

(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2014-527829

(P2014-527829A)

(43) 公表日 平成26年10月23日(2014.10.23)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>AO1G 31/00 (2006.01)</b>	AO1G 31/00 601B	2B022
<b>AO1G 1/00 (2006.01)</b>	AO1G 31/00 601A	2B314
	AO1G 31/00 612	
	AO1G 31/00 606	
	AO1G 1/00 301Z	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 23 頁)

(21) 出願番号 特願2014-531948 (P2014-531948)  
 (86) (22) 出願日 平成24年9月20日 (2012. 9. 20)  
 (85) 翻訳文提出日 平成26年3月31日 (2014. 3. 31)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2012/056261  
 (87) 国際公開番号 W02013/043824  
 (87) 国際公開日 平成25年3月28日 (2013. 3. 28)  
 (31) 優先権主張番号 13/236, 797  
 (32) 優先日 平成23年9月20日 (2011. 9. 20)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 511251881  
 アクアテック バイオエナジー エルエル  
 シー  
 AQUATECH BIOENERGY  
 LLC  
 アメリカ合衆国 57110 サウスダコ  
 タ州 スー フォールズ サウス フォー  
 ン コート 908  
 (74) 代理人 100105957  
 弁理士 恩田 誠  
 (74) 代理人 100068755  
 弁理士 恩田 博宣  
 (74) 代理人 100142907  
 弁理士 本田 淳

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 水用セルから水を回収する方法およびシステム

(57) 【要約】

水生植物により嫌氣的代謝中に産生されるエタノールを回収、精製、および/または抽出する方法およびシステムが提供される。システムには、水および水生植物が入っているセル、水からエタノールを除去するためのセルと流体連通しているエタノール抽出アセンブリが含まれる。エタノールは、水生植物に到達する光合成誘発光を調節することなど、植物における嫌氣的過程を開始することによって、水生植物により放出される。

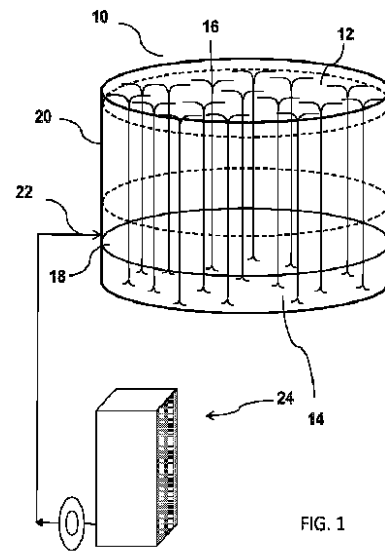


FIG. 1

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

植物副産物を除去するように構成された水用セルであって、  
水と、

微粒子材料を含む基材と、

少なくとも 1 種の水生植物であって、少なくとも根が前記基材中に配置されている、  
少なくとも 1 種の水生植物と、

前記セルに水を送るように構成された給水口と、

前記セルから水を除去するように構成された排水口と、

前記排水口に流体連結したエタノール抽出アセンブリと、

を備え、

前記給水口と前記排水口とのうちの少なくとも一方は、前記セルにおいて前記基材の高さにまたはそれより低い高さに配置されており、前記給水口と前記排水口とのうちの他方は、前記セルにおいて前記基材の高さにまたはそれより高い高さに配置されており、前記セルから前記排水口を通して除去される水が前記基材を通して抜き出される、

水用セル。

## 【請求項 2】

前記排水口が前記基材の高さにまたはそれより低い高さに配置されており、前記給水口が前記基材の高さにまたはそれより高い高さに配置されている、請求項 1 に記載の水用セル。

## 【請求項 3】

前記排水口が、前記基材より低い高さの前記セルの壁または床に配置されている、請求項 1 に記載の水用セル。

## 【請求項 4】

前記水が、第 1 の温度の上階層と、第 2 の温度の下階層を含み、該第 2 の温度は該第 1 の温度よりも低い、請求項 1 に記載の水用セル。

## 【請求項 5】

前記給水口は、前記下階層内かつ前記基材より高い高さに配置されている、請求項 4 に記載の水用セル。

## 【請求項 6】

前記基材の高さに対する水深の比は約 1 : 1 ~ 1 : 2 の間にある、請求項 1 に記載の水用セル。

## 【請求項 7】

前記少なくとも 1 種の水生植物は、ヒルムシロ科と、マツモ科と、アリノトウグサ科と、ミカン科とのうちの 1 つから選択される、請求項 1 に記載の水用セル。

## 【請求項 8】

前記少なくとも 1 種の水生植物は、ヒルムシロ科から選択される、請求項 1 に記載の水用セル。

## 【請求項 9】

前記少なくとも 1 種の水生植物は、リュウノヒゲモ植物、またはその交雑種もしくは雑種である、請求項 1 に記載の水用セル。

## 【請求項 10】

水の第 1 の温度を有する上階層と第 2 の温度を有する下階層とを含む水であって、該第 2 の温度は該第 1 の温度よりも低い、水と、

前記下階層内に配置されている給水口と、

下の温度階層の高さにまたはそれより低い高さに配置されている基材であって、土壌の上層と、少なくとも 1 種の微粒子材料を含む下層とを含む基材と、

少なくとも 1 種の水生植物であって、少なくとも根が前記基材中に配置されている、  
少なくとも 1 種の水生植物と、

を備える水用セル。

10

20

30

40

50

- 【請求項 1 1】  
前記微粒子材料は砂利を含む、請求項 1 0 に記載の水用セル。
- 【請求項 1 2】  
前記基材は鉱物材料の第 3 の層を含む、請求項 1 0 に記載の水用セル。
- 【請求項 1 3】  
前記給水口は、前記第 1 の温度よりも低い温度を有する水源に流体連結されている、請求項 1 0 に記載の水用セル。
- 【請求項 1 4】  
前記水生植物の光合成を選択的に阻害するように構成された光合成光調節器をさらに備える、請求項 1 0 に記載の水用セル。 10
- 【請求項 1 5】  
前記光合成光調節器は光合成光バリアを含む、請求項 1 0 に記載の水用セル。
- 【請求項 1 6】  
前記少なくとも 1 種の水生植物は、リュウノヒゲモ植物、またはその交雑種もしくは雑種である、請求項 1 0 に記載の水用セル。
- 【請求項 1 7】  
前記セルにおいて前記基材の高さにまたはそれより低い高さにある排水口をさらに備え、前記セルから前記排水口を通して除去される水が前記基材を通して抜き出される、請求項 1 0 に記載の水用セル。
- 【請求項 1 8】 20  
水と、微粒子基材と、少なくとも 1 種の水生植物であって少なくとも根が前記基材中に配置されている少なくとも 1 種の水生植物とを含む水用セルから水を回収する方法であって、  
前記基材を通して、エタノール回収アセンブリと流体連通している排水口へ水を抜き出す工程、  
を備える方法。
- 【請求項 1 9】  
前記排水口は前記基材の高さにまたはそれより低い高さに配置されており、前記抜き出す工程は、前記基材の高さまたはそれより高い高さの領域から下方へと前記排水口へ前記水を抜き出す工程を含む、請求項 1 8 に記載の方法。 30
- 【請求項 2 0】  
前記セルに上側の水階層と下側の水階層とを形成する工程をさらに備える、請求項 1 8 に記載の方法。
- 【請求項 2 1】  
下側の階層に水を導入する工程であって、下側の階層は上側の階層の水温よりも低い温度を有する、工程をさらに備える、請求項 2 0 に記載の方法。
- 【請求項 2 2】  
前記エタノール回収アセンブリに抜き出される水からエタノールを除去する工程をさらに備える、請求項 1 8 に記載の方法。
- 【請求項 2 3】 40  
水が前記排水口に抜き出される際、前記セルの光合成が阻害される、請求項 1 8 に記載の方法。
- 【発明の詳細な説明】
- 【技術分野】
- 【0 0 0 1】  
本開示は、水生植物を栽培するためのセル、ならびにこうしたセルから水を回収する方法およびシステムに関する。エタノールを含む様々な水生植物の副産物は、回収水から除去することができる。
- 【背景技術】
- 【0 0 0 2】 50

現在のエタノール生産方法は、主に、バイオマス源のエタノールへの直接転化に依存している。穀物をベースとするエタノール生産では、例えば、トウモロコシなどの穀物は、機械的、熱的、および/または化学的に処理されて、この処理済み穀物から抽出される画分が、微生物含有発酵槽に入れられる。発酵抽出物は、次に蒸留される。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0003】

従来のエタノール生産の欠点には、原料（すなわち、穀物）消費、副産物の生成、ならびに水およびエネルギーの消費が高いことが挙げられる。したがって、従来のエタノール生産の代替法が求められてきた。

10

【課題を解決するための手段】

【0004】

一実施形態は、水、基材、少なくとも1種の水生植物、給水口、および排水口を備えるセルである。給水口および排水口のうちの少なくとも一方は、セルにおいて基材の深さの位置またはそれより低い位置にあり、給水口および排水口のうちの他方は、セルにおいて基材の深さの位置またはそれより高い位置にある。セルから除去される水は排水口から流れるか、または除去される前に基材を通して引き抜かれる。

【0005】

別の実施形態は、第1の水温の上階層（stratum）と第2の温度の下階層とを有する水を含むセルであり、第2の温度は第1の温度よりも低い。該セルは、少なくとも1種の水生植物と、下階層の深さに配置されている給水口と、下温度階層の高さにまたはそれより低い高さに配置されている基材とをさらに備える。該基材は、土壌の上層と、少なくとも1種の微粒子材料を含む下層とを含んでもよい。

20

【0006】

さらなる実施形態は、水と、微粒子基材と、少なくとも1種の水生植物であって少なくとも根が前記基材中に配置されている少なくとも1種の水生植物とを含む水用セルから水を回収する方法である。水は基材を通して、基材の高さにまたはそれより低い高さに配置されている排水口へと抜き出され、この基材は水回収アセンブリに連結されている。

【図面の簡単な説明】

【0007】

30

【図1】本開示の一実施形態による、水生植物を栽培するシステムの概略図。

【図2】本開示の一実施形態における、水生植物を栽培するための基材の断面図。

【図3】本開示の一実施形態における、水生植物を栽培するための基材の断面図。

【図4】本開示の一実施形態による、水生植物を栽培するシステムの概略図。

【図5】本開示の一実施形態による、水生植物からエタノールを分離するシステムの概略図。

【図6】本開示の一実施形態による、水生植物により産生されるエタノールを得る方法を例示している図。

【発明を実施するための形態】

【0008】

40

続く本開示の詳細な説明が一層よく理解され、当分野への本発明の寄与が一層よく認識され得るように、本開示のより重要な特徴をこのようにかなり広く概説してきた。以下に記載され、本出願に添付されている特許請求の範囲の主題を形成する本開示の追加の特徴が存在する。

【0009】

本開示の目的は、本開示を特徴づける新規性の様々な特徴とともに、この開示の一部に帰属され、その一部を形成する特許請求の範囲において詳細に示される。

以下の本開示の詳細説明を考慮すると、本開示が一層よく理解され、また上で説明されたもの以外の目的が明らかになる。こうした記載は、添付された図面を参照する。

【0010】

50

図1は、水12、セル10の底部近辺の水より低い位置に一般に配置される基材14、および1つまたは複数の水生植物16を含む、水用セル10の略図である。

セル10の寸法は、セルに導入される水生植物のサイズおよび種類ならびに数、水深、および基材高さに依存し得る。各セルの深さは、約10cm～約20m（例えば、10cm～100cm、50cm～1m、100cm～1m、500cm～3m、1m～5m、4m～10m、5m～7m、5m～10m、または10m～20m）の範囲とすることができる。

#### 【0011】

広範囲の水深を利用することができる。深部における通常にはない高い水温などの他の環境要因が存在すれば、一部の植物は、かなり深い深度で生長することがあることが見いだされている。例えば、リュウノヒゲモ (*Stuckenia pectinata*) は、20mよりも深い水深において生長することが示されており、この場合、熱水噴出孔は、少なくとも、北米の湖においてこうした深さで通常見いだされると思われるよりも暖かい水を提供する。他の実施形態では、かなり浅い水深が使用され得る。

10

#### 【0012】

セルの幅および長さは、本システムには重要ではない。セルの幅および長さは等しい必要はなく、また本システムで使用される植物数および種類に適応するように調節することができ、またセル形状、利用可能な土地面積、原材料入手、および費用管理にさらに依存し得ることを理解すべきである。セルが単一の植物を保持する寸法にされる場合、本システムにおいて2つ以上のセルを含むことが有利なことがある。

20

#### 【0013】

セル10に含有している水12は、例えば、熱交換器またはセル内蔵型ヒータを使用して、温度制御されてもよい。セル用熱はまた、隣接したエタノール加工プラントまたは他の任意の好都合な廃熱源により発生する廃熱から確保 (*sequestered*) してもよい。好都合な場合、地熱および太陽などの追加の熱源も利用してもよい。一実施形態では、污水处理プラントまたは電力施設から出る水を、温度を調節するため、および水生植物に追加の栄養素を提供するための両方に利用してもよい。さらに、特に高温の気候では、セルは、別の面で植物に害を与えると思われる温度を回避するために、冷却を必要とすることがある。利用される水生植物の品種に応じて、植物生長およびエタノール産生を最適化する温度範囲を選択することができる。例えば、リュウノヒゲモなどの選択される一部の植物は、最適な生長のために約32～23の間に維持され得るが、生長およびエタノール産生のため総合的な温度範囲は、はるかに広い範囲にあることを理解すべきである。温度を制御する1つの方法は、セルを地中に埋めることであり、この場合、セル周辺の土壌が、セルの温度を適度に保つ。

30

#### 【0014】

一部の実施形態では、セル中の水温は、異なる水深において様々な水温領域が存在するように、制御される。特に、水温は、図1に示される温度階層18および20などの、一般に水平方向の2つ以上（例えば、3つ、4つまたは5つ）の温度階層に階層化することができる。各階層の温度は、一般に一様とすることができるか、または勾配を反映させてもよい。

40

#### 【0015】

階層間の境界は、物理的障壁（バリア）を持たせて、または持たせることなく維持することができる。一実施形態では、階層18、20間の少なくとも約1の温度差は、障壁境界をつくらない。各温度領域における水移動および温度変動を最小限にすることにより、物理的障壁を使用することなく、階層間の温度差を維持する利点を実現することができる。しかし、ある程度の水流または循環を使用して、温度領域間の境界を安定化することができる。代替的または追加的に、それらを通して植物が生長できる、布、メッシュまたは他の材料などの物理的障壁を使用して、この階層化を安定化することができる。一部の実施形態では、物理的障壁は、領域間の温度差が約1よりも大きい場合に使用される。さらに、物理的障壁は、ある温度領域中の水に伝達される放射エネルギー（例えば、光源

50

からの)量を低減することができる。一部の実施形態では、植物の定着前に物理的障壁が導入され、この障壁を通して該植物は生長することができる。

【0016】

水温が階層化される場合、温度領域は、使用されている水生植物に適するよう、サイズ、場所、および温度の調節を行うことができる。例えば、図1に示されている通り、階層20は、植物16の葉の部分が繁殖している水12の表面から、植物16の茎の部分が繁殖している深さまで延在する。階層18は、階層境界から少なくとも基材表面まで、ならびに可能性として、植物16の茎下部および/または根が繁殖している基材14にまで延在する。

【0017】

上階層20は、最大約37、より詳細には最大約32、さらにより詳細には最大約31(約2~約21、約2~約16、約4~約18、約4~約10、約10~約13、約16~約20、約17~約19、約17、約18、約18、約19などを含む)の温度を有することができる。下階層18における水温は、上階層20の温度よりも約1~14低くすることができ、より詳細には、上階層20の温度よりも約2~6低くすることができる。各階層は、一般に、温度を一様とすることができるか、またはより深いほど温度を徐々に低下させることができる。

【0018】

各階層における温度は、任意の適切な手段を使用して制御してもよい。例えば、一部の実施形態では、水面近くの水は、太陽または人工光源などの光源からの放射熱に曝露させることにより加熱される。あるいは、水面近くの水を発熱体などの熱源を使用して加熱するか、または水をセル外部で加熱してセルの表面近くに導入することができる。より低い温度領域の温度は、例えば、物理的障壁または色素(例えば、青色色素)などの他の手段の使用により放射エネルギー源(例えば、光)への曝露を制限する、温度制御した水を導入するなどにより、制御することができる。

【0019】

一実施形態では、セル10は少なくとも1つの給水口を含み、各給水口は1つの階層の深さに配置されている。給水口は、温度制御した水を階層に導入する水源に連結されている。図1に例示されているセル10では、給水口22は、下階層18の深さ内に配置されている。給水口22は水源24に連結されており、上階層20の温度よりも低い温度、より詳細には下階層18について望ましい温度またはその付近の温度の階層18に送水するよう構成されている。このように、水階層18のより低い温度が維持され、水階層18および水階層20は、障壁が使用されることなく存在する。別の実施形態では、各階層に対応する給水口を、独立して水温制御するために使用する。

【0020】

温度階層の他に、他の水条件(例えば、溶存ガスレベル、栄養素レベル、水流など)を、階層18、20または他の領域中で変えて、植物生長、炭水化物産生、および/またはエタノール産生に利点をもたらすことができる。例えば、植物16の葉の領域またはその近傍における水条件には、炭水化物産生を促進するために、溶存CO<sub>2</sub>の添加を含むことができる。植物16の茎領域または根領域に対応する水領域では、CO<sub>2</sub>濃度をより低くすることができる。別の例では、水生植物の葉の領域またはその近傍における水の流速を調節して、葉の上の藻類の堆積を防止することができる。

【0021】

別の例では、栄養分は、階層内またはセル10の他の領域間で異なってもよい。茎の区域に相当する領域の水の栄養分は、葉に相当する領域の水よりも多量栄養素および/または微量栄養素の濃度を高く含有してもよい。一部の実施形態では、基材表面近傍の水は、他の領域の水よりも高い窒素濃度を有することができる。栄養素濃度は、栄養素を水生植物に供給するように、かつ藻類の生長を低く保つように、調節することができる。

【0022】

基材14は、植物12の根系を定着させ、さらに以下で説明するように、エタノールな

10

20

30

40

50

どの植物副産物が放出される領域を含んでもよい。一実施形態では、基材には、主要な定着機構として働く微粒子材料が含まれる。しかし、根がそこに絡みついて根自体が結びつく、格子または網などの機械的定着デバイスも場合により同様に使用することができる。基材の厚みに対する水深の比は、約 2 : 1 ~ 約 1 : 2 の範囲とすることができる。一実施形態では、水深は、基材の厚み以下、例えば、水深 / 基材の厚みの比は、約 1 : 1 以下、より詳細には約 1 : 1 ~ 約 1 : 2 とすることができる。さらなる実施形態では、水深は、基材の厚み未満、例えば水深 / 基材の厚みの比は、1 : 1 未満である。

#### 【 0 0 2 3 】

一実施形態では、基材 1 4 は、多孔性鉱物材料から形成された粗粒子を使用してもよい。他の実施形態では、基材 1 4 は、層として形成することができる 2 種以上の材料を含んでもよい。各基材層の特性は、必要に応じて、化学組成（例えば、栄養分または pH）、物理組成（例えば、粗さまたは密度）、生物組成（例えば、細菌）などの変動を含め、使用される植物に関して構成することができる。

10

#### 【 0 0 2 4 】

一部の実施形態では、基材 1 4 の 1 つの層は、水中に硝酸塩を蓄え放出する能力のある土壤組成物（腐植土を含んでもよい）を含み、基材 1 4 の別の層は、窒素固定細菌などの細菌の定着に適した多孔性材料を含む。基材材料の、水、熱、ガス、および / または栄養素を透過させる能力などの、他の特性も考慮することができる。追加的または代替的に、基材は、水が基材を通過して流れることができる、豆砂利などのより大きな粒子材料の層を含んでもよい。

20

#### 【 0 0 2 5 】

図 2 は、一実施形態による基材 1 4 の断面図である。基材 1 4 は、基材 1 4 の表面から約 1 5 c m ~ 約 3 0 c m（例えば、約 1 5 ~ 約 2 5 c m、約 2 0 c m ~ 約 3 0 c m、約 2 5 c m ~ 約 3 0 c m、約 1 5 c m、約 1 8 c m、約 2 0 c m、約 2 5 c m など）の深さまで延在する土壤または腐植土の上層 2 4 を含む。上層 2 4 は、植物根に栄養素を供給することができる。かつ / または硝酸塩などの栄養素を基材 1 4 の上の水中に浸出することができる。下層 2 6 は、本明細書においてさらに説明される理由のために、水が基材を通過して流れるのに適した豆砂利などの粗粒子材料である。下層 2 6 は、発熱体が基材より低い位置に配置される場合、熱伝導を促進することもある。下層 2 6 は、約 1 5 c m ~ 約 3 0 c m（例えば、約 1 5 ~ 約 2 5 c m、約 2 0 c m ~ 約 3 0 c m、約 2 5 c m ~ 約 3 0 c m、約 1 5 c m、約 1 8 c m、約 2 0 c m、約 2 5 c m など）の深さを有することができる。

30

#### 【 0 0 2 6 】

図 3 は、別の実施形態による基材 1 4 の断面図であり、多孔性鉱物材料（例えば、モンモリロナイト、焼成ヘマタイト）を含む追加の層 2 8 を含む。追加の層 2 8 は、好気性および嫌気性の窒素固定細菌のための付着部位を設けることができる。追加の層 2 8 は、基材 1 4 の一番上の層として例示されており、約 1 5 c m ~ 約 3 0 c m（例えば、約 1 5 ~ 約 2 5 c m、約 2 0 c m ~ 約 3 0 c m、約 2 5 c m ~ 約 3 0 c m、約 1 5 c m、約 1 8 c m、約 2 0 c m、約 2 5 c m など）の高さを有することができる。代替実施形態では、層 2 8 は、層 2 4 と層 2 6 の中間層として設けてもよい。

40

#### 【 0 0 2 7 】

一部の実施形態では、栄養素が基材に添加されて、植物および / または窒素固定細菌に、多量栄養素および / または微量栄養素を供給する。肥料ペレットまたは富栄養水の添加など任意の適切な方法を使用して、例えば、給水口 2 0 を通して、基材に栄養素を添加することができる。

#### 【 0 0 2 8 】

水生植物 1 2 は、直接水中、または恒久的な飽和土のような水生環境中または同環境上で容易に生息するどのような水生植物からも選択することができる。より一般には、用語「水生植物」は、水中に常時浸かっているかまたは湛水期間中に断続的に浸かっているかのどちらかに対して耐用性の高い、任意の藻類、水生植物または半水生植物を含むことが

50

できる。さらに、2種以上の種類の水生植物が、単一セル内で使用されてもよい。

【0029】

より詳細には、適切な植物には、本明細書に記載される条件下で、エタノールを排出するものが含まれる。一部の実施形態では、水生植物16は、非遺伝子組換え植物である。他の実施形態では、水生植物16は、遺伝子組換え植物である。遺伝子組換えは、非限定的に、有害生物に対する耐性、殺虫剤または除草剤に対する耐性、熱に対する耐性、寒冷に対する耐性、および/または高濃度の植物副産物(例えば、エタノール)に対する耐性を付与する導入遺伝子を組み込ませることを含むことができる。

【0030】

適した水生植物には、例えば、以下に限定されないが、リュウノヒゲモ(以前にはポタモゲトン・ペクチナトゥス(*Potamogeton pectinatus*)として知られており、一般にサゴヒルムシロ(*Sago Pondweed*)と呼ばれる)、スツケニア・バギナタ(*Stuckenia vaginata*)、スツケニア・フィリフォルミス(*Stuckenia filiformis*)、エビモ(*Potamogeton crispus*)、ヒルムシロ(*Potamogeton distinctus*)、ポタモゲトン・ノドス(*Potamogeton nodosus*)、カワツルモ(*Ruppia maitima*)、ホザキノフサモ(*Myriophyllum spicatum*)、クロモ(*Hydrilla verticillata*)、オオカナダモ(*Elodea densa*)、スギナモ(*Hippuris vulgaris*)、アポノゲトン・ボイビニアヌス(*Aponogeton boivinianus*)、アポノゲトン・リギディフォリウス(*Aponogeton rigidifolius*)、アポノゲトン・ロンギブルムロス(*Aponogeton longiplumulosus*)、ディディプリス・ディアンドラ(*Didiplis diandra*)、ジャワモス(*Vesicularia dubyana*)、ハイグロフィラ・アングスティフォリア(*Hygrophilia augustifolia*)、ラージパールグラス(*Micranthemum umbrosum*)、エイクホルニア・アズレア(*Eichhornia azurea*)、アメリカ半夏生(*Saururus cernuus*)、クリプトコリネ・リングア(*Cryptocoryne lingua*)、ヒドロトリケ・ホトニフローラ(*Hydrotriche hottoniiflora*)、オランダプラント(*Eustralis stellata*)、パリスネリア・ルブラ(*Vallisneria rubra*)、ハイグロフィラ・サリチフォリア(*Hygrophilia salicifolia*)、シペルス・ヘルフェリー(*Cyperus helferi*)、クリプトコリネ・ベッチー(*Cryptocoryne petchii*)、パリスネリア・アメリカーナ(*Vallisneria americana*)、パリスネリア・トルータ(*Vallisneria torta*)、ヒドロトリケ・ホトニフローラ(*Hydrotriche hottoniiflora*)、クラウスラ・ヘルムシー(*Crassula helmsii*)、キクモ(*Limnophila sessiliflora*)、ヒロハノエビモ(*Potamogeton perfoliatus*)、ロタラ・ワリッキー(*Rotala wallichii*)、クリプトコリネ・ベケットティ(*Cryptocoryne beckettii*)、ブリクサ・アウベルティ(*Blyxa aubertii*)およびハイグロフィラ・ディフォルミス(*Hygrophilia difformis*)などの藻類、沈水草本(submersed aquatic herbs)、以下に限定されないが、スピロデラ・ポリュリザ(*Spirodela polyrrhiza*)、ミジンコウキクサ(*Wolffia globosa*)、ヒンジモ(*Lemna trisulca*)、イボウキクサ(*Lemna gibba*)、コウキクサ(*Lemna minor*)、およびヒメウキクサ(*Landoltia punctata*)などのウキクサ、以下に限定されないが、ポタンウキクサ(*Pistia stratiotes*)などのウォーターキャベツ、以下に限定されないが、キンポウゲ属(*Ranunculus*)などのキンポウゲ(buttercups)、以下に限定されないが、トラパ・ナタンス(*Trapa natans*)およびトラパ・ピ

コルニス (*Trapa bicornis*) などのオニビシ (*water caltrop*)、ヨザキスイレン (*Nymphaea lotus*)、スイレン科 (*Nymphaeaceae*) およびハス科 (*Nelumbonaceae*) などのスイレン (*water lily*)、以下に限定されないがホテイアオイ (*Eichhornia crassipes*)、ボルビティス・ヒュデロツティ (*Bolbitis heudelotii*) およびカボンバ属 (*Cabomba*) などのウォーターヒヤシンス、ならびに以下に限定されないがヘランテラ・ゾスティフォリア (*Heteranthera zostericifolia*)、ポシドニア科 (*Posidoniaceae*)、アマモ科 (*Zosteraceae*)、トチカガミ科 (*Hydrocharitaceae*)、シオニラ科 (*Cymodoceaceae*) などの海草、ならびにこうした植物の雑種を含むことができる。さらに、様々な実施形態のうちの一つでは、宿主藻類は、緑藻類、紅藻類、褐藻類、珪藻類、海藻類、淡水性藻類、単細胞藻類、多細胞藻類、海草、低温耐性藻類、熱耐性藻類、エタノール耐性藻類、およびそれらの組合せからなる群から選択することができる。

10

20

30

40

50

#### 【0031】

より詳細には、水生植物 16 は、種 (例えば、天然種)、ヒルムシロ科 (*Potamogetonaceae*)、マツモ科 (*Ceratophyllaceae*)、アリノトウグサ科 (*Haloragaceae*)、およびミカン科 (*Ruppiceae*) の一つから選択される科の交雑種または雑種である。リュウノヒゲモの種、ならびにその交雑種および雑種 (例えば、リュウノヒゲモ×スツケニア・バギナタ、およびスツケニア・フィリフォルミス×リュウノヒゲモ) が特に適している。こうした水生植物は、好氣的 CO<sub>2</sub> 生成に対する嫌氣的 CO<sub>2</sub> 生成の比を増大させる大きなパスツール効果を有することができる。通常、この比は、1:3 の程度であるが、リュウノヒゲモなどの水生植物はこの比が 2:1 まで向上することができる。

#### 【0032】

水生植物は、湖または池から集める、タンクでそれらを栽培する、またはセル 10 で直接それらを栽培するなどの任意の従来的な方法で得て、セル中に入れることができる。セル中で使用される水の種類は、植物の種類に基づいて変わることになるが、淡水、塩水、および汽水が様々な実施形態にすべて適している。

#### 【0033】

図 4 は、セル 12 の別の実施形態を例示したものであり、基材 14 の深さの位置かまたは空間 34 など基材より低い位置で、セル 10 に流体連結された排水口 30 をさらに含む。排水口 30 は、図 5 にさらに記載した水回収アセンブリ 34 に流体連結されている。水は、ポンプを使用して排水口 30 から抜き出されるので、例えば、追加の水をセル 10 の水線より上の開口部などの給水口から導入する (ポンプ注入) ことができるか、または水源 24 に連結した給水口 22 からポンプ注入することができる。

#### 【0034】

水回収アセンブリ 34 は、水から異なる様々な成分または副産物を抽出するために使用することができる。一実施形態では、エタノールは、エタノール抽出アセンブリにより水から回収され、このアセンブリは、図 5 についてさらに詳細に示して説明されている。本明細書で説明される実験結果は、エタノールは植物により下階層 18 および / または基材 14 に放出され得ることを示している。こうして、基材より高い位置にある水源を備えた、基材の位置またはそれより低い位置での排水口 30 の配置により、水は、エタノール (または、他の副産物) が最も濃縮されている基材領域を通して抜き出すことができる。給水口 22 が、基材 14 の深さの位置またはそれより低い位置に配置され、かつ排水口 30 が該基材の深さの位置またはそれより高い位置に配置されているよう、セル 12 が構成されている場合も、類似した結果を得ることができる。

#### 【0035】

図 5 は、セル 60 とエタノール除去アセンブリ 66 との間に循環ループ 67 を含むシステム 50 を図示している。このシステムはさらに、ポンプ 63 により循環ループ 90 を通

過する水を処理するための、通気器 78 および / または酸素除去装置 76 を有する任意選択の循環ループ 90 を含む。システム 50 は、単独または光バリアと組み合わせて光調節システム 62 として働く、任意選択の人工光源 86 を含む。特に、人工光源 86 は、明期間は光合成誘発光を、および / または暗期間は、非光合成誘発光を供給することができる。

#### 【0036】

エタノール除去アセンブリ 66 は、水からエタノールを抽出および回収することができる、様々なシステムおよびシステム構成要素を含んでもよい。例示した実施形態では、アセンブリ 66 は、エタノールと水を分離する機能を有する、1 つまたは複数の蒸留器 84 を含む。蒸留器 84 は、蒸気を精製するための 1 種または複数の分子ふるい 70 もしくはエタノール蒸気を捕捉するためのコンデンサー（図示せず）、および / またはエタノールを貯蔵するための容器 74 と流体連通している。所望により、浸透気化器（図示せず）および / またはガストリップパーも使用することができる。例えば、ガストリップパーは、システム中のエタノールの濃度が比較的低い場所を含めることができる一方、蒸留器 84 は、システム中のエタノール濃度がより高い場所を含めることができる。アセンブリ 66 は、セル中で実施される工程を中断することなく、エタノールを連続的に除去することを可能にする。エタノール除去アセンブリは、システムの任意の場所に、かつシステムにおいて水からエタノールを除去するのに適した任意の組合せで含めることができる。一部の実施形態では、エタノール除去アセンブリは、システムにおいて複数の場所に含まれる。

#### 【0037】

さらなる実施形態では、例示したシステムのいずれかのエタノール除去アセンブリは、1 つまたは複数のエタノール吸収型回収システムを単独、または本明細書で開示されている他の構成要素のいずれかと組み合わせて使用することができる。一般的に言って、エタノール吸収型回収システムには、エタノールと水を分離するための膜または他の吸収技術、および他の外来材料が利用される。こうした膜の一例は、ベイパーマガスセパレーションソリューションズ (Vaperma Gas Separation Solutions) 社製の「シフテック (Sifttek)」膜である。

#### 【0038】

水は、1 つまたは複数のポンプ 63 により、閉ループシステム 67 を通ってセルから抜き出され、該セルに再導入されて、セル 60 とエタノール除去アセンブリとの間に流体連通をもたらすことができる。こうした閉ループシステムでは、排水口 80 は、基材の位置またはそれより低い位置に配置することができ、また給水口 92 は、基材の位置またはそれより高い位置に配置することができる。この構成により、かなり濃度が高いエタノールが存在し得る基材を通して水を抜き出すことができる。閉ループシステム 67 は、水を大気に過度に曝露させることなく、上で説明したすべての添加剤を水に供給することができる、水へのアクセスポイントを含むことができる。

#### 【0039】

光合成光調節システム 62 は、セルへの光合成誘発光を選択的に許容 / 阻害するために用いられる。方法 100 に関して、いくつかの光調節手段が説明され、それらのいずれも光調節システム 62 のすべてまたは一部を構成することができる。例えば、光調節システム 62 は、セル 60 全体の遮光カバーまたはバリアを含むことができる。代替的または追加的に、光調節システム 62 は、セル 60 が収容されるか、または含まれる構造物を含む。光調節システム 62 は、すべての光がシステムの植物に到達することを阻害することができるが、これは必ずしも必要ではないことを理解すべきである。むしろ、光調節システム 62 は、システムの植物において光合成を誘発すると思われる波長または強度の光のみを阻害してもよい。例えば、光調節システム 62 は、光合成を誘発しない波長のみを通過させるフィルタとすることができる。光合成を誘発する波長の例には、約 380 nm ~ 約 710 nm の波長が含まれる。使用される植物に応じて、光合成を誘発する波長の範囲は、より広くなるか、またはより狭くなり得るが、公知の方法を用いて確認することができる。一実施形態において、密封バリア 65 および光調節システム 62 は、分離可能であっ

てもよく、または分離可能でなくともよい単一構造物を構成する。

【0040】

光調節システム62は、好氣的代謝中などのある時点においては光合成誘発光を選択的に許容するか、または好氣的代謝を誘発するが、嫌氣的代謝中などの他の時点においては光合成誘発光を阻害するか、または嫌氣的代謝を誘発するように、構成することができる。例えば、光調節システム62は、取り外し可能とすることができる。別の例では、光調節システム62は、装置の不透明度または色が電流の印加により制御することができるように、エレクトロクロミックとすることができる。一部の実施形態では、光調節システム62は、光合成誘発光および/または光合成を誘発しない光を供給するための、人工光源86を含むことができる。こうした人工光源86は、所望の条件に適した強度またはスペクトルの光を放出するように構成することができる。例えば、人工光源86は、嫌氣的代謝期間中、または嫌氣的代謝を誘発するための、システムの植物にとって強度の低い光または光合成誘発光の範囲外の波長を有する光を放出することができる。同様に、人工照明は、システムの植物の好氣的代謝の間に、または好氣的代謝を誘発するため、光合成を誘発するための強度または波長の光を放出することができる。

10

【0041】

図面に例示して本明細書に記載したセルおよびシステムの様々な構成要素は、方法100を実施するために様々な組合せで用いることができることは明らかであろう。さらに、水流の制御、微粒子の除去、水のパラメーター（例えばpH）の監視および/または維持、エタノール濃度の監視、プラントパラメーターの監視および/または維持、植物の切断、損壊、または除去などのために、従来の構成要素を含むことができる。例えば、例示的なシステムは、弁82、フィルタ80、光センサおよび/またはメータ（例えば、光合成有効放射センサ）、pH計などの構成要素を含むことができる。

20

【0042】

図6は、本発明の一実施形態によりエタノールを形成および回収するための方法100を例示しており、水生植物（種子、塊茎、植物などの形態）はセルに導入される（ブロック110）。水生植物がセル中に定着すると、該植物における光合成は阻害され、これにより植物は水中にエタノールを放出する（ブロック112）。場合により、この過程は、セル中に光合成誘発光および/または酸素を再導入することによって、植物の光合成を促進し（ブロック114）、その後にもやはり光合成を阻害することによって繰り返されてもよい。水（または、水中に含有している副産物）は、所望に応じてセルから除去される（ブロック116）。

30

【0043】

種子または塊茎として植栽した場合、水生植物にとって適した生育条件下では十分に成熟し、図6で例示されている処理工程に耐えて実行可能となるまでに、14日間～12ヶ月間あたりかかることがある。リュウノヒゲモに關すると、実行可能となるまでに該植物には5ヶ月間～8ヶ月間かかり得る。

【0044】

光合成は、光合成を促進する光源から植物を遮蔽することにより阻害されてもよい。以下の例においてさらに実証される通り、この暗期はエタノールの放出を促進し、光合成による酸素の形成が妨げられる。光は任意の従来の方法により調節され、セル内に暗状態を生じさせることができる。遮断されるべき「光」という用語は、光合成触媒として作用し、各植物によって用いられる化学的受容体の種類に依存する放射または光の波長の形態のみに当てはまると理解すべきである。したがって、本明細書で使用される「暗」という用語は、光合成を促進する周波数の光が実質的に不在であることを示すことが意図される。

40

【0045】

水生植物に到達する光合成誘発光を調節する（例えば、選択的に遮断する/許容する）ための様々な手段を使用してもよい。こうした手段には、例えば、少なくとも嫌氣的過程中に光バリアとして働くバリア、カバー、ドームまたは他の囲い構造物が含まれる。これらの前記のバリア、カバーなどは、水生植物を嫌氣状態に維持することがもはや望ましく

50

ない場合には、取り外し可能とすることができる。一実施形態では、セルは、ヒトには可視であるが植物にとっては「暗」状態を促進する光によって照明される。他の適当な調節手段には、光合成誘発光を拡散する光フィルタが含まれる。嫌気状態が望ましくない場合、暗状態を維持するため、かつ/または選択的に光合成を許容するために、人工光源が用いられてもよい。一部の実施形態では、「明」状態から「暗」状態、および/またはその反対の段階的移行は、植物にショックを与える危険性を低減するのに望ましい。

#### 【0046】

場合により、暗期と組み合わせて、有機的、化学的または機械的手段の使用により、酸素を厳密に激減（すなわち、無酸素にする）させたセル中に水を導入することによって、セルの酸素含量を低減することができる。これはまた、セルに含有している水から酸素を除去することによっても行われてよい。「無酸素の」という用語は、恐らく非常に少量の酸素は水中に溶解しているので、酸素が必ずしも水中に完全に存在していないことを示すわけではないと理解すべきである。

10

#### 【0047】

代替的または追加的に、酸素レベルを激減させるために、酸素および糖を消費すると同時に二酸化炭素を産生するトウモロコシ、酵母、細菌（例えば遺伝子改変細菌および/または発酵を行うことができる細菌）または酵素などの酸素低減添加剤をセルに添加してもよい。酸素レベルの激減を推進するために、二次的な炭水化物源、例えばトウモロコシ、糖蜜、小麦、または他の糖源を、酸素低減添加剤による使用のため、水に添加してもよい。この二次的な炭水化物源は、システムからかなりの量の酸素を除去する十分に強力な反応を引き起こすために、酵母とともに添加することができる。酸素の低減の利点の1つは、酸素低減添加剤によるエタノールの追加的な産生となり得る。

20

#### 【0048】

上で述べた過程により、水生植物が炭水化物を代謝して、エタノールを産生することが引き起こされる。エタノールの産生は、化学触媒およびCO<sub>2</sub>の導入によりさらに促進され得る。適切な化学触媒には、酢酸および2,4-ジクロロフェノキシ酢酸（一般に2,4-dとして知られている）が含まれる。CO<sub>2</sub>は、電力施設および石油精製所などの廃棄物源から得てもよい。水生植物の生長を促進するために、追加的な栄養素、およびカリウム、窒素およびリンの塩などの塩がさらに添加されてもよい。さらに、使用されている水生植物の種に応じて、以下に限定されないが、スクロース、グルコースおよびアセテートなどのものを含む有機基質もセルに添加されてもよい。

30

#### 【0049】

光合成は、1日～数日間植物中で阻害されることがある。リュウノヒゲモの場合には、光合成は1～14日間、より詳細には2～10日間、さらにより詳細には3～7日間、阻害されることがある。所要時間は、光拡散、栄養素の利用度、セルのサイズ、植物のサイズ、植物品種、および植物の炭素含量などの多くの要因に依存することになる。時間の長さの決定は、光合成を再導入することにより植物をやはり回復させながら、主にエタノールの産生量を最大にするのに依存する。植物が、有益なパラメータを超過して、そのエタノール産生を減少させた場合、該植物を無酸素状態に保持する必要はないことがある。さらに、水が極度に酸性または塩基性になるのを防止するために、セルのpHを監視しなければならない。これは、炭酸カルシウムおよび塩素酸カルシウムなどのカルシウム緩衝化合物によって、または（塩基性水への）CO<sub>2</sub>の導入によって、あるいはCO<sub>2</sub>を激減させてpHを向上（例えば、ストリップングまたは光合成推進性激減）することにより中和することができるが、最終的にはセル内の特定の水生植物種の耐性に依存することになる。一部の実施形態では、細胞内のpHの低下（例えば、約0.2 pH単位の低下）は、エタノール形成の引き金となり得る。pHは、エタノール形成を誘発する直前に向上させて、pH低下が植物耐性および/または細胞内アシドーシスの限度を超えないようにすることができる。

40

#### 【0050】

さらなる実施形態では、嫌氣的過程は、セルを1つまたは複数の密封バリアにより覆い

50

、該セルを出入りするガス（例えば、空気、酸素、CO<sub>2</sub>、窒素など）の移動を調節することによって促進され得る。例えば、密封バリアは、セル内への酸素の不要な導入を予防することができる。特にCO<sub>2</sub>がセルに添加されている場合、この密封バリア（または追加的な密封バリア）は、CO<sub>2</sub>をセル内に保持するために用いることもできる。さらに、水中にある、またはシールとセルとの間に捕捉されているO<sub>2</sub>をさらに希釈するために、高いN<sub>2</sub>レベルが、同様に維持されていてもよい。密封バリアは、セルを密封して、該セルと隣接する大気との間の流体連通を防止すると思われる。これにより、酸素がセルに入ることが阻害されることになり、嫌氣的過程が促進されることになる。一部の実施形態では、この密封バリアは、水面上の湿度レベルの維持も促進して、浸かっている葉から乾燥を予防することもできる。さらに、葉は乾燥を予防するために、水を散布するか噴霧してもよい。密封バリアは、水生植物に光を供給するために、自然および/または人工のいずれかで使用される光源からの放射熱の捕捉を促進する半透明バリアであってもよい。この密封バリアは、上記で説明した通り、嫌氣的過程中に光がセルに入るのを防止するために、該セル上に位置する遮光バリアを構成してもよいし、またはやはり構成しなくてもよい。密封バリアおよび遮光バリアは、従来から材料から作製することができる。しかし、セル周囲に構成される居住施設、タンク、ドームまたは他の構造物もまた、それらがこうした能力において用いられる場合、密封バリアおよび遮光バリアを画定することができることを理解すべきである。

10

20

30

40

50

#### 【0051】

一実施形態では、上記の過程は、植物における光合成の再開により先行されるか、後続されるか、または交互に行われる。水生植物は、光合成を誘発し、セル内において含酸素状態（oxygenated condition）を許容することによる嫌氣的過程を停止するために光に曝露され、これにより、好氣的過程が開始および/または促進される。この明期は、本明細書で説明する光調節手段およびシステムを操作することによって行うことができる。例えば、天然または人工の光合成誘発光が水生植物に到達できるように、光バリア、カバー、またはフィルタなどが除去されてもよい。代替的または追加的に、光バリアは所定の位置に依然として維持してもよく、また人工光源は光合成誘発光が水生植物に到達できるように調節される。

#### 【0052】

明期中、好氣的過程は、セル中に含酸素状態を生じさせることによってさらに開始することができる。これにより、水生植物による炭水化物の産生および貯蔵が促進される。この含酸素状態は、様々な手法によって生じさせることができ、この手法は独立して用いられてもよく、または組み合わせられてもよい。一実施形態では、セルに含酸素水を添加するか、またはセルに含有している水に酸素を直接導入する。別の実施形態では、ガスバリアを除去して、水の酸素濃度が自然に増大するのを可能にする。したがって、この含酸素状態は、該セルに含酸素水を導入すること、無酸素水を除去すること、ならびに/または植物の酸素放出および含酸素雰囲気への曝露により水へ自然に酸素を送り込ませることによって行うことができる。

#### 【0053】

好氣的過程中に、栄養素をセルに加えて、水生植物に栄養素を供給してもよい。さらに、水生植物の生長を促進する温度調節となるように、日光/人工光の最大過が促進される。光はそれ自体、人工光を足すことによって強度を高めることができる。

#### 【0054】

一般に、明期は、水生植物が炭水化物を再形成することができるよう、1/2日~15日間、より一般的には少なくとも3~10日間、継続されるが、この時間枠は植物に特異的な要件に対して調節され得る。この期間、水生植物は、代謝過程により炭水化物をつくり、維持する。好氣的過程の継続時間は、いくつかの要因に依存するが、通常、炭水化物の産生が遅くなり始めるか、または所定レベルに達したときに終了することになる。ポタモゲトン・ペクチナトゥス（リュウノヒゲモ）では、セル内の環境状態に応じて、2日間~14日間、より詳細には3~10日間とすることができる。本明細書で使用する場合、

用語「日」とは、24時間の期間を意味する。

【0055】

明状態および暗状態の操作により、水生植物がエタノールおよび糖を産生する方法が特に、影響を受け得ることが分かった。例えば、一部の水生植物は、明期と定める連続する数日間にわたり光にさらされ、その後、暗期と定める連続する数日間にわたり光が制限されて、エタノール産生過程が促進される。一実施形態では、暗期は、嫌気状態の開始と同時に、または開始直前もしくは直後に、好ましくは互いに1～3日間以内に生じるように設定される。

【0056】

明期が終了すると、有酸素期(oxygenated phase)と無酸素期との間に、酸素量が激減していく移行期が存在してもよい。移行期の中に、酸素の減少を刺激し、エタノールの産生を可能にする酵母をセルに加えると有益なことがある。酵母により形成されるエタノールは、植物による嫌氣的活性のための触媒として作用することができ、またさらなるエタノール産生量をもたらす。酵母とともに加えられた糖または他の炭水化物が、嫌氣的活性をさらに増強することがある。

【0057】

一般に、明期に対する暗期の比は、1:2以下から1:10程度であり、より一般的な比は1:2～1:7である。明期と暗期の両方の間に、水にCO<sub>2</sub>を添加して、糖およびエタノールの両方の形成を促進することができることを理解すべきである。最終的に、ある種の植物は4時間未満の暗期の後にエタノールを産生することがあるので、上記の明期および暗期を制御する能力および本明細書に記載した比が、すべての水生植物に適用可能なわけではない。これらの種類の水生植物については、暗期に対する明期の比が、2:1より大きくてもよいが、こうした水生植物は、エタノール産生に關すると、リュウノヒゲモなどの植物により経験を受けるものとは異なる制限を有することがある。

【0058】

最多の炭水化物形成、または所定レベルの炭水化物形成に一旦近づくと、暗期を再び開始して、炭水化物代謝およびエタノール形成の過程が始まる。光合成状態を阻害する工程および再導入する工程を繰り返して、エタノール産生とその後の炭水化物産生を連続的に促進することができる。一部の実施形態では、「明」および「暗」期間は、日中および夜間の状態を疑似するパターンで設定するかまたは調節してもよい。その前のエタノールに転化するための「明」期間中に貯蔵された炭水化物の利用度を最大化するための「暗」期間の開始時に、エタノール産生が開始されるのが望ましい可能性がある。

【0059】

植物生長により、植物老化に失われる植物体とエタノール産生の確立された耐性をもはや満たさない植物の両方が補充されるので、この過程は自立持続型サイクルを作り出す。補充目的、または別のセル用の植物性材料の供給目的に使用することができないさらなる植物生長物は、従来の方法を用いて取り除かれて発酵され、やはりエタノールを産生することができる。発酵過程に放出される二酸化炭素は捕捉されて、炭水化物産生を促進するためにセルに戻してもよい。植物廃棄物は、発酵過程の前または後の両方において、セルへの栄養素の補充のための供給材料としてさらに用いられてもよく、かつ/または、エタノールおよびディーゼル生物燃料、医薬品、化粧品、着色剤、塗料などの生化学工業的用途のために加工されてもよい。

【0060】

方法100が実施されている間に、細菌および藻類ブルームが生じることがあり、これらは、抗生物質、重硫酸塩、ホップ、殺藻剤、塩素処理、紫外線曝露および他の一般的作業によって制御することができる。追加的に、炭水化物濃度を低下させて、細菌増殖を阻害する目的で、セルにエタノール産生酵母を添加することができる。代替的に、または酵母と組み合わせて、酵素または細菌を使用して炭水化物濃度を低下させることもできる。酵母の添加の利点の可能性は、エタノール産生量の増加である。特に無酸素状態が確立されて約3日間を超えて維持された後には、酵母の補充を必要とすることがあるが、これは

10

20

30

40

50

使用される酵母の菌株に依存する。二次的な炭水化物源もシステムに添加して、酵母をより強力に反応させてもよい。

【0061】

前記の過程は、以下を含むことがより広範に定義され得る。1) 水に酸素が注入される、かつ/または炭水化物が形成されるように植物が光に曝露される、回復期 (recharge phase)、2) セルが光合成誘発光を奪われており、かつ/または酵母を添加してエタノールを形成して酸素を激減させることができる移行期、および3) 植物がエタノールを放出する発酵期。任意選択の第4期は、光合成が再導入される、第2の移行期として定義することができる。上記の期は各々、植物生長およびエタノール産生量を最大にするために、本明細書において教示される通り変更されてもよい。1つの方法では、回復期は0.5~12日間にわたって生じ、0.5~6日間の移行期が続いてもよく、次に少なくとも6日間の無酸素期が後続し、この無酸素期は利用される植物の種類に応じて21日以上に増えてもよい。別の方法では、回復期は3~10日間にわたって生じ、2~6日間の移行期が続いてもよく、次に少なくとも2日間の暗期が後続し、この暗期は利用される植物の種類に応じて21日以上に増えてもよい。回復期の後、かつ無酸素期の前に水のレベルを低下させて、水量を少なくし、さらに無酸素期の間のエタノールを高めるのが利点となり得る。

10

【0062】

明期または暗期中の任意の時に、エタノールなどの副産物を抽出するために、水をセルから除去することができる。図4および図5に例示されているセルを使用して実行することができる一実施形態では、水は、エタノール除去アセンブリに連結されている排水口へ基材を通して水を流すことにより除去される。例においてさらに示される通り、かなりの量のエタノールが、基材内および/または水の下階層領域内に含有される。基材を通して排水口へと水を抜き出すことにより、エタノール抽出効率の改善を実現することができる。一実施形態では、排水口は、基材の位置またはそれより低い位置にあり、また水は基材を通過して排水口に抜き出される。水は、セルの最上部に水を加えることによるものを含め、給水口によってシステムに導入することができる。

20

【0063】

実施例中でさらに示されている通り、エタノールはある条件下で酢酸に転化することができる。したがって、酢酸転化が始まりエタノール濃度が総合的に低下する前に、暗期中にエタノールを抽出することが有益であり得る。追加的または代替的に、セル条件を操作して、水中の酢酸菌の存在を制限することができる。

30

【0064】

実施例

実施例1

付着した塊茎を有する2本のリュウノヒゲモ植物をストック栽培用タンクから取り出して、煮沸済み蒸留水35mlを含む試験管に個々に入れた。無酸素状態を示すよう、この水にはレサズリン指示薬を含ませた。これらの無酸素試料を箔ラップ内に配置して、光合成誘発光が植物に到達するのを防止することにより暗状態を生じさせ、これにより植物細胞内の水が再度有酸素化するのを可能にした。次に、細胞外試料の水が再度有酸素化するのを防止するため、陽圧窒素雰囲気有するチャンバ内に該試料を配置した。次に、これらの試料をこのチャンバ内において約24で3日間インキュベートした。4日目の朝に、各試料から2mlの水試料を抜き取り、エタノールの存在を検出するために、サウスダコタ州立大学 (South Dakota State University) において高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により分析した。各試料中のHPLCピークは、エタノールが存在することを示した。

40

【0065】

実施例2

リュウノヒゲモ植物試料をサウスダコタ湖 (South Dakota lakes) から収集した湖の物質から採取し、煮沸済み蒸留水を含むバイアル内に入れ、植物を覆う

50

ためだけにもたらされる無酸素状態を実現させた。8つの試料D5～8、D11およびD14～16を、該試料に暗状態を実現するために、インキュベーター内の密封されたステンレス鋼ポット内に入れた。残りの試料D1～4、D9～10およびD12～D13を、エアロックを備えた透明プラスチックコート容器内に入れた。細菌によるエタノールの酢酸への転化を防止するために、試料D9～D16に抗生物質を添加した。これらの試料を、約21のインキュベーターに入れて、7日間インキュベートした。エタノールおよび酢酸の濃度を測定するために、各試料から水を抜き出し、サウスダコタ州立大学で高速液体クロマトグラフィー（HPLC）によって分析した。

【0066】

暗状態において抗生物質なしでインキュベートした4つの試料D5、D6、D7およびD8は、それぞれ、10.825 g/L、6.817 g/L、7.733 g/Lおよび10.595 g/Lの濃度でエタノールを含有していた。暗状態において抗生物質とともにインキュベートした試料D11およびD14は、それぞれ、6.573 g/Lおよび4.237 g/Lのエタノール濃度を有した。さらに、試料D11は酢酸を含有していない一方、試料D14は2.192 g/Lの濃度で酢酸を含有しており、試料14における抗生物質の量が細菌によるエタノールの酢酸への転化を防止するのに不十分であったことを示唆している。透明容器内でインキュベートした試料は検出可能なエタノールを含有しておらず、光合成により植物試料によるエタノール産生が妨害されたことを示唆している。結果をテーブル1に示す。

【0067】

【表1】

テーブル1

試料	暗状態	抗生物質	酢酸 (g/L)	エタノール(g/L)
D1	-	-	1.332	0
D2	-	-	1.616	0
D3	-	-	0.503	0
D4	-	-	1.142	0
D5	+	-	2.204	10.825
D6	+	-	2.865	6.817
D7	+	-	1.420	7.733
D8	+	-	5.091	10.595
D9	-	+	0	0
D10	-	+	0	0
D11	+	+	0	6.573
D12	-	+	0.863	0
D13	-	+	0.749	0
D14	+	+	2.192	4.237
D15	+	+	0.730	0
D16	+	+	0	0

実施例3

長さ約184 cm、幅約46 cm、および深さ約58 cmを有するセルを、基材および水で満たした。基材は深さ約8 cmであり、水は深さ約43 cmとした。基材には、下層に約4 cmの黒色土、上層に市販の農業用石灰（プロチョイスワン（Prochoice One）社からのプレミアムインフィールド（Premium Infield））が含まれた。タンク上部、タンク中間部、および基材層の下部に、試料用ポートが含まれた。

【0068】

セルにおよそ70本のリュウノヒゲモ植物を植え、2ヶ月間生長させた。この間、水を

循環しなかった。植物が生長して定着すると、食卓用スプーン3杯の糖を、セル由来の少量の水と該糖とを混合して、次にさらに混合することなく、セル中にその量の水を加えて戻すことにより、セルの最上部から加えた。蒸発が促進されないよう透明プラスチック製カバーを水面上に置き、セルを遮光用プラスチックにより覆い、タンクの最上部を密封した。このタンクは、6日連続してこのように維持した。次に、空気を3時間セル中に通気し、その後、明状態を段階的に再導入するために、遮光用プラスチックの一部を除いた。経時的に、残りの遮光用プラスチックを除いた。

【0069】

光合成を阻害させた6日間で、毎日、上部ポート、中間部ポート、および下部ポートから水試料を抜き取った。エタノールおよび酢酸について、試料を試験した。結果を1リットルあたりのグラムで以下のテーブル1に示す。

10

【0070】

【表2】

テーブル1

日数	上部の エタノール	中間部の エタノール	下部の エタノール	上部の 酢酸	中間部の 酢酸	下部の 酢酸
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
1	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
2	0.000	0.000	0.031	0.000	0.000	0.093
3	0.000	0.010	0.032	0.000	0.000	0.269
4	0.011	0.010	0.027	0.055	0.056	0.265
5 (1)	0.000	0.000	0.000	0.044	0.047	0.291
5 (2)	0.000	0.000	0.000	0.044	0.044	0.222
6	0.000	0.000	0.000	0.050	0.050	0.206

20

30

テーブル1の結果は、基材のレベルにある下部試料ポートから採取した試料において、最も高いエタノール濃度が観測されたことを示している。これは、暗期中の最初の数日間に、植物の根ノ塊茎の領域からエタノールが放出されていることを示唆している。同様に、暗期の後半部の間に下部ポートから採取した試料において、最も高い酢酸濃度が主に観測された。これは、水中のエタノールが、恐らく基材中に存在している酢酸菌によって、酢酸に転化されたことを示している。

40

【0071】

暗期前のセルへの糖添加は、測定エタノール濃度には実質的に寄与しないように思われる。第1に、糖はさらに混合することなくタンクの最上部に加えられるが、下部ポートから採取した試料中にエタノールが主に観測されており、エタノールが別の供給源に由来していることが示される。さらに、測定されたエタノール/酢酸濃度は、100パーセント転化率と仮定した場合でさえも、添加糖から得ることができる理論収率よりも高かった。

50

【 0 0 7 2 】

明状態を再導入した7日後に、11本の植物茎が生存し、新しい葉の生長が示された。茎が生存しなかった植物の中のいくつかは、該植物の基部付近に新しい葉の生長が示された。

【 0 0 7 3 】

上記の記載に関して、本開示によって可能となる実施形態の各部分に対する、サイズ、材料、形状、形態、機能、ならびに操作、アセンブリ、および使用の方法における変形物を含めた、最適の寸法関係は、当業者に容易に明らか、かつ明白であると考えられ、また図面に例示されているもの、本明細書中に記載されているものと均等な関係にあるものはすべて、本開示の実施形態によって包含されることが意図される。

10

【 0 0 7 4 】

したがって、前記のものは、本開示の原理の実例に過ぎないものとみなされる。さらに、多数の修正および変更が当業者によって容易に着想されるので、本開示を、図示および記載した厳密な構成および操作に限定することは望ましいものではなく、したがって、すべての適当な修正および均等物が使用されて、本開示の範囲内に含まれ得る。

【 図 1 】

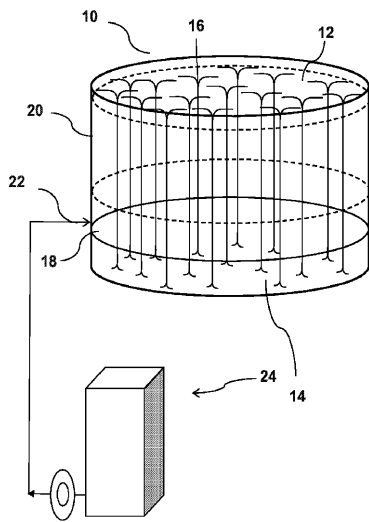


FIG. 1

【 図 2 】

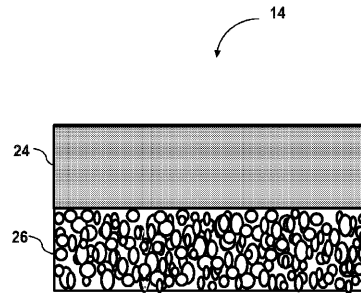


FIG. 2

【 図 3 】

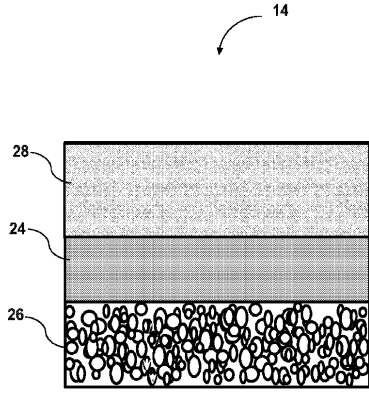


FIG. 3

【 図 4 】

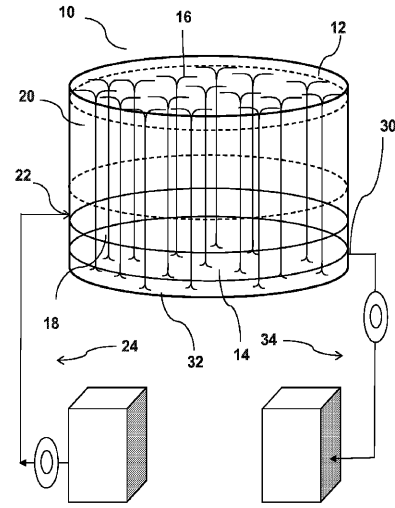
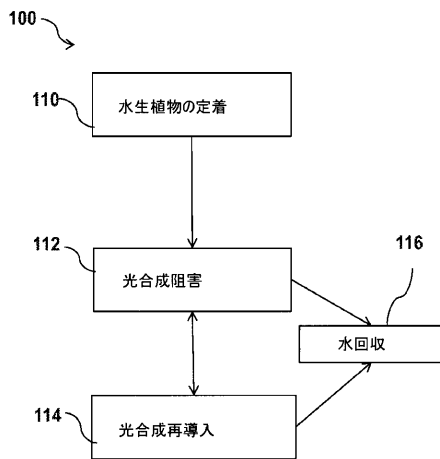
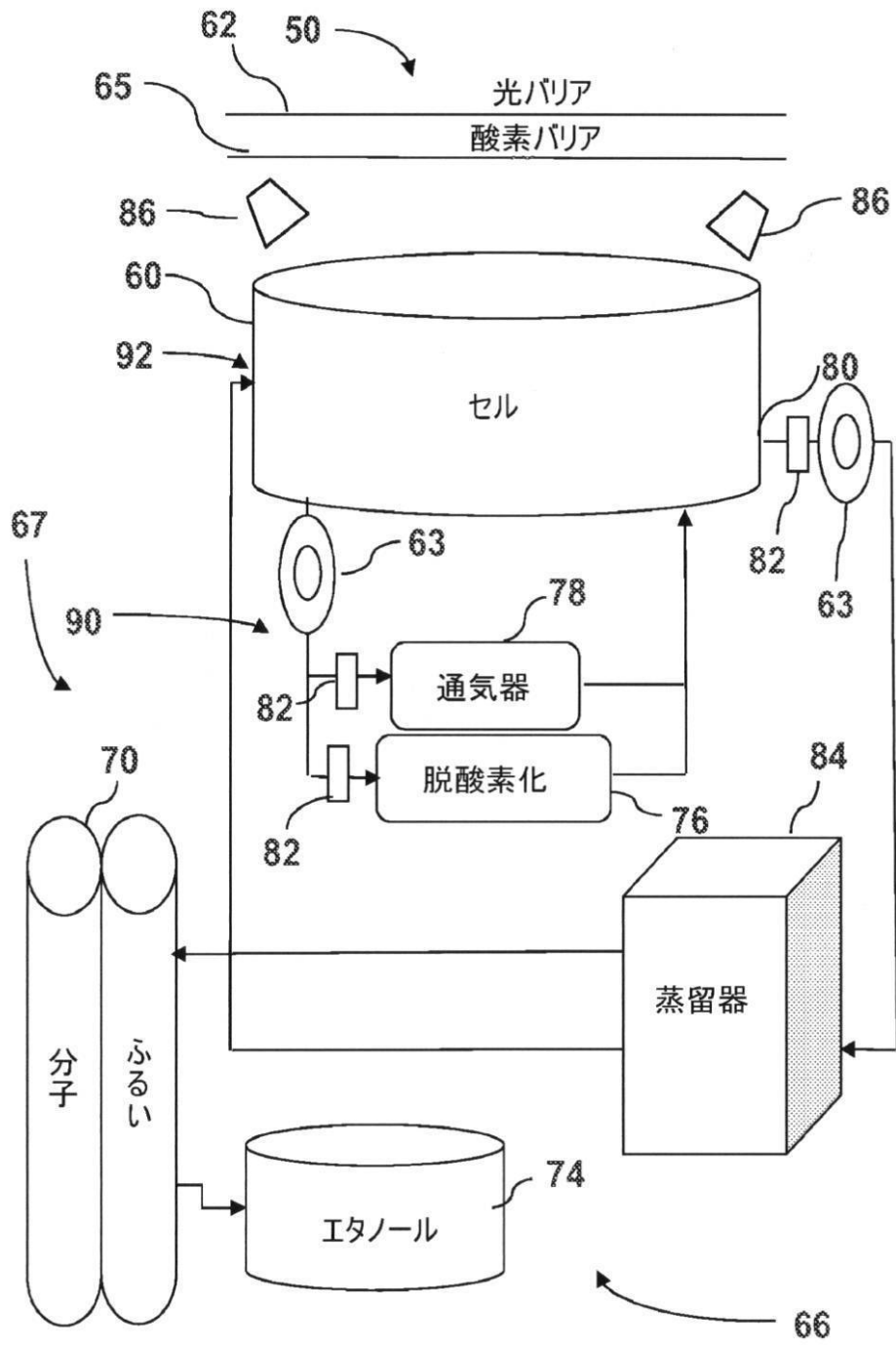


FIG. 4



【 図 6 】



【図5】



## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. <b>PCT/US2012/056261</b>
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
<i>C07C 29/76(2006.01)i, C07C 31/08(2006.01)i, B01J 19/24(2006.01)i</i>		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07C 29/76; C12M 1/00; C12P 3/00; A01G 33/00; C12M 1/02; C12P 7/10; C12N 1/12		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean utility models and applications for utility models Japanese utility models and applications for utility models		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS(KIPO internal) & Keywords: aquatic cell, aquatic plant, water, substrate, ethanol extraction assembly, strata, photosynthesis.		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2011-0086419 A1 (HAGEN TONY A.) 14 April 2011 See abstract; claims 1, 2, 13-15; paragraphs [0004], [0020], [0023], [0024], [0042], [0046], [0054], [0055], [0059]; figures 1, 2, 4, 5.	1-3, 7-9, 18, 19 , 22-23 4-6, 10-17, 20-21
A	US 2008-0176304 A1 (JAMES WEIFU LEE) 24 July 2008 See abstract; claims 92-99; figures 9-11.	1-23
A	US 04532210 A (MIURA; YOSHIHARU et al.) 30 July 1985 See abstract; claim 1.	1-23
A	US 04324068 A (ANTHONY; MYRON L.) 13 April 1982 See abstract; claims 1-9; figure 1.	1-23
<input 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 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 28 March 2013 (28.03.2013)		Date of mailing of the international search report <b>28 March 2013 (28.03.2013)</b>
Name and mailing address of the ISA/KR  Korean Intellectual Property Office 189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon Metropolitan City, 302-701, Republic of Korea Facsimile No. 82-42-472-7140		Authorized officer KIM, Jae Min Telephone No. 82-42-481-8146 

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No.

**PCT/US2012/056261**

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2011-0086419 A1	14.04.2011	CA 2759802 A1	11.11.2010
		CN 102428188 A	25.04.2012
		EP 2427560 A2	14.03.2012
		EP 2507379 A2	10.10.2012
		JP 2012-525843 A	25.10.2012
		KR 10-2012-0013964 A	15.02.2012
		KR 10-2012-0106782 A	26.09.2012
		US 2010-0285551 A1	11.11.2010
		US 2010-0285554 A1	11.11.2010
		US 2011-0045561 A1	24.02.2011
		US 2011-0086401 A1	14.04.2011
		US 8143041 B2	27.03.2012
		WO 2010-129449 A2	11.11.2010
		WO 2011-068745 A2	09.06.2011
		WO 2011-068748 A2	09.06.2011
		WO 2011-068749 A2	09.06.2011
US 2008-0176304 A1	24.07.2008	US 7973214 B2	05.07.2011
		WO 2008-039450 A2	03.04.2008
		WO 2008-039450 A3	24.12.2008
US 04532210 A	30.07.1985	JP 04-012955 B	06.03.1992
		JP 1729181 C	29.01.1993
		JP 58-134993 A	11.08.1983
US 04324068 A	13.04.1982	None	

## フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, 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, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, 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, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, 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, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC

(72)発明者 ハイゲン、トニー エイ .

アメリカ合衆国 5 7 1 1 0 - 1 3 0 0 サウスダコタ州 スー フォールズ サウス フォーン  
コート 9 0 8

Fターム(参考) 2B022 AB03 AB06 AB08 AB20 BA02 BB01  
2B314 MA12 MA17 MA33 MA38 MA41 NB05 NB06 NB07 NB11 ND32  
PB02 PB24 PB41 PB43 PB55 PC18 PC19 PC25 PC29 PD54  
PD59