

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2018-532424
(P2018-532424A)

(43) 公表日 平成30年11月8日(2018.11.8)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
A23J 1/00 (2006.01)	A23J 1/00	B 2B150
A23L 33/185 (2016.01)	A23L 33/185	4B018
A23K 20/147 (2016.01)	A23K 20/147	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 58 頁)

(21) 出願番号	特願2018-532528 (P2018-532528)	(71) 出願人	517430370 パラベル リミテッド 英領ケイマン諸島 ケイワイ1-1002 グランド ケイマン、ピー. オー. ボックス 10240、サウス チャーチ ストリート 103、ハーバー プレイス、フォース フロア、ハーニーズ サービシイズ (ケイマン) リミテッド 気付
(86) (22) 出願日	平成28年9月12日 (2016. 9. 12)	(71) 出願人	518083630 カルピオ、ヴァレンティーナ アメリカ合衆国 32948 フロリダ、 フェルスメア、コマース ストリート、ヘッドウォーターズ 7898
(85) 翻訳文提出日	平成30年4月27日 (2018. 4. 27)	(74) 代理人	110000855 特許業務法人浅村特許事務所
(86) 國際出願番号	PCT/US2016/051366		最終頁に続く
(87) 國際公開番号	W02017/044966		
(87) 國際公開日	平成29年3月16日 (2017. 3. 16)		
(31) 優先権主張番号	62/216,975		
(32) 優先日	平成27年9月10日 (2015. 9. 10)		
(33) 優先権主張國	米国 (US)		

(54) 【発明の名称】微小作物から高濃度タンパク質生成物を処理するための方法およびシステム、ならびにその組成物

(57) 【要約】

本開示は、いくつかの実施形態によれば、微小作物（例えば、水生種、Lemna）から高濃度タンパク質生成物を処理するための方法およびシステム、ならびにその組成物に関する。いくつかの実施形態によれば、本開示は、微小作物（例えば、Lemna）を含むバイオマスを処理する方法であって、この方法は、プランチング溶液中、バイオマスの第1の部分をプランチングし、濡れたタンパク質濃縮物を作成することと；分離した溶液から、第1の濡れたタンパク質濃縮物を分離することと（例えば、スクリュープレスを用いて、振動ふるいを用いて）；第1の濡れたタンパク質濃縮物を乾燥させ、第1のタンパク質濃縮物のフレークおよび第1のタンパク質濃縮物の顆粒のうち少なくとも1つを作成することとを含む。いくつかの実施形態において、第1のタンパク質濃縮物のフレークおよび第1のタンパク質濃縮物の顆粒のうち少なくとも1つが、少なくとも45%のタンパク質を含んでいてもよく、タンパク質消化性補正アミノ酸スコア（PDCASS）値が少なくとも0.88である。いくつかの実施形態において、本開示は、微小作物に由来する（例えば、Lemnaに由来する）タンパク質生成物および組成物に関する。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

微小作物を含むバイオマスを処理する方法であって、
プランチング溶液中、バイオマスの第1の部分をプランチングし、濡れたタンパク質濃縮物を作成することと；

分離した溶液から、第1の濡れたタンパク質濃縮物を分離することと；

第1の濡れたタンパク質濃縮物を乾燥させ、第1のタンパク質濃縮物のフレークおよび第1のタンパク質濃縮物の顆粒のうち少なくとも1つを作成することとを含み、

第1のタンパク質濃縮物のフレークおよび第1のタンパク質濃縮物の顆粒のうち少なくとも1つは、少なくとも45%のタンパク質を含み、タンパク質消化性補正アミノ酸スコア(PDCASS)値が少なくとも0.88である、方法。
10

【請求項 2】

PDCASS値がヒスチジンによって制限される、請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

プランチング溶液とバイオマスの第1の部分との比が、7:1(w/w)、または6:1(w/w)、または5:1(w/w)、または4:1(w/w)である、請求項1に記載の方法。

【請求項 4】

プランチング溶液中、バイオマスの第1の部分をプランチングすることは、バイオマスの第1の部分と、プランチング溶液とを7:1の生成物流速比で組み合わせることをさらに含む、請求項1に記載の方法。
20

【請求項 5】

プランチング溶液中、バイオマスをプランチングすることは、バイオマスをプランチング溶液に1分未満さらすことをさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 6】

プランチング溶液中、バイオマスをプランチングすることは、バイオマスの少なくとも1つの表面とプランチング溶液とを接触させることをさらに含む、請求項5に記載の方法。
。

【請求項 7】

プランチング溶液中、バイオマスの第1の部分をプランチングすることは、バイオマスをプランチング溶液に約45秒間さらすことを含む、請求項1に記載の方法。
30

【請求項 8】

プランチング溶液中、バイオマスの第1の部分をプランチングすることは、バイオマスをプランチング溶液に2分未満さらすことを含み、プランチング溶液は、約75~95の温度を有する、請求項1に記載の方法。

【請求項 9】

分離した溶液から第1の濡れたタンパク質濃縮物を分離することが、スクリュープレスを用いて行われる、請求項1に記載の方法。

【請求項 10】

タンパク質濃縮物のフレークおよびタンパク質濃縮物の顆粒のうち少なくとも1つを粉碎し、タンパク質濃縮物の粉状物を作成することをさらに含む、請求項1に記載の方法。
40

【請求項 11】

濡れたタンパク質濃縮物を溶媒抽出することをさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 12】

分離した溶液から濡れたタンパク質濃縮物を分離することが、振動ふるいを用いて行われる、請求項11に記載の方法。

【請求項 13】

バイオマスの第1の部分を、第1の洗浄液、第2の洗浄液および第3の洗浄液のうちの少なくとも1つで洗浄することをさらに含み、第1の洗浄液、第2の洗浄液および第3の洗浄液は、水、リサイクルされた流体およびオゾン処理された溶液から独立して選択され
50

る、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 4】

濡れたタンパク質濃縮物を冷却することをさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 5】

プランチング溶液が、少なくとも 1 種のカルシウム塩を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 6】

微小作物が、*Lemna* および *Wolffia* のうち少なくとも 1 つを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 7】

分離した溶液をリサイクルすることをさらに含み、分離した溶液をリサイクルすることは、

分離した溶液を希釈すること；

分離した溶液を濾過すること；および

分離した溶液をモニタリングすることのうち少なくとも 1 つを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 8】

プランチング溶液中またはリサイクルされたプランチング溶液中、バイオマスの第 2 の部分をプランチングし、第 2 の濡れたタンパク質濃縮物を作成すること；

分離した溶液から、第 2 の濡れたタンパク質濃縮物を分離すること；

第 2 の濡れたタンパク質濃縮物を乾燥させ、第 2 のタンパク質濃縮物のフレークおよび第 2 のタンパク質濃縮物の顆粒のうち少なくとも 1 つを作成することとを含み、

第 2 のタンパク質濃縮物のフレークおよび第 2 のタンパク質濃縮物の顆粒のうち少なくとも 1 つは、少なくとも 45% のタンパク質を含み、P D C A S S 値が少なくとも 0.88 である、請求項 1 7 に記載の方法。

【請求項 1 9】

微小作物を含むバイオマスを処理することによって作られる、高濃度タンパク質生成物であって、この処理方法は、

プランチング溶液中、バイオマスの第 1 の部分をプランチングし、濡れたタンパク質濃縮物を作成すること；

分離した溶液から、第 1 の濡れたタンパク質濃縮物を分離すること；

第 1 の濡れたタンパク質濃縮物を乾燥させ、第 1 のタンパク質濃縮物のフレークおよび第 1 のタンパク質濃縮物の顆粒のうち少なくとも 1 つを作成することとを含み、

第 1 のタンパク質濃縮物のフレークおよび第 1 のタンパク質濃縮物の顆粒のうち少なくとも 1 つは、少なくとも 45% のタンパク質を含み、タンパク質消化性補正アミノ酸スコア (P D C A S S) 値が少なくとも 0.88 である、高濃度タンパク質生成物。

【請求項 2 0】

P D C A S S 値がヒスチジンによって制限される、請求項 1 9 に記載の高濃度タンパク質生成物。

【請求項 2 1】

前記方法が、タンパク質濃縮物のフレークおよびタンパク質濃縮物の顆粒のうち少なくとも 1 つを粉碎し、タンパク質濃縮物の粉状物を作成することをさらに含む、請求項 1 9 に記載の高濃度タンパク質生成物。

【請求項 2 2】

タンパク質濃縮物のフレークおよびタンパク質濃縮物の顆粒のうち少なくとも 1 つが、少なくとも 0.92 の P D C A S S ；

少なくとも 90% の消化率；

10% 未満 D M B の灰分；

少なくとも 30% の食物纖維含量；

1% 未満 D M B のシウ酸含量；

3.2 mg / 100 g 未満のポリフェノール含量；

10

20

30

40

50

7 % 未満の脂肪含量；

少なくとも 7 m l / g の水結合能；および

少なくとも 3 m l / g の油結合能

のうち少なくとも 1 つを有する、請求項 1 9 に記載の高濃度タンパク質生成物。

【請求項 2 3】

タンパク質濃縮物のフレークおよびタンパク質濃縮物の顆粒のうち少なくとも 1 つが、

0 . 2 5 % 未満 D M B のシュウ酸含量；

1 . 7 5 m g / 1 0 0 g 未満のポリフェノール含量

のうち少なくとも 1 つを有する、請求項 1 9 に記載の高濃度タンパク質生成物。

【請求項 2 4】

前記方法が、濡れたタンパク質濃縮物を溶媒抽出することをさらに含む、請求項 1 9 に記載の高濃度タンパク質生成物。

【請求項 2 5】

分離した溶液から濡れたタンパク質濃縮物を分離することが、振動ふるいを用いて行われる、請求項 2 4 に記載の高濃度タンパク質生成物。

【請求項 2 6】

タンパク質濃縮物のフレークおよびタンパク質濃縮物の顆粒のうち少なくとも 1 つが、

少なくとも 5 0 % のタンパク質含量；

少なくとも 0 . 9 2 の P D C A S S ；

減少したクロロフィル濃度；

少なくとも 9 0 % の消化率；

1 0 % 未満 D M B の灰分；

少なくとも 3 0 % の食物繊維含量；

1 % 未満 D M B のシュウ酸含量；

3 . 2 m g / 1 0 0 g 未満のポリフェノール含量；

5 % 未満の脂肪含量；

少なくとも 7 m l / g の水結合能；および

少なくとも 3 m l / g の油結合能

のうち少なくとも 1 つを有する、請求項 2 4 に記載の高濃度タンパク質生成物。

【請求項 2 7】

タンパク質濃縮物のフレークおよびタンパク質濃縮物の顆粒のうち少なくとも 1 つが、

0 . 2 5 % 未満 D M B のシュウ酸含量；

1 . 7 5 m g / 1 0 0 g 未満のポリフェノール含量

のうち少なくとも 1 つを有する、請求項 2 4 に記載の高濃度タンパク質生成物。

【請求項 2 8】

微小作物が、L e m n a および W o l f f i a のうち少なくとも 1 つを含む、請求項 1 9 に記載の高濃度タンパク質生成物。

【請求項 2 9】

微小作物を含むバイオマスを処理する方法であって、

プランチング溶液中、バイオマスの第 1 の部分をプランチングし、第 1 の濡れたタンパク質濃縮物を作成することと；

分離した溶液から、第 1 の濡れたタンパク質濃縮物を分離することと；

第 1 の濡れたタンパク質濃縮物を粉碎し、第 1 の粉碎した濡れたタンパク質濃縮物を作成することと；

第 1 の粉碎した濡れたタンパク質濃縮物を乾燥させ、第 1 の粉碎した乾燥タンパク質濃縮物を作成することとを含み、

第 1 の粉碎した乾燥タンパク質濃縮物は、少なくとも 4 5 % のタンパク質を含み、タンパク質消化性補正アミノ酸スコア (P D C A S S) 値が少なくとも 0 . 8 8 である、方法。

【請求項 3 0】

10

20

30

40

50

P D C A S S 値がヒスチジンによって制限される、請求項 2 9 に記載の方法。

【請求項 3 1】

プランチング溶液とバイオマスの第 1 の部分との比が、7 : 1 (w / w)、または 6 : 1 (w / w)、または 5 : 1 (w / w)、または 4 : 1 (w / w) である、請求項 2 9 に記載の方法。

【請求項 3 2】

プランチング溶液中、バイオマスの第 1 の部分をプランチングすることは、バイオマスの第 1 の部分と、プランチング溶液とを 7 : 1 の生成物流速比で組み合わせることをさらに含む、請求項 2 9 に記載の方法。

【請求項 3 3】

プランチング溶液中、バイオマスをプランチングすることは、バイオマスをプランチング溶液に 1 分未満さらすことをさらに含む、請求項 2 9 に記載の方法。

【請求項 3 4】

プランチング溶液中、バイオマスをプランチングすることは、バイオマスの少なくとも 1 つの表面とプランチング溶液とを接触させることをさらに含む、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 5】

プランチング溶液中、バイオマスの第 1 の部分をプランチングすることは、バイオマスをプランチング溶液に約 4 5 秒間さらすことを含む、請求項 2 9 に記載の方法。

【請求項 3 6】

プランチング溶液中、バイオマスの第 1 の部分をプランチングすることは、バイオマスをプランチング溶液に 2 分未満さらすことを含み、プランチング溶液は、約 7 5 ~ 9 5 の温度を有する、請求項 2 9 に記載の方法。

【請求項 3 7】

第 1 の濡れたタンパク質濃縮物または第 1 の粉碎した濡れたタンパク質濃縮物を溶媒抽出することをさらに含む、請求項 2 9 に記載の方法。

【請求項 3 8】

分離した溶液から濡れたタンパク質濃縮物を分離することが、振動ふるいを用いて行われる、請求項 3 7 に記載の方法。

【請求項 3 9】

バイオマスの第 1 の部分を、第 1 の洗浄液、第 2 の洗浄液および第 3 の洗浄液のうちの少なくとも 1 つで洗浄することをさらに含み、第 1 の洗浄液、第 2 の洗浄液および第 3 の洗浄液は、水、リサイクルされた流体およびオゾン処理された溶液から独立して選択される、請求項 2 9 に記載の方法。

【請求項 4 0】

濡れたタンパク質濃縮物を冷却することをさらに含む、請求項 2 9 に記載の方法。

【請求項 4 1】

プランチング溶液が、少なくとも 1 種のカルシウム塩を含む、請求項 2 9 に記載の方法。

【請求項 4 2】

微小作物が、L e m n a および W o l f f i a のうち少なくとも 1 つを含む、請求項 2 9 に記載の方法。

【請求項 4 3】

分離した溶液をリサイクルすることをさらに含み、分離した溶液をリサイクルすることは、

分離した溶液を希釈すること；

分離した溶液を濾過すること；および

分離した溶液をモニタリングすること

のうち少なくとも 1 つを含む、請求項 2 9 に記載の方法。

【請求項 4 4】

10

20

30

40

50

プランチング溶液中またはリサイクルされたプランチング溶液中、バイオマスの第2の部分をプランチングし、第2の濡れたタンパク質濃縮物を作成することと；

分離した溶液から、第2の濡れたタンパク質濃縮物を分離することと；

濡れたタンパク質濃縮物の第2の部分を粉碎し、第2の粉碎した濡れたタンパク質濃縮物を作成することと；

第2の粉碎した濡れたタンパク質濃縮物を乾燥させ、第2の粉碎した乾燥タンパク質濃縮物を作成することとをさらに含み、

第2の粉碎した乾燥タンパク質濃縮物は、少なくとも45%のタンパク質を含み、PDCASS値が少なくとも0.88である、請求項43に記載の方法。

【請求項45】

少なくとも1つの高濃度タンパク質生成物と少なくとも1つの媒体を含むタンパク質組成物であって、

少なくとも1つの高濃度タンパク質生成物が、タンパク質濃縮物のフレーク、タンパク質濃縮物の顆粒、タンパク質濃縮物の粉状物または粉碎した乾燥タンパク質濃縮物のうち少なくとも1つを含み、

少なくとも1つの高濃度タンパク質生成物が、微小作物から抽出され、

少なくとも1つの高濃度タンパク質生成物が、少なくとも45%のタンパク質を含み、タンパク質消化性補正アミノ酸スコア(PDCASS)値が少なくとも0.88である、タンパク質組成物。

【請求項46】

PDCASS値がヒスチジンによって制限される、請求項45に記載のタンパク質組成物。

【請求項47】

タンパク質組成物が、シェイク、スムージー、栄養バーおよび動物飼料製品から選択される、請求項45に記載のタンパク質組成物。

【請求項48】

タンパク質濃縮物のフレーク、タンパク質濃縮物の顆粒、タンパク質濃縮物の粉状物または粉碎した乾燥タンパク質濃縮物のうち少なくとも1つが、

少なくとも50%のタンパク質含量；

少なくとも0.92のPDCASS；

減少したクロロフィル濃度；

少なくとも90%の消化率；

10%未満DMBの灰分；

少なくとも30%の食物纖維含量；

1%未満DMBのシウ酸含量；

3.2mg/100g未満のポリフェノール含量；

5%未満の脂肪含量；

少なくとも7ml/gの水結合能；および

少なくとも3ml/gの油結合能

のうち少なくとも1つをさらに有する、請求項45に記載のタンパク質組成物。

【請求項49】

タンパク質濃縮物のフレーク、タンパク質濃縮物の顆粒、タンパク質濃縮物の粉状物または粉碎した乾燥タンパク質濃縮物のうち少なくとも1つが、

0.25%未満DMBのシウ酸含量；

1.75mg/100g未満のポリフェノール含量

のうち少なくとも1つをさらに有する、請求項45に記載のタンパク質組成物。

【請求項50】

少なくとも1つの添加剤をさらに含む、請求項45に記載のタンパク質組成物。

【請求項51】

少なくとも1つの添加剤が、甘味料、親水コロイド安定剤、フレーバー、栄養成分、ま

10

20

30

40

50

たはそれらの任意の組み合わせから選択される、請求項 50 に記載のタンパク質組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2015年9月10日に出願された米国仮出願第62/216,975号に対する優先権を主張し、その内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

本開示は、いくつかの実施形態において、微小作物（例えば、水生種、Lemna、Wolffia）からタンパク質生成物（例えば、高濃度タンパク質生成物）を処理するための方法およびシステム、ならびにその組成物に関する。10

【背景技術】

【0003】

世界の人口がますます増加しており、特に発展途上国において、動物飼料およびヒトの摂取の両方のためのタンパク質資源を十分に、かつ手頃に得ることを含め、持続可能性に関する多くの関心が高まり続けている。海洋性タンパク質資源は、望ましい栄養学的プロファイルおよび高い嗜好性に起因して、飼料に利用されることが多いが、高い生産コストから代替物の需要が増している。しかしながら、多くの植物種は、劣ったアミノ酸プロファイル、劣ったタンパク質品質および／または量、劣った消化率、高い纖維含量、および／または高いシユウ酸含量などの品質のため、不適当な代替物である。さらに、特に赤道および乾燥地帯における水質保護の懸念は、タンパク質濃縮物の生産に適した代替種を特定するまでの原動力である。20

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

したがって、タンパク質生成物（例えば、高濃度タンパク質生成物）の生成のための改善された方法およびシステムが必要とされている。さらに、シユウ酸含量が低いタンパク質生成物（例えば、高濃度タンパク質生成物）の生成のための改善された方法およびシステムが必要とされている。さらに、必要な水消費量が少ない様式での、タンパク質生成物（例えば、高濃度タンパク質生成物）の生成のための改善された方法およびシステムが必要とされている。30

【課題を解決するための手段】

【0005】

本開示は、いくつかの実施形態において、微小作物（例えば、水生種、Lemna）からタンパク質生成物（例えば、高濃度タンパク質生成物）を処理するための方法およびシステム、ならびにその組成物に関する。方法は、例えば、収穫したバイオマスをプランチングし、プランチングしたバイオマスを作成することと、プランチングしたバイオマスを乾燥させ、乾燥したバイオマスを作成することと、乾燥したバイオマスを粉碎し、高濃度タンパク質生成物（例えば、タンパク質濃縮物の粉状物、粉碎した乾燥タンパク質濃縮物）を作成することとを含んでいてもよい。40

【0006】

いくつかの実施形態によれば、本開示は、微小作物を含むバイオマスを処理する方法に關し、この方法は、プランチング溶液中、バイオマスの第1の部分をプランチングし、濡れたタンパク質濃縮物を作成することと；分離した溶液から、第1の濡れたタンパク質濃縮物を分離することと（例えば、スクリュープレスを用いて、振動ふるいを用いて）；第1の濡れたタンパク質濃縮物を乾燥させ、第1のタンパク質濃縮物のフレークおよび第1のタンパク質濃縮物の顆粒のうち少なくとも1つを作成することとを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、微小作物は、LemnaおよびWolffiaの少なくとも1つを含んでいてもよい。

【0007】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態において、第1のタンパク質濃縮物のフレークおよび第1のタンパク質濃縮物の顆粒のうち少なくとも1つが、少なくとも45%のDMBタンパク質を含んでいてもよく、このタンパク質は、タンパク質消化性補正アミノ酸スコア(PDCASS)値が少なくとも0.88である。いくつかの実施形態において、PDCASS値は、ヒスチジンによって制限されてもよい。いくつかの実施形態によれば、方法は、タンパク質濃縮物のフレークおよびタンパク質濃縮物の顆粒のうち少なくとも1つを粉碎し、タンパク質濃縮物の粉状物を作成することをさらに含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、方法は、バイオマスの第1の部分を、第1の洗浄液、第2の洗浄液および第3の洗浄液のうちの少なくとも1つで洗浄することを含んでいてもよく、第1の洗浄液、第2の洗浄液および第3の洗浄液は、水、リサイクルされた流体およびオゾン処理された溶液から独立して選択されてもよい。

10

【0008】

いくつかの実施形態において、方法は、プランチング溶液とバイオマスの第1の部分との比が7:1(w/w)、または6:1(w/w)、または5:1(w/w)、または4:1(w/w)の状態で、プランチング溶液をバイオマスの第1の部分と接触させて行われてもよい。バイオマスの第1の部分をプランチングすることは、いくつかの実施形態において、バイオマスの第1の部分と、プランチング溶液とを7:1(w/w)の生成物流速比(プランチング溶液とバイオマスとの)で組み合わせることをさらに含んでいてもよい。いくつかの実施形態によれば、バイオマスをプランチングすることは、バイオマスをプランチング溶液に1分未満さらすことを含んでいてもよい。方法は、いくつかの実施形態によれば、バイオマスをプランチング溶液に約45秒間さらすことを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、バイオマスをプランチングすることは、バイオマスの少なくとも1つの表面とプランチング溶液とを接触させることを含んでいてもよい。いくつかの実施形態によれば、バイオマスの第1の部分をプランチングすることは、バイオマスをプランチング溶液に2分未満さらすことを含んでいてもよく、プランチング溶液は、約75~95の温度を有していてもよい。プランチング溶液は、いくつかの実施形態において、少なくとも1種類のカルシウム塩を含んでいてもよい。いくつかの実施形態によれば、方法は、濡れたタンパク質濃縮物を冷却することを含んでいてもよい。

20

【0009】

いくつかの実施形態によれば、微小作物を含むバイオマスを処理する方法は、濡れたタンパク質濃縮物を溶媒抽出することを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、濡れたタンパク質濃縮物を、振動ふるいを用い、分離した溶液から分離してもよい(例えば、溶媒抽出前)。

30

【0010】

微小作物を含むバイオマスを処理する方法は、分離した溶液を希釈すること;分離した溶液を濾過すること;および分離した溶液をモニタリングすることのうち少なくとも1つを行うことによって、分離した溶液をリサイクルすることをさらに含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、方法は、プランチング溶液中またはリサイクルされたプランチング溶液中、バイオマスの第2の部分をプランチングし、第2の濡れたタンパク質濃縮物を作成することと;分離した溶液から、第2の濡れたタンパク質濃縮物を分離することと;第2の濡れたタンパク質濃縮物を乾燥させ、第2のタンパク質濃縮物のフレークおよび第2のタンパク質濃縮物の顆粒のうち少なくとも1つを作成することとを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、第2のタンパク質濃縮物のフレークおよび第2のタンパク質濃縮物の顆粒のうち少なくとも1つが、少なくとも45%のDMBタンパク質を含んでいてもよく、このタンパク質は、PDCASS値が少なくとも0.88である。

40

【0011】

本開示は、さらに、いくつかの実施形態において、微小作物(例えば、Lemna、Wolffia)を含むバイオマスを処理することによって作られる高濃度タンパク質生成物に關し、この処理方法は、プランチング溶液中、バイオマスの第1の部分をプランチングし、濡れたタンパク質濃縮物を作成することと;分離した溶液から、第1の濡れたタン

50

パク質濃縮物を分離することと；第1の濡れたタンパク質濃縮物を乾燥させ、第1のタンパク質濃縮物のフレークおよび第1のタンパク質濃縮物の顆粒のうち少なくとも1つを作成することとを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、第1のタンパク質濃縮物のフレークおよび第1のタンパク質濃縮物の顆粒のうち少なくとも1つが、少なくとも45%のDMBタンパク質を含んでいてもよく、このタンパク質は、PDCASS値が少なくとも0.88である。いくつかの実施形態によれば、PDCASS値は、ヒスチジンによって制限されてもよい。いくつかの実施形態によれば、タンパク質濃縮物のフレークおよびタンパク質濃縮物の顆粒のうち少なくとも1つを粉碎し、タンパク質濃縮物の粉状物を作成してもよい。

【0012】

10

いくつかの実施形態において、タンパク質濃縮物のフレークおよびタンパク質濃縮物の顆粒のうち少なくとも1つが、少なくとも0.92のPDCASS；少なくとも90%の消化率；10%未満DMBの灰分；少なくとも30%の食物纖維含量；1%未満DMBのシウ酸含量；3.2mg/100g未満のポリフェノール含量；7%未満の脂肪含量；少なくとも7ml/gの水結合能；および少なくとも3ml/gの油結合能のうち少なくとも1つの特徴を有していてもよい。いくつかの実施形態において、タンパク質濃縮物のフレークおよびタンパク質濃縮物の顆粒のうち少なくとも1つは、0.25%未満DMBのシウ酸含量、1.75mg/100g未満のポリフェノール含量、またはその両方を有していてもよい。

【0013】

20

いくつかの実施形態によれば、微小作物を含むバイオマスを処理する方法は、濡れたタンパク質濃縮物を溶媒抽出することを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、濡れたタンパク質濃縮物を、振動ふるいを用い、分離した溶液から分離してもよい（例えば、溶媒抽出前）。溶媒抽出を含む方法によって生成される高濃度タンパク質生成物は、少なくとも50%のタンパク質含量；少なくとも0.92のPDCASS；減少したクロロフィル濃度；少なくとも90%の消化率；10%未満DMBの灰分；少なくとも30%の食物纖維含量；1%未満DMBのシウ酸含量；3.2mg/100g未満のポリフェノール含量；5%未満の脂肪含量；少なくとも7ml/gの水結合能；および少なくとも3ml/gの油結合能といった特徴のうち少なくとも1つを有する、タンパク質濃縮物のフレークおよびタンパク質濃縮物の顆粒のうち少なくとも1つを作成してもよい。いくつかの実施形態において、溶媒抽出を含む方法によって作成されるタンパク質濃縮物のフレークおよびタンパク質濃縮物の顆粒のうち少なくとも1つは、0.25%未満DMBのシウ酸含量、1.75mg/100g未満のポリフェノール含量、またはその両方を有していてもよい。

30

【0014】

本開示のいくつかの実施形態は、微小作物を含むバイオマスを処理する方法に関し、この方法は、プランチング溶液中、バイオマスの第1の部分をプランチングし、第1の濡れたタンパク質濃縮物を作成することと；分離した溶液から、第1の濡れたタンパク質濃縮物を分離することと；第1の濡れたタンパク質濃縮物を粉碎し、第1の粉碎した濡れたタンパク質濃縮物を作成することと；第1の粉碎した濡れたタンパク質濃縮物を乾燥させ、第1の粉碎した乾燥タンパク質濃縮物を作成することとを含む。いくつかの実施形態において、第1の粉碎した乾燥タンパク質濃縮物は、少なくとも45%のDMBタンパク質を含んでいてもよく、このタンパク質は、PDCASS値が少なくとも0.88である。いくつかの実施形態によれば、第1の粉碎した乾燥タンパク質濃縮物のPDCASS値は、ヒスチジンによって制限されてもよい。

40

【0015】

いくつかの実施形態において、第1の粉碎した乾燥タンパク質濃縮物を作成する方法は、プランチング溶液とバイオマスの第1の部分との比が7:1(w/w)、または6:1(w/w)、または5:1(w/w)、または4:1(w/w)の状態で行われてもよい。バイオマスの第1の部分をプランチングすることは、いくつかの実施形態において、バ

50

イオマスの第1の部分と、プランチング溶液とを7:1の生成物流速比で組み合わせることをさらに含んでいてもよい。いくつかの実施形態によれば、バイオマスをプランチングすることは、バイオマスをプランチング溶液に1分未満さらすことを含んでいてもよい。方法は、いくつかの実施形態によれば、バイオマスをプランチング溶液に約45秒間さらすことを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、バイオマスをプランチングすることは、バイオマスの少なくとも1つの表面とプランチング溶液とを接触させることを含んでいてもよい。いくつかの実施形態によれば、バイオマスの第1の部分をプランチングすることは、バイオマスをプランチング溶液に2分未満さらすことを含んでいてもよく、プランチング溶液は、約75～95の温度を有していてもよい。プランチング溶液は、いくつかの実施形態において、少なくとも1種類のカルシウム塩を含んでいてもよい。

10

【0016】

いくつかの実施形態によれば、第1の粉碎した乾燥タンパク質濃縮物を作成するためにバイオマスを処理する方法は、濡れたタンパク質濃縮物を溶媒抽出することを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、濡れたタンパク質濃縮物を、振動ふるいを用い、分離した溶液から分離してもよい（例えば、溶媒抽出前）。

【0017】

第1の粉碎した乾燥タンパク質濃縮物を作成するために、微小作物を含むバイオマスを処理する方法は、分離した溶液を希釈すること；分離した溶液を濾過すること；および分離した溶液をモニタリングすることのうち少なくとも1つを行うことによって、分離した溶液をリサイクルすることをさらに含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、方法は、プランチング溶液中またはリサイクルされたプランチング溶液中、バイオマスの第2の部分をプランチングし、第2の濡れたタンパク質濃縮物を作成することと；分離した溶液から、第2の濡れたタンパク質濃縮物を分離することと；濡れたタンパク質濃縮物の第2の部分を粉碎し、第2の粉碎した濡れたタンパク質濃縮物を作成することと；第2の粉碎した濡れたタンパク質濃縮物を乾燥させ、第2の粉碎した乾燥タンパク質濃縮物を作成することとを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、第2の粉碎した乾燥タンパク質濃縮物は、少なくとも45%のDMBタンパク質を含んでいてもよく、このタンパク質は、PDCASS値が少なくとも0.88である。

20

【0018】

さらに、本開示は、いくつかの実施形態において、微小作物（例えば、Lemna、Wolffia）から抽出した少なくとも1つの高濃度タンパク質生成物と、少なくとも1つの媒体とを含むタンパク質組成物に関し、ここで、少なくとも1つの高濃度タンパク質生成物が、タンパク質濃縮物のフレーク、タンパク質濃縮物の顆粒、タンパク質濃縮物の粉状物または粉碎した乾燥タンパク質濃縮物のうち少なくとも1つを含み、少なくとも45%のDMBタンパク質を含み、このタンパク質のタンパク質消化性補正アミノ酸スコア（PDCASS）値が少なくとも0.88である。いくつかの実施形態によれば、PDCASS値は、ヒスチジンによって制限されてもよい。タンパク質組成物は、いくつかの実施形態において、シェイク、スムージー、栄養バーおよび動物飼料製品から選択されてもよい。

30

【0019】

いくつかの実施形態によれば、タンパク質組成物のタンパク質濃縮物のフレーク、タンパク質濃縮物の顆粒、タンパク質濃縮物の粉状物または粉碎した乾燥タンパク質濃縮物のうち少なくとも1つが、少なくとも50%のタンパク質含量；少なくとも0.92のPDCASS；減少したクロロフィル濃度；少なくとも90%の消化率；10%未満DMBの灰分；少なくとも30%の食物纖維含量；1%未満DMBのシウ酸含量；3.2mg/100g未満のポリフェノール含量；5%未満の脂肪含量；少なくとも7ml/gの水結合能；および少なくとも3ml/gの油結合能のうち少なくとも1つを有していてもよい。いくつかの実施形態において、タンパク質組成物のタンパク質濃縮物のフレーク、タンパク質濃縮物の顆粒、タンパク質濃縮物の粉状物または粉碎した乾燥タンパク質濃縮物の

40

50

うち少なくとも 1 つが、 0 . 2 5 % 未満 D M B の シュウ酸含量 ; 1 . 7 5 m g / 1 0 0 g 未満の ポリフェノール含量 のうち少なくとも 1 つ、 またはその両方をさらに有していてよい。

【 0 0 2 0 】

いくつかの実施形態において、タンパク質組成物は、少なくとも 1 つの添加剤を含んでいてよい。添加剤は、いくつかの実施形態によれば、甘味料、親水コロイド安定剤、フレーバー、栄養成分、またはそれらの任意の組み合わせから選択されてもよい。

【 0 0 2 1 】

本特許のファイルには、少なくとも 1 つのカラーで表された図面が含まれている。カラーの図を含む本特許の写しは、請求と必要な手数料の支払いがあれば、特許商標庁から提供されるだろう。

10

【 0 0 2 2 】

本開示のいくつかの実施形態は、部分的に、本開示および添付の図面を参照することによって理解されるだろう。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 2 3 】

【 図 1 A 】 本開示の具体的な実施形態の例にしたがって高濃度タンパク質生成物を生成するために微小作物を栽培し、収穫し、処理するためのプロセスを示すフロー図である。

【 図 1 B 】 本開示の具体的な実施形態の例にしたがって高濃度タンパク質生成物を生成するために微小作物を栽培し、収穫し、処理するためのプロセスを示すフロー図である。

20

【 図 1 C 】 本開示の具体的な実施形態の例にしたがって高濃度タンパク質生成物を生成するために微小作物を栽培し、収穫し、処理するためのプロセスを示すフロー図である。

【 図 1 D 】 本開示の具体的な実施形態の例にしたがって高濃度タンパク質生成物を生成するために微小作物を栽培し、収穫し、処理するためのプロセスを示すフロー図である。

【 図 2 A 】 本開示の具体的な実施形態の例にしたがって高濃度タンパク質生成物を生成するために微小作物を栽培し、収穫し、処理するためのシステムを示すフロー図である。

【 図 2 B 】 本開示の具体的な実施形態の例にしたがって高濃度タンパク質生成物を生成するために微小作物を栽培し、収穫し、処理するためのシステムを示すフロー図である。

【 図 2 C 】 本開示の具体的な実施形態の例にしたがって高濃度タンパク質生成物を生成するために微小作物を栽培し、収穫し、処理するためのシステムを示すフロー図である。

30

【 図 2 D 】 本開示の具体的な実施形態の例にしたがって高濃度タンパク質生成物を生成するために微小作物を栽培し、収穫し、処理するためのシステムを示すフロー図である。

【 発明を実施するための形態 】

【 0 0 2 4 】

本開示は、いくつかの実施形態において、微小作物を含むバイオマスを処理する方法に
関し、この方法は、(a) 場合により、バイオマスの第 1 の部分を、第 1 の洗浄液、第 2 の洗浄液および第 3 の洗浄液のうち少なくとも 1 つで洗浄すること；(b) ブランチング溶液中、バイオマスの第 1 の部分をブランチングし、濡れたタンパク質濃縮物を作成し、ブランチング溶液が、場合により、少なくとも 1 種のカルシウム塩を含むこと；(c) 場合により、濡れたタンパク質濃縮物を冷却すること；(d) 場合により、ブランチング溶液を濾過し、濾過したブランチング溶液と、ブランチング廃棄物とを作成すること；(e) (d) が含まれる場合、場合により、濾過したブランチング溶液とブランチング廃棄物のうち少なくとも 1 つをリサイクルすること；(f) 場合により、濡れたタンパク質濃縮物を溶媒溶液で抽出すること；(g) (f) が含まれる場合、場合により、溶媒溶液から溶媒と副生成物を回収し、副生成物が、クロロフィル副生成物および脂肪副生成物のうち少なくとも 1 つを含むこと；(h) 場合により、濡れたタンパク質濃縮物の第 1 の部分を粉碎し、粉碎した濡れたタンパク質濃縮物を作成すること；(i) (h) が含まれる場合、粉碎した濡れたタンパク質濃縮物を乾燥させ、粉碎した乾燥タンパク質濃縮物を作成すること；(j) 濡れたタンパク質濃縮物の第 2 の部分を乾燥させ、タンパク質濃縮物のフレークを作成すること；および / または (k) タンパク質濃縮物のフレークを粉碎し、タ
40

40

50

ンパク質濃縮物の粉状物を作成することを含んでいてもよい。いくつかの実施形態によれば、タンパク質濃縮物の粉状物および粉碎した乾燥タンパク質濃縮物のうち少なくとも1つは、(i)少なくとも40%のタンパク質乾燥質量基準(DMB)、(ii)少なくとも5%DMBのアピオガラクトロナンおよび/またはオリゴガラクトロニドの少なくとも1つ、および/または(iii)場合により、0.05%DMB以下のシウ酸含量を有していてもよい。いくつかの実施形態において、タンパク質濃縮物の粉状物および粉碎した乾燥タンパク質濃縮物のうち少なくとも1つは、(i)少なくとも60%のDMBタンパク質、(ii)少なくとも5%DMBのアピオガラクトロナンおよび/またはオリゴガラクトロニドの少なくとも1つ、および/または(iv)場合により、0.05%以下のシウ酸含量を有していてもよい。いくつかの実施形態によれば、タンパク質濃縮物の粉状物および粉碎した乾燥タンパク質濃縮物のうち少なくとも1つは、減少したクロロフィル(例えば、消色)を有していてもよい。いくつかの実施形態において、微小作物は、Lemnaを含んでいてもよい。

10

20

30

40

【0025】

さらに、本開示は、高タンパク質濃縮物を作成するために微小作物を含むバイオマスを処理するシステムに関し、このシステムは、いくつかの実施形態において、(a)場合により、バイオマスの第1の部分を、第1の洗浄液、第2の洗浄液および第3の洗浄液のうちの少なくとも1つで洗浄するような構成の洗浄ユニット；(b)プランチング溶液中、バイオマスの第1の部分をプランチングし、濡れたタンパク質濃縮物を作成するような構成のプランチングユニット；(c)濡れたタンパク質濃縮物からプランチング溶液を分離するような構成の第1の分離ユニット；(d)場合により、濡れたタンパク質濃縮物を冷却するような構成の冷却ユニット；(e)濡れたタンパク質濃縮物から冷却液を分離するような構成の第2の分離ユニット；(f)場合により、プランチング溶液を分離し、濾過したプランチング溶液とプランチング廃棄物を作成するような構成の濾過ユニット；(g)場合により、濡れたタンパク質濃縮物を溶媒溶液で抽出するような構成の溶媒抽出ユニット；(h)場合により、濡れたタンパク質濃縮物の少なくとも一部を粉碎し、粉碎した濡れたタンパク質濃縮物を作成するような構成の粉碎ユニット；(i)濡れたタンパク質濃縮物および/または粉碎した濡れたタンパク質濃縮物のうち少なくとも一部を乾燥させる(例えば、タンパク質濃縮物のフレークを生成する)ような構成の乾燥ユニット；および/または(j)(h)が除外される場合、乾燥タンパク質濃縮物の少なくとも一部を粉碎し、タンパク質濃縮物の粉状物を作成するような構成の粉碎ユニットを備えていてもよい。

30

【0026】

さらに、本開示のいくつかの実施形態は、少なくとも40%のタンパク質、少なくとも5%DMBのアピオガラクトロナンおよび/またはオリゴガラクトロニドの少なくとも1つ、および/または場合により0.05%以下のシウ酸含量を有する組成物に関する。いくつかの実施形態において、組成物は、少なくとも60%のタンパク質、少なくとも5%のDMBの少なくとも1種のアピオガラクトロナンおよび/またはオリゴガラクトロニド、および0.05%以下のシウ酸含量を有していてもよい。

40

【0027】

本開示は、いくつかの実施形態において、微小作物(例えば、水生種、Lemna、Wolffia)から高濃度タンパク質生成物(例えば、45%DMB以上)を処理するための方法およびシステム、ならびにその組成物に関する。より具体的には、本開示は、いくつかの実施形態において、Lemnaおよび/またはWolffiaから高濃度タンパク質生成物を処理するための方法およびシステムに関する。いくつかの実施形態において、本開示は、水生種から処理された高濃度微小作物タンパク質生成物の組成物に関する。

50

【0028】

本開示は、微小作物(例えば、水生植物種、Lemna、Wolffia、藻種)からの高濃度(例えば、45%DMB以上)タンパク質濃縮物(例えば、濡れたもの、フレーク、顆粒、粉状物)を生成するための組成物、システムおよび方法に関する。例えば、方

法は、本開示の具体的な実施形態の例にしたがって高濃度（例えば、60% DMB 以上、45% DMB 以上）タンパク質濃縮物（例えば、濡れたもの、フレーク、顆粒、粉状物）を生成するために微小作物（例えば、水生植物種、*Lemna*、藻種）を栽培し、収穫し、洗浄し、プランチングし、脱水し、分離し、乾燥させ、および／または粉碎することを含んでいてもよい。方法は、いくつかの実施形態において、一連の工程で実行されてもよく、その1つ以上が繰り返されてもよい。例えば、方法は、高濃度（例えば、45% DMB 以上）タンパク質濃縮物（例えば、濡れたもの、フレーク、顆粒、粉状物）を生成する単一のサイクル（例えば、どの工程も繰り返されない）を含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、方法は、プロセスのその前のサイクルの生成物、中間体および／または副生成物が、そのプロセスの1つ以上の後のサイクルへとリサイクルされてもよいように、高濃度（例えば、45% DMB 以上）タンパク質濃縮物（例えば、濡れたもの、フレーク、顆粒、粉状物）を生成するための複数のサイクル（例えば、第1の部分、第2の部分）または連続したプロセスを含んでいてもよい。

10

【0029】

微小作物

いくつかの実施形態において、微小作物は、単一の水生種（例えば、*Lemna*種、*Salvinia*種）を含んでいてもよい。微小作物は、*Lemna*（例えば、ウキクサ）、*Spirodea*、*Landoltia*、*Wolffia*、*Salvinia*（例えば、ウキシダ）、*Wolffia*（例えば、ミジンコウキクサ）、*Azolla*（例えば、アカウキクサ科のシダ）、*Pistia*（例えば、ボタンウキクサ）、またはこれらの組み合わせを含んでいてもよい。いくつかの実施形態によれば、微小作物は、*Lemna*の一種、例えば、*Lemna minor*、*Lemna obscurata*、*Lemna minuta*、*Lemna gibba*、*Lemna valdiviana*または*Lemna aequinoctialis*であってもよい。微小作物は、いくつかの実施形態によれば、2種類以上の水生種の組み合わせを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、微小作物は、局所的な環境条件の中で発生した、特定された組成および成長の特徴に基づき、局所的な水生種から選択されてもよい。局所的な種は、局所的な環境条件への適応に基づいて、開放した池またはバイオリアクターの中で、他の種を打ち負かす可能性がある。いくつかの実施形態において、微小作物は、温度および光の利用可能性の季節変動に応じて調整されてもよい。

20

30

【0030】

微小作物は、他の水生種と比較して有利な特徴を有していてもよい（例えば、成長速度が早い；栄養要求が少ない；収穫および／または処理の容易さ；強化されたアミノ酸プロフィール；強化された嗜好性；蒸発蒸散速度の低下；タンパク質組成の増加）。

40

【0031】

例えば、*Lemna*は、迅速に成長する、*Lemnaceae*科の自由に浮遊する水生植物（例えば、ウキクサ）の1つの属である。*Lemna*タンパク質は、他の大部分の植物タンパク質よりも動物タンパク質に酷似した必須アミノ酸プロフィールを有する。表1は、*Lemna*タンパク質の典型的な必須アミノ酸組成プロフィールを示す。さらに、*Lemna*は、高いタンパク質収量を与え、新しく収穫した*Lemna*は、乾燥重量で約43%までのタンパク質を含有する。さらに、他の大部分の植物と比較して、*Lemna*の葉は、纖維含量が低く（例えば、乾燥物質中約5%～約15%）、単胃動物であっても非常に消化率が高い。このことは、纖維含量が約50%であり、消化率が低い多くの作物種（例えば、大豆、米、トウモロコシ）の組成とは対照的である。

【表1】

表1 : Lemnaタンパク質の必須アミノ酸プロフィール

必須アミノ酸	タンパク質(g/100g)
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

10

【0032】

微小作物の栽培

20

いくつかの実施形態において、作物を大きくする条件下、微小作物と第1の媒体（例えば、水性栄養組成物、成長媒体）とを接触させることによって、微小作物を無性的に繁殖させ（例えば、栽培し）てもよい。いくつかの実施形態によれば、微小作物をバイオリアクターシステムで栽培してもよい。バイオリアクターシステムは、いくつかの実施形態によれば、水および/または栄養組成物を含む第1の媒体（例えば、成長媒体）を含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、栄養組成物は、窒素、リン、カリウムおよびカルシウムの少なくとも1つを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、第1の媒体は、溶解した気体状酸素および/または溶解した気体状二酸化炭素を含んでいてもよい。いくつかの実施形態によれば、第1の媒体は、カルシウムの量が多い組成（例えば、カルシウムの量が多い成長媒体）を有するような構成であってもよい。例えば、カルシウムを多く含む第1の媒体は、カルシウム濃度が約120パーツパーミリオン(ppm)以上、または約115ppm以上、または約110ppm以上、または約105ppm以上、または約100ppm以上、または約95ppm以上、または約90ppm以上、または約85ppm以上、または約80ppm以上、または約75ppm以上、または約70ppm以上、または約65ppm以上、または約60ppm以上、または約55ppm以上、または約50ppm以上、または約45ppm以上、または約40ppm以上、または約35ppm以上、または約30ppm以上、または約25ppm以上、または約20ppm以上であってもよく、ここで、「約」は、±10%を構成していてもよい。いくつかの実施形態において、カルシウムを多く含む第1の媒体は、カルシウム濃度が約20ppm～約120ppm、約25ppm～約120ppm、または約30ppm～約120ppm、または約40ppm～約120ppm、または約50ppm～約120ppm、または約60ppm～約120ppm、または約70ppm～約120ppm、または約80ppm～約120ppm、または約20ppm～約100ppm、または約40ppm～約100ppm、または約50ppm～約100ppm、または約60ppm～約100ppm、または約70ppm～約100ppm、または約80ppm～約100ppmであってもよい。いくつかの実施形態によれば、カルシウムを多く含む第1の媒体は、カルシウム濃度が少なくとも約20ppm（例えば、±10%）であってもよい。いくつかの実施形態において、カルシウムを多く含む第1の媒体は、少なくとも100ppmのカルシウムを含む。バイオリアクターシステムは、特定の時間インジケータで、またはセンサの読みに応答して、第1の媒体にさらな

30

40

50

る栄養素（例えば、窒素、リン、カリウム、カルシウム）または気体（例えば、酸素、二酸化炭素）を挿入するような構成であってもよい。いくつかの実施形態において、カルシウムは、カルシウム、炭酸カルシウム、シュウ酸カルシウム、酸化カルシウム、クエン酸カルシウム、炭化カルシウム、リン酸カルシウム、硫酸カルシウム、塩化カルシウム、またはこれらの組み合わせを含んでいてもよい。

【0033】

いくつかの実施形態において、第1の媒体は、成長媒体内で光合成に活性な放射光線を弱めるような構成の1つ以上の抗光合成色素を含んでいてもよい。1つ以上の抗光合成色素は、いくつかの実施形態によれば、少なくとも1つの他の水生生物（例えば、水中水生種、植物プランクトン、植物藻類、表皮藻類）の成長を阻害するのに十分な容積または濃度で添加されてもよい。抗光合成色素は、(n-エチル-n-[4-[4-エチル[(3-スルホフェニル)メチル]アミノ]-フェニル](2-スルホフェニル)-メチレン)]2,5-シクロヘキサジエン-1-イリデン]-3-スルホベンゼンメタンアミニウムヒドロキシド内部塩、二ナトリウム塩 (Colour IndexがAcid Blue 9 (Ref. No. 42090))、三ナトリウム (4E)-5-オキソ-1-(4-スルホナトフェニル)-4-[4-スルホナトフェニル]ヒドラゾノ]-3-ピラゾールカルボキシレート (Colour IndexがAcid Yellow 23 (Ref. No. 19140))、ジアザニウム；2-[4-[エチル-[3-スルホナトフェニル]メチル]アミノ]フェニル]-[4-[エチル-[3-スルホナトフェニル]メチル]アザニウミリデン]シクロヘキサ-2,5-ジエン-1-イリデン]メチル]ベンゼンスルホネート (Colour IndexがAcid Blue 34 (Ref. No. 42645))；ベンジル-[4-[4-ベンジル(エチル)アミノ]フェニル]-[5-ヒドロキシ-2,4-ジスルホフェニル]メチリデン]シクロヘキサ-2,5-ジエン-1-イリデン]-エチルアザニウム (Colour IndexがAcid Blue 5 (Ref. No. 42052))；二ナトリウム-2-(1,3-ジオキソインデン-2-イル)キノリン-6,8-ジスルホネート (Colour IndexがAcid Yellow 3 (Ref. No. 15985))、および(n-エチル-n-[4-[4-[エチル[(3-スルホフェニル)メチル]アミノ]-フェニル](2-スルホフェニル)-メチレン)]2,5-シクロヘキサジエン-1-イリデン]-3-スルホベンゼンメタンアミニウムヒドロキシド内部塩、二ナトリウム塩と三ナトリウム (4E)-5-オキソ-1-(4-スルホナトフェニル)-4-[4-スルホナトフェニル]ヒドラゾノ]-3-ピラゾールカルボキシレートの混合物 (Aquashade (登録商標))のうち少なくとも1つを含んでいてもよい。他の好適な抗光合成色素は、Wilsonの米国特許第4,042,367号の表IおよびIIに見出すことができ、これは参照により本明細書に組み込まれる。

【0034】

第1の媒体（例えば、水性栄養組成物）は、バイオリアクター（例えば、池）中で提供されてもよく、および/または添加されてもよく、いくつかの実施形態によれば、所望の設定レベル（例えば、特定の容積）に維持されてもよい。いくつかの実施形態において、バイオリアクターシステムは、雨水を集め、および/または地面水源、表面の水源からの水、またはリサイクルされた水（例えば、暴風雨による水、リサイクルされた水）または任意の他の適切な水源からの水を取り込むような構成であってもよい。いくつかの実施形態によれば、バイオリアクターシステムは、余分な成長媒体のための追加の貯蔵容器（例えば、容器または池）をさらに含んでいてもよい。

【0035】

いくつかの実施形態において、1つ以上の小さなバイオリアクター（例えば、池）を、より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十分に機能するように、設計し、サイズ変更してもよい。いくつかの実施形態において、小さなバイオリアクターに最初に播種し、高密度にまるまで成長させ、その時点で、もっと速い成長を補助するような方法で、もっと大きなバイオリアクターに最適に播種してもよい。

10

20

30

40

50

【0036】

いくつかの実施形態において、バイオリアクターシステムは、モニタリングシステムを備えていてもよい。モニタリングシステムは、いくつかの実施形態において、バイオリアクターの条件（例えば、栄養素濃度、pH、溶存酸素の量、成長媒体の量、微小作物の分布、流速、温度）に関する1つ以上のユーザアラートを表示し、および／または与え、および／または操作条件（例えば、成長媒体の流速および／または栄養素添加、「フィーダー」の微小作物添加、酸素または二酸化炭素の添加のタイミングおよび／または量）を調整するような構成であってもよい。調整は、連続的に、半連続的に、定期的に、断続的に、必要に応じて、設定された時間または可変の時間に、または他の任意の間隔で行われてもよい。いくつかの実施形態において、水生種の成長速度および／または収量を最適化するように調整を選択することができる。例えば、微小作物種を、例えば、光にさらされることに基づき、材料（例えば、新鮮な水またはリサイクルされた水、新鮮な成長媒体またはリサイクルされた成長媒体）の導入を調整し、それによって栄養素の消費速度を制御し得るような構成のモニタリングシステムを備える大スケールの開放したバイオリアクター内で成長させてよい。

10

【0037】

バイオリアクターシステムは、いくつかの実施形態において、微小作物を栽培可能な単一の容器を備えていてもよい。いくつかの実施形態において、バイオリアクターシステムは、複数の栽培容器を備えていてもよく、この栽培容器は、接続されていてもよく、部分的に接続されていてもよく、または切断されていてもよい。いくつかの実施形態において、バイオリアクター（例えば、池）は、バイオリアクターの内側底部から除去された、圧縮された汚れからなる堤防を備えた土槽であってもよい。いくつかの実施形態によれば、バイオリアクターは、人工の容器（例えば、金属、プラスチック、樹脂）であってもよい。バイオリアクターシステムは、開放したバイオリアクター、閉じたバイオリアクター、半開放したバイオリアクター、またはこれらの任意の組み合わせを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、バイオリアクターシステムは、1または複数の容器をチャネルまたはセルに分割するような構成であってもよい。バイオリアクターシステムは、いくつかの実施形態において、成長媒体の流れを可能にするように構成されてもよい。バイオリアクターシステムは、いくつかの実施形態において、推進システム（例えば、パドルホイール、バーリング、水中または表面水ジェット、水中ミキサー）および／または再循環システムを備えていてもよい。いくつかの実施形態において、バイオリアクターシステムは、（例えば、栄養素の濃度または微小作物の成長パターンを再分配するために）成長媒体の流速を調節するような構成であってもよい。

20

【0038】

いくつかの実施形態において、バイオリアクターシステムは、バイオリアクター容器に含まれる成長媒体および／または成長媒体の上部表面で成長する微小作物が、バイオリアクター容器の外側から開始する風にさらされ得るように、バイオリアクター容器（例えば、蛇行する軌道）の開放した部分であってもよい（例えば、地面に対して水平面内に）。いくつかの実施形態によれば、バイオリアクターシステムは、（例えば、地面に対して水平面で）部分的に開放していてもよく、含まれる栽培媒体の上部表面の少なくとも90%、または少なくとも80%、または少なくとも70%、または少なくとも60%、または少なくとも50%、または少なくとも40%、または少なくとも30%、または少なくとも20%、または少なくとも10%が開放している。いくつかの実施形態によれば、上部表面が開放していてもよく、その場合、その表面に覆いまたは他の障壁が実質的に存在しない（例えば、存在しない）、表面が周囲の気候条件に直接さらされている、表面と大気との間に膜、ガラス、覆いまたは他の障壁（このような障壁が穴または開口部を有していても有していない）が実質的に存在しない、および／または表面から少なくとも約1m上の距離について、周囲の大気が、表面の真上の空間を満たす唯一のものである。

30

【0039】

バイオリアクターシステムは、いくつかの実施形態において、微小作物のマットの厚さ

40

50

および分布をモニタリングし、調整してもよい。例えば、微小作物が特定の厚さまたは分布に達すると、バイオリアクターシステムが収穫手順を開始してもよい。いくつかの実施形態において、バイオリアクターシステム内の成長媒体の所望な蒸発散速度を維持し得るように、微小作物のマットの最小厚さが維持されてもよい。いくつかの実施形態において、微小作物の最小厚さは、より少ない日光が成長媒体の表面に浸透する（すなわち、藻類などの水中水生生物の成長能力を低下させる）ことができるよう維持されてもよい。

【0040】

微小作物は、任意の適切な方法によって栽培されてもよく、本明細書に記載の方法に限定されない。本開示の範囲から逸脱することなく、微小作物の栽培方法に様々な変更が加えられてもよい。

10

【0041】

微小作物の収穫

微小作物は、バイオマスを作成するために、任意の所望の時間に、全体的または部分的に収穫されてもよい。例えば、1つ以上の特定の時間に、規則的な間隔または不規則な間隔で、および／または連続的に、微小作物を収穫してもよい。収穫時間および／または間隔の選択は、環境条件（例えば、降水量、相対湿度、温度範囲、平均、低または高閾値および／または光の強度、波長範囲、さらされる時間）および／または1つ以上の所望な特徴（例えば、マットの厚さ、マットの分布、成熟）を示す微小作物に基づいていてよい。微小作物の収穫は、手作業であってもよく、自動化されていてよい。自動化されたスキマーシステムは、いくつかの実施形態において、バイオリアクターシステムから微小作物を集め、収穫した微小作物を（例えば、圧送システムによって）傾斜のついた振動ふるいに移動し、成長媒体および残屑からバイオマスを分離してもよい。いくつかの実施形態において、バイオリアクターシステムから静止ふるいフィルターまたは移動ふるいフィルターを介して微小作物を減圧スキミングすることによって、微小作物を収穫してもよい。いくつかの実施形態によれば、収穫した微小作物（例えば L e m n a ）および成長媒体（例えば水）を含むバイオマススラリーを、傾斜振動ふるいに運んでもよく、ここでバイオマス（例えば、微小作物）は、成長媒体から分離されてもよい。

20

【0042】

収穫の間、分離した成長媒体は、いくつかの実施形態によれば、バイオリアクターシステムまたはさらなる保存容器（例えば、容器または池）にリサイクルされて戻されてもよい。いくつかの実施形態において、バイオマスから分離した成長媒体（例えば、水）の少なくとも約 40 %、または少なくとも約 50 %、または少なくとも約 60 %、または少なくとも約 70 %、または少なくとも約 80 %、または少なくとも約 90 %、または少なくとも約 95 % が、微小作物を栽培し、収穫し、および／または処理する際の将来の使用のためにリサイクルされてもよい。

30

【0043】

バイオマスの浸漬および／またはバイオマスの pH の緩衝化

収穫後、バイオマスを浸漬し、および／または緩衝化してもよい。収穫したバイオマスを浸漬し、および／または緩衝化することは、タンパク質生成物のシウ酸含量の低下に寄与し得る。いくつかの実施形態において、収穫したバイオマスを浸漬し、および／または緩衝化することは、タンパク質生成物のシウ酸および／またはシウ酸塩の含量の低下に寄与し得る。

40

【0044】

いくつかの実施形態において、収穫したバイオマスを第 2 の媒体に浸漬してもよい。第 2 の媒体は、いくつかの実施形態によれば、水（例えば、地下水、表面水、リサイクルされた水）、蒸留水、逆浸透水またはナノ濾過水、および／または栄養組成物を含んでいてよい。いくつかの実施形態において、第 2 の媒体は、リサイクルされた流体の任意の所望の部分を含んでいてよい。例えば、第 2 の媒体は、プロセスの別の段階からリサイクルされた流体を少なくとも約 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)

50

)、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)、または少なくとも約 9 0 % (v / v) 含んでいてもよい。

【 0 0 4 5 】

いくつかの実施形態によれば、第 2 の媒体は、低窒素組成物（例えば、低窒素の第 2 の媒体）を含むように構成されてもよい。例えば、低窒素の第 2 の媒体は、窒素濃度が約 2 0 パーツパーミリオン (p p m) 未満、約 1 8 p p m 未満、約 1 6 p p m 未満、または約 1 4 p p m 未満、または約 1 2 p p m 未満、または約 1 0 p p m 未満、または約 9 p p m 未満、または約 8 p p m 未満、または約 7 p p m 未満、または約 6 p p m 未満、または約 5 p p m 未満、または約 4 p p m 未満、または約 3 p p m 未満、または約 2 p p m 未満、または約 1 p p m 未満、または約 0 . 5 p p m 未満、または約 0 p p m であってもよい。
10 いくつかの実施形態において、低窒素の第 2 の媒体は、窒素濃度が約 0 p p m ~ 約 2 0 p p m、または約 0 . 5 p p m ~ 約 2 0 p p m、または約 0 . 5 p p m ~ 約 1 5 p p m、または約 0 . 5 p p m ~ 約 1 0 p p m、または約 1 p p m ~ 約 9 p p m、または約 1 p p m ~ 約 7 p p m、または約 1 p p m ~ 約 6 p p m、または約 1 p p m ~ 約 5 p p m、または約 3 p p m ~ 約 6 p p m、または約 2 p p m ~ 約 8 p p m であってもよい。低窒素の第 2 の媒体は、いくつかの実施形態によれば、最大で約 1 0 p p m (例えば、± 1 p p m) の窒素濃度を含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、低窒素の第 2 の媒体は、最大で約 5 p p m (例えば、± 0 . 5 p p m) の窒素濃度を含んでいてもよい。低窒素の第 2 の媒体は、例えば、検出可能な窒素（すなわち、N₂）を有さない、窒素非含有の第 2 の媒体とは対照的に、少なくともある量の窒素を含む。いくつかの実施形態において、第 2 の媒体は、窒素を含まない第 2 の媒体であってもよい。
20

【 0 0 4 6 】

いくつかの実施形態によれば、第 2 の媒体は、低カルシウム組成物（例えば、低カルシウムの第 2 の媒体）を含むように構成されてもよい。例えば、低カルシウムの第 2 の媒体は、カルシウム濃度が約 2 0 p p m 以下、約 1 8 p p m 以下、約 1 6 p p m 以下、または約 1 4 p p m 以下、または約 1 2 p p m 以下、または約 1 0 p p m 以下、または約 9 p p m 以下、または約 8 p p m 以下、または約 7 p p m 以下、または約 6 p p m 以下、または約 5 p p m 以下、または約 4 p p m 以下、または約 3 p p m 以下、または約 2 p p m 以下、または約 1 p p m 以下、または約 0 . 5 p p m 以下、または約 0 p p m であってもよい。
30 いくつかの実施形態において、低カルシウムの第 2 の媒体は、カルシウム濃度が約 0 p p m ~ 約 2 0 p p m、または約 0 . 5 p p m ~ 約 2 0 p p m、または約 0 . 5 p p m ~ 約 1 5 p p m、または約 0 . 5 p p m ~ 約 1 0 p p m、または約 1 p p m ~ 約 9 p p m、または約 1 p p m ~ 約 7 p p m、または約 1 p p m ~ 約 6 p p m、または約 1 p p m ~ 約 5 p p m、または約 3 p p m ~ 約 6 p p m、または約 2 p p m ~ 約 8 p p m であってもよい。いくつかの実施形態によれば、低カルシウムの第 2 の媒体は、最大で約 1 0 p p m (例えば、± 1 p p m) の濃度のカルシウムを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、低カルシウムの第 2 の媒体は、最大で約 5 p p m (例えば、± 0 . 5 p p m) のカルシウム濃度を含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、低カルシウムの第 2 の媒体にバイオマスを浸漬することにより、シウウ酸濃度とシウウ酸塩（例えば、シウウ酸カルシウム）濃度との間の平衡が達成され得る。
40

【 0 0 4 7 】

いくつかの実施形態において、第 2 の媒体は、高カルシウム組成物（例えば、高カルシウムの第 2 の媒体）を含むように構成されてもよい。例えば、高カルシウムの第 2 媒体は、カルシウム濃度が約 8 0 0 p p m 以下、または約 7 5 0 p p m 以下、または約 7 0 0 p p m 以下、または約 6 5 0 p p m 以下、または約 6 0 0 p p m 以下、または約 5 5 0 p p m 以下、または約 5 0 0 p p m 以下、または約 4 5 0 p p m 以下、または約 4 0 0 p p m 以下、または約 3 5 0 p p m 以下、または約 3 0 0 p p m 以下、または約 2 5 0 p p m 以下、または約 2 0 0 p p m 以下、または約 1 5 0 p p m 以下、または約 1 0 0 p p m 以下、または約 5 0 p p m 以下であってもよい。いくつかの実施形態において、高カルシウムの第 2 の媒体は、カルシウム濃度が約 5 0 p p m ~ 約 2 0 0 p p m、または約 5 0 p p m

10

20

30

40

50

～約400 ppm、または約50 ppm～約600 ppm、または約100 ppm～約800 ppm、または約100 ppm～約700 ppm、または約100 ppm～約600 ppm、または約100 ppm～約500 ppm、または約300 ppm～約600 ppm、または約200 ppm～約800 ppmであってもよい。いくつかの実施形態によれば、高カルシウムの第2の媒体は、最大で約800 ppm(例えば、±50 ppm)の濃度のカルシウムを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、高カルシウムの第2の媒体は、最大で約600 ppm(例えば、±50 ppm)のカルシウム濃度を含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、高カルシウムの第2の媒体にバイオマスを浸漬することにより、シュウ酸濃度とシュウ酸塩(例えば、シュウ酸カルシウム)濃度との間の平衡が達成され得る。例えば、高カルシウムの第2の媒体にバイオマスを浸漬することにより、シュウ酸をシュウ酸塩に変換してもよい。

【0048】

いくつかの実施形態において、第2の媒体は、低カルシウム組成物および低窒素組成物(例えば、低窒素および低カルシウムの成長媒体)を含むように構成されてもよい。例えば、低窒素および低カルシウムの成長媒体は、カルシウム濃度が約20 ppm以下、または約18 ppm以下、または約16 ppm以下、または約14 ppm以下、または約12 ppm以下、または約10 ppm以下、または約9 ppm以下、または約8 ppm以下、または約7 ppm以下、または約6 ppm以下、または約5 ppm以下、または約4 ppm以下、または約3 ppm以下、または約2 ppm以下、または約1 ppm以下、または約0.5 ppm以下、または約0 ppmであってもよい。低窒素および低カルシウムの成長媒体は、窒素濃度が約20 ppm以下、または約18 ppm以下、または約16 ppm以下、または約14 ppm以下、または約12 ppm以下、または約10 ppm以下、または約9 ppm以下、または約8 ppm以下、または約7 ppm以下、または約6 ppm以下、または約5 ppm以下、または約4 ppm以下、または約3 ppm以下、または約2 ppm以下、または約1 ppm以下、または約0.5 ppm以下、または約0 ppmであってもよい。いくつかの実施形態において、低窒素および低カルシウムの第2の媒体は、カルシウム濃度が約0 ppm～約20 ppm、または約0.5 ppm～約20 ppm、または0.5 ppm～約15 ppm、または0.5 ppm～約10 ppm、または約1 ppm～約9 ppm、または約1 ppm～約7 ppm、または約1 ppm～約6 ppm、または約1 ppm～約5 ppm、または約3 ppm～約6 ppm、または約2 ppm～約8 ppmであってもよい。いくつかの実施形態において、低窒素および低カルシウムの第2の媒体は、窒素濃度が約0 ppm～約20 ppm、または約0.5 ppm～約20 ppm、または0.5 ppm～約15 ppm、または0.5 ppm～約10 ppm、または約1 ppm～約9 ppm、または約1 ppm～約7 ppm、または約1 ppm～約6 ppm、または約1 ppm～約5 ppm、または約3 ppm～約6 ppm、または約2 ppm～約8 ppmであってもよい。いくつかの実施形態によれば、低窒素および低カルシウムの第2の媒体は、最大で約10 ppm(例えば、±1 ppm)の濃度のカルシウムを含んでいてもよい。いくつかの実施形態によれば、低窒素および低カルシウムの第2の媒体は、最大で約5 ppm(例えば、±0.5 ppm)の濃度のカルシウムを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、低窒素および低カルシウムの第2の媒体は、最大で約5 ppm(例えば、±0.5 ppm)の濃度の窒素を含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、低窒素および低カルシウムの第2の媒体は、最大で約5 ppm(例えば、±0.5 ppm)の濃度の窒素を含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、低窒素および低カルシウムの第2の媒体にバイオマスを浸漬することにより、シュウ酸濃度とシュウ酸塩(例えば、シュウ酸カルシウム)濃度との間の平衡が達成され得る。

【0049】

バイオマスを浸漬することは、いくつかの実施形態によれば、第2の媒体にバイオマスを沈め、バイオマスのスラリーを作成することを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、バイオマスを、約1時間、または約2時間、または約4時間、または約6時間、または約8時間、または約10時間、または約12時間、または約16時間、または約

10

20

30

40

50

20時間、または約24時間、または約36時間、または約48時間、または約60時間、または約72時間、または約84時間、または約96時間、または約108時間、または約120時間、または約132時間、または約144時間浸漬してもよい。バイオマスを浸漬することは、第2の媒体を機械攪拌する、流す、移動する、噴霧する、または攪拌することを含んでいてもよい。いくつかの実施形態によれば、浸漬した微小作物（例えば、*Lemna*）および第2の媒体（例えば、低窒素の第2の媒体）を含むバイオマススラリーは、傾斜振動ふるいに運ばれてもよく、そこでバイオマス（例えば、微小作物）が第2の媒体から分離されてもよい。

【0050】

いくつかの実施形態によれば、バイオマスは、いくつかの実施形態によれば、第3の媒体中で緩衝化されてもよい。第3の媒体は、いくつかの実施形態によれば、水（例えば、地下水、表面水、リサイクルされた水）、蒸留水、逆浸透水および／またはナノ濾過水を含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、第3の媒体は、リサイクルされた流体の任意の所望の部分を含んでいてもよい。例えば、第3の媒体は、プロセスの別の段階からリサイクルされた流体の少なくとも約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）、または少なくとも約90%（v/v）を含んでいてもよい。

【0051】

バイオマスのpHを緩衝化することは、いくつかの実施形態によれば、第3の媒体にバイオマスを沈め、バイオマスのスラリーを作成することを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、バイオマスを、約1時間、または約2時間、または約4時間、または約6時間、または約8時間、または約10時間、または約12時間、または約16時間、または約20時間、または約24時間、または約36時間、または約48時間、緩衝化してもよい。いくつかの実施形態によれば、緩衝化した微小作物（例えば、*Lemna*）および第3の媒体（例えば、蒸留水、地下水、表面水、雨水）を含むバイオマススラリーは、傾斜振動ふるいに運ばれてもよく、そこでバイオマス（例えば、微小作物）が第3の媒体から分離されてもよい。他の実施形態において、バイオマス（例えば、微小作物）を排水によって第3の媒体から分離してもよい。

【0052】

いくつかの実施形態によれば、バイオマスのpHを緩衝化することは、バイオマスのpH値を変化させる（例えば、上昇させる、下げる）か、または維持することを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、バイオマスを緩衝化することは、バイオマスのpH値を約8.0未満、または約7.5未満、または約7.0未満、または約6.5未満、または約6.0未満、または約5.5未満、または約5.0未満、または約4.5未満、または約4.0未満、または約3.5未満、または約3.0未満に変化させる（例えば、上昇させる、下げる）か、または維持することを含んでいてもよい。いくつかの実施形態によれば、バイオマスを緩衝化することは、バイオマスのpH値を約3.0～約7.5、または約3.5～約7.5、または約4.0～約7.5、または約4.5～約7.5、または約5.0～約7.5、または約5.5～約7.5、または約6.0～約7.5、または約6.5～約7.5に変化させる（例えば、上昇させる、下げる）か、または維持することを含んでいてもよい。当業者には理解されるように、バイオマスのpH値を調整することによってバイオマスを緩衝化することは、いくつかの実施形態において、非緩衝化バイオマスと比較してより高いタンパク質収率を促進することができるタンパク質安定性を促進し得る。

【0053】

1つの手順で生成された1つ以上の浸漬されたバイオマスおよび緩衝化されたバイオマスは、1つ以上の下流の手順または装置に供給される前に、それぞれの容器（例えば、浸漬容器、緩衝化容器）に保存されてもよい。これは、例えば、連続モード、バッチモード、または1つ以上の下流の手順および／または装置への複数の供給流を含む異なる動作ス

10

20

30

40

50

ケジュールまたはモードに対応することができる。例えば、いくつかの実施形態において、昼間にバイオマスを採取し、処理（例えば、浸漬および／または緩衝化）し、その後、処理されたバイオマスをより小さなパッチ（例えば、第1の部分、第2の部分）でさらに処理し、下流の処理機械の容量の制限に対応することができる。

【0054】

バイオマスの洗浄

いくつかの実施形態において、微小作物またはバイオマス（例えば、第1の部分、第2の部分）を処理することは、過剰な成長媒体、溶媒溶液、残屑、汚染物質、微生物および／または毒素を除去するための洗浄手順（例えば、図1Bの106、図2Bの206）を含んでいてもよい。バイオマスを洗浄することにより、タンパク質生成物の純度および／または収量を増加させてもよい。洗浄手順によって、バイオマスを殺菌および／または駆除し、バイオマスの表面またはその周囲にある細菌、真菌、ウイルス、昆虫、およびそれらの任意の組み合わせを減らすか、または除去してもよい。いくつかの実施形態において、洗浄手順は、バイオマスの少なくとも1つの表面を洗浄液（例えば、水、成長媒体、抗菌溶液）にさらす（例えば、沈める、噴霧する）ことによって実施されてもよい。いくつかの実施形態において、洗浄液をバイオマス（例えば、第1の部分、第2の部分）と組み合わせてスラリーを作成してもよい。

10

【0055】

いくつかの実施形態において、洗浄液は、リサイクルされた流体の任意の所望の部分を含んでいてもよい。例えば、洗浄液は、プロセスの別の段階からリサイクルされたもの（例えば、リサイクルされた洗浄液（図1Dの108）、濾過されたプランチング溶液（図1Bの130、図2Bの230））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）、または少なくとも約90%（v/v）含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、洗浄液は、水溶液または溶媒であってもよい。洗浄液は、1つ以上の抗菌剤、寄生防止化合物、脂肪酸、アルコール、塩素、酸化化合物、およびそれらの任意の組み合わせ（例えば、オゾン処理水）を含んでいてもよい。

20

【0056】

いくつかの実施形態によれば、洗浄液を高圧で適用してもよい。洗浄液は、少なくとも約1秒間、または少なくとも約5秒間、または少なくとも約10秒間、または少なくとも約20秒間、または少なくとも約30秒間、または少なくとも約1分間、または少なくとも約5分間、バイオマスと接触したままであってもよい。いくつかの実施形態において、バイオマスに第2の洗浄液（例えば、水、オゾン水、リサイクルされた洗浄液（図1Bの108、図2Bの208）、濾過されたプランチング溶液（図1Bの130、図2Bの230））を適用してもよい。いくつかの実施形態において、バイオマスに第3の洗浄液（例えば、水、オゾン水、リサイクルされた洗浄液（図1Bの108、図2Bの208）、濾過されたプランチング溶液（図1Bの130、図2Bの230））を適用してもよい。第1の洗浄液、第2の洗浄液および第3の洗浄液の組成は、互いに同じであってもよく、異なっていてもよい。いくつかの実施形態において、第1の洗浄液は、濾過されたプランチング溶液（図1Bの130、図2Bの230）であってもよく、またはこれを含んでいてもよく、第2の洗浄液が水であってもよく、および第3の洗浄液がオゾン水であってもよい。いくつかの実施形態において、（例えば、傾斜ふるいまたは振動ふるいを使用して）洗浄液の一部または全部（例えば、第1、第2、および／または第3洗浄液）をバイオマスから分離することができる。

30

【0057】

いくつかの実施形態において、洗浄液、第2の洗浄液および／または第3の洗浄液の一部または全部を集め、リユース／リサイクルしてもよい（例えば、リサイクルされた洗浄液（図1Bの108、図2Bの208））。いくつかの実施形態によれば、バイオマスから分離した洗浄液、第2の洗浄液および／または第3の洗浄液（例えば、水）の少なくとも

40

50

約 40 %、または少なくとも約 50 %、または少なくとも約 60 %、または少なくとも約 70 %、または少なくとも約 80 %、または少なくとも約 90 %、または少なくとも約 95 %は、リサイクルされた洗浄液として、および／またはバイオリアクターシステム中の成長媒体（図 1 B の 108、図 2 B の 208）としての将来の使用のためにリサイクルされてもよい。

【0058】

いくつかの実施形態において、洗浄液、第 2 の洗浄液および／または第 3 の洗浄液は、任意の所望な pH を有していてもよく、または任意の所望な pH を有するように調整されてもよい。例えば、洗浄液、第 2 の洗浄液、および／または第 3 の洗浄液の pH は、中性または塩基性（例えば、約 7.0、または約 7.5、または約 8.0、または約 8.5、または約 9.0、または約 9.5、または約 10.0）であってもよい。いくつかの実施形態によれば、洗浄液、第 2 の洗浄液、および／または第 3 の洗浄液の pH は、約 7.0～約 7.5、または約 7.5～約 8.0、または約 8.0～約 8.5、または約 8.5～約 9.0、または約 9.0～約 9.5、または約 9.5～約 10.0 であってもよい。いくつかの実施形態によれば、洗浄液、第 2 の洗浄液および／または第 3 の洗浄液の pH は、約 7.0～約 10.0、または約 7.0～約 9.5、または約 7.0～約 9.0、または約 7.0～約 8.5、または約 7.0～約 8.0、または約 7.0～約 7.5 であってもよい。

10

【0059】

洗浄液（例えば、第 1、第 2 および／または第 3 の洗浄液）は、使用時に室温より低い温度（例えば、約 12°）を有していてもよい。洗浄液、ひいては微小作物を冷却することは、タンパク質回収効率を改善し、および／またはタンパク質分解活性を低下させる可能性がある。いくつかの実施形態において、洗浄液（例えば、第 1、第 2、および／または第 3 の洗浄液）は、使用時に、約 30 未満、または約 20 未満、または約 15 未満、または約 10 未満、または約 5 未満、または約 2 未満、または約 1 未満、または約 0 未満の温度を有していてもよい。洗浄液（例えば、第 1、第 2 および／または第 3 の洗浄液）は、いくつかの実施形態において、使用時に、約 0°～約 10°、または約 5°～約 15°、または約 10°～約 20°、または 15°～約 25°、または約 20°～約 30° の間の温度を有していてもよい。

20

【0060】

30

バイオマスのプランチング

いくつかの実施形態において、微小作物またはバイオマス（例えば、第 1 の部分、第 2 の部分）を処理することは、微小作物材料をプランチングし（例えば、図 1 A の 110、図 2 A の 210）、濡れたタンパク質濃縮物を作成すること（例えば、図 1 A の 111、図 2 A の 211）を含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、プランチングは、例えば、（1）収穫（例えば、図 1 A の 104、図 2 A の 204）した後、または（2）収穫し、洗浄（例えば、図 1 C の 104 / 106、図 2 C の 204 / 206）した後に、バイオマス上で行われてもよい。いくつかの実施形態によれば、洗浄手順の代わりに、または洗浄手順に加えて、プランチング手順を使用してもよい。プランチングは、いくつかの実施形態によれば、高濃度タンパク質生成物（例えば、濡れたもの、フレーク／顆粒、粉状物、粉碎した乾燥タンパク質濃縮物）の灰分、シウ酸含量、および／またはフェノール（例えば、タンニン）含量を下げるだろう。

40

【0061】

50

いくつかの実施形態によれば、プランチングは、プランチング溶液とバイオマスとを接触する（例えば、浸漬する、沈める）ことを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、バイオマスに接触させることは、プランチング溶液をバイオマスの少なくとも 1 つの表面に適用（例えば、シャワー）すること、（例えば完全に、部分的に）バイオマスを沈めること、バイオマスの少なくとも 1 つの表面をプランチング溶液の波にさらすことを含んでいてもよい。バイオマスを適用することは、いくつかの実施形態において、プランチング溶液を滝のように流すこと、シャワーすること、噴霧すること、ミストすること、

霧で覆うこと、注ぐこと、あるいは滴下すること、またはこれらの任意の組み合わせを含んでいてもよい。いくつかの実施形態によれば、プランチング溶液の波は、プランチング溶液の容積の上部表面に、バイオマスの上部表面（すなわち、プランチング溶液を保持する容器の底部表面から離れた表面）に所定量のプランチング溶液を堆積させることができ任意の障害（例えば、波作用、歎、うねり、またはリップル）を含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、プランチング溶液とバイオマスとの比（w/w）は、10:1、または9:1、または8:1、または7:1、または6:1、または5.5:1、または5:1、または4.5:1、または4:1、または3.5:1、または3:1、または2.5:1、または2:1、または1.5:1、または1:1であってもよい。

【0062】

10

いくつかの実施形態によれば、バイオマスをプランチングすること（110）は、ポンプ速度を供給速度で割ることによって計算された生成物流速比で実施されてもよい。例えば、バイオマスをプランチングすることは、生成物流速比が7:1であってもよく、ここで、プランチング溶液は、28リットル/分（L/分）のポンプ速度で輸送され、バイオマスは、4kg/分の供給速度で輸送される。いくつかの実施形態によれば、バイオマスをプランチングすることは、生成物流速比が、いくつかの実施形態によれば、約10:1、または約9:1、または約8:1、または約7.5:1、または約7:1、または約6.5:1、または約6:1、または約5.5:1、または約5:1、または約4.5:1、または約4:1、または約3.5:1、または約3:1、または約2.5:1、または約2:1、または約1.5:1、または約1:1であってもよい。

20

【0063】

プランチング溶液は、いくつかの実施形態によれば、水、表面水、井戸水、蒸留水、逆浸透水および/またはナノ濾過水を含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、プランチング溶液は、リサイクルされた流体の任意の所望の部分を含んでいてもよい。例えば、プランチング溶液は、プロセスの別の段階からリサイクルされたもの（例えば、リサイクルされたプランチング溶液（図1Aの122、図2Aの222））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）、または少なくとも約90%（v/v）含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、プランチング溶液は、少なくとも1種のカルシウム塩（例えば、塩化カルシウム、酢酸カルシウム）をさらに含んでいてもよい。バイオマスを、少なくとも1種のカルシウム塩（例えば、塩化カルシウム、酢酸カルシウム）を含むプランチング溶液でプランチングすると、不溶性シウ酸カルシウムに変換することによってバイオマスから少なくともいくらかの可溶性シウ酸を除去することができる。いくつかの実施形態において、カルシウム塩は、塩化カルシウム、酢酸カルシウム、炭酸カルシウム、水酸化カルシウム、またはそれらの組み合わせから選択されてもよい。

30

【0064】

いくつかの実施形態において、プランチング溶液は、バイオマスと接触する時点で、約60より高い温度、または約65より高い温度、または約70より高い温度、または約75より高い温度、または約80より高い温度、または約85より高い温度、または約90より高い温度、または約95より高い温度、または約100より高い温度を有していてもよい。いくつかの実施形態によれば、プランチング溶液は、液体の形態、気体の形態（例えば、蒸気）、またはこれらの組み合わせであってもよい。

40

【0065】

いくつかの実施形態によれば、バイオマスは、約20秒まで、または約30秒（sec）まで、または約40秒まで、または約50秒まで、または約1分まで、または約1分15秒まで、または約1分30秒まで、または約1分45秒まで、または約2分まで、または約2分30秒まで、または約3分まで、または約4分まで、または約5分まで、または約6分まで、または約7分まで、または約8分まで、または約9分まで、または約10分

50

まで、プランチングされ（例えば、プランチング溶液と接触し、プランチング溶液に浸漬され、プランチング溶液に沈められ、蒸気にさらされ）てもよい。いくつかの実施形態において、バイオマスは、約20秒～約40秒、または約30秒～約45秒、または約30秒～約1分、または約30秒～約1分30秒、または約30秒～約2分、または約30秒～約5分、または約1分～約5分、または約1分～約5分、または約1分～約10分、または約30秒～約10分、プランチングされてもよい。ここで、「約」は、±10%を表していてもよい。いくつかの実施形態によれば、バイオマスを約85で約45秒間プランチングしてもよい。

【0066】

いくつかの実施形態において、プランチング溶液は、バイオマスと接触しながら温度を変化させてもよい。例えば、いくつかの実施形態によれば、約92～約94の初期温度を有するプランチング溶液によってバイオマスを接触させてもよく、ここで、接触は、約40秒間続き、この時点で、プランチング溶液は、約75～約77の最終的な接触温度を有していてもよい。いくつかの実施形態において、プランチング溶液は、いくつかの実施形態において、初期温度（例えば、プランチング溶液が最初にバイオマスに接触する時点での温度）が、約60より高く、または約65より高く、または約70より高く、または約75より高く、または約80より高く、または約85より高く、または約90より高く、または約95より高く、または約100より高くてよい。プランチング溶液は、いくつかの実施形態において、最終的な接触温度（例えば、バイオマスがプランチングトレーを出る時点での温度）が、約60未満、または約65未満、または約70未満、または約75未満、または約80未満、または約85未満、または約90未満、または約95未満、または約100未満であってもよい。

【0067】

いくつかの実施形態において、プランチング溶液の一部または全部を濡れたタンパク質濃縮物から分離してもよい（例えば、図1Aの111）。いくつかの実施形態において、プランチング溶液を、いくつかの実施形態において、重力分離、排液、傾斜ふるい、振動ふるい、濾過、デカンター遠心分離機、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、またはこれらの任意の組み合わせを用い、濡れたタンパク質濃縮物から分離してもよい。

【0068】

いくつかの実施形態において、分離したプランチング溶液を集め、リユース／リサイクルしてもよい（例えば、図1Aの122、図2Aの222のリサイクルされたプランチング溶液）。いくつかの実施形態によれば、分離した溶液をリサイクルすることは、分離した溶液をモニタリングすることを含んでいてもよい。いくつかの実施形態によれば、分離した溶液をモニタリングすることは、組成物（例えば、全ての溶解した固体）および／または分離した溶液の温度をモニタリングすることを含んでいてもよい。分離した溶液の組成をモニタリングすることは、いくつかの実施形態において、全ての溶解した固体、全固形分、濁度、電気伝導度、栄養素（例えば窒素）の組成、塩分、pHのうちの1つ以上をモニタリングすることを含んでいてもよい。

【0069】

いくつかの実施形態において、分離した溶液をリサイクルすることは、分離した溶液の組成（例えば、全固形分、濁度）を維持するか、または調整することを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、分離した溶液の組成を維持すること、または調整することは、ある容積の分離した溶液の全固形分を0.5%（w/w）未満、または1%（w/w）未満、または2%（w/w）未満、または4%（w/w）未満、または6%（w/w）未満、または8%（w/w）未満、または10%（w/w）未満の値に維持すること、または調整することを含んでいてもよい。いくつかの実施形態によれば、分離した溶液の組成を維持すること、または調整することは、ある容積の分離した溶液の濁度値（例えば、500nm光源の吸光度に対する、ここで、1.0は10%の吸光度と等しく、1.0は100%の吸光度と等しい）を約0.5未満、または約0.75未満、または約1.5未満であってもよい。

10

20

30

40

50

0 未満、または約 1 . 2 5 未満、または約 1 . 5 未満の値に維持すること、または調整することを含んでいてもよい。ここで、約は、± 5 %を表していてもよい。いくつかの実施形態において、分離した溶液の組成を維持すること、または調整することは、分離した溶液の導電率値を約 2 0 0 0 μ S / cm 未満、または約 2 5 0 0 μ S / cm 未満、または約 3 0 0 0 μ S / cm 未満、または約 3 5 0 0 μ S / cm 未満、または約 4 0 0 0 μ S / cm 未満、または約 4 5 0 0 μ S / cm 未満、または約 5 0 0 0 μ S / cm 未満、または約 5 5 0 0 μ S / cm 未満、または約 6 0 0 0 μ S / cm 未満の値に維持すること、または調整することを含んでいてもよい。ここで、約は、± 2 5 0 μ S / cm を表していてもよい。

【0070】

10

いくつかの実施形態において、分離した溶液の組成を維持または調整することは、分離した溶液を希釈することを含んでいてもよい。分離した溶液の組成（例えば、溶解した固体分、濁度）を調整するために、分離した溶液の希釈が望ましい場合がある。希釈された分離した溶液は、いくつかの実施形態において、プランチング溶液として、洗浄液として、沈降溶液として、冷却溶液として、またはそれらの任意の組み合わせとしてリサイクルされてもよい。

【0071】

20

いくつかの実施形態において、分離した溶液を希釈することは、ある容積の廃棄溶液を廃棄し、ある容積（例えば、等しい容積）の希釈溶液を加えることを含んでいてもよい。廃棄溶液は、いくつかの実施形態によれば、溶解した固体（例えば、灰）の所望の組成を達成するのに必要な希釈溶液の容積に等しい容積を有していてもよい。いくつかの実施形態において、廃棄溶液は、溶解した固体（例えば、灰）の所望の組成を達成するのに必要な希釈溶液の容積よりも大きな容積を有していてもよい。

【0072】

いくつかの実施形態において、廃棄溶液は、微小作物の栽培における成長媒体としてリサイクルされてもよい。いくつかの実施形態によれば、希釈溶液は、水、地下水、井戸水、蒸留水、脱イオン水、逆浸透水、ナノ濾過水、超濾過水、またはそれらの任意の組み合わせを含んでいてもよい。

【0073】

30

いくつかの実施形態によれば、分離した溶液は、溶解した固体（例えば、灰）および/または全固体分の所望の組成物を含むように希釈されてもよい。いくつかの実施形態において、分離した溶液の容積は、合計固体物含量が 0 . 5 % (w / w) 未満、1 % (w / w) 未満、または 2 % (w / w) 未満、または 4 % (w / w) 未満、または 6 % (w / w) 未満、または 8 % (w / w) 未満、または 10 % (w / w) 未満の値になるように希釈されてもよい。いくつかの実施形態によれば、分離した溶液は、ある容積の分離した溶液の濁度値（例えば、5 0 0 nm 光源の吸光度に対する、ここで、1 . 0 は 10 % の吸光度と等しく、10 . 0 は 100 % の吸光度と等しい）が約 0 . 5 未満、または約 0 . 7 5 未満、または約 1 . 0 未満、または約 1 . 2 5 未満、または約 1 . 5 未満の値になるように希釈されてもよい。ここで、約は、± 5 %を表していてもよい。いくつかの実施形態において、分離した溶液は、導電率値が約 2 0 0 0 μ S / cm 未満、または約 2 5 0 0 μ S / cm 未満、または約 3 0 0 0 μ S / cm 未満、または約 3 5 0 0 μ S / cm 未満、または約 4 0 0 0 μ S / cm 未満、または約 4 5 0 0 μ S / cm 未満、または約 5 0 0 0 μ S / cm 未満、または約 5 5 0 0 μ S / cm 未満、または約 6 0 0 0 μ S / cm 未満の値になるように希釈されてもよい。ここで、約は、± 2 5 0 μ S / cm を表していてもよい。

【0074】

40

いくつかの実施形態において、分離した溶液は、バイオマス供給速度に対して希釈されてもよい。いくつかの実施形態によれば、収集タンク内の分離した溶液は、約 4 : 1、または約 3 . 5 : 1、または約 3 : 1、または約 2 . 5 : 1、または約 2 : 1、または約 1 . 5 : 1、または約 1 : 1 の飼料対希釈比に対して希釈されてもよい。

【0075】

50

分離した溶液を希釈することは、ドナー流およびレシピエント流を熱交換器に供することを含んでいてもよい。いくつかの実施形態によれば、熱交換器（例えば、熱エネルギー交換機構）は、微小作物（例えば、*Lemna*）由来の高濃度タンパク質生成物（例えば、タンパク質フレーク）の生成に必要な全エネルギー入力を減らすだろう。いくつかの実施形態によれば、熱交換器は、廃棄溶液の流れ（すなわち、ドナー流）および希釈溶液の流れ（すなわち、レシピエント流）が熱エネルギー交換が起こり得るように隣接する流れシステムを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、希釈溶液の流れ（すなわち、レシピエント流）は、ドナー流（例えば、プランチング溶液からの熱を保持する廃棄溶液の流れ）よりも低い温度を有していてもよく、したがって、低い熱エネルギーを有していてもよい。いくつかの実施形態によれば、熱交換器は、希釈溶液の流れ（すなわち、レシピエント流）が廃棄溶液の流れ（すなわち、ドナー流）から少なくともいくらかの熱エネルギーを吸収することができるようなフローシステム（例えば、導電性材料から構成される一連のパイプ）を備えていてもよい。いくつかの実施形態において、熱交換器は、希釈溶液の流れおよび／または分離した希釈溶液の温度を上昇させてもよい。

10

20

30

40

50

【0076】

いくつかの実施形態によれば、分離したプランチング溶液を濾過し（例えば、図1Aの128、図2Aの228）、濾過したプランチング溶液（例えば、図1Aの130）とプランチング廃棄物を作成してもよい。濾過としては、いくつかの実施形態によれば、粗濾過（例えば、重力濾過、振動ふるい濾過）、微細濾過（例えば、精密濾過、限外濾過、ナノ濾過、逆浸透濾過）、またはこれらの任意の組み合わせが挙げられるだろう。濾過したプランチング溶液を、洗浄液として（例えば、図1Cの130）として、微小作物の栽培における成長媒体として（例えば、図1Aの130）、プランチング溶液として、またはこれらの任意の組み合わせとしてリサイクルしてもよい。いくつかの実施形態において、プランチング廃棄物（例えば、濾過法からの残留物）は、微小作物の栽培における成長媒体の一部として（例えば、栄養源として）リサイクルされてもよい（例えば、図1Aの126、図2Aの226）。いくつかの実施形態によれば、濡れたタンパク質濃縮物から分離したプランチング溶液の少なくとも約40%、または少なくとも約50%、または少なくとも約60%、または少なくとも約70%、または少なくとも約80%、または少なくとも約90%、または少なくとも約95%が、将来の使用（例えば、第1、第2または第3の洗浄液として使用されるリサイクルされたプランチング溶液またはさらなるプランチングサイクル）のためにリサイクルされてもよい。

【0077】

濡れたタンパク質濃縮物の冷却

いくつかの実施形態によれば、濡れたタンパク質濃縮物を冷却してもよい（例えば、図1Bの112）。冷却手順は、濡れたタンパク質濃縮物の少なくとも1つの表面を冷却溶液（例えば、水）にさらす（例えば、沈める、噴霧する）ことによって、または濡れたタンパク質濃縮物の少なくとも1つの表面を、低温の空気または対流冷却条件（例えば、風、空気の動き）にさらすことによって行われてもよい。

【0078】

いくつかの実施形態において、冷却手順は、濡れたタンパク質濃縮物の少なくとも1つの表面を冷却溶液（例えば、水）にさらす（例えば、沈める、噴霧する）ことによって実施されてもよい。いくつかの実施形態において、冷却溶液を濡れたタンパク質濃縮物（例えば、第1の部分、第2の部分）と組み合わせてスラリーを作成してもよい。いくつかの実施形態によれば、冷却溶液は、プランチング溶液から分離した後、濡れたタンパク質濃縮物と組み合わせてもよい。いくつかの実施形態によれば、プランチング手順は、プランチング溶液／バイオマススラリーの機械攪拌または攪拌を含んでいてもよい。プランチング溶液／バイオマススラリーの機械攪拌または攪拌は、いくつかの実施形態によれば、永続的または断続的であってもよい。いくつかの実施形態によれば、希釈溶液を用い、濡れたタンパク質濃縮物を冷却してもよく、次いで、希釈溶液を集め、これを使用し、分離した溶液を希釈してもよい。

【0079】

冷却溶液は、少なくとも約30秒間、または少なくとも約1分間、または少なくとも約5分間、または少なくとも約10分間、または少なくとも約15分間、または少なくとも約20分間、または少なくとも約25分間、または少なくとも約30分間、濡れたタンパク質濃縮物と接触したままにしてよい。いくつかの実施形態において、冷却溶液の一部または全てが、(例えば、傾斜ふるいまたは振動ふるいを用いて)濡れたタンパク質濃縮物から分離されてもよい。冷却溶液を、いくつかの実施形態において、重力分離、排液、傾斜ふるい、振動ふるい、濾過、デカンター遠心分離機、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、またはこれらの任意の組み合わせを用い、濡れたタンパク質濃縮物から分離してもよい。

10

【0080】

いくつかの実施形態において、冷却溶液の一部または全てを集め、再利用/リサイクルしてもよい。いくつかの実施形態によれば、濡れたタンパク質濃縮物から分離した冷却溶液(例えば、水)の少なくとも約40%、または少なくとも約50%、または少なくとも約60%、または少なくとも約70%、または少なくとも約80%、または少なくとも約90%、または少なくとも約95%が、冷却溶液として、洗浄液として、微小作物を栽培するための成長媒体として、またはこれらの任意の組み合わせとして、将来の使用のためにリサイクルされてもよい。

【0081】

冷却溶液は、使用時に室温より低い温度(例えば、約12)を有してもよい。いくつかの実施形態において、冷却溶液は、使用時に、約50未満、または約40未満、または約30未満、または約20未満、または約15未満、または約10未満、または約5未満、または約2未満、または約1未満、または約0未満の温度を有してもよい。冷却溶液は、いくつかの実施形態において、使用時に、約0~約10、または約5~約15、または約10~約20、または約15~約25、または約20~約30、または約0~約50の間の温度を有してもよい。

20

【0082】

いくつかの実施形態によれば、濡れたタンパク質濃縮物の少なくとも1つの表面を、温度の低い空気、または対流冷却条件(例えば、風、空気移動)またはそれらの任意の組み合わせにさらすことによって、濡れたタンパク質濃縮物を冷却してもよい。いくつかの実施形態によれば、濡れたタンパク質濃縮物を、温度の低い空気、または対流冷却条件(例えば、風、空気移動)またはそれらの任意の組み合わせにさらす前に、プランチング溶液から濡れたタンパク質濃縮物を分離してもよい。いくつかの実施形態によれば、濡れたタンパク質濃縮物およびプランチング溶液のスラリーを、温度の低い空気、または対流冷却条件(例えば、風、空気移動)またはそれらの任意の組み合わせにさらしてもよい。

30

【0083】

温度の低い空気は、いくつかの実施形態において、温度が30未満、または25未満、または20未満、または15未満、または10未満、または5未満、または2未満、または1未満、または0未満であってもよい。

【0084】

濡れたタンパク質濃縮物の含水量を減らす

いくつかの実施形態において、プロセスを使用し、濡れたタンパク質濃縮物の含水量を減らしてもよい。いくつかの実施形態によれば、濡れたタンパク質濃縮物を冷却する(例えば、図1Bの112)ことなく、濡れたタンパク質濃縮物の含水量を減らしてもよい。濡れたタンパク質濃縮物の含水量を減らすことは、例えば、最終タンパク質生成物(例えば、タンパク質濃縮物のフレーク/顆粒)を乾燥させるのに必要なエネルギーが減ることによって、資本コストおよび操作費を低減することができる。

40

【0085】

いくつかの実施形態において、エバポレーションプロセスを使用し、濡れたタンパク質濃縮物の含水量を減らしてもよい。蒸発は、例えば、上昇膜蒸発器、流下薄膜蒸発器、自

50

然循環蒸発器（垂直または水平）、攪拌膜蒸発器、多重効果蒸発器、蒸発器蒸発器などの熱（蒸発）真空蒸着、またはそれらの任意の組み合わせによって行うことができる。熱はエバポレーターに直接供給されてもよく、加熱ジャケットを介して間接的に供給されてもよい。熱は、生の供給源（例えば、天然ガスの燃焼、ボイラーからの蒸気）または廃熱流（例えば、乾燥機の排気）から、または流入流を冷却することによって移送された熱から生じ得る。

【0086】

いくつかの実施形態によれば、濡れたタンパク質濃縮物の含水量は、重力分離、排液、傾斜ふるい、振動ふるい、濾過、デカンター遠心分離機、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、またはこれらの任意の組み合わせを用いて減らされてもよい。

10

【0087】

いくつかの実施形態において、製品の貯蔵寿命（例えば、包装された製品の貯蔵寿命）を改善するために、乾燥前に酸化防止剤（例えば、ローズマリー抽出物、Duralox（登録商標）、Phyt-O-Bleend CA）を濡れたタンパク質生成物と混合することができる。いくつかの実施形態によれば、製品の口当たりを改善するために、乾燥前にレシチンを濡れたタンパク質生成物と混合することができる。

【0088】

濡れたタンパク質濃縮物の溶媒抽出

いくつかの実施形態によれば、微小作物、またはバイオマス（例えば、第1の部分、第2の部分）または濡れたタンパク質濃縮物を処理することは、溶媒洗浄されたタンパク質生成物を作成するために、溶媒洗浄手順を含んでいてもよい（例えば、図2Aの232）。

20

【0089】

いくつかの実施形態において、溶媒洗浄されたタンパク質生成物は、溶媒抽出手順を行わなかったタンパク質生成物と比較した場合、タンパク質の純度が上がっている可能性がある。溶媒抽出手順（例えば、図2Aの232）は、いくつかの実施形態によれば、微小作物、またはバイオマス、または濡れたタンパク質濃縮物を脱色し、洗浄していない対応物と比較して、クロロフィル含量が減少している（例えば、緑色発色の視覚的に知覚可能な減少）溶媒洗浄されたタンパク質生成物を得ることができる。いくつかの実施形態において、溶媒抽出手順は、タンパク質濃縮物（例えば、濡れたもの、フレーク／顆粒、粉状物）の脂肪含量を減らすことができる。脂肪含量の減少は貯蔵寿命を延ばし、臭気を改善し、および／または高濃度タンパク質生成物の味を改善することができる。

30

【0090】

微小作物、またはバイオマス、または濡れたタンパク質濃縮物の溶媒抽出は、いくつかの実施形態において、微小作物、またはバイオマス、または濡れたタンパク質濃縮物の少なくとも1つの表面を溶媒溶液（例えば、エタノール、メタノール、アセトン）にさらす（例えば、沈める、噴霧する、滴下する）ことを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、溶媒溶液を、微小作物またはバイオマスまたは濡れたタンパク質濃縮物（例えば、第1の部分、第2の部分）と組み合わせてスラリーを作成してもよい。いくつかの実施形態によれば、溶媒抽出手順は、微小作物、またはバイオマス、または濡れたタンパク質濃縮物の少なくとも1つの表面を、少なくとも約5秒間、少なくとも約15秒間、少なくとも約30秒間、少なくとも約45秒間、少なくとも約1分間、少なくとも約2分間、少なくとも約3分間、少なくとも約5分間、少なくとも約10分間、少なくとも約20分間、少なくとも約30分間、少なくとも約40分間、少なくとも約50分間、少なくとも約1時間、少なくとも約2時間、少なくとも約3時間、少なくとも約4時間、少なくとも約5時間、少なくとも約6時間、少なくとも約12時間、または少なくとも約24時間、溶媒溶液にさらす（例えば、沈める、噴霧する、滴下する、スラリー化する）ことを含んでいてもよい。溶媒抽出手順は、いくつかの実施形態において、特定の時間に、間欠的に、または連続的に溶媒溶液の少なくとも一部を移動する（例えば、機械攪拌する、攪拌す

40

50

る、噴射する)ことを含んでいてもよい。

【0091】

いくつかの実施形態において、溶媒溶液は、1つ以上のアルコール(例えば、エタノール、メタノール、プロパノール、イソプロパノール、グリセロール)、アセトン、ジクロロメタン、酢酸エチル、ヘキサン、ケトン、またはこれらの組み合わせを含んでいてもよい。溶媒溶液は、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)、または少なくとも約90%の1つ以上アルコール(例えば、エタノール、メタノール、プロパノール、イソプロパノール、グリセロール)、アセトン、ジクロロメタン、酢酸エチル、ヘキサン、ケトン、またはこれらの組み合わせを含んでいてもよい。

10

【0092】

いくつかの実施形態において、溶媒を回収し(例えば、図2Aの234)、リサイクルしてもよい(例えば、図2Aの238)。さらに、いくつかの実施形態によれば、溶媒抽出(例えば、図2Aの232)によって濡れたタンパク質濃縮物から抽出されたクロロフィル副生成物および/または脂肪副生成物(例えば、図2Aの236)は、溶媒から回収されてもよい(例えば、図2Aの234)。

【0093】

溶媒洗浄されたタンパク質生成物は、いくつかの実施形態において、減少した脂肪含量(例えば、タンパク質濃縮物のフレーク/顆粒の約2重量%またはそれ以下)および/または減少したクロロフィル含量(例えば、緑色発色の視覚的に知覚可能な減少)を有していてもよい。いくつかの実施形態において、溶媒洗浄したタンパク質生成物は、無色、白色、実質的に白色にみえてもよく、または緑色の発色が低減していてもよい。溶媒洗浄されたタンパク質生成物は、いくつかの実施形態において、改善された臭気、味、色、貯蔵寿命(例えば、脂肪の酸化の減少)、タンパク質密度、展性、またはこれらの組み合わせの少なくとも1つを示してもよい。

20

【0094】

いくつかの実施形態において、溶媒洗浄されたタンパク質生成物は、脂肪含量(w/w)が、乾燥タンパク質濃縮物(例えば、フレーク、顆粒、粉状物)の約20重量%未満、約15重量%未満、または約10重量%未満、または約5重量%未満、または約4重量%未満、または約3重量%未満、または約2重量%未満、または約1重量%未満、または0.5重量%未満、または0.4重量%未満、または0.3重量%未満、または0.2重量%未満、または0.1重量%未満であってもよい。いくつかの実施形態によれば、溶媒洗浄したタンパク質生成物は、脂肪含量が、乾燥タンパク質濃縮物(例えば、フレーク、顆粒、粉状物)の約0.1重量%~約10重量%、または約0.1重量%~約5重量%、または約0.1重量%~約2重量%、または約0.1重量%~約1重量%、または約0.1重量%~約0.5重量%であってもよい。

30

【0095】

タンパク質生成物の乾燥

いくつかの実施形態によれば、濡れたタンパク質濃縮物または溶媒洗浄されたタンパク質生成物を乾燥させ、タンパク質濃縮物のフレークまたはタンパク質濃縮物の顆粒(例えば、第1の部分、第2の部分)を作成してもよい。乾燥手順は、いくつかの実施形態において、濡れたタンパク質濃縮物または溶媒洗浄されたタンパク質生成物の水分含量を、所望のレベル(例えば、より低い水分含量、所望の含水量)まで下げることができる。タンパク質濃縮物のフレーク/顆粒の含水量は、いくつかの実施形態において、例えば、タンパク質濃縮物のフレーク/顆粒の約90重量%未満、または約80重量%未満、または約70重量%未満、または約60重量%未満、または約50重量%未満、または約40重量%未満、または約30重量%未満、または約20重量%未満、または約10重量%未満、または約5重量%未満、または約1重量%未満であってもよい。乾燥手順は、例えば、ス

40

50

プレードライヤー、ドラムドライヤー、ダブルドラムドライヤー、フラッシュドライヤー、流動床ドライヤー、対流ドライヤー、エバポレーター、またはこれらの任意の組み合わせを含む機構を用いて行われてもよい。

【0096】

いくつかの実施形態において、乾燥機構の入口温度（乾燥機への入口における温度）は、25より高く、または50より高く、または75より高く、または100より高く、または125より高く、または150より高く、または175より高く、または200より高く、または225より高く、または250より高く、または275より高く、または300より高く、または325より高く、または350より高く、または375より高く、または400より高く、または425より高く、または450より高く、または475より高く、または500より高くてよい。入口温度は、いくつかの実施形態において、約25～約50、または約50～約75、または約75～約100、または約100～約125、または約125～約150、または約150～約175、または約175～約200、または約200～約225、または約225～約250、または約250～約275、または約275～約300、または約300～約325、または約325～約350、または約350～約375、または約375～約400、または約400～約425、または約425～約450、または約450～約475、または約475～約500、または500より高くてよい。いくつかの実施形態において、入口温度は、約50～約100、または約100～約150、または約150～約200、または約200～約250、または約250～約300、または約300～約350、または約350～約400、または約400～約450、または約450～約500、または500より高くてよい。いくつかの実施形態によれば、乾燥機構の入口温度は、約225であってよい。

【0097】

いくつかの実施形態によれば、乾燥機構の出口温度（乾燥機からの出口における温度）は、約300未満、または約275未満、または約250未満、または約225未満、または約200未満、または約175未満、または約150未満、または約125未満、または約100未満、または約75未満、または約50未満、または約25未満であってよい。いくつかの実施形態において、出口温度は、約300～約275、または約275～約250、または約250～約225、または約225～約200、または約200～約175、または約175～約150、または約150～約125、または約125～約100、または約100～約75、または約75～約50、または約50～約25、または約25未満であってよい。出口温度は、いくつかの実施形態において、約300～約250、または約250～約200、または約200～約150、または約150～約100、約100～約50、または約50～約25、または約25未満であってよい。いくつかの実施形態によれば、乾燥機構の出口温度は、約75であってよい。

【0098】

いくつかの実施形態において、ある体積の濡れたタンパク質濃縮物またはある体積の溶媒洗浄されたタンパク質生成物を、乾燥前に一定量のタンパク質濃縮物のフレーク／顆粒と混合してもよい。逆混合として知られているこのプロセスは、例えば、濡れたタンパク質濃縮物の含水量が、乾燥機構が受け入れることができるレベルを超える場合に採用され得る。タンパク質濃縮物のフレーク／顆粒を濡れたタンパク質濃縮物または溶媒洗浄されたタンパク質生成物と逆混合することにより、乾燥機構の仕様内に総含水量を維持することができ、それにより運転コスト（例えば、装置の摩耗）が下がる。

【0099】

粉碎

いくつかの実施形態によれば、タンパク質濃縮物のフレーク／顆粒を粉碎し（例えば、

10

20

30

30

40

50

図1Aの118、図2Aの218)、タンパク質濃縮物の粉状物120を作成してもよい。粉碎手順は、ハンマーミル、ピンミル、振動ミル、流体エネルギーミル、ジェットミル、またはそれらの任意の組み合わせを含んでいてもよい。

【0100】

いくつかの実施形態によれば、抗酸化剤(例えば、ローズマリー抽出物、Duralo^x(登録商標)、Phyt-O-Blend CA)は、包装前にタンパク質濃縮物のフレーク/顆粒またはタンパク質濃縮物の粉状物と混合されてもよい。

【0101】

いくつかの実施形態によれば、濡れたタンパク質濃縮物または部分的に乾燥された(例えば、含水量が低減された)濡れたタンパク質濃縮物または溶媒洗浄されたタンパク質濃縮物を、凍結、急速凍結、または凍結乾燥してもよい。

10

【0102】

いくつかの実施形態において、濡れたタンパク質濃縮物または溶媒洗浄されたタンパク質濃縮物を乾燥前に粉碎してもよい(例えば、粉碎した乾燥タンパク質濃縮物)。

【0103】

タンパク質濃縮物

いくつかの実施形態は、収穫した微小作物(例えば、水生植物種、Lemna、藻種)のバイオマスから高濃度タンパク質生成物(例えば、濡れたタンパク質濃縮物、溶媒洗浄されたタンパク質濃縮物、タンパク質濃縮物のフレーク/顆粒、タンパク質濃縮物の粉状物、粉碎した乾燥タンパク質濃縮物)を製造するためのプロセスに関する。所望のタンパク質の収量(例えば、最大収量、選択された収量)を達成するためのプロセスを構成し、または実施することができる。いくつかの実施形態において、高濃度タンパク質生成物は、タンパク質濃度が、乾燥質量基準(DMB)で、少なくとも約35%、または少なくとも約40%、または少なくとも約45%、または少なくとも約50%、または少なくとも約60%、または少なくとも約65重量%、または少なくとも約70重量%、または少なくとも約75重量%、または少なくとも約80重量%であってもよい。高濃度タンパク質生成物の残りの部分には、炭水化物、纖維、脂肪、ミネラル、またはそれらの任意の組み合わせが含まれていてもよい。高濃度タンパク質生成物のタンパク質濃縮物は、動物飼料および/またはヒトの摂取に適していてもよい。例えば、高濃度タンパク質生成物は、多数のヒト食品中で個々に、または成分および添加物として現在使用されているタンパク質濃縮物(例えば、大豆、エンドウ豆)の有効な代替物として役立つだろう。いくつかの実施形態によれば、高濃度タンパク質生成物のタンパク質組成物の少なくとも一部は、変性タンパク質または部分変性タンパク質を含んでいてもよい。

20

30

40

【0104】

タンパク質消化性補正アミノ酸スコア(PDCASS)および消化率

いくつかの実施形態によれば、高濃度タンパク質生成物は、参照標準(例えば、カゼイン)と比較して、PDCASSが少なくとも0.88、または少なくとも0.89、または少なくとも0.90、または少なくとも0.91、または少なくとも0.92、または少なくとも0.93、または少なくとも0.94、または少なくとも0.95であってもよい。いくつかの実施形態において、高濃度タンパク質生成物は、PDCASSが0.88~0.94、または0.90~0.94、または0.92~0.94であってもよい。PDCASSは、例えば、動物(例えば、ラット)モデルによって、またはin vitro酵素消化モデルによって評価されてもよい。PDCASS値を計算することは、制限するアミノ酸に依存していてもよい。いくつかの実施形態によれば、高濃度タンパク質生成物のPDCASS値は、ヒスチジン組成物によって制限される場合がある。

【0105】

いくつかの実施形態において、高濃度タンパク質生成物は、それぞれの場合に、消化率が少なくとも88%、または少なくとも90%、または少なくとも92%、または少なくとも94%、または少なくとも95%、または少なくとも96%、または少なくとも97%、または少なくとも98%であってもよい。消化率は、例えば、ラットモデル(カゼイ

50

ン消化率)を用いて決定されてもよく、または *in vitro* 消化率法(例えば、Animal-Safe Accurate Protein Quality Score (ASAP-Quality Score)法、TIMモデル、動的な胃のモデル(DGM))を用いて決定されてもよい。

【0106】

アミノ酸組成

いくつかの実施形態において、高濃度タンパク質生成物は、1つ以上の必須アミノ酸を含んでいてもよい。例えば、高濃度タンパク質生成物は、ロイシン、イソロイシン、リジン、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、チロシンおよびシスティンから選択される1つ以上のアミノ酸を含んでいてもよい。必須アミノ酸の濃度は、いくつかの実施形態において、少なくとも約1g/タンパク質濃縮物(100g)、または少なくとも約1.5g/タンパク質濃縮物(100g)、または少なくとも約2g/タンパク質濃縮物(100g)、または少なくとも約2.5g/タンパク質濃縮物(100g)、または少なくとも約3g/タンパク質濃縮物(100g)、または少なくとも約4g/乾燥物(100g)、少なくとも約2.5g/タンパク質濃縮物(100g)、または少なくとも約3g/タンパク質濃縮物(100g)、または少なくとも約4g/タンパク質濃縮物(100g)、または少なくとも約5g/タンパク質濃縮物(100g)、または少なくとも約6g/タンパク質濃縮物(100g)、または少なくとも約7g/タンパク質濃縮物(100g)、または少なくとも約8g/タンパク質濃縮物(100g)、または少なくとも約9g/タンパク質濃縮物(100g)、または少なくとも約10g/g/タンパク質濃縮物(100g)であってもよい。
10

【0107】

いくつかの実施形態において、アミノ酸(例えば、必須アミノ酸)の濃度は、高濃度タンパク質生成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もよく、少なくとも約1g/タンパク質(100g)、または少なくとも約1.5g/タンパク質(100g)、または少なくとも約2g/タンパク質(100g)、または少なくとも約2.5g/タンパク質(100g)、または少なくとも約3g/タンパク質(100g)、または少なくとも約4g/タンパク質(100g)、または少なくとも約5g/タンパク質(100g)、または少なくとも約6g/タンパク質(100g)、または少なくとも約7g/タンパク質(100g)、または少なくとも約8g/タンパク質(100g)、または少なくとも約9g/タンパク質(100g)、または少なくとも約10g/タンパク質(100g)である。
20

【0108】

例えば、本明細書に記載の方法によって製造された高濃度タンパク質生成物は、以下の表2に要約されるアミノ酸含量を含んでいてもよい。

30

【表2】

表2:高濃度タンパク質生成物(g/タンパク質100g)のアミノ酸プロフィール

アミノ酸	生成物1	生成物2
トリプトファン	2.1	2.1 <u>+10%</u>
アラニン	4.8	4.8 <u>+10%</u>
アルギニン	5.7	5.7 <u>+10%</u>
アスパラギン酸	7.8	7.8 <u>+10%</u>
グルタミン酸	9.4	9.4 <u>+10%</u>
グリシン	4.1	4.1 <u>+10%</u>
ヒスチジン	2.0	2.0 <u>+10%</u>
イソロイシン	4.4	4.4 <u>+10%</u>
ロイシン	7.7	7.7 <u>+10%</u>
フェニルアラニン+チロシン	8.8	8.8 <u>+10%</u>
プロリン	3.9	3.9 <u>+10%</u>
セリン	3.4	3.4 <u>+10%</u>
スレオニン	3.7	3.7 <u>+10%</u>
リシン	6.0	6.0 <u>+10%</u>
バリン	5.3	5.3 <u>+10%</u>
システイン+メチオニン	2.9	2.9 <u>+10%</u>

10

20

30

40

50

【0109】

脂肪含量

いくつかの実施形態において、高濃度タンパク質生成物は、脂肪含量が、タンパク質生成物のDMBによって、約20%未満、または約15%未満、または約10%未満、または約8%未満、または約5%未満、または約4%未満、または約3%未満、または約2%未満、または約1%未満、または0.5%未満、または0.4%未満、または0.3%未満、または0.2%未満、または0.1%未満であってもよい。いくつかの実施形態において、高濃度タンパク質生成物は、脂肪含量が、タンパク質生成物のDMBによって、約1%～約10%、または約10%～約20%、または約0.1%～約10%、または約0.1%～約5%、または約0.1%～約2%、または約0.1%～約1%、または約0.1%～約0.5%であってもよい。タンパク質濃縮物は、所望の脂肪含量(例えば、より高い濃度またはより低い濃度、所望の脂肪組成)を満たすようにさらに処理されてもよい。

【0110】

クロロフィル含量

いくつかの実施形態によれば、高濃度タンパク質生成物は、減少したクロロフィル含量を有していてもよい。いくつかの実施形態において、高濃度タンパク質生成物は、無色にみえてよく、または緑色の発色が低減していてもよい。高濃度タンパク質生成物は、クロロフィル含有量が6,000mg/100g未満、または5,500mg/100g未満、または5,000mg/100g未満、または4,500mg/100g未満、または4,000mg/100g未満、または3,500mg/100g未満、または3,000mg/100g未満であってもよい。

【0111】

アピオガラクツロナンおよび/またはオリゴガラクツランの含有量

いくつかの実施形態において、高濃度タンパク質生成物は、少なくとも1つのアピオガラクツロナンおよび/またはオリゴガラクツロニドを含んでいてもよい。いくつかの実施形態によれば、高濃度タンパク質生成物の多糖生成物は、少なくとも1つのアピオガラクツロナンの濃度が、少なくとも1%DMB、または少なくとも3%DMB、または少なくとも5%DMB、または少なくとも7%DMB、または少なくとも10%DMB、または

少なくとも 12% DMB、または少なくとも 15% DMB、または少なくとも 20% DMB、または少なくとも 25% DMB、または少なくとも 30% DMB であってもよい。いくつかの実施形態において、高濃度タンパク質生成物は、少なくとも 1 つのアピオガラクトロナンの濃度が、少なくとも 10% DMB であってもよい。いくつかの実施形態において、多糖生成物は、少なくとも 1 つのアピオガラクトロナンの濃度が、少なくとも 15% DMB であってもよい。この段落に引用される濃度は、単一のアピオガラクトロナンまたは 2 種類以上（から全てまで）の存在するアピオガラクトロナンを合わせた（合計）濃度を指していてもよい。

【0112】

いくつかの実施形態によれば、高濃度タンパク質生成物中のアピオガラクトロナンおよび/またはオリゴガラクトロニドのうち少なくとも 1 つの濃度は、フェノール・硫酸法、例えば、Dubois M.、Gilles K. A.、Hamilton J. K.ら、Anal. Chem.、1956、vol. 28、no. 2、350-356 に記載される方法によって決定されてもよい。いくつかの実施形態によれば、高濃度タンパク質生成物中のアピオガラクトロナンおよび/またはオリゴガラクトロニドのうち少なくとも 1 つの濃度は、UV 分光法、例えば、Albalasmeh A.、Berhe A. および Ghezzeher T.、Carbohydrate Polymers、2013、vol. 97、no. 2、253-261 に記載される方法を用いて決定されてもよい。任意の所望の方法を使用して、高濃度タンパク質生成物中のアピオガラクトロナンおよび/またはオリゴガラクトロニドのうち少なくとも 1 つの濃度を決定してもよい。

10

20

30

【0113】

高濃度タンパク質生成物の濃度の单糖組成物は、いくつかの実施形態によれば、高圧アニオン交換クロマトグラフィー (H P A E C) によって決定されてもよい。例えば、H P A E C は、以下の条件下で加水分解を行う多糖加水分解の電流測定を用い、Dionex CarboPac PA1 カラムを用いて行うことができる。(1) 2 N トリフルオロ酢酸 (TFA) を用いて 100 で 0.5 時間加水分解する、(2) 2 N TFA を用いて 100 で 4 時間加水分解する、(3) 2 N H₂SO₄ を用いて 100 で 6 時間加水分解する、(4) 室温で 26 N H₂SO₄ に一晩さらした後、100 で 6 時間、2 N H₂SO₄ で加水分解する。

【0114】

いくつかの実施形態において、高濃度タンパク質生成物の单糖組成は、気相クロマトグラフィーによって決定されてもよい。例えば、高濃度タンパク質生成物の单糖の相対組成は、(1) 生成物を加水分解して、メタオリシス (methaolysis) によって单糖を生成し；(2) 单糖類をトリメチルシリル化し、揮発した单糖を生成し；(3) 気相クロマトグラフィーにより揮発した单糖類を O-メチルグリコシドとして定量し、同定することによって同定し、定量されてもよい。

【0115】

シュウ酸含量

いくつかの実施形態によれば、高濃度タンパク質生成物は、減少したシュウ酸 (H₂C₂O₄ または HOOC COOH) 含量を有していてもよい。いくつかの実施形態において、高濃度タンパク質生成物は、DMB によって、シュウ酸含量が約 1.5% 未満、約 1.4% 未満、または約 1.3% 未満、または約 1.2% 未満、または約 1.1% 未満、または約 1.0% 未満、または約 0.9% 未満、または約 0.8% 未満、または約 0.75% 未満、または約 0.7% 未満、または約 0.65% 未満、または約 0.6% 未満、約 0.55% 未満、約 0.5% 未満、または約 0.45% 未満、または約 0.4% 未満、または約 0.35% 未満、または約 0.3% 未満、または約 0.25% 未満、または約 0.2% 未満、または約 0.15% 未満、または約 0.1% 未満、または約 0.05% 未満、または約 0.04% 未満、または約 0.03% 未満、または 0.02% 未満であってもよい。いくつかの実施形態において、高濃度タンパク質生成物は、DMB によって、シュウ酸含量が約 0.02% ~ 約 0.6%、約 0.02% ~ 約 0.5%、または約 0.02% ~ 約 0

40

50

.4%、または約0.02%～約0.3%、または約0.02%～約0.2%、または約0.02%～約0.15%、または約0.02%～約0.1%であってもよい。いくつかの実施形態において、高濃度タンパク質生成物は、シユウ酸含量が0.1%以下であってもよい。いくつかの実施形態によれば、高濃度タンパク質生成物は、0.05%以下のDMBのシユウ酸含量を有していてもよい。

【0116】

ポリフェノール含量

いくつかの実施形態において、高濃度タンパク質生成物は、少なくとも1つのポリフェノール（例えば、タンニン）の量が減少されていてもよい。いくつかの実施形態において、高濃度タンパク質生成物（例えば、濡れたタンパク質濃縮物、溶媒洗浄されたタンパク質濃縮物、タンパク質濃縮物のフレーク／顆粒、タンパク質濃縮物の粉状物）は、ポリフェノール（例えば、全可溶性ポリフェノール）を、約1.5mg/100g未満、または約1.55mg/100g未満、または約1.6mg/100g未満、または約1.65mg/100g未満、または約1.7mg/100g未満、または約1.75mg/100g未満、または約1.8mg/100g未満、または約1.85mg/100g未満、または約1.9mg/100g未満、または約2.0mg/100g未満、または約2.2mg/100g未満、または約2.4mg/100g未満、または約2.6mg/100g未満、または約2.8mg/100g未満、または約3.0mg/100g未満、または約3.2mg/100g未満の濃度（mg/高濃度タンパク質生成物（100g））で含んでいてもよい。

10

20

30

【0117】

灰分

いくつかの実施形態によれば、高濃度タンパク質生成物は、無機鉱物元素を含む残基からなる灰分を含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、灰分は、有機物質を除去するために高温（例えば、500以上）でタンパク質生成物を燃焼させることによって決定されてもよい。高濃度タンパク質生成物は、いくつかの実施形態において、タンパク質生成物のDMBによって、灰分が約50%未満、または約40%未満、または約30%未満、または約25%未満、または約20%未満、または約15%未満、または約10%未満、または約5%未満、または約4%未満、または約3%未満、または約2%未満、または約1%未満であってもよい。高濃度タンパク質濃縮物は、いくつかの実施形態によれば、所望の灰分（例えば、より高い濃度またはより低い濃度、所望の灰分組成）を満たすようにさらに処理することができる。

【0118】

炭水化物含量

いくつかの実施形態によれば、高濃度タンパク質生成物は、タンパク質生成物のDMBによって、炭水化物含量（例えば、ペクチン）が約50%未満、または約40%未満、または約30%未満、または約25%未満、または約20%未満、または約15%未満、または約10%未満、または約5%未満、または約4%未満、または約3%未満、または約2%未満、または約1%未満であってもよい。いくつかの実施形態において、高濃度タンパク質生成物は、炭水化物含量が、タンパク質生成物のDMBによって、約1%～約10%、または約10%～約20%、または約20%～約30%、または約30%～約40%重量%、または約40%重量%～約50%重量%であってもよい。いくつかの実施形態において、高濃度タンパク質生成物は、炭水化物含量が、タンパク質生成物のDMBによって、約1%～約50%、または約2%～約40%、または約5%～約30%、または約8%～約20%、または約10%～約15%であってもよい。高濃度タンパク質生成物は、所望の炭水化物含量（例えば、より高い濃度またはより低い濃度、所望の炭水化物組成）を満たすようにさらに処理されてもよい。

40

【0119】

食物纖維含量

いくつかの実施形態において、高濃度タンパク質生成物は、食物纖維含量が、少なくと

50

も約 20% DMB、または少なくとも約 25%、または少なくとも約 30%、または少なくとも約 35%、または少なくとも約 40%、または少なくとも約 45%、または少なくとも約 50% であってもよく、「約」は、±3%を表してもよい。いくつかの実施形態によれば、高濃度タンパク質生成物は、食物繊維含量が約 20%～約 45%、または約 30%～約 45%、または約 35%～約 45% であってもよく、「約」は、±3%を表してもよい。高濃度タンパク質生成物は、所望の食物繊維含量（例えば、より高い濃度またはより低い濃度、所望の食物繊維組成）を満たすようにさらに処理されてもよい。

【0120】

水結合能

いくつかの実施形態において、高濃度タンパク質生成物は、水結合能が高濃度タンパク質生成物 1 g 当たり約 4 ml の水 (ml/g)、または約 4.5 ml/g、または約 5.0 ml/g、または約 6.0 ml/g、または約 7.0 ml/g、または約 7.5 ml/g、または約 8.0 ml/g、または約 8.5 ml/g、または約 9.0 ml/g、または約 9.5 ml/g、または約 10.0 ml/g であってもよい。いくつかの実施形態によれば、高濃度タンパク質生成物は、水結合能が少なくとも 4 ml/g、または少なくとも 5 ml/g、または少なくとも 6 ml/g、または少なくとも 7 ml/g、または少なくとも 7.5 ml/g、または少なくとも 8 ml/g、または少なくとも 8.5 ml/g、または少なくとも 9 ml/g、または少なくとも 9.5 ml/g であってもよい。

10

【0121】

油結合能

いくつかの実施形態において、高濃度タンパク質生成物は、高濃度タンパク質生成物 1 g 当たり約 2 ミリリットルの油（例えばコーン油）の油結合能（例えばトウモロコシ油）(ml/g) を有してもよい、または油結合能が約 2.5 ml/g、または約 3.0 ml/g、または約 3.5 ml/g、または約 4.0 ml/g、または約 4.5 ml/g、または約 5.0 ml/g、または約 5.5 ml/g であってもよい。いくつかの実施形態によれば、高濃度タンパク質生成物は、水結合能が少なくとも 2 ml/g、または少なくとも 2.5 ml/g、または少なくとも 3.0 ml/g、または少なくとも 3.5 ml/g、または少なくとも 4.0 ml/g、または少なくとも 4.5 ml/g、または少なくとも 5.0 ml/g、または少なくとも 5.5 ml/g であってもよい。例えば、本明細書に記載の方法によって製造された高濃度タンパク質生成物は、以下の表 3 に要約される内容物を含んでいてもよい。

20

30

【表 3】

表3:高濃度タンパク質生成物の組成例

特性	生成物1	生成物2	生成物3	生成物4
固形分(DMB)	≥90	88-95	≥90	88-95
水分(DMB)	≤10	5-12	≤10	5-12
タンパク質(DMB)	≥50	50-65	≥45	35-45
PDCASS	≥0.90	0.88-0.94	≥0.90	0.88-0.94
PDCASSを制限するアミノ酸	ヒスチジン	ヒスチジン	ヒスチジン	ヒスチジン
消化率	≥0.90	0.85-0.96	≥0.90	0.85-0.96
脂肪(DMB)	≤1	0.05-1.5	≤10	5-10
灰(DMB)	≤10	5-15	≤10	5-15
食物繊維(DMB)	≥40	35-45	≥40	35-45
その他の炭水化物(DMB)	≤5	1-10	≤5	5-10
シュウ酸	≤1.5	0.2-2.5	≤1	0.2-2.0

40

【0122】

任意の所望の方法を用いて、高濃度タンパク質生成物の組成を決定してもよい。

【0123】

50

いくつかの実施形態において、生成物および／またはプロセスは、高濃度タンパク質生成物の他の特性（例えば、粒径、細菌の仕様）が所望の基準を満たすように、および／または意図された目的に適しているように構成され、または実行されてもよい。

【0124】

いくつかの実施形態において、高濃度タンパク質生成物を、業界標準の袋または様々な大きさのドラムのいずれかに充填および／または密封することができる。適切な貯蔵寿命と出荷条件を保証するために業界標準グレードの密封方法を使用することができる。袋またはドラムは、例えば、その意図された使用、貯蔵寿命、示唆された貯蔵条件、輸送条件、組成物など、またはそれらの組み合わせに関する印刷された説明書または仕様書を含んでいてもよい。いくつかの実施形態によれば、抗酸化剤（例えば、ローズマリー抽出物、Duralox（登録商標）、Phyt-O-Blend CA）を、乾燥前または包装前にタンパク質生成物と混合してもよい。いくつかの実施形態によれば、製品の口当たりを改善するために、乾燥前にレシチンを濡れたタンパク質生成物と混合することができる。

10

【0125】

図1A、1B、1Cおよび1D

図1A、図1B、図1Cおよび図1Dは、本開示の具体的な実施形態の例にしたがって高濃度タンパク質生成物を生成するために微小作物（例えば、水生植物種、Lemna、藻類）を成長させ、収穫し、処理するための方法100を示す模式図である。微小作物（例えば、Lemna）は、バイオリアクターシステム中で栽培され（102）、収穫され（104）、バイオマスを作成してもよい。図1A～図1Dに示すように、いくつかの実施形態において、バイオマスを処理し、濡れたタンパク質濃縮物111、タンパク質濃縮物のフレーク／顆粒118、タンパク質濃縮物の粉状物122、またはこれらの任意の組み合わせを含む高濃度タンパク質生成物を作成してもよい。高濃度タンパク質生成物は、動物飼料および／またはヒトの摂取に適した生成物を含んでいてもよい。プロセス100は、例えば、その場所の特定の環境特徴に基づき、屋内、屋外、およびそれらの任意の組み合わせで実行されてもよい。

20

【0126】

図1A～図1Dに示すように、微小作物は、バイオリアクターシステム102（例えば、開放したバイオリアクター、閉じたバイオリアクター）中で栽培されてもよい。バイオリアクターシステムは、成長媒体（例えば、水、栄養組成物）を含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、バイオリアクターシステムは、いくつかの実施形態において、雨水を集め、および／またはリサイクルされた水または地下水（例えば、暴風雨による水、リサイクルされた水）または任意の他の適切な水源からの水を取り込むような構成であってもよい。バイオリアクターシステムは、いくつかの実施形態において、所望な時間インジケータで、またはセンサの読みに応答して、さらなる栄養素（例えば、窒素、リン、カリウム）または気体（例えば、酸素、二酸化炭素）を挿入するような構成であってもよい。いくつかの実施形態において、バイオリアクターシステムは、モニタリングシステムを備えていてもよい。バイオリアクターシステムは、いくつかの実施形態において、微小作物のマットの厚さおよび分布をモニタリングし、調整してもよい。例えば、微小作物が所望な厚さまたは分布に達すると、バイオリアクターシステムが収穫手順を開始してもよい。

30

【0127】

特定の時間に（例えば、環境条件に基づき）、または微小作物が所望の特徴（例えば、マットの厚さ、マットの分布、成熟）を発生させた後、微小作物をバイオリアクターシステムから（手作業で、自動化された状態で）収穫し（104）、バイオマス（105）を作成してもよい。自動化されたスキマーシステムは、いくつかの実施形態において、バイオリアクターシステムから微小作物を集め、収穫した微小作物を（例えば、圧送システムによって）傾斜のついた振動ふるいに移動し、成長媒体および残屑からバイオマスを分離してもよい。いくつかの実施形態において、バイオリアクターシステムから静止ふるいフ

40

50

ィルターを介して微小作物を減圧スキミングすることによって、微小作物を収穫してもよい。いくつかの実施形態によれば、微小作物を手作業で収穫してもよい。収穫した微小作物（例えば *Lemna*）および成長媒体（例えば水）を含むバイオマススラリーは、場合により振動してもよい傾斜したふるいに運ばれてもよく、そこで、バイオマス（例えば、微小作物）は、成長媒体から分離されてもよい。

【0128】

収穫（104）の間、分離した成長媒体は、いくつかの実施形態によれば、バイオリアクターシステムまたはさらなる保存容器（例えば、容器または池）にリサイクルされて戻されてもよい。いくつかの実施形態において、バイオマスから分離した成長媒体（例えば、水）の少なくとも約40%（v/v）、または少なくとも約50%（v/v）、または少なくとも約60%（v/v）、または少なくとも約70%（v/v）、または少なくとも約80%（v/v）、または少なくとも約90%（v/v）、または少なくとも約95%（v/v）が、将来の使用のためにリサイクルされてもよい。

10

【0129】

図1Cおよび図1Dに示されるように、バイオマス105は、残屑、汚染物質、微生物および/または毒素を除去するために洗浄手順106（例えば、沈める、噴霧する、スラリー化する）を通過してもよい。いくつかの実施形態において、洗浄手順は、バイオマスの少なくともほぼ1つの表面を洗浄液（例えば、水、成長媒体、抗菌溶液）にさらす（例えば、沈める、噴霧する）ことによって実施されてもよい。いくつかの実施形態において、洗浄液（例えば、水、オゾン水）をバイオマスと組み合わせ、スラリーを形成してもよい。いくつかの実施形態によれば、複数の洗浄（例えば、第1の洗浄液、第2の洗浄液、第3の洗浄液）をバイオマスに適用してもよい。いくつかの実施形態において、（例えば、傾斜ふるいまたは振動ふるいを使用して）洗浄液の一部または全部（例えば、第1、第2、および/または第3洗浄液）をバイオマスから分離することができる。

20

【0130】

いくつかの実施形態において、洗浄液、第2の洗浄液および/または第3の洗浄液の一部または全部を集め、リユース/リサイクルしてもよい（108）。いくつかの実施形態によれば、バイオマスから分離した洗浄液、第2の洗浄液および/または第3の洗浄液（例えば、水）の体積で少なくとも約40%、または少なくとも約50%、または少なくとも約60%、または少なくとも約70%、または少なくとも約80%、または少なくとも約90%、または少なくとも約95%は、将来の使用のためにリサイクルされてもよい（例えば、洗浄液をリサイクルしてもよく、またはバイオリアクターシステム中の成長媒体として使用されてもよい（108））。

30

【0131】

図1A～図1Dに示されるように、バイオマスは、洗浄されているか、または洗浄されていないかのいずれかであるが、プランチングされ（110）、濡れたタンパク質濃縮物（111）を作成してもよい。いくつかの実施形態によれば、プランチング手順は、プランチング溶液とバイオマスの比（w/w）が、10:1、または9:1、または8:1、または7:1、または6:1、または5.5:1、または5:1、または4.5:1、または4:1、または3.5:1、または3:1、または2.5:1、または2:1、または1.5:1、または1:1で、プランチング溶液にバイオマスを浸漬するか、または沈めることを含んでいてもよい。プランチング溶液は、いくつかの実施形態によれば、水、表面水、井戸水、蒸留水、逆浸透水、ナノ濾過水および/またはリサイクルされた流体を含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、プランチング溶液は、少なくとも1種のカルシウム塩（例えば、塩化カルシウム、酢酸カルシウム）をさらに含んでいてもよい。バイオマスは、いくつかの実施形態によれば、約70℃を超える温度、または約75℃を超える温度、または約80℃を超える温度、または約85℃を超える温度、または約90℃を超える温度、または約95℃を超える温度、または約100℃を超える温度で、約20秒～約40秒、または約30秒～約45秒、または約30秒～約1分、または約30秒～約1分30秒、または約30秒～約2分、または約30秒～約5分、または約1分～

40

50

約 5 分、または約 1 分～約 5 分、または約 1 分～約 10 分、または約 30 秒～約 10 分の使用時間でプランチングされ（例えば、プランチング溶液に浸漬され／沈められ）てもよく、ここで、「約」は、±10%を表してもよい。いくつかの実施形態によれば、バイオマスを約 85°で約 45 秒間プランチングしてもよい。

【0132】

プランチング溶液の一部または全てを、例えば、重力分離、排液、傾斜ふるい、振動ふるい、濾過、デカンター遠心分離機、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、またはこれらの任意の組み合わせを用い、濡れたタンパク質濃縮物 111 から分離してもよい。図 1 A～1 D に示すように、分離したプランチング溶液を集め、リユース／リサイクルしてもよい（122）。さらに、いくつかの実施形態によれば、分離したプランチング溶液を濾過し（128）、濾過したプランチング溶液 130 とプランチング廃棄物を作成してもよい。濾過としては、いくつかの実施形態によれば、粗濾過（例えば、重力濾過、振動ふるい濾過）、微細濾過（例えば、精密濾過、限外濾過、ナノ濾過、逆浸透濾過）、またはこれらの任意の組み合わせが挙げられるだろう。図 1 A～図 1 D に示すように、濾過したプランチング溶液を、洗浄液 130 として、微小作物の栽培における成長媒体 130 として、プランチング溶液として（図示せず）、またはこれらの任意の組み合わせとしてリサイクルしてもよい。いくつかの実施形態において、プランチング廃棄物（例えば、濾過法からの残留物）は、微小作物の栽培における成長媒体の一部として（例えば、栄養源として）リサイクルされてもよい（126）。

10

20

30

40

【0133】

図 1 B および 1 D に示されるように、いくつかの実施形態によれば、例えば、濡れたタンパク質濃縮物の少なくとも 1 つの表面を冷却溶液（例えば、水）にさらす（例えば、沈める、噴霧する）ことによって、または濡れたタンパク質濃縮物の少なくとも 1 つの表面を、低温の空気または対流冷却条件（例えば、風、空気の動き）にさらすことによって、濡れたタンパク質濃縮物を冷却してもよい（112）。冷却溶液は、使用時に室温より低い温度（例えば、約 12°）を有してもよい。いくつかの実施形態において、冷却溶液を濡れたタンパク質濃縮物（例えば、第 1 の部分、第 2 の部分）と組み合わせてスラリーを作成してもよい。冷却溶液は、少なくとも約 30 秒間、または少なくとも約 1 分間、または少なくとも約 5 分間、または少なくとも約 10 分間、または少なくとも約 15 分間、または少なくとも約 20 分間、または少なくとも約 25 分間、または少なくとも約 30 分間、濡れたタンパク質濃縮物と接触したままにしてもよい。いくつかの実施形態において、冷却溶液の一部または全てが、（例えば、傾斜ふるいまたは振動ふるいを用いて）濡れたタンパク質濃縮物から分離されてもよい。

【0134】

図 1 A～図 1 D に示すように、いくつかの実施形態によれば、濡れたタンパク質濃縮物を乾燥させ（114）、タンパク質濃縮物のフレークまたはタンパク質濃縮物の顆粒 116（例えば、第 1 の部分、第 2 の部分）を作成してもよい。乾燥手順は、例えば、スプレードライヤー、ドラムドライヤー、ダブルドラムドライヤー、フラッシュドライヤー、流動床ドライヤー、対流ドライヤー、エバポレーター、またはこれらの任意の組み合わせを含む機構を用いて行われてもよい。

【0135】

いくつかの実施形態によれば、タンパク質濃縮物のフレーク／顆粒を、図 1 B および図 1 C に示されるように粉碎し（118）、タンパク質濃縮物の粉状物を作成してもよい。粉碎手順は、ナイフミル、ハンマーミル、ピンミル、振動ミル、ジェットミル、流体エネルギーミル、またはそれらの任意の組み合わせを含んでいてもよい。

【0136】

図 2 A、2 B、2 C および 2 D

図 2 A、図 2 B、図 2 C および 図 2 D は、本開示の具体的な実施形態の例にしたがって高濃度タンパク質生成物を生成するために微小作物（例えば、水生植物種、Lemna、

50

藻類)を成長させ、収穫し、処理するための方法200を示す模式図である。微小作物(例えば、*Lemna*)は、バイオリアクターシステム中で栽培され(202)、収穫され(204)、バイオマス(205)を作成してもよい。図2A~図2Dに示すように、いくつかの実施形態において、バイオマスを処理し、濡れたタンパク質濃縮物211、タンパク質濃縮物のフレーク/顆粒216、タンパク質濃縮物の粉状物220、またはこれらの任意の組み合わせを含む高濃度タンパク質生成物と、クロロフィルおよび/または脂肪副生成物228を作成してもよい。高濃度タンパク質生成物は、動物飼料および/またはヒトの摂取に適した生成物を含んでいてもよい。プロセス200は、例えば、その場所の特定の環境特徴に基づき、屋内、屋外、およびそれらの任意の組み合わせで実行されてもよい。

10

【0137】

図2A~図2Dに示されるように、微小作物は、成長媒体(例えば、水、栄養組成物)を含むバイオリアクターシステム(例えば、開放したバイオリアクター、閉じたバイオリアクター)中で栽培されてもよい(202)。いくつかの実施形態において、バイオリアクターシステムは、雨水を集め、および/またはリサイクルされた水または地下水(例えば、暴風雨による水、リサイクルされた水)または任意の他の適切な水源からの水を取り込むような構成であってもよい。バイオリアクターシステムは、いくつかの実施形態において、所望な時間インジケータで、またはセンサの読みに応答して、さらなる栄養素(例えば、窒素、リン、カリウム)または気体(例えば、酸素、二酸化炭素)を挿入するような構成であってもよい。いくつかの実施形態において、バイオリアクターシステムは、モニタリングシステムを備えていてもよい。バイオリアクターシステムは、いくつかの実施形態において、微小作物のマットの厚さおよび分布をモニタリングし、調整してもよい。例えば、微小作物が所望な厚さまたは分布に達すると、バイオリアクターシステムが収穫手順を開始してもよい。

20

【0138】

特定の時間に(例えば、環境条件に基づき)、または微小作物が所望の特徴(例えば、マットの厚さ、マットの分布、成熟)を発生させた後、微小作物をバイオリアクターシステムから(手作業で、自動化された状態で)収穫し(204)、バイオマス(205)を作成してもよい。収穫した微小作物(例えば*Lemna*)および成長媒体(例えば水)を含むバイオマススラリーは、場合により振動してもよい傾斜したふるいに運ばれてもよく、そこで、バイオマス(例えば、微小作物)は、成長媒体から分離されてもよい。

30

【0139】

図2Cおよび図2Dに示されるように、バイオマス205は、残屑、汚染物質、微生物および/または毒素を除去するために洗浄手順206(例えば、沈める、噴霧する、スラリー化する)を通過してもよい。いくつかの実施形態において、洗浄手順は、バイオマスの少なくともほぼ1つの表面を洗浄液(例えば、水、成長媒体、抗菌溶液)にさらす(例えば、沈める、噴霧する)ことによって実施されてもよい。いくつかの実施形態において、洗浄液(例えば、水、オゾン水)をバイオマスと組み合わせ、スラリーを形成してもよい。いくつかの実施形態によれば、複数の洗浄(例えば、第1の洗浄液、第2の洗浄液、第3の洗浄液)をバイオマスに適用してもよい。いくつかの実施形態において、(例えば、傾斜ふるいまたは振動ふるいを使用して)洗浄液の一部または全部(例えば、第1、第2、および/または第3洗浄液)をバイオマスから分離することができる。

40

【0140】

いくつかの実施形態において、洗浄液、第2の洗浄液および/または第3の洗浄液の一部または全部を集め、リユース/リサイクルしてもよい(208)。いくつかの実施形態によれば、バイオマスから分離した洗浄液、第2の洗浄液および/または第3の洗浄液(例えば、水)の体積で少なくとも約40%、または少なくとも約50%、または少なくとも約60%、または少なくとも約70%、または少なくとも約80%、または少なくとも約90%、または少なくとも約95%は、将来の使用のためにリサイクルされてもよい(例えば、洗浄液をリサイクルしてもよく、またはバイオリアクターシステム中の成長媒体

50

として使用されてもよい(208)。

【0141】

図2A～図2Dに示されるように、バイオマスは、洗浄されているか、または洗浄されていないかのいずれかであるが、プランチングされ(210)、濡れたタンパク質濃縮物(211)を作成してもよい。いくつかの実施形態によれば、プランチング手順は、プランチング溶液とバイオマスの比(w/w)が、10:1、または9:1、または8:1、または7:1、または6:1、または5.5:1、または5:1、または4.5:1、または4:1、または3.5:1、または3:1、または2.5:1、または2:1、または1.5:1、または1:1で、プランチング溶液にバイオマスを浸漬するか、または沈めることを含んでいてもよい。プランチング溶液は、いくつかの実施形態によれば、水、蒸留水、逆浸透水、ナノ濾過水および/またはリサイクルされた流体を含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、プランチング溶液は、少なくとも1種のカルシウム塩(例えば、塩化カルシウム、酢酸カルシウム)をさらに含んでいてもよい。バイオマスは、いくつかの実施形態によれば、約70を超える温度、または約75を超える温度、または約80を超える温度、または約85を超える温度、または約90を超える温度、または約95を超える温度、または約100を超える温度で、約20秒～約40秒、または約30秒～約45秒、または約30秒～約1分、または約30秒～約1分30秒、または約30秒～約2分、または約30秒～約5分、または約1分～約5分、または約1分～約5分、または約1分～約10分、または約30秒～約10分の使用時間でプランチングされ(例えば、プランチング溶液に浸漬され/沈められ)てもよく、ここで、「約」は、±10%を表していてもよい。いくつかの実施形態によれば、バイオマスを約85で約40秒間プランチングしてもよい。

【0142】

プランチング溶液の一部または全てを、例えば、重力分離、排液、傾斜ふるい、振動ふるい、濾過、デカンター遠心分離機、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、またはこれらの任意の組み合わせを用い、濡れたタンパク質濃縮物から分離してもよい。図2A～2Dに示すように、分離したプランチング溶液を集め、リユース/リサイクルしてもよい(222)。さらに、いくつかの実施形態によれば、分離したプランチング溶液を濾過し(228)、濾過したプランチング溶液230とプランチング廃棄物を作成してもよい。濾過としては、いくつかの実施形態によれば、粗濾過(例えば、重力濾過、振動ふるい濾過)、微細濾過(例えば、精密濾過、限外濾過、ナノ濾過、逆浸透濾過)、またはこれらの任意の組み合わせが挙げられるだろう。図2A～図2Dに示すように、濾過したプランチング溶液を、洗浄液230として、微小作物の栽培における成長媒体230として、プランチング溶液として(図示せず)、またはこれらの任意の組み合わせとしてリサイクルしてもよい。いくつかの実施形態において、プランチング廃棄物(例えば、濾過法からの残留物)は、微小作物の栽培における成長媒体の一部として(例えば、栄養源として)リサイクルされてもよい(226)。

【0143】

図2Bおよび2Dに示されるように、いくつかの実施形態によれば、例えば、濡れたタンパク質濃縮物の少なくとも1つの表面を冷却溶液(例えば、水)にさらす(例えば、沈める、噴霧する)ことによって、または濡れたタンパク質濃縮物の少なくとも1つの表面を、低温の空気または対流冷却条件(例えば、風、空気の動き)にさらすことによって、濡れたタンパク質濃縮物を冷却してもよい(212)。冷却溶液は、使用時に室温より低い温度(例えば、約12)を有していてもよい。いくつかの実施形態において、冷却溶液を濡れたタンパク質濃縮物(例えば、第1の部分、第2の部分)と組み合わせてスラリーを作成してもよい。冷却溶液は、少なくとも約30秒間、または少なくとも約1分間、または少なくとも約5分間、または少なくとも約10分間、または少なくとも約15分間、または少なくとも約20分間、または少なくとも約25分間、または少なくとも約30分間、濡れたタンパク質濃縮物と接触したままにしてもよい。いくつかの実施形態におい

10

20

30

40

50

て、冷却溶液の一部または全てが、（例えば、傾斜ふるいまたは振動ふるいを用いて）濡れたタンパク質濃縮物から分離されてもよい。

【 0 1 4 4 】

図 2 A ~ 2 D に示されるように、濡れたタンパク質濃縮物 2 1 1 は、クロロフィル成分および / または脂肪含量の少なくとも一部を除去するために、溶媒抽出 2 3 2 によってさらに処理されてもよい。溶媒抽出 2 3 2 は、バイオマスまたは濡れたタンパク質濃縮物の少なくとも 1 つの表面を溶媒溶液（例えば、エタノール、メタノール、アセトン）にさらす（例えば、浸漬する、噴霧する、滴下する）ことを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、溶媒溶液を濡れたタンパク質濃縮物（例えば、第 1 の部分、第 2 の部分）と組み合わせてスラリーを作成してもよい。溶媒抽出手順は、いくつかの実施形態において、特定の時間に、間欠的に、または連続的に溶媒溶液の少なくとも一部を移動する（例えば、機械攪拌する、攪拌する、噴射する）ことを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、溶媒溶液は、1 つ以上のアルコール（例えば、エタノール、メタノール、プロパノール、イソプロパノール、グリセロール）、アセトン、ジクロロメタン、酢酸エチル、ヘキサン、ケトン、またはこれらの組み合わせを含んでいてもよい。いくつかの実施形態によれば、溶媒抽出手順は、濡れたタンパク質濃縮物の少なくとも 1 つの表面を溶媒溶液に少なくとも約 5 秒間、約 15 秒間、約 30 秒間、約 45 秒間、約 1 分間、約 2 分間、約 3 分間、約 5 分間、約 10 分間、約 20 分間、約 30 分間、約 40 分間、約 50 分間、約 1 時間、約 2 時間、約 3 時間、約 4 時間、約 5 時間、約 6 時間、約 12 時間または約 24 時間さらす（例えば、沈める、噴霧する、滴下する、スラリー化する）ことを含んでいてもよい。溶媒抽出（2 3 2）の後、濡れたタンパク質濃縮物を溶媒溶液から分離し、溶媒をリユース / リサイクル（2 3 8）のために回収してもよい（2 3 4）。さらに、クロロフィルおよび / または脂肪副生成物をさらなる処理のために回収してもよい（2 3 6）。

【 0 1 4 5 】

図2A～図2Dに示すように、いくつかの実施形態によれば、濡れたタンパク質濃縮物を乾燥させ(214)、タンパク質濃縮物のフレークまたはタンパク質濃縮物の顆粒216(例えば、第1の部分、第2の部分)を作成してもよい。乾燥手順は、例えば、ドラムドライヤー、ダブルドラムドライヤー、フラッシュドライヤー、流動床ドライヤー、対流ドライヤー、エバボレーター、またはこれらの任意の組み合わせを含む機構を用いて行われてもよい。

【 0 1 4 6 】

いくつかの実施形態によれば、タンパク質濃縮物のフレーク／顆粒を、図2Aおよび図2Dに示されるように粉碎し(218)、タンパク質濃縮物の粉状物(220)を作成してもよい。粉碎手順は、ハンマーミル、ピンミル、振動ミル、流体エネルギーミル、またはそれらの任意の組み合わせを含んでいてもよい。

[0 1 4 7]

微小作物由来の高濃度タンパク質生成物を含む製品組成物

本開示の実施形態はまた、微小作物（例えば、*Lemna*、*Wolffia*）由来の少なくとも1つの高濃度タンパク質生成物（例えば、タンパク質濃縮物のフレーク／顆粒、タンパク質濃縮物の粉状物）を含む製品組成物も提供する。例えば、製品組成物は、タンパク質のシェイク、スムージー、栄養バー、動物飼料製品、または他の食品を含んでいてもよい。

[0 1 4 8]

いくつかの実施形態によれば、タンパク質組成物（例えば、シェイク）は、少なくとも1つの高濃度タンパク質生成物（例えば、タンパク質濃縮物のフレーク／顆粒、タンパク質濃縮物の粉状物）と、少なくとも1つの媒体（例えば、水、ミルク、グラノーラ）とを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、媒体は、濡れた質量基準（液体の場合）または乾燥質量基準（固体の場合）のタンパク質組成物の主要成分を構成する任意の固体または液体成分を含んでいてもよい。例えば、液体媒体は、いくつかの実施形態において

て、水、ミルク、ヨーグルト、アーモンドミルク、豆乳、ココナッツ水、米乳、またはそれらの任意の組み合わせを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、固体媒体は、グラノーラ、オーツ麦、ナッツ、膨化米、生地、またはそれらの任意の組み合わせを含んでいてもよい。

【0149】

いくつかの実施形態によれば、タンパク質組成物は、少なくとも1つの高濃度タンパク質生成物（例えば、タンパク質濃縮物のフレーク／顆粒、タンパク質濃縮物の粉状物）と、少なくとも1つの媒体（例えば、水、ミルク、グラノーラ）と、少なくとも1つの添加剤（例えば、甘味料）を含んでいてもよい。添加剤は、いくつかの実施形態において、タンパク質組成物の味（例えば、甘味、酸味）、食感、および／または栄養成分（例えば、ビタミンまたはミネラルサプリメント、脂肪）に寄与することが可能な任意の成分であってもよい。いくつかの実施形態において、添加剤は、甘味料（例えば、砂糖、アスパルテーム、蜂蜜、サッカリン）を含んでいてもよい。添加剤は、いくつかの実施形態において、親水コロイド安定剤（例えば、ラムダカラギーナン、キサンタンガム）を含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、添加剤は、バニラ抽出物またはアーモンド抽出物などのフレーバーを含んでいてもよい。いくつかの実施形態によれば、添加剤は、栄養成分、例えば脂肪（例えば、油）、鉱物源、ビタミン源、食物纖維源、またはそれらの任意の組み合わせを含んでいてもよい。添加剤は、本開示の範囲から逸脱することなく、任意の形態（例えば、液体、粉末）または濃度であってもよい。

10

【0150】

いくつかの実施形態において、タンパク質組成物は、少なくとも1つの高濃度タンパク質生成物（例えば、タンパク質濃縮物のフレーク／顆粒、タンパク質濃縮物の粉状物）、少なくとも1つの媒体（例えば、水、ミルク）、少なくとも1つのフレーバー（例えば、チョコレート、バニラ）、および少なくとも1つの甘味料（例えば、砂糖、アスパルテーム、サッカリン）を含んでいてもよい。表4は、本開示の一実施形態に係るタンパク質シェイクの成分比を示す。

20

【表4】

表4. タンパク質濃縮物に対するタンパク質シェイク媒体の比率例

成分	重量(g)			媒体／成分比		
	低い	典型的な	高い	低い	典型的な	高い
媒体	100	100	100	1	1	1
タンパク質濃縮物	0.5	6.5	15	200	15	7

30

【0151】

いくつかの実施形態において、タンパク質組成物は、少なくとも1つの高濃度タンパク質生成物（例えば、タンパク質濃縮物のフレーク／顆粒、タンパク質濃縮物の粉状物）、少なくとも1つの親水コロイド安定剤（例えば、ラムダカラギーナン、キサンタンガム）、少なくとも1つのフレーバー（例えば、ミルクパウダー、チョコレート、バニラ）、少なくとも1つの媒体（例えば、水、ミルク）、および少なくとも1つの甘味料（例えば、砂糖、アスパルテーム、サッカリン）を含むスムージーを含んでいてもよい。表5は、いくつかの実施形態に係るスムージーの組成物例の成分比を示す。

40

【表5】

表5. スムージーの組成例

成分	重量(g)			媒体/成分比		
	低い	典型的な	高い	低い	典型的な	高い
媒体	100	100	100	1	1	1
タンパク質濃縮物	0.5	6.5	15	200	15	7
ラムダカラギーナン	0.023	0.3	0.692	4333	333	144
キサンタンガム	0.002	0.03	0.069	43333	3333	1444
米粉パウダー ²	0.115	1.5	3.462	867	67	29
甘味料	0.154	2	4.615	650	50	22

10

【0152】

いくつかの実施形態において、動物飼料は、高濃度タンパク質濃縮物（例えば、タンパク質濃縮物のフレーク／顆粒、タンパク質濃縮物の粉状物）、少なくとも1つの媒体（例えば、水、ミルク）、および少なくとも1つの脂肪（例えば、油）、少なくとも1つの繊維（例えば、乾草）、および少なくとも1つの鉱物（例えば、カルシウム、リン、マグネシウム、塩）を含む複数の添加剤を含んでいてもよい。表6は、本開示の例示的な実施形態に係る動物飼料の成分比を示す。

【表6】

20

表6:動物飼料成分の範囲。

成分	組成物の%(DMB)
媒体	45-95
タンパク質濃縮物	10-45
脂肪	5-25
鉱物	1-5
食物繊維	1-35

30

【0153】

いくつかの実施形態によれば、食品は、高濃度タンパク質濃縮物（例えば、タンパク質濃縮物のフレーク／顆粒、タンパク質濃縮物の粉状物）、少なくとも1つの媒体（例えば、水、ミルク）、少なくとも1つの脂肪（例えば、油）、少なくとも1つの食物繊維（例えば、非デンプン多糖類）、少なくとも1つの甘味料（例えば、糖、サッカリン、アスパルテーム）、および少なくとも1つの鉱物（例えば、カルシウム、リン、マグネシウム、塩）を含んでいてもよい。表7は、食品の例示的な実施形態の成分比を示す。

【表7】

40

表7. 食料品の成分の範囲

成分	組成物の%(DMB)
媒体	45-95
タンパク質濃縮物	10-55
脂肪	5-40
鉱物	1-10
食物繊維	1-20
甘味料	1-15

40

【0154】

微小作物由来の高濃度タンパク質生成物を処理するシステム

本開示の実施形態はまた、高濃度タンパク質生成物を生成するための微小作物（例えば、水生種、Lemna）を処理するシステムも提供する。このようなシステムには、例えば、微小作物を増殖させるための栽培ユニット（例えば、102）と；微小作物を収穫し

50

てバイオマスを得るための収穫ユニット（例えば、104）と；洗浄ユニット（例えば、106）と；バイオマスをプランチングし、濡れたタンパク質濃縮物を作成するためのプランチングユニット（例えば、110）と；濡れたタンパク質濃縮物をプランチング溶液から分離するための第1の分離ユニットと；濡れたタンパク質濃縮物を冷却溶液から分離するための第2の分離ユニットと；濡れたタンパク質濃縮物の含水量を下げるための脱水ユニットと；濡れたタンパク質濃縮物および／または粉碎した濡れたタンパク質濃縮物を乾燥させ、タンパク質濃縮物のフレーク／顆粒を作成するための乾燥ユニット（例えば、114／214）と；濡れたタンパク質濃縮物またはタンパク質濃縮物のフレーク／顆粒を粉碎し、タンパク質濃縮物の粉状物を作成するための粉碎ユニット（例えば、118）とを備えていてもよい。表8に要約されているのは、上述のユニットに含めることができる装置である。

【表8】

表8:装置例	
栽培ユニット(例えば、102)	バイオリアクター
収穫ユニット(例えば、104)	スキマー、自動収穫機、手動収穫機
洗浄ユニット (例えば、106)	噴霧器
プランチングユニット (例えば、110)	攪拌機、ミキサー、温水浴、温水スプレー、蒸気浸漬システム、シャワーユニット、振動プランチングトレー
冷却ユニット(例えば、112)	冷水浴、水浴、冷水スプレー、冷却スクリュー、冷却空気
第1の分離ユニット	傾斜ふるいフィルター、振動ふるいフィルター、デカンター遠心分離機、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の分離ユニット	傾斜ふるいフィルター、振動ふるいフィルター、デカンター遠心分離機、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
脱水ユニット(例えば、114)	昇華膜蒸発器、流下膜蒸発器、自然循環蒸発器(垂直または水平)、攪拌膜蒸発器、多重効果蒸発器、真空蒸発装置、傾斜ふるいフィルター、振動ふるいフィルター、デカンター遠心分離機、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
溶媒抽出ユニット	攪拌機、ミキサー、溶媒抽出システム(例えば、市販されているもの)、カラム抽出システム
濾過ユニット	精密濾過ユニット、限外濾過ユニット、ナノ濾過ユニット、逆浸透濾過ユニット、バスケット濾過ユニット
乾燥ユニット (例えば、114／214)	スプレードライヤー、ドラムドライヤー、ダブルドラムドライヤー、フラッシュドライヤー、流動床ドライヤー、対流乾燥機、エバボレーター
粉碎ユニット (例えば、118／218)	ナイフミル、ハンマーミル、ピンミル、振動ミル、ジェットミル流体エネルギーミル

【0155】

各ユニットの列挙された装置は、説明の目的のみのためのものであり、これは本出願の範囲を限定するものではないことが理解される。これらの装置またはユニットまたは他の装置またはユニットの特定の組み合わせは、本出願の教示に基づいて意図された用途のためにこのようなシステム内に構成することができる。

【0156】

本開示の範囲から逸脱することなく、形状、大きさ、数、分離特性および／または部品

10

20

30

40

50

の配置に様々な変更を加えてもよい。開示された各方法および方法の工程は、他の開示された方法または方法の工程と関連して、いくつかの実施形態に係る任意の順序で実行されてもよい。「may」との動詞が出現する場合、任意要素であり、および／または許容条件であることを伝えることを意図しているが、その使用は、特に明記しない限り、操作性の欠如を示唆するものではない。本開示の範囲から逸脱することなく、本開示の組成物、デバイスおよび／またはシステムを調製し、使用する方法において、様々な変更を行うことができる。必要に応じて、本開示のいくつかの実施形態は、他の実施形態を除外して実施することができる。

【0157】

また、範囲が提供されている場合、開示された端点は、特定の実施形態によって所望されるか、または要求される厳密なおよび／または近似として扱われてもよい。端点が近似値の場合、その自由度は、範囲の大きさの程度に比例して変化してもよい。例えば、一方では、約5～約50の範囲の内容における約50の端点の範囲は、50.5を含んでもよいが、52.5または55を含まず、一方、約0.5～約50の範囲の内容における約50の端点の範囲は、55を含んでもよいが、60も75も含まない。いくつかの実施形態において、自由度は、単に、開示された端点の特定のパーセントであってもよい（例えば、端点値の厳密な制御が望ましい場合は±1%、端点値に自由度がある場合は±10%、および／または他のパラメータにしたがって変わる）。さらに、いくつかの実施形態において、範囲の端点を混合し、一致させることが望ましい場合がある。また、いくつかの実施形態において、開示されたそれぞれの数字（例えば、1つ以上の例、表および／または図における）は、ある範囲の基準を形成してもよく（例えば、示された値±約10%、示された値±約50%、示された値±約100%）、および／または範囲の端点を形成してもよい。前者に関して、例、表および／または図に示された50との値は、例えば約45～約55、約25～約100、および／または約0～約100の範囲の基礎を形成する場合がある。本開示内で別段の指定がない限り、濃度に適用されるパーセントは、乾燥質量基準（DMB）のパーセントである。

10

20

30

40

50

【0158】

これらの均等物および代替物は、明らかな変更および改変と共に、本開示の範囲内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示されるような開示の範囲を例示的に説明することを意図しているが、これに限定されるものではない。

【0159】

名称、要約、背景および見出しへは、規則および／または読者の便宜のために提供されている。それらには、先行技術の範囲および内容についての承認はなく、開示された全ての実施形態に適用可能な制限はない。

【実施例】

【0160】

本開示のいくつかの特定の実施形態の例は、本明細書で提供される1つ以上の実施例によって例示されてもよい。

【0161】

実施例1：Lemnaから抽出された高タンパク質濃縮物

高タンパク質組成物を、溶媒抽出を行い、また溶媒抽出を行わずに調製した。簡潔には、水および栄養素を含む成長媒体中でレムナ（Lemna）を栽培することにより、濡れたタンパク質濃縮物を調製した。微小作物を収穫し、バイオマスを塩素化した井戸水の洗浄液で洗浄した。洗浄液を、バイオマスの排水および圧縮によって除去した。バイオマスにプランチング処理を行い、ここで、洗浄したバイオマスそれぞれ1kgを3.5Lの65%の蒸留水のプランチング溶液と合わせ、10分間絶えず攪拌し、それによって、濡れたタンパク質濃縮物を作成した。濡れたタンパク質濃縮物をプランチング溶液から排出し、冷水に沈め、濃縮物が室温に達するまで、濡れたタンパク質濃縮物に冷水を連続的に注いだ。冷却した濡れたタンパク質濃縮物の第1のサンプルに過剰の水を流し、凍結させ、

溶媒抽出を行わずに第1の高タンパク質組成物とした。冷却した濡れたタンパク質濃縮物の第2のサンプルに、1kgのサンプルを1Lのエタノール(溶媒溶液)と合わせ、100の水浴中で30~40分間インキュベートする溶媒抽出手順を行った。溶媒溶液を濡れたタンパク質濃縮物から排出し、溶媒抽出プロトコールは、添加を4回繰り返した。溶媒抽出洗浄の間に、抽出されたクロロフィルを、濡れたタンパク質濃縮物から、ふるい分けによって除去した。最後の抽出の後、濡れたタンパク質濃縮物を水ですすぎ、排水し、凍結させた。このサンプルを、溶媒抽出を伴う第2の高タンパク質組成物とした。

【0162】

第1および第2の高タンパク質濃縮物の両方の組成分析を外部の実験室で行い、その結果を表9および表10に要約する。

10

【表9】

表9:第1の高タンパク質生成物(溶媒抽出を行っていない)の組成

成分	乾燥重量%
粗タンパク質	64
灰	12
脂肪	7
粗纖維	5
炭水化物	12

20

【表10】

表10:溶媒抽出を行った高タンパク質生成物の組成

成分	乾燥重量%
粗タンパク質	40
灰	8
脂肪	3
食物纖維	6
炭水化物	43

30

【0163】

実施例2: Lemna由来の高タンパク質濃縮物生成物のタンパク質含量に対する、プランチングの条件と影響

様々なプランチング条件の影響について、タンパク質濃度(DMB)を評価した。簡潔には、水および栄養素を含む成長媒体中でレムナ(Lemna)を栽培することにより、濡れたタンパク質濃縮物を調製した。微小作物を収穫し、バイオマスを塩素化した井戸水の洗浄液で洗浄した。洗浄液を、バイオマスの排水および圧縮によって除去した。バイオマスに種々のプランチング処理を行い、ここで、洗浄したバイオマスそれぞれ1kgを3.5Lの蒸留水のプランチング溶液と合わせ、所定時間絶えず攪拌し、それによって、濡れたタンパク質濃縮物を作成した。試験パラメータは、(1)60~65で5分間、(2)60~65で10分間、(3)60~65で15分間、(4)70~75で5分間、(5)70~75で5分間、(6)70~75で10分間、(7)70~75で15分間、(8)80~85で5分間、(9)80~85で10分間、(10)80~85で15分間を含んでいた。濡れたタンパク質濃縮物をプランチング溶液から排出し、冷水に沈め、濃縮物が室温に達するまで、濡れたタンパク質濃縮物に冷水を連続的に注いだ。冷却した濡れたタンパク質濃縮物の第1のサンプルに過剰の水を流し、凍結させ、溶媒抽出を行わずに第1の高タンパク質組成物とした。結果を表11に示す。

40

【表11】

表11:高タンパク質濃縮物のタンパク質組成(%DMB)

プランチング 温度／時間	5分	10分	15分
60~65°C	52	30	43
70~75°C	60	44	61
80°C~85°C	66	59	45

【0164】

実施例3: Lemna由来の高タンパク質濃縮物生成物のタンパク質含量に対する、バ
10
ッチ型プランチングの条件と影響

簡潔には、水および栄養素を含む成長媒体中でレムナ (Lemna) を栽培することにより、濡れたタンパク質濃縮物を調製した。微小作物を収穫し、保持ホッパーに入れた。濡れた質量基準 (WMB) で約 100~150 kg のサンプルをホッパーから取り出し、500 L の井戸水のプランチング溶液を含むタンク中、開始温度 85~88 で浸漬した。プランチング溶液中、浮いてくる Lemna サンプルを繰り返し沈めるような様式で、サンプルをタンク内で攪拌した。2 分間にわたって、タンク内のプランチング溶液の温度は、76~78 に低下した。サンプルを浸漬してから 2 分後、プランチング溶液からサンプルを取り出し、1500 L の室温 (約 23) の水を含む冷却タンクに浸した。3~4 分後、冷却タンク内の水の温度は 37~38 に上昇した。冷却タンクから Lemna サンプルを取り出し、排液した後、スクリュープレスによって冷却溶液から分離した。脱水した Lemna サンプルを流動床乾燥機で乾燥させ、高濃度のタンパク質フレークを作成した。高濃度タンパク質フレークサンプルの一部をピンミルで粉碎し、平均粒径が約 120 μm のタンパク質濃縮物の粉状物を生成した。

【0165】

30 以上の別々のサンプルをこの方法で処理した。各高濃度タンパク質フレークサンプルおよび各タンパク質濃縮物の粉状物サンプルについて、組成分析を行った。サンプルの典型的なアミノ酸プロフィールを表12に示す。高濃度タンパク質のフレークの典型的な組成特徴を表13に示す。試験したサンプルの大部分において、シュウ酸の濃度は 0.2~5% 未満であった。サンプルの平均可溶性ポリフェノール濃度は、3.2 mg / 100 g 未満であった。ほとんどの場合、可溶性ポリフェノール濃度は、試験の検出限界未満であることが判明した。表14は、処理された Lemna サンプルの栄養学的プロフィールを示す。

10

20

30

【表12】

表12:高タンパク質濃縮物のアミノ酸プロフィール

アミノ酸プロフィール(g/タンパク質濃縮物のフレーク100g)	
トリプトファン	2. 1
アラニン	4. 8
アルギニン	5. 7
アスパラギン酸	7. 8
グルタミン酸	9. 4
グリシン	4. 1
ヒスチジン	2. 0
イソロイシン	4. 4
ロイシン	7. 7
フェニルアラニン+チロシン	8. 8
プロリン	3. 9
セリン	3. 4
スレオニン	3. 7
リシン	6. 0
バリン	5. 3
システイン+メチオニン	2. 9

10

20

30

【表13】

表13:高濃度タンパク質のフレークの組成

特性	
固形分(DMB)	~92
水分(DMB)	<8
タンパク質(DMB)	45-50
PDCASS	0. 93
消化率	≥90
脂肪(DMB)	≤7
灰(DMB)	<10
食物纖維(DMB)	35-45
シウ酸	≤1

【表14】

表14. 处理されたLemnaサンプルの平均栄養学的プロフィール

特質	単位	(100g当たり)	DMB%
水分	%	2. 77	
灰	%	6. 18	6. 4%
カロリー	Kcal	449	
脂肪からのカロリー		69. 30	
タンパク質	%	48. 05	49. 4%
炭水化物	%	46. 9	48. 2%
食物繊維	%	39. 85	41. 0%
糖	%	0	0. 0%
総脂肪(AH)	%	7. 70	7. 9%
総脂肪酸含量	%	6. 99	7. 2%
飽和脂肪	%	1. 51	1. 6%
モノ不飽和	%	0. 15	0. 2%
多価不飽和	%	4. 79	4. 9%
トランス脂肪	%	0. 23	0. 2%
コレステロール	mg/100g	0. 84	
ナトリウム	mg/100g	133	
ビタミンA(B-カロテン)	IU/100g	56200	
ビタミンC	mg/100g		
カルシウム	mg/100g	1300	
鉄	mg/100g	37	
ビタミンE	IU/100g	12	
チアミン(B1)	mg/100g	0. 03	
リボフラビン(B2)	mg/100g	0. 65	
ナイアシン(B3)	mg/100g	0. 537	
パントテン酸(B5)	mg/100g	0. 02	
ビタミンB6	mg/100g	0. 275	
葉酸(B9)	mg/100g	229. 91	
カリウム	mg/100g	54. 1	
マグネシウム	mg/100g	343	
亜鉛	mg/100g	10. 3	
銅	mg/100g	<1	
マンガン	mg/100g	39. 7	
リン	mg/100g	640	
アルミニウム	ppm	2. 656	
ホウ素	ppm	643. 797	
バリウム	ppm	1. 365	
コバルト	ppm	0. 01	
クロム	ppm	0. 296	
モリブデン	ppm	0. 53	
ニッケル	ppm	0. 1	
セレン	ppm	0. 01	
クロロフィル	mg/100g	540	0. 56%
ルテイン	mg/100g	38. 5	0. 0396%
総ポリフェノール	GAE(mg)/kg	3. 244	0. 0033%

実施例4. 高濃度タンパク質生成物の色および組成に対する、プランチングされたLemnaの溶媒抽出の影響

簡潔には、水および栄養素を含む成長媒体中でレムナ (Lemna) を栽培することにより、濡れたタンパク質濃縮物を調製した。微小作物を収穫し、保持ホッパーに入れた。濡れた質量基準 (WMB) で約 100 ~ 150 kg のサンプルをホッパーから取り出し、500 L の井戸水のプランチング溶液を含むタンク中、開始温度 85 ~ 88 で浸漬した。プランチング溶液中、浮いてくる Lemna サンプルを繰り返し沈めるような様式で、サンプルをタンク内で攪拌した。2 分間にわたって、タンク内のプランチング溶液の温度は、76 ~ 78 に低下した。サンプルを浸漬してから 2 分後、プランチング溶液からサンプルを取り出し、1500 L の室温 (約 23) の水を含む冷却タンクに浸した。3 ~ 4 分後、冷却タンク内の水の温度は 37 ~ 38 に上昇した。冷却タンクから Lemna サンプルを取り出し、排液によって、冷却溶液から分離した。全固形分含量が約 10 % のプランチングした Lemna の 0.5 kg WMB 部分を、1 : 5 の比率で 80 % ~ 90 % のエタノール溶液と温度 50 で混合した。エタノールスラリーを約 30 分間攪拌した。プランチングした Lemna サンプルからエタノール溶液を濾過により分離した。プランチングした Lemna サンプルを、再び、温度 50 で 80 % ~ 90 % エタノールの溶液と 1 : 5 の比で混合し、30 分間攪拌し、濾過してエタノール溶液を除去した。このプロセスをさらに 2 回繰り返し、Lemna のサンプル 1.5 kg をエタノール溶液でそれぞれ 30 分間、4 回抽出した。次いで、Lemna サンプルを 3 つの部分に分け、各部分を異なる方法で乾燥させた。第 1 の部分を凍結乾燥によって乾燥させ、第 2 の部分を減圧乾燥させ、第 3 の部分をオープンで乾燥させた。組成分析を行い、その結果を表 15 に示す。

【表 15】

表 15. 様々な方法で乾燥した、溶媒抽出した Lemna サンプルの組成分析。

サンプル	タンパク質% (DMB)	脂肪% (DMB)	灰分% (DMB)
コントロール、プランチングし、抽出していない Lemna	45.45	7.79	5.2
プランチングし、抽出された Lemna、凍結乾燥品	53.84	1.22	4.75
プランチングし、抽出された Lemna、減圧乾燥品	51.9	<0.1	5.26
プランチングし、抽出された Lemna、オープン乾燥品	52.57	<0.1	5.11

【0167】

実施例5：高濃縮タンパク質生成物の色および組成に対する、スクリュープレスで脱水した Lemna サンプルの溶媒抽出の影響

簡潔には、水および栄養素を含む成長媒体中でレムナ (Lemna) を栽培することにより、濡れたタンパク質濃縮物を調製した。微小作物を収穫し、保持ホッパーに入れた。濡れた質量基準 (WMB) で約 100 ~ 150 kg のサンプルをホッパーから取り出し、500 L の井戸水のプランチング溶液を含むタンク中、開始温度 85 ~ 88 で浸漬した。プランチング溶液中、浮いてくる Lemna サンプルを繰り返し沈めるような様式で、サンプルをタンク内で攪拌した。2 分間にわたって、タンク内のプランチング溶液の温度は、76 ~ 78 に低下した。サンプルを沈めてから 2 分後、プランチング溶液からサンプルを取り出し、1500 L の室温 (約 23) の水を含む冷却タンクに沈めた。3 ~ 4 分後、冷却タンク内の水の温度は 37 ~ 38 に上昇した。冷却タンクから Lemna

10

20

30

40

50

a サンプルを取り出し、排液した後、スクリュープレスによって冷却溶液から分離した。全固体分含量が約 10 % のプランチングした *Lemna* の 0.5 kg WMB 部分を、1:5 の比率で 80 % ~ 90 % のエタノール溶液と温度 50 °C で混合した。エタノールスラリーを約 30 分間攪拌した。プランチングした *Lemna* サンプルからエタノール溶液を濾過により分離した。プランチングした *Lemna* サンプルを、再び、温度 50 °C で 80 % ~ 90 % エタノールの溶液と 1:5 の比で混合し、30 分間攪拌し、濾過してエタノール溶液を除去した。このプロセスをさらに 2 回繰り返し、*Lemna* のサンプル 1.5 kg をエタノール溶液でそれぞれ 30 分間、4 回抽出した。

【0168】

緑色のいくらかの減少が観察されたが、高濃度タンパク質生成物の脱色は、実施例 4 で生成された生成物よりも有意に少なかった。さらなる脱色は、より長い溶媒抽出時間または溶媒抽出の追加のサイクルのいずれかによって達成され得る。

【0169】

実施例 6：高濃度タンパク質生成物の水結合能および脂肪結合能の測定

Lemna 由来の高濃度タンパク質生成物の水結合能を決定するために、タンパク質生成物がもはや追加の水を吸収できなくなるまで高濃縮タンパク質生成物 0.5 g に一定量の水を加えてスラリーを作成した。スラリーを 3500 rpm で 5 分間遠心分離し、遠心分離ペレットを作成した。遠心分離ペレットを取り出し、秤量し、上清を捨てた。高濃縮タンパク質生成物の水結合能は、タンパク質濃縮物 1 グラム当たり水 7.91 ml であると決定された。

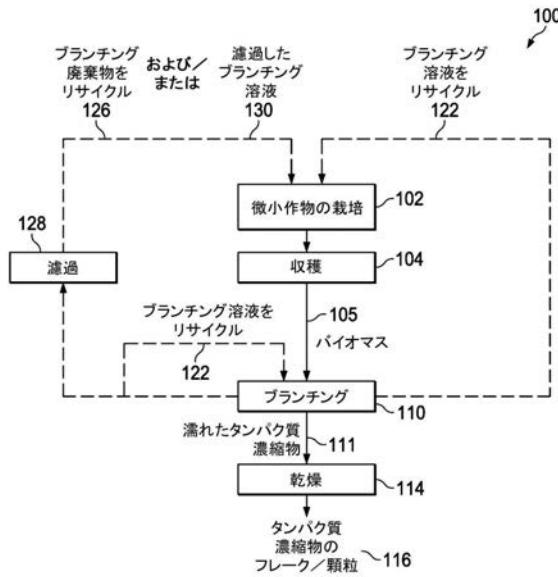
【0170】

Lemna 由来の高濃度タンパク質生成物の脂肪結合能を決定するために、タンパク質生成物がもはや追加の油を吸収できなくなるまで高濃縮タンパク質生成物 0.5 g に一定量のトウモロコシ油を加えてスラリーを作成した。次いで、スラリーを 3500 rpm で 5 分間遠心分離し、遠心分離ペレットを作成した。遠心分離ペレットを取り出し、秤量し、上清を捨てた。高濃縮タンパク質生成物の脂肪結合能は、タンパク質濃縮物 1 g 当たりコーン油 3.48 ml であると決定された。

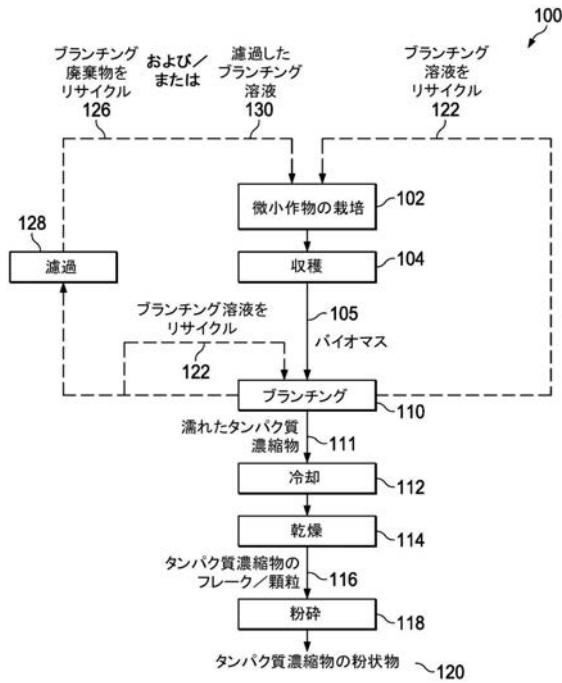
10

20

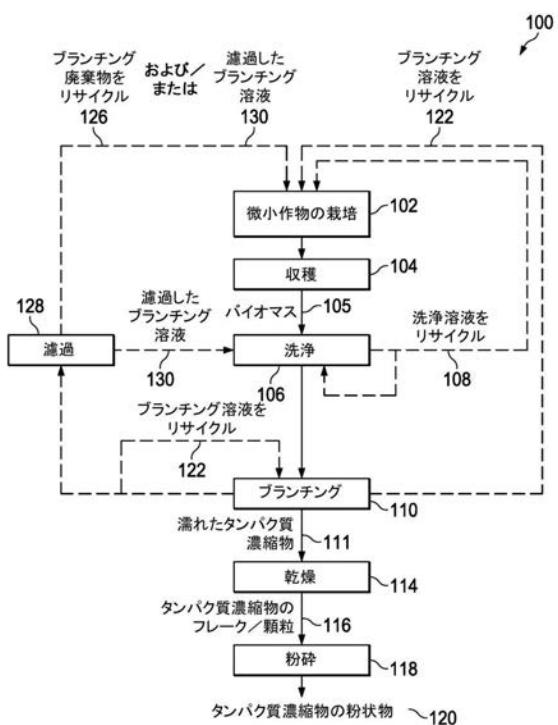
【図1A】



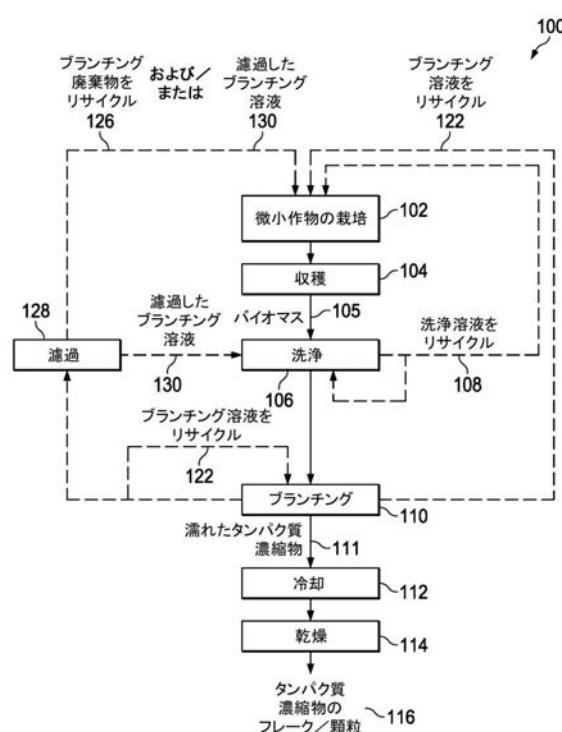
【図1B】



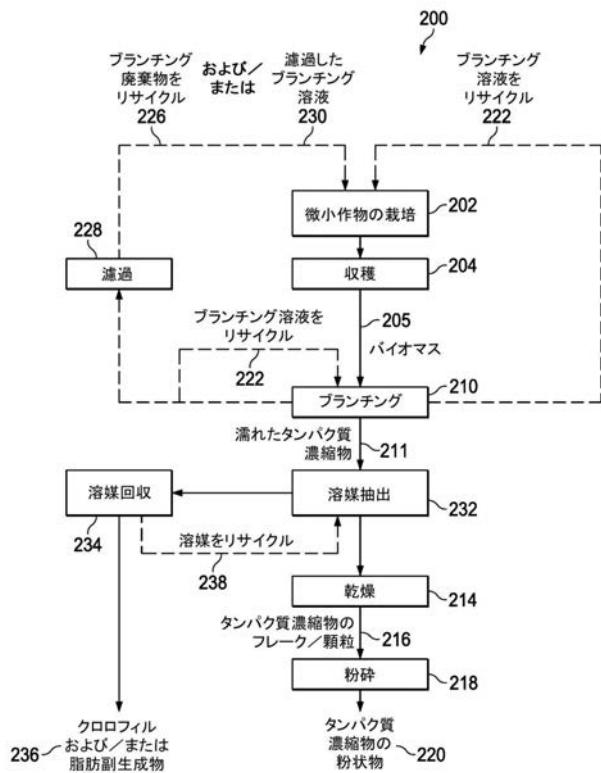
【図1C】



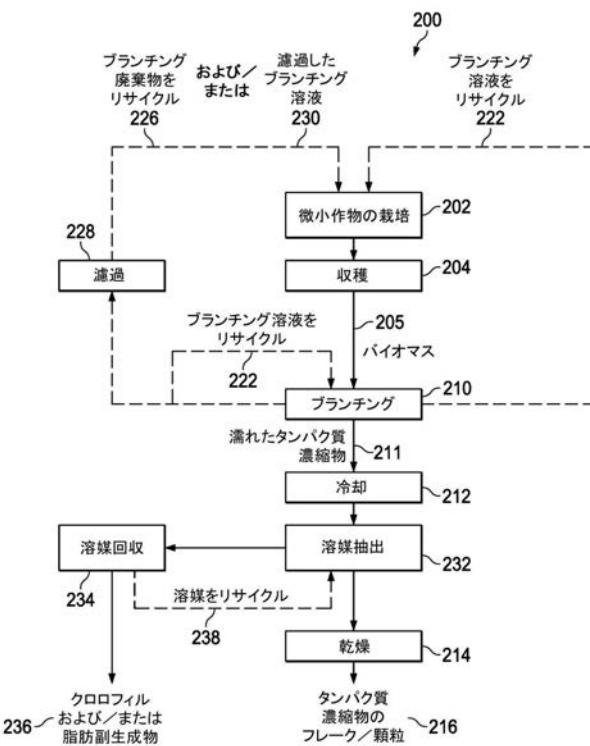
【図1D】



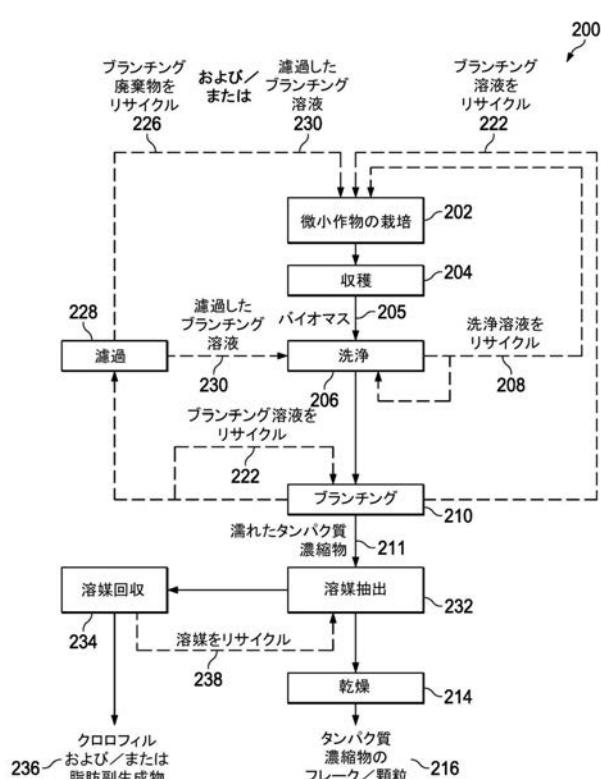
【図2A】



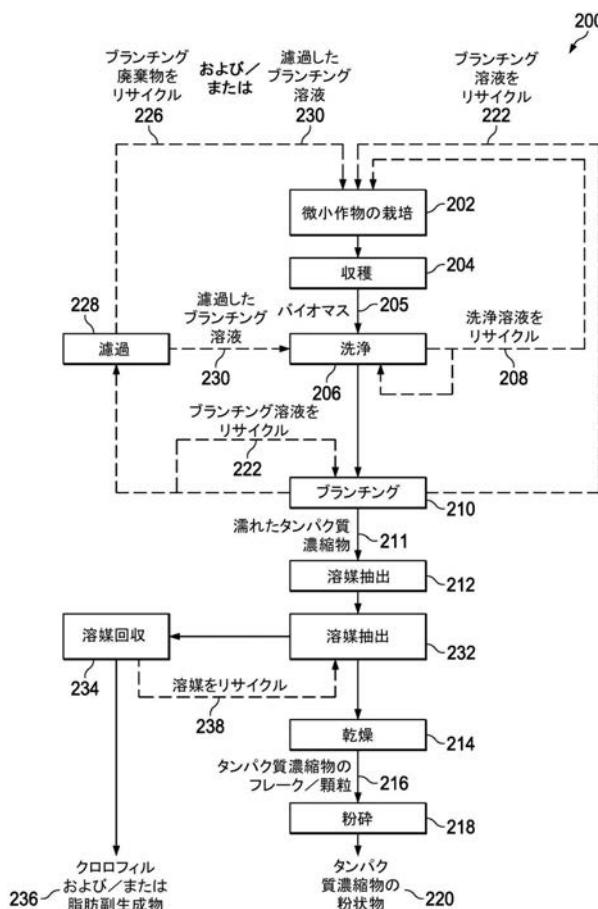
【図2B】



【図2C】



【図2D】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2016/051366
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A23J 1/00(2006.01)i, C07K 1/14(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A23J 1/00; A23B 7/06; C10L 1/02; A23L 35/00; A23K 1/18; C10G 3/00; A23N 17/00; A23L 17/60; A23B 7/148; C07K 1/14		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean utility models and applications for utility models Japanese utility models and applications for utility models		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS(KIPO internal) & keywords: high-concentration protein product, microcrop, biomass, blanching, wet protein concentrate, drying, protein concentrate, flake, granule, digestibility, PDCASS value, milling, Lemma, Wolffia		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2011-116252 A2 (PA, LLC) 22 September 2011 See abstract; paragraphs [00042] and [00061]; claims 1-15 and 37.	45-48, 50, 51
A		1-44, 49
A	TITI MUTIARA K. et al., 'Effect of blanching treatments against protein content and amino acid drumstick leaves (<i>Moringa oleifera</i>)', Journal of Food Research, Vol.2, No.1, pp.101-108 (2013) See the whole document.	1-51
A	US 4557937 A (BOURNIER) 10 December 1985 See abstract; claims 1-5.	1-51
A	WO 2011-156662 A2 (PA LLC) 15 December 2011 See abstract; claims 1-10.	1-51
A	GERTJAN SCHAAFSMA, 'Advantages and limitations of the protein digestibility-corrected amino acid score (PDCAAS) as a method for evaluating protein quality in human diets', British Journal of Nutrition, Vol.108, pp.S333-S336 (2012) See the whole document.	1-51
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "U" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
" ^T " later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention " ^X " document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone " ^Y " document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 22 December 2016 (22.12.2016)	Date of mailing of the international search report 22 December 2016 (22.12.2016)	
Name and mailing address of the ISA/KR International Application Division Korean Intellectual Property Office 189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon, 35208, Republic of Korea Facsimile No. +82-42-481-8578	Authorized officer KIM, Seung Beom Telephone No. +82-42-481-3371	
		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2016/051366

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-1153379 B1 (KANG JIN COUNTY et al.) 7 June 2012 See abstract; example 1; claims 1 and 2.	1-51

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/US2016/051366

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2011-116252 A2	22/09/2011	AP 3600 A AU 2011-227145 A1 AU 2011-227145 B2 CA 2793512 A1 CL 2012002563 A1 CN 103002752 A CO 6620037 A2 EC SP12012256 A EP 2547219 A2 IL 221933 A JP 2013-521808 A JP 2015-109859 A KR 10-1336117 B1 KR 10-2012-0125525 A MA 34159 B1 MX 2012010616 A PE 09572013 A1 RU 2012144027 A RU 2557429 C2 SG 184069 A1 US 2012-0110901 A1 US 2014-0221630 A1 US 8679352 B2 WO 2011-116252 A3 ZA 201207745 B	22/02/2016 08/11/2012 13/08/2015 22/09/2011 12/07/2013 27/03/2013 15/02/2013 31/01/2013 23/01/2013 24/09/2015 13/06/2013 18/06/2015 03/12/2013 15/11/2012 03/04/2013 23/11/2012 15/09/2013 27/04/2014 20/07/2015 30/10/2012 10/05/2012 07/08/2014 25/03/2014 19/01/2012 26/03/2014
US 4557937 A	10/12/1985	EP 0074897 A2 EP 0074897 A3 EP 0074897 B1 FR 2512643 A1 WO 83-00801 A1	23/03/1983 29/06/1983 04/12/1985 18/03/1983 17/03/1983
WO 2011-156662 A2	15/12/2011	KR 10-1345113 B1 KR 10-2012-0124486 A US 2012-0009660 A1 WO 2011-156662 A3	26/12/2013 13/11/2012 12/01/2012 19/04/2012
KR 10-1153379 B1	07/06/2012	KR 10-2010-0076209 A	06/07/2010

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,R0,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,D0,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,IDL,IN,IR,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UG

(72)発明者 カルピオ、ヴァレンティーナ

アメリカ合衆国 32948 フロリダ、フェルスメア、コマース ストリート、ヘッドウォーターズ 7898

(72)発明者 カサット、ギリシュ

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 ブールヴァード 1901、スヴィート 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 ブールヴァード 1901、スヴィート 600

(72)発明者 フィクタリ、ジャオウアド

アメリカ合衆国 32903 フロリダ、インディアランティック、リオ ブルモサ エヌ.3070

F ターム(参考) 2B150 AB20 AE02 AE08 DD61

4B018 LB07 LB08 MD20 MD48 MF01 MF04 MF06 MF08