

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6946279号

(P6946279)

(45) 発行日 令和3年10月6日 (2021. 10. 6)

(24) 登録日 令和3年9月17日 (2021. 9. 17)

(51) Int. Cl. F I
C O 7 K 1/14 (2006. 01) C O 7 K 1/14
C 1 2 N 5/04 (2006. 01) C 1 2 N 5/04
C O 7 K 14/415 (2006. 01) C O 7 K 14/415

請求項の数 14 (全 68 頁)

(21) 出願番号	特願2018-516401 (P2018-516401)	(73) 特許権者	517430370
(86) (22) 出願日	平成28年6月10日 (2016. 6. 10)		パラベル ニュートリション インコーポ
(65) 公表番号	特表2018-516993 (P2018-516993A)		レイテッド
(43) 公表日	平成30年6月28日 (2018. 6. 28)		アメリカ合衆国 フロリダ州 3 2 9 6 6
(86) 国際出願番号	PCT/US2016/037097		ペロ ビーチ セブンティフォース ア
(87) 国際公開番号	W02016/201379		ベニュー 1 9 9 1 スイート ビー
(87) 国際公開日	平成28年12月15日 (2016. 12. 15)	(74) 代理人	110000578
審査請求日	令和1年6月10日 (2019. 6. 10)		名古屋国際特許業務法人
(31) 優先権主張番号	62/173, 643	(72) 発明者	シャーロック、ピーター
(32) 優先日	平成27年6月10日 (2015. 6. 10)		アメリカ合衆国 3 2 9 4 8 フロリダ、
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		フェルスメア、コマース ストリート、ヘ
			ッドウォーターズ 7 8 9 8

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 マイクロクロップからタンパク質及び高炭水化物産生物を抽出するための方法及び系並びにその組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

以下のステップを含む、マイクロクロップを含むバイオマスを処理することにより高可溶性マイクロクロップタンパク質産生物を産生する方法：

(a) 溶解バイオマスの第 1 部分を形成するためにバイオマスの第 1 部分を溶解するステップ；

(b) ジュース画分の第 1 部分及び固形画分の第 1 部分を生成するために溶解バイオマスの前記第 1 部分を分離するステップ；

(c) 第 1 ジュースの第 1 部分及び第 1 ケーキの第 1 部分を生成するために前記ジュース画分の前記第 1 部分を分離するステップ；

(d) 第 1 可溶性タンパク質の第 1 部分及び第 1 リジェクト流を生成するために前記第 1 ジュースの前記第 1 部分を精密ろ過するステップであって、前記第 1 リジェクト流は残余物であるステップ；

(e) 第 2 可溶性タンパク質の第 1 部分及び第 2 リジェクト流を生成するために前記第 1 可溶性タンパク質の前記第 1 部分をろ過するステップであって、前記ろ過は限外ろ過、ダイアフィルトレーション及びナノろ過のうちの少なくとも 1 つを含むステップ；

(f) 濃縮された可溶性タンパク質の第 1 部分を生成するために前記第 2 可溶性タンパク質の前記第 1 部分を濃縮するステップであって、前記濃縮は逆浸透ろ過及びナノろ過のうちの少なくとも 1 つを含むステップ；

(g) 重量で少なくとも約 5 0 % のタンパク質濃度及び少なくとも 5 0 % の溶解度値 (

10

20

%水溶性窒素)を有する乾燥タンパク質濃縮物の第1部分を生成するために前記濃縮された可溶性タンパク質の前記第1部分を乾燥させるステップ。

【請求項2】

第1固形物の第1部分及び第2ジュースの第1部分を生成するために固形画分の第1部分を分離するステップと、

前記高可溶性マイクロクロップタンパク質産生物を少なくとも1つの溶媒で洗浄するステップであって、少なくとも1つの溶媒がメタノール、エタノール、アセトン、ヘキサン、ジクロロメタン、酢酸エチル、プロパノール、イソプロパノール、グリセロール、及びその任意の組合せを含むステップと、

通過物を生成するために逆浸透法によって高可溶性マイクロクロップタンパク質を含む産生物を脱水するステップであって、前記通過物が逆浸透水を含むステップと、

少なくとも1つのポリフェノールの濃度が低減している産生物を生成するために前記高可溶性マイクロクロップタンパク質産生物をポリフェノール低減工程に供するステップと、
のうちの少なくとも1つをさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

(h)第3ジュースの第1部分及び第2ケーキの第1部分を生成するために、(1)前記第1ケーキの前記第1部分及び(2)前記第2ジュースの前記第1部分のうちの少なくとも1つを分離するステップ；

(a')溶解バイオマスの第2部分を形成するためにバイオマスの第2部分を溶解するステップ；

(b')ジュース画分の第2部分及び固形画分の第2部分を生成するために前記溶解バイオマスの前記第2部分を分離するステップ；

(c')第1ジュースの第2部分及び第1ケーキの第2部分を生成するために前記ジュース画分の前記第2部分を分離するステップ；

(i)前記第3ジュースの前記第1部分と前記ジュース画分の前記第2部分とを、(c')前記ジュース画分の前記第2部分を分離するステップに先立って混ぜ合わせるステップ

をさらに含む、請求項2に記載の方法。

【請求項4】

(h)第3ジュースの第1部分及び第2ケーキの第1部分を生成するために、(1)前記第1ケーキの前記第1部分及び(2)前記第2ジュースの前記第1部分のうちの少なくとも1つを分離するステップ；

(j)固形混合物の第1部分を形成するために前記第1固形物の前記第1部分、前記第1ケーキの前記第1部分、及び前記第2ケーキの前記第1部分のうちの少なくとも1つを混ぜ合わせるステップ；並びに

(k)高炭水化物産生物を生成するために前記固形混合物の前記第1部分を処理するステップであって、前記高炭水化物産生物が乾燥バイオクルード及び高炭水化物ミールのうちの少なくとも1つを含むステップ

をさらに含む、請求項2に記載の方法。

【請求項5】

(d)前記第1ジュースの前記第1部分を精密ろ過するステップが前記第1ジュースの前記第1部分を約10kDaまでの名目分子量カットオフを有するフィルターで限外ろ過するステップ、又は、

(d)前記第1ジュースの前記第1部分を精密ろ過するステップが前記第1ジュースの前記第1部分を約3kDaの名目分子量カットオフを有するフィルターで限外ろ過するステップを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項6】

マイクロクロップがアオウキクサ(lemna)を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項7】

前記乾燥タンパク質濃縮物の前記第1部分が少なくとも50%の分散性値(水分散性タ

10

20

30

40

50

ンパク質／総タンパク質)を有する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

前記第 1 ジュースの前記第 1 部分を精密ろ過するステップが第 1 ジュースの第 1 部分を約 10 μm 以下のポアサイズを有するフィルターで精密ろ過することを含むことと、

前記第 1 ジュースの前記第 1 部分を精密ろ過するステップが第 1 ジュースの第 1 部分を約 0.5 μm から約 2 μm のポアサイズを有するフィルターで精密ろ過することを含むことと、

第 1 可溶性タンパク質画分の第 1 部分をろ過するステップが約 10 kDa までの名目分子量カットオフを有するフィルターで限外ろ過することを含むことと、

第 1 可溶性タンパク質画分の第 1 部分をろ過するステップが約 3 kDa の名目分子量カットオフを有するフィルターで限外ろ過することを含むことと、のうちの少なくとも 1 つを含む、請求項 1 に記載の方法。

10

【請求項 9】

(l) 第 1 固形物の第 1 部分及び第 2 ジュースの第 1 部分を生成するために固形画分の第 1 部分を分離するステップ；並びに

(m) 高炭水化物産生物を生成するために第 1 固形物の第 1 部分进行处理するステップであって、前記高炭水化物産生物が乾燥バイオクルード又は高炭水化物ミールを含む前記ステップ

をさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

20

【請求項 10】

(h) 第 3 ジュースの第 1 部分及び第 2 ケーキの第 1 部分を生成するために、(1) 前記第 1 ケーキの前記第 1 部分及び(2) 前記第 2 ジュースの前記第 1 部分のうちの少なくとも 1 つを分離するステップ、

(a') 溶解バイオマスの第 2 部分を形成するために前記バイオマスの第 2 部分を溶解するステップ；

(b') 前記ジュース画分の第 2 部分及び前記固形画分の第 2 部分を生成するために前記溶解バイオマスの前記第 2 部分を分離するステップ；

(c') 第 1 ジュースの第 2 部分及び第 1 ケーキの第 2 部分を生成するために前記ジュース画分の前記第 2 部分を分離するステップ；並びに

(i) 前記第 3 ジュースの前記第 1 部分と前記ジュース画分の前記第 2 部分とを、(c') 前記ジュース画分の前記第 2 部分を分離するステップに先立って混ぜ合わせるステップ

30

をさらに含む、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

(h) 第 3 ジュースの第 1 部分及び第 2 ケーキの第 1 部分を生成するために、(1) 前記第 1 ケーキの前記第 1 部分及び(2) 前記第 2 ジュースの前記第 1 部分のうちの少なくとも 1 つを分離するステップ；

(j) 固形混合物の第 1 部分を形成するために前記第 1 固形物の前記第 1 部分、前記第 1 ケーキの前記第 1 部分、及び前記第 2 ケーキの前記第 1 部分のうちの少なくとも 1 つを混ぜ合わせるステップ；並びに

40

(k) 高炭水化物産生物を生成するために前記固形混合物の前記第 1 部分进行处理するステップであって、前記高炭水化物産生物が乾燥バイオクルード及び高炭水化物ミールのうちの少なくとも 1 つを含むステップ

をさらに含む、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 12】

冷却流を形成するために、溶解バイオマスの前記第 1 部分、前記ジュース画分の前記第 1 部分、前記第 1 ジュースの前記第 1 部分、前記第 1 可溶性タンパク質の前記第 1 部分、前記第 1 リジェクト流、前記第 2 可溶性タンパク質の前記第 1 部分、前記第 2 リジェクト流、及び前記通過物の少なくとも 1 つを冷却するステップ

をさらに含む、請求項 2 に記載の方法。

50

【請求項 13】

冷却するステップが、溶解バイオマスの前記第 1 部分、前記ジュース画分の前記第 1 部分、前記第 1 ジュースの前記第 1 部分、前記第 1 可溶性タンパク質の前記第 1 部分、前記第 1 リジェクト流、前記第 2 可溶性タンパク質の前記第 1 部分、前記第 2 リジェクト流、及び前記通過物の少なくとも 1 つの温度を約 12 に低下させることをさらに含む、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

前記冷却流がドナー流熱エネルギーの少なくとも一部を吸収するように、熱エネルギーを有するドナー流に近接して流れるように前記冷却流を方向付けるステップであって、前記ドナー流が前記溶解バイオマスの前記第 1 部分、前記ジュース画分の前記第 1 部分、及び前記第 1 ジュースの前記第 1 部分の少なくとも 1 つを含むステップと、

加熱された流れを形成するようレシピエント流が熱エネルギーの少なくとも一部を吸収するように、濃縮タンパク質を乾燥させるステップ及び冷却するステップの少なくとも 1 つからの熱エネルギーを前記レシピエント流に近接して流れるように方向付けるステップであって、前記レシピエント流が、溶解バイオマスの前記第 1 部分、前記ジュース画分の前記第 1 部分、前記第 1 ジュースの前記第 1 部分、第 1 可溶性タンパク質画分の第 1 部分、前記第 1 リジェクト流、第 2 可溶性タンパク質画分の第 1 部分、前記第 2 リジェクト流、及び前記通過物の少なくとも 1 つを含むステップと、のうちの少なくとも 1 つをさらに含む、請求項 12 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本出願は、その全体が記載されたのと同様に参照によりその全体が本明細書に組み込まれる 2015 年 6 月 10 日に出版された米国仮特許出願第 62 / 173, 643 号の利益を主張する。

【0002】

本開示は、一部の実施形態では、マイクロクロップ（例えば、光合成水生生物種、アオウキクサ（*Lemma*））からタンパク質及び高炭水化物産生物を抽出するための方法及び系並びにその組成物に関する。より具体的には本開示は、一部の実施形態では、アオウキクサからタンパク質及び高炭水化物産生物を抽出するための方法及び系に関する。一部の実施形態では、本開示は、マイクロクロップから単離されたマイクロクロップタンパク質産生物の組成物に関する。

【背景技術】**【0003】**

増え続ける世界人口は、特に発展途上国において、動物の餌及びヒトの消費の両方のためのタンパク源への十分で入手可能な利用手段を含む持続可能性についての多くの懸案事項を刺激し続けている。加えて、気候変動及び化石燃料消費に関連する懸案事項は、バイオ燃料源及び効率の両方を開発及び改善するように革新者を駆り立て続けている。

【0004】

海洋タンパク源は、それらの望ましい栄養プロファイル及び嗜好性の改良により飼料においてしばしば利用されている一方で、高い生産費用は代替手段に対する要求の増大をもたらしている。しかし多数の植物種はそれらの劣ったアミノ酸プロファイル及び／又は高い繊維含有量のために代替手段に適さない。さらに、代替タンパク源からタンパク質を抽出する多くの試みは、多くの植物及び動物用飼料適用に適さないタンパク質完全性、溶解度及び／又は分散特徴を有する産生物をもたらしている。追加的に、水の保全の懸案事項は、特に赤道及び乾燥領域において、タンパク質濃縮物及び／又は燃料供給原料の産生のために好適な代替種を同定することを推進する要因である。

【発明の概要】**【発明が解決しようとする課題】****【0005】**

したがって、濃縮タンパク質及び高炭水化物産生物の両方の産生のための方法及び系の改善に対する必要性が生じている。タンパク質完全性、溶解度及び／又は分散特徴が増大した濃縮タンパク質産生物の産生のための方法及び系の改善に対する必要性が生じている。さらに、必要な水及び／又はエネルギー支出が減少した様式での濃縮タンパク質及び高炭水化物産生物の両方の産生のための方法及び系の改善に対する必要性が生じている。

【課題を解決するための手段】

【0006】

本開示は、一部の実施形態により、可溶性マイクロクロップタンパク質（例えば、アオウキクサタンパク質濃縮物）を含む産生物を産生するためのマイクロクロップ（例えば、アオウキクサ）を含むバイオマスを処置する方法に関する。方法は、例えば：（a）溶解バイオマスの第1ポーションを形成するためにバイオマスの第1ポーションを溶解するステップ；（b）ジュース画分の第1ポーション及び固形画分の第1ポーションを生成するために溶解バイオマスの第1ポーションを分離するステップ；（c）第1ジュースの第1ポーション及び第1ケーキの第1ポーションを生成するためにジュース画分の第1ポーションを分離するステップであって、第1ジュースが可溶性マイクロクロップタンパク質を含むステップ；並びに／又は（d）可溶性マイクロクロップタンパク質を含む産生物の第1ポーション及びリジェクト流を生成するために第1ジュースの第1ポーションをろ過するステップを含んでよい。一部の実施形態では第1ジュースの第1ポーションをろ過するステップは、第1ジュースの第1ポーションを約10kDaまでの名目分子量カットオフを有するフィルターで限外ろ過するステップを含んでよい。一部の実施形態により、第1ジュースの第1ポーションをろ過するステップは、第1ジュースの第1ポーションを約3kDaの名目分子量カットオフを有するフィルターで限外ろ過するステップを含んでよい。一部の実施形態では、方法は、通過物を生成するために逆浸透法によって可溶性マイクロクロップタンパク質を含む産生物を脱水するステップであって、通過物が逆浸透水を含むステップを含んでよい。一部の実施形態では、方法は、乾燥タンパク質濃縮物の第1ポーションを生成するために可溶性マイクロクロップタンパク質を含む産生物の第1ポーションを乾燥させるステップを含んでよい。一部の実施形態により、乾燥タンパク質濃縮物は、重量で少なくとも約50%のタンパク質濃度を有してよい。

【0007】

本開示の一部の実施形態により、可溶性マイクロクロップタンパク質を含む産生物を産生するためにマイクロクロップを含むバイオマスを処置する方法は：（a）溶解バイオマスの第1ポーションを形成するためにバイオマスの第1ポーションを溶解するステップ；（b）ジュース画分の第1ポーション及び固形画分の第1ポーションを生成するために溶解バイオマスの第1ポーションを分離するステップ；（c）第1ジュースの第1ポーション及び第1ケーキの第1ポーションを生成するためにジュース画分の第1ポーションを分離するステップであって、第1ジュースが可溶性マイクロクロップタンパク質を含むステップ；（d）第1可溶性タンパク質画分の第1ポーション及び第1リジェクト流を生成するために第1ジュースの第1ポーションをろ過するステップ；並びに／又は（e）第2可溶性タンパク質画分の第1ポーション及び第2リジェクト流を生成するために第1可溶性タンパク質画分の第1ポーションをろ過するステップであって、第2可溶性タンパク質画分が可溶性マイクロクロップタンパク質を含むステップを含んでよい。一部の実施形態では、方法は、濃縮タンパク質の第1ポーション及び通過物を生成するために第2可溶性タンパク質画分の第1ポーションをろ過（例えば、逆浸透ろ過、ナノ濾過）するステップを含む場合がある。一部の実施形態により、第1ジュースの第1ポーションをろ過するステップは、第1ジュースの第1ポーションを約10µm以下のポアサイズを有するフィルターで精密ろ過するステップを含む場合がある。一部の実施形態では、第1可溶性タンパク質画分の第1ポーションをろ過するステップは、第1可溶性タンパク質画分の第1ポーションを約10kDaまで（例えば、約3kDa）の名目分子量カットオフを有するフィルターで限外ろ過するステップを含む場合がある。

【0008】

一部の実施形態では、方法は、乾燥タンパク質濃縮物の第1ポーションを生成するために濃縮タンパク質産生物の第1ポーションを乾燥させることを含む場合がある。一部の実施形態では、乾燥タンパク質濃縮物の第1ポーションは、重量で少なくとも約50%のタンパク質濃度を有してよい。一部の実施形態により、乾燥タンパク質濃縮物は、少なくとも50%の溶解度値(%水溶性窒素)及び/又は少なくとも50%の分散性値(水分散性タンパク質/総タンパク質)を有してよい。

【0009】

一部の実施形態により、可溶性マイクロクロップタンパク質を含む産生物を生成するためにマイクロクロップを含むバイオマスを処置する方法は、第1固形物の第1ポーション及び第2ジュースの第1ポーションを生成するために固形画分の第1ポーションを分離するステップを含む場合がある。一部の実施形態では、方法は、バイオマスの第1ポーションを第1洗浄溶液で洗浄するステップ又はバイオマスの第2ポーションを第1洗浄溶液で洗浄するステップ又はバイオマスの第1及び第2ポーションを第1洗浄溶液で洗浄するステップをさらに含む場合がある。一部の実施形態では、方法は、バイオマスの第1ポーションを第2洗浄溶液で洗浄するステップ又はバイオマスの第2ポーションを第2洗浄溶液で洗浄するステップ又はバイオマスの第1及び第2ポーションを第2洗浄溶液で洗浄するステップ;並びにバイオマスの第1ポーションを第3洗浄溶液で洗浄するステップ又はバイオマスの第2ポーションを第3洗浄溶液で洗浄するステップ又はバイオマスの第1及び第2ポーションを第3洗浄溶液で洗浄するステップ、をさらに含む場合がある。一部の実施形態では、第1洗浄溶液、第2洗浄溶液及び第3洗浄溶液は、リジェクト流、水、及びオゾン処理液から別々に選択される。

【0010】

一部の実施形態では、方法は、次のそれぞれの場合において第3ジュースの第1ポーション及び第2ケーキの第1ポーションを生成するために、(1)第1ケーキの第1ポーションを分離するステップ又は(2)第2ジュースの第1ポーションを分離するステップ又は(3)第1ケーキの第1ポーションを分離するステップ及び第2ジュースの第1ポーションを分離するステップ、を含む場合がある。一部の実施形態により、方法は:(a')溶解バイオマスの第2ポーションを形成するためにバイオマスの第2ポーションを溶解するステップ;(b')ジュース画分の第2ポーション及び固形画分の第2ポーションを生成するために溶解バイオマスの第2ポーションを分離するステップ;(c')第1ジュースの第2ポーション及び第1ケーキの第2ポーションを生成するためにジュース画分の第2ポーションを分離するステップ;並びに/又は(d')可溶性マイクロクロップタンパク質を含む産生物の第1ポーション及びリジェクト流を生成するために第1ジュースの第1ポーションをろ過するステップ、を含む場合がある。一部の実施形態では、方法は、第3ジュースの第1ポーションとジュース画分の第2ポーションとを、ジュース画分の第2ポーションを分離するステップに先立って混ぜ合わせるステップを含む場合がある。

【0011】

一部の実施形態により、方法は、固形混合物の第1ポーションを形成するために第1固形物の第1ポーション、第1ケーキの第1ポーション、第2ケーキの第1ポーション、又はその任意の組合せを混ぜ合わせるステップ;及び高炭水化物産生物を生成するために固形混合物の第1ポーションを処理するステップであって、高炭水化物産生物が乾燥バイオクルード又は高炭水化物ミールを含むステップ、を含む場合がある。

【0012】

一部の実施形態では、方法は、冷却流を形成するために、溶解バイオマスの第1ポーション、ジュース画分の第1ポーション、第1ジュースの第1ポーション、第1可溶性タンパク質画分の第1ポーション、第1リジェクト流、第2可溶性タンパク質画分の第1ポーション、第2リジェクト流、及び通過物の少なくとも1つを冷却するステップ(例えば、温度を約12℃に低下させること)を含む場合がある。方法は、ジュース画分の第1ポーション、ジュース画分の第2ポーション、第1ジュースの第1ポーション、第1ジュースの第2ポーション、可溶性タンパク質画分の第1ポーション、第1リジェクト流、第2可

10

20

30

40

50

溶性タンパク質画分の第1ポーション、第2リジェクト流、及び通過物の少なくとも1つを約12に冷却するステップを含む場合がある。一部の実施形態では、冷却するステップは、熱交換器との熱伝達において生じる場合がある。方法は、第1リジェクト流、第2リジェクト流、及び通過物の少なくとも1つを加熱するステップであって、加熱するステップが熱交換器との熱伝達において生じる場合があるステップを含んでよい。一部の実施形態では、熱交換器との熱伝達において濃縮タンパク質を乾燥させるステップが含まれる。一部の実施形態により、方法は、冷却流がドナー流熱エネルギーの少なくとも一部を吸収するように、熱エネルギーを有するドナー流に近接して流れるように冷却流を方向付けるステップを含む場合がある。一部の実施形態では、ドナー流は、溶解バイオマスの第1ポーション、ジュース画分の第1ポーション、又は第1ジュースの第1ポーションの少なくとも1つを含む場合がある。一部の実施形態では、方法は、加熱された流れを形成するようにレシピエント流が熱エネルギーの少なくとも一部を吸収するように、(1)濃縮タンパク質を乾燥させるステップ及び/又は(2)溶解バイオマスの第1ポーション、ジュース画分の第1ポーション、第1ジュースの第1ポーション、第1可溶性タンパク質画分の第1ポーション、第1リジェクト流、第2可溶性タンパク質画分の第1ポーション、第2リジェクト流、及び通過物の少なくとも1つを冷却するステップの少なくとも1つからの熱エネルギーをレシピエント流に近接して流れるように方向付けるステップを含む場合がある。一部の実施形態では、レシピエント流は、溶解バイオマスの第1ポーション、ジュース画分の第1ポーション、第1ジュースの第1ポーション、第1可溶性タンパク質画分の第1ポーション、第1リジェクト流、第2可溶性タンパク質画分の第1ポーション、第2リジェクト流、及び通過物の少なくとも1つを含む場合がある。

【0013】

一部の実施形態では、本開示は、マイクロクロップを含むバイオマスから可溶性マイクロクロップタンパク質を含む産生物を回収する方法に関する。例えば、方法は：(a)スラリーの第1ポーションを形成するためにバイオマスの第1ポーションを洗浄溶液と混ぜ合わせるステップ；(b)洗浄バイオマスの第1ポーション及び再生洗浄溶液を生成するためにスラリーの第1ポーションを分離するステップ；(c)溶解バイオマスの第1ポーションを形成するように洗浄バイオマスの第1ポーションを溶解するステップ(d)ジュース画分の第1ポーション及び固形画分の第1ポーションを生成するために溶解バイオマスの第1ポーションを分離するステップ；(e)第1ジュースの第1ポーション及び第1ケーキの第1ポーションを生成するためにジュース画分の第1ポーションを分離するステップであって、第1ジュースの第1ポーションが可溶性マイクロクロップタンパク質を含むステップ；(f)第1可溶性タンパク質画分の第1ポーション及び第1リジェクト流を生成するために第1ジュースの第1ポーションをろ過するステップ；並びに/又は(a')スラリーの第2ポーションを形成するために再生洗浄溶液又は第1リジェクト流の少なくとも1つをバイオマスの第2ポーションと混ぜ合わせるステップを含む場合がある。一部の実施形態により、方法は：(g)第2可溶性タンパク質画分の第1ポーション及び第2リジェクト流を生成するために第1可溶性タンパク質画分の第1ポーションをろ過するステップ；(h)濃縮タンパク質及び通過物を生成するために第2可溶性タンパク質画分の第1ポーションをろ過(例えば、逆浸透ろ過、ナノろ過)するステップ；(b')洗浄バイオマスの第2ポーション及びさらなる再生洗浄溶液を生成するためにスラリーの第2ポーションを分離するステップ；(c')溶解バイオマスの第2ポーションを形成するために洗浄バイオマスの第2ポーションを溶解するステップ；(d')ジュース画分の第2ポーション及び固形画分の第2ポーションを生成するために溶解バイオマスの第2ポーションを分離するステップ；並びに/又は(i)通過物を洗浄バイオマスの第2ポーション及び溶解バイオマスの第2ポーションの少なくとも1つと混ぜ合わせるステップ、をさらに含む場合がある。

【0014】

本開示は、可溶性マイクロクロップタンパク質を含む産生物を産生するためのマイクロクロップを含むバイオマスを処置する方法にさらに関する。例えば、方法は、(a)次の

それぞれの場合において第3ジュースの第1ポーション及び第2ケーキの第1ポーションを生成するために、(1)第1ケーキの第1ポーションを分離するステップ又は(2)第2ジュースの第1ポーションを分離するステップ又は(3)第1ケーキの第1ポーションを分離するステップ及び第2ジュースの第1ポーションを分離するステップ；(b)固形混合物の第1ポーションを形成するために第1固形物の第1ポーション、第1ケーキの第1ポーション、第2ケーキの第1ポーション、又はその任意の組合せを混ぜ合わせるステップ；並びに(c)高炭水化物産生物を生成するために固形混合物の第1ポーションを処理するステップであって、高炭水化物産生物が乾燥バイオクルード又は炭水化物ミールを含むステップ、を含む場合がある。

【0015】

一部の実施形態では、本開示は、可溶性マイクロクロップタンパク質を含む産生物を産生するためにマイクロクロップを培養する方法にさらに関する。例えば、方法は：(a)マイクロクロップの増殖を可能にする条件下で、マイクロクロップを水溶性栄養組成物と接触させるステップ；(b)溶解マイクロクロップの第1ポーションを形成するためにマイクロクロップの第1ポーションを転用するステップ；(b')溶解マイクロクロップのそれぞれのさらなるポーションを形成するためにマイクロクロップの少なくとも1つのさらなるポーションを転用するステップ；(c)ジュース画分の第1ポーション及び固形画分の第1ポーションを生成するために溶解バイオマスの第1ポーションを分離するステップ；(c')ジュース画分のそれぞれのさらなるポーション及び固形画分のそれぞれのさらなるポーションを生成するために溶解バイオマスの少なくとも1つのさらなるポーションを分離するステップ；(d)第1ジュースの第1ポーション及び第1ケーキの第1ポーションを生成するためにジュース画分の第1ポーションを分離するステップであって、第1ジュースが可溶性マイクロクロップタンパク質を含むステップ；(d')第1ジュースのそれぞれのさらなるポーション及び第1ケーキのそれぞれのさらなるポーションを生成するためにジュース画分の少なくとも1つのさらなるポーションを分離するステップであって、第1ジュースが可溶性マイクロクロップタンパク質を含むステップ；(e)可溶性マイクロクロップタンパク質を含む産生物の第1ポーション及びリジェクト流を生成するために第1ジュースの第1ポーションをろ過するステップ；並びに/又は(e')可溶性マイクロクロップタンパク質を含む産生物のそれぞれのさらなるポーション及びそれぞれのさらなるリジェクト流を生成するために第1ジュースの少なくとも1つのさらなるポーションをろ過するステップ、を含む場合がある。

【0016】

一部の実施形態により、本開示は、可溶性マイクロクロップタンパク質を含む産生物を産生するためにマイクロクロップ(例えば、アオウキクサ)を含むバイオマスを処置する方法に関する。例えば、方法は：(a)溶解バイオマスの第1ポーションを形成するためにバイオマスの第1ポーションを溶解するステップ；(a')溶解バイオマスのそれぞれのさらなるポーションを形成するためにバイオマスの少なくとも1つのさらなるポーションを溶解するステップ；(b)ジュース画分の第1ポーション及び固形画分の第1ポーションを生成するために溶解バイオマスの第1ポーションを分離するステップ；(b')ジュース画分のそれぞれのさらなるポーション及び固形画分のそれぞれのさらなるポーションを生成するために溶解バイオマスの少なくとも1つのさらなるポーションを分離するステップ；(c)第1ジュースの第1ポーション及び第1ケーキの第1ポーションを生成するためにジュース画分の第1ポーションを分離するステップであって、第1ジュースが可溶性マイクロクロップタンパク質を含むステップ；(c')第1ジュースのそれぞれのさらなるポーション及び第1ケーキのそれぞれのさらなるポーションを生成するためにジュース画分の少なくとも1つのさらなるポーションを分離するステップであって、第1ジュースのそれぞれのさらなるポーションが可溶性マイクロクロップタンパク質を含むステップ；(d)第1可溶性タンパク質画分の第1ポーション及び第1リジェクト流を生成するために第1ジュースの第1ポーションをろ過するステップ；(d')第1可溶性タンパク質画分のそれぞれのさらなるポーション及び第1リジェクト流のそれぞれのさらなるポーション

ションを生成するために第1ジュースの少なくとも1つのさらなるポーシオンをろ過するステップ；(e)第2可溶性タンパク質画分の第1ポーシオン及び第2リジェクト流を生成するために第1可溶性タンパク質画分の第1ポーシオンをろ過するステップであって、第2可溶性タンパク質画分が可溶性マイクロクロップタンパク質を含むステップ；並びに/又は(e')第2可溶性タンパク質画分のそれぞれのさらなるポーシオン及び第2リジェクト流のそれぞれのさらなるポーシオンを生成するために第1可溶性タンパク質画分の少なくとも1つのさらなるポーシオンをろ過するステップであって、第2可溶性タンパク質画分のそれぞれのさらなるポーシオンが可溶性マイクロクロップタンパク質を含むステップを含む場合がある。

【0017】

一部の実施形態では、可溶性マイクロクロップタンパク質を含む産生物を産生するためにマイクロクロップ(例えば、アオウキクサ)を含むバイオマスを処置する方法は：(f)第1固形物の第1ポーシオン及び第2ジュースの第1ポーシオンを生成するために固形画分の第1ポーシオンを分離するステップ；(f')第1固形物のそれぞれのさらなるポーシオン及び第2ジュースのそれぞれのさらなるポーシオンを生成するために固形画分の少なくとも1つの続くポーシオンを分離するステップ；並びに/又は(g)高炭水化物産生物を生成するために第1固形物の第1ポーシオンを処理するステップ、を含む場合がある。一部の実施形態では、方法は、(g')高炭水化物産生物のそれぞれのさらなるポーシオンを生成するために第1固形物の少なくとも1つのさらなるポーシオンを処理するステップを含む場合がある。一部の実施形態により、高炭水化物産生物の各ポーシオンは、乾燥バイオクルード又は高炭水化物ミールを含む場合がある。

【0018】

一部の実施形態では、方法は、次のそれぞれの場合において第3ジュースの第1ポーシオン及び第2ケーキの第1ポーシオンを生成するために、(1)第1ケーキの第1ポーシオンを分離するステップ、又は(2)第2ジュースの第1ポーシオンを分離するステップ、又は(3)第1ケーキの第1ポーシオンを分離するステップ及び第2ジュースの第1ポーシオンを分離するステップを含む場合がある。一部の実施形態により、方法は、第3ジュースの第1ポーシオンとジュース画分の少なくとも1つのさらなるポーシオンとを、ジュース画分の少なくとも1つのさらなるポーシオンを分離するステップに先立って混ぜ合わせるステップを含む場合がある。一部の実施形態により、方法は、次のそれぞれの場合において第3ジュースのそれぞれのさらなるポーシオン及び第2ケーキのそれぞれのさらなるポーシオンを生成するために、(1')第1ケーキの少なくとも1つのさらなるポーシオンを分離するステップ、又は(2')第2ジュースの少なくとも1つのさらなるポーシオンを分離するステップ、又は(3')第1ケーキの少なくとも1つのさらなるポーシオンを分離するステップ及び第2ジュースの少なくとも1つのさらなるポーシオンを分離するステップ、を含む場合がある。一部の実施形態では、方法は、第3ジュースの少なくとも1つのさらなるポーシオンとジュース画分の少なくとも1つのさらなるポーシオンとを、ジュース画分の少なくとも1つのさらなるポーシオンを分離するステップに先立って混ぜ合わせるステップを含む場合がある。

【0019】

一部の実施形態により、可溶性マイクロクロップタンパク質を含む産生物を産生するためにマイクロクロップ(例えば、アオウキクサ)を含むバイオマスを処置する方法は：(aa)スラリーの第1ポーシオンを形成するためにバイオマスの第1ポーシオンを洗浄溶液と混ぜ合わせるステップ；(aaa)洗浄バイオマスの第1ポーシオン及び第1再生洗浄溶液を生成するためにスラリーの第1ポーシオンを分離するステップ；(aaa')スラリーのそれぞれのさらなるポーシオンを形成するためにバイオマスの少なくとも1つのさらなるポーシオンをそれぞれのさらなる洗浄溶液と混ぜ合わせるステップ；並びに/又は(aaa')洗浄バイオマスのそれぞれのさらなるポーシオン及びそれぞれのさらなる再生洗浄溶液を生成するためにスラリーの少なくとも1つのさらなるポーシオンを分離するステップを含む場合がある。一部の実施形態では、それぞれのさらなる洗浄溶液の少なく

とも1つは、再生洗浄溶液の少なくとも1つを含む。

【0020】

本開示は、マイクロクロップ（例えば、アオウキクサ）を含むバイオマスからタンパク質濃縮物を回収するための系にさらに関する。一部の実施形態により、マイクロクロップを含むバイオマスからタンパク質濃縮物を回収するための系は：溶解バイオマスを形成するようにバイオマスを溶解するために構成された溶解ユニット、ジュース画分及び固形画分を生成するように溶解バイオマスを分離するために構成された第1分離ユニット、第1ジュース及び第1ケーキを生成するように構成された第2分離ユニット；並びに可溶性タンパク質及びリジェクト流を生成するように第1ジュースをろ過するために構成された濾過ユニットを含む場合がある。一部の実施形態では、濾過ユニットは、精密濾過モジュール、限外濾過モジュール、ナノ濾過モジュール又は逆浸透濾過モジュールから選択される。一部の実施形態では、系は、可溶性タンパク質を濃縮するために構成された脱水ユニットを含む場合がある。一部の実施形態では、脱水ユニットは、ナノ濾過モジュール、逆浸透濾過モジュール、及び蒸発器から選択されてよい。一部の実施形態により、系は、第1固形物及び第2ジュースを生成するように固形画分を分離するために構成された第3分離ユニット；並びに第2ケーキ及び第3ジュースを生成するように第1ケーキ及び第2ジュースの少なくとも1つを分離するために構成された第4分離ユニットを含む場合がある。一部の実施形態では、系は、第1固形物、第1ケーキ、第2ケーキ、又はその任意の組合せの少なくとも1つを乾燥させるために構成された高炭水化物乾燥ユニットを含む場合がある。

10

20

【0021】

一部の実施形態では、系は：（1）溶解バイオマスを形成するようにバイオマスを溶解するために構成された溶解ユニット；（2）ジュース画分及び固形画分を生成するように溶解バイオマスを分離するために構成された第1分離ユニット、（3）第1ジュース及び第1ケーキを生成するように構成された第2分離ユニット；（4）第1可溶性タンパク質及び第1リジェクト流を生成するように第1ジュースをろ過するために構成された第1濾過ユニット；並びに／又は（5）第2可溶性タンパク質及び第2リジェクト流を生成するように第1可溶性タンパク質をろ過するために構成された第2濾過ユニットを含む場合がある。一部の実施形態では、第1濾過ユニットは、精密濾過モジュールを含む場合がある。一部の実施形態では、第2濾過ユニットは、限外濾過モジュールを含む場合がある。一部の実施形態により、精密濾過モジュールは 約10 μm のフィルターサイズを有する場合があり、限外濾過モジュールは約10 kDaまでの名目分子量カットオフを有する場合がある。一部の実施形態では、精密濾過モジュールは約0.5 μm から約2 μm のフィルターサイズを有する場合があり、限外濾過モジュールは約3 kDaの名目分子量カットオフを有する場合がある。一部の実施形態では、系は、第1可溶性タンパク質及び第2可溶性タンパク質の少なくとも1つを濃縮するために構成された脱水ユニットを含む場合がある。一部の実施形態では、脱水ユニットは、ナノ濾過モジュール、逆浸透濾過モジュール及び蒸発器から選択されてよい。一部の実施形態により、系は、第1固形物及び第2ジュースを生成するように固形画分を分離するために構成された第3分離ユニット；並びに第2ケーキ及び第3ジュースを生成するように第1ケーキ及び第2ジュースの少なくとも1つを分離するために構成された第4分離ユニットを含む場合がある。一部の実施形態では、系は、第1固形物、第1ケーキ、第2ケーキ、又はその任意の組合せの少なくとも1つを乾燥させるために構成された高炭水化物乾燥ユニットを含んでよい。

30

40

【0022】

一部の実施形態では、本開示は、マイクロクロップ（例えば、アオウキクサ）を含むバイオマス由来の可溶性マイクロクロップタンパク質産生物にさらに関する。例えば、一部の実施形態では、マイクロクロップ（例えば、アオウキクサ）を含むバイオマスからの可溶性マイクロクロップタンパク質産生物は：（a）溶解バイオマスの第1ポーションを形成するためにバイオマスの第1ポーションを溶解するステップ；（b）ジュース画分の第1ポーション及び固形画分の第1ポーションを生成するために溶解バイオマスの第1ポーション

50

ションを分離するステップ；（c）第1ジュースの第1ポーション及び第1ケーキの第1ポーションを生成するためにジュース画分の第1ポーションを分離するステップ、（d）第1可溶性タンパク質の第1ポーション及び第1リジェクト流を生成するために第1ジュースの第1ポーションをろ過するステップ；並びに／又は（e）可溶性マイクロクロップタンパク質産生物の第1ポーション及び第2リジェクト流を生成するために第1可溶性タンパク質の第1ポーションをろ過するステップ、を含む工程によって產生され得る。一部の実施形態により、工程は、濃縮タンパク質の第1ポーション及び通過物を生成するために可溶性マイクロクロップタンパク質産生物の第1ポーションを脱水するステップをさらに含む場合がある。一部の実施形態では、可溶性マイクロクロップタンパク質産生物を產生するための工程は、乾燥タンパク質濃縮物の第1ポーションを生成するために濃縮タンパク質の第1ポーションを乾燥させるステップを含む場合がある。乾燥タンパク質濃縮物の第1ポーションは、重量で少なくとも約50%のタンパク質濃度、少なくとも50%の溶解度値（%水溶性窒素）及び／又は少なくとも50%の分散性値（水分散性タンパク質／総タンパク質）を有する場合がある。

10

【0023】

一部の実施形態により、本開示は、マイクロクロップ（例えば、アオウキクサ）から単離されたマイクロクロップタンパク質産生物に関する。一部の実施形態では、マイクロクロップ（例えば、アオウキクサ）から単離されたマイクロクロップタンパク質産生物は、少なくとも50%の溶解度値（%水溶性窒素）及び少なくとも50%の分散性値（水分散性タンパク質／総タンパク質）を有する場合がある。

20

【0024】

一部の実施形態により、方法は、可溶性マイクロクロップタンパク質を少なくとも1つの溶媒で洗浄することをさらに含む場合がある。一部の実施形態では、溶媒は、メタノール、エタノール、アセトン、ヘキサン、ジクロロメタン、酢酸エチル、プロパノール、イソプロパノール、グリセロール、及びその任意の組合せを含む場合がある。少なくとも1つの溶媒でのそのような洗浄は、可溶性タンパク質、第1可溶性タンパク質、第2可溶性タンパク質及び／又は乾燥タンパク質濃縮物の洗浄を含む本開示に記載の方法及び工程の複数の態様に適用可能である場合がある。

【0025】

一部の実施形態では、方法は、少なくとも1つのポリフェノールの濃度が低減している産生物を生成するために可溶性マイクロクロップタンパク質をポリフェノール低減工程に供するステップを含んでよい。タンパク質をポリフェノール低減工程に供することは、本開示に記載の方法及び工程の複数の態様に適用できる場合がある。

30

【0026】

本特許の書類は、カラーで出力された少なくとも1つの図面を含有している。カラー図面（単数又は複数）を含む本特許の複製物は、請求及び必要な費用の支払いに応じて特許商標局により提供される。

【0027】

本開示の一部の実施形態は、一部分において、本開示及び添付の図面を参照することによって理解され得る。

40

【図面の簡単な説明】

【0028】

【図1】本開示の具体的な実施形態例によるタンパク質濃縮物及び／又は高炭水化物産生物の產生のためにマイクロクロップを培養する、収集する及び処理するための系を例示する生産工程表である。

【図2A】本開示の具体的な実施形態例によりバイオマスからタンパク質濃縮物及び／又は高炭水化物産生物を產生するための工程を例示する生産工程表である。

【図2B】本開示の具体的な実施形態例によりバイオマスからタンパク質濃縮物及び／又は高炭水化物産生物を產生するための工程を例示する生産工程表である。

【図3A】本開示の具体的な実施形態例によりバイオマスからタンパク質濃縮物及び／又

50

は高炭水化物産生物を産生するための工程を例示する生産工程表である。

【図3B】本開示の具体的な実施形態例によりバイオマスからタンパク質濃縮物及び／又は高炭水化物産生物を産生するための工程を例示する生産工程表である。

【図4】本開示の具体的な実施形態例によりバイオマスからタンパク質濃縮物及び／又は高炭水化物産生物を連続的に産生するための工程を例示する生産工程表である。

【発明を実施するための形態】

【0029】

詳細な記載

本開示は、マイクロクロップ（例えば、光合成水生生物種、水生植物種、アオウキクサ、藻類種）からタンパク質濃縮物（例えば、可溶性タンパク質、乾燥タンパク質濃縮物）及び／又は高炭水化物産生物を産生するための組成物、系及び方法に関する。例えば、方法は、本開示の具体的な実施形態例によるタンパク質濃縮物（例えば、可溶性タンパク質、乾燥タンパク質濃縮物）及び／又は高炭水化物産生物の産生のためにマイクロクロップ（例えば、水生植物種、アオウキクサ、藻類種）を増殖させること、収集すること及び／又は分離することを含む場合がある。一部の実施形態では、方法は、その1つ又は複数が反復される場合がある一連のステップで実施されてよい。例えば、方法は、タンパク質濃縮物（例えば、可溶性タンパク質、乾燥タンパク質濃縮物）及び／又は高炭水化物産生物の産生をもたらす単一のサイクル（例えば、反復されるステップがない）を含む場合がある。一部の実施形態では、方法は、産生物、中間体及び／又は工程の前のサイクルの副産物が工程の1つ又は複数の続くサイクルで再利用され得るような、タンパク質濃縮物（例えば、可溶性タンパク質、乾燥タンパク質濃縮物）及び／又は高炭水化物産生物の産生のための複数のサイクル（例えば、第1ポーション、第2ポーション）又は連続的工程を含む場合がある。

【0030】

マイクロクロップ

一部の実施形態では、マイクロクロップは、単一の光合成水生生物種（例えば、アオウキクサ種、サンショウモ（*Salvinia*）種）を含む場合がある。マイクロクロップは、アオウキクサ（例えば、ウキクサ（*duckweed*））、ウキクサ属（*Spirodela*）、ランドルチア（*Landoltia*）、ウォルフィエラ（*Wolffiella*）、サンショウモ（例えば、汎熱帯性水生シダ（*floating fern*））、ミジンコウキクサ属（*Wolffia*）（例えば、ウォーターミール（*watermeal*））、アカウキクサ属（*Azolla*）（例えば、モスキートフェルン（*mosquito fern*））、ピスティア（*Pistia*）（例えば、ボタンウキクサ（*water lettuce*））の種、又はその任意の組合せを含む場合がある。一部の実施形態により、マイクロクロップは、アオウキクサの種、例えば、コウキクサ（*Lemna minor*）、レンナ・オブスキュラ（*Lemna obscura*）、ヒナウキクサ（*Lemna minuta*）、イボウキクサ（*Lemna gibba*）、アオウキクサ（*Lemna valdiviana*）又はナンゴクアオウキクサ（*Lemna aequinoctialis*）であってよい。一部の実施形態では、マイクロクロップは、藻類の1つ又は複数の種を含んでよい。一部の実施形態により、マイクロクロップは、2つ以上の光合成水生生物種の組合せを含んでよい。一部の実施形態では、マイクロクロップは、局所環境の1つ又は複数の条件内で発達した同定された組成及び生育特徴に基づいて在来光合成水生生物種から選択されてよい。在来種は、開放池又はバイオリアクターでは局所環境の1つ又は複数の条件へのそれらの適応に基づいて、他の種との競争から逃れる場合がある。一部の実施形態では、マイクロクロップは、温度及び光利用能の季節変動への応答に適合され得る。

【0031】

マイクロクロップは、他の光合成水生生物種と比較して有利である特徴（例えば、早い増殖速度；栄養素要求の低減；収集及び／又は処理の容易さ；アミノ酸プロファイルの増強；食味の増強；蒸発散速度の低減；タンパク質組成の増加）を有する場合がある。

【 0 0 3 2 】

例えば、アオウキクサは、急速に増殖するアオウキクサ科 (L e m n a c e a e) フアミリー (例えば、ウキクサ) 由来の浮遊性水生植物の属である。アオウキクサタンパク質は、大部分の他の植物タンパク質よりも動物タンパク質に非常に類似している必須アミノ酸プロファイルを有する。表 1 は、アオウキクサタンパク質の典型的な必須アミノ酸組成プロファイルを示している。加えてアオウキクサは、新鮮収集アオウキクサが乾燥重量で約 4 3 % に至るタンパク質を含有して、高いタンパク質収量を提供する。さらに、大部分の他の植物と比較してアオウキクサ葉は、繊維含有量が低く (例えば、乾燥材料で約 5 % ~ 約 1 5 %) 、単胃動物においてでさえ非常に消化されやすい。これは、およそ 5 0 % の繊維含有量及び低い消化率を有する多くの作物種 (例えば、ダイズマメ、イネ、トウモロコシ) の組成と対照的である。

【表 1】

表1:アオウキクサタンパク質濃縮物の必須アミノ酸プロファイル	
必須アミノ酸	タンパク質 (g/ 100 g)
リシン	5.9
ロイシン	9.7
イソロイシン	5.1
メチオニン	2.4
フェニルアラニン	6.3
スレオニン	4.4
トリプトファン	2.0
バリン	6.3
ヒスチジン	2.7
アルギニン*	6.8

*条件付き非必須アミノ酸

【 0 0 3 3 】

マイクロクロップの培養

一部の実施形態では、マイクロクロップは、増殖を可能にする条件下でマイクロクロップを水溶性栄養組成物と接触させることによって無性生殖的に繁殖 (例えば、培養) され得る。一部の実施形態により、マイクロクロップは、バイオリアクター系で培養され得る。バイオリアクター系は増殖培地を含有してよい。一部の実施形態では、増殖培地は水及び / 又は栄養組成物を含んでよい。一部の実施形態により、増殖培地 (例えば、水) は、バイオリアクター (例えば、池) に提供及び / 又は加えられてよく、所望の設定点レベル (例えば、具体的な容量) で維持され得る。一部の実施形態では、バイオリアクター系は、雨水を集めるように及び / 又は地面、表面若しくは再利用水 (例えば、ストームウォーター、再利用水) 又は任意の他の好適な水源から水を取り込むように構成されてよい。一部の実施形態により、バイオリアクター系は、余剰の増殖培地のための追加的保存容器 (例えば、容器又は池) をさらに含んでよい。バイオリアクター系は、追加的栄養素 (例えば、窒素、リン、カリウム) 又は気体 (例えば、酸素 ; 二酸化炭素) を特定の時間指標で又はセンサー読み取り値への応答で挿入するように構成されてよい。一部の実施形態では、1 つ又は複数の小さなバイオリアクター (例えば、池) は、大きなバイオリアクターへの「フィーダー」バイオリアクターとして適切に機能するように設計され、サイズを合わせられてよい。一部の実施形態では、小さなバイオリアクターは、最初に接種され、より早い増殖を支持する様式で大きなバイオリアクターに最適に播種され得る点の高密度まで増殖されてよい。

【 0 0 3 4 】

一部の実施形態ではバイオリアクター系は、モニタリング系を含んでよい。一部の実施形態では、モニタリング系は、バイオリアクター条件（単数又は複数）（例えば、栄養素濃度、pH、溶存酸素レベル、増殖培地レベル、マイクロクロップ分布、流速、温度）に関する1つ又は複数の使用者への警告を表示及び／若しくは提供するように、並びに／又は作動条件（例えば、増殖培地流速並びに／又は栄養添加；「フィーダー」マイクロクロップ添加、酸素若しくは二酸化炭素添加の時期及び／若しくは量）を調節するように構成されてよい。調節は、連続的、半連続的、定期的、断続的、必要に応じて、設定の若しくは可変の時期に又は任意の他の間隔で行われてよい。一部の実施形態では、調節は、増殖速度及び／又は光合成水生生物種の収量を最適化するように選択されてよい。例えば、マイクロクロップ種は、例えば、それによって栄養素消費率を制御できる光への曝露に基づいて材料（例えば、新鮮又は再利用水、新鮮又は再利用増殖培地）の導入を調節するために構成されたモニタリング系を有する大規模開放型バイオリアクターで増殖されてよい。

10

【 0 0 3 5 】

一部の実施形態では、バイオリアクター系は、マイクロクロップが培養され得る単一の容器を含んでよい。一部の実施形態では、バイオリアクター系は、連結され得る、部分的に連結され得る又は連結され得ない複数の培養容器を含んでよい。一部の実施形態では、バイオリアクター（例えば、池）は、少なくとも1つの土手（例えば、バイオリアクターの内側の底から除去した泥を成型してできている）を有する土のくぼ地であってよい。一部の実施形態により、バイオリアクターは、人工容器（例えば、金属、プラスチック、レジン）であってよい。バイオリアクター系は、開放型バイオリアクター、閉鎖型バイオリアクター、半開放型バイオリアクター、又はその任意の組合せを含んでよい。一部の実施形態では、バイオリアクター系は、容器（単数又は複数）をチャンネル又はセルに分割するように構成されてよい。一部の実施形態では、バイオリアクター系は、増殖培地の流れを可能にするように構成されてよい。一部の実施形態では、バイオリアクター系は、推進系（例えば、パドルホイール、通気、浸水又は表面水噴霧、浸水ミキサー）及び／又は再循環系を含んでよい。一部の実施形態では、バイオリアクター系は、増殖培地の流速を調節する（例えば、栄養素濃度又はマイクロクロップ増殖パターンを再分布させる）ように構成されてよい。

20

【 0 0 3 6 】

一部の実施形態ではバイオリアクター系は、バイオリアクター容器内に含有される増殖培地及び／又は増殖培地の表面上で増殖するマイクロクロップがバイオリアクター容器の外から来る風に曝露され得るように、バイオリアクター容器（例えば、蛇行水路）は開いていて（例えば、地面に対して水平面）よい。一部の実施形態により、バイオリアクター系は、含有される培養培地の表面上が少なくとも90%、又は少なくとも80%、又は少なくとも70%、又は少なくとも60%、又は少なくとも50%、又は少なくとも40%、又は少なくとも30%、又は少なくとも20%、又は少なくとも10%が開放され、部分的に開放（例えば、地面に対して水平面）されていてよい。一部の実施形態により、上表面は、開放されていてよく、表面がいかなるカバー又は他の障壁も実質的に有さず（例えば、有さず）、表面が周囲の天候条件に直接曝露されており、表面と大気の実質的に膜、ガラス、カバー若しくは他の障壁が実質的にない（そのような障壁がポア又は開口部を有するか否かに関わらず）及び／又は周囲大気だけが表面上少なくとも約1メートルの距離について表面上すぐ及び直接の空間を占めるものである。

30

40

【 0 0 3 7 】

一部の実施形態では、バイオリアクター系は、マイクロクロップマットの厚さ及び分布をモニター及び調節できる。例えば、マイクロクロップが特定の厚さ又は分布に達した場合、バイオリアクター系は収集手順を開始できる。一部の実施形態では、マイクロクロップの最小厚は、バイオリアクター系内の増殖培地の望ましい蒸発散速度が維持され得るように維持されてよい。一部の実施形態では、マイクロクロップの最小厚は、増殖培地の表面を透過できる日光が少ない（すなわち藻類などの水中光合成水生生物種の増殖可能性を

50

低減する)ように維持されてよい。

【0038】

マイクロクロップの収集

マイクロクロップは、その全体又は部分で任意の望ましい時期(単数又は複数)に収集されてよい。例えば、マイクロクロップは、1回又は複数回の具体的な時期に、定期的に又は不定期に及び/又は連続的に収集されてよい。収集時期(単数又は複数)及び/又は間隔の選択は、環境条件(例えば、降水量、相対湿度、温度範囲、平均、低若しくは高閾値及び/又は光強度、波長範囲、曝露の持続期間)及び/又はマイクロクロップが示す1つ又は複数の望ましい特徴(例えば、マット厚、マット分布、成熟化)に基づいてよい。マイクロクロップを収集することは、手作業又は自動化されていてよい。一部の実施形態では、自動化スキマー系は、バイオリアクター系からマイクロクロップを集めることができ、収集されたマイクロクロップを(例えば、ポンプ系を介して)増殖培地及びデブリからバイオマスを分離するための傾斜震動スクリーンに移行できる。一部の実施形態では、マイクロクロップは、固定又は可動式スクリーンフィルターを通じてバイオリアクター系からマイクロクロップを真空ですくい取ることによって収集され得る。一部の実施形態により、収集されたマイクロクロップ(例えば、アオウキクサ)及び増殖培地(例えば、水)を含むバイオマssqlaryは、バイオマス(例えば、マイクロクロップ)が増殖培地から分離され得る傾斜震動スクリーンに運ばれてよい。

10

【0039】

一部の実施形態により、収集の際に分離された増殖培地は、バイオリアクター系又は追加的保存容器(例えば、容器又は池)に戻して再利用されてよい。一部の実施形態では、バイオマスから分離された増殖培地(例えば、水)の少なくとも約40%、又は少なくとも約50%、又は少なくとも約60%、又は少なくとも約70%、又は少なくとも約80%、又は少なくとも約90%、又は少なくとも約95%は、マイクロクロップを培養する、収集する及び/又は処理することにおけるさらなる使用のために再利用されてよい。

20

【0040】

バイオマスの洗浄

一部の実施形態では、マイクロクロップ又はバイオマス(例えば、第1ポーション、第2ポーション)を処理することは、余剰の増殖培地、デブリ、混入物、微生物及び/又は毒素を除去するための洗浄手順を含んでよい。バイオマスを洗浄することは、タンパク質純度及び/又は収量を増加させ得る。洗浄手順は、バイオマスを消毒及び/又は駆除でき、バイオマスの少なくとも1つの表面上又は周辺の細菌、真菌、ウイルス、昆虫、及びその任意の組合せを低減又は除去する。一部の実施形態では、洗浄手順は、バイオマスの少なくとも1つの表面を洗浄溶液(例えば、水、増殖培地、抗菌性溶液)に曝露すること(例えば、浸すこと、スプレーすること)によって実施され得る。一部の実施形態では、洗浄溶液は、スラリーを形成するようにバイオマス(例えば、第1ポーション、第2ポーション)と混ぜ合わされてよい。

30

【0041】

一部の実施形態では、洗浄溶液は、任意の望ましい割合の再利用液を含んでよい。例えば、洗浄溶液は、工程の別の段階から再利用された液体を少なくとも約10%(v/v)、少なくとも約20%(v/v)、少なくとも約30%(v/v)、少なくとも約40%(v/v)、少なくとも約50%(v/v)、少なくとも約60%(v/v)、少なくとも約70%(v/v)、少なくとも約80%(v/v)又は少なくとも約90%(v/v)含んでよい(例えば、再利用洗浄溶液、図1、116、濾過からのリジェクト流(例えば、図2A、252;図4、452、457))。一部の実施形態では、洗浄溶液は水溶液又は溶媒であってよい。洗浄溶液は抗菌性、駆除化合物、脂肪酸、アルコール、塩素、酸化化合物、及びその任意の組合せ(例えば、オゾン処理水)の1つ又は複数を含むよい。

40

【0042】

一部の実施形態により、洗浄溶液は、温度を上昇させて及び/又は高圧で適用されてよ

50

い。一部の実施形態では、洗浄溶液は、少なくとも約 1 秒間、又は少なくとも約 5 秒間、又は少なくとも約 10 秒間、又は少なくとも約 20 秒間、又は少なくとも約 30 秒間、又は少なくとも約 1 分間、又は少なくとも約 5 分間バイオマスと接触されたままであってよい。一部の実施形態では、第 2 洗浄溶液（例えば、水、オゾン処理水、再利用洗浄溶液（図 1、116）はバイオマスに適用されてよい。一部の実施形態では、第 3 洗浄溶液（例えば、水、オゾン処理水、再利用洗浄溶液）はバイオマスに適用されてよい。第 1 洗浄溶液、第 2 洗浄溶液及び第 3 洗浄溶液の組成は、互いに同じ又は異なっていてよい。一部の実施形態では、第 1 洗浄溶液はろ過工程からのリジェクト流（例えば、図 2A、252；図 4、452、457）であってよい又は含んでよく、第 2 洗浄溶液は水であってよく、第 3 洗浄溶液はオゾン処理水であってよい。一部の実施形態では洗浄溶液（例えば、第 1、第 2 及び / 又は第 3 洗浄溶液）の一部又はすべては、バイオマスから分離されてよい（例えば、傾斜スクリーン又は振動スクリーンを使用する）。

10

【0043】

一部の実施形態では、洗浄溶液、第 2 洗浄溶液及び / 又は第 3 洗浄溶液の一部又はすべては、集められ、再使用 / 再利用されてよい（例えば、図 1、116 / 117）。一部の実施形態により、バイオマスから分離された洗浄溶液、第 2 洗浄溶液及び / 又は第 3 洗浄溶液（例えば、水）の少なくとも約 40 %、又は少なくとも約 50 %、又は少なくとも約 60 %、又は少なくとも約 70 %、又は少なくとも約 80 %、又は少なくとも約 90 %、又は少なくとも約 95 % は将来の使用のために再利用されてよい（例えば、再利用洗浄溶液（図 1、116）、バイオリアクター系（図 1、117）において増殖培地として使用される）。

20

【0044】

洗浄溶液（例えば、第 1、第 2 及び / 又は第 3 洗浄溶液）は、使用時に室温より低い温度（例えば、約 12 °C）を有してよい。洗浄溶液及びそれによりマイクロクロップを冷やすことは、タンパク質回収効率を改善でき、及び / 又はタンパク質分解活性を減少させることができる。一部の実施形態では、洗浄溶液（例えば、第 1、第 2 及び / 又は第 3 洗浄溶液）は、使用時に約 30 °C 未満、又は約 20 °C 未満、又は約 15 °C 未満、又は約 10 °C 未満、又は約 5 °C 未満、又は約 2 °C 未満、又は約 1 °C、又は約 0 °C 未満の温度を有してよい。一部の実施形態では、洗浄溶液（例えば、第 1、第 2 及び / 又は第 3 洗浄溶液）は、使用時に約 0 °C から約 10 °C の間の、又は約 5 °C から約 15 °C の間、又は約 10 °C から約 20 °C の間、又は 15 °C 及び約 25 °C の間、又は約 20 °C から約 30 °C の間の温度を有してよい。

30

【0045】

一部の実施形態では、洗浄溶液（例えば、第 1、第 2 及び / 又は第 3 洗浄溶液）は、使用時に室温を超える温度（例えば、約 50 °C）を有してよい。洗浄溶液及びそれによりマイクロクロップを加熱することは、タンパク質回収効率を改善でき、タンパク質分解活性を減少させることができる（例えば、タンパク質分解酵素を変性）でき、及び / 又は微生物混入を減少させることができる（例えば、低温殺菌）。一部の実施形態では、洗浄溶液（例えば、第 1、第 2 及び / 又は第 3 洗浄溶液）は、使用時に約 20 °C を超える、又は約 25 °C を超える、又は約 30 °C を超える、又は約 35 °C を超える、又は約 40 °C を超える、又は約 45 °C を超える、又は約 50 °C を超える、又は約 55 °C を超える、又は約 60 °C を超える、又は約 65 °C を超える、又は約 70 °C を超える、又は約 75 °C を超える、又は約 80 °C を超える、又は約 85 °C を超える、又は約 90 °C を超える、又は約 95 °C を超える、又は約 100 °C を超える温度を有してよい。一部の実施形態では、洗浄溶液（例えば、第 1、第 2 及び / 又は第 3 洗浄溶液）は、使用時に温度約 40 °C から約 50 °C の間、又は約 45 °C から約 55 °C の間、又は約 50 °C から約 60 °C の間の温度を有してよい。一部の実施形態により、洗浄溶液（例えば、第 1、第 2 及び / 又は第 3 洗浄溶液）は、使用時に約 75 °C から約 80 °C の間、又は約 80 °C から約 85 °C の間、又は約 85 °C から約 90 °C の間、又は約 90 °C から約 95 °C の間又は約 95 °C から約 100 °C の間の温度を有してよい。一部の実施形態では、洗浄溶液（例えば、第 1、第 2 及び / 又は第 3 洗浄溶液）は、使用

40

50

時に約 50 から約 80 の間、又は約 55 から約 85 の間、又は約 60 から約 90 の間、又は約 65 から約 95 の間、又は約 70 及び約 100 の間の温度を有してよい。

【0046】

バイオマスの溶解

一部の実施形態により、バイオマス（例えば、洗浄又は未洗浄）は、溶解バイオマス（例えば、第 1 ポーション、第 2 ポーション）を形成するように溶解されてよい。本明細書において使用される溶解は、生物の組織を個々の細胞又は複数細胞構造レベルで乱す機械的、化学的及び／又は超音波（例えば、ソニケーション）手順を含み得る。一部の実施形態では、溶解は、マイクロクロップ中に存在する炭水化物、タンパク質及び微量栄養素を、精製タンパク質、炭水化物含有材料及び／又は微量栄養素含有液に処理する下流工程のためにさらに利用し易くすることを含み得る。一部の実施形態により、溶解は、機械的、化学的及び／又は超音波（例えば、ソニケーション）方法を個々に又は組み合わせて使用して達成され得る。

10

【0047】

一部の実施形態では、溶解は、室温より低い温度で実施されてよい。より低い温度でマイクロクロップを溶解することは、例えば、望ましくない酵素活性（例えば、タンパク質分解活性）を制限又は減少させることによって収量を改善できる。一部の実施形態では、溶解することは、約 30 未満、又は約 20 未満、又は約 15 未満、又は約 10 未満、又は約 15 未満、又は約 10 未満、又は約 5 未満、又は約 2 未満、又は約 1

20

未満、又は約 0 未満の温度で実施されてよい。一部の実施形態により、溶解液（例えば、水、再利用水、逆浸透水）は、洗浄又は未洗浄バイオマスに、溶解の前に又は溶解の際に加えられてよい。例えば、溶解液の少なくとも約 10 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 30 %、少なくとも約 40 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 60 %、少なくとも約 70 %、少なくとも約 80 % 又は少なくとも約 90 % は、濾過産生物（例えば、図 3、362；図 4、462）の逆浸透／ナノ濾過により生成された水であってよい。一部の実施形態では、溶解液は、約 30 未満、又は約 20 未満、又は約 15 未満、又は約 10 未満、又は約 5 未満、又は約 2 未満、又は約 1 未満、又は約 0 未満の温度であってよい。一部の実施形態では、溶解液は、緩衝液、プロテアーゼ阻害剤、抗菌剤、キレーター（例えば、EDTA）、還元剤、又はその任意の組合せを含んでよい。

30

【0048】

一部の実施形態により、溶解は、例えば、セルロースの破壊を増強する及び／又は望ましくない酵素（例えば、タンパク質分解酵素）を変性させるために室温を超える温度（例えば、約 40）で実施されてよい。一部の実施形態では、溶解することは、約 30 を超える、又は約 35 を超える、又は約 37 を超える、又は約 40 を超える温度で実施されてよい。

【0049】

溶解は、例えば、刻むこと、断片化すること、粉碎すること、圧力をかけること、引き裂くこと、超音波処置（例えば、ソニケーション）、浸透圧による溶解、生物学的構造を分解する化学的処置、又はその任意の組合せを含んでよい。一部の実施形態では、溶解は、機械的方法（挽くとも称される）、例えば、溶解バイオマスを生成するためにバイオマスを挽くこと、グラインディング又は断片化することによって達成される。溶解工程は、例えば、せん断ミル、ボールミル、コロイドミル、ナイフミル、ハンマーミル、グラインディングミル、ピューレマシン、フィルタープレス、メカニカルプレス、又はその任意の組合せを使用して達成され得る。

40

【0050】

一部の実施形態では、溶解（例えば、挽く）工程への出入りは、任意の望ましい容量、質量又は他の速度若しくは間隔（例えば、一定速度、可変速度、連続的、半連続的、定期的、断続的）で計量されてよい。供給速度及び／又は様式は、例えば：標的産生速度；工程において用いられる器具（単数又は複数）；供給原料の特性、又はその任意の組合せを

50

含む検討事項に基づいて決定されてよい。一部の実施形態では、供給速度は、少なくとも約10kg/時間、又は少なくとも約50kg/時間、又は少なくとも約100kg/時間、又は少なくとも約200kg/時間、又は少なくとも約300kg/時間、又は少なくとも約400kg/時間、又は少なくとも約500kg/時間、又は少なくとも約600kg/時間、又は少なくとも約700kg/時間、又は少なくとも約800kg/時間、又は少なくとも約900kg/時間、又は少なくとも約1000kg/時間、又は少なくとも約1200kg/時間、又は少なくとも約1400kg/時間、又は少なくとも約1600kg/時間、又は少なくとも約1800kg/時間、又は少なくとも約2000kg/時間、又は少なくとも約2200kg/時間であってよい。一部の実施形態では、供給速度は、約10kg/時間から約200kg/時間、又は約200kg/時間から約400kg/時間、又は約400kg/時間から約600kg/時間、又は約600kg/時間から約800kg/時間、又は約800kg/時間から約1000kg/時間、又は約1000kg/時間から約1200kg/時間、又は約1200kg/時間から約1400kg/時間、又は約1400kg/時間から約1600kg/時間、又は約1600kg/時間から約1800kg/時間、又は約1800kg/時間から約2000kg/時間、又は約2000kg/時間から約2200kg/時間であってよい。

10

【0051】

一部の実施形態では、化学的方法は、バイオマス又は洗浄バイオマスを溶解するために（例えば、単独又は機械的方法との組合せで）用いられてよい。一部の実施形態により、両親媒性化合物は、バイオマス又は洗浄バイオマスを溶解するために用いられてよい。一部の実施形態では、両親媒性化学化合物は、レシチンを含んでよい。一部の実施形態では、酵素（例えば、セルロース）は、細胞構造を破壊するため又は破壊を補助するために使用されてよい。一部の実施形態では、溶解は、例えば、バイオマス（例えば、収集されたマイクロクロップ）のpH値を変更することによって実施されてよい。一部の実施形態では、pH値は、約7.0より高く、又は約7.5より高く、又は約8.0より高く、又は約8.5より高く、又は約9.0より高く、又は約9.5より高く、又は約10.0より高くに上げられてよい。一部の実施形態により、バイオマスのpH値は、約7.0から約7.5に、又は約7.5から約8.0に、又は約8.0から約8.5に、又は約8.5から約9.0に、又は約9.0から約9.5に、又は約9.5から約10.0に維持されてよい。一部の実施形態では、バイオマスのpH値は、約7.0から約14.0に、又は約7.0から約13.0に、又は約7.0から約12.0に、又は約7.0から約11.0に、又は約7.0から約10.0に、又は約7.0から約10.5に、又は約7.0から約9.5に、又は約7.0から約9.0に、又は約7.0から約8.5に、又は約7.0から約8.0に、又は約7.0から約7.5に維持されてよい。一部の実施形態では、pH値は、約7.0未満、又は約6.5未満、又は約6.0未満、又は約5.5未満、又は約5.0未満、又は約4.5未満、又は約4.0未満、又は約3.5未満、又は約3.0未満に低下されてよい。一部の実施形態では、バイオマスpH値は、約3.0から約3.5、又は約3.5から約4.0、又は約4.0から約4.5、又は約4.5から約5.0、又は約5.0から約5.5、又は約5.5から約6.0、又は約6.0から約6.5、又は約6.5から約7.0に維持されてよい。一部の実施形態により、バイオマスのpH値は、約3.0から約7.0、又は約3.5から約7.0、又は約4.0から約7.0、又は約4.5から約7.0、又は約5.0から約7.0、又は約5.5から約7.0、又は約6.0から約7.0、又は約6.5から約7.0に維持されてよい。

20

30

40

【0052】

一部の実施形態では、溶解バイオマス（例えば、機械的溶解バイオマス）は、中和を伴って又は伴わずに、タンパク質及び/又は他の産生物（単数又は複数）を単離するための次のステップ又は手順に進んでよい。例えば、溶解バイオマスは、直接次の手順に供給されてよい、又は最初にpH調節（例えば、中和）されてよい。一部の実施形態では、沈殿剤（例えば、塩）は、溶けている化合物を沈殿させるために溶解マイクロクロップに加えられるてよい。

50

【 0 0 5 3 】

一部の実施形態では、溶解バイオマス（例えば、第 1 ポーション、第 2 ポーション）は、室温より低い温度（例えば、約 1 2 ）であってよい。溶解バイオマスを冷却することは、タンパク質回収効率を改善でき、及び / 又はタンパク質分解活性を減少させることができる。一部の実施形態では、溶解バイオマスは、使用時に約 3 0 未満、又は約 2 0 未満、又は約 1 5 未満、又は約 1 0 未満、又は約 1 5 未満、又は約 1 0 未満、又は約 5 未満、又は約 2 未満、又は約 1 未満、又は約 0 未満の温度を有してよい。一部の実施形態により、溶解バイオマスは、使用時に約 0 から約 1 0 の間、又は約 5 から約 1 5 の間、又は約 1 0 から約 2 0 の間、又は約 1 5 から約 2 5 の間、又は約 2 0 から約 3 0 の間の温度を有してよい。

10

【 0 0 5 4 】

一部の実施形態では、溶解バイオマス（例えば、第 1 ポーション、第 2 ポーション）は、使用時に室温を超える温度（例えば、約 5 0 ）を有してよい。溶解バイオマスを加熱することは、タンパク質回収効率を改善でき、タンパク質分解活性を減少（例えば、タンパク質分解酵素を変性）させることができ、及び / 又は微生物混入（例えば、低温殺菌）を減少させることができる。一部の実施形態では、溶解バイオマスは、使用時に約 2 0 を超える、又は約 2 5 を超える、又は約 3 0 を超える、又は約 3 5 を超える、又は約 4 0 を超える、又は約 4 5 を超える、又は約 5 0 を超える、又は約 5 5 を超える、又は約 6 0 を超える、又は約 6 5 を超える、又は約 7 0 を超える、又は約 7 5 を超える、又は約 8 0 を超える、又は約 8 5 を超える、又は約 9 0 を超える温度を有してよい。一部の実施形態では、溶解バイオマスは、使用時に約 4 0 から約 5 0 の間、又は約 4 5 から約 5 5 の間、又は約 5 0 から約 6 0 の間の温度を有してよい。一部の実施形態により、溶解バイオマスは、使用時に約 7 5 から約 8 0 の間、又は約 8 0 から約 8 5 の間の温度を有してよい。

20

【 0 0 5 5 】

バイオマスの分離

バイオマス（例えば、アオウキクサ）、洗浄バイオマス、溶解バイオマス、又はその任意の組合せは、ジュース画分及び固形画分を生成するために分離されてよい。ジュース画分（例えば、第 1 ポーション、第 2 ポーション）は、高タンパク質液及び / 又は少なくともおおよそいくらかの固形粒子（例えば、炭水化物、繊維）を含んでよい。一部の実施形態では、バイオマス（例えば、洗浄、溶解）は、分離に先立って希釈液（例えば、水、再利用水、逆浸透水）で希釈されてよい。

30

【 0 0 5 6 】

一部の実施形態では、希釈液は、室温より低い温度（例えば、約 1 2 ）であってよい。希釈液を冷やすことは、タンパク質回収効率を改善でき、及び / 又はタンパク質分解活性を減少させることができる。一部の実施形態では、希釈液は、使用時に約 3 0 未満、又は約 2 0 未満、又は約 1 5 未満、又は約 1 0 未満、又は約 5 未満、又は約 2 未満、又は約 1 未満、又は約 0 未満の温度であってよい。一部の実施形態により、希釈液は、約 0 から約 1 0 の間、又は約 5 から約 1 5 の間、又は約 1 0 から約 2 0 の間、又は約 1 5 から約 2 5 の間、又は約 2 0 から約 3 0 の間の温度であってよい。

40

【 0 0 5 7 】

一部の実施形態では、希釈液は、使用時に室温を超える温度（例えば、約 5 0 ）を有してよい。希釈液を加熱することは、タンパク質回収効率を改善でき、タンパク質分解活性を減少（例えば、タンパク質分解酵素を変性）させることができ、及び / 又は微生物混入を減少させることができる（例えば、低温殺菌）。一部の実施形態では、希釈液は、使用時に約 2 0 を超える、又は約 2 5 を超える、又は約 3 0 を超える、又は約 3 5 を超える、又は約 4 0 を超える、又は約 4 5 を超える、又は約 5 0 を超える、又は約 5 5 を超える、又は約 6 0 を超える、又は約 6 5 を超える、又は約 7 0 を超える、又は約 7 5 を超える、又は約 8 0 を超える、又は約 8 5 を超える、又は約 9 0

50

を超える温度を有してよい。一部の実施形態では、希釈液は、使用時に約 40 から約 50 の間、又は約 45 から約 55 の間、又は約 50 から約 60 の間、又は約 75 から約 80 の間、又は約 80 から約 85 の間の温度を有してよい。

【0058】

一部の実施形態では、希釈液は、緩衝液、プロテアーゼ阻害剤、抗菌剤、キレーター（例えば、EDTA）、還元剤、又はその任意の組合せを含んでよい。一部の実施形態では、溶解バイオマス又は希釈バイオマスは、分離の前にソニケーションされてよい。ソニケーションはタンパク質収量を増加させ得る。

【0059】

ジュース画分及び固形画分を形成するためにバイオマス（例えば、洗浄、溶解）を分離することは、圧力をかけること（例えば、ベルトプレス、フィルタープレス）、遠心分離、濾過、加圧濾過、又はその任意の組合せを含んでよい。バイオマス（例えば、収集されたマイクロクロップ）、洗浄バイオマス及び／又は溶解バイオマスを分離するための互換的ユニット操作は、例えば、デカンター遠心分離、ベルトプレス、ファンプレス、ロータリープレス、スクリュープレス、フィルタープレス、フィニッシャープレス、又はその任意の組合せを含む。

【0060】

一部の実施形態では、バイオマス（例えば、収集されたマイクロクロップ）、洗浄バイオマス、溶解バイオマス、又はその任意の組合せは、任意の望ましい容量、質量又は他の速度若しくは間隔（例えば、一定速度、可変速度、連続的、半連続的、定期的、断続的）で分離装置に計量されてよい。供給速度及び／又は様式は、例えば：標的産生速度；工程において用いられる器具（単数又は複数）；供給原料の特性；又はその任意の組合せを含む検討事項に基づいて決定されてよい。一部の実施形態では、供給速度は、少なくとも約 10 kg / 時間、又は少なくとも約 50 kg / 時間、又は少なくとも約 100 kg / 時間、又は少なくとも約 200 kg / 時間、又は少なくとも約 300 kg / 時間、又は少なくとも約 400 kg / 時間、又は少なくとも約 500 kg / 時間、又は少なくとも約 600 kg / 時間、又は少なくとも約 700 kg / 時間、又は少なくとも約 800 kg / 時間、又は少なくとも約 900 kg / 時間、又は少なくとも約 1000 kg / 時間、又は約 1000 kg / 時間より高くであってよい。一部の実施形態により、供給速度は、約 10 kg / 時間から約 200 kg / 時間、又は約 200 kg / 時間から約 400 kg / 時間、又は約 400 kg / 時間から約 600 kg / 時間、又は約 600 kg / 時間から約 800 kg / 時間、又は約 800 kg / 時間から約 1000 kg / 時間、又は約 1000 kg / 時間から約 1200 kg / 時間、又は約 1200 kg / 時間から約 1400 kg / 時間、又は約 1400 kg / 時間から約 1600 kg / 時間、又は約 1600 kg / 時間から約 1800 kg / 時間、又は約 1800 kg / 時間から約 2000 kg / 時間、又は約 2000 kg / 時間から約 2200 kg / 時間であってよい。

【0061】

バイオマスを分離することは、任意の望ましい温度で実施されてよい。分離は、例えば、タンパク質分解活性を減少させるために、室温より低い温度で実施されてよい。一部の実施形態では、分離は、約 40 未満、約 30 未満、又は約 20 未満、又は約 15 未満、又は約 10 未満、又は約 5 未満、又は約 2 未満、又は約 1 未満、又は約 0 未満の温度で実施されてよい。分離は、例えば、約 0 から約 10 の間、又は約 5 から約 15 の間、又は約 10 から約 20 の間、又は約 15 から約 25 の間、又は約 20 から約 30 の間、又は約 25 から約 35 の間、又は約 30 から約 40 の間の温度で実施されてよい。

【0062】

固形画分の分離

一部の実施形態では、固形画分は、追加的ジュース（例えば、第 2 ジュース（図 3 A、332））を抽出するためにさらに分離されてよい。固形画分（例えば、第 1 ポーション、第 2 ポーション）の分離は、第 2 ジュース（例えば、図 3 A、332）及び第 1 固形物

10

20

30

40

50

(例えば、図3A、331)を形成できる。第2ジュース(例えば、第1ポーション、第2ポーション)は、高タンパク質液及び/又は少なくともいくつかの固形粒子(例えば、炭水化物、繊維)を含む場合がある。

【0063】

第2ジュース及び第1固形物を形成するために固形画分を分離することは、圧力をかけること(例えば、スクリュープレス)、遠心分離、濾過、加圧濾過、又はその任意の組合せを含んでよい。固形画分を分離するための互換的ユニット操作は、例えば、デカンター遠心分離、ベルトプレス、ファンプレス、ロータリープレス、スクリュープレス、フィルタープレス、フィニッシャープレス、又はその任意の組合せを含む。

【0064】

一部の実施形態では、固形画分は、任意の望ましい容量、質量又は他の速度若しくは間隔(例えば、一定速度、可変速度、連続的、半連続的、定期的、断続的)で分離装置に計量されてよい。供給速度及び/又は様式は、例えば：標的産生速度；工程において用いられる器具(単数又は複数)；供給原料の特性；又はその任意の組合せを含む検討事項に基づいて決定されてよい。一部の実施形態では、供給速度は、少なくとも約10kg/時間、又は少なくとも約50kg/時間、又は少なくとも約100kg/時間、又は少なくとも約200kg/時間、又は少なくとも約300kg/時間、又は少なくとも約400kg/時間、又は少なくとも約500kg/時間、又は少なくとも約600kg/時間、又は少なくとも約700kg/時間、又は少なくとも約800kg/時間、又は少なくとも約900kg/時間、又は少なくとも約1000kg/時間、又は約1000kg/時間より高くであってよい。一部の実施形態により、供給速度は、約10kg/時間から約200kg/時間、又は約200kg/時間から約400kg/時間、又は約400kg/時間から約600kg/時間、又は約600kg/時間から約800kg/時間、又は約800kg/時間から約1000kg/時間、又は約1000kg/時間より高く、又は約1000kg/時間から約1200kg/時間、又は約1200kg/時間から約1400kg/時間、又は約1400kg/時間から約1600kg/時間、又は約1600kg/時間から約1800kg/時間、又は約1800kg/時間から約2000kg/時間、又は約2000kg/時間から約2200kg/時間であってよい。

【0065】

固形画分を分離することは、任意の望ましい温度で実施されてよい。分離は、例えば、タンパク質分解活性及び/又は細菌増殖を減少させるために、室温より低い温度で実施されてよい。一部の実施形態では、分離は、約40 未満、約30 未満、又は約20 未満、又は約15 未満、又は約10 未満、又は約5 未満、又は約2 未満、又は約1 未満、又は約0 未満の温度で実施されてよい。分離は、例えば、約0 から約10の間、又は約5 から約15の間、又は約10 から約20の間、又は約15 から約25の間、又は約20 から約30の間、又は約25 から約35の間、又は約30 から約40の間の温度で実施されてよい。

【0066】

一部の実施形態では、固形画分を分離するために選択された分離器具(例えば、スクリュープレス)は、ジュース画分及び固形画分を形成するようにバイオマス(例えば、溶解)を分離するために使用される同じ器具であってよい。一部の実施形態では、固形画分を分離するために選択された分離器具(例えば、スクリュープレス)は、ジュース画分及び固形画分を形成するようにバイオマス(例えば、溶解)を分離する(例えば、デカンター遠心分離機)ために使用されるものとは異なる器具であってよい。一部の実施形態では、分離器具(例えば、スクリュープレス)は、固形画分から追加的第2ジュースを抽出するために複数回使用されてよい。

【0067】

一部の実施形態により、マイクロクロップ(例えば、光合成水生生物種、水生植物種、アオウキクサ、藻類種)を増殖、収集及び分離するための工程は単一サイクルであってよく、サイクルの他の段階(例えば、ジュース画分の分離は第1ケーキをもたらす)で集め

10

20

30

40

50

られる第1ケーキ（例えば、図3、342）及び第2ケーキ（例えば、図3、347）の少なくとも1つは固形混合物を形成するように第1固形物と混ぜ合わされてよく、固形混合物はさらに処理されてよい（例えば、図2A、図2B、図3A、図3B）。

【0068】

一部の実施形態では、マイクロクロップ（例えば、水生植物種、アオウキクサ、藻類種）を増殖、収集及び分離するための工程は、前のサイクルで集められる第1ケーキ（例えば、図4、442）及び第2ケーキ（例えば、図4、447）の1つ又は複数が次のサイクルからの固形画分と、固形画分の分離（例えば、図4、430）に先立って混ぜ合わされてよいような、複数サイクル又は連続工程であってよい。

【0069】

固形画分からの第2ジュースの抽出が増加すると、第1固形物の水分含有量全体は減少する場合があります、それにより第1固形物をさらに処理するために必要なエネルギー支出（例えば、乾燥させるために必要なエネルギー）を低下させ得る。加えて、固形画分及び/又は固形混合物からのジュースの抽出が増加すると、高タンパク質産生物の収量を改善され得る。

【0070】

一部の実施形態では、固形画分及び/又は固形混合物の水分含有量は、重量で約90%未満、又は約80%未満、又は約70%未満、又は約60%未満、又は約50%未満、又は約40%未満、又は約30%未満、又は約20%未満、又は約10%未満である。

【0071】

ジュース画分の分離

一部の実施形態により、ジュース画分（例えば、第1ポーション、第2ポーション）は、第1ジュース及び第1ケーキを生成するように分離されてよい。第1ジュース（例えば、第1ポーション、第2ポーション）は、溶けたタンパク質を含んでよい。一部の実施形態では、緩衝液、プロテアーゼ阻害剤、抗菌剤、キレーター（例えば、EDTA）、還元剤、又はその任意の組合せは、ジュース画分及び/又は第1ジュースに加えられてよい。一部の実施形態では、ジュース画分を分離することは、遠心分離、濾過、加圧濾過、又はその任意の組合せを含んでよい。2つ以上のユニット操作（例えば、互換的ユニット操作）は、例えば、高速ディスクスタック遠心分離機、環状振動分離機、直鎖状/傾斜運動振とう機、デカンター遠心分離機、フィルタープレス、加圧濾過装置、精密濾過、真空濾過、又はその任意の組合せを含んでジュース画分を分離するために使用されてよい。

【0072】

一部の実施形態では、精密濾過は、ジュース画分を第1ジュース及び第1ケーキに分離するために使用されてよい。一部の実施形態では、好適なフィルターサイズは、約10 μm 、又は約5 μm 、又は約3 μm 、又は約2 μm 、又は約1 μm 、又は約0.5 μm 、又は約0.4 μm 、又は約0.3 μm 、又は約0.2 μm 、又は約0.1 μm を含んでよい。一部の実施形態では、フィルターは、約0.1 μm 以上のフィルターサイズを有してよい。一部の実施形態により、精密濾過は、第1ジュース中の懸濁固形（例えば、脂肪、繊維）、微生物混入（例えば、大腸菌（*Escherichia coli*））、及び/又は真菌混入物（例えば、酵母）の濃度を低減できる。

【0073】

一部の実施形態では、真空が、分離工程の少なくとも一部の際に実行されてよい。

【0074】

一部の実施形態により、分離は、例えば、タンパク質分解活性を減少させるために室温より低い温度で実施されてよい。一部の実施形態では、分離は、約40 未満、又は約30 未満、又は約20 未満、又は約15 未満、又は約10 未満、又は約5 未満、又は約2 未満、又は約1 未満、又は約0 未満の温度で実施されてよい。一部の実施形態では、分離は、約0 から約10 の間、又は約5 から約15 の間、又は約10 から約20 の間、又は約15 から約25 の間、又は約20 から約30 の間、又は約25 から約35 の間、又は約30 から約40 の間の温度で実施されてよい

10

20

30

40

50

。

【 0 0 7 5 】

第 1 ジュースは、さらなる処理まで保存タンク、例えば、冷却された保存タンクに注入されてよい。一部の実施形態では、冷却保存タンクは、室温より低い温度（例えば、12）で維持されてよい。低温での第 1 ジュースの保存は、タンパク質分解活性を低減でき、それによりタンパク質回収効率を改善できる。一部の実施形態では、冷却保存タンクは、約 30 未満、又は約 20 未満、又は約 15 未満、又は約 10 未満、又は約 5 未満、又は約 2 未満、又は約 1 未満、又は約 0 未満の温度で維持されていてよい。一部の実施形態により、冷却保存タンクは、約 5、約 6、約 7、約 8、約 9、約 10、約 11、約 12、約 13、約 14、又は約 15 の温度に維持されていてよい。一部の実施形態では、第 1 ジュースは、保存タンクで保存されることなくさらなる処理に直接供給されてよい。

10

【 0 0 7 6 】

ある手順において生成された任意の 1 つ又は複数の液相（例えば、ジュース画分、第 1 ジュース、第 2 ジュース、第 3 ジュース）又は固相（例えば、固形画分、第 1 ケーキ、第 2 ケーキ）は、1 つ又は複数の下流手順又は器具に供給される前に保存タンクに保存されてよい。一部の実施形態では、均一な液相又は固相は、下流手順（単数若しくは複数）又は器具（単数若しくは複数）のために生成されてよい。これは、1 つ又は複数の下流手順（単数若しくは複数）及び / 又は器具（単数若しくは複数）への例えば、連続様式、バッチ様式又は複数供給流を含むさまざまな操作スケジュール又は様式に適合できる。液相又は固相は、さらなる処理まで分解を低減し、高品質を維持するために望ましい温度（例えば、室温より低い温度、12 など）で保存タンク中で維持されてよい。

20

【 0 0 7 7 】

第 1 ケーキ及び / 又は第 2 ジュースの分離

一部の実施形態では、第 1 ケーキ（例えば、第 1 ポーション、第 2 ポーション）及び第 2 ジュース（例えば、第 1 ポーション、第 2 ポーション）のさらなる処理は実施されてよい。そのような追加的処理は、産生物収量及び / 又は品質を増大させ得る。一部の実施形態では、第 1 ケーキ及び第 2 ジュースは、混ぜ合わされてよく、第 3 ジュース及び第 2 ケーキを形成するためにさらに分離されてよい。一部の実施形態により、第 1 ケーキ及び第 2 ジュースは、さらなる分離に別々に供されてよい。

30

【 0 0 7 8 】

第 1 ケーキ、第 2 ジュース、又はその任意の組合せを分離することは、振動分離、遠心分離、濾過、加圧濾過、又はその任意の組合せを含んでよい。いくつかの異なる互換的ユニット操作は、例えば、高速ディスクスタック遠心分離機、環状振動分離機、直鎖状 / 傾斜運動振とう機、デカンター遠心分離機、フィルタープレス、加圧濾過装置、精密濾過、真空濾過、又はその任意の組合せを含んで分離するために使用されてよい。

【 0 0 7 9 】

一部の実施形態では、濾過（例えば、振動分離機）は、第 3 ジュース及び第 2 ケーキを形成するように第 1 ケーキ、第 2 ジュース、又はその任意の組合せを分離するために使用されてよい。一部の実施形態では、好適なフィルターサイズは、約 800 μm 、又は約 600 μm 、又は約 500 μm 、又は約 400 μm 、又は約 300 μm 、又は約 200 μm 、又は約 180 μm 、又は約 150 μm 、又は約 120 μm 、又は約 100 μm 、又は約 90 μm 、又は約 80 μm 、又は約 70 μm 、又は約 60 μm 、又は約 50 μm 、又は約 40 μm 、又は約 30 μm 、又は 25 μm 、又は約 20 μm 、又は約 15 μm 、又は約 10 μm 、又は約 5 μm 、又は約 1 μm を含んでよい。一部の実施形態では、フィルターは、約 800 μm 以下のフィルターサイズを有してよい。フィルターのポアサイズは、所望により大きく又はより小さく選択されてよい。例えば、大きなポアサイズは、混入材料の除去が目的である場合に望ましい場合がある。小さなポアサイズは、工程のサイクル数を限定すること及び / 又はタンパク質収量が目的である場合に望ましい場合がある。一部の実施形態では、フィルターのポアサイズ

40

50

は、溶解条件、例えば、溶解バイオマスの平均粒子サイズに基づいて選択されてよい。フィルターのポアサイズは、一部の実施形態により、マイクロクロップの1つ又は複数の特徴（例えば、細胞壁組成、タンパク質組成）に基づいて選択されてよい。

【0080】

一部の実施形態では、精密濾過は、第3ジュース及び第2ケーキを形成するように第1ケーキ、第2ジュース、又はその任意の組合せを分離するために使用されてよい。一部の実施形態では、好適なフィルターサイズは、約10 μm 、又は約5 μm 、又は約3 μm 、又は約2 μm 、又は約1 μm 、又は約0.5 μm 、又は約0.4 μm 、又は約0.3 μm 、又は約0.2 μm 、又は約0.1 μm を含んでよい。一部の実施形態では、マイクロフィルターは、約0.1 μm 以上のフィルターサイズを有してよい。

10

【0081】

一部の実施形態では、真空は、分離工程の少なくとも一部の際に実施されてよい。

【0082】

一部の実施形態により、分離は、例えば、タンパク質分解活性を減少させるために、室温より低い温度で実施されてよい。一部の実施形態では、分離は、40 未満、又は約30 未満、又は約20 未満、又は約15 未満、又は約10 未満、又は約5 未満、又は約2 未満、又は約1 未満、又は約0 未満の温度で実施されてよい。一部の実施形態では、分離は、約0 から約10 の間、又は約5 から約15 の間、又は約10 から約20 の間、又は約15 から約25 の間、又は約20 から約30 の間、又は約25 から約35 の間、又は約30 から約40 の間の温度で実施されてよい。

20

【0083】

一部の実施形態により、マイクロクロップ（例えば、水生植物種、アオウキクサ、藻類種）を増殖させる、収集する又は分離するための工程は、単一サイクルを含んでよい。一部の実施形態では、単一サイクル工程において、第1ケーキ（例えば、図3、342）及び第2ケーキ（例えば、図3、347）の少なくとも1つは、固形混合物を形成するために第1固形物を混ぜ合わされてよく、固形混合物はさらに処理されてよい（例えば、図2A、図2B、図3A、図3B）。単一工程の一部の実施形態では、第3ジュースは、さらなる処理に先立って第1ジュースと混ぜ合わされてよい。

【0084】

30

一部の実施形態では、マイクロクロップ（例えば、水生植物種、アオウキクサ、藻類種）を増殖させる、収集する又は分離するための工程は、複数サイクル（例えば、連続工程）を含んでよい。一部の実施形態により、複数サイクル又は連続工程において、前のサイクルで集められる第1ケーキ（例えば、図4、442）及び第2ケーキ（例えば、図4、447）の1つ又は複数は、続くサイクルからの固形画分と、固形画分の分離（例えば、図4、430）に先立って混ぜ合わされてよい。複数サイクル又は連続工程の一部の実施形態では、前のサイクルで集められた第3ジュースは、続くサイクルからのジュース画分と、さらなる処理に先立って混ぜ合わされてよい。

【0085】

第1ジュース、第3ジュース、又はその任意の組合せのろ過

40

第1ジュース（例えば、第1ポーション、第2ポーション）、第3ジュース（例えば、第1ポーション、第2ポーション）、又はその任意の組合せは、可溶性タンパク質産生物（例えば可溶性タンパク質（例えば、図2、251）、第1可溶性タンパク質（例えば、図3、351）、第2可溶性タンパク質（例えば、図3、356））を生成するために1回又は複数回ろ過されてよい。濾過は、精密濾過、限外濾過、ナノ濾過又は逆浸透濾過を個々に又は組合せで含んでよい。

【0086】

一部の実施形態により、精密濾過は、第1ジュース、第3ジュース、又はその任意の組合せ中の懸濁固形（例えば、脂肪、繊維）、微生物混入（例えば、大腸菌）及び/又は真菌混入物（例えば、酵母）の濃度を低減できる。一部の実施形態では、精密濾過のために

50

好適なフィルターサイズは、約 $10\ \mu\text{m}$ 、又は 約 $5\ \mu\text{m}$ 、又は 約 $3\ \mu\text{m}$ 、又は 約 $2\ \mu\text{m}$ 、又は 約 $1\ \mu\text{m}$ 、又は 約 $0.5\ \mu\text{m}$ 、又は 約 $0.4\ \mu\text{m}$ 、又は 約 $0.3\ \mu\text{m}$ 、又は 約 $0.2\ \mu\text{m}$ 、又は 約 $0.1\ \mu\text{m}$ を含んでよい。一部の実施形態では、第1 ジュース、第3 ジュース、又はその任意の組合せは、通過物中に可溶性タンパク質を生成するように精密濾過を使用してろ過されてよい。

【0087】

限外濾過は、圧力、濃度グラジエント又はこれらの組合せを使用する膜濾過を含んでよい。一部の実施形態では、限外濾過のために好適な名目分子量カットオフ (NMWCO) は、最大で約 $100\ \text{kDa}$ 、又は最大で約 $90\ \text{kDa}$ 、又は最大で約 $80\ \text{kDa}$ 、又は最大で約 $70\ \text{kDa}$ 、又は最大で約 $60\ \text{kDa}$ 、又は最大で約 $55\ \text{kDa}$ 、又は最大で約 $50\ \text{kDa}$ 、又は最大で約 $45\ \text{kDa}$ 、又は最大で約 $40\ \text{kDa}$ 、又は最大で約 $30\ \text{kDa}$ 、又は最大で約 $20\ \text{kDa}$ 、又は最大で約 $15\ \text{kDa}$ 、又は最大で約 $14\ \text{kDa}$ 、又は最大で約 $13\ \text{kDa}$ 、又は最大で約 $12\ \text{kDa}$ 、又は最大で約 $11\ \text{kDa}$ 、又は最大で約 $10\ \text{kDa}$ 、又は最大で約 $9\ \text{kDa}$ 、又は最大で約 $8\ \text{kDa}$ 、又は最大で約 $7\ \text{kDa}$ 、又は最大で約 $6\ \text{kDa}$ 、又は最大で約 $5\ \text{kDa}$ 、又は最大で約 $4\ \text{kDa}$ 、又は最大で約 $3\ \text{kDa}$ 、又は最大で約 $2\ \text{kDa}$ 、又は最大で約 $1\ \text{kDa}$ であってよい。一部の実施形態では、限外濾過のために好適な NMWCO カットオフは、最大で約 $1\ \text{kDa}$ から最大で約 $10\ \text{kDa}$ 、最大で約 $2\ \text{kDa}$ から最大で約 $10\ \text{kDa}$ 、最大で約 $3\ \text{kDa}$ から最大で約 $10\ \text{kDa}$ 、最大で約 $3\ \text{kDa}$ から最大で約 $15\ \text{kDa}$ 、又は最大で約 $3\ \text{kDa}$ から最大で約 $20\ \text{kDa}$ 、又は最大で約 $3\ \text{kDa}$ から最大で約 $60\ \text{kDa}$ 、又は最大で約 $3\ \text{kDa}$ から最大で約 $55\ \text{kDa}$ 、又は最大で約 $10\ \text{kDa}$ から最大で約 $55\ \text{kDa}$ の範囲内であってよい。一部の実施形態では、限外濾過のための NMWCO は、少なくとも $1\ \text{kDa}$ 、又は少なくとも $3\ \text{kDa}$ 、又は少なくとも $5\ \text{kDa}$ 、又は少なくとも $10\ \text{kDa}$ 、又は少なくとも $15\ \text{kDa}$ 、又は少なくとも $20\ \text{kDa}$ 、又は少なくとも $25\ \text{kDa}$ 、又は少なくとも $30\ \text{kDa}$ 、又は少なくとも $35\ \text{kDa}$ 、又は少なくとも $40\ \text{kDa}$ 、又は少なくとも $45\ \text{kDa}$ 、又は少なくとも $50\ \text{kDa}$ 、又は少なくとも $55\ \text{kDa}$ であってよい。限外濾過のために好適な NMWCO は、限外濾過膜の製造仕様書に応じて変動する場合がある。一部の実施形態では、限外濾過のために好適な NMWCO は、加水分解速度に応じて変動する場合がある。

【0088】

一部の実施形態では、ナノ濾過のために好適なフィルターサイズは、約 $0.01\ \mu\text{m}$ 、又は 約 $0.009\ \mu\text{m}$ 、又は 約 $0.008\ \mu\text{m}$ 、又は 約 $0.007\ \mu\text{m}$ 、又は 約 $0.006\ \mu\text{m}$ 、又は 約 $0.005\ \mu\text{m}$ 、又は 約 $0.004\ \mu\text{m}$ 、又は 約 $0.003\ \mu\text{m}$ 、又は 約 $0.002\ \mu\text{m}$ 、又は 約 $0.001\ \mu\text{m}$ を含んでよい。一部の実施形態では、ナノ濾過フィルターは、約 $0.01\ \mu\text{m}$ 以下のフィルターサイズを有してよい。

【0089】

一部の実施形態により、逆浸透濾過のために好適なフィルターサイズは、約 $0.001\ \mu\text{m}$ 、約 $0.0009\ \mu\text{m}$ 、約 $0.0008\ \mu\text{m}$ 、約 $0.0007\ \mu\text{m}$ 、約 $0.0006\ \mu\text{m}$ 、約 $0.0005\ \mu\text{m}$ 、約 $0.0004\ \mu\text{m}$ 、約 $0.0003\ \mu\text{m}$ 、約 $0.0002\ \mu\text{m}$ 、又は 約 $0.0001\ \mu\text{m}$ を含んでよい。一部の実施形態では、逆浸透フィルターは、約 $0.001\ \mu\text{m}$ 以下のフィルターサイズを有してよい。

【0090】

一部の実施形態では、緩衝液、プロテアーゼ阻害剤、抗菌剤、キレーター (例えば、EDTA)、還元剤、又はその任意の組合せは、可溶性タンパク質産生物に加えられてよい。一部の実施形態では、可溶性タンパク質産生物は、約 30 未満、又は約 25 未満、又は約 20 未満、又は約 15 未満、又は約 10 未満、又は約 5 未満、又は約 2 未満、又は約 1 未満、又は約 0 未満、又は約 - 2 未満、又は約 - 5 未満、又は約 - 10 未満の温度で冷却及び / 又は保存されてよい。低い温度に可溶性タンパク質産生物を冷却及び / 又は保存することは、分解を低減でき、及び / 又はタンパク質回収効率を改善できる。

【 0 0 9 1 】

ポリフェノールの低減

一部の実施形態では、高ポリフェノール産生物は、少なくとも1つのポリフェノール（例えば、タンニン）の濃度が低減している産生物を生成するためにポリフェノール低減工程に供されてよい。一部の実施形態により、高ポリフェノール産生物は、ジュース画分（例えば、図1、126）、可溶性タンパク質（例えば、図2A、251；図2B、251）、第1可溶性タンパク質（例えば、図3A、351；図3B、351、図4、451）、第2可溶性タンパク質（例えば、図3A、356；図3B、356；図4、456）図3B、375、図4、475）、濃縮タンパク質（例えば、図3A、361；図3B、361；図4、461）、第1ジュース（例えば、図2A、241；図2B、241；図3A、341；図3B、341、図4、441）、第2ジュース（例えば、図2A、232；図2B、232；図3A、332；図3B、332、図4、432）、第3ジュース（例えば、図2A、246；図2B、246；図3A、346；図3B、346、図4、446）、ジュース画分（例えば、図1、126；図2A、226；図2B、226；図3A、326；図3B、326、図4、426）、又はその任意の組合せを含んでよい。一部の実施形態により、ポリフェノール低減工程は、少なくとも1つのポリフェノール（例えば、少なくとも1つのタンニン）の濃度を低減するように構成されてよい。一部の実施形態では、ポリフェノール低減工程は、下流可溶性タンパク質産生物の収量又は量における低減を最少化するために構成されてよい。

10

【 0 0 9 2 】

一部の実施形態により、ポリフェノール低減工程は、高ポリフェノール産生物をイオン交換レジンに通すことを含んでよい。一部の実施形態では、ポリフェノール低減工程は、高ポリフェノール産生物を一連（例えば、少なくとも2個、少なくとも3個）のイオン交換レジンに通すことを含んでよい。一連の各イオン交換レジン、一連の他のイオン交換レジンと同じ又は異なっていてよい。一部の実施形態では、イオン交換レジン、強酸性レジン、強塩基性レジン（例えば、DIAION PA308）、弱酸性レジン（例えば、Relite JA800）、弱塩基性レジン、弱アニオン交換レジン（例えば、Relite RAM2）、強アニオン交換レジン、弱カチオン交換レジン、強カチオン交換レジン、又はその任意の組合せであってよい。一部の実施形態により、ポリフェノール低減工程は、高ポリフェノール産生物を、弱酸性レジン（例えば、Relite JA800）、アニオン交換レジン（例えば、Relite RAM2）、強塩基性レジン（例えば、DIAION PA308）、又はこれらの組合せから選択されるイオン交換カラムに通すことを含んでよい。一部の実施形態では、ポリフェノール低減工程は：第1に、高ポリフェノール産生物を弱アニオン交換及び強アニオン交換レジンから選択されるイオン交換カラムに通すこと、並びに第2に、高ポリフェノール産生物を弱アニオン交換レジン及び強アニオン交換レジンから選択されるイオン交換カラムに通すことを含んでよい。イオン交換レジン、バッチ様式で使用されてよく、又は連続工程に配置されてよく、それによりレジン、ポリフェノール抽出及び再生工程を通じて循環されてよい。一部の実施形態では、ポリフェノール低減工程は、高ポリフェノール産生物又はイオン交換カラムから得られた産生物のpHを調節することをさらに含んでよい。ポリフェノール低減工程は、単独で又は他の精製工程及び/若しくはステップとの組合せで実施されてよい。

20

30

40

【 0 0 9 3 】

一部の実施形態では、ポリフェノール低減工程は、少なくとも5%まで、又は少なくとも10%まで、又は少なくとも15%まで、又は少なくとも20%まで、又は少なくとも25%まで、又は少なくとも30%まで、又は少なくとも35%まで、又は少なくとも40%まで、又は少なくとも45%まで、又は少なくとも50%まで、又は少なくとも55%まで、又は少なくとも60%まで、又は少なくとも65%まで、又は少なくとも70%まで高ポリフェノール産生物のポリフェノール（例えば、タンニン）含有量を低減できる。一部の実施形態により、ポリフェノール低減工程は、高ポリフェノール産生物のポリフェノール含有量を約5%から約10%、約15%から約20%、約20%から約30%、

50

30%から約40%、約35%から約45%約40%から約50%、約45%から約55%、約50%から約60%、約55%から約65%、又は約60%から約70%低減できる。

【0094】

一部の実施形態では、可溶性タンパク質産生物（例えば、可溶性タンパク質、第1可溶性タンパク質、第2可溶性タンパク質）は、ポリフェノール（例えば、総ポリフェノール）を約0.05g/100g可溶性タンパク質産生物、約0.1g/100g可溶性タンパク質産生物、約0.5g/100g可溶性タンパク質産生物、約1g/100g可溶性タンパク質産生物、約5g/100g可溶性タンパク質産生物、約10g/100g可溶性タンパク質産生物及び約20g/100gタンパク質濃縮物の濃度で含んでよい。一部の実施形態により、低温殺菌産生物の分析に基づいて、最終産生物100gは、約65gのタンパク質及び約1.092gポリフェノールを含有してよい（没食子酸等量として表す）。

10

【0095】

可溶性タンパク質産生物の水分含有量の低減

一部の実施形態では、工程は、可溶性タンパク質（例えば、図2、251）、第1可溶性タンパク質（例えば、図3、351）、第2可溶性タンパク質（例えば、図3、356）、又はその任意の組合せ（集合的に「可溶性タンパク質産生物」）の水分含有量を低減するために使用されてよい。可溶性タンパク質産生物の水分含有量を低減することは、例えば、最終タンパク質産生物（例えば、濃縮可溶性タンパク質）を乾燥させるために必要なエネルギーを低減することによって資本的及び操作的支出を低減できる。

20

【0096】

一部の実施形態では、蒸発工程は、可溶性タンパク質産生物の水分含有量を低減するために使用されてよい。蒸発は、例えば：上昇フィルム蒸発器、下降フィルム蒸発器、自然循環蒸発器（垂直又は水平）、攪拌フィルム蒸発器、多重効果蒸発器、真空蒸発による、又はその任意の組合せなどの熱的（蒸発的）手段によって実施されてよい。熱は、蒸発器に直接、又は熱ジャケットを通じ間接的に供給されてよい。熱は、原料（例えば、天然ガスの燃焼、ボイラーからの蒸気）から又は廃熱流（例えば、乾燥機排気）から又は流入流を冷やすことによって移行される熱からのいずれであってもよい。

【0097】

一部の実施形態では、可溶性タンパク質産生物（例えば、可溶性タンパク質、第2可溶性タンパク質）の水分含有量は、ナノ濾過又は逆浸透濾過によって低減され得る。一部の実施形態では、ナノ濾過のために好適なフィルターサイズは、約0.01μm、又は約0.009μm、又は約0.008μm、又は約0.007μm、又は約0.006μm、又は約0.005μm、又は約0.004μm、又は約0.003μm、又は約0.002μm、又は約0.001μmを含んでよい。一部の実施形態では、可溶性タンパク質産生物（例えば、可溶性タンパク質、第2可溶性タンパク質）の水分含有量は、残余物中の可溶性タンパク質産生物（例えば、可溶性タンパク質、第2可溶性タンパク質）でナノ濾過を使用して低減され得る。一部の実施形態により、逆浸透濾過のために好適なフィルターサイズは、約0.001μm、約0.0009μm、約0.0008μm、約0.0007μm、約0.0006μm、約0.0005μm、約0.0004μm、約0.0003μm、約0.0002μm、又は約0.0001μmを含んでよい。一部の実施形態では、可溶性タンパク質産生物（例えば、可溶性タンパク質、第2可溶性タンパク質）の水分含有量は、残余物中の可溶性タンパク質産生物で逆浸透濾過を使用して低減され得る。一部の実施形態により、ナノ濾過又は逆浸透濾過の通過物は、再利用されてよい（例えば、溶解のための希釈液；洗浄溶液）。

30

40

【0098】

一部の実施形態では、抗酸化物質（例えば、ローズマリー抽出物）は、包装される場合に、産生物の保存可能期間を改善するように乾燥させる前に可溶性タンパク質産生物（例えば、可溶性タンパク質、第2可溶性タンパク質）と混合されてよい。

50

【 0 0 9 9 】

可溶性タンパク質産生物の乾燥

一部の実施形態により、可溶性タンパク質産生物（例えば、可溶性タンパク質、第1可溶性タンパク質、第2可溶性タンパク質）は、乾燥タンパク質濃縮物（例えば、第1ポーション、第2ポーション）を生成するために乾燥されてよい。一部の実施形態では、乾燥手順は、可溶性タンパク質産生物の水分含有量を望ましいレベルに低減してよい（例えば、より高い又はより低い水分含有量、望ましい水分含有量）。一部の実施形態では、乾燥タンパク質濃縮物の水分含有量は、例えば、重量で乾燥タンパク質濃縮物の90%未満、又は約80%未満、又は約70%未満、又は約60%未満、又は約50%未満、又は約40%未満、又は約30%未満、又は約20%未満、又は約10%未満、又は約5%未満、又は約1%未満であってよい。一部の実施形態により、乾燥タンパク質濃縮物のタンパク質濃度は、重量で乾燥タンパク質濃縮物の約30%から約95%、又は約40%から約90%、又は約50%から約85%、又は約60%から約80%、又は約70%から約75%であってよい。乾燥手順は、例えば、スプレー乾燥器、ダブルドラム乾燥器、フラッシュ乾燥器、蒸発器、又はその任意の組合せを含む装置を使用して実施されてよい。

10

【 0 1 0 0 】

一部の実施形態では、乾燥装置の入り口温度（乾燥機への入口での温度）は、25を超えていて、又は50を超えていて、又は75を超えていて、又は100を超えていて、又は125を超えていて、又は150を超えていて、又は175を超えていて、又は200を超えていて、又は225を超えていて、又は250を超えていて、又は275を超えていて、又は300を超えていて、又は325を超えていて、又は350を超えていて、又は375を超えていて、又は400を超えていて、又は425を超えていて、又は450を超えていて、又は475を超えていて、又は500を超えていてよい。一部の実施形態では、入り口温度は、約25から約50、又は約50から約75、又は約75から約100、又は約100から約125、又は約125から約150、又は約150から約175、又は約175から約200、又は約200から約225、又は約225から約250、又は約250から約275、又は約275から約300、又は約300から約325、又は約325から約350、又は約350から約375、又は約375から約400、又は約400から約425、又は約425から約450、又は約450から約475、又は約475から約500、又は500を超えていてよい。一部の実施形態では、入り口温度は、約50から約100、又は約100から約150、又は約150から約200、又は約200から約250、又は約250から約300、又は約300から約350、又は約350から約400、又は約400から約450、又は約450から約500、又は500を超えていてよい。一部の実施形態により、乾燥装置への入り口温度は、約225であってよい。

20

30

【 0 1 0 1 】

一部の実施形態により、乾燥装置の排出温度（乾燥機からの出口での温度）は、約300未満、又は約275未満、又は約250未満、又は約225未満、又は約200未満、又は約175未満、又は約150未満、又は約125未満、又は約100未満、又は約75未満、又は約50未満、又は約25未満であってよい。一部の実施形態では、排出温度は、約300から約275、又は約275から約250、又は約250から約225、又は約225から約200、又は約200から約175、又は約175から約150、又は約150から約125、又は約125から約100、又は約100から約75、又は約75から約50、又は約50から約25、又は約25未満であってよい。一部の実施形態では、排出温度は、約300から約250、又は約250から約200、又は約200から約150、又は約150から約100、又は約100から約50、又は約50から約25、又は約25未満であってよい。一部の実施形態により、乾燥装置からの排

40

50

出温度は、約 75 であってよい。

【0102】

一部の実施形態では、1容量の可溶性タンパク質産生物（例えば、可溶性タンパク質、第1可溶性タンパク質、第2可溶性タンパク質）は、乾燥に先立って1容量の乾燥タンパク質濃縮物と混合されてよい。戻し混合として既知のこの工程は、例えば、可溶性タンパク質の水分含有量が乾燥装置が許容できるレベルを超えている場合に用いられてよい。乾燥タンパク質濃縮物を可溶性タンパク質産生物と戻し混合することによって、総水分含有量は乾燥装置の仕様内に維持でき、それにより操作の費用（例えば、装置の損傷）を低減する。

【0103】

一部の実施形態により、抗酸化物質（例えば、ローズマリー抽出物）は、包装の前に乾燥タンパク質濃縮物と混合されてよい。

【0104】

可溶性タンパク質産生物又は乾燥タンパク質濃縮物の溶媒洗浄

一部の実施形態により、可溶性タンパク質産生物（例えば、可溶性タンパク質、第1可溶性タンパク質、第2可溶性タンパク質）及び/又は乾燥タンパク質濃縮物（例えば、第1ポーション、第2ポーション）は、洗浄タンパク質産生物を生成するために少なくとも1つの溶媒（例えば、エタノール、メタノール）で洗浄されてよい。例えば、図2A、260、図2B、260、図3A、370、図3B、370、図4、470）。

【0105】

一部の実施形態では、洗浄タンパク質産生物は、未洗浄対応物と比較して脂肪含有量が低減してよい（例えば、重量で乾燥タンパク質濃縮物約2%以下）及び/又はクロロフィル含有量が低減してよい（例えば、視覚的に知覚可能な緑色着色の低減）。一部の実施形態では、洗浄タンパク質産生物は、無色、白色、実質的に白色に見える、又は緑色着色が低減してよい。一部の実施形態では、洗浄タンパク質産生物は、食味、色、保存可能期間（例えば、脂肪の酸化の低減）、タンパク質密度、マレアビリティ及びその組合せの改善を示し得る。一部の実施形態では、洗浄タンパク質産生物は、質感を整えたタンパク質産生物を形成するために成形されてよい。

【0106】

一部の実施形態により、溶媒は、メタノール、エタノール、アセトン、ヘキサン、ジクロロメタン、酢酸エチル、プロパノール、イソプロパノール、グリセロール又はその組合せを含んでよい。

【0107】

一部の実施形態では、洗浄タンパク質産生物は、重量で洗浄タンパク質産生物の約50%未満、又は約40%未満、又は約30%未満、又は約25%未満、又は約20%未満、又は約15%未満、又は約10%未満、又は約5%未満、又は約4%未満、又は約3%未満、又は約2%未満、又は約1%未満を含む脂肪含有量を有してよい。一部の実施形態により、洗浄タンパク質産生物は、一部の実施形態では、重量でタンパク質濃縮物の約1%から約10%、又は約10%から約20%、又は約20%から約30%、又は約30%から約40%、又は約40%から約50%を含む脂肪含有量を有してよい。

【0108】

一部の実施形態では、洗浄タンパク質産生物は、重量で乾燥タンパク質濃縮物の約15%以下、重量で乾燥タンパク質濃縮物の約10%以下、重量で乾燥タンパク質濃縮物の約8%以下、重量で乾燥タンパク質濃縮物の約6%以下、重量で乾燥タンパク質濃縮物の約4%以下、重量で乾燥タンパク質濃縮物の約2%以下、重量で乾燥タンパク質濃縮物の約1%以下、重量で乾燥タンパク質濃縮物の約0.5%以下、重量で乾燥タンパク質濃縮物の約0.2%以下又は重量で乾燥タンパク質濃縮物の約0.1%以下を含む脂肪含有量を有してよい。一部の実施形態では、洗浄タンパク質産生物は、重量で乾燥タンパク質濃縮物の約0.1から約0.2%を含む脂肪含有量を有してよい。

【0109】

タンパク質濃縮物

一部の実施形態は、収集されたマイクロクロップ（例えば、水生植物種、アオウキクサ、藻類種）のバイオマスからの可溶性タンパク質産生物（例えば、可溶性タンパク質、第1可溶性タンパク質、第2可溶性タンパク質）及び/又は乾燥タンパク質濃縮物（集合的に「タンパク質濃縮物」）の産生のための工程に関する。工程は、任意の望ましいタンパク質収量（例えば、最大収量、選択された収量）を達成するために構成又は実施されてよい。一部の実施形態では、タンパク質濃縮物のタンパク質濃度は、重量でタンパク質濃縮物の約30%より高い、又は約40%より高い、又は約50%より高い、又は55%より高い、又は約60%より高い、又は65%より高い、又は約70%より高い、又は約75%より高い、又は約80%より高い。タンパク質濃縮物の残部は、炭水化物、繊維、脂肪、ミネラル、又はその任意の組合せを含んでよい。タンパク質濃縮物は、動物飼料及び/又はヒト消費のために好適である。例えば、タンパク質濃縮物は、個々に又は原料及び添加物のいずれかとして多数のヒト食品において現在使用されているタンパク質単離物（例えば、ダイズ、エンドウマメ、乳清）のための有効な代替物として役立つ可能性がある。一部の実施形態により、タンパク質濃縮物のタンパク質組成は、天然の又は天然に近い形態であってよい。例えば、タンパク質濃縮物のタンパク質組成物は、<2%変性タンパク質、又は<4%変性タンパク質、<6%変性タンパク質、又は<8%変性タンパク質、又は<10%変性タンパク質、又は<12%変性タンパク質、又は<14%変性タンパク質、又は<16%変性タンパク質、又は<18%変性タンパク質、又は<20%変性タンパク質、又は<22%変性タンパク質、又は<24%変性タンパク質、又は<26%変性タンパク質、又は<28%変性タンパク質又は<30%変性タンパク質を含んでよい。

10

20

【0110】

一部の実施形態では、タンパク質濃縮物は、1つ又は複数の必須アミノ酸を含んでよい。例えば、タンパク質濃縮物は、ロイシン、イソロイシン、リシン、メチオニン、フェニルアラニン、スレオニン、トリプトファン、バリン、ヒスチジン、アルギニン、アスパラギン酸、セリン、グルタミン酸、プロリン、グリシン、アラニン、チロシン及びシステインから選択される1つ又は複数のアミノ酸を含んでよい。一部の実施形態では、必須アミノ酸の濃度は、少なくとも約1g/100gタンパク質濃縮物、又は少なくとも約1.5g/100gタンパク質濃縮物、又は少なくとも約2g/100gタンパク質濃縮物、又は少なくとも約2.5g/100gタンパク質濃縮物、又は少なくとも約3g/100gタンパク質濃縮物、又は少なくとも約4g/100g乾燥物少なくとも約2.5g/100gタンパク質濃縮物、又は少なくとも約3g/100gタンパク質濃縮物、又は少なくとも約4g/100gタンパク質濃縮物、又は少なくとも約5g/100gタンパク質濃縮物、又は少なくとも約6g/100gタンパク質濃縮物、又は少なくとも約7g/100gタンパク質濃縮物、又は少なくとも約8g/100gタンパク質濃縮物、又は少なくとも約9g/100gタンパク質濃縮物、又は少なくとも約10g/100gタンパク質濃縮物であってよい。

30

【0111】

一部の実施形態では、アミノ酸（例えば、必須アミノ酸）の濃度は、タンパク質濃縮物から回収されたタンパク質の重量分率として表されてよく、少なくとも約1g/100gタンパク質、又は少なくとも約1.5g/100gタンパク質、又は少なくとも約2g/100gタンパク質、又は少なくとも約2.5g/100gタンパク質、又は少なくとも約3g/100gタンパク質、又は少なくとも約4g/100gタンパク質、又は少なくとも約5g/100gタンパク質、又は少なくとも約6g/100gタンパク質、又は少なくとも約7g/100gタンパク質、又は少なくとも約8g/100gタンパク質、又は少なくとも約9g/100gタンパク質、又は少なくとも約10g/100gタンパク質である。

40

【0112】

一部の実施形態では、タンパク質濃縮物は、1つ又は複数の分岐鎖アミノ酸（BCAA）を含んでよい。例えば、タンパク質濃縮物は、ロイシン、イソロイシン、バリン及びそ

50

の組合せから選択される１つ又は複数のアミノ酸を含んでよい。一部の実施形態では、BCAAの濃度は、少なくとも約１g／１００gタンパク質濃縮物、又は少なくとも約１．５g／１００gタンパク質濃縮物、又は少なくとも約２g／１００gタンパク質濃縮物、又は少なくとも約２．５g／１００gタンパク質濃縮物、又は少なくとも約３g／１００gタンパク質濃縮物、又は少なくとも約４g／１００g乾燥物少なくとも約２．５g／１００gタンパク質濃縮物、又は少なくとも約３g／１００gタンパク質濃縮物、又は少なくとも約４g／１００gタンパク質濃縮物、又は少なくとも約５g／１００gタンパク質濃縮物、又は少なくとも約６g／１００gタンパク質濃縮物、又は少なくとも約７g／１００gタンパク質濃縮物、又は少なくとも約８g／１００gタンパク質濃縮物、又は少なくとも約９g／１００gタンパク質濃縮物、少なくとも約１０g／１００gタンパク質濃縮物、少なくとも約１１g／１００gタンパク質濃縮物、少なくとも約１２g／１００gタンパク質濃縮物、少なくとも約１３g／１００gタンパク質濃縮物、少なくとも約１４g／１００gタンパク質濃縮物、又は少なくとも約１５g／１００gタンパク質濃縮物であってよい。一部の実施形態ではタンパク質濃縮物のBCAAタンパク質含有量は、タンパク質濃縮物の総アミノ酸の約１０％より高い、又は約１１％より高い、又は約１２％より高い、又は約１３％より高い、又は約１４％より高い、又は約１５％より高い、又は約２０％より高い、又は約２５％より高い、又は約３０％より高い、又は３５％より高い、又は約４０％より高い、又は４５％より高い、又は約５０％より高い、又は約５５％より高い、又は約６０％より高い。一部の実施形態では、対象の高タンパク質産生物の典型的BCAA含有量が総アミノ酸の２０～２１％であり、約１８～１９％を含有するエンドウマメ及びダイズマメ由来の代替タンパク質産生物のBCAA含有量よりも約１１％高い（例えば、１８％から２０％への増加は１１％増加である）ことが見出された。検査方法は、AOAC Official Method 994.12に基づくアミノ酸プロファイルのイオン交換クロマトグラフィーである。

10

20

【０１１３】

一部の実施形態では、タンパク質濃縮物は、重量でタンパク質濃縮物の約５０％未満、又は約４０％未満、又は約３０％未満、又は約２５％未満、又は約２０％未満、又は約１５％未満、又は約１０％未満、又は約５％未満、又は約４％未満、又は約３％未満、又は約２％未満、又は約１％の脂肪含有量を有してよい。一部の実施形態では、タンパク質濃縮物は、重量でタンパク質濃縮物の約１％から約１０％、又は約１０％から約２０％、又は約２０％から約３０％、又は約３０％から約４０％、又は約４０％から約５０％の脂肪含有量を有してよい。一部の実施形態では、タンパク質濃縮物は、重量でタンパク質濃縮物の約１％から約５０％、又は約２％から約４０％、又は約５％から約３０％、又は約８％から約２０％、又は約１０％から約１５％の脂肪含有量を有してよい。タンパク質濃縮物は、望ましい脂肪含有量（例えば、より高い又はより低い濃度、望ましい脂肪組成）に合致させるためにさらに処理されてよい。

30

【０１１４】

一部の実施形態により、タンパク質濃縮物は、無機鉱物要素を含有する残渣からなる灰分を含んでよい。一部の実施形態では、灰分は、有機物質を除去するためにタンパク質濃縮物を高温（例えば、５００）で燃焼させることによって決定され得る。一部の実施形態では、タンパク質濃縮物は、重量でタンパク質濃縮物の約５０％未満、又は約４０％未満、又は約３０％未満、又は約２５％未満、又は約２０％未満、又は約１５％未満、又は約１０％未満、又は約５％未満、又は約４％未満、又は約３％未満、又は約２％未満、又は約１％未満の灰分を有してよい。一部の実施形態では、タンパク質濃縮物は、重量でタンパク質濃縮物の約１％から約５０％、又は約２％から約４０％、又は約３％から約３０％、又は約３％から約２０％、又は約３％から約１５％、又は約３％から約１０％、又は約５％から約１０％、又は約５％から約１５％の灰分を有してよい。タンパク質濃縮物は、望ましい灰分（例えば、より高い

40

50

又はより低い濃度、望ましい灰組成)に合致させるためにさらに処理されてよい。

【0115】

一部の実施形態により、タンパク質濃縮物は、重量でタンパク質濃縮物の約50%未満、又は約40%未満、又は約30%未満、又は約25%未満、又は約20%未満、又は約15%未満、又は約10%未満、又は約5%未満、又は約4%未満、又は約3%未満、又は約2%未満、又は約1%未満の炭水化物含有量を有してよい。一部の実施形態では、タンパク質濃縮物は、重量でタンパク質濃縮物の約1%から約10%、又は約10%から約20%、又は約20%から約30%、又は約30%から約40%、又は約40%から約50%の炭水化物含有量を有してよい。一部の実施形態では、タンパク質濃縮物は、重量でタンパク質濃縮物の約1%から約50%、又は約2%から約40%、又は約5%から約30%、又は約8%から約20%、又は約10%から約15%の炭水化物含有量を有してよい。タンパク質濃縮物は、望ましい炭水化物含有量(例えば、より高い又はより低い濃度、所望の炭水化物組成物)に合致するようにさらに処理されてよい。

10

【0116】

一部の実施形態では、タンパク質濃縮物は、重量でタンパク質濃縮物の約20%未満、又は約15%未満、又は約10%未満、又は約8%未満、又は約5%未満、又は約4%未満、又は約3%未満、又は約2%未満、又は約1%未満の繊維含有量を有してよい。タンパク質濃縮物は、望ましい繊維含有量(例えば、より高い又はより低い濃度、望ましい繊維組成)に合致するようにさらに処理されてよい。

20

【0117】

例えば、本明細書に記載の工程によって産生された乾燥タンパク質濃縮物は、表2に要約した内容物を含んでよい。

【表2】

表2:乾燥タンパク質濃縮産生物の内容物例			
Wt. パーセント	産生物1	産生物2	産生物3
固形物	≥約90	≥約88～約90	≥約95
水分	≤約10	≤約12～約10	≤約5
タンパク質	≥約50	約60から約80	≥約65～約75
脂肪	≤約20	約5から約20	≤約5～約15
灰	≤約15	約1から約10	≤約2～約10
炭水化物	≤約20	約5から約20	≤約10～約15
繊維	≤約10	≤約5	≤約5
その他	約10	約5～約20	約10～約15

30

【0118】

一部の実施形態では、産生物及び/又は工程は、タンパク質濃縮物の他の特徴(例えば、粒子サイズ、細菌仕様)が所望の判定基準に合致するように構成若しくは実施されてよく、及び/又は意図する目的のために好適であってよい。

40

【0119】

一部の実施形態により、タンパク質濃縮物は、約30µm、又は約40µm、又は約50µm、又は約60µm、又は約70µm、又は約80µm、又は約90µm、又は約100µm、又は約110µm、又は約120µm、又は約130µm、又は約140µm、又は約150µm、又は約160µm、又は約170µm、又は約180µm、又は約190µm、又は約200µm、又は約225µm、又は約250µm、又は約275µm、又は約300µm、又は約325µm、又は約350µm、又は約375µm、又は約400µm、又は約425µm、又は約450µm、又は約475µm、又は約500µmのメッシュサイズ(例えば、タンパク質濃縮物全体の大部分又はすべての粒子が平均

50

ポアサイズを有するメッシュを通る)を有してよい。一部の実施形態では、タンパク質濃縮物は、約30 μmから約500 μm、又は約30 μmから約300 μm、又は約50 μmから約300 μm、又は約70 μmから約300 μm、又は約100 μmから約300 μm、又は約30 μmから約200 μm、又は約50 μmから約200 μm、又は約70 μmから約200 μm、又は約100 μmから約200 μm、又は約30 μmから約190 μm、又は約50 μmから約190 μm、又は約70 μm又は約190 μm、又は約100 μmから約190 μm、又は約30 μmから約180 μm、又は約50 μmから約180 μm、又は約70 μmから約180 μm、又は約100 μmから約180 μm、又は約30 μmから約170 μm、又は約50 μmから約170 μm、又は約70 μmから約170 μm、又は約100 μmから約170 μmの範囲のメッシュサイズを有してよい。

10

【0120】

一部の実施形態により、タンパク質濃縮物は、約400 kg/m³、又は約405 kg/m³、又は約410 kg/m³、又は約415 kg/m³、又は約420 kg/m³、又は約425 kg/m³、又は約430 kg/m³、又は約435 kg/m³、又は約440 kg/m³、又は約445 kg/m³、又は約450 kg/m³の密度を有してよい。

【0121】

一部の実施形態では、タンパク質濃縮物は、少なくとも35%、又は少なくとも40%、又は少なくとも45%、又は少なくとも50%、又は少なくとも55%、又は少なくとも60%、又は少なくとも65%、又は少なくとも70%、又は少なくとも75%の溶解度値(%水溶性窒素)を有してよい。溶解度値は、F. Vojdani、タンパク質機能の検査方法(Methods of Testing Protein Functionality) 11~60 (G. M. Hall, ed., 1996)に記載の窒素溶解指数(NSI)法を使用して決定され得る。

20

【0122】

一部の実施形態により、タンパク質濃縮物は、少なくとも35%、又は少なくとも40%、又は少なくとも45%、又は少なくとも50%、又は少なくとも55%、又は少なくとも60%、又は少なくとも65%、又は少なくとも70%、又は少なくとも75%の分散性値(%水分散性タンパク質/%総タンパク質)を有してよい。分散性値は、F. Vojdani、タンパク質機能の検査方法(Methods of Testing Protein Functionality) 11~60 (G. M. Hall, ed., 1996)に記載のタンパク質分散指数(PDI)を使用して決定され得る。

30

【0123】

一部の実施形態では、細菌の標準平板菌数は、約100,000 cfu/g未満、又は約80,000 cfu/g未満、又は約60,000 cfu/g未満、又は約50,000 cfu/g未満、又は約40,000 cfu/g未満、又は約30,000 cfu/g未満、又は約25,000 cfu/g未満、又は約20,000 cfu/g未満、又は約15,000 cfu/g未満、又は約10,000 cfu/g未満、又は約5,000 cfu/g未満、又は約1000 cfu/g未満、又は約500 cfu/g未満であってよい。タンパク質濃縮物がいくらかの大腸菌を含む場合、細菌は検出不能及び/又は非感染性であるような低いレベルで存在する可能性がある。タンパク質濃縮物がいくらかのサルモネラ種(Salmonella spp.)を含む場合、細菌は検出不能及び/又は非感染性であるような低いレベルで存在する可能性がある。タンパク質濃縮物がいくらかの酵母/カビを含む場合、微生物数は約500/g未満、又は約400/g未満、又は約300/g未満、又は約250/g未満、又は約200/g未満、又は約150/g未満、又は約100/g未満、又は約50/g未満である可能性がある。

40

【0124】

一部の実施形態では、タンパク質濃縮物は、さまざまな大きさの業界標準の袋又はドラム缶のいずれかに包装及び/又は密封されてよい。業界標準規格の密封方法は、適切な保存可能期間及び発送条件を確実にするために使用されてよい。袋又はドラム缶は、例えば

50

、その使用意図、保存可能期間、推奨保存条件、発送条件、組成など、又はこれらの組合せに関する印刷された説明書又は仕様書を含んでよい。一部の実施形態により、抗酸化物質（例えば、ローズマリー抽出物）は、包装の前にタンパク質濃縮物と混合されてよい。

【 0 1 2 5 】

第 1 固形物及び / 又は固形混合物の処理

第 1 固形物（例えば、第 1 ポーション、第 2 ポーション）及び / 又は固形混合物（例えば、第 1 ポーション、第 2 ポーション）は、1 つ又は複数の高炭水化物産生物を生成するために処理されてよい。既に記載のとおり、固形混合物は、1 つ又は複数の分離工程（例えば、図 2、2 3 0 / 2 4 0 / 2 4 5）後に残る第 1 固形物（例えば、図 2、2 3 1）、第 1 ケーキ（例えば、2 4 2）、第 2 ケーキ（例えば、図 2、2 4 7）、又はその任意の組合せの 1 つ若しくは複数を含む場合がある。高炭水化物産生物は、燃料供給原料として好適な乾燥バイオクルード産生物又はヒト若しくは動物飼料補充物（例えば、アオウキクサミール）として好適な高炭水化物ミールを含み得る。

10

【 0 1 2 6 】

一部の実施形態では、第 1 固形物及び / 又は固形混合物は、乾燥バイオクルード及び高炭水化物ミールの少なくとも 1 つを生成するために処理（例えば、乾燥、ペレット化）されてよい。一部の実施形態により、第 1 固形物及び / 又は固形混合物を処理することは、乾燥及び / 又はペレット化を含む。

【 0 1 2 7 】

高炭水化物産生物（例えば、乾燥バイオクルード及び / 又は高炭水化物）ミールを生成するための工程は、例えば、水分含有量、粒子サイズ、タンパク質含有量、脂肪含有量、繊維含有量、灰分、保存可能期間、ペレットサイズ、質感、又はその任意の組合せを含む、所望の具体的な特徴に基づいて変更され得る。

20

【 0 1 2 8 】

一部の実施形態では、第 1 固形物及び / 又は固形混合物は、得られる高炭水化物産生物（例えば、乾燥バイオクルード及び / 又は高炭水化物ミール）の水分含有量を低減するために乾燥されてよい。一部の実施形態では、乾燥手順は、最終産生物が水分含有量が低減している高炭水化物産生物であるように、第 1 固形物及び / 又は固形混合物の他の処理と同時に（例えば、先立って、続いて）実施されてよい。一部の実施形態では、乾燥手順は、例えば、スプレー乾燥機、ダブルドラム乾燥機、フラッシュ乾燥機、蒸発器、又はその任意の組合せを含む乾燥装置を使用して実施されてよい。

30

【 0 1 2 9 】

一部の実施形態では、乾燥装置への入り口温度（例えば、乾燥機への入口の温度）は、2 5 を超えていて、又は 5 0 を超えていて、又は 7 5 を超えていて、又は 1 0 0 を超えていて、又は 1 2 5 を超えていて、又は 1 5 0 を超えていて、又は 1 7 5 を超えていて、又は 2 0 0 を超えていて、又は 2 2 5 を超えていて、又は 2 5 0 を超えていて、又は 2 7 5 を超えていて、又は 3 0 0 を超えていて、又は 3 2 5 を超えていて、又は 3 5 0 を超えていて、又は 3 7 5 を超えていて、又は 4 0 0 を超えていて、又は 4 2 5 を超えていて、又は 4 5 0 を超えていて、又は 4 7 5 を超えていて、又は 5 0 0 を超えていてよい。一部の実施形態では、入り口温度は、約 2 5 から約 5 0、又は約 5 0 から約 7 5、又は約 7 5 から約 1 0 0、又は約 1 0 0 から約 1 2 5、又は約 1 2 5 から約 1 5 0、又は約 1 5 0 から約 1 7 5、又は約 1 7 5 から約 2 0 0、又は約 2 0 0 から約 2 2 5、又は約 2 2 5 から約 2 5 0、又は約 2 5 0 から約 2 7 5、又は約 2 7 5 から約 3 0 0、又は約 3 0 0 から約 3 2 5、又は約 3 2 5 から約 3 5 0、又は約 3 5 0 から約 3 7 5、又は約 3 7 5 から約 4 0 0、又は約 4 0 0 から約 4 2 5、又は約 4 2 5 から約 4 5 0、又は約 4 5 0 から約 4 7 5、又は約 4 7 5 から約 5 0 0、又は 5 0 0 を超えていてよい。一部の実施形態により、入り口温度は、約 5 0 から約 1 0 0、又は約 1 0 0 から約 1 5 0、又は約 1 5 0 から約 2 0 0、又は約 2 0 0 から約 2 5 0、又は 2 5 0 から約 3 0 0、又は約 3 0 0 から約 3 5 0、又は約 3 5 0 から

40

50

約 400、又は約 400 から約 450、又は約 450 から約 500、又は 500 を超えていてよい。

【0130】

一部の実施形態により、乾燥装置の排出温度（例えば、乾燥器からの出口での温度）は、約 300 未満、又は約 275 未満、又は約 250 未満、又は約 225 未満、又は約 200 未満、又は約 175 未満、又は約 150 未満、又は約 125 未満、又は約 100 未満、又は約 75 未満、又は約 50 未満、又は約 25 未満であってよい。一部の実施形態では、排出温度は、約 300 から約 275、又は約 275 から約 250、又は約 250 から約 225、又は約 225 から約 200、又は約 200 から約 175、又は約 175 から約 150、又は約 150 から約 125、又は約 125 から約 100、又は約 100 から約 75、又は約 75 から約 50、又は約 50 から約 25、又は約 25 未満であってよい。一部の実施形態では、排出温度は、約 300 から約 250、又は約 250 から約 200、又は約 200 から約 150、又は約 150 から約 100、約 100 から約 50、又は約 50 から約 25、又は約 25 未満であってよい。

10

【0131】

一部の実施形態では、第 1 固形物及び／又は固形混合物の 1 容量は、高炭水化物産生物（例えば、乾燥バイオクルード及び／又は高炭水化物ミール）の 1 容量と、乾燥に先立って混合されてよい。戻し混合として既知のこの工程は、例えば、第 1 固形物及び／又は固形混合物の水分含有量が乾燥装置が許容できるレベルを超えている場合に用いられてよい。高炭水化物産生物を第 1 固形物及び／又は固形混合物と戻し混合することによって、総水分含有量は乾燥装置の仕様内に維持でき、それにより操作の費用（例えば、装置の損傷）を低減する。

20

【0132】

一部の実施形態では、高炭水化物産生物（例えば、乾燥バイオクルード及び／又は高炭水化物ミール）の水分含有量は、重量で産生物の約 90% 未満、又は約 80% 未満、又は約 70% 未満、又は約 60% 未満、又は約 50% 未満、又は約 40% 未満、又は約 30% 未満、又は約 20% 未満、又は約 10% 未満、又は約 5% 未満、又は約 1% 未満であってよい。

【0133】

30

一部の実施形態により、第 1 固形物及び／又は固形混合物は、ペレット化（例えば、蒸気ペレット化）されてよい。一部の実施形態では、ペレット化は、乾燥手順の前又は後に実施されてよい。

【0134】

高ルテイン産生物

一部の実施形態により、本開示は、開示の具体的な実施形態例により収集されたマイクロクロップ（例えば、光合成水生種、水生植物種、アオウキクサ（*Lemma*）、藻類種）からの高ルテイン産生物の産生のための工程に関する。高ルテイン産生物は、乾燥バイオクルード産生物（例えば、燃料供給原料として好適）、又は可溶性タンパク質濃縮物（例えば、ヒト若しくは動物飼料補充物として好適）、又は乾燥タンパク質濃縮物（例えば、ヒト若しくは動物飼料補充物として好適）を含み得る。乾燥バイオクルードは、燃焼のための燃料供給原料（例えば、発電所、製油所、コークス器）、他の炭化水素に基づく燃料（例えば、石炭）との共燃焼、及びバイオ燃料転換及び／又は発酵のための供給原料として使用され得る。可溶性タンパク質産生物、乾燥タンパク質濃縮物、又はその任意の組合せは好適である場合がある一方で、動物（例えば、魚、ブタ、ウシ）又はヒト消費のための飼料又は飼料補充物として使用され得る。高ルテイン産生物は、動物の寝わら及び／又は敷きわらの材料としても使用され得る。

40

【0135】

一部の実施形態では、本開示は、高ルテイン産生物、可溶性タンパク質又は乾燥タンパク質濃縮物の産生のための工程、方法及び系に関する。

50

【 0 1 3 6 】

一部の実施形態により、可溶性タンパク質産生物又は乾燥タンパク質濃縮物は、少なくとも 100 mg/kg 又は少なくとも 150 mg/kg 、又は少なくとも 200 mg/kg 、又は少なくとも 250 mg/kg 、又は少なくとも 300 mg/kg 、又は少なくとも 350 mg/kg 、又は少なくとも 400 mg/kg 、又は少なくとも 450 mg/kg 、又は少なくとも 500 mg/kg 、又は少なくとも 550 mg/kg 、又は少なくとも 600 mg/kg 、又は少なくとも 650 mg/kg 、又は少なくとも 700 mg/kg 、又は少なくとも 750 mg/kg のルテイン濃度を含んでよい。一部の実施形態では、可溶性タンパク質産生物又は乾燥タンパク質濃縮物は、少なくとも約 500 mg/kg 、又は少なくとも約 550 mg/kg 、又は少なくとも約 560 mg/kg 、又は少なくとも約 570 mg/kg 、又は少なくとも約 580 mg/kg 、少なくとも約 585 mg/kg 、少なくとも約 590 mg/kg 、少なくとも約 595 mg/kg 、少なくとも約 600 mg/kg 、少なくとも約 605 mg/kg 、少なくとも約 610 mg/kg 、少なくとも約 615 mg/kg 、少なくとも約 620 mg/kg 、少なくとも約 625 mg/kg 及び少なくとも約 630 mg/kg 、又は少なくとも約 640 mg/kg 、又は少なくとも約 650 mg/kg 、又は少なくとも約 660 mg/kg 、又は少なくとも約 670 mg/kg 、又は少なくとも約 680 mg/kg 、又は少なくとも約 690 mg/kg 、又は少なくとも約 700 mg/kg のルテイン濃度を含んでよい。

10

【 0 1 3 7 】

高炭水化物産生物

20

一部の実施形態では、本開示は、開示の具体的な実施形態例により収集されたマイクロクロップ（例えば、水生植物種、アオウキクサ、藻類種）からの高炭水化物産生物（例えば、乾燥バイオクルード、高炭水化物ミール）の産生のための工程に関する。高炭水化物産生物は、燃料供給原料として好適な乾燥バイオクルード産生物又は動物飼料補充物として好適な高炭水化物ミールを含み得る。乾燥バイオクルードは：燃焼のための燃料供給原料（例えば、発電所、製油所、コークス器）；他の炭化水素に基づく燃料（例えば、石炭）との共燃焼；及びバイオ燃料転換及び／又は発酵のための供給原料を含む多数の使用可能性を有する。炭水化物ミール（例えば、アオウキクサミール）は、動物（例えば、魚、ブタ、ウシ）又はヒト消費のための飼料又は飼料補充物として使用され得る。

【 0 1 3 8 】

30

高炭水化物産生物（例えば、乾燥バイオクルード及び／又は高炭水化物ミール）は、重量で産生物の約 50 wt. \% 未満、又は約 40 wt. \% 未満、又は約 30 wt. \% 未満、又は約 25 wt. \% 未満、又は約 20 wt. \% 未満、又は約 15 wt. \% 未満、又は約 14 wt. \% 未満、又は約 13 wt. \% 未満、又は約 12 wt. \% 未満、又は約 11 wt. \% 、又は約 10 wt. \% 未満、又は約 5 wt. \% 未満のタンパク質含有量を有してよい。一部の実施形態では、高炭水化物産生物（例えば、乾燥バイオクルード及び／又は高炭水化物ミール）は、重量で産生物の約 1 wt. \% から約 10 wt. \% 、又は約 10 wt. \% から約 20 wt. \% 、又は約 20 wt. \% から約 30 wt. \% 、又は約 30 wt. \% から約 40 wt. \% 、又は約 40 wt. \% から約 50 wt. \% のタンパク質含有量を有してよい。一部の実施形態では、高炭水化物産生物（例えば、乾燥バイオクルード及び／又は高炭水化物ミール）は、重量で産生物の約 1 wt. \% から約 50 wt. \% 、又は約 5 wt. \% から約 40 wt. \% 、又は約 5 wt. \% から約 30 wt. \% 、又は約 5 wt. \% から約 20 wt. \% 、又は約 5 wt. \% から約 15 wt. \% 、又は約 5 wt. \% から約 10 wt. \% 、又は約 10 wt. \% から約 50 wt. \% 、又は約 10 wt. \% から約 40 wt. \% 、又は約 10 wt. \% から約 30 wt. \% 、又は約 10 wt. \% から約 20 wt. \% 、又は約 10 wt. \% から約 15 wt. \% のタンパク質含有量を有してよい。高炭水化物産生物は、望ましいタンパク質含有量（例えば、より高い又はより低い濃度、望ましいアミノ酸組成）に合致するようにさらに処理されてよい。

40

【 0 1 3 9 】

一部の実施形態では、高炭水化物産生物（例えば、乾燥バイオクルード及び／又は高炭

50

水化物ミール)は、重量で産生物の約70%未満、又は約60%未満、又は約50wt.%未満、又は約40wt.%未満、又は約30wt.%未満、又は約20wt.%未満、又は約15wt.%未満、又は約10wt.%未満の繊維含有量を有してよい。一部の実施形態では、高炭水化物産生物は、重量で産生物の約1wt.%から約10wt.%、又は約10wt.%から約20wt.%、又は約15wt.%から約25wt.%、又は約20wt.%から約30wt.%、又は約25wt.%から約35wt.%、又は約30wt.%から約40wt.%、又は約35wt.%から約45wt.%、又は約40wt.%から約50wt.%、又は約45wt.%から約55wt.%、又は約50wt.%から約60wt.%、又は約55wt.%から約65wt.%の繊維含有量を有してよい。一部の実施形態により、高炭水化物産生物(例えば、乾燥バイオクルード及び/又は高炭水化物ミール)は、重量で産生物の約5wt.%から約65wt.%、又は約5wt.%から約60wt.%、又は約5wt.%から約55wt.%、又は約5wt.%から約50wt.%、又は約5wt.%から約40wt.%、又は約10wt.%から約65wt.%、又は約10wt.%から約55wt.%、又は約10wt.%から約50wt.%、又は約10wt.%から約45wt.%、又は約10wt.%から約40wt.%、又は約20wt.%から約65wt.%、又は約20wt.%から約60wt.%、又は約20wt.%から約55wt.%、又は約20wt.%から約50wt.%、又は約20wt.%から約45wt.%、又は約20wt.%から約40wt.%、又は約30wt.%から約65wt.%、又は約30wt.%から約60wt.%、又は約30wt.%から約55wt.%、又は約30wt.%から約50wt.%、又は約30wt.%から約45wt.%、又は約30wt.%から約40wt.%、又は約40wt.%から約65wt.%、又は約40wt.%から約60wt.%、又は約40wt.%から約55wt.%、又は約40wt.%から約50wt.%、又は約40wt.%から約45wt.%の繊維含有量を有してよい。一部の実施形態により、高炭水化物産生物は、望ましい繊維含有量(例えば、より高い又はより低い濃度、望ましい繊維組成)に合致するようにさらに処理されてよい。

【0140】

一部の実施形態では、高炭水化物産生物(例えば、乾燥バイオクルード及び/又は高炭水化物ミール)は、重量で産生物の50wt.%未満、又は約40wt.%未満、又は約30wt.%未満、又は約25wt.%未満、又は約20wt.%未満、又は約15wt.%未満、又は約10wt.%未満、又は約5wt.%未満の灰分を有してよい。一部の実施形態では、高炭水化物産生物(例えば、乾燥バイオクルード及び/又は高炭水化物ミール)は、重量で産生物の約1wt.%から約10wt.%、又は約10wt.%から約20wt.%、又は約20wt.%から約30wt.%、又は約30wt.%から約40wt.%、又は約40wt.%から約50wt.%の灰分を有してよい。一部の実施形態により、高炭水化物産生物(例えば、乾燥バイオクルード及び/又は高炭水化物ミール)は、重量で産生物の約1wt.%から約50wt.%、又は約2wt.%から約40wt.%、又は約3wt.%から約30wt.%、又は約3wt.%から約20wt.%、又は約3wt.%から約15wt.%、又は約3wt.%から約10wt.%、又は約5wt.%から約10wt.%、又は約5wt.%から約15wt.%、又は約5wt.%から約20wt.%の灰分を有してよい。高炭水化物産生物は、望ましい灰分(例えば、より高い又はより低い濃度、望ましい灰組成)に合致するようにさらに処理されてよい。

【0141】

一部の実施形態では、高炭水化物産生物(例えば、乾燥バイオクルード及び/又は高炭水化物ミール)は、重量で産生物の約50wt.%未満、又は約40wt.%未満、又は約30wt.%未満、又は約25wt.%未満、又は約20wt.%未満、又は約15wt.%未満、又は約10wt.%未満、又は約5wt.%未満の脂肪含有量を有してよい。高炭水化物産生物(例えば、乾燥バイオクルード及び/又は高炭水化物ミール)は、重量で産生物の約1wt.%から約10wt.%、又は約5wt.%から約10wt.%、又は約10wt.%から約20wt.%、又は約20wt.%から約30wt.%、又は

10

20

30

40

50

約 30 wt. % から約 40 wt. %、又は約 40 wt. % から約 50 wt. % の脂肪含有量を有してよい。一部の実施形態により、高炭水化物産生物（例えば、乾燥バイオクルード及び／又は高炭水化物ミール）は、重量で産生物の約 1 wt. % から約 50 wt. %、又は約 1 wt. % から約 40 wt. %、又は約 1 wt. % から約 30 wt. %、又は約 1 wt. % から約 20 wt. %、又は約 1 wt. % から約 15 wt. %、又は約 1 wt. % から約 10 wt. %、又は約 1 wt. % から約 5 wt. %、又は約 2 wt. % から約 40 wt. %、又は約 2 wt. % から約 30 wt. %、又は約 2 wt. % から約 20 wt. %、又は約 2 wt. % から約 15 wt. %、又は約 2 wt. % から約 10 wt. %、又は約 2 wt. % から約 5 wt. %、又は約 3 wt. % から約 30 wt. %、又は約 3 wt. % から約 20 wt. %、又は約 3 wt. % から約 15 wt. %、又は約 3 wt. % から約 10 wt. %、又は約 3 wt. % から約 5 wt. %、又は約 5 wt. % から約 10 wt. %、又は約 5 wt. % から約 15 wt. %、又は約 5 wt. % から約 20 wt. % の脂肪含有量を有してよい。高炭水化物産生物は、望ましい脂肪含有量（例えば、より高い又はより低い濃度、望ましい脂肪組成）に合致するようにさらに処理されてよい。

【0142】

一部の実施形態により、高炭水化物産生物（例えば、乾燥バイオクルード及び／又は高炭水化物ミール）は、重量で乾燥バイオクルードの約 30 wt. % より高い、又は約 40 wt. % より高い、又は約 50 wt. % より高い、又は約 60 wt. % より高い、又は約 65 wt. % より高い、又は約 70 wt. % より高い、又は約 75 wt. % より高い、又は約 80 wt. % より高い、又は約 85 wt. % より高い炭水化物含有量を有してよい。一部の実施形態では、高炭水化物産生物（例えば、乾燥バイオクルード及び／又は高炭水化物ミール）は、重量で産生物の約 30 wt. % から約 90 wt. %、又は約 40 wt. % から約 90 wt. %、又は約 50 wt. % から約 90 wt. %、又は約 60 wt. % から約 90 wt. %、又は約 70 wt. % から約 90 wt. %、又は約 80 wt. % から約 90 wt. %、又は約 30 wt. % から約 85 wt. %、又は約 40 wt. % から約 85 wt. %、又は約 50 wt. % から約 85 wt. %、又は約 60 wt. % から約 85 wt. %、又は約 70 wt. % から約 85 wt. %、又は約 30 wt. % から約 80 wt. %、又は約 40 wt. % から約 80 wt. %、又は約 50 wt. % から約 80 wt. %、又は約 60 wt. % から約 80 wt. %、又は約 70 wt. % から約 80 wt. % の炭水化物含有量を有してよい。高炭水化物産生物は、望ましい炭水化物含有量（例えば、より高い又はより低い濃度、望ましい炭水化物組成）に合致するようにさらに処理されてよい。

【0143】

一部の実施形態により、高炭水化物産生物（例えば、乾燥バイオクルード及び／又は高炭水化物ミール）は、ごく少量の揮発性物質を有してよい。一部の実施形態では、高炭水化物産生物は、重量で産生物の約 1 wt. % 未満、又は約 2 wt. % 未満、又は約 5 wt. % 未満、又は約 10 wt. % 未満、又は約 15 wt. % 未満、又は約 20 wt. % の揮発性物質含有量を有してよい。一部の実施形態では、高炭水化物産生物は、重量で産生物の約 1 wt. % から約 5 wt. %、又は約 1 wt. % から約 10 wt. %、又は約 1 wt. % から約 15 wt. %、又は約 1 wt. % から約 20 wt. %、約 2 wt. % から約 10 wt. %、又は約 2 wt. % から約 15 wt. %、又は約 2 wt. % から約 20 wt. %、約 5 wt. % から約 10 wt. %、又は約 5 wt. % から約 15 wt. %、又は約 5 wt. % から約 20 wt. % の揮発性物質含有量を有してよい。

【0144】

一部の実施形態では、高炭水化物産生物（例えば、乾燥バイオクルード及び／又は高炭水化物ミール）は、約 3 MJ / kg より高い、又は約 5 MJ / kg より高い、又は約 8 MJ / kg より高い、又は約 10 MJ / kg より高い、又は約 12 MJ / kg より高い、又は約 15 MJ / kg より高い、又は約 50 MJ / kg より高い、又は約 20 MJ / kg より高いエネルギー含有量を有してよい。乾燥バイオクルードは、望ましいエネルギー含有量（例えば、より高い又はより低いエネルギー含有量、望ましいエネルギー含有量）に合致するようにさらに処理されてよい。

【 0 1 4 5 】

例えば、本明細書に記載の工程によって產生される高炭水化物産生物（例えば、乾燥バイオクルード及び／又は高炭水化物ミール）は、表 3 に要約する内容物を含んでよい。

【表 3】

表3:乾燥バイオクルード及び／又は高炭水化物ミールの内容物例			
	産生物A	産生物B	産生物C
Wt. %固形物	≧約90	≧約88から約92	≧約90
%水分	≦約10	≦約8～約12	≦約10
%タンパク質	≦約20	約10から約20	≦約14
%脂肪	約5から約10	約5から約20	≦約5
%灰分	≦約15	約1から約20	≦約12
%炭水化物	≧約50	約60から約90	≧約65から約70
%繊維	≧約50	≧約40	≧約40から約60
エネルギー(MJ/kg)	≧約10	≧約10	≧約10

10

【 0 1 4 6 】

構成成分比

一部の実施形態により、本開示は、可溶性マイクロクロップタンパク質を含む組成物に関する。例えば、可溶性マイクロクロップタンパク質を含む組成物は、次の構成成分の 2 つ以上を含んでよい：タンパク質、ルテイン、脂肪、炭水化物、ポリフェノール及び繊維、ここで各構成成分はその例が表 4 及び表 5 に提供されている本明細書に開示の濃度で存在してよい。例えば、可溶性マイクロクロップタンパク質組成物は、2 つ以上のそのような構成成分を互いに望ましい比で含んでよい。望ましい比は、開示の任意の濃度から選択されてよい。例示のために表 4 を使用して、タンパク質対脂肪の比は、約 3 0 : 0 . 2 又は約 3 0 : 2 又は約 3 0 : 2 0、約 6 0 : 0 . 2 又は約 6 0 : 2 又は約 6 0 : 2 0、又は約 9 0 : 0 . 2 又は約 9 0 : 2 又は約 9 0 : 2 0 であってよい。任意の他の構成成分対タンパク質の比は、同じ様式で表 4 から導かれ得る。例示のために表 5 を使用して、炭水化物対脂肪の比は、約 1 : 0 . 2、又は約 1 : 2、又は約 1 : 2 0、約 1 0 : 0 . 2、又は約 1 0 : 2、又は約 1 0 : 2 0、約 5 0 : 0 . 2、又は約 5 0 : 2、又は約 5 0 : 2 0 であってよい。任意の他の構成成分対タンパク質の比は、同じ様式で表 5 から導かれ得る。

20

30

【 0 1 4 7 】

一部の実施形態により、可溶性マイクロクロップタンパク質を含む組成物では、そのようなタンパク質対そのようなポリフェノールの比は、そのような可溶性マイクロクロップタンパク質が由来する、生きている、未処置マイクロクロップ（例えば、アオウキクサ）でのそのようなタンパク質対そのようポリフェノールの比より大きくてよい。例えば、タンパク質対ポリフェノールの比は、約 5 0 : 1、約 2 5 : 1、約 1 0 : 1、約 5 : 1、約 4 : 1、約 3 : 1、約 2 : 1 及び約 1 . 5 : 1 であってよい。

【表 4】

表4:濃度の例		
タンパク質	0.2, 2, 20	脂肪
30, 60, 90	<u>0.01, 0.05, 0.1</u>	ルテイン
	<u>1, 10, 50</u>	炭水化物
	1, 20, 70	繊維
	0.05, 0.5, 2	ポリフェノール

40

50

【表 5】

表5:濃度の例		
炭水化物	0.2, 2, 20	脂肪
<u>1, 10, 50</u>	<u>0.01, 0.05,</u> <u>0.1</u>	ルテイン
	<u>30, 60, 90</u>	タンパク質
	1, 20, 70	繊維
	0.05, 0.5, 2	ポリフェノール

10

【 0 1 4 8 】

熱交換

一部の実施形態により、熱エネルギー交換装置（例えば、熱交換器）は、マイクロクロップ（例えば、アオウキクサ）からの濃縮タンパク質及び／又は高炭水化物産生物の産生のために必要なエネルギー流入全体を減少させ得る。一部の実施形態では、冷却流（例えば、レシピエント流）は、ドナー流熱エネルギーの少なくとも一部を冷却流が吸収できるように、熱エネルギーを有するドナー流に近接して流れるように方向付けられてよい。一部の実施形態により、レシピエント流は、ドナー流熱エネルギーの少なくとも一部をレシピエント流が吸収するように、熱エネルギーを有するドナー流に近接して流れるように方向付けられてよい。

20

【 0 1 4 9 】

一部の実施形態では、レシピエント流は、溶解バイオマス（例えば、第1ポーション、第2ポーション）、ジュース画分（例えば、第1ポーション、第2ポーション）、第1ジュース（例えば、第1ポーション、第2ポーション）、第1可溶性タンパク質画分（例えば、第1ポーション、第2ポーション）、第1リジェクト流、第2可溶性タンパク質画分（例えば、第1ポーション、第2ポーション）、第2リジェクト流、及び通過物の少なくとも1つであってよい。一部の実施形態では、レシピエント流は冷却流であってよい。一部の実施形態により、溶解バイオマス（例えば、第1ポーション、第2ポーション）、ジュース画分（例えば、第1ポーション、第2ポーション）、第1ジュース（例えば、第1ポーション、第2ポーション）、第1可溶性タンパク質画分（例えば、第1ポーション、第2ポーション）、第1リジェクト流、第2可溶性タンパク質画分（例えば、第1ポーション、第2ポーション）、第2リジェクト流、及び通過物の少なくとも1つは、冷却流を形成するように冷却されてよい。レシピエント流（例えば、冷却流）は、使用時に室温より低い温度（例えば、約12℃）を有してよい。一部の実施形態では、レシピエント流（例えば、冷却流）は、使用時に約30℃未満、又は約20℃未満、又は約15℃未満、又は約10℃未満、又は約5℃未満、又は約2℃未満、又は約1℃未満、又は約0℃未満の温度を有してよい。一部の実施形態では、レシピエント流（例えば、冷却流）は、使用時に約0℃から約10℃の間、又は約5℃から約15℃の間、又は約10℃から約20℃、又は15℃から約25℃の間、又は約20℃から約30℃の間の温度を有してよい。一部の実施形態では、レシピエント流（例えば、冷却流）は、約12℃の温度を有してよい。一部の実施形態により、レシピエント流（例えば、冷却流）は、ドナー流より低い温度を有してよい。

30

40

【 0 1 5 0 】

一部の実施形態では、ドナー流は、溶解バイオマス（例えば、第1ポーション、第2ポーション）、ジュース画分（例えば、第1ポーション、第2ポーション）又は第1ジュース（例えば、第1ポーション、第2ポーション）の少なくとも1つを含んでよい。一部の実施形態により、ドナー流は、レシピエント流より高い温度を有してよい。一部の実施形態では、ドナー流は、室温を超える温度（例えば、約50℃）を有してよい。一部の実施形態では、ドナー流は、使用時に約20℃を超える、又は約25℃を超える、又は約30℃を超える、又は約35℃を超える、又は約40℃を超える、又は約45℃を超える、又

50

は約 50 を超える、又は約 55 を超える、又は約 60 を超える、又は約 65 を超える、又は約 70 を超える、又は約 75 を超える、又は約 80 を超える、又は約 85 を超える、又は約 90 を超える、又は約 95 を超える、又は約 100 を超える温度を有してよい。一部の実施形態では、ドナー流は、使用時に約 40 から約 50 の間、又は約 45 から約 55 の間、又は約 50 から約 60 の間の温度を有してよい。一部の実施形態により、ドナー流は、約 75 から約 80 の間、又は約 80 から約 85 の間、又は約 85 から約 90 の間、又は約 90 から約 95 の間、又は約 95 から約 100 の間の温度を有してよい。一部の実施形態では、ドナー流は、約 50 から約 80 の間、又は約 55 から約 85 の間、又は約 60 から約 90 の間、又は約 65 から約 95 の間、又は約 70 から約 100 の間の温度を有してよい。

10

【0151】

一部の実施形態では、熱エネルギーは、マイクロクロップ（例えば、アオウキクサ）からの濃縮タンパク質及び／又は高炭水化物産生物の産生の際に 1 つ又は複数の工程によって生成されてよい。例えば、熱エネルギーは、（1）濃縮タンパク質の乾燥、（2）高炭水化物産生物（例えば、乾燥バイオクルード及び／又は高炭水化物ミール）の乾燥並びに／又は（3）冷却流を生成するための、溶解バイオマス（例えば、第 1 ポーション、第 2 ポーション）、ジュース画分（例えば、第 1 ポーション、第 2 ポーション）、第 1 ジュース（例えば、第 1 ポーション、第 2 ポーション）、第 1 可溶性タンパク質画分（例えば、第 1 ポーション、第 2 ポーション）、第 1 リジェクト流、第 2 可溶性タンパク質画分（例えば、第 1 ポーション、第 2 ポーション）、第 2 リジェクト流、及び通過物の少なくとも 1 つの冷却、によって生成されてよい。一部の実施形態により、熱エネルギーは、熱交換器との熱伝達において生成されてよい。例えば、ジュース画分（例えば、第 1 ポーション、第 2 ポーション）、第 1 ジュース（例えば、第 1 ポーション、第 2 ポーション）、第 1 可溶性タンパク質画分（例えば、第 1 ポーション、第 2 ポーション）、第 2 可溶性タンパク質画分（例えば、第 1 ポーション、第 2 ポーション）の少なくとも 1 つの冷却は、熱交換器との熱伝達において実施されてよい。一部の実施形態では、洗浄溶液、第 1 リジェクト流、第 2 リジェクト流、及び通過物の少なくとも 1 つの加熱は、熱交換器との熱伝達において実施されてよい。一部の実施形態では、濃縮タンパク質の乾燥及び／又は高炭水化物産生物の乾燥は、熱交換器との熱伝達において実施されてよい。

20

【0152】

30

図 1

図 1 は、本開示の具体的な実施形態例によるタンパク質濃縮物及び／又は高炭水化物産生物の産生のために、マイクロクロップ（例えば、水生植物種、アオウキクサ、藻類種）を増殖、収集及び分離するための工程 100 を例示する模式図である。マイクロクロップ（例えば、アオウキクサ）は、ジュース画分 126 及び固形画分 127 を形成するようにバイオリアクター系 105 で培養され、収集され（110）、分離されて（125）よい。一部の実施形態では、ジュース画分は、1 つ又は複数のタンパク質濃縮産生物を産生するために処理されてよく、及び／又は固形画分は 1 つ又は複数の高炭水化物産生物を産生するために処理されてよい。タンパク質濃縮産生物は、動物飼料及び／又はヒト消費のために好適な産生物を含んでよい。高炭水化物産生物は、燃料供給原料として好適な乾燥バイオクルード、又は動物及び／若しくはヒト消費のための飼料又は補充物として好適な高炭水化物ミールを含んでよい。工程 100 は、例えば、場所（単数又は複数）の具体的な環境の特徴に基づいて、屋内、屋外、及びその任意の組合せにおいて実施されてよい。

40

【0153】

図 1 に示されるとおり、マイクロクロップは、バイオリアクター系 105（例えば、開放型バイオリアクター、閉鎖型バイオリアクター）において培養されてよい。バイオリアクター系は、増殖培地（例えば、水、栄養組成物）を含有してよい。一部の実施形態では、バイオリアクター系は、一部の実施形態では、雨水を集めるように及び／或いは再利用若しくは地表の水の源から（例えば、ストームウォーター、再利用水）又は任意の他の好適な源から水を取り込むように構成されてよい。一部の実施形態では、バイオリアクター

50

系は、追加的栄養素（例えば、窒素、リン、カリウム）又は気体（例えば、酸素；二酸化炭素）を所望の時間指標で又はセンサー読み値への応答で挿入するように構成されてよい。一部の実施形態では、バイオリアクター系は、モニタリング系を含んでよい。一部の実施形態では、バイオリアクター系は、マイクロクロップマットの厚さ及び分布をモニターでき、調節できる。例えば、マイクロクロップが望ましい濃さ又は分布に達した場合、バイオリアクター系は収集手順を開始できる。

【 0 1 5 4 】

図 1 に示されるとおり、特定の時期（例えば、環境条件に基づく）又はマイクロクロップが所望の特徴を示した後（例えば、マット厚、マット分布、成熟化）に、マイクロクロップはバイオリアクター系から収集されて（ 1 1 0 ）（例えば、手作業、自動化）よく、バイオマス 1 1 1 を形成する。一部の実施形態では、自動化スキマー系は、バイオリアクター系からマイクロクロップを集めることができ、収集されたマイクロクロップを（例えば、ポンプ系を介して）増殖培地及びデブリからバイオマスを分離するための傾斜震動スクリーンに移行できる。一部の実施形態では、マイクロクロップは、固定スクリーンフィルターを通じてバイオリアクター系からマイクロクロップを真空ですくい取ることによって収集され得る。一部の実施形態により、マイクロクロップは手作業で収集されてよい。収集されたマイクロクロップ（例えば、アオウキクサ）及び増殖培地（例えば、水）を含むバイオマススラリーは、バイオマス（例えば、マイクロクロップ）が増殖培地から分離され得る傾斜スクリーン（任意選択で振動してよい）に運ばれてよい。

【 0 1 5 5 】

一部の実施形態により、収集 1 1 0 の際に分離された増殖培地は、バイオリアクター系に又は追加的保存容器（例えば、容器又は池）に戻して再利用され（ 1 1 2 ）得る。一部の実施形態では、バイオマスから分離された増殖培地（例えば、水）の少なくとも約 4 0 %（ v/v ）、又は少なくとも約 5 0 %（ v/v ）、又は少なくとも約 6 0 %（ v/v ）、又は少なくとも約 7 0 %（ v/v ）、又は少なくとも約 8 0 %（ v/v ）、又は少なくとも約 9 0 %（ v/v ）、又は少なくとも約 9 5 %（ v/v ）は、将来の使用のために再利用され得る。

【 0 1 5 6 】

図 1 に示されるとおり、バイオマス 1 1 1 は、デブリ、混入物、微生物及び／又は毒素を除去するために洗浄手順 1 1 5（例えば、スラリーを浸す、スプレーする）を経てよい。一部の実施形態では、洗浄手順は、バイオマスの少なくとも約 1 つの表面について洗浄溶液（例えば、水、増殖培地、抗菌性溶液）に曝露する（例えば、浸す、スプレーする）ことによって実施されてよい。一部の実施形態では、洗浄溶液（例えば、水、オゾン処理水）は、スラリーを形成するようにバイオマスと混ぜ合わされてよい。一部の実施形態により、洗浄溶液は、工程 1 0 0 の別の段階（例えば、再利用洗浄溶液 1 1 6、濾過段階からのリジェクト流（図 2 A、2 5 2））からの再利用を容量で少なくとも約 1 0 %、少なくとも約 2 0 %、少なくとも約 3 0 %、少なくとも約 4 0 %、少なくとも約 5 0 %、少なくとも約 6 0 %、少なくとも約 7 0 %、少なくとも約 8 0 %、又は少なくとも約 9 0 % 含んでよい。一部の実施形態では、第 2 洗浄溶液（例えば、水、オゾン処理水、再利用洗浄溶液 1 1 6）は、バイオマスに適用されてよい。一部の実施形態では、第 3 洗浄溶液（例えば、水、オゾン処理水、再利用洗浄溶液）は、バイオマスに適用されてよい。一部の実施形態では、第 1 洗浄溶液は、濾過工程（例えば、図 2 A、2 5 2）からのリジェクト流であってよく又は含んでよく、第 2 洗浄溶液は、水であってよく又は含んでよく、第 3 洗浄溶液は、オゾン処理水であってよい又は含んでよい。一部の実施形態では、洗浄溶液（例えば、第 1、第 2 及び／又は第 3 洗浄溶液）の一部又はすべては、バイオマスから分離されてよい（例えば、傾斜スクリーン又は振動スクリーンを使用）。

【 0 1 5 7 】

一部の実施形態では、洗浄溶液、第 2 洗浄溶液、及び／又は第 3 洗浄溶液の一部又はすべては、集められ、再使用／再利用されて（ 1 1 6 / 1 1 7 ）よい。一部の実施形態により、バイオマスから分離された洗浄溶液、第 2 洗浄溶液、及び／又は第 3 洗浄溶液（例え

ば、水)の、容量で少なくとも約40%、又は少なくとも約50%、又は少なくとも約60%、又は少なくとも約70%、又は少なくとも約80%、又は少なくとも約90%、又は少なくとも約95%は、将来の使用のために再利用されてよい(例えば、再利用洗浄溶液116、バイオリアクター系117において増殖培地として使用される)。

【0158】

図1に示されるとおり、洗浄又は未洗浄のいずれかのバイオマスは、溶解(例えば、圧力をかける、引き裂く、超音波処置)されて(120)よい。溶解工程は、例えば、せん断ミル、ボールミル、コロイドミル、ナイフミル、ハンマーミル、グラインディングミル、ピューレマシ、フィルタープレス、又はその任意の組合せを使用して達成され得る。

【0159】

溶解バイオマス121は、図1に示されるとおり、ジュース画分126及び固形画分127を形成するために分離されて(125)よい。溶解バイオマス121又はバイオマスを分離すること(125)は、圧力をかけること(例えば、ベルトプレス)、遠心分離(例えば、デカンター遠心分離)、濾過、加圧濾過、又はその任意の組合せを含んでよい。溶解バイオマス及び/又はバイオマスを分離するための互換的ユニット操作は、例えば、デカンター遠心分離、ベルトプレス、ファンプレス、ロータリープレス、スクリュープレス、フィルタープレス、フィニッシャープレス、又はその任意の組合せを含む。一部の実施形態では、ジュース画分126は少なくとも1つのポリフェノールの選択的除去のための処理ステップ(a)を受ける場合がある。

【0160】

図2A及び2B

図2A及び図2Bは、タンパク質濃縮物及び/又は高炭水化物産生物の産生のためにマイクロクロップ(例えば、アオウキクサ)を処理するための分離実施形態を例示している。一部の実施形態では、マイクロクロップは、収集されてよく(例えば、図1、110)、バイオマスを形成する(例えば、図1、111)。

【0161】

バイオマスの洗浄

一部の実施形態により、バイオマスは、処理に先立って洗浄されて(215)よい。洗浄手順は、デブリ、混入物、栄養素、微生物、及び/又は毒素を除去できる。一部の実施形態では、洗浄溶液は、スラリーを形成するようにバイオマスと混ぜ合わされてよい。一部の実施形態により、洗浄溶液(例えば、第1、第2、及び/又は第3洗浄溶液)は、室温より低い温度(例えば、約12)を有してよい。一部の実施形態では、洗浄溶液は、室温を超える温度(例えば、50)を有してよい。一部の実施形態では、洗浄溶液は、任意の望ましい割合の再利用液を含んでよい。例えば、洗浄溶液は、工程の別の段階からの再利用(例えば、再利用洗浄溶液216、濾過(例えば、図2A、252)からのリジェクト流)を少なくとも約10%(v/v)、少なくとも約20%(v/v)、少なくとも約30%(v/v)、少なくとも約40%(v/v)、少なくとも約50%(v/v)、少なくとも約60%(v/v)、少なくとも約70%(v/v)、少なくとも約80%(v/v)、又は少なくとも約90%(v/v)含んでよい。一部の実施形態では、第2洗浄溶液(例えば、水、オゾン処理水、再利用洗浄溶液図1、116)は、バイオマスに適用されてよい。一部の実施形態では、第3洗浄溶液(例えば、水、オゾン処理水、再利用洗浄溶液)は、バイオマスに適用されてよい。一部の実施形態では、第1洗浄溶液は、濾過工程(例えば、図2A、252)からのリジェクト流であってよく、第2洗浄溶液は水であってよく、第3洗浄溶液はオゾン処理水であってよい。一部の実施形態では、洗浄溶液の一部又はすべて(例えば、第1洗浄溶液、第2洗浄溶液、及び/又は第3洗浄溶液)は、バイオマス(例えば、傾斜スクリーン又は振動スクリーンを使用して)から分離されてよい。

【0162】

一部の実施形態により、洗浄溶液、第2洗浄溶液、及び/又は第3洗浄溶液の一部又はすべては、集められ及び/又は再使用されてよい。バイオマスから分離された洗浄溶液及

10

20

30

40

50

び／又は第２洗浄溶液の少なくとも約４０％、又は少なくとも約５０％、又は少なくとも約６０％、又は少なくとも約７０％、又は少なくとも約８０％、又は少なくとも約９０％、又は少なくとも約９５％は、将来の使用のために再利用されてよい。

【０１６３】

洗浄又は未洗浄バイオマスの溶解

図２Ａ及び図２Ｂに示されるとおり、洗浄バイオマスは、溶解バイオマス２２１を形成するように溶解されて（２２０）よい。一部の実施形態では、バイオマス（例えば、未洗浄）は、溶解バイオマス２２１を形成するように溶解されてよい。一部の実施形態により、溶解は、機械的（例えば、挽くこと）、化学的（例えば、ｐＨ調整）、及び／又は超音波（例えば、ソニケーション）方法の組合せを使用して達成され得る。溶解工程は、例え

10

【０１６４】

一部の実施形態では、溶解は、室温より低い温度で実施されてよい。一部の実施形態により、溶解液（例えば、水、再利用水、逆浸透水）は、溶解の前に又は溶解の際にバイオマス又はマイクロクロップに加えられてよい。例えば、溶解液の少なくとも約１０％、少なくとも約２０％、少なくとも約３０％、少なくとも約４０％、少なくとも約５０％、少なくとも約６０％、少なくとも約７０％、少なくとも約８０％、又は少なくとも約９０％は、濾過産生物の逆浸透／ナノ濾過により生成された水であってよい（例えば、図３Ａ、

20

【０１６５】

バイオマスの分離

図２Ａ及び図２Ｂに示されるとおり、溶解バイオマス２２１は、ジュース画分２２６及び固形画分２２７を生成するように分離されて（２２５）よい。一部の実施形態では、バイオマス（例えば、アオウキクサ）、洗浄バイオマス、溶解バイオマス２２１、又はその任意の組合せは、ジュース画分及び固形画分を生成するために分離されてよい。ジュース画分２２６は、高タンパク質液及び／又は少なくともいくつかの固形粒子（例えば、炭水化物、繊維）を含んでよい。

30

【０１６６】

溶解バイオマス２２１を分離する（２２５）ことは、圧力をかけること（例えば、ベルトプレス）、遠心分離、濾過、加圧濾過、又はその任意の組合せを含んでよい。バイオマス（例えば、収集されたマイクロクロップ）、洗浄バイオマス、及び／又は溶解バイオマスを分離する（２２５）ための互換的ユニット操作は、例えば、デカンター遠心分離、ベルトプレス、ファンプレス、ロータリープレス、スクリープレス、フィルタープレス、フィニッシャープレス、又はその任意の組合せを含む。

【０１６７】

分離２２５は、任意の望ましい温度で実施されてよい。分離２２５は、例えば、タンパク質分解活性を減少させるために、室温より低い温度（例えば、１２）で実施されてよい。一部の実施形態では、分離は、約４０未満、約３０未満、又は約２０未満、又は約１５未満、又は約１０未満、又は約１５未満、又は約１０未満、又は約５未満、又は約２未満、又は約１未満、又は約０未満の温度で実施されてよい。分離２２５は、例えば、約０から約１０の間、又は約５から約１５の間、又は約１０から約２０の間、又は約１５から約２５の間、又は約２０から約３０の間、又は約２５から約３５の間、又は約３０から約４０の間の温度で実施されてよい。

40

【０１６８】

固形画分の分離

図２Ａ及び図２Ｂに示されるとおり、固形画分２２７は、追加的ジュースを抽出するた

50

めにさらに分離されて(230)よく、第2ジュース232及び第1固形物231を形成する。第2ジュースは、高タンパク質液及び/又は少なくともいくつかの固形粒子(例えば、炭水化物、繊維)を含んでよい。

【0169】

第2ジュース及び第1固形物を形成するために固形画分を分離することは、圧力をかけること(例えば、ベルトプレス)、遠心分離、濾過、加圧濾過、又はその任意の組合せを含んでよい。固形画分を分離するための互換的ユニット操作は、例えば、デカンター遠心分離、ベルトプレス、ファンプレス、ロータリープレス、スクリュープレス、フィルタープレス、フィニッシャープレス、又はその任意の組合せを含む。

【0170】

一部の実施形態では、図2A及び図2Bに示されるとおり、例えば、工程の他の段階で集められる(例えば、ジュース画分の分離は第1ケーキをもたらす)他の固形ポーション(例えば、第1ケーキ242、第2ケーキ247)は、固形混合物を形成するように第1固形物と混ぜ合わされてよく、固形混合物はさらに処理されてよい。

【0171】

一部の実施形態では、固形画分及び/又は固形混合物の水分含有量は、重量で約90%未満、又は約80%未満、又は約70%未満、又は約60%未満、又は約50%未満、又は約40%未満、又は約30%未満、又は約20%未満、又は約10%未満である。

【0172】

ジュース画分の分離

図2A及び図2B示すとおり、ジュース画分226は、第1ジュース241及び第1ケーキ242を生成するために分離されて(240)よい。第1ジュースは、可溶性タンパク質を含んでよい。一部の実施形態ではジュース画分を分離する(240)ことは、遠心分離、濾過、加圧濾過、又はその任意の組合せを含んでよい。いくつかの異なる互換的ユニット操作は、例えば、高速ディスクスタック遠心分離機、環状振動分離機、直鎖状/傾斜運動振とう機、デカンター遠心分離機、フィルタープレス、加圧濾過装置、精密濾過、真空濾過、又はその任意の組合せを含んでジュース画分を分離するために使用されてよい。

【0173】

一部の実施形態により、分離240は、例えば、タンパク質分解活性を減少させるために室温より低い温度で実施されてよい。一部の実施形態では、分離は、約40 未満、又は約30 未満、又は約20 未満、又は約15 未満、又は約10 未満、又は約15 未満、又は約10 未満、又は約5 未満、又は約2 未満、又は約1 未満、又は約0 未満の温度で実施されてよい。一部の実施形態では、分離は、約0 から約10 の間、又は約5 から約15 の間、又は約10 から約20 の間、又は約15 から約25 の間、又は約20 から約30 の間、又は約25 から約35 の間、又は約30 から約40 の間の温度で実施されてよい。

【0174】

第1ケーキ及び/又は第2ジュースの分離

図2A及び図2Bに示されるとおり、第1ケーキ242及び第2ジュース232は、混ぜ合わされてよく、第3ジュース246及び第2ケーキ247を形成するためにさらに分離されてよい。一部の実施形態では、第1ケーキ及び第2ジュースは、さらなる分離に別々に供されてよい。第1ケーキ、第2ジュース、又はその任意の組合せを分離することは、遠心分離、濾過、加圧濾過、又はその任意の組合せを含んでよい。いくつかの異なる互換的ユニット操作は、例えば、高速ディスクスタック遠心分離機、環状振動分離機、直鎖状/傾斜運動振とう機、デカンター遠心分離機、フィルタープレス、加圧濾過装置、精密濾過、真空濾過、又はその任意の組合せを含んで分離するために使用されてよい。

【0175】

一部の実施形態により、分離は、例えば、タンパク質分解活性を減少させるために室温より低い温度で実施されてよい。一部の実施形態では、分離は、約40 未満、又は約3

10

20

30

40

50

0 未満、又は約 20 未満、又は約 15 未満、又は約 10 未満、又は約 15 未満、又は約 10 未満、又は約 5 未満、又は約 2 未満、又は約 1 未満、又は約 0 未満の温度で実施されてよい。一部の実施形態では、分離は、約 0 から約 10 の間、又は約 5 から約 15 の間、又は約 10 から約 20 の間、又は約 15 から約 25 の間、又は約 20 から約 30 の間、又は約 25 から約 35 の間、又は約 30 から約 40 の間の温度で実施されてよい。

【0176】

図 2 A 及び図 2 B に示されているとおり、一部の実施形態では、第 3 ジュース 246 は、さらなる処理に先立って第 1 ジュース 241 と混ぜ合わされてよい。一部の実施形態では、第 2 ケーキ 247 は、さらなる処置に先立って固形混合物を形成するために第 1 固形物 231 と混ぜ合わされてよい。

10

【0177】

第 1 ジュース、第 3 ジュース、又はその任意の組合せのろ過

図 2 A 及び図 2 B に示されるとおり、第 1 ジュース 241、第 3 ジュース 246、又はその任意の組合せは、可溶性タンパク質 251 及びリジェクト流 252 を生成するためにろ過されてよい。濾過 250 は、精密濾過、限外濾過、ナノ濾過又は逆浸透濾過を含んでよい。

【0178】

一部の実施形態では、精密濾過のために好適なフィルターサイズは、約 10 μm 、又は約 5 μm 、又は約 3 μm 、又は約 2 μm 、又は約 1 μm 、又は約 0.5 μm 、又は約 0.4 μm 、又は約 0.3 μm 、又は約 0.2 μm 、又は約 0.1 μm を含んでよい。一部の実施形態では、図 2 B に示されるとおり、第 1 ジュース、第 3 ジュース、又はその任意の組合せは、通過物中に可溶性タンパク質 251 及び残余物中にリジェクト流産生物 253 を生成するために精密濾過を使用してろ過されて (250) よい。

20

【0179】

限外濾過は、圧力、濃度グラジエント、又はこれらの組合せを使用する膜濾過を含んでよい。一部の実施形態では、限外濾過のために好適な名目分子量カットオフ (NMWCO) は、最大で一部の実施形態では、最大で約 100 kDa、又は最大で約 90 kDa、又は最大で約 80 kDa、又は最大で約 70 kDa、又は最大で約 60 kDa、又は最大で約 55 kDa、又は最大で約 50 kDa、又は最大で約 45 kDa、又は最大で約 40 kDa、又は最大で約 30 kDa、又は最大で約 20 kDa、又は最大で約 15 kDa、又は最大で約 14 kDa、又は最大で約 13 kDa、又は最大で約 12 kDa、又は最大で約 11 kDa、又は最大で約 10 kDa、又は最大で約 9 kDa、又は最大で約 8 kDa、又は最大で約 7 kDa、又は最大で約 6 kDa、又は最大で約 5 kDa、又は最大で約 4 kDa、又は最大で約 3 kDa、又は最大で約 2 kDa、又は最大で約 1 kDa であってよい。一部の実施形態では、限外濾過のために好適な NMWCO カットオフは、最大で約 1 kDa から最大で約 10 kDa、最大で約 2 kDa から最大で約 10 kDa、最大で約 3 kDa から最大で約 10 kDa、最大で約 3 kDa から最大で約 15 kDa、又は最大で約 3 kDa から最大で約 20 kDa、又は最大で約 3 kDa から最大で約 60 kDa、又は最大で約 3 kDa から最大で約 55 kDa、又は最大で約 10 kDa から最大で約 55 kDa の範囲内であってよい。一部の実施形態により、第 1 ジュース 241、第 3 ジュース 246、又はその任意の組合せは、可溶性タンパク質 251 及びリジェクト流 252 を生成するように限外濾過を使用してろ過されて (250) よい。可溶性タンパク質は、限外濾過のための分子量カットオフに応じて、図 2 A に示されるとおり残余物中に、又は図 2 B に示されるとおり通過物中にある場合がある。リジェクト流 252 が限外濾過の通過物である場合 (例えば、図 2 A)、マイクロクロップの培養のためにバイオリアクター系に再利用されてよい (例えば、図 1、105)。

30

40

【0180】

一部の実施形態では、ナノ濾過のために好適なフィルターサイズは、約 0.01 μm 、又は約 0.009 μm 、又は約 0.008 μm 、又は約 0.007 μm 、又は

50

約 0.006 μm 、又は 約 0.005 μm 、又は 約 0.004 μm 、又は 約 0.003 μm 、又は 約 0.002 μm 、又は 約 0.001 μm を含んでよい。一部の実施形態により、逆浸透濾過のために好適なフィルターサイズは、約 0.001 μm 、約 0.0009 μm 、約 0.0008 μm 、約 0.0007 μm 、約 0.0006 μm 、約 0.0005 μm 、約 0.0004 μm 、約 0.0003 μm 、約 0.0002 μm 、又は 約 0.0001 μm を含んでよい。図 2B に示されるとおり、一部の実施形態では、第 1 ジュース、第 3 ジュース、又はその任意の組合せは、ナノ濾過又は逆浸透濾過を使用して残余物中に可溶性タンパク質 251 及びナノろ過水又は逆浸透水の通過物 252 をそれぞれ生成するために、ろ過されて (250) よい。一部の実施形態では、リジェクト流 252 は、ナノ濾過又は逆浸透濾過の通過物であってよく、マイクロクロップの培養のためにバイオリクター系に再利用されてよい (例えば、図 1、105)。

10

【0181】

一部の実施形態では、緩衝液、プロテアーゼ阻害剤、抗菌剤、キレーター (例えば、EDTA)、還元剤、又はその任意の組合せは、可溶性タンパク質 251 に加えられてよい。一部の実施形態では、可溶性タンパク質は、約 30 未満、又は約 25 未満、又は約 20 未満、又は約 15 未満、又は約 10 未満、又は約 5 未満、又は約 2 未満、又は約 1 未満、又は約 0 未満、又は -2 未満、又は -5 未満、又は -10 未満の温度で冷却及び / 又は保存されてよい。低い温度に可溶性タンパク質を冷却及び / 又は保存することは、分解を低減でき、及び / 又はタンパク質回収効率を改善できる。

【0182】

可溶性タンパク質の水分含有量の低減

一部の実施形態では、工程は、可溶性タンパク質 251 の水分含有量を低減するために使用され得る。一部の実施形態では、蒸発工程は、可溶性タンパク質の水分含有量を低減するために使用され得る。一部の実施形態では、可溶性タンパク質 251 の水分含有量は、ナノ濾過又は逆浸透濾過によって低減されてよい。一部の実施形態では、可溶性タンパク質 251 の水分含有量は、残余物中の可溶性タンパク質 251 のナノ濾過を使用して低減され得る。一部の実施形態では、可溶性タンパク質 251 の水分含有量は、残余物中の可溶性タンパク質 251 の逆浸透濾過を使用して低減され得る。一部の実施形態により、ナノ濾過又は逆浸透濾過の通過物は再利用されてよい (例えば、溶解のための希釈液 ; 洗浄溶液)。

20

30

【0183】

可溶性タンパク質の乾燥

一部の実施形態により、可溶性タンパク質 251 は、乾燥タンパク質濃縮物を生成するために乾燥されて (255) よい。一部の実施形態では、乾燥手順は、可溶性タンパク質の水分含有量を望ましいレベル (例えば、より高い又はより低い水分含有量、望ましい水分含有量) に低減できる。一部の実施形態では、乾燥タンパク質濃縮物の水分含有量は、例えば、重量で乾燥タンパク質濃縮物の約 90 % 未満、又は約 80 % 未満、又は約 70 % 未満、又は約 60 % 未満、又は約 50 % 未満、又は約 40 % 未満、又は約 30 % 未満、又は約 20 % 未満、又は約 10 % 未満、又は約 5 % 未満、又は約 1 % 未満であってよい。一部の実施形態では、乾燥タンパク質濃縮物のタンパク質濃度は、重量で乾燥タンパク質濃縮物の約 30 % から約 95 %、又は約 40 % から約 90 %、又は約 50 % から約 85 %、又は約 60 % から約 80 %、又は約 70 % から約 75 % であってよい。乾燥手順は、例えば、スプレー乾燥器、ダブルドラム乾燥器、フラッシュ乾燥器、蒸発器、又はその任意の組合せを含む装置を使用して実施されてよい。

40

【0184】

第 1 固形物及び / 又は固形混合物の処理

第 1 固形物及び / 又は固形混合物は、1 つ又は複数の高炭水化物産生物を生成するためにさらに処理されてよい。既に記載のとおり、固形混合物は、1 つ又は複数の分離工程 230 / 240 / 245 後に残る第 1 固形物 231、第 1 ケーキ 242、第 2 ケーキ 247、又はその任意の組合せの 1 つ又は複数を含んでよい。高炭水化物産生物は、燃料供給原

50

料として好適な乾燥バイオクルード産生物又はヒト若しくは動物飼料補充物として好適な高炭水化物ミール（例えば、アオウキクサミール）を含んでよい。

【 0 1 8 5 】

一部の実施形態では、第 1 固形物及び／又は固形混合物は、乾燥バイオクルード及び高炭水化物ミールの少なくとも 1 つを生成するために処理（例えば、乾燥、ペレット化）されてよい。一部の実施形態により、第 1 固形物及び／又は固形混合物を処理することは、乾燥及び／又はペレット化を含む。

【 0 1 8 6 】

高炭水化物産生物（例えば、乾燥バイオクルード及び／又は高炭水化物）ミールを生成するための工程は、例えば、水分含有量、粒子サイズ、タンパク質含有量、脂肪含有量、繊維含有量、灰分、保存可能期間、ペレットサイズ、質感、又はその任意の組合せを含む、所望の特徴に応じて変更され得る。

10

【 0 1 8 7 】

一部の実施形態では、第 1 固形物及び／又は固形混合物は、得られる高炭水化物産生物（例えば、乾燥バイオクルード及び／又は高炭水化物ミール）の水分含有量を低減するために乾燥されてよい。一部の実施形態では、乾燥手順は、最終産生物が水分含有量が低減した高炭水化物産生物であるように、第 1 固形物及び／又は固形混合物の他の処理と同時に（例えば、先立って、続いて）実施されてよい。一部の実施形態では、乾燥手順は、例えば、スプレー乾燥機、ダブルドラム乾燥機、フラッシュ乾燥機、蒸発器、又はその任意の組合せを含む乾燥装置を使用して実施されてよい。

20

【 0 1 8 8 】

一部の実施形態では、高炭水化物産生物（例えば、乾燥バイオクルード及び／又は高炭水化物ミール）の水分含有量は、重量で産生物の約 9 0 % 未満、又は約 8 0 % 未満、又は約 7 0 % 未満、又は約 6 0 % 未満、又は約 5 0 % 未満、又は約 4 0 % 未満、又は約 3 0 % 未満、又は約 2 0 % 未満、又は約 1 0 % 未満、又は約 5 % 未満、又は約 1 % 未満であってよい。

【 0 1 8 9 】

ポリフェノール除去

一部の実施形態では、ジュース画分 2 2 6、第 1 ジュース 2 4 1、第 2 ジュース 2 3 2、第 3 ジュース 2 4 6、及び／又は可溶性タンパク質 2 5 1 は、少なくとも 1 つのポリフェノールの選択的除去のための処理ステップ（a）を受けてよい。

30

【 0 1 9 0 】

溶媒洗浄

一部の実施形態では、可溶性タンパク質 2 5 1 は、溶媒洗浄（b）を受けてよい。溶媒洗浄（b）は乾燥 2 5 5 に続いてよい。

【 0 1 9 1 】

図 3 A 及び 3 B

図 3 A 及び図 3 B は、タンパク質濃縮物及び／又は高炭水化物産生物の産生のためにマイクロクロップ（例えば、アオウキクサ）を処理するための実施形態を例示している。マイクロクロップは、バイオマス（例えば、図 1、1 1 1）を形成するように収集されてよい（例えば、図 1、1 1 0）。

40

【 0 1 9 2 】

バイオマスの洗浄

図 3 A 及び図 3 B に示されるとおり、一部の実施形態により、バイオマスは、処理に先立って洗浄されて（3 1 5）よい。洗浄手順は、デブリ、混入物、栄養素、微生物、及び／又は毒素を除去できる。一部の実施形態では、洗浄溶液は、スラリーを形成するようにバイオマスと混ぜ合わされてよい。一部の実施形態により、洗浄溶液（例えば、第 1、第 2、及び／又は第 3 洗浄溶液）は、室温より低い温度（例えば、約 1 2 ）を有してよい。一部の実施形態では、洗浄溶液は、室温を超える温度（例えば、5 0 ）を有してよい。一部の実施形態では、洗浄溶液は、任意の望ましい割合の再利用液を含んでよい。例え

50

ば、洗浄溶液は、工程の別の段階からの再利用（例えば、再利用洗浄溶液 3 1 6、濾過からの第 1 リジェクト流（例えば、図 3 A、3 5 2）、濾過からの第 2 リジェクト流（例えば、図 3 A、3 5 7））を少なくとも約 1 0 %（v / v）、少なくとも約 2 0 %（v / v）、少なくとも約 3 0 %（v / v）、少なくとも約 4 0 %（v / v）、少なくとも約 5 0 %（v / v）、少なくとも約 6 0 %（v / v）、少なくとも約 7 0 %（v / v）、少なくとも約 8 0 %（v / v）、又は少なくとも約 9 0 %（v / v）含んでよい。一部の実施形態では、第 2 洗浄溶液（例えば、水、オゾン処理水、再利用洗浄溶液、図 1、3 1 6）は、バイオマスに適用されてよい。一部の実施形態では、第 3 洗浄溶液（例えば、水、オゾン処理水、再利用洗浄溶液）は、バイオマスに適用されてよい。一部の実施形態では、第 1 洗浄溶液は、濾過工程（例えば、図 3 A、3 5 2、3 5 7）からのリジェクト流であってよく、第 2 洗浄溶液は水であってよく、第 3 洗浄溶液はオゾン処理水であってよい。一部の実施形態では、洗浄溶液の一部又はすべて（例えば、第 1 洗浄溶液、第 2 洗浄溶液、及び / 又は第 3 洗浄溶液）は、バイオマスから（例えば、傾斜スクリーン又は振動スクリーンを使用して）分離されてよい。

10

【0193】

一部の実施形態により、洗浄溶液、第 2 洗浄溶液、及び / 又は第 3 洗浄溶液の一部又はすべては、集められ及び / 又は再使用されてよい。バイオマスから分離された洗浄溶液及び / 又は第 2 洗浄溶液の少なくとも約 4 0 %、又は少なくとも約 5 0 %、又は少なくとも約 6 0 %、又は少なくとも約 7 0 %、又は少なくとも約 8 0 %、又は少なくとも約 9 0 %、又は少なくとも約 9 5 % は、将来の使用のために再利用されてよい。

20

【0194】

洗浄又は未洗浄バイオマスの溶解

図 3 A 及び図 3 B に示されるとおり、洗浄バイオマスは、溶解バイオマス 3 2 1 を形成するように溶解されて（3 2 0）よい。一部の実施形態では、バイオマス（例えば、未洗浄）は、溶解バイオマス 3 2 1 を形成するように溶解されてよい。一部の実施形態により、溶解は、機械的（例えば、挽くこと）、化学的（例えば、pH 調整）、及び / 又は超音波（例えば、ソニケーション）方法の組合せを使用して達成され得る。溶解工程は、例えば、せん断ミル、ボールミル、コロイドミル、ナイフミル、ハンマーミル、グライインディングミル、ピューレマシン、フィルタープレス、又はその任意の組合せを使用して達成され得る。

30

【0195】

一部の実施形態では、溶解は、室温より低い温度で実施されてよい。一部の実施形態により、溶解液（例えば、水、再利用水、逆浸透水）は、溶解の前に又は溶解の際にバイオマス又はマイクロクロップに加えられてよい。図 3 A 及び図 3 B に示されるとおり、第 2 可溶性タンパク質の逆浸透 / ナノ濾過からの通過物 3 6 2 は、溶解液として再利用されてよい。例えば、溶解液の少なくとも約 1 0 %、少なくとも約 2 0 %、少なくとも約 3 0 %、少なくとも約 4 0 %、少なくとも約 5 0 %、少なくとも約 6 0 %、少なくとも約 7 0 %、少なくとも約 8 0 %、又は少なくとも約 9 0 % は、濾過産生物の逆浸透 / ナノ濾過により生成された水であってよい（例えば、図 3 A、3 6 2）。一部の実施形態では、溶解液は、室温より低い温度（例えば、約 1 2 ）であってよい。溶解液は室温を超える温度であってよい（例えば、5 0 ）。

40

【0196】

バイオマスの分離

図 3 A 及び図 3 B に示されるとおり、溶解バイオマス 3 2 1 は、ジュース画分 3 2 6 及び固形画分 3 2 7 を生成するために分離されて（3 2 5）よい。一部の実施形態では、バイオマス（例えば、アオウキクサ）、洗浄バイオマス、溶解バイオマス 3 2 1、又はその任意の組合せは、ジュース画分及び固形画分を生成するために分離されてよい。ジュース画分 3 2 6 は、高タンパク質液及び / 又は少なくともいくつかの固形粒子（例えば、炭水化物、繊維）を含んでよい。

【0197】

50

溶解バイオマス 3 2 1 を分離する (3 2 5) ことは、圧力をかけること (例えば、ベルトプレス)、遠心分離、濾過、加圧濾過、又はその任意の組合せを含んでよい。バイオマス (例えば、収集されたマイクロクロップ)、洗浄バイオマス、及び / 又は溶解バイオマスを分離する (3 2 5) ための互換的ユニット操作は、例えば、デカンター遠心分離、ベルトプレス、ファンプレス、ロータリープレス、スクリュープレス、フィルタープレス、フィニッシャープレス、又はその任意の組合せを含む。

【 0 1 9 8 】

分離 3 2 5 は、任意の望ましい温度で実施されてよい。分離 3 2 5 は、例えば、タンパク質分解活性を減少させるために室温より低い温度 (例えば、1 2) で実施されてよい。一部の実施形態では、分離は、約 4 0 未満、約 3 0 未満、又は約 2 0 未満、又は約 1 5 未満、又は約 1 0 未満、又は約 1 5 未満、又は約 1 0 未満、又は約 5 未満、又は約 2 未満、又は約 1 未満、又は約 0 未満の温度で実施されてよい。分離 3 2 5 は、例えば、約 0 から約 1 0 の間、又は約 5 から約 1 5 の間、又は約 1 0 から約 2 0 の間、又は約 1 5 から約 2 5 の間、又は約 2 0 から約 3 0 の間、又は約 2 5 から約 3 5 の間、又は約 3 0 から約 4 0 の間の温度で実施されてよい。

【 0 1 9 9 】

固形画分の分離

図 3 に示されるとおり、固形画分 3 2 7 は、追加的ジュースを抽出するためにさらに分離されて (3 3 0) よく、第 2 ジュース 3 3 2 及び第 1 固形物 3 3 1 を形成する。第 2 ジュースは、高タンパク質液及び / 又は少なくともいくつかの固形粒子 (例えば、炭水化物、繊維) を含んでよい。

【 0 2 0 0 】

第 2 ジュース及び第 1 固形物を形成するために固形画分を分離することは、圧力をかけること (例えば、ベルトプレス)、遠心分離、濾過、加圧濾過、又はその任意の組合せを含んでよい。固形画分を分離するための互換的ユニット操作は、例えば、デカンター遠心分離、ベルトプレス、ファンプレス、ロータリープレス、スクリュープレス、フィルタープレス、フィニッシャープレス、又はその任意の組合せを含む。

【 0 2 0 1 】

一部の実施形態では、図 3 に示されるとおり、例えば、工程 (例えば、ジュース画分の分離は第 1 ケーキをもたらす。) の他の段階で集められた他の固形画分 (例えば、第 1 ケーキ 3 4 2、第 2 ケーキ 3 4 7) は、固形混合物を形成するために第 1 固形物と混ぜ合わされてよく、固形混合物はさらに処理されてよい。

【 0 2 0 2 】

一部の実施形態では、固形画分及び / 又は固形混合物の水分含有量は、重量で約 9 0 % 未満、又は約 8 0 % 未満、又は約 7 0 % 未満、又は約 6 0 % 未満、又は約 5 0 % 未満、又は約 4 0 % 未満、又は約 3 0 % 未満、又は約 2 0 % 未満、又は約 1 0 % 未満である。

【 0 2 0 3 】

ジュース画分の分離

図 3 A 及び図 3 B に示されるとおり、ジュース画分 3 2 6 は、第 1 ジュース 3 4 1 及び第 1 ケーキ 3 4 2 を生成するように分離されてよい。第 1 ジュースは、可溶性タンパク質を含んでよい。一部の実施形態では、ジュース画分を分離することは、遠心分離、濾過、加圧濾過、又はその任意の組合せを含んでよい。いくつかの異なる互換的ユニット操作は、例えば、高速ディスクスタック遠心分離機、環状振動分離機、直鎖状 / 傾斜運動振とう機、デカンター遠心分離機、フィルタープレス、加圧濾過装置、精密濾過、真空濾過、又はその任意の組合せを含んでジュース画分を分離するために使用されてよい。

【 0 2 0 4 】

一部の実施形態により、分離は、例えば、タンパク質分解活性を減少させるために室温より低い温度で実施されてよい。一部の実施形態では、分離は、約 4 0 未満、又は約 3 0 未満、又は約 2 0 未満、又は約 1 5 未満、又は約 1 0 未満、又は約 1 5 未満、又は約 1 0 未満、又は約 5 未満、又は約 2 未満、又は約 1 未満、又は約 0 未

満の温度で実施されてよい。一部の実施形態では、分離は、約 0 から約 10 の間、又は約 5 から約 15 の間、又は約 10 から約 20 の間、又は約 15 から約 25 の間、又は約 20 から約 30 の間、又は約 25 から約 35 の間、又は約 30 から約 40 の間の温度で実施されてよい。

【0205】

第 1 ケーキ及び / 又は第 2 ジュースの分離

図 3 A 及び図 3 B に示されるとおり、第 1 ケーキ 342 及び第 2 ジュース 332 は、混ぜ合わされ、第 3 ジュース 346 及び第 2 ケーキ 347 を形成するためにさらに分離されてよい。一部の実施形態では、第 1 ケーキ及び第 2 ジュースは、さらなる分離に別々に供されてよい。第 1 ケーキ、第 2 ジュース、又はその任意の組合せを分離することは、遠心分離、濾過、加圧濾過、又はその任意の組合せを含んでよい。いくつかの異なる互換的ユニット操作は、例えば、高速ディスクスタック遠心分離機、環状振動分離機、直鎖状 / 傾斜運動振とう機、デカンター遠心分離機、フィルタプレス、加圧濾過装置、精密濾過、真空濾過、又はその任意の組合せを含んで分離するために使用されてよい。

10

【0206】

一部の実施形態により、分離は、例えば、タンパク質分解活性を減少させるために室温より低い温度で実施されてよい。一部の実施形態では、分離は、約 40 未満、又は約 30 未満、又は約 20 未満、又は約 15 未満、又は約 10 未満、又は約 15 未満、又は約 10 未満、又は約 5 未満、又は約 2 未満、又は約 1 未満、又は約 0 未満の温度で実施されてよい。一部の実施形態では、分離は、約 0 から約 10 の間、又は約 5 から約 15 の間、又は約 10 から約 20 の間、又は約 15 から約 25 の間、又は約 20 から約 30 の間、又は約 25 から約 35 の間、又は約 30 から約 40 の間の温度で実施されてよい。

20

【0207】

図 3 A 及び図 3 B に示されるとおり、一部の実施形態では、第 3 ジュース 346 は、さらなる処理に先立って第 1 ジュース 341 と混ぜ合わされてよい。一部の実施形態では、第 2 ケーキ 347 は、さらなる処理に先立って固形混合物を形成するために第 1 固形物 331 と混ぜ合わされてよい。

【0208】

第 1 ジュース、第 3 ジュース、又はその任意の組合せのろ過

30

図 3 A 及び図 3 B に示されるとおり、第 1 ジュース 341、第 3 ジュース 346、又はその任意の組合せは、第 1 可溶性タンパク質 351 及び第 1 リジェクト流 352 を生成するためにろ過されてよい。濾過 350 は、精密濾過、限外濾過、ナノ濾過又は逆浸透濾過を含んでよい。

【0209】

一部の実施形態では、精密濾過のために好適なフィルターサイズは、約 10 μm 、又は約 5 μm 、又は約 3 μm 、又は約 2 μm 、又は約 1 μm 、又は約 0.5 μm 、又は約 0.4 μm 、又は約 0.3 μm 、又は約 0.2 μm 、又は約 0.1 μm を含んでよい。一部の実施形態では、図 3 B に示されるとおり、第 1 ジュース、第 3 ジュース、又はその任意の組合せは、通過物中に第 1 可溶性タンパク質 351 及び残余物中にリジェクト流産生物 353 を生成するために精密濾過を使用してろ過されて (350) よい。

40

【0210】

限外濾過は、圧力、濃度グラジエント、又はその組合せを使用する膜濾過を含んでよい。一部の実施形態では、限外濾過のために好適な NMWCO は、最大で一部の実施形態では、最大で約 100 kDa、又は最大で約 90 kDa、又は最大で約 80 kDa、又は最大で約 70 kDa、又は最大で約 60 kDa、又は最大で約 55 kDa、又は最大で約 50 kDa、又は最大で約 45 kDa、又は最大で約 40 kDa、又は最大で約 30 kDa、又は最大で約 20 kDa、又は最大で約 15 kDa、又は最大で約 14 kDa、又は最大で約 13 kDa、又は最大で約 12 kDa、又は最大で約 11 kDa、又は最大で約 1

50

0 k D a、又は最大で約 9 k D a、又は最大で約 8 k D a、又は最大で約 7 k D a、又は最大で約 6 k D a、又は最大で約 5 k D a、又は最大で約 4 k D a、又は最大で約 3 k D a、又は最大で約 2 k D a、又は最大で約 1 k D a であってよい。一部の実施形態では、限外濾過のために好適な N M W C O カットオフは、最大で約 1 k D a から最大で約 1 0 k D a、最大で約 2 k D a から最大で約 1 0 k D a、最大で約 3 k D a から最大で約 1 0 k D a、最大で約 3 k D a から最大で約 1 5 k D a、又は最大で約 3 k D a から最大で約 2 0 k D a、又は最大で約 3 k D a から最大で約 6 0 k D a、又は最大で約 3 k D a から最大で約 5 5 k D a、又は最大で約 1 0 k D a から最大で約 5 5 k D a の範囲内であってよい。

【 0 2 1 1 】

一部の実施形態により、第 1 ジュース 3 4 1、第 3 ジュース 3 4 6、又はその任意の組合せは、第 1 可溶性タンパク質 3 5 1 及びリジェクト流 3 5 2 を生成するために限外濾過を使用してろ過されて (3 5 0) よい。第 1 可溶性タンパク質は、限外濾過の分子量カットオフに応じて、図 3 A に示されるとおり残余物中に、又は図 3 B に示されるとおり通過物中にある場合がある。第 1 リジェクト流 3 5 2 が限外濾過の通過物である場合 (例えば、図 3 A)、それはマイクロクロップの培養のためにバイオリアクター系に再利用されてよい (例えば、図 1、1 0 5)。

【 0 2 1 2 】

一部の実施形態では、ナノ濾過のために好適なフィルターサイズは、約 0 . 0 1 μ m、又は 約 0 . 0 0 9 μ m、又は 約 0 . 0 0 8 μ m、又は 約 0 . 0 0 7 μ m、又は 約 0 . 0 0 6 μ m、又は 約 0 . 0 0 5 μ m、又は 約 0 . 0 0 4 μ m、又は 約 0 . 0 0 3 μ m、又は 約 0 . 0 0 2 μ m、又は 約 0 . 0 0 1 μ m を含んでよい。一部の実施形態により、逆浸透濾過のために好適なフィルターサイズは、約 0 . 0 0 1 μ m、約 0 . 0 0 0 9 μ m、約 0 . 0 0 0 8 μ m、約 0 . 0 0 0 7 μ m、約 0 . 0 0 0 6 μ m、約 0 . 0 0 0 5 μ m、約 0 . 0 0 0 4 μ m、約 0 . 0 0 0 3 μ m、約 0 . 0 0 0 2 μ m、又は 約 0 . 0 0 0 1 μ m を含んでよい。図 3 B に示されるとおり、一部の実施形態では、第 1 ジュース、第 3 ジュース、又はその任意の組合せは、ナノ濾過又は逆浸透濾過を使用して残余物中に第 1 可溶性タンパク質 3 5 1 及びナノろ過水又は逆浸透水の通過物 3 5 2 をそれぞれ生成するためにろ過されて (3 5 0) よい。一部の実施形態では、第 1 リジェクト流 3 5 2 は、ナノ濾過又は逆浸透濾過の通過物であってよく、マイクロクロップの培養のためにバイオリアクター系に再利用されてよい (例えば、図 1、1 0 5)。

【 0 2 1 3 】

一部の実施形態では、緩衝液、プロテアーゼ阻害剤、抗菌剤、キレーター (例えば、E D T A)、還元剤、又はその任意の組合せは、可溶性タンパク質 3 5 1 に加えられてよい。一部の実施形態では、可溶性タンパク質は、約 3 0 未満、又は約 2 5 未満、又は約 2 0 未満、又は約 1 5 未満、又は約 1 0 未満、又は約 5 未満、又は約 2 未満、又は約 1 未満、又は約 0 未満、又は - 2 未満、又は - 5 未満、又は - 1 0 未満の温度で冷却及び / 又は保存されてよい。低い温度に可溶性タンパク質を冷却及び / 又は保存することは、分解を低減でき、及び / 又はタンパク質回収効率を改善できる。

【 0 2 1 4 】

第 1 可溶性タンパク質のろ過

図 3 A 及び図 3 B に示されるとおり、第 1 可溶性タンパク質 3 5 1 は、第 2 可溶性タンパク質 3 5 6 及び第 2 リジェクト流 3 5 7 を生成するためにろ過されて (3 5 5) よい。ろ過 3 5 5 は、精密濾過、限外濾過、ナノ濾過、又は逆浸透濾過を含んでよい。

【 0 2 1 5 】

一部の実施形態では、精密濾過のために好適なフィルターサイズは、約 1 0 μ m、又は 約 5 μ m、又は 約 3 μ m、又は 約 2 μ m、又は 約 1 μ m、又は 約 0 . 5 μ m、又は 約 0 . 4 μ m、又は 約 0 . 3 μ m、又は 約 0 . 2 μ m、又は 約 0 . 1 μ m を含んでよい。一部の実施形態では、第 1 可溶性タンパク質は、通過物中に第 2 可溶性タ

10

20

30

40

50

ンパク質 356 及び残余物中にリジェクト流産生物を生成するために精密濾過を使用してろ過されて (355) よい。

【0216】

限外濾過は、圧力、濃度グラジエント、又はこれらの組合せを使用する膜濾過を含んでよい。一部の実施形態では、限外濾過のために好適な NMWC O は、最大で一部の実施形態では、最大で約 100 kDa、又は最大で約 90 kDa、又は最大で約 80 kDa、又は最大で約 70 kDa、又は最大で約 60 kDa、又は最大で約 55 kDa、又は最大で約 50 kDa、又は最大で約 45 kDa、又は最大で約 40 kDa、又は最大で約 30 kDa、又は最大で約 20 kDa、又は最大で約 15 kDa、又は最大で約 14 kDa、又は最大で約 13 kDa、又は最大で約 12 kDa、又は最大で約 11 kDa、又は最大で約 10 kDa、又は最大で約 9 kDa、又は最大で約 8 kDa、又は最大で約 7 kDa、又は最大で約 6 kDa、又は最大で約 5 kDa、又は最大で約 4 kDa、又は最大で約 3 kDa、又は最大で約 2 kDa、又は最大で約 1 kDa であってよい。一部の実施形態では、限外濾過のために好適な NMWC O カットオフは、最大で約 1 kDa から最大で約 10 kDa、最大で約 2 kDa から最大で約 10 kDa、最大で約 3 kDa から最大で約 10 kDa、最大で約 3 kDa から最大で約 15 kDa、又は最大で約 3 kDa から最大で約 20 kDa、又は最大で約 3 kDa から最大で約 60 kDa、又は最大で約 3 kDa から最大で約 55 kDa、又は最大で約 10 kDa から最大で約 55 kDa の範囲内であってよい。

10

【0217】

一部の実施形態により、第 1 可溶性タンパク質は、第 2 可溶性タンパク質 355 及びリジェクト流 357 を生成するために限外濾過を使用してろ過されて (355) よい。図 3A 及び図 3B に示されるとおり、第 2 可溶性タンパク質は、限外濾過の分子量カットオフに応じて、残余物中に、又は通過物 (未記載) 中にある場合がある。一部の実施形態により、ダイアフィルトレーションは、第 1 可溶性タンパク質 351 又は第 2 可溶性タンパク質 356 への水の添加によって、限外濾過及び / 又はナノ濾過と同時に使用されてよい。一部の実施形態では、第 1 可溶性タンパク質 351、第 2 可溶性タンパク質 356、又はこれらの組合せへの水の添加によって、限外濾過及び / 又はナノ濾過と同時にダイアフィルトレーションを使用することは、第 1 可溶性タンパク質 351、第 2 可溶性タンパク質 356、又はこれらの組合せからの通過性の溶質をさらに除くことができる。第 1 可溶性タンパク質 351、第 2 可溶性タンパク質 356、又はこれらの組合せから通過性の溶質を除くことは、第 1 可溶性タンパク質 351、第 2 可溶性タンパク質 356、又はこれらの組合せのタンパク質純度を増大できる。第 2 リジェクト流 357 が限外濾過の通過物である場合 (例えば、図 3A)、それはマイクロクロップの培養のためにバイオリアクター系に再利用されてよい (例えば、図 1、105)。

20

30

【0218】

一部の実施形態では、ナノ濾過のために好適なフィルターサイズは、約 0.01 μm 、又は約 0.009 μm 、又は約 0.008 μm 、又は約 0.007 μm 、又は約 0.006 μm 、又は約 0.005 μm 、又は約 0.004 μm 、又は約 0.003 μm 、又は約 0.002 μm 、又は約 0.001 μm を含んでよい。一部の実施形態により、逆浸透濾過のために好適なフィルターサイズは、約 0.001 μm 、約 0.0009 μm 、約 0.0008 μm 、約 0.0007 μm 、約 0.0006 μm 、約 0.0005 μm 、約 0.0004 μm 、約 0.0003 μm 、約 0.0002 μm 、又は約 0.0001 μm を含んでよい。図 3A 及び図 3B に示されるとおり、一部の実施形態では、第 1 可溶性タンパク質は、ナノ濾過又は逆浸透濾過を使用して残余物中に第 2 可溶性タンパク質 356 及びナノろ過水又は逆浸透水の通過物 357 をそれぞれ生成するためにろ過されて (355) よい。一部の実施形態では、第 2 リジェクト流 357 は、ナノ濾過又は逆浸透濾過の通過物であってよく、マイクロクロップの培養のためにバイオリアクター系に再利用されてよい (例えば、図 1、105)。

40

【0219】

50

一部の実施形態では、緩衝液、プロテアーゼ阻害剤、抗菌剤、キレーター（例えば、EDTA）、還元剤、又はその任意の組合せは、第2可溶性タンパク質356に加えられる。第2可溶性タンパク質は、約30未満、又は約25未満、又は約20未満、又は約15未満、又は約10未満、又は約5未満、又は約2未満、又は約1未満、又は約0未満、又は-2未満、又は-5未満、又は-10未満の温度で冷却及び／又は保存されてよい。低い温度に第2可溶性タンパク質を冷却及び／又は保存することは、分解を低減でき、及び／又はタンパク質回収効率を改善できる。

【0220】

第1可溶性タンパク質及び／又は第2可溶性タンパク質の水分含有量の低減

一部の実施形態では、工程は、第1可溶性タンパク質351及び／又は第2可溶性タンパク質356の水分含有量を低減するために使用され得る。

10

【0221】

一部の実施形態では、蒸発工程は、第1可溶性タンパク質351又は第2可溶性タンパク質356の水分含有量を低減し、濃縮タンパク質361を生成するために使用されてよい。第1可溶性タンパク質351又は第2可溶性タンパク質356の水分含有量を低減することは、例えば、濃縮タンパク質361を乾燥させるために必要なエネルギーを低減することによって、資金的及び操作的支出を低減できる。蒸発は、例えば：上昇フィルム蒸発器、下降フィルム蒸発器、自然循環蒸発器（垂直又は水平）、攪拌フィルム蒸発器、多重効果蒸発器、真空蒸発による、又はその任意の組合せなどの熱的（蒸発的）手段によって実施されてよい。

20

【0222】

図3に示されるとおり、一部の実施形態では、第1可溶性タンパク質351又は第2可溶性タンパク質356の水分含有量は、ナノ濾過又は逆浸透濾過によって低減され得る。一部の実施形態では、第1可溶性タンパク質351又は第2可溶性タンパク質356の水分含有量は、残余物中の第1可溶性タンパク質351又は第2可溶性タンパク質356でナノ濾過を使用してそれぞれ低減され得る。一部の実施形態では、第1可溶性タンパク質351又は第2可溶性タンパク質356の水分含有量は、残余物中の第1可溶性タンパク質351又は第2可溶性タンパク質356で逆浸透濾過を使用してそれぞれ低減され得る。一部の実施形態により、ナノ濾過又は逆浸透濾過の通過物362は、再利用されてよい（例えば、溶解のための希釈液；洗浄溶液）。一部の実施形態では、逆浸透濾過及び／又はナノ濾過は、生じた濃縮タンパク質361中に溶けている望ましくない化合物（例えば、塩、カルシウムイオン）の濃度を低減できる。

30

【0223】

可溶性タンパク質の乾燥

一部の実施形態により、濃縮タンパク質361は、乾燥タンパク質濃縮物を生成するために乾燥されて（365）よい。一部の実施形態では、乾燥手順は、濃縮タンパク質361の水分含有量を望ましいレベル（例えば、より高い又はより低い水分含有量、望ましい水分含有量）に低減できる。一部の実施形態では、乾燥タンパク質濃縮物の水分含有量は、例えば、重量で乾燥タンパク質濃縮物の約90%未満、又は約80%未満、又は約70%未満、又は約60%未満、又は約50%未満、又は約40%未満、又は約30%未満、又は約20%未満、又は約10%未満、又は約5%未満、又は約1%未満であってよい。一部の実施形態では、乾燥タンパク質濃縮物のタンパク質濃度は、重量で乾燥タンパク質濃縮物の約30%から約95%、又は約40%から約90%、又は約50%から約85%、又は約60%から約80%、又は約70%から約75%であってよい。乾燥手順は、例えば、スプレー乾燥器、ダブルドラム乾燥器、フラッシュ乾燥器、蒸発器、又はその任意の組合せを含む装置を使用して実施されてよい。

40

【0224】

第1固形物及び／又は固形混合物の処理

第1固形物及び／又は固形混合物は、1つ又は複数の高炭水化物産生物を生成するためにさらに処理されてよい。既に記載のとおり、固形混合物は、1つ又は複数の分離工程3

50

30 / 340 / 345 後に残る第1固形物331、第1ケーキ342、第2ケーキ347、又はその任意の組合せの1つ又は複数を含んでよい。高炭水化物産生物は、燃料供給原料として好適な乾燥バイオクルード産生物又はヒト若しくは動物飼料補充物（例えば、アオウキクサミール）として好適な高炭水化物ミールを含んでよい。

【0225】

一部の実施形態では、第1固形物及び／又は固形混合物は、乾燥バイオクルード及び高炭水化物ミールの少なくとも1つを生成するために処理（例えば、乾燥、ペレット化）されてよい。一部の実施形態により、第1固形物及び／又は固形混合物を処理することは、乾燥及び／又はペレット化を含む。

【0226】

高炭水化物産生物（例えば、乾燥バイオクルード及び／又は高炭水化物）ミールを生成するための工程は、例えば、水分含有量、粒子サイズ、タンパク質含有量、脂肪含有量、繊維含有量、灰分、保存可能期間、ペレットサイズ、質感、又はその任意の組合せを含む、所望の具体的な特徴に応じて変更されてよい。

【0227】

一部の実施形態では、第1固形物及び／又は固形混合物は、得られる高炭水化物産生物（例えば、乾燥バイオクルード及び／又は高炭水化物ミール）の水分含有量を低減するために乾燥されてよい。一部の実施形態では、乾燥手順は、最終産生物が水分含有量が低減した高炭水化物産生物であるように、第1固形物及び／又は固形混合物の他の処理と同時に（例えば、先立って、続いて）実施されてよい。一部の実施形態では、乾燥手順は、例えば、スプレー乾燥機、ダブルドラム乾燥機、フラッシュ乾燥機、蒸発器、又はその任意の組合せを含む乾燥装置を使用して実施されてよい。

【0228】

一部の実施形態では、高炭水化物産生物（例えば、乾燥バイオクルード及び／又は高炭水化物ミール）の水分含有量は、重量で産生物の約90%未満、又は約80%未満、又は約70%未満、又は約60%未満、又は約50%未満、又は約40%未満、又は約30%未満、又は約20%未満、又は約10%未満、又は約5%未満、又は約1%未満であってよい。

【0229】

ポリフェノール除去

一部の実施形態では、ジュース画分326、第1ジュース341、第2ジュース332、第3ジュース346、第1可溶性タンパク質351、第2可溶性タンパク質356、及び／又は濃縮タンパク質361は、少なくとも1つのポリフェノールの選択的除去のための処理ステップ（a）を受けてよい。

【0230】

溶媒洗浄

一部の実施形態では、第1可溶性タンパク質351、第2可溶性タンパク質356、及び／又は濃縮タンパク質361は、溶媒洗浄（b）を受けてよい。溶媒洗浄（b）は乾燥365に続いてよい。

【0231】

図4

図4は、本開示の具体的な実施形態例によるバイオマスからタンパク質濃縮物及び／又は高炭水化物産生物を連続的に産生するための工程を例示する生産工程表である。一部の実施形態では、マイクロクロップ（例えば、水生植物種、アオウキクサ、藻類種）を増殖、収集及び分離するための工程は、工程の前のサイクルの副産物が工程の1つ又は複数の続くサイクルに再利用され得るような、タンパク質濃縮物（例えば、可溶性タンパク質、乾燥タンパク質濃縮物）及び／又は高炭水化物産生物の産生のための複数サイクル又は連続的工程であってよい。1つ又は複数の副産物の再利用は、工程のために必要な水全体を低減できる。一部の実施形態では、工程は、必要な正味のエネルギー流入を最少化するように構成されてよい（すなわち、省エネルギー）。

【 0 2 3 2 】

マイクロクロップは、収集され（例えば、図 1、1 1 0）バイオマスを形成できる（例えば、図 1、1 1 1）。

【 0 2 3 3 】

バイオマスの洗浄

図 4 に示されるとおり、一部の実施形態により、バイオマスは、処理に先立って洗浄されて（4 1 5）よい。洗浄手順は、デブリ、混入物、栄養素、微生物及び／又は毒素を除去できる。一部の実施形態では、洗浄溶液は、スラリーを形成するようにバイオマスと混ぜ合わされてよい。一部の実施形態により、洗浄溶液（例えば、第 1、第 2、及び／又は第 3 洗浄溶液）は、室温より低い温度（例えば、約 12）を有してよい。一部の実施形態では、洗浄溶液は、室温を超える温度（例えば、50）を有してよい。一部の実施形態では、洗浄溶液は、任意の望ましい割合の再利用液を含んでよい。例えば、洗浄溶液は、工程の別の段階（例えば、再利用洗浄溶液 4 1 6、濾過からの第 1 リジェクト流からの再利用（例えば、図 3 A、3 5 2）、濾過からの第 2 リジェクト流（例えば、図 4、4 5 7））を少なくとも約 10 %（v / v）、少なくとも約 20 %（v / v）、少なくとも約 30 %（v / v）、少なくとも約 40 %（v / v）、少なくとも約 50 %（v / v）、少なくとも約 60 %（v / v）、少なくとも約 70 %（v / v）、少なくとも約 80 %（v / v）、又は少なくとも約 90 %（v / v）含んでよい。

10

【 0 2 3 4 】

一部の実施形態により、工程の別の段階（例えば、再利用洗浄溶液 4 1 6、濾過からの第 1 リジェクト流（例えば、図 3 A、3 5 2）、濾過からの第 2 リジェクト流（例えば、図 4、4 5 7））から、少なくとも部分的に、再利用された洗浄溶液は、工程での前の産生物の冷却（例えば、第 1 ジュース冷却、第 1 可溶性タンパク質冷却、第 2 可溶性タンパク質冷却）により室温より低い温度（例えば、約 12）を有してよい。工程の別の段階（例えば、再利用洗浄溶液 4 1 6、濾過からの第 1 リジェクト流（例えば、図 3 A、3 5 2）、濾過からの第 2 リジェクト流（例えば、図 4、4 5 7））から、少なくとも部分的に、再利用された洗浄溶液は、熱交換装置のために室温を超える温度（例えば、約 50）を有してよい。例えば、熱交換装置は、濾過からの第 1 リジェクト流（例えば、図 3 A、3 5 2）、濾過からの第 2 リジェクト流（例えば、図 4、4 5 7））を加熱するために乾燥工程 3 3 5 から放出されたエネルギーを使用するために構成されてよい。そのような再利用は、工程のエネルギー流入必要量を低減するように構成されてよい（例えば、冷却された再利用液はそれが加えられる工程を冷やす；熱交換器は第 1 リジェクト流を加熱するために必要なエネルギーを低減する）。

20

30

【 0 2 3 5 】

一部の実施形態では、第 2 洗浄溶液（例えば、水、オゾン処理水、再利用洗浄溶液 図 4、4 1 6）は、バイオマスに適用されてよい。一部の実施形態では、第 3 洗浄溶液（例えば、水、オゾン処理水、再利用洗浄溶液）は、バイオマスに適用されてよい。一部の実施形態では、第 1 洗浄溶液は、濾過工程からのリジェクト流（例えば、図 3 A、3 5 2；図 4、4 5 7）であってよく、第 2 洗浄溶液は水であってよく、第 3 洗浄溶液はオゾン処理水であってよい。一部の実施形態では、洗浄溶液（例えば、第 1 洗浄溶液、第 2 洗浄溶液、及び／又は第 3 洗浄溶液）の一部又はすべては、バイオマスから分離されてよい（例えば、傾斜スクリーン又は振動スクリーンを使用する）。

40

【 0 2 3 6 】

一部の実施形態により、洗浄溶液、第 2 洗浄溶液、及び／又は第 3 洗浄溶液の一部又はすべては、集められて及び／又は再使用されてよい。バイオマスから分離された洗浄溶液及び／又は第 2 洗浄溶液の少なくとも約 40 %、又は少なくとも約 50 %、又は少なくとも約 60 %、又は少なくとも約 70 %、又は少なくとも約 80 %、又は少なくとも約 90 %、又は少なくとも約 95 %は、将来の使用のために再利用されてよい。

【 0 2 3 7 】

洗浄又は未洗浄バイオマスの溶解

50

図 4 に示されるとおり、洗浄バイオマスは、溶解バイオマス 4 2 1 を形成するために溶解されて (4 2 0) よい。一部の実施形態では、バイオマス (例えば、未洗浄) は、溶解バイオマスを形成するために溶解されてよい。一部の実施形態により、溶解は、機械的 (例えば、挽くこと)、化学的 (例えば、pH 調整)、及び / 又は超音波 (例えば、ソニケーション) 法の組合せを使用して達成され得る。溶解工程は、例えば、せん断ミル、ボールミル、コロイドミル、ナイフミル、ハンマーミル、グラインディングミル、ピューレマシ、フィルタープレス、又はその任意の組合せを使用して達成され得る。

【 0 2 3 8 】

一部の実施形態では、溶解は、室温より低い温度で実施されてよい。一部の実施形態により、溶解液 (例えば、水、再利用水、逆浸透水) は、溶解の前に又は溶解の際にバイオマス又はマイクロクロップに加えられてよい。図 4 に示されるとおり、第 2 可溶性タンパク質の逆浸透 / ナノ濾過からの通過物 4 6 2 は、溶解液として再利用されてよい。例えば、溶解液の少なくとも約 1 0 %、少なくとも約 2 0 %、少なくとも約 3 0 %、少なくとも約 4 0 %、少なくとも約 5 0 %、少なくとも約 6 0 %、少なくとも約 7 0 %、少なくとも約 8 0 %、又は少なくとも約 9 0 % は、濾過産生物の逆浸透 / ナノ濾過により生成された水であってよい (例えば、図 4 A、4 6 2)。一部の実施形態では、溶解液は、室温より低い温度 (例えば、約 1 2) であってよい。溶解液は、室温を超える温度であってよい (例えば、5 0)。一部の実施形態により、工程の別の段階から、少なくとも部分的に、再利用された溶解液 (例えば、図 4、4 6 2) は、工程の前の産生物の冷却 (例えば、第 1 ジュース冷却、第 1 可溶性タンパク質冷却、第 2 可溶性タンパク質冷却) のために室温より低い温度 (例えば、約 1 2) を有してよい。工程の別の段階から、少なくとも部分的に、再利用された溶解液 (例えば、図 4、4 6 2) は、熱交換装置のために室温を超える温度 (例えば、約 5 0) を有してよい。例えば、熱交換装置は、逆浸透又はナノ濾過工程 (例えば、図 4、4 6 0) から生じる通過物 (例えば、図 4、4 6 2) を加熱するために乾燥工程 3 3 5 から放出されたエネルギーを使用するように構成されてよい。

【 0 2 3 9 】

バイオマスの分離

図 4 に示されるとおり、溶解バイオマスは、ジュース画分 4 2 6 及び固形画分 4 2 7 を生成するように分離されて (4 2 5) よい。一部の実施形態では、バイオマス (例えば、アオウキクサ)、洗浄バイオマス、溶解バイオマス、又はその任意の組合せは、ジュース画分及び固形画分を生成するために分離されてよい。ジュース画分 4 2 6 は、高タンパク質液及び / 又は少なくともいくつかの固形粒子 (例えば、炭水化物、繊維) を含んでよい。

【 0 2 4 0 】

溶解バイオマスを分離する (4 2 5) ことは、圧力をかけること (例えば、ベルトプレス)、遠心分離、濾過、加圧濾過、又はその任意の組合せを含んでよい。バイオマス (例えば、収集されたマイクロクロップ)、洗浄バイオマス、及び / 又は溶解バイオマスを分離する (4 2 5) ための互換的ユニット操作は、例えば、デカンター遠心分離、ベルトプレス、ファンプレス、ロータリープレス、スクリュープレス、フィルタープレス、フィニッシャープレス、又はその任意の組合せを含む。

【 0 2 4 1 】

分離 4 2 5 は、任意の望ましい温度で実施されてよい。分離 4 2 5 は、例えば、タンパク質分解活性を減少させるために、室温より低い温度 (例えば、1 2) で実施されてよい。一部の実施形態では、分離は、約 4 0 未満、約 3 0 未満、又は約 2 0 未満、又は約 1 5 未満、又は約 1 0 未満、又は約 1 5 未満、又は約 1 0 未満、又は約 5 未満、又は約 2 未満、又は約 1 未満、又は約 0 未満の温度で実施されてよい。分離 4 2 5 は、例えば、約 0 から約 1 0 の間、又は約 5 から約 1 5 の間、又は約 1 0 から約 2 0 の間、又は約 1 5 から約 2 5 の間、又は約 2 0 から約 3 0 の間、又は約 2 5 から約 3 5 の間、又は約 3 0 から約 4 0 の間の温度で実施されてよい。

10

20

30

40

50

【 0 2 4 2 】

固形画分の分離

図 4 に示されるとおり、固形画分 4 2 7 は、追加的ジューズを抽出するためにさらに分離されて (4 3 0) よく、第 2 ジューズ 4 3 2 及び第 1 固形物 4 3 1 を形成する。第 2 ジューズは、高タンパク質液及び / 又は少なくともいくつかの固形粒子 (例えば、炭水化物、繊維) を含んでよい。

【 0 2 4 3 】

第 2 ジューズ及び第 1 固形物を形成するために固形画分を分離することは、圧力をかけること (例えば、ベルトプレス)、遠心分離、濾過、加圧濾過、又はその任意の組合せを含んでよい。固形画分を分離するための互換的ユニット操作は、例えば、デカンター遠心分離、ベルトプレス、ファンプレス、ロータリープレス、スクリュープレス、フィルタープレス、フィニッシャープレス、又はその任意の組合せを含む。

10

【 0 2 4 4 】

図 4 に示されるとおり、一部の実施形態により、前のサイクルにおいて集められた第 1 ケーキ (例えば、図 4、4 4 2) 及び第 2 ケーキ (例えば、図 4、4 4 7) の 1 つ又は複数は、固形画分の分離 (例えば、図 4、4 3 0) に先立って、続くサイクルからの固形画分と混ぜ合わされてよい。

【 0 2 4 5 】

一部の実施形態では、固形画分及び / 又は固形混合物の水分含有量は、重量で約 9 0 % 未満、又は約 8 0 % 未満、又は約 7 0 % 未満、又は約 6 0 % 未満、又は約 5 0 % 未満、又は約 4 0 % 未満、又は約 3 0 % 未満、又は約 2 0 % 未満、又は約 1 0 % 未満である。

20

【 0 2 4 6 】

ジューズ画分の分離

図 4 に示されるとおり、ジューズ画分 4 2 6 は、第 1 ジューズ 4 4 1 及び第 1 ケーキ 4 4 2 を生成するために分離されて (4 4 0) よい。第 1 ジューズは、可溶性タンパク質を含んでよい。一部の実施形態では、ジューズ画分を分離することは、遠心分離、濾過、加圧濾過、又はその任意の組合せを含んでよい。いくつかの異なる互換的ユニット操作は、例えば、高速ディスクスタック遠心分離機、環状振動分離機、直鎖状 / 傾斜運動振とう機、デカンター遠心分離機、フィルタープレス、加圧濾過装置、精密濾過、真空濾過、又はその任意の組合せを含んでジューズ画分を分離するために使用されてよい。

30

【 0 2 4 7 】

一部の実施形態により、分離は、例えば、タンパク質分解活性を減少させるために室温より低い温度で実施されてよい。一部の実施形態では、分離は、約 4 0 未満、又は約 3 0 未満、又は約 2 0 未満、又は約 1 5 未満、又は約 1 0 未満、又は約 1 5 未満、又は約 1 0 未満、又は約 5 未満、又は約 2 未満、又は約 1 未満、又は約 0 未満の温度で実施されてよい。一部の実施形態では、分離は、約 0 から約 1 0 の間、又は約 5 から約 1 5 の間、又は約 1 0 から約 2 0 の間、又は約 1 5 から約 2 5 の間、又は約 2 0 から約 3 0 の間、又は約 2 5 から約 3 5 の間、又は約 3 0 から約 4 0 の間の温度で実施されてよい。

【 0 2 4 8 】

第 1 ケーキ及び / 又は第 2 ジューズの分離

図 4 に示されるとおり、第 1 ケーキ 4 4 2 及び第 2 ジューズ 4 3 2 は、第 3 ジューズ 4 4 6 及び第 2 ケーキ 4 4 7 を形成するように混ぜ合わされ、さらに分離されてよい。一部の実施形態では、第 1 ケーキ及び第 2 ジューズは、さらなる分離に別々に供されてよい。第 1 ケーキ、第 2 ジューズ、又はその任意の組合せを分離することは、遠心分離、濾過、加圧濾過、又はその任意の組合せを含んでよい。いくつかの異なる互換的ユニット操作は、例えば、高速ディスクスタック遠心分離機、環状振動分離機、直鎖状 / 傾斜運動振とう機、デカンター遠心分離機、フィルタープレス、加圧濾過装置、精密濾過、真空濾過、又はその任意の組合せを含んで分離するために使用されてよい。

40

【 0 2 4 9 】

50

一部の実施形態により、分離は、例えば、タンパク質分解活性を減少させるために室温より低い温度で実施されてよい。一部の実施形態では、分離は、約 40 未満、又は約 30 未満、又は約 20 未満、又は約 15 未満、又は約 10 未満、又は約 15 未満、又は約 10 未満、又は約 5 未満、又は約 2 未満、又は約 1 未満、又は約 0 未満の温度で実施されてよい。一部の実施形態では、分離は、約 0 から約 10 の間、又は約 5 から約 15 の間、又は約 10 から約 20 の間、又は約 15 から約 25 の間、又は約 20 から約 30 の間、又は約 25 から約 35 の間、又は約 30 から約 40 の間の温度で実施されてよい。

【0250】

図 4 に示されるとおり、一部の実施形態により、前のサイクルにおいて集められた第 3 ジュースは、さらなる処理に先立って続くサイクルからのジュース画分と混ぜ合わされてよい。一部の実施形態では、第 3 ジュースは、さらなる処理に先立って第 1 ジュースと混ぜ合わされてよい（例えば、図 3 A）。一部の実施形態では、第 2 ケーキは、さらなる処理に先立って固形混合物を形成するように第 1 固形物と混ぜ合わされてよい（例えば、図 3 A）。

【0251】

第 1 ジュース、第 3 ジュース、又はその任意の組合せのろ過

図 4 に示されるとおり、第 1 ジュース 441 は、第 1 可溶性タンパク質 451 及び第 1 リジェクト流 452 を生成するためにろ過されて（450）よい。一部の実施形態では、第 1 ジュース、第 3 ジュース、又はその任意の組合せは、1 可溶性タンパク質及び第 1 リジェクト流を生成するためにろ過されてよい（例えば、図 3 A）。ろ過 450 は、精密濾過、限外濾過、ナノ濾過又は逆浸透濾過を含んでよい。

【0252】

一部の実施形態では、精密濾過のために好適なフィルターサイズは、約 10 μm 、又は約 5 μm 、又は約 3 μm 、又は約 2 μm 、又は約 1 μm 、又は約 0.5 μm 、又は約 0.4 μm 、又は約 0.3 μm 、又は約 0.2 μm 、又は約 0.1 μm を含んでよい。図 4 に示されるとおり、第 1 ジュース、第 3 ジュース、又はその任意の組合せは、通過物中に第 1 可溶性タンパク質 451 及び第 1 リジェクト流 452 残余物中にリジェクト流産生物 453 を生成するために精密濾過を使用してろ過されて（450）よい。

【0253】

限外濾過は、圧力、濃度グラジエント、又はこれらの組合せを使用する膜濾過を含んでよい。一部の実施形態では、限外濾過のために好適な NMWCO は、最大で約 100 kDa、又は最大で約 90 kDa、又は最大で約 80 kDa、又は最大で約 70 kDa、又は最大で約 60 kDa、又は最大で約 55 kDa、又は最大で約 50 kDa、又は最大で約 45 kDa、又は最大で約 40 kDa、又は最大で約 30 kDa、又は最大で約 20 kDa、又は最大で約 15 kDa、又は最大で約 14 kDa、又は最大で約 13 kDa、又は最大で約 12 kDa、又は最大で約 11 kDa、又は最大で約 10 kDa、又は最大で約 9 kDa、又は最大で約 8 kDa、又は最大で約 7 kDa、又は最大で約 6 kDa、又は最大で約 5 kDa、又は最大で約 4 kDa、又は最大で約 3 kDa、又は最大で約 2 kDa、又は最大で約 1 kDa であってよい。一部の実施形態では、限外濾過のために好適な NMWCO カットオフは、最大で約 1 kDa から最大で約 10 kDa、最大で約 2 kDa から最大で約 10 kDa、最大で約 3 kDa から最大で約 10 kDa、最大で約 3 kDa から最大で約 15 kDa、又は最大で約 3 kDa から最大で約 20 kDa、又は最大で約 3 kDa から最大で約 60 kDa、又は最大で約 3 kDa から最大で約 55 kDa、又は最大で約 10 kDa から最大で約 55 kDa の範囲内であってよい。

【0254】

一部の実施形態により、第 1 ジュース 441、第 3 ジュース 446、又はその任意の組合せは、第 1 可溶性タンパク質 451 及びリジェクト流 452 を生成するために限外濾過を使用してろ過されて（450）よい。図 4 に示されるとおり、第 1 可溶性タンパク質は

、限外濾過のための分子量カットオフに応じて、残余物中（例えば、図3A）又は通過物中にある場合がある。第1リジェクト流452が限外濾過の通過物である場合（例えば、図3A）、マイクロクロップの培養のためにバイオリアクター系に再利用されてよい（例えば、図1、105）。

【0255】

一部の実施形態では、ナノ濾過のために好適なフィルターサイズは、約0.01 μm 、又は約0.009 μm 、又は約0.008 μm 、又は約0.007 μm 、又は約0.006 μm 、又は約0.005 μm 、又は約0.004 μm 、又は約0.003 μm 、又は約0.002 μm 、又は約0.001 μm を含んでよい。一部の実施形態により、逆浸透濾過のために好適なフィルターサイズは、約0.001 μm 、約0.0009 μm 、約0.0008 μm 、約0.0007 μm 、約0.0006 μm 、約0.0005 μm 、約0.0004 μm 、約0.0003 μm 、約0.0002 μm 、又は約0.0001 μm を含んでよい。一部の実施形態では、第1ジュース、第3ジュース、又はその任意の組合せは、ナノ濾過又は逆浸透濾過を使用してナノ濾過水又は逆浸透水中で残余物中に第1可溶性タンパク質（例えば、図3A、351）及び通過物（例えば、図3A、352）をそれぞれ生成するためにろ過されて（450）よい。一部の実施形態では、第1リジェクト流（例えば、図3A、352）は、ナノ濾過又は逆浸透濾過の通過物であってよく、マイクロクロップの培養のためにバイオリアクター系に再利用されてよい（例えば、図1、105）。

【0256】

一部の実施形態では、緩衝液、プロテアーゼ阻害剤、抗菌剤、キレーター（例えば、EDTA）、還元剤、又はその任意の組合せは、可溶性タンパク質451に加えられてよい。一部の実施形態では、可溶性タンパク質は、約30 未満、又は約25 未満、又は約20 未満、又は約15 未満、又は約10 未満、又は約5 未満、又は約2 未満、又は約1 未満、又は約0 未満、又は-2 未満、又は-5 未満、又は-10 未満の温度で冷却及び／又は保存されてよい。低い温度に可溶性タンパク質を冷却及び／又は保存することは、分解を低減でき、及び／又はタンパク質回収効率を改善できる。

【0257】

第1可溶性タンパク質のろ過

図4に示されるとおり、第1可溶性タンパク質451は、第2可溶性タンパク質456及び第2リジェクト流457を生成するためにろ過されて（455）よい。ろ過455は、精密濾過、限外濾過、ナノ濾過又は逆浸透濾過を含んでよい。

【0258】

一部の実施形態では、精密濾過のために好適なフィルターサイズは、約10 μm 、又は約5 μm 、又は約3 μm 、又は約2 μm 、又は約1 μm 、又は約0.5 μm 、又は約0.4 μm 、又は約0.3 μm 、又は約0.2 μm 、又は約0.1 μm を含んでよい。一部の実施形態では、第1可溶性タンパク質は、通過物（未記載）中に第2可溶性タンパク質及び残余物中にリジェクト流産生物を生成するために精密濾過を使用してろ過されて（455）よい。

【0259】

限外濾過は、圧力、濃度グラジエント、又はこれらの組合せを使用する膜濾過を含んでよい。一部の実施形態では、限外濾過のために好適なNMWCOは、最大で約100 kDa、又は最大で約90 kDa、又は最大で約80 kDa、又は最大で約70 kDa、又は最大で約60 kDa、又は最大で約55 kDa、又は最大で約50 kDa、又は最大で約45 kDa、又は最大で約40 kDa、又は最大で約30 kDa、又は最大で約20 kDa、又は最大で約15 kDa、又は最大で約14 kDa、又は最大で約13 kDa、又は最大で約12 kDa、又は最大で約11 kDa、又は最大で約10 kDa、又は最大で約9 kDa、又は最大で約8 kDa、又は最大で約7 kDa、又は最大で約6 kDa、又は最大で約5 kDa、又は最大で約4 kDa、又は最大で約3 kDa、又は最大で約2 kDa、又は最大で約1 kDaであってよい。一部の実施形態では、限外濾過のために好適な

NMWCOカットオフは、最大で約1kDaから最大で約10kDa、最大で約2kDaから最大で約10kDa、最大で約3kDaから最大で約10kDa、最大で約3kDaから最大で約15kDa、又は最大で約3kDaから最大で約20kDa、又は最大で約3kDaから最大で約60kDa、又は最大で約3kDaから最大で約55kDa、又は最大で約10kDaから最大で約55kDaの範囲内であってよい。一部の実施形態により、第1可溶性タンパク質は、第2可溶性タンパク質455及びリジェクト流357を生成するために限外濾過を使用してろ過されて(455)よい。図4に示されるとおり、第2可溶性タンパク質は、限外濾過のための分子量カットオフに応じて、残余物中又は通過物(未記載)中にある場合がある。第2リジェクト流457が限外濾過の通過物である場合、図4に示されるとおり、マイクロクロップの培養のためにバイオリクター系に再利用されてよい(例えば、図1、105)。

10

【0260】

一部の実施形態では、ナノ濾過のために好適なフィルターサイズは、約0.01 μ m、又は約0.009 μ m、又は約0.008 μ m、又は約0.007 μ m、又は約0.006 μ m、又は約0.005 μ m、又は約0.004 μ m、又は約0.003 μ m、又は約0.002 μ m、又は約0.001 μ mを含んでよい。一部の実施形態により、逆浸透濾過のために好適なフィルターサイズは、約0.001 μ m、約0.0009 μ m、約0.0008 μ m、約0.0007 μ m、約0.0006 μ m、約0.0005 μ m、約0.0004 μ m、約0.0003 μ m、約0.0002 μ m、又は約0.0001 μ mを含んでよい。図4に示されるとおり、一部の実施形態では、第1可溶性タンパク質は、ナノ濾過又は逆浸透濾過を使用して残余物中に第2可溶性タンパク質456及びナノろ過水又は逆浸透水の通過物457をそれぞれ生成するためにろ過されて(455)よい。一部の実施形態では、第2リジェクト流457は、ナノ濾過又は逆浸透濾過の通過物であってよく、マイクロクロップの培養のためにバイオリクター系に再利用されてよい(例えば、図1、105)。

20

【0261】

一部の実施形態では、緩衝液、プロテアーゼ阻害剤、抗菌剤、キレーター(例えばEDTA)、還元剤、又はその任意の組合せは、第2可溶性タンパク質456に加えられてよい。第2可溶性タンパク質は、約30未満、又は約25未満、又は約20未満、又は約15未満、又は約10未満、又は約5未満、又は約2未満、又は約1未満、又は約0未満、又は-2未満、又は-5未満、又は-10未満の温度で冷却及び/又は保存されてよい。低い温度に第2可溶性タンパク質を冷却及び/又は保存することは、分解を低減でき、及び/又はタンパク質回収効率を改善できる。

30

【0262】

第1可溶性タンパク質及び/又は第2可溶性タンパク質の水分含有量の低減

一部の実施形態では、工程は、第1可溶性タンパク質451及び/又は第2可溶性タンパク質456の水分含有量を低減するために使用されてよい。(例えば、脱水)。

【0263】

一部の実施形態では、蒸発工程は、第1可溶性タンパク質451又は第2可溶性タンパク質456の水分含有量を低減し、濃縮タンパク質461を生成するために使用されてよい。第1可溶性タンパク質451又は第2可溶性タンパク質456の水分含有量を低減することは、例えば、濃縮タンパク質461を乾燥させるために必要なエネルギーを低減することによって、資本的及び操作的支出を低減できる。蒸発は、例えば：上昇フィルム蒸発器、下降フィルム蒸発器、自然循環蒸発器(垂直又は水平)、攪拌フィルム蒸発器、多重効果蒸発器、真空蒸発による、又はその任意の組合せなどの熱的(蒸発的)手段によって実施されてよい。

40

【0264】

図4に示されるとおり、一部の実施形態では、第1可溶性タンパク質451又は第2可溶性タンパク質456の水分含有量は、ナノ濾過又は逆浸透濾過によって低減され得る。一部の実施形態では、第1可溶性タンパク質451又は第2可溶性タンパク質456の水

50

分含有量は、残余物中の第1可溶性タンパク質451又は第2可溶性タンパク質456でナノ濾過を使用してそれぞれ低減され得る。一部の実施形態では、第1可溶性タンパク質451又は第2可溶性タンパク質456の水分含有量は、残余物中の第1可溶性タンパク質451又は第2可溶性タンパク質456で逆浸透濾過を使用してそれぞれ低減され得る。一部の実施形態により、ナノ濾過又は逆浸透濾過の通過物462は、再利用されてよい（例えば、溶解のための希釈液、洗浄溶液）。一部の実施形態では、逆浸透濾過及び／又はナノ濾過は、生じた濃縮タンパク質461中に溶けている望ましくない化合物（例えば、塩、カルシウムイオン）の濃度を低減できる。

【0265】

可溶性タンパク質の乾燥

一部の実施形態により、濃縮タンパク質461は、乾燥タンパク質濃縮物を生成するために乾燥されて（465）よい。一部の実施形態では、乾燥手順は、濃縮タンパク質461の水分含有量を望ましいレベル（例えば、より高い又はより低い水分含有量、望ましい水分含有量）に低減できる。一部の実施形態では、乾燥タンパク質濃縮物の水分含有量は、例えば、重量で乾燥タンパク質濃縮物の約90%未満、又は約80%未満、又は約70%未満、又は約60%未満、又は約50%未満、又は約40%未満、又は約30%未満、又は約20%未満、又は約10%未満、又は約5%未満、又は約1%未満であってよい。一部の実施形態では、乾燥タンパク質濃縮物のタンパク質濃度は、重量で乾燥タンパク質濃縮物の約30%から約95%、又は約40%から約90%、又は約50%から約85%、又は約60%から約80%、又は約70%から約75%であってよい。乾燥手順は、例

10

20

【0266】

第1固形物及び／又は固形混合物の処理

第1固形物及び／又は固形混合物は、1つ又は複数の高炭水化物産生物を生成するためにさらに処理されてよい。既に記載のとおり、固形混合物は、1つ又は複数の分離工程430/440/445後に残る第1固形物431、第1ケーキ442、第2ケーキ447、又はその任意の組合せの1つ又は複数を含んでよい。高炭水化物産生物は、燃料供給原料として好適な乾燥バイオクルード産生物又はヒト若しくは動物飼料補充物（例えば、アオウキクサミール）として好適な高炭水化物ミールを含んでよい。

30

【0267】

一部の実施形態では、第1固形物及び／又は固形混合物は、乾燥バイオクルード及び高炭水化物ミールの少なくとも1つを生成するために処理されてよい（例えば、乾燥、ペレット化）。一部の実施形態により、第1固形物及び／又は固形混合物を処理することは、乾燥及び／又はペレット化を含む。

【0268】

高炭水化物産生物（例えば、乾燥バイオクルード及び／又は高炭水化物）ミールを生成するための工程は、例えば、水分含有量、粒子サイズ、タンパク質含有量、脂肪含有量、繊維含有量、灰分、保存可能期間、ペレットサイズ、質感、又はその任意の組合せを含む、所望の具体的な特徴に基づいて変更され得る。

40

【0269】

一部の実施形態では、第1固形物及び／又は固形混合物は、得られる高炭水化物産生物（例えば、乾燥バイオクルード及び／又は高炭水化物ミール）の水分含有量を低減するために乾燥されてよい。一部の実施形態では、乾燥手順は、最終産生物が水分含有量が低減した高炭水化物産生物であるように、第1固形物及び／又は固形混合物の他の処理と同時に（例えば、先立って、続いて）実施されてよい。一部の実施形態では、乾燥手順は、例えば、スプレー乾燥機、ダブルドラム乾燥機、フラッシュ乾燥機、蒸発器、又はその任意の組合せを含む乾燥装置を使用して実施されてよい。

【0270】

一部の実施形態では、高炭水化物産生物（例えば、乾燥バイオクルード及び／又は高炭

50

水化物ミール)の水分含有量は、重量で産生物の約90%未満、又は約80%未満、又は約70%未満、又は約60%未満、又は約50%未満、又は約40%未満、又は約30%未満、又は約20%未満、又は約10%未満、又は約5%未満、又は約1%未満であってよい。

【0271】

ポリフェノール除去

一部の実施形態では、ジュース画分426、第1ジュース441、第2ジュース432、第3ジュース446、第1可溶性タンパク質451、第2可溶性タンパク質456、及び/又は濃縮タンパク質461は、少なくとも1つのポリフェノールの選択的除去のための処理ステップ(a)を受けてよい。

10

【0272】

溶媒洗浄

一部の実施形態では、第1可溶性タンパク質451、第2可溶性タンパク質456、及び/又は濃縮タンパク質461は、溶媒洗浄(b)を受けてよい。溶媒洗浄(b)は乾燥465に続いてよい。

【0273】

光合成水生生物種からタンパク質及び高炭水化物産生物を抽出する系

本開示の実施形態は、光合成水生生物種からタンパク質及び高炭水化物産生物を抽出する系も提供する。そのような系は、例えば：溶解バイオマスを生成するようにバイオマス(例えば、洗浄、未洗浄)を溶解するための溶解ユニット(例えば、220/320/420)；ジュース画分及び固形画分を生成するために溶解バイオマスを分離するための第1分離ユニット(例えば、225/325/425)；第1ジュース及び第1ケーキを形成するための第2分離ユニット(例えば、240/340/440)；第1固形物及び第2ジュースを形成するための第3分離ユニット(例えば、230/330/430)；第2ケーキ及び第3ジュースを形成するための第4分離ユニット(例えば、245/345/445)；可溶性タンパク質及びリジェクト流を形成するため、又は第1可溶性タンパク質及び第1リジェクト流を形成するため、又は第2可溶性タンパク質及び第2リジェクト流を形成するためのタンパク質濃縮ユニット(例えば、250/350/355/450/455)；濃縮タンパク質及び通過物を形成するための脱水ユニット(例えば、360/460)；乾燥タンパク質濃縮物を生成するために可溶性タンパク質産生物を乾燥させるためのタンパク質乾燥ユニット(例えば、255/365/465)；並びに少なくとも1つの高炭水化物産生物(例えば、乾燥バイオクルード、高炭水化物ミール)を生成するために第1固形物又は固形混合物を乾燥させるための炭水化物乾燥ユニット(例えば、235/335/435)を含んでよい。表6に要約されているのは、上に記載のユニットに含まれ得る器具である。

20

30

【表 6】

表6:器具例	
溶解ユニット (例えば、220/320)	せん断ミル、ボールミル、コロイドミル、ナイフミル、ハンマーミル、 グラインディングミル、ピューレマシ、フィルタープレス
第1分離ユニット (例えば、225/325)	デカンター遠心分離、ベルトプレス、ファンプレス、ロータリープレス、 スクリュープレス、フィルタープレス、フィニッシャープレス
第2分離ユニット (例えば、240/340)	高速ディスクスタック遠心分離機、環状振動分離機、 直鎖状/傾斜運動振とう機、デカンター遠心分離機、フィルタープレス、 加圧濾過装置、精密濾過モジュール、真空濾過器具
第3分離ユニット (例えば、230/330)	ベルトプレス、ファンプレス、ロータリープレス、スクリュープレス、 フィルタープレス、フィニッシャープレス、デカンター遠心分離
第4分離ユニット (例えば、245/345)	高速ディスクスタック遠心分離機、環状振動分離機、 直鎖状/傾斜運動振とう機、デカンター遠心分離機、フィルタープレス、 加圧濾過装置、精密濾過、真空濾過器具
タンパク質濃縮ユニット (例えば、250/350/355)	精密濾過モジュール、限外濾過モジュール、ナノ濾過モジュール、 ユニット逆浸透濾過モジュール * 上のいずれのモジュールも単一又は複数段階クロスフロー膜濾過系 として構成されてよい。
脱水ユニット	上昇フィルム蒸発器、下降フィルム蒸発器、自然循環蒸発器(垂直又は 水平)、攪拌フィルム蒸発器、多重効果蒸発器、真空蒸発器具、 ナノ濾過モジュール、逆浸透濾過モジュール
タンパク質乾燥ユニット	スプレー乾燥器、ドラム乾燥器、フラッシュ乾燥器
炭水化物乾燥ユニット	スプレー乾燥器、ドラム乾燥器、フラッシュ乾燥器

【実施例】

【0274】

可溶性マイクロクロップ組成物を本開示によるポリフェノール低減工程に供した。下の表7は、出発材料及び産生物に実施した分析を要約している。示すとおり、タンパク質の実質的な損失を伴うことなく(すなわち、出発材料に対して95%回収)ポリフェノール含有量は50%まで低減された。

【表 7】

表7. ウェット流分析			
対照タンパク質含有量	4.4	mg/ml	
	4400	mg/l	
タンパク質回収率	95%		>95%
処置タンパク質含有量	4180	mg/l	
対照ポリフェノール含有量	769.1	mg/l	
ポリフェノール低減	50%		範囲45~55%
処置ポリフェノール含有量	384.55	mg/l	

10

【0275】

各ユニットについて列挙された器具は例示の目的のみであり、出願の範囲を限定することを意図しないことは理解される。これら又は他の器具若しくはユニットの具体的な組合せは、本出願の教示に基づいて意図する使用のためにそのような系に構成されてよい。

【0276】

当業者は、本開示の範囲から逸脱することなく、パーツの形、サイズ、数、分離特徴、及び／又は配置において種々の変更を行うことができる。各開示の方法及び方法ステップは、任意の他の開示の方法又は方法ステップと関連して、一部の実施形態により任意の順序で実施されてよい。動詞「してよい（し得る、する場合がある）（may）」が記される場合、任意選択及び／又は許容状態を表すことを意図しているが、他に示す場合を除いてその使用は実施可能性のなんらかの欠如を示唆すると意図されない。当業者は、開示の組成物、デバイス及び／又は系の調製及び使用の方法において種々の変更を行うことができる。所望により、本開示の一部の実施形態は、他の実施形態を排除して実施されてよい。

20

【0277】

同様に、範囲が提供される場合、本開示の端点は、具体的な実施形態の所望により又は要求により正確に及び／又は近似として扱われてよい。端点が近似である場合、変動の程度は範囲の桁に比例して変動してよい。例えば、一方で約5から約50の範囲の内容での約50の範囲の端点は、50.5を含んでよいが52.5又は55を含まず、一方約0.5から約50の範囲の内容での約50の範囲の端点は、55を含んでよいが60も75も含まない。加えて一部の実施形態では、範囲の端点を合わせる及び適合させることが望ましい場合がある。同様に一部の実施形態では、開示の各図（例えば1つ又は複数の例、表及び／又は図面）が、範囲の基準（例えば、示された値の+/-約10%、示された値の+/-約50%、示された値の+/-約100%）及び／又は範囲の端点を形成する場合がある。前者に関して、例、表及び／又は図面に記載された50の値は、例えば、約45から約55、約25から約100、及び／又は約0から約100の範囲の基準を形成する場合がある。提供される場合、濃度及び／又は比は、関連構成成分（例えば、特定のタンパク質、特定の炭水化物、特定の脂肪、特定のポリフェノール）の具体的な例、又は関連構成成分の合計濃度（例えば、総タンパク質、総炭水化物、総脂肪、総ポリフェノール）を指す場合がある。

30

40

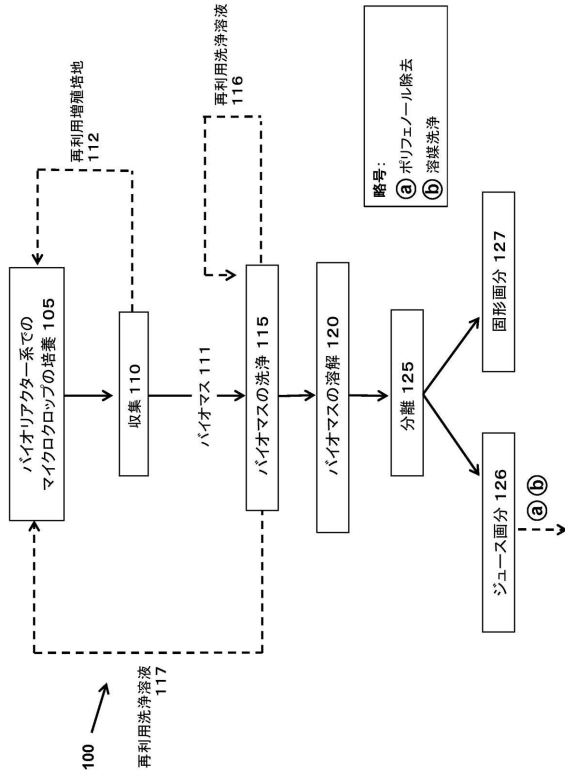
【0278】

これらの等価物及び代替物は、明らかな変更及び修飾と共に本開示の範囲に含まれることが意図される。したがって、前述の開示は、添付の特許請求の範囲によって例示される本開示の範囲の例示であり、限定でないことが意図される。

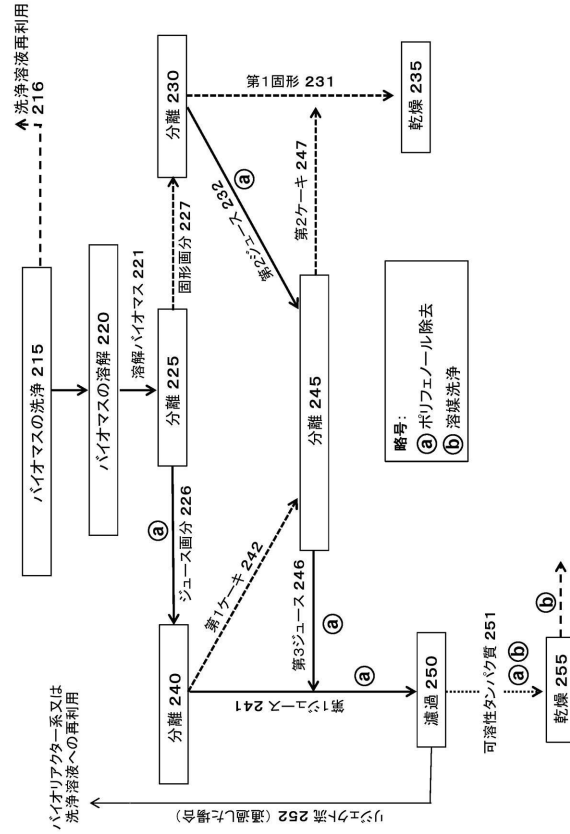
【0279】

表題、要約、背景及び見出しは、規制に従って、及び／又は読者の便宜のために提供されている。それらは、先行技術の範囲及び内容に関するいかなる承認並びにすべての開示の実施形態に適用可能ないかなる限定も含まない。

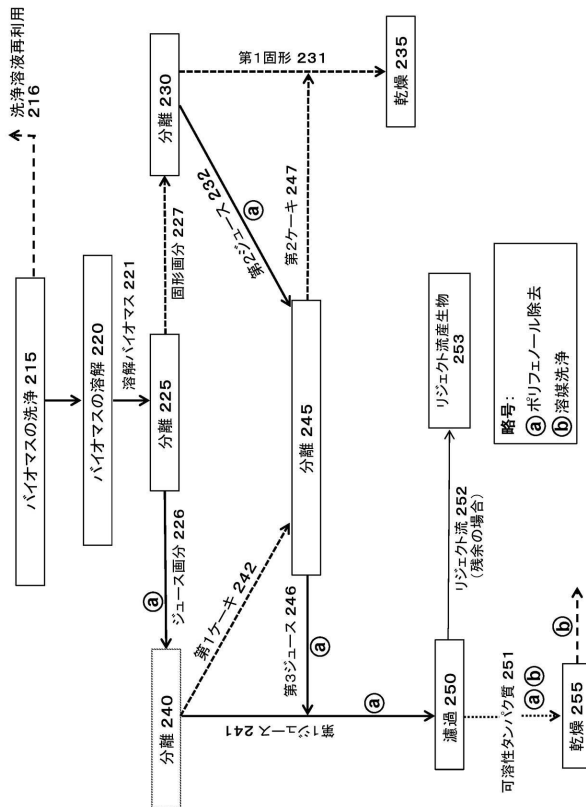
【図 1】



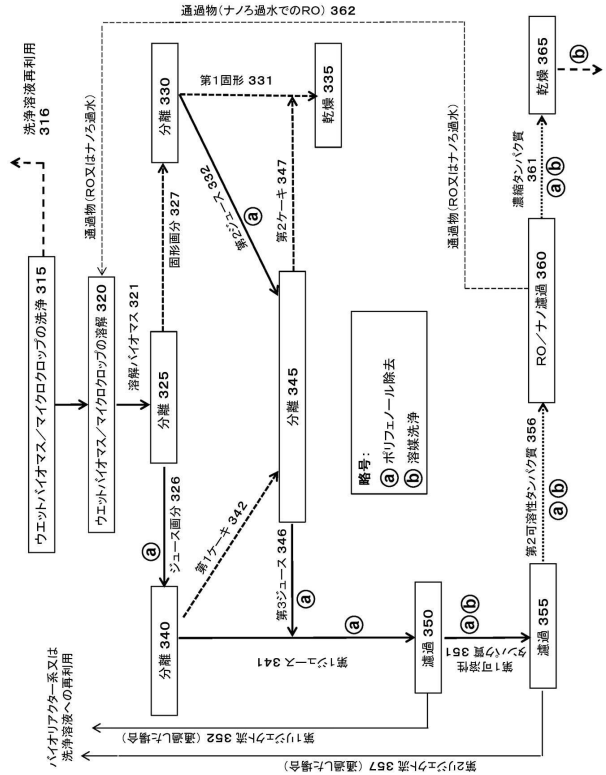
【図 2 A】



【図 2 B】



【図 3 A】



フロントページの続き

(72)発明者 ウィーバー、ハーベイ

アメリカ合衆国 32901 フロリダ、メルボルン、エス . ハーバー シティー ブールバード
1901、スイート 600

(72)発明者 イフェデュバ、エベネゼル

アメリカ合衆国 32901 フロリダ、メルボルン、エス . ハーバー シティー ブールバード
1901、スイート 600

(72)発明者 アンタリク、ポール

アメリカ合衆国 32901 フロリダ、メルボルン、エス . ハーバー シティー ブールバード
1901、スイート 600

審査官 福澤 洋光

(56)参考文献 特表2013-521808(JP, A)

国際公開第2014/046543(WO, A1)

米国特許出願公開第2010/0028505(US, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12N 1/00 - 15/90

C07K 1/00 - 19/00

C12M 1/00 - 3/00

CA/MEDLINE/BIOSIS/WPIDS(STN)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

PubMed