類バイオマスは、一般的に乾燥細胞重量で少なくとも30%のタンパク質を含む。いくつかの実施形態では、微細藻類バイオマスは、乾燥細胞重量で少なくとも40%、50%、75%以上のタンパク質を含む。いくつかの実施形態では、微細藻類バイオマスは、乾燥細胞重量で30~75%のタンパク質、または乾燥細胞重量で40~60%のタンパク質を含む。いくつかの実施形態では、微細藻類バイオマス中のタンパク質は、少なくとも40%の可消化粗タンパク質を含む。他の実施形態では、微細藻類バイオマス中のタンパク質は、少なくとも50%、60%、70%、80%、または少なくとも90%の可消化粗タンパク質を含む。いくつかの実施形態では、微細藻類バイオマス中のタンパク質は、40~90%の可消化粗タンパク質、50~80%の可消化粗タンパク質、または60~75%の可消化粗タンパク質を含む。

10

【0099】

微細藻類バイオマス(およびそこから抽出された油)はまた、微細藻類によって産生された、または培養培地からのバイオマスに組み込まれた他の成分を含み得る。これらの他の成分は、使用される培養条件および微細藻類の種(ならびに、該当する場合、微細藻類油をバイオマスから回収するために使用される抽出方法)に依存して、種々の量で存在し得る。他の成分には、制限なしに、リン脂質(例えば、藻類レシチン)、炭水化物、可溶性および不溶性繊維、糖タンパク質、フィトステロール(例えば、 α -シトステロール、カンペステロール、スチグマステロール、エルゴステロール、およびブラシカステロール)、トコフェロール、トコトリエノール、カロテノイド(例えば、 β -カロテン、 α -カロテン、およびリコピン)、キサントフィル(例えば、ルテイン、ゼアキサントフィル、クリプトキサントフィル、および β -クリプトキサントフィル)、タンパク質、多糖類(例えば、アラビノース、マンノース、ガラクトース、6-メチルガラクトース、およびブドウ糖)、ならびに種々の有機または無機化合物(例えば、セレン)が含まれる。微細藻類ステロールは、セクションIV(f)および実施例26に記載される(described)ようなスキンケア製品に組み込まれた場合、抗炎症、抗マトリックス破壊、および皮膚バリアー効果の改善を有してもよい。

20

【0100】

ある場合には、バイオマスは、少なくとも10ppmのセレンを含む。ある場合には、バイオマスは、少なくとも25%w/wの藻類多糖類を含む。ある場合には、バイオマスは、少なくとも15%w/wの藻類糖タンパク質を含む。ある場合には、バイオマスは、0~115mcg/gの総カロチノイドを含んでなる。ある場合には、バイオマスは少なくとも0.5%の藻類リン脂質を含んでなる。ある場合には、藻類バイオマスに由来する油は、少なくとも0.10mg/gの総トコトリエノールを含有する。ある場合には、藻類バイオマスに由来する油は、0.125mg/g~0.35mg/gの総トコトリエノールを含有する。ある場合には、藻類バイオマスに由来する油は、少なくとも5.0mg/100gの総トコフェロールを含有する。ある場合には、藻類バイオマスに由来する油は、5.0mg/100g~10mg/100gのトコフェロールを含有する。

30

40

【0101】

微細藻類バイオマスの加工

主に無処置、またはホモジネート形態のいずれかで、微細藻類バイオマスを乾燥させることは、さらなる加工を促進するために、または本明細書で説明される方法におけるバイオマス、および本明細書で説明される組成物を使用するために有利である。乾燥させるとは、主に無処置のバイオマスからの自由水分または表面水分/水の除去、または均質化された(例えば、微粒子化によって)バイオマスのスラリーからの表面水の除去に言及する。

【0102】

一実施形態では、濃縮微細藻類バイオマスは、この項目のパートAで説明されるとおり

50

、藻類フレークを産生するために、フレーク形態にまでドラム乾燥させられる。別の実施形態では、濃縮微細藻類バイオマスは、この項目のパートBで説明されるとおり、主に無処置の細胞を含有する粉末を形成し、藻類粉末を産生するために、噴霧またはフラッシュ乾燥させられる（すなわち、空気乾燥加工に供される）。別の実施形態では、油は、この項目のパートCで説明されるとおり、藻類油を形成するために、濃縮微細藻類バイオマスから抽出される。

【0103】

A．藻類フレーク

藻類フレークは、回転、加熱ドラムの表面に膜として適用される濃縮微細藻類バイオマスから調製される。乾燥させられた固体は次いで、ナイフまたは刃で削り取られ、細かいフレークがもたらされる。米国特許第6,607,900号は、事前の遠心分離（濃縮）ステップなしに、ドラム乾燥機を用いて微細藻類バイオマスを乾燥させることを説明し、かかる加工は、本開示の方法に基づいて使用されてもよい。

10

【0104】

バイオマスは、乾燥加工の間に高温に曝露され得るため、乾燥前に、酸化防止剤をバイオマスに添加することは有利であり得る。酸化防止剤の添加は、乾燥の間にバイオマスを保護するだけでなく、保管される場合に乾燥微細藻類バイオマスの保存期間を延長させるであろう。好ましい実施形態では、酸化防止剤は、乾燥または均質化等の、後の加工の前に、微細藻類バイオマスに添加される。

20

【0105】

さらに、脱水された微細藻類バイオマスの産生と、後の加工ステップとの間にかかなりの時間が存在する場合、乾燥前に、バイオマスを低温殺菌することは有利であり得る。バイオマスの産生と、乾燥との間にかかなりの時間が存在する場合、リパーゼからの遊離脂肪酸が形成され得る。一実施形態では、低温殺菌された微細藻類バイオマスは、藻類フレークである。

【0106】

B．藻類粉末

本開示の藻類粉末は、空気または噴霧乾燥機を用いて、濃縮微細藻類バイオマスから調製される（例えば、米国特許第6,372,460号を参照のこと）。噴霧乾燥機では、液体懸濁液中の物質は、微細液滴分散で熱風の気流へ噴霧される。混入物質は、迅速に乾燥させられ、乾燥粉末を形成する。ある場合には、パルス燃焼乾燥機もまた、最終的な乾燥させられた物質における粉末状の質感を達成するために使用され得る。他の場合には、乾燥させられた微生物バイオマスのための最適条件を達成するために、噴霧乾燥に続いて流動床乾燥機を使用する組み合わせが使用される（例えば、米国特許第6,255,505号を参照のこと）。代替として、空気乾燥機もまた、藻類粉末の産生に使用され得る。空気乾燥機は、熱風の気流で乾燥させられる物質を引き込むか、または混入する。物質が熱風に混入される間、水分は、迅速に除去される。乾燥させられた物質は、次いで湿った空気から分離され、湿った空気は、次いでさらなる乾燥のために再循環させられる。

30

【0107】

C．藻類粉

本開示の藻類粉は、機械的に溶解させられ、均質化され、ホモジネート噴霧またはフラッシュ乾燥されて（または別の空気乾燥システムを用いて乾燥させられる）濃縮微細藻類バイオマスから調製される。藻類粉の製造には、細胞を溶解して油を放出させるステップと、細胞壁および細胞内成分を平均粒度10 μ m以下に、微粉化または縮小させるステップとが必要である。乾燥に先だてて油が分散体から分離しないように、得られた油、水、および微粉化粒子を乳化する。例えば、圧力破壊器は、細胞を溶解させるために、スラリーを含有する細胞を、制限オリフィス弁にポンプで送り込むために使用され得る。高圧（上限1500パール）が適用され、続いて排出ノズルを通じて即時の拡張が行われる。3つの異なる機構によって、細胞破壊が遂行される：弁上での衝突、オリフィス内での高液体せん断、および細胞の爆砕を引き起こす排出直後の突如の圧力低下。この方法は、細胞

40

50

内分子を放出させる。細胞を主に長さ0.2~5ミクロンの粒子に加工するために、Nirro (Nirro Soavi GEA) ホモジナイザー (またはあらゆる他の高圧ホモジナイザー) が使用される。藻類バイオマスの高圧下での加工 (約1000バール) は、一般的に細胞の90%を超える部分を溶解させ、粒度を5ミクロン未満に縮小させる。

【0108】

代替的に、ボールミルを使用することができる。ボールミルでは、細胞は、ピーズ等の小研磨粒子と共に懸濁液中で攪拌される。細胞は、せん断力、ピーズ間の研磨、およびピーズとの衝突によって壊れる。ピーズは、細胞を破壊し、細胞内内容物を放出する。一実施形態では、藻類バイオマスは、Dyno-mill ECM Ultra (CB Mills) ボールミルを用いて破壊され、安定的乳液に形成される。細胞はまた、細胞を破壊するための混合器の使用 (例として、高速またはWarning混合器等による)、加圧型細胞破壊装置、または弱い細胞壁の場合は遠心分離等によるせん断力によって破壊され得る。寸法および刃の細目を含む好適なボールミルボールについては、米国特許第5,330,913号で説明される。

10

【0109】

均質化の直接生成物は、油および水中に懸濁した、元の細胞より寸法の小さい粒子のスラリーである。粒子は、細胞残屑を示す。油および水は、細胞によって置き換えられる。均質化の前に、さらなる水が、細胞を含有する水性培地によって提供される。粒子は、好ましくは微粒化したホモジネート形態である。放置された場合、より小さな粒子の一部は癒着する可能性がある。しかしながら、小粒子の均等分散は、微結晶セルロース等の微結晶安定剤の播種によって保護され得る。

20

【0110】

藻類粉を形成するために、スラリーを噴霧乾燥またはフラッシュ乾燥して水を除去し、細胞残骸と油とを含有する乾燥力を残す。粉末の含油量は、乾燥粉末の少なくとも10、25または50重量%であり得るが、粉末は脂肪性よりもむしろ乾性の感触と外観を有し得て (例えば目に見える油を欠く)、振盪すると自由に流動し得る。様々な流動性改良剤 (シリカ由来製品を含む) もまた添加し得る。高脂肪、吸湿性または粘着性粉末へのこれらの材料の適用は、乾燥後および包装内での凝結を防止して、乾燥粉末の自由な流動を促進し、乾燥機表面の材料の付着、蓄積および酸化を低下させ得る。全て、FDA指定の最大レベルでの食品用途について認可される。乾燥後、粉末の水または水分含量は、典型的に10%、5%、3%または1重量%未満である。空気圧式乾燥機またはバルス燃焼乾燥機などのその他の乾燥機もまた、藻類粉の製造に使用し得る。

30

【0111】

藻類粉の油含量は、藻類バイオマスの油の割合に依存して異なり得る。藻類粉は、種々の油含量の藻類バイオマスから産生され得る。ある実施形態では、藻類粉は、同一の油含量の藻類バイオマスから産生される。他の実施形態では、藻類粉は、異なる油含量の藻類バイオマスから産生され得る。後者の場合、種々の油含量の藻類バイオマスは、組み合わせられることができ、次いで均質化ステップが実施される。他の実施形態では、種々の油含量の藻類粉は、所望の最終的な油含量を含有する藻類粉生成物を達成するために、最初に産生され、次いで種々の割合で共に混合される。さらなる実施形態では、異なる脂質プロファイルの藻類バイオマスは、共に組み合わせられることができ、次いで藻類粉を産生するために均質化され得る。別の実施形態では、異なる脂質プロファイルの藻類粉は、所望の最終的な脂質プロファイルを含有する藻類粉生成物を達成するために、最初に産生され、次いで種々の割合で共に混合される。

40

【0112】

D. 藻類油

藻類油は、溶解バイオマスから分離され得る。油抽出後に残存する藻類バイオマスは、脱脂ミール、脱脂細胞、または脱脂バイオマスと称される。脱脂ミールは、乾燥重量または体積基準で、微細藻類が抽出前に含有したよりも少ない油を含有する。典型的に、脱脂ミールが、例えば、抽出前のバイオマスの含油量の10~50%を含有するように、50

50

～ 90%の油が抽出され得る。

【0113】

いくつかの実施形態では、藻類油は、少なくとも50% w/wのオレイン酸であり、5%未満のDHAを含有する。この方法のいくつかの実施形態では、藻類油は、少なくとも50% w/wのオレイン酸であり、0.5%未満のDHAを含有する。この方法のいくつかの実施形態では、藻類油は、少なくとも50% w/wのオレイン酸であり、18を超える炭素鎖長を含有する5%未満のグリセロ脂質を含有する。ある場合には、藻類油が獲得される源である藻類細胞は、微細藻類の少なくとも2つの独特な種からの細胞の混合物を含む。ある場合には、微細藻類の少なくとも2つの独特な種は、別個で培養される。少なくとも1つの実施形態では、微細藻類の少なくとも2つの独特な種は、異なるグリセロ脂質プロファイルを有する。ある場合には、藻類細胞は、従属栄養条件下で培養される。ある場合には、微細藻類の少なくとも2つの独特な種の全ては、乾燥重量で少なくとも10%、または少なくとも15%の油を含有する。

10

【0114】

脂質を含有する微細藻類は、溶解物を産生するために溶解させられ得る。本明細書で詳述されるとおり、微生物を溶解させるステップ（細胞溶解とも称される）は、熱誘導溶解、塩基の添加、酸の添加、プロテアーゼおよびアミラーゼ等の多糖類分解酵素等の酵素の使用、超音波の使用、機械的圧力ベースの溶解、ならびに浸透圧衝撃を用いる溶解を含む、あらゆる簡便な手段によって達成され得る。微生物を溶解させるためのこれらの方法の各々は、単一の方法として、または同時にもしくは順次に組み合わせて使用され得る。細胞破壊の程度は、顕微分析によって観察され得る。以上の方法の1つ以上を用いて、一般的に70%を超える細胞破壊が観察される。好ましくは、細胞破壊は、80%を超える、より好ましくは90%を超える、および最も好ましくは約100%の細胞破壊である。

20

【0115】

微細藻類バイオマスまたはそれに由来する物質とその他の工業用潤滑剤成分とを組み合わせる

一態様では、微細藻類バイオマスを少なくとも1つの他の金属加工油剤成分と組み合わせて、金属加工油剤組成物を形成する方法が提供される。

【0116】

場合によっては、微細藻類バイオマスの組み合わせによって形成される金属加工油剤組成物は、少なくとも1%、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも25%、または少なくとも50% w/wの微細藻類バイオマスを含んでなる。いくつかの実施形態では、金属加工組成物の微細藻類バイオマスの油は、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、または少なくとも95%のオレイン酸の脂肪酸プロファイルを有する。場合によっては、脂肪酸プロファイルは、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.9%、0.8%、0.7%、0.6%、0.5%、0.4%、0.3%、0.2%、0.1%、0.05%、または0.01%未満の多価不飽和脂肪酸を有する。

30

【0117】

場合によっては、微細藻類油の組み合わせによって形成される金属加工油剤組成物は、少なくとも1%、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも25%、少なくとも50%、少なくとも70%、少なくとも90%、または少なくとも99% w/wの微細藻類油を含んでなる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるように形成される金属加工油剤組成物は、少なくとも2%、少なくとも3%、少なくとも4%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、または少なくとも95% w/wの微細藻類油を含んでなる。いくつかの実施形態では、金属加工組成物の微細藻類油は、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、または少なくとも90%のオレイン酸の脂肪酸プロファイルを有する。場合によっては、

40

50

脂肪酸プロファイルは、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.9%、0.8%、0.7%、0.6%、0.5%、0.4%、0.3%、0.2%、0.1%、0.05%、または0.01%未満の多価不飽和脂肪酸を有する。

【0118】

場合によっては、微細藻類脂肪酸エステルの組み合わせによって形成される金属加工油剤組成物は、少なくとも1%、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも25%、少なくとも50%、少なくとも70%、少なくとも90%、または少なくとも99% w/wの微細藻類脂肪酸エステルを含んでなる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるように形成される金属加工油剤組成物は、少なくとも2%、少なくとも3%、少なくとも4%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、または少なくとも95% w/wの微細藻類脂肪酸エステルを含んでなる。いくつかの実施形態では、金属加工組成物の微細藻類脂肪酸エステルは、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、または少なくとも90%のオレイン酸の脂肪酸プロファイルを有する。場合によっては、脂肪酸プロファイルは、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.9%、0.8%、0.7%、0.6%、0.5%、0.4%、0.3%、0.2%、0.1%、0.05%、または0.01%未満の多価不飽和脂肪酸を有する。

10

【0119】

場合によっては、金属加工油剤は、主に無傷微細藻類細胞を含んでなる。場合によっては、組成物は、少なくとも50%の無傷細胞、または少なくとも60%、少なくとも70%、または少なくとも80%の無傷細胞、または少なくとも90%の無傷細胞を含んでなる。

20

【0120】

A. 工業用潤滑剤中の藻類バイオマス、藻類油、および藻類油誘導体の置き換え

場合によっては、微細藻類バイオマスは、さもなければ金属加工油剤製品に慣習的に含まれていたであろう、その他の成分を置き換え得る。少なくとも1つの実施形態では、本発明の方法によって形成される金属油剤組成物は、微細藻類バイオマスによって寄与されてその中に封入される、微細藻類油以外の油を含まない。

30

【0121】

様々な実施形態において、微細藻類バイオマスは、微細藻類バイオマスの成分が、同種の対応する従来の構成成分を置換し、または金属加工油剤組成物に所望の特性を与えるように従来の構成成分を適切に置き換える程度まで、潤滑剤、乳化剤などのような従来の金属加工油剤成分の全部または一部を置き換え得る。

【0122】

B. その他の金属加工油剤成分

微細藻類バイオマスおよび微細藻類油および油誘導体は、本開示の方法において少なくとも1つのその他の金属加工油剤成分と組み合わされて、金属加工油剤組成物を形成する。少なくとも1つの他の金属加工油剤成分は、組成物の意図された使用に関して、微細藻類バイオマスまたは微細藻類油と共に使用するのに適した、従来の金属加工油剤成分から選択され得る。このようなその他の金属加工油剤成分としては、限定されるものではないが、消泡剤、抗菌剤、結合剤、殺生剤、殺菌剤、殺真菌剤、キレート化剤、化学添加剤、pH調整剤、乳化剤、潤滑剤、植物油、石油由来の油、石油誘導体、防蝕剤、極圧添加剤、脱泡剤、アルカリ予備、曇り防止剤、発色剤、付臭剤、界面活性剤、湿潤剤、レオロジー改質剤、染料、およびその他の添加剤が挙げられる。

40

【0123】

その他の金属加工油剤成分の具体例は、以下に記載される。これらの任意の1つまたは複数は、本開示に従って、微細藻類バイオマス、微細藻類油、または微細藻類油誘導体と任意選択的に組み合わせられ、金属加工油剤組成物を形成し得る。以下に記載される成分は

50

、それらの利点または金属加工油剤中のそれらの想定される作用機序によって、分類される。しかし、これらの成分は、場合によっては、2つ以上の機能を提供し得て、および/または2つ以上の作用様式を通じて機能し得るものと理解される。したがって、本明細書中の分類は便宜上なされており、成分をその特定の用途または列挙される用途に限定することは意図されない。

【0124】

好ましくは組成物の約0.1%~約3%、より好ましくは約0.5%~約1%である、有効量の消泡剤が、本開示の組成物に任意選択的に添加され得る。消泡剤は、流体の起泡特性を低下させまたは制御して、例えば、このような作用剤は、許容可能な低レベルの気泡形性に寄与する。このような作用剤の効力は様々であるので、組成物中で使用される消泡剤の正確な量は、使用される特定の消泡剤に左右される。

10

【0125】

消泡剤は、これに限定されるものではないが、シリコーン、ワックス、硝酸カルシウム、および酢酸カルシウムである。

【0126】

本開示の金属加工組成物は、得られる組成物が金属加工油剤中で微生物の成長を防止、禁止、または遅延させるのに安全かつ効果的であるように、有効量の1種または複数種の抗菌剤を含有してもよい。組成物は、好ましくは、約0.005%~約6%、より好ましくは0.01%~約3%の抗菌剤を含有する。抗菌剤は広域スペクトルであってもよく、または特定タイプの細菌または真菌を標的としてもよい。このような作用剤の効力は様々であるので、組成物中で使用される抗菌剤の正確な量は、使用される特定の抗菌剤に左右される。

20

【0127】

抗菌剤としては、1,2-ベンズイソチアゾリン-3-オン、ナトリウムオマジン、フェノール類、p-クロロ-m-クレゾール、ハロゲン置換カルバメート、イソチアゾロン誘導体、プロモニトリルジニトロモルホリン、アンホテリシン、トリアジン、BIT、MIT、ソルビン酸カリウム、安息香酸ナトリウムが挙げられるが、これに限定されるものではなく、ピリジンチオン、polyquat、IPBC、OIT、CTAC、CMIT、グルタルアルデヒド、プロノポール、DBPNA、Grotan(Troy)、BIOBAN(Dow)の商業st下に(under trade st)市販されるものを含む。

30

【0128】

本開示の金属加工組成物は、得られる組成物が水硬度イオンと複合体形成して流体を安定化するのに効果的であるように、有効量の1種または複数種のキレート剤を含有してもよい。組成物は、好ましくは、約0.005%~約5%、より好ましくは0.01%~約2%のキレート化剤を含有する。

【0129】

キレート化剤としては、エチレンジアミン四酢酸ナトリウム、エチレングリコール四酢酸、ホスホネート、およびグルコン酸塩が挙げられるが、これに限定されるものではない。

40

【0130】

本開示の金属加工組成物は、得られる組成物が所望のpHを維持するのに効果的であるように、有効量の1種または複数種のpH調整剤を含有してもよい。組成物は、好ましくは、約0.005%~約5%、より好ましくは0.01%~約2%のpH調整剤を含有する。このような作用剤の効力は様々であるので、組成物中で使用されるpH剤の正確な量は、使用される特定のpH剤に左右される。

【0131】

pH調整剤としては、アルカリ性水酸化物、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、トリエタノールアミン、トリエチルアミン、およびアルカノールアミンが挙げられるが、これに限定されるものではない。

50

【0132】

本開示の金属加工組成物は、得られる組成物が潤滑剤を懸濁状態に維持するように、有効量の1種または複数種の乳化剤を含有してもよい。組成物は、好ましくは、約0.5%～約15%、より好ましくは1%～約10%の乳化剤を含有する。このような作用剤の効力は様々であるので、組成物中で使用される乳化剤の正確な量は、使用される特定の作用剤に左右される。

【0133】

乳化剤としては、スルホン酸ナトリウム、脂肪酸石鹼、非イオン性エトキシレート、合成スルホン酸塩、脂肪酸アミン、および両性物が挙げられるが、これに限定されるものではない。

10

【0134】

本開示の金属加工組成物は、得られる組成物が、金属と金属の接触を防止するのに有効な被膜強度または境界を提供しまたはそれを増大させるように、有効量の1種または複数種の潤滑剤を含有してもよい。組成物は、好ましくは、約0.5%～または約90%の潤滑剤を含有する。

【0135】

潤滑剤としては、ナフテン(naphthenic)油、パラフィン(paraffinic)油、脂肪酸エステル、高分子量エステル、グリコールエステル、酸化エチレン共重合体、ポリプロピレンオキシド共重合体、天然トリグリセリド、黒鉛、黒鉛フッ化物、二硫化モリブデン、二硫化タングステン、スズ硫化物、および窒化ホウ素が挙げられるが、これに限定されるものではない。

20

【0136】

本開示の金属加工組成物は、得られる組成物が、組成物に接触する金属部品および工具の酸化を防止するのに効果的であるように、有効量の1種または複数種の防蝕剤を含有してもよい。組成物は、好ましくは、約0.005%～約5%の防蝕剤を含有する。本発明者らはまた、微細藻類バイオマス(biomass)を含む金属加工組成物が、腐食を阻止することを見出した)

【0137】

防蝕剤としては、アミンカルボン酸塩、アミンジカルボン酸塩、アミノトリカルボン酸塩、アミンアルコール、ボルアミド(boramides)、アリアルスルホンアミド酸、ホウ酸ナトリウム、モリブデン酸ナトリウム、ナトリウムメタケイ酸塩、コハク酸メタケイ酸塩、コハク酸誘導体、トリルおよびベンゾトリアゾール、およびチアジアゾールが挙げられるが、これに限定されるものではない。

30

【0138】

本開示の金属加工組成物は、得られる組成物が、金属の溶着を防止するのに効果的であるように、有効量の1種または複数種の極圧添加剤を含有してもよい。組成は、好ましくは、約5%～または約30%の極圧添加剤を含有する。

【0139】

極圧添加剤としては、硫化炭化水素、硫化脂肪酸エステル、ハロゲン化パラフィン、ハロゲン化ワックス、ハロゲン化脂肪、ハロゲン化エステル、およびリン酸エステルが挙げられるが、これに限定されるものではない。

40

【0140】

本開示の金属加工組成物は、得られる組成物が、組成物の意図される用途に効果的な粘度および流動性を示すように、有効量の1種または複数種のレオロジー改質剤を含有してもよい。組成物は、好ましくは、約0.005%～約5%、より好ましくは0.01%～約2%のレオロジー改質剤を含有する。

【0141】

レオロジー改質剤としては、ヒドロキシエチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、キサンタンガム、グアーガム、デンプン、またはポリアニオン系セルロースが挙げられるが、これに限定されるものではない。

50

【 0 1 4 2 】

本開示の金属加工組成物は、得られる組成物が、効果的な湿潤性および清浄性を示すように、有効量の1種または複数種の界面活性剤を含有してもよい。組成物は、好ましくは、約0.01%～約25%、より好ましくは0.1%～約10%の界面活性剤を含有する。

【 0 1 4 3 】

界面活性剤としては、アルコキシル化アルコール、アルコキシル化ノニルフェノールが挙げられるが、これに限定されるものではない。

【 0 1 4 4 】

C. 微細藻類バイオマス、藻類油、および藻類油誘導体の工業用潤滑剤組成物

一態様では、少なくとも1% w/wの微細藻類バイオマスおよび/または微細藻類油および/または微細藻類油誘導体を含んでなる、金属加工組成物が提供される。いくつかの実施形態では、組成物は、少なくとも2%、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、または少なくとも95%の微細藻類バイオマスおよび/または微細藻類油および/または微細藻類油誘導体を含んでなる。本開示による金属加工油剤組成物の残部は、水、または本明細書で同定されるものをはじめとするその他の従来の成分を含んでなる。

【 0 1 4 5 】

金属加工油剤組成物は、濃縮流体の形態であり得る。他の事例では、本開示の金属加工油剤組成物は、希釈形態である。

【 0 1 4 6 】

本開示の金属加工油剤組成物に有用な微細藻類バイオマスは、本明細書に記載されるように培養および/または遺伝子操作された、1種または複数種の微細藻類に由来し得る。

【 0 1 4 7 】

いくつかの実施形態では、金属加工油組成物は、上記のように、少なくとも1% w/wの微細藻類油、またはより大きな百分率を含んでなる。微細藻類油は、本明細書に記載されるように、従属栄養条件下で増殖させた微細藻類の培養物、または乾燥細胞重量で少なくとも10%の油を含んでなるものから誘導される。場合によっては、微細藻類は遺伝子操作され得る。

【 0 1 4 8 】

一実施形態では、(i)乾燥重量で少なくとも50%の微細藻類油を含んでなる微細藻類バイオマスを生成する条件下で、微細藻類の集団を培養するステップと、(ii)バイオマスを微細藻類培養物から採取するステップと、(iii)例えば、バイオマスを乾燥し、または油をバイオマスから抽出するなどの1つまたは複数の任意選択の処理工程を実施するステップと、(iv)バイオマスを少なくとも1つの他の潤滑剤成分と組み合わせて、潤滑剤を形成するステップとを含んでなる、潤滑剤組成物を調製する方法が提供される。

【 0 1 4 9 】

床掃除用組成物

箒またはその他の掃除剤の作動によって、床がきれいに掃除されてもよいように、使用に際して、床掃除用組成物は、掃除操作の前に床の上に散布され、床に堆積した埃、微粒子流体、または他のごみを拾い上げて保持できるようにする。このようにして掃除用組成物上に埃、微粒子、流体またはごみを蓄積させることによって、掃除作業はまた、箒の作動下で埃を立てることなく実施されてもよい。

【 0 1 5 0 】

床掃除用組成物は、慣例的に、微細分散固体材料および加湿または湿潤剤から構成される。鋸屑、もみ殻、オート麦外皮、トウモロコシ穂軸、および砂などの固体担体は、湿潤

10

20

30

40

50

剤が付着する媒体として、多年にわたり使用されてきた。砂は、使用されると、担体および研磨洗浄剤の双方として機能し、ならびに掃除組成物が床に「抱きつく」ことを保証する、重み付け化合物としても機能する。洗浄される床の経年数および組成に応じて、様々な割合の砂が使用されてもよい。例えば、新しく完成した床では、組成物中の砂は通常除去される。しかし、床が古くなって摩耗すると、砂を使用して、組成物が効果的に床に抱きつき、わずかな摩耗を引き起こして清掃が向上することを確実にする。

【0151】

従来の床掃除用組成物は、典型的に、例えば、鉱油または石油精製からの缶出液残渣などの石油由来の油を、防塵剤の役割もまた果たす湿潤剤として含む。往々にして効果的である一方で、石油由来の油は、油飽和掃除用化合物が環境汚染物質となり、処分がしばしば困難になることもあるという欠点を有する。

10

【0152】

石油由来の油に特徴的な不快な臭気は、いくつかの従来の床掃除用組成物のさらなる欠点である。

【0153】

生物学的に誘導された石油由来の油湿潤剤の代替物は、床掃除用組成物に組み込まれており、それは改善された臭気特性を示し、石油由来の油で調製された床掃除用組成物に特徴的な環境汚染物質の欠点を改善する。いくつかの「天然」湿潤剤代替物としては、植物油および水が挙げられる。

20

【0154】

石油誘導油、植物油を含んでなるいくつかの従来の床掃除用組成物のさらなる欠点は、貯蔵時に油湿潤剤であることである。

【0155】

したがって、石油ベースの油添加剤の固有の臭気、廃棄、および漏出の問題を回避しながら、または少なくとも石油ベースの油含有量が低減されていながら、同時に、通常は油の使用に関連する効果的な防塵をなおも提供する、効果的な床掃除用組成物の開発に対する継続する必要性がある。

【0156】

一態様では、微細藻類バイオマスを少なくとも1つの他の床掃除用成分と組み合わせて、床掃除用組成物を形成する方法が提供される。

30

【0157】

場合によっては、微細藻類バイオマスの組み合わせによって形成される床掃除用組成物は、少なくとも1%、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも25%、少なくとも50%、少なくとも70%、または少なくとも90% w/wの微細藻類バイオマスの油の脂肪酸プロファイルは、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、または少なくとも95%のオレイン酸を有する。いくつかの実施形態では、床掃除用組成物の微細藻類バイオマスの油の脂肪酸プロファイルは、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、または少なくとも75%のラウリン酸を有する。場合によっては、脂肪酸プロファイルは、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.9%、0.8%、0.7%、0.6%、0.5%、0.4%、0.3%、0.2%、0.1%、0.05%、または0.01%未満の多価不飽和脂肪酸を有する。

40

【0158】

場合によっては、微細藻類バイオマスの組み合わせによって形成される床掃除用組成物は、少なくとも1%、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも25%、少なくとも50%、少なくとも70%、または少なくとも90% w/wの脱脂 (delipidated) 微細藻類バイオマスを含んでなる。

【0159】

場合によっては、床掃除用組成物は、主に無傷微細藻類細胞を含んでなる。場合によっ

50

ては、床掃除用組成物は、少なくとも50%の無傷細胞、または少なくとも60%、少なくとも70%、または少なくとも80%の無傷細胞、または少なくとも90%の無傷細胞を含んでなる。

【0160】

場合によっては、微細藻類バイオマスの組み合わせによって形成される床掃除用組成物は、主に脱脂微細藻類ミールを含んでなる。場合によっては、床掃除用組成物は、少なくとも50%、または少なくとも60%、少なくとも70%、または少なくとも80%、または少なくとも90%の脱脂微細藻類ミールを含んでなる。

【0161】

場合によっては、床掃除用組成物は、脱脂微細藻類ミールおよび無傷微細藻類細胞の配合物を含んでなる、微細藻類バイオマスの組み合わせによって形成される。場合によっては、床掃除用組成物は、等量の脱脂微細藻類ミールと無傷微細藻類細胞との配合物を含んでなる。

10

【0162】

A. 床掃除用製品中の藻類バイオマス、藻類油、および藻類油誘導体の置き換え

場合によっては、微細藻類バイオマスは、さもなければ床掃除用製品に慣習的に含まれていたであろう、その他の成分を置き換え得る。少なくとも1つの実施形態では、本開示の方法によって形成される床掃除用組成物は、微細藻類バイオマスによって寄与されその中に封入される、微細藻類油以外の油を含まない。

【0163】

様々な実施形態において、微細藻類バイオマスは、微細藻類バイオマスの成分が、同種の対応する従来の構成成分を置換し、または床掃除用組成物に所望の特性を与えるように従来の構成成分を適切に置き換える程度まで、吸収剤、研磨材、担体などのような従来の床掃除用成分の全部または一部を置き換え得る。

20

【0164】

場合によっては、微細藻類油は、床掃除用組成物で従来使用される油を置き換え得る。本明細書に記載されるように、微細藻類によって産生される油は、特定の脂肪酸成分を含んでなるような培養条件または脂質経路遺伝子操作によって調整され得る。したがって、本開示の微細藻類によって産生される油は、鉱物油、植物油などの従来の床掃除用成分を置換するために使用され得る。少なくとも1つの実施形態では、本開示の方法 (*methods the present disclosure*) によって形成される床掃除用組成物は、微細藻類油以外の油を含まない。

30

【0165】

B. その他の床掃除用成分

微細藻類バイオマスおよび微細藻類油は、本開示の方法 (*methods the present disclosure*) において、少なくとも1つの他の床掃除用成分と組み合わせられ床掃除用組成物を形成する。少なくとも1つの他の床掃除用成分は、組成物の意図された使用に関して、微細藻類バイオマスまたは微細藻類油と共に使用するのに適した、従来の床掃除用成分から選択され得る。このようなその他の床掃除用成分としては、限定されるものではないが、吸収剤、研磨剤 (*abrasants*)、結合剤、抗菌剤、植物油、石油由来の油、付臭剤、染料、重み付け剤、およびその他の添加剤が挙げられる。

40

【0166】

その他の床掃除用成分の特定の例は、以下に記載される。これらの任意の1つまたは複数は、本開示に従って、微細藻類バイオマス、微細藻類油、または誘導体と任意選択的に組み合わせられ、床掃除用組成物を形成し得る。以下に記載される成分は、床掃除用組成物中のそれらの利点またはそれらの想定される作用機序によって、分類される。しかし、これらの成分は、場合によっては、2つ以上の機能を提供し得て、および/または2つ以上の作用様式を通じて機能し得るものと理解される。したがって、本明細書中の分類は便宜上なされており、成分をその特定の用途または列挙される用途に限定することは意図され

50

ない。

【0167】

好ましくは組成物の約1%～約90%、より好ましくは約1%～約70%である、有効量の1つまたは複数の吸収剤が、本開示の組成物に任意選択的に添加され得る。吸収剤は、液体または固体粒子を引き付ける。このような作用剤の効力は様々であり、選択性が異なるので、組成物中で使用される吸収剤の正確な量は、使用される特定の吸収剤に左右される。

【0168】

例示的吸収剤としては、限定されるものではないが、粉碎トウモロコシ穂軸、大豆殻、セルロース、鋸屑、綿布、新聞紙、超吸収剤、アクリレート共重合体、炭酸カルシウム、および塩化カルシウムが挙げられる。

10

【0169】

好ましくは組成物の約1%～約20%である、有効量の1つまたは複数の結合剤が、本開示の組成物に任意選択的に添加され得る。結合剤は、結合する。結合剤としては、植物油、ソーダ油滓、酸性油、グリセリン、鉱物油、パラフィン蠟、およびゴムが挙げられる。

【0170】

例示的結合剤としては、水、植物油、ソーダ油滓、酸性油、グリセリン、鉱物油、パラフィン蠟、ゴム、および処理されたタイヤが挙げられる。

【0171】

好ましくは組成物の約1%～約20%である、有効量の1つまたは複数の重み付け剤が、本開示の組成物に任意選択的に添加され得る。重み付け剤は組成物に質量を付加し、その流動または展着特性に影響を及ぼす。

20

【0172】

例示的重み付け剤としては、砂、シリカ、火山灰、大理石粉、石灰石、および染料が挙げられる。

【0173】

本開示の床掃除用組成物は、得られる組成物が床掃除中で微生物の成長を防止、禁止、または遅延させるのに安全かつ効果的であるように、有効量の1種または複数種の抗菌剤を含有してもよい。組成物は、好ましくは、約0.005%～約6%、より好ましくは0.01%～約3%の抗菌剤を含有する。抗菌剤は広域スペクトルであってもよく、または特定タイプの細菌または真菌を標的としてもよい。このような作用剤の効力は様々であるので、組成物中で使用される抗菌剤の正確な量は、使用される特定の抗菌剤に左右される。

30

【0174】

抗菌剤としては、1,2-ベンズイソチアゾリン-3-オン、ナトリウムオマジン、フェノール類、p-クロロ-m-クレゾール、ハロゲン置換カルバメート、イソチアゾロン誘導体、プロモニトリルジニトロモルホリン、アンホテリシン、トリアジン、BIT、MIT、ソルビン酸カリウム、安息香酸ナトリウムが挙げられるが、これに限定されるものではなく、商品名ETHOCYNおよびCYOCTOLの下にカリフォルニア州ロサンゼルス市のChantal Pharmaceuticalによって市販されるような、Proxel GXL、ピリジンチオン、polyquat、IPBC、OIT、CTAC、CMIT、グルタルアルデヒド、プロノポール、DBPNA、Grotan (Troy)、BIOBAN (Dow)の商品名の下に市販されるもの、および2-(5-エトキシヘプト-1-イル)ピシクロ[3.3.0]オクタノンを含む。

40

【0175】

C. 微細藻類バイオマス、藻類油、および藻類油誘導体の床掃除用組成物

一態様では、少なくとも1% w/wの微細藻類バイオマスおよび/または微細藻類油および/または微細藻類油誘導体を含んでなる、床掃除用組成物が提供される。いくつかの実施形態では、組成物は、少なくとも2%、少なくとも5%、少なくとも10%、少なく

50

とも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、または少なくとも95%の微細藻類バイオマスおよび/または微細藻類油および/または微細藻類油誘導体を含んでなる。本開示による床掃除用組成物の残部は、水、または本明細書で同定されるものをはじめとするその他の従来の成分を含んでなる。

【0176】

いくつかの実施形態では、本開示の組成物は、上記のように、少なくとも1% w/wの微細藻類バイオマス、またはより大きな百分率を含んでなる。微細藻類バイオマスは、本明細書に記載されるように、乾燥重量で少なくとも10%の微細藻類油を含んでなり、より高い量の微細藻類油ならびにその他の構成物を含み得る。

10

【0177】

本開示の床掃除用組成物に有用な微細藻類バイオマスは、本明細書に記載されるように培養および/または遺伝子操作された、1種または複数種の微細藻類に由来し得る。

【0178】

いくつかの実施形態では、本明細書で提供される床掃除用組成物は、上記のように、少なくとも1% w/wの微細藻類油、またはより大きな百分率を含んでなる。微細藻類油は、本明細書に記載されるように、従属栄養条件下で増殖させた微細藻類の培養物、または乾燥細胞重量で少なくとも10%の油を含んでなるものから誘導される。場合によっては、微細藻類は遺伝子操作され得る。

20

【0179】

本明細書で提供される床掃除用組成物は、上記のように、少なくとも1% w/wの微細藻類油、またはより大きな百分率を含んでなる。微細藻類油は、本明細書に記載されるように、従属栄養条件下で増殖させた微細藻類の培養物、または乾燥細胞重量で少なくとも10%の油を含んでなるものから誘導される。場合によっては、微細藻類は遺伝子操作され得る。

【0180】

一態様では、本床掃除用組成物は、その他の床掃除用組成物に優る利点を提供する。例えば、油性床掃除用組成物は、環境上の制限なしに廃棄され得ず、油性残渣ごみを残す。水性掃除用化合物は床全体に散布できないが、線状に広がり、迅速に掃き取らなくてはならない。

30

【実施例】

【0181】

以下の実施例は、特許請求される発明を例証するために提供されるものであって、限定するものではない。

【0182】

実施例1

菌株は、上記および2014年1月3日に出願された国際公開第2008/151149号パンフレット、国際公開第2010/063031号パンフレット、国際公開第2010/045368号パンフレット、国際公開第2010/063032号パンフレット、国際公開第2011/150411号パンフレット、国際公開第2013/158938号パンフレット、61/923,327号明細書、2014年5月13日に提出されたPCT/US2014/037898号明細書、および米国特許第8,557,249号明細書に記載されるように調製し、従属栄養的に培養した。サンプルIAは、クロレラ(オーキセオクロレラ)・プロトコイデス(*Chlorella (auxeo) chloroella* protothecoides)細胞に由来するトリグリセリド油(UTEX 250)を指す。サンプルIB-IGは、示される脂肪酸プロファイルを得るために調製および培養された、プロトセカ・モリホルミス(*Prototheca moriformis*) (UTEX 1435)起源の様々な株から単離された油である。UTEX

40

50

250および1435は、テキサス大学藻類カルチャーコレクション (University of Texas at Austin Culture Collection of Algae) から入手できる。

【0183】

【表1】

表 I. 油の特性

アッセイ	単位	IA (UTE X 250) S106	IB (高 C10~ C12) S6207	IC (ラウリン酸) S5223	ID (高 ミリスチン酸) S4845	IE (SOS) S7586	IF (低 多不 飽和 化合物) S6697	IG (オレイン 酸) S5587
C8:0	%	0.00	1.02	0.35	0.00	0.00	0.00	0.00
C10:0	%	0.08	40.45	18.18	0.04	0.03	0.03	0.01
C12:0	%	0.22	45.00	45.92	0.89	0.19	0.06	0.03
C14:0	%	1.29	4.00	12.92	56.94	0.47	0.35	0.41
C16:0	%	17.44	2.33	6.34	14.98	3.03	3.29	3.31
C18:0	%	1.66	0.27	0.51	0.68	56.75	2.87	2.22
C18:1	%	59.12	4.24	10.12	20.51	33.90	89.94	86.17
C18:2	%	15.17	1.62	3.32	4.26	1.94	1.03	5.50
C18:3 α	%	2.01	0.27	0.38	0.23	0.16	0.15	0.24
C20:0	%	0.25	0.02	0.06	0.06	1.65	0.25	0.26
滴点 (METTLER) AOCS Cc 18-80	°C	10.5	22.2	27.2			2	0.3
曇り点 D97	°C		12	17	29		-18	-19
流動点 D97	°C		10	15	27		-20	-21
ヨウ素価	単位	85.6	8.8	18.7	27.7		81.6	85.6
OSI ランシマット (110°C) AOCS Cd 12b-92	時間		68.72	46.8	37.56		57.6	19.35
発煙点 AOCS Cc 9a-48	°C				150		248	248
鹼化価 AOCS Cd 3-25	mg KOH/g			239.2				
α トコフェロール	mg/100g	12.7	-		0.22		-	-

【0184】

10

20

30

【表 2】

B-シトステロール	mg/100g	56.3	-		6.51		26.4	3.81
β トコフェロール	mg/100g	-	-		-		-	-
ブラシカステロール	mg/100g	131	-		-		-	-
カンベステロール	mg/100g	16.8	11.9		6.29	3.72	8.03	8.08
コレステロール	mg/100g	-	-		-		-	-
δ トコフェロール	mg/100g	5.47	0.76		0.28	1.48	-	0.81
エルゴステロール	mg/100g	130	59.2		174	54.8	174	92
γ トコフェロール	mg/100g	2.25	-		0.28	0.83	0.57	0.12
スチグマステロール	mg/100g	18.7	6.19		16.3	13.3	15.7	11.6
その他のステロール	mg/100g	279	111		151	139	98.3	130
α トコトリエノール	mg/g	0.11			0.18	0.17		
β トコトリエノール	mg/g	0.02			0.04	<0.01		
δ トコトリエノール	mg/g	0.06			<0.01	<0.01		
γ トコトリエノール	mg/g	0.02			0.03	0.07		
全 トコトリエノール	mg/g	0.21			0.25	0.24		

10

20

【0185】

実施例 2

以下の実施例および表において、藻類バイオマスは、上記および2014年1月3日出願された国際公開第2008/151149号パンフレット、国際公開第2010/063031号パンフレット、国際公開第2010/045368号パンフレット、国際公開第2010/063032号パンフレット、国際公開第2011/150411号パンフレット、国際公開第2013/158938号パンフレット、61/923,327号明細書、2014年5月13日出願されたPCT/US2014/037898号明細書、および米国特許第8,557,249号明細書に記載されるように、従属栄養的に培養された微細藻類から調製した。表I IのバイオマスサンプルI I A ~ I I Eは、示される脂肪酸プロファイルを得るために調製および培養された、プロトセカ・モリホルミス (*Prototheca moriformis*) (UTEX 1435) 起源の様々な株から単離した。脱脂藻類ミールは、上記のように、乾燥藻類バイオマスから調製した。粒度は、Microtracレーザ回折粒度分析器で評価した。

30

【0186】

【表 3】

表 II. バイオマス特性

アッセイ	単位	バイオマスサンプル					
		脱脂藻類ミール					
		IIA (ラウリン酸) S8162	IIB(超 高オレイン酸) S6697	IIC (中度 オレイン酸) S3150	IID(超高 オレイン酸) S6697	IIE(高 オレイン酸) S5587	IIF (高 オレイン酸) S5587
C8:0	%	0.22	0.01	0.02	0.01	0.00	0.00
C10:0	%	17.18	0.11	0.02	0.11	0.01	0.01
C12:0	%	45.03	0.25	0.07	0.25	0.03	0.03
C14:0	%	11.16	0.52	1.95	0.52	0.41	0.41
C16:0	%	6.21	3.96	29.26	3.96	3.31	3.31
C18:0	%	1.12	2.85	2.77	2.85	2.22	2.22
C18:1	%	13.36	89.50	57.01	89.50	86.17	86.17
C18:2	%	4.72	1.16	6.66	1.16	5.50	5.50
C18:3 α	%	0.46	0.20	0.33	0.20	0.24	0.24
重量基準の総脂質	%	62.2	58.45	56.3	18.93	11.85	9.17
灰分, AOAC 942.05	%	5.91	7.07	2.63	4.67	5.52	6.93
タンパク質, AOAC 990.03	%	3.37	3.08	2.36	4.62	6.27	5.41
水分, AOAC 930.15	%	3.65	4.76	2.37	1.73	1.82	2.45
繊維, AOAC 978.10	%	10.09	9.00	7.64	2.92	5.26	3.07
pH, AOAC 973.41		5.11	5.76	4.54	4.50	4.22	4.67
PS D10	ミクロン	6.2	5.04	4.7			72
PS D50	ミクロン	20.6	9.51	7.2			402
PS D90	ミクロン	88.3	57.6	11.4			982

10

20

【0187】

実施例 3：予備乾燥藻類バイオマスの水中分散

本実施例は、未乾燥細胞の水中分散と同様の、あらかじめ乾燥された微細藻類バイオマスの水中分散を達成するために使用した手順を記載する。粒度は、Microtracレーザー回折粒度分析器で評価した。

【0188】

発酵中における増殖時に、プロトセカ・モリホルミス (*Prototheca moriformis*) UTEX 1435 の細胞は、表 I I I に示される粒度分布によって特徴付けられた。乾燥細胞プロトセカ・モリホルミス (*Prototheca moriformis*) は、粉末フレークの形態で 40 ~ 4,000 μm サイズのクラスターを形成した。乾燥微細藻類バイオマスを 15 重量% で水に添加した。次に低剪断オーバーヘッドミキサーを用いて、混合物を 15 秒間混合した。均一な分散体を得られた。次に生じた溶液を Silverston 静止高剪断ミキサーを用いて、10,000 rpm で 1 分間混合した。表 I I I は、水に再懸濁された予備乾燥微細藻類バイオマスの湿潤粒子の粒度分布を示す。

30

【0189】

これらの結果は、実施された混合技術が、発酵プロセス中の細胞の予備乾燥粒子の粒度分布に近似する、粒度分布を生じるのに十分であったことを示す。

40

【0190】

【表 4】

表 III. 粒度分布

パーセント体積カットオフ	発酵プロセス中の細胞、 湿潤粒度 (um)	乾燥藻類の懸濁液、 湿潤粒度 (um)
d5	1.32	1.55
d10	1.60	1.92
d50	7.87	6.85
d90	11.33	13.45
d95	12.86	16.82

10

【0191】

実施例 4：微細藻類バイオマスを使用して調製された乾燥被膜

本実施例は、微細藻類 (microalgal) バイオマス潤滑剤の配合物、および被膜を形成するための加熱アルミニウム上へのそれらの被覆を記載する。

【0192】

配合に先だって、乾燥微細藻類バイオマスサンプルは、表 I I に列挙される特性によって特徴付けられた。ベース潤滑剤配合物は、表 I V に列挙される処方に従って調製した。配合物成分は、カルボキシメチルセルロース (FinnFixLC) と、ラウリル硫酸ナトリウム (Ambion)、Tergitol Minfoam 1X (Sigma)、およびツイン 20 などの界面活性剤とを含んだ。殺生剤である、ホルムアルデヒドを含有する WT-22 (Anchor Drilling Fluids)、およびジプロピレングリコール中に 1, 2 - ベンズイソチアゾリン - 3 - オンを含有する Proxel GXL (Excel Industries) もまた試験した。Proxel GXL は、WT-22 の投入量の 10% ~ 100% で使用した。WT-22 の代わりに Proxel GXL を使用した場合、脱イオン水の重量% を適宜補正して (表 I V を参照されたい)、合計 100% の潤滑剤配合物を製造した。WT-22 または Proxel GXL は、どちらも殺生物剤として効果的であった。濃縮配合物の混合は、Silverson オーバーヘッド高剪断ミキサーを用いて達成した。混合すると、各配合物の pH は、塩基 (典型的に、NaOH、KOH、NH₄OH、TEA など) の添加によって、約 8.8 ~ 9.2 に上昇された。配合物は、評価するまで周囲条件下でガラス瓶内に貯蔵した。これらの配合は、水による 9 : 1 希釈 (10x 希釈) が、2.5% の微細藻類バイオマス溶液を生じるように、微細藻類バイオマスの 25% 懸濁液を含む。水中における微細藻類バイオマス (表 I I の中度オレイン酸バイオマス) の 2.5% 懸濁に対する平均粒度分布は、表 I V a に示される。

20

30

【0193】

【表 5】

表 IV. 微細藻類バイオマスを使用して調製された潤滑剤配合物

成分	製剤の重量%	サンプル							
		B-1	B-2	B-3	B-4	B-5	B-6	B-7	B-8
乾燥微細藻類バイオマス		25	25	25	25	25	25	25	25
カルボキシメチルセルロース (CMC)		3	1	1	3	1	3	1	3
Tergitol Minfoam 1X		0	0	0.5	0.5	0	0	0	0
ラウレス硫酸ナトリウム		0	0	0	0	0.5	0.5	0	0
ツイーン 20		0	0	0	0	0	0	0.5	0.5
WT-22		0	0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
DI 水		72	76	73.4	70.4	73.4	70.4	73.4	70.4

10

【 0 1 9 4 】

【表 6】

表 IVa. 2.5%の無傷微細藻類バイオマスを含む水性潤滑剤配合物の粒度

分布	粒度 (ミクロン)
D10	1.22
D50	7.19
D90	26.3

20

【 0 1 9 5 】

混合すると、各配合物は2日間にわたって均一な懸濁液を示した。1%～3%の間のCMC濃度は、乾燥微細藻類細胞を懸濁状態に保持できる溶液をもたらすことが見出された。0.5%のTergitol Minfoam 1X濃度は、金属の被覆とライデンフロスト効果の軽減に適する表面張力を生じた。

30

【 0 1 9 6 】

スプレー被覆評価に先だって、配合物を9:1希釈で水中で希釈した。濃縮配合物を50mL円錐(conical)内に量り入れた。次にDI水を添加して、混合物を均一になるまで振盪した。外部混合、2つの流体ノズルの助けを借りて、希釈配合物を220または320のどちらかに加熱されたアルミニウムまたは鋼プラテン上にスプレー塗布した。各溶液は、18psiに加圧されたエアライン内で噴霧した。最適な被覆のために、45度のスプレー角および9インチのプラテンからの距離を選択した。ほぼ30mL/分の施用量を20秒間使用して、微細藻類配合物をプラテン上に送達した。

【 0 1 9 7 】

40

乾燥被膜は、光学顕微鏡検査によって評価した。220に加熱されたアルミニウムプラテン上に形成された被膜は、遊離油滴がほとんどない、大部分無傷のカプセル化油体によって特徴付けられた。対照的に320に加熱されたアルミニウムまたは鋼プラテン上に形成された被膜は、より少ない無傷のカプセル化油体と、より多数の遊離油滴によって特徴付けられた。どちらの温度状況も、乾燥して安定し、物理的破壊に抵抗性の被膜をもたらした。

【 0 1 9 8 】

これらの結果は、金属表面に付着した固体被膜を生成できる、条件およびマイクロカプセル化藻類油を含んでなる配合物を実証する。

【 0 1 9 9 】

50

実施例 5：鋼 F A L E X ピンおよび V E E ブロック試験によって判定される様々な条件下における微細藻類バイオマスの摩擦係数

この実施例は、金属加工油剤に関連する応力下で、微細藻類バイオマスを含んでなる配合物の潤滑特性を黒鉛を含む配合物の潤滑特性と比較する。

【 0 2 0 0 】

実施例 2 の微細藻類 (M i c r o a g l a l) バイオマスサンプル I I A、I I B、および I I C、加熱処理バイオマスサンプル、ならびに蒸発発酵プロセスを以下に記載される配合および試験において使用した。配合物は、表 I V に列挙される処方に従って調製した。濃縮配合物の混合は、S i l v e r s o n オーバーヘッド高剪断ミキサーを用いて達成した。濃 N a O H を用いて、p H をおよそ 8 . 8 ~ 9 . 2 に調節した。配合物は、評価するまで周囲条件下でガラス瓶内に保持した。ピンおよび V e e 評価に先だて、これらの配合物を引き続き水で希釈するか、または水で希釈せずに、表 V I に列挙される最終固形分の値で使用した。

10

【 0 2 0 1 】

ピンおよび V e e 装置への配合物の送達について、異なる潤滑剤曝露方法を評価した。表 V I で言及されるように、実施例 4 に記載される手順を用いて、異なる温度に加熱しながら、V e e ブロックを試験潤滑剤に浸漬 (湿潤) するか、またはスプレー被覆 (乾燥) した。V e e ブロックは、周囲条件下に保持しながら、またはそのように記述される場合は 3 2 0 の 2 2 0 のいずれかに加熱されたホットプレート上に保持しながら、コーティングした。

20

【 0 2 0 2 】

【表 7】

表 V. 濃縮製剤

成分	サンプル														
	D1	D2	D3	H1	H2	H3	H4	H5	H6	D4	D5	D6	D7	D8	
乾燥 バイオマス サンプル IIB- S6697	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
乾燥 バイオマス サンプル IIA- S8162	0	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
乾燥 バイオマス サンプル IIC- S3150	0	0	25	0	0	0	0	0	0	25	0	0	0	0	
175℃で 2 時間 加熱された 乾燥 バイオマス サンプル IIA- S8162	0	0	0	25	0	0	0	0	0	0	25	0	0	0	
315℃で 2 時間 加熱された 乾燥 バイオマス サンプル IIA- S8162	0	0	0	0	25	0	0	0	0	0	0	25	0	0	
175℃で 2 時間 加熱された 乾燥 バイオマス サンプル IIC- S315	0	0	0	0	0	25	0	0	0	0	0	0	0	0	
315℃で 2 時間 加熱された 乾燥 バイオマス サンプル IIA- S3150	0	0	0	0	0	0	25	0	0	0	0	0	0	0	

成分重量%

10

20

30

40

【 0 2 0 3 】

【表 8】

175℃で 2 時間 加熱された 乾燥 バイオマス サンプル IB- S6697	0	0	0	0	0	0	0	0	25	0	0	0	0	0	0
315℃で 2 時間 加熱された 乾燥 バイオマス サンプル IB- S6697	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	0	0	0	0	0
蒸発 させた 微細 藻類 発酵 プロス、 S3150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	54.5	0
カルボキシ メチル セルロース	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0.5
Tergitol Minfoam 1X	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
WT-22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1	0.1	0.1	0.1	0
黒鉛	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25
DI 水	75	75	75	73.4	75	75	75	75	75	75	73.4	43.9	73.4	43.9	74

10

20

【 0 2 0 4 】

【表 9】

表 VI. ピン(8号テストピン、SAE3135鋼)および Vee ブロック (標準 Vee ブロック、AISI 1137 鋼) 装置試験によって評価された配合物

N/A は、ピンが破損に達しておらず、試験が装置の 3000 ポンド(lbf)の限界に達したことを示唆する。

試験番号	配合物 サンプル	試験された 最終 パーセント 固形分	試験 Vee ブロック 曝露 タイプ	乾燥 被膜 温度 曝露 (°C)	CoF min 平坦域	ピン破損 (ポンド)
1	D1	25	湿潤		0.074	N/A
2	D1	10	湿潤		0.077	N/A
3	D1	5	湿潤		0.069	N/A
4	D1	2.5	湿潤		0.057	N/A
5	D2	25	湿潤		0.063	N/A
6	D2	10	湿潤		0.089	N/A
7	D2	5	湿潤		0.074	N/A
8	D2	2.5	湿潤		0.069	N/A
9	D2	2.5	湿潤		0.069	N/A
10	H1	2.5	湿潤		0.064	N/A
11	H3	2.5	湿潤		0.061	N/A
12	D1	2.5	湿潤		0.085	N/A
13	H5	2.5	湿潤		0.070	N/A
14	H6	2.5	湿潤		0.087	926
15	D3	2.5	湿潤		0.081	N/A
16	H3	2.5	湿潤		0.051	N/A
17	H4	2.5	湿潤		0.075	1575
18	D8	2.5	湿潤		0.075	N/A
20	D8	2.5	乾燥		0.741	151
21	D2	2.5	乾燥		0.108	514
22	D1	2.5	乾燥		0.068	698
23	D3	2.5	乾燥		0.064	568
24	D8	2.5	乾燥		0.141	428
26	D4	2.5	乾燥		0.108	385
27	D4	2.5	乾燥		0.107	329
28	D4	2.5	乾燥	220	0.063	728
29	D4	2.5	乾燥	220	0.063	707
30	D4	2.5	乾燥	320	0.082	536
31	D4	2.5	乾燥	320	0.072	605
32	D8	10	乾燥		0.240	258
33	D8	10	乾燥		0.200	343
34	D8	10	乾燥	220	0.134	592
35	D8	10	乾燥	220	0.120	657
36	D8	10	乾燥	320	0.112	734
37	D8	10	乾燥	320	0.114	840
38	D7	2.5	乾燥	220	0.075	581
39	D7	2.5	乾燥	220	0.067	514
40	D7	2.5	乾燥	320	0.096	694
41	D7	2.5	乾燥	320	0.107	681

【0205】

試験 1 ~ 18 は、液体潤滑剤サンプルが、完全浸漬によって F a l e x ピンおよび V e e 装置に曝露されるようにして実施した。試験 1 ~ 8 では、配合物は、高オレイン酸含有産生株または高ラウリン酸含有産生株のどちらかに由来する乾燥微細藻類細胞を使用して、調製した。これらの配合物は、0.08未満の摩擦係数によって特徴付けられた。試験 18 は、黒鉛を含んでなる配合物 (a f o r m u l a t i o n) を評価した。完全浸漬 F

10

20

30

40

50

a l e x 試験において、この配合物は、0.075の摩擦係数によって特徴付けられた。

【0206】

試験9～17では、配合に先だって2時間にわたり175 または315 の温度に加熱された乾燥微細藻類を使用して調製された、配合物を調べた。次に熱曝露バイオマスは、水中で2.5重量%の最終濃度に懸濁した。得られた溶液を液内ピンおよびVeeアッセイによって試験した。

【0207】

試験20～41は、Veeブロックに塗布された乾燥被膜コーティングを評価した。塗布は、周囲温度下で、またはVeeブロックを示される温度に加熱しながら、行った。結果は、藻類バイオマス被膜配合物が、評価された全ての温度にわたり、黒鉛皮膜よりも低い摩擦係数を達成することを示す。黒鉛と比較して、微細藻類バイオマスサンプルは、周囲温度および220 での曝露においてピン安定性の増大を示したが、320 ではピン安定性の低下を示した。

【0208】

実施例6：乾燥藻類バイオマスは低い揮発性有機化合物を示す

乾燥カプセル化油の粉末をASTME1868-10試験法、熱重量測定による乾燥減量の標準試験法に供した。この試験法は、金属加工油剤および直接接触潤滑剤のために開発された。2つの異なる乾燥微細藻類カプセル化油調製物は、7.88g/L(0.788%)および9.16g/L(0.916%)のVOCによって特徴付けられた。

【0209】

実施例7：床掃除用組成物比較(COMPARI S I O N)試験

比較試験を開発して、異なる埃および液体標的に対する、様々な床掃除用組成物の性能を評価した。試験装置は5本の平行したレーンからなり、各レーンは2本の6フィート長の中実金属ストリップによって境を接した。ストリップは、およそ5.5インチ間隔で床面に貼り付けた。各レーンは、順番に、付着ゾーン、前進ゾーン、ピックアップゾーン、プッシュルーゾーン、最終評価ゾーンの5つのゾーンに分けた。

【0210】

各試験の開始時に、様々な床掃除用組成物の等価質量サンプルを付着ゾーンに付着させた。ピックアップゾーンの各レーンに沿って、「基材」埃または液体の等価質量サンプルを付着させた。塗布された試験基材は、試験された床掃除用配合物質量の1/3であった。

【0211】

30インチ幅のナイロンブーム(b o o m)を用いて、床面の試験ゾーンに沿って、3回のブラシストロークを加えて、床掃除用組成物を前進させた。第1のブラシストロークは、床掃除用組成物を付着ゾーンから前進ゾーンに移動させた。第2のストロークは、床掃除用組成物を前進ゾーンからピックアップゾーンに移動させた。第3のブラシストロークは、床掃除用組成物をピックアップゾーンの終端から最終評価ゾーンまで移動させた。試験開始前、ブラシストローク間、および試験終了後に、進行中の試験の写真を収集した。定性的評価が記述された。

【0212】

実施例8：微細藻類バイオマスを含む改善された床掃除用組成物

本実施例は、微細藻類バイオマスを含んでなる床掃除用組成物の調製、および従来の市販の床掃除用組成物と対照したそれらの評価を記載する。

【0213】

床掃除用組成物は、表XVIに列挙される成分を示される重量百分率に従って合わせることによって調製した。成分を丈夫なビニール袋に入れて、手で2分間混合した。実施例2の乾燥藻類バイオマスサンプルCおよび脱脂藻類ミールサンプルFがこれらの配合物中で使用され、表VIIに列挙される特性によって特徴付けられた。Quikrete All Purpose Sand、トウモロコシ穂軸、硬木鋸屑、および従来の鉱物油または大豆油床掃除用組成物は、商業的に入手された。

10

20

30

40

50

【 0 2 1 4 】

【 表 1 0 】

表 VII. 床掃除用配合物

サンプル 配合物	記述子	成分	配合物の 重量%
FS1	バイオマスおよび砂	藻類バイオマスサンプル C-S3150	25
		Quikrete All Purpose Sand	75
FS2	配合バイオマスおよび砂	藻類バイオマスサンプル C-S3150	12.5
		脱脂バイオマスサンプル F	12.5
		Quikrete All Purpose Sand	75
FS3	脱脂バイオマスおよび砂	脱脂バイオマスサンプル F	25
		Quikrete All Purpose Sand	75
FS4	MMC Green	鋸屑	60
		砂	20
		大豆油	20
FS5	MMC 鋳物油	鋸屑	60
		砂	20
		鋳物油	20
FS6	配合バイオマスおよび鋸屑	藻類バイオマスサンプル C-S3150	12.5
		脱脂バイオマスサンプル F	12.5
		鋸屑	75
FS7	配合バイオマスおよびトウモロコシ穂軸	藻類バイオマスサンプル C-S3150	12.5
		脱脂バイオマスサンプル F	12.5
		トウモロコシ穂軸	75
FS8	脱脂バイオマスおよびトウモロコシ穂軸	脱脂バイオマスサンプル F	25
		トウモロコシ穂軸	75
FS9	配合バイオマス、トウモロコシ穂軸および砂	藻類バイオマスサンプル C-S3150	12.5
		脱脂バイオマスサンプル F	12.5
		トウモロコシ穂軸	60
		Quikrete All Purpose Sand	15

10

20

30

【 0 2 1 5 】

表 V I I の床掃除用配合物は、実施例 7 に概説される試験方法によって評価した。本実施例では、試験装置の軌道を未研磨のコンクリート床に貼り付けた。配合物により攻撃された基材は、配合物の床面に沿った前進の容易さ、ならびに標的基材の吸収度を反映するスコアと共に、表 V I I に列挙される。スコアは、市販の鋳物油ベースの床掃除用除組成物との比較である。1 を超えるスコアは改善された性能を示し、未満のスコアは不利な性能を示し、1 に等しいスコアは市販の鋳物油ベースの標準と同等の性能を示す。評価されなかったサンプルおよび標的のセットは、表 V I I に「n . a . 」として示される。

【 0 2 1 6 】

【表 1 1】

表 VIII. 床掃除用配合物試験の定性的格付け結果

サンプル 配合物	記述子	床掃除基材				
		小麦粉	木粉	滑石	水	使用済み モーター オイル
FS4	MMC Green	0	1	0	0	-1
FS5	MMC 鉱物油	1	1	1	1	1
FS1	バイオマスおよび砂	1	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
FS2	配合バイオマスおよび砂	0	2	1	0	2
FS3	脱脂バイオマスおよび砂	-1	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
FS6	配合バイオマスおよび鋸屑	n.a.	2	1	3	3
FS7	配合バイオマスおよびトウモロコシ穂軸	n.a.	2	1	3	3
FS8	脱脂バイオマスおよびトウモロコシ穂軸	n.a.	1	1	2	2
FS9	配合バイオマス、トウモロコシ穂軸および砂	n.a.	1	1	0	2

10

【0 2 1 7】

表 V I I I に提示される結果は、異なる床掃除基材に対して試験された藻類バイオマスを含む様々な床掃除用組成物が、従来の市販の床掃除用配合物と比較して、改善された表面床の前進および改善された異なる試験基材の吸収結合を示すことを実証する。藻類バイオマスを含む組成物は、コンクリート床面から滑石を除去する上で、従来の床掃除用配合物と同等またはそれ以上の有効性を有する。藻類バイオマスと、砂を含まない鋸屑またはトウモロコシ穂軸のどちらかを含む組成物は、コンクリート床面から水を除去する上で、従来の床掃除用配合物よりも効果的である。藻類バイオマス、および鋸屑またはトウモロコシ穂軸または砂の組み合わせを有する組成物は、コンクリート床面から使用済みモーターオイルを除去する上で、従来の床掃除用配合物よりも効果的である。

20

【0 2 1 8】

実施例 9：微細藻類バイオマスを含む床掃除用組成物の改善された吸収能

本実施例は、微細藻類バイオマス、および微細藻類バイオマスを含んでなる床掃除用組成物の水および油の吸収特性を、従来の床掃除用成分および従来の床掃除用組成物のものと比較する。

30

【0 2 1 9】

床掃除用成分ならびに混合床掃除用組成物は、実施例 8 に示される手順に従って入手または作製した。表 I X に列挙される各成分または配合物の 5 グラムを、対になった 50 mL 円錐遠心管の組内に量り入れた。30 mL の室温の H₂O を第 1 の管の組に入れて、20 mL の室温の真空ポンプ鉱物油を第 2 の管の組に入れた。懸濁液をボルテックスミキサーで 2 分間混合し、次に周囲温度で 1 時間静置した。次に懸濁液を 12,000 g で 10 分間遠心分離した。各サンプルからの吸収されなかった液体をデカントした。次にペレットを秤量した。倍率吸収度を測定し、以下の処方 (f o r m u l a t i o n) で表した：([(試験後のペレットの質量) - (評価されたサンプルの初期質量)] / (評価された

40

【0 2 2 0】

【表 1 2】

表 IX. 床掃除用成分および組成物の吸水度および吸油度

サンプル	記述子	配合物成分	配合物中の重量%	倍率吸収度	
				水	油
AS1	配合 バイオマス、トウモロコシ 穂軸および砂	藻類バイオマスサンプル C-3150	12.5	2.27	0.76
		脱脂(Deplidated)バイオマスサンプル F	12.5		
		Kwikrete 多目的砂	37.5		
		Cornsorb トウモロコシ穂軸	37.5		
AS2	配合バイオマス およびトウモロコシ穂軸	藻類バイオマスサンプル C-3150	12.5	2.42	0.89
		脱脂(Deplidated)バイオマスサンプル F	12.5		
		Cornsorb トウモロコシ穂軸	75		
AS3	配合 バイオマス、トウモロコシ 穂軸および砂	藻類バイオマスサンプル C-3150	12.5	1.78	1.1
		脱脂(Deplidated)バイオマスサンプル F	12.5		
		Kwikrete 多目的砂	15		
		Cornsorb トウモロコシ穂軸	60		
AS4	配合 バイオマス、鋸屑	藻類バイオマスサンプル C-3150	12.5	1.62	0.59
		脱脂(Deplidated)バイオマスサンプル F	12.5		
		Smith Company ハンマーミル処理 鋸屑	75		
AS5	配合 バイオマス、鋸 屑および砂	藻類バイオマスサンプル C-3150	12.5	2.18	0.57
		脱脂(Deplidated)バイオマスサンプル F	12.5		
		Smith Company ハンマーミル処理 鋸屑	60		
		Kwikrete 多目的砂	15		
AS6	配合バイオマス および砂	藻類バイオマスサンプル C-3150	12.5	0.63	1.48
		脱脂(Deplidated)バイオマスサンプル F	12.5		
		Kwikrete 多目的砂	75		
AS7	砂	Kwikrete 多目的砂	100	0.3	1.63
AS8	鋸屑	Smith Company ハンマーミル処理 鋸屑	100	2.7	0.25
AS9	トウモロコシ穂軸	Cornsorb トウモロコシ穂軸	100	3.03	0.99
AS10	藻類バイオマス サンプル C-3150	藻類バイオマスサンプル C-3150	100	0	0.68
AS11	脱脂(Deplidated) バイオマスサンプル F	脱脂(Deplidated)バイオマスサンプル F	100	1.51	1.21
AS12	Green Commercial Floor Sweep	鋸屑	59	0.6	1.37
		砂	20		
		ワックス	20		
		ポリアクリルアミド超吸収剤	1		
AS13	鋳物油 Commercial Floor Sweep	鋸屑	70	1.3	0.8
		鋳物油	30		
AS14	鋳物油 Commercial Floor Sweep	砂	20	0.82	1.35
		鋸屑	60		
		鋳物油	20		

10

20

30

40

【0 2 2 1】

表 IX に提示される結果は、藻類バイオマスを含んでなる様々な床掃除用組成物が、従来の市販の床掃除用配合物と比較して、改善された水または油の倍率吸収度を示すことを実証する。藻類バイオマス、脱脂藻類ミール、およびその他の成分の配合物を含んでなるサンプル AS 1 ~ AS 5 は、市販の床掃除用組成物の倍率吸収度 (0.6 ~ 0.8 倍の範囲) と比較して、改善された倍率吸水度 (1.62 ~ 2.42 の範囲) によって特徴付けられた。藻類バイオマス、脱脂藻類ミール、および砂の配合物であるサンプル AS 6 は、市販の床掃除用組成物の倍率吸収度 (0.8 ~ 1.37 倍) と比較して、同等のまたは改善された倍率吸油度 (1.48 倍) によって特徴付けられた。

【0 2 2 2】

実施例 10 : 水中の藻類バイオマス配合物による摩擦および摩耗の低減

50

本実施例は、金属加工油剤に関連する応力下で、微細藻類バイオマスを含有する配合物の摩擦低減および耐摩耗性を黒鉛または二硫化モリブデンを含む配合物のものと比較する。

【0223】

配合に先だって、乾燥微細藻類バイオマスサンプルは、表 I I に列挙される特性によって特徴付けられた。固体潤滑剤の粉末形態は、黒鉛 (Asbury Carbon) および二硫化モリブデン (Climax Molybdenum) の商業的供給元から入手した。粉末黒鉛は、0.5 ~ 50 ミクロン (microns) の粒度範囲によって特徴付けられた。粉末二硫化モリブデンは、0.5 ~ 5 ミクロン (microns) の粒度範囲によって特徴付けられた。ベース潤滑剤配合物を表 X に列挙される処方に従って調製した。濃縮配合物の混合は、Silver son オーバーヘッド高剪断ミキサーまたは低剪断オーバーヘッドミキサーを用いて、混合物が均一になるまで達成された。次に、各配合物の pH をおよそ 8.8 ~ 9.2 に上昇させた。配合物は、評価するまで周囲条件下でガラス瓶内に貯蔵した。これらの配合は 25% の懸濁液を含み、9 部の水と 1 部の配合の希釈は 2.5% の固体溶液をもたらし、ひいてはサンプル G - 1 (2.5% の藻類バイオマスを含有する)、G - 2 (2.5% の黒鉛を含有する)、および G - 3 (2.5% の MoS_2 を含有する) が生成する。希釈された配合物 (2.5% 固体) は、ASTMD 3233 A 法、ASTMD 2670、ASTMD 4172、および ASTMD 2783 に従って評価した。これらの標準化試験の結果は、表 X I に列挙される。

10

【0224】

20

【表 13】

表 X. 潤滑剤配合物

成分	重量%	サンプル		
		H-1	H-2	H-3
乾燥微細藻類バイオマス		25	0	0
合成乾燥黒鉛		0	25	0
超微粉二硫化モリブデン		0	0	25
カルボキシメチルセルロース		2	2	2
Proxel™ GTL (Lonza)		0.05	0.05	0.05
DI 水		72.95	72.95	72.95

30

【0225】

希釈配合物 (2.5% 固体) は、極圧および摩耗試験 ASTMD 3233 A 法、ASTMD 2670、ASTMD 4172、および ASTMD 2783 に従って評価した。これらの標準化試験の結果は、表 X I に列挙される。

【0226】

40

【表 1 4】

表 XI. 極圧および摩耗の標準化試験の結果

試験	測定	サンプル		
		G-1	G-2	G-3
ASTM D 2783、 潤滑油の 極圧特性 測定のための 標準試験法 (四球法)	溶着点 (kg)	126	126	400
	最終非焼付荷重 (kg)	50	50	63
	摩耗指数	19.07	27.74	90.9
ASTM D 4172、 潤滑油の 摩耗防止特性に関する 標準試験法 (四球法)	平均傷直径 (mm)	1.046	1.682	1.254
ASTM D 2670、 流体潤滑剤の摩耗特性を 測定するための標準試験法 (Falex ピンおよび Vee ブロック法)	歯摩耗 (歯)	13	48	39
ASTM D3233 A 法、 流体潤滑剤の極圧特性を 測定するための 標準試験法 (Falex ピンおよび Vee ブロック法)	摩擦係数 (min)	0.047	0.121	0.056
	破損時荷重 (ポンド)	破損せず	2536	破損 せず

10

20

【0 2 2 7】

表 X I に提示される結果は、微細藻類バイオマスを使用して調製された配合物が、黒鉛または二硫化モリブデンを使用して調製された配合物と比較して、磨耗の低減によって特徴付けられることを実証する。ASTM D 2670 の磨耗結果は、微細藻類バイオマスを含む配合物が、黒鉛または二硫化モリブデンのいずれかを含む配合物と比較して、2 倍以下の磨耗によって特徴付けられたことを実証する。ASTM D 4172 の磨耗結果は、微細藻類バイオマスを含む配合物が、黒鉛を含む配合物と比較して 37% の磨耗低減によって、および二硫化モリブデンを含む配合物と比較して 16% の磨耗低減によって、特徴付けられたことを実証する。

30

【0 2 2 8】

表 X I に提示される ASTM D 3233 A 法の結果は、微細藻類バイオマスを使用して調製された配合物が、黒鉛または二硫化モリブデンを使用して調製された配合物と比較して、より低い摩擦係数によって特徴付けられたことを実証する。

40

【0 2 2 9】

実施例 1 1 : 油中の藻類バイオマス配合物による摩擦の低減

本実施例は、金属加工剤油に関連した応力下で、微細藻類バイオマス、微細藻類油、または微細藻類脱脂ミールを含有する油性配合物の摩擦低減および極圧特性を比較する。

【0 2 3 0】

配合に先だって、乾燥微細藻類バイオマスおよび微細藻類脱脂ミールサンプルは、乾燥バイオマスおよび脱脂バイオマスの双方が 100 ミクロン未満の最終平均粒度に調製されたことを除いては、表 I I に列挙される特性によって特徴付けられた。微細藻類油は、表 I、試料 I F (S 6 6 9 7) に列挙される特性によって特徴付けられた。石油由来グループ I I 基油、ヒュームドシリカ、およびオクタン酸ピスマスは、商業的供給元から入手し

50

た。重量ベースの配合物は、表 X I I に列挙される処方に従って調製した。サンプル配合物の混合は、C o w l e s ブレードを利用するオーバーヘッド低剪断ミキサーと、それに続くオーバーヘッド高剪断 S i l v e r s o n ミキサーを用いて、混合物が均一になるまで達成された。配合物は、ピンが破損するまで荷重を増大させる、極圧試験 A S T M D 3 2 3 3 A 法に従って評価するまで、周囲条件下でガラス瓶内に貯蔵した。ピンの破損がなければ、3,000ポンド以上の荷重がかけられた。この標準化試験の結果は、表 X I I に示される。

【0231】

【表15】

10

表 XII. 油性潤滑剤配合物

成分	配合物の重量%	サンプル			
		I-1	I-2	I-3	I-4
グループ II パラフィン系基油		97.7	96.2	95.2	96.7
微細藻類油 (S6697)		0	1.5	0	0
乾燥微細藻類バイオマス		0	0	2.5	0
脱脂微細藻類バイオマス		0	0	0	1
ヒュームドシリカ		0.1	0.1	0.1	0.1
オクタン酸ビスマス		2.2	2.2	2.2	2.2

20

【0232】

【表16】

表 XIII. 極圧標準化試験の結果

試験	測定	サンプル			
		I-1	I-2	I-3	I-4
ASTM D3233 A 法、流体潤滑剤の極圧特性を測定するための標準試験法 (Falex ピン および Vee ブロック法)	破損時荷重(ポンド)	202	520	破損せず	破損せず

30

40

【0233】

表 X I I I に提示される結果は、ヒュームドシリカおよびオクタン酸ビスマスに加えて、微細藻類バイオマスまたは脱脂細藻類バイオマスを用いて調製された配合物が、3,000以上(3,000 or greater)の荷重に耐えられるように紡糸ピンを潤滑できたことを実証する。対照的に、ヒュームドシリカおよびオクタン酸ビスマスに加えて、微細藻類油またはグループ I I 基油のみを含む配合物は、520ポンドの荷重を超えてピンを潤滑できなかった。

【0234】

実施例 1 2 : 藻類バイオマス配合物を用いた撚り圧縮試験

本実施例は、金属加工流体に関連する応力下で、微細藻類バイオマスを含む配合物

50

の摩擦低減および荷重特性を黒鉛を含有するものと比較する。

【0235】

配合に先だって、乾燥微細藻類バイオマスサンプルは、表 I I に列挙される特性によって特徴付けられた。粉末黒鉛は、Asbury Carbon から入手した。潤滑剤配合物は、表 X I V に列挙される処方に従って調製した。配合物の混合は、低剪断ミキサーと、それに続く Silver son オーバーヘッド高剪断ミキサーを用いて、混合物が均一になるまで達成された。次に、各配合物の pH をおよそ 8.8 ~ 9.2 に上昇させた。配合物は、評価するまで周囲条件下でガラス瓶内に貯蔵した。

【0236】

【表 17】

10

表 XIV. 配合物

成分	配合物の 重量%	サンプル	
		J-1	J-2
乾燥微細藻類バイオマス		25	0
合成乾燥黒鉛		0	25
カルボキシメチルセルロース		2	2
Proxel™ GTL (Lonza)		0.05	0.05
DI 水		72.95	72.95

20

【0237】

表 X I V に列挙されるサンプルの希釈液上で撚り圧縮試験を用いて、アルミニウム 6061 および鋼 W - 1 プレートに付着した乾燥被膜の摩擦係数を評価した。評価に先だって、サンプル J - 1 および J - 2 を 3 部の水対 1 部の配合物 (4 × 希釈) に希釈して、6.25% の固形分を有する配合物 K - 1 (微細藻類バイオマス) および K - 2 (黒鉛) を得た。100 °C に加熱されたアルミニウム 6061 プレートに、K - 1 または K - 2 配合物のいずれかをスプレー被覆した。被膜は、周囲条件下で乾燥させた。次に、試験潤滑剤がスプレー塗布されたアルミニウム 6061 または鋼鉄 W - 1 プレート上で、加圧下において環状ツールを 10 rpm で回転させた。かけられた圧力は、1,000 ~ 5,000 psi の範囲であった。データを電子的に収集し、かけられた圧力に対する伝達トルクの比率から、摩擦係数を計算した。示される圧力で実行されたこれらの試験の結果は、表 X V に示される。

30

【0238】

【表 18】

表 XV. 撚り圧縮試験結果

試験	サンプル K-1				サンプル K-2			
	AL 1,000 psi	AL 3,000 psi	AL 5,000 psi	鋼 20,000 PSI	AL 1,000 psi	AL 3,000 psi	AL 5,000 psi	鋼 20,000 PSI
初期ピーク	0.085	0.043	0.026	0.014	0.246	0.198	0.164	0.072
破損までの 時間 (秒)	279.7	230.46	85.17	296.98	298.74	287.94	10.12	59.07
摩擦 係数	0.071	0.055	0.034	0.017	0.22	0.199	0.176	0.054
撚り 圧縮 試験摩擦 係数	3790	4381	2629	18109	1327	1448	58	1026

AL-アルミニウム

【0239】

表 X V に提示される結果は、微細藻類バイオマスを使用して調製された乾燥被膜が、黒鉛を使用して調製されたものよりも低い摩擦係数によって特徴付けられることを実証する。5,000 psi では、アルミニウム上のサンプル K - 1 の摩擦係数は、アルミニウム上のサンプル K - 2 の摩擦係数よりも 80% 低かった (0.034 対 0.176)。初期ピークは、試験が全圧に達した際の摩擦係数である。5,000 Kpsi では、微細藻類被膜サンプルの初期ピークは、黒鉛被膜サンプルの初期ピークよりも 84% 低かった。「撚り圧縮試験摩擦係数」は、撚り圧縮試験から得られた様々な結果の集計測定値である。撚り圧縮試験摩擦係数のより高い値は、潤滑剤がより高い潤滑性を提供することを示唆する。上記に見られるように、鋼に適用されて 20,000 psi に曝露された場合、バイオマスを含んでなる配合物の撚り圧縮試験摩擦係数は 18,109 であり、黒鉛を含有する配合物では、撚り圧縮試験摩擦係数は 1026 である。これは撚り圧縮試験摩擦係数における 17 倍を超える増大であり、バイオマスを含んでなる配合物が、黒鉛を配合した対照潤滑剤よりも、顕著により良好な潤滑剤であることを示唆する。同様に、バイオマスを含んでなる配合物の破壊までの時間は顕著により長い。アルミニウムでは 5,000 psi における破壊までの時間は、85.17 (バイオマス配合物) 対 10.12 (黒鉛配合物) であり、8.4 倍の増加である。まとめると、これらのデータは、アルミニウムおよび鋼表面上で、微細藻類バイオマスを使用して調製された配合物が、黒鉛を使用して調製されたものよりも低い摩擦を達成する能力を実証する。

【0240】

実施例 13 : 油中の藻類バイオマス配合物による摩擦の低減

本実施例は、金属加工油剤に関連した応力下で、微細藻類バイオマスを含有する油性配合物の摩擦低減および極圧特性を、黒鉛または二硫化モリブデンを含有する配合物と比較する。

【0241】

配合に先だって、乾燥微細藻類バイオマスは、100 ミクロン未満の最終平均粒度に調製されたことを除いて、表 I I に列挙される特性によって特徴付けられた。固体潤滑剤の懸濁形態は、黒鉛 (Graphkote 495、Asbury Carbon) および二

10

20

30

40

50

硫化モリブデン (SLA 1286、Henkel) の商業的供給元から入手した。石油由来グループ II 基油、ヒュームドシリカ、およびオクタン酸ビスマスは、商業的供給元から入手した。重量ベースの配合物は、表 XVI に列挙される処方に従って調製した。サンプル配合物の混合は、Cowles ブレードを利用するオーバーヘッド低剪断ミキサーと、それに続くオーバーヘッド高剪断 Silver son ミキサーを用いて、混合物が均一になるまで達成された。各配合物は、2.5% の固形分によって特徴付けられた。配合物は、周囲条件下でガラス瓶内に貯蔵した。極圧試験 ASTM D 3233 A 法に従って、ピンの破損まで荷重を増大させてそれらを検査した。ピンの破損がなければ、3,000 ポンド以上の荷重がかけられた。この標準化試験の結果は、表 XVII に示される。

【0242】

【表19】

10

表 XVI. 油性潤滑剤配合物

成分	配合物の重量%	サンプル		
		L-1	L-2	L-3
グループ II パラフィン系基油		95.2	72.7	89.2
乾燥微細藻類バイオマス		2.5	0	0
naGraphite (Graphkote)		0	25	0
二硫化モリブデン (SLA 1286)		0	0	8.5
ヒュームドシリカ		0.1	0.1	0.1
オクタン酸ビスマス		2.2	2.2	2.2

20

【0243】

【表20】

30

表 XVII. 極圧標準化試験の結果

試験	測定	サンプル		
		L-1	L-2	L-3
ASTM D3233 A 法、 流体潤滑剤の 極圧特性を 測定するための 標準試験法 (Falex ピン および Vee ブロック法)	試験終了時または破断時の 摩擦係数	0.099	0.313	0.051
	破損時荷重 (ポンド)	破損せず	1007	破損 せず

40

【0244】

表 XII に提示される結果は、微細藻類バイオマス、ヒュームドシリカ、およびオクタン酸ビスマスを使用して調製された配合物が、3,000 以上 (3,000 or greater) の荷重に耐えられるように紡糸ピンを潤滑でき、試験終了時の 0.099 の摩擦係数によって特徴付けられたことを実証する。対照的に、黒鉛、ヒュームドシリカ、およびオクタン酸ビスマスを含む配合物は、1007 ポンドの荷重を超えてピンを潤滑できず、0.313 の摩擦係数によって特徴付けられた。

【0245】

50

実施例 14：微細藻類油を含む金属除去液

本実施例は、金属加工油剤に関連する応力下で、微細藻類油を含んでなる塩素化パラフィン非含有配合物の荷重および潤滑特性を記載する。

【0246】

配合に先だって、微細藻類油は、表 I に列挙される特性によって特徴付けられた（サンプル I F、S 6 6 9 7、> 8 8 % 高オレイン酸含有量、< 2 % 多価不飽和含有量）。極圧、抗酸化剤、防錆剤、金属不活性化剤、および粘度調整剤添加剤を含んでなる潤滑剤配合物を微細藻類油が充填された容器内で混合し、有効粘度を達成した。M - 1 および M - 2 の 2 つの配合物を A S T M D 3 2 3 3 B 法に従って評価した。これらの標準化試験の結果は、表 X V I I I に列挙される。

【0247】

【表 2 1】

表 XVIII. 極圧段階試験の結果

荷重(ポンド)	配合物 M-1 (82.7%の微細藻類油 S6697)		配合物 M-2 (92%の微細藻類油 S6697 および誘導体)	
	トルク(ポンド力)	温度 (°F)	トルク(ポンド力)	温度 (°F)
300	7.85	85	6.8	87.5
500	9.25	86.5	8.9	98.5
750	12.55	91	10.8	103.5
1000	14.55	93.5	12.0	108.0
1250	16.3	100	13.2	113.5
1500	17.9	105.5	14.9	120.5
1750	19.6	111.5	15.5	127.5
2000	20.95	117	16.4	131.5
2250	21.8	124	17.5	137.5
2500	22.55	133	18.7	141.5
2750	23.5	138.5	19.9	148.0
3000	24.55	145	21.0	156.0
3250	24.85	152	22.9	163.5
3500	25.7	158.5	24.5	170.0
3750	26.1	165	25.7	176.0
4000	26.15	168.5	27.1	185.0
4250	27.15	172	27.4	194.0
4500	27.1	181		

【0248】

表 X V I I I に提示される結果は、微細藻類油を含む配合物が > 4 , 0 0 0 ポンドの荷重を達成し、塩素化パラフィンを含まないことを実証している。

【0249】

実施例 15：微細藻類バイオマスによるグリース添加物の低減

本実施例は、微細藻類バイオマスを含んでなるグリース配合物の荷重特性および耐摩耗性を記載する。

【0250】

グリース中への配合に先だって、乾燥微細藻類バイオマスは、表 I I に列挙される特性によって特徴付けられた。重量ベースのグリース配合物は、表 X I X に列挙される処方に従って調製した。1 2 - ヒドロキシステアリン酸リチウムグリースベース、塩素化エステ

ル、および工業等級二硫化モリブデンは、以下の表 X I X に示される商業的供給元から入手した。グリース配合物は、予備添加されたリチウム 1 2 グリースを Kitchen Aid Pro 600 に充填することによって調製した。ブレンダーを 40rpm の中程度の軌道速度にした。次に、グリースに、二硫化モリブデン塩素化エステルをどちらかをさらに添加し、分散を確実にするためにふるいにかけた。混合は、1 時間にわたり、または均質なグリース配合物が得られるまで、進行させた。次に、示されるグリース配合物に、乾燥微細藻類バイオマスをさらに添加した。混合は、最低 1 時間継続した。配合物は、Koehler K18100 Grease Worker 内における 1,000 サイクルへの曝露の前後に、円錐貫入 (ASTM D 217) により評価した。20 グラムの加工サンプル上で、ASTM D 2266 四球摩耗試験を行った。これらの標準試験の結果は、表 X X に示される。

【 0 2 5 1 】

【表 2 2】

表 XIX. グリース配合物

配合物	N-1 塩素化 パラフィンを含む グリース	N-2 塩素化 パラフィンおよび 微細藻類 バイオマスを含む グリース	N-3 二硫化 モリブデンを 含むグリース	N-4 二硫化モリブデンおよび 微細藻類バイオマスを含む グリース
	配合物の重量%			
#2 リチウムグリースベース (Battenfeld)	95	94.5	99	98.5
塩素化エステル (Qualice)	5	3.5	0	0
二硫化モリブデン (Gamay Ind.) 工業等級 5um X バー	0	0	1	0.5
乾燥微細藻類バイオマス	0	2	0	1

【 0 2 5 2 】

【表 2 3】

表 XX. ASTM D 2266: 潤滑グリースの摩耗防止圧力特性の結果

測定	Qualice 塩素化パラフィンを含む グリースベース		Gamay Ind. 二硫化モリブデンを含む グリースベース	
	N-1	N-2	N-3	N-4
荷重摩耗 指数	42	37	46	40 46
極圧(Extreme Pressure) 溶着 (kg)	400	400	250	250

【 0 2 5 3 】

表 X X に示される結果は、微細藻類バイオマスを使用して、ほぼ同一の摩耗および溶着特性を維持しながら、グリース配合物中の塩素化パラフィン量または二硫化モリブデン量を低下させてもよいことを実証する。

10

20

30

40

50

【 0 2 5 4 】

実施例 1 6 : 微細藻類バイオマスによる摩耗の低減

本実施例は、微細藻類バイオマスを含んでなる金属加工配合物の改善された耐摩耗性を記載する。

【 0 2 5 5 】

配合に先だって、乾燥微細藻類バイオマスは、表 I I に列挙される特性によって特徴付けられた。表 X X I に示される場合、10重量%の微細藻類 (m i c r o a g l a l) バイオマスを90重量%の金属加工配合物に混合した。配合物をハンドヘルド M a s t e r M i x を用いて混合し、次に、A S T M D 2 6 7 0、流体潤滑剤の摩耗特性を測定するための標準試験法 (F a l e x ピンおよび V e e ブロック法) によって評価した。歯の摩耗ならびに最終的なトルクおよび最終温度は、表 X X I に示される。

10

【 0 2 5 6 】

【表 2 4】

表 XXI. 金属加工配合物および ASTM D 2670 の結果

ASTM D2670	重量% 微生物 バイオマス	最終トルク (ポンド力)	最終 温度 (°F)	歯摩耗 (歯)
Battenfield リチウム 一般用途グリース	0	17.4	221	120
	10	15.4	222	22
Qualice 塩素化 タッピング液	0	18.2	142	21
	10	17.9	149	6

20

【 0 2 5 7 】

表 X X I に示される結果は、微細藻類バイオマスが、グリース中およびタッピング液中の磨耗を減少させるために使用されてもよいことを実証する。

【 0 2 5 8 】

実施例 1 7 : 潤滑剤 (L U B R I C A N T) 配合物

追加的な潤滑剤配合物は、下の表 X X I I に示される。

30

【 0 2 5 9 】

【表 2 5】

表 XXII. 潤滑剤配合物

配合物	成分
水性 濃縮物	25%微細藻類; 1.5% CMC (FinnFix LC); 0.5% Tergitol min foam; 0.5% Proxel GXL; 72.5%水; pH9.5 にするための NaOH
油性 濃縮物	25%微細藻類; 1%親水性ヒュームドシリカ (Cabosil M5); 74% Calsol 5550 (Calumet; ナフテン油、色および 揮発物処理済み)
水および油性 濃縮物	25%微細藻類; 12.5% Chemfac PB-184 (リン酸エステルベースの 乳化剤); 12.5%脱イオン水; 1%親水性ヒュームド シリカ (Cabosil M5); 50% HC100 (Calumet ナフテン油)
脱脂および 酸/塩基消化 微細藻類バイオマス 濃縮物	プレスからの 50%固形分; 50%水; 消化のための酸としての H ₂ SO ₄ ; 消化のための塩基としての NaOH

10

20

【0260】

30

本発明は、その特定の実施形態に関連して記載されているが、さらなる変更が可能であるものと理解される。この出願は、一般に、本発明の原理に従った本発明の任意のバリエーション、使用、または応用をカバーすることが意図され、本発明が関係する技術分野における既知のまたは慣習的な実施の範囲内に入り、上文に記載される本質的な特徴に適用されてもよい、本開示からの逸脱を含む。

【0261】

特許、特許出願、および刊行物をはじめとする、本明細書中に引用される全ての参考文献は、以前に具体的に援用されているかどうかに関わりなく、その全体が本明細書に参照により援用される。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2016/024106

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C10M159/02 C10M159/08 C10M169/04 C10M173/00 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C10M C10N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y A	WO 2014/138593 A2 (SOLAZYME INC [US]) 12 September 2014 (2014-09-12) page 20, line 20; claims 46-81 page 51, line 17; example 1; table 5 -----	1-13,17, 23-31 1,14-19 20-22
X Y A	US 2012/119862 A1 (FRANKLIN SCOTT [US] ET AL) 17 May 2012 (2012-05-17) paragraphs [0003], [0013], [0167], [0196] - [0198], [0201] - [0203], [0326], [0381]; claims 1-6; tables 10,14,16-18 -----	1-17, 23-31 1,18-20 21,22
Y	US 2014/215654 A1 (DAVIS DAVID [US]) 31 July 2014 (2014-07-31) paragraphs [0341], [0350], [0351], [0353], [0355] -----	1,18-20
	-/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 31 May 2016		Date of mailing of the international search report 08/06/2016
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Kazemi, Pirjo

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2016/024106

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2013/338385 A1 (FRANKLIN SCOTT [US] ET AL) 19 December 2013 (2013-12-19) paragraphs [0449] - [0451]; figures 1,2,10; tables 25-27,31,33,39,46,49,50 -----	1,14-18

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2016/024106

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2014138593 A2	12-09-2014	AU 2014225439 A1	01-10-2015
		CA 2903494 A1	12-09-2014
		CN 105164230 A	16-12-2015
		EP 2964718 A2	13-01-2016
		US 2014256600 A1	11-09-2014
		US 2014273168 A1	18-09-2014
		US 2015247081 A1	03-09-2015
		WO 2014138593 A2	12-09-2014
		US 2012119862 A1	17-05-2012
CA 2816125 A1	10-05-2012		
CN 103282473 A	04-09-2013		
EP 2635663 A2	11-09-2013		
JP 2014500349 A	09-01-2014		
JP 2016065258 A	28-04-2016		
KR 20130118333 A	29-10-2013		
SG 190154 A1	28-06-2013		
SG 10201509035W A	30-12-2015		
US 2012119862 A1	17-05-2012		
US 2015344917 A1	03-12-2015		
WO 2012061647 A2	10-05-2012		
US 2014215654 A1	31-07-2014		
		CA 2899209 A1	07-08-2014
		CN 105164252 A	16-12-2015
		EP 2951294 A1	09-12-2015
		JP 2016508717 A	24-03-2016
		KR 20150113973 A	08-10-2015
		US 2014215654 A1	31-07-2014
		WO 2014120829 A1	07-08-2014
US 2013338385 A1	19-12-2013	NONE	

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
C 1 0 M 103/06 (2006.01)	C 1 0 M 103/02	A
C 1 0 M 103/00 (2006.01)	C 1 0 M 103/06	C
C 1 0 N 10/08 (2006.01)	C 1 0 M 103/00	A
C 1 0 N 10/12 (2006.01)	C 1 0 N 10:08	
C 1 0 N 30/06 (2006.01)	C 1 0 N 10:12	
C 1 0 N 40/02 (2006.01)	C 1 0 N 30:06	
C 1 0 N 40/04 (2006.01)	C 1 0 N 40:02	
C 1 0 N 40/08 (2006.01)	C 1 0 N 40:04	
C 1 0 N 40/12 (2006.01)	C 1 0 N 40:08	
C 1 0 N 40/20 (2006.01)	C 1 0 N 40:12	
C 1 0 N 40/22 (2006.01)	C 1 0 N 40:20	
C 1 0 N 40/25 (2006.01)	C 1 0 N 40:22	
C 1 0 N 40/30 (2006.01)	C 1 0 N 40:25	
C 1 0 N 40/32 (2006.01)	C 1 0 N 40:30	
C 1 0 N 50/10 (2006.01)	C 1 0 N 40:32	
	C 1 0 N 50:10	

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, T J, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, R O, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, H N, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG , NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(72)発明者 シッフ - デブ, セリーン
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, ゲートウェイ
ブルーバード 2 2 5

(72)発明者 マッキー, エイドリアン
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, ゲートウェイ
ブルーバード 2 2 5

(72)発明者 ピーチョッキ, ジョン
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, ゲートウェイ
ブルーバード 2 2 5

(72)発明者 スプリンガー, ステイシー
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, ゲートウェイ
ブルーバード 2 2 5

(72)発明者 セル, ギャレット
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, ゲートウェイ
ブルーバード 2 2 5

(72)発明者 サリバン, ブライス エー.アール.
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, ゲートウェイ
ブルーバード 2 2 5

F ターム(参考) 4H104 AA04A AA05A AA19A AA26A BB31A BB34A BB41A CB14A DA02A EB04
EB05 EB08 EB09 EB10 EB11 EB12 EB14 FA04 FA06 LA03
PA01 PA02 PA05 PA07 PA20 PA21 PA22 PA37 PA41 QA18