

(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 I	テーマコード (参考)
<b>A 2 3 J 1/00 (2006.01)</b>	A 2 3 J 1/00	B 2 B 1 5 0
<b>A 2 3 L 33/185 (2016.01)</b>	A 2 3 L 33/185	4 B 0 1 8
<b>A 2 3 K 20/147 (2016.01)</b>	A 2 3 K 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、ヴァレンティナー アメリカ合衆国 32948 フロリダ、 フェルスミア、コマース ストリート、ハ 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 最終頁に続く
(86) 国際出願番号	PCT/US2016/051366		
(87) 国際公開番号	W02017/044966		
(87) 国際公開日	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) 優先権主張国	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、L e m n a）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、L e m n a）を含むバイオマスを処理する方法であって、この方法は、ブランチング溶液中、バイオマスの第1の部分のブランチングし、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（P D C A S S）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、L e m n a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、  
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】

ブ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】

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することは、バイオマスの第 1 の部分と、ブ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】

ブランチング溶液中、バイオマスブランチングすることは、バイオマスブランチング溶液に 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】

ブランチング溶液中、バイオマスブランチングすることは、バイオマスの少なくとも 1 つの表面とブ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】

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することは、バイオマスをブ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】

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することは、バイオマスをブランチング溶液に 2 分未満さらすことを含む、ブランチング溶液は、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 の洗浄液のうち少なくとも 1 つで洗浄することをさらに含む、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】

ブランチング溶液が、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、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 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】

ブランチング溶液中またはリサイクルされたブランチング溶液中、バイオマスの第 2 の部分をブランチングし、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 4 5 % のタンパク質を含み、P D C A S S 値が少なくとも 0 . 8 8 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、

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 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、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 つを粉砕し、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 . 9 2 の P D C A S S ；

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；

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19に記載の高濃度タンパク質生成物。

【請求項23】

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、

0.25 %未満DMBのシュウ酸含量；

1.75 m g / 100 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19に記載の高濃度タンパク質生成物。

【請求項24】

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19に記載の高濃度タンパク質生成物。

【請求項25】

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24に記載の高濃度タンパク質生成物。

【請求項26】

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 %の食物繊維含量；

1 %未満DMBのシュウ酸含量；

3.2 m g / 100 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24に記載の高濃度タンパク質生成物。

【請求項27】

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、

0.25 %未満DMBのシュウ酸含量；

1.75 m g / 100 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24に記載の高濃度タンパク質生成物。

【請求項28】

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19に記載の高濃度タンパク質生成物。

【請求項29】

微小作物を含むバイオマスを処理する方法であって、

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、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砕し、第1の粉砕した濡れたタンパク質濃縮物を作成することと；

第1の粉砕した濡れたタンパク質濃縮物を乾燥させ、第1の粉砕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の粉砕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、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。

【請求項30】

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 29 に記載の方法。

【請求項 31】

ブ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 29 に記載の方法。

【請求項 32】

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することは、バイオマスの第 1 の部分と、ブ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 29 に記載の方法。

【請求項 33】

ブランチング溶液中、バイオマスをブランチングすることは、バイオマスをブランチング溶液に 1 分未満さらすことをさらに含む、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 34】

ブランチング溶液中、バイオマスをブランチングすることは、バイオマスの少なくとも 1 つの表面とブ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 33 に記載の方法。

【請求項 35】

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することは、バイオマスをブランチング溶液に約 45 秒間さらすことを含む、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 36】

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することは、バイオマスをブランチング溶液に 2 分未満さらすことを含み、ブランチング溶液は、約 75 ~ 95 の温度を有する、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 37】

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 29 に記載の方法。

【請求項 38】

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 37 に記載の方法。

【請求項 39】

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 29 に記載の方法。

【請求項 40】

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 29 に記載の方法。

【請求項 41】

ブランチング溶液が、少なくとも 1 種のカルシウム塩を含む、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 42】

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 29 に記載の方法。

【請求項 43】

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 29 に記載の方法。

【請求項 44】

ブランチング溶液中またはリサイクルされたブランチング溶液中、バイオマスの第 2 の部分をブランチングし、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 の部分を粉砕し、第 2 の粉砕した濡れたタンパク質濃縮物を作成することと；

第 2 の粉砕した濡れたタンパク質濃縮物を乾燥させ、第 2 の粉砕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 の粉砕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、P D C A S S 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砕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 (P D C A S S) 値が少なくとも 0.88 である、タンパク質組成物。

#### 【請求項 46】

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 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砕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 P D C A S S ；

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 D M B の灰分；

少なくとも 30 % の食物繊維含量；

1 % 未満 D M B のシュウ酸含量；

3.2 mg / 100 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 ml / g の水結合能；および

少なくとも 3 ml / 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砕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 D M B のシュウ酸含量；

1.75 mg / 100 g 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日に出版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、高い繊維含量、および/または高いシュ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上での原動力である。

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、シュ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ブランピングし、ブランピングしたバイオマスを作成することと、ブランピ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砕し、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、粉砕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関し、この方法は、ブランピング溶液中、バイオマスの第1の部分をブランピングし、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、スクリーブレスを用いて、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】

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、ブ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、ブ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 の部分をブ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、ブランチング溶液とを 7 : 1 (w/w) の生成物流速比 (ブ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、バイオマスをブランチングすることは、バイオマスをブランチング溶液に 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、バイオマスをブ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、バイオマスをブランチングすることは、バイオマスの少なくとも 1 つの表面とブ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 の部分をブランチングすることは、バイオマスをブランチング溶液に 2 分未満さらすことを含んでいてもよく、ブランチング溶液は、約 75 ~ 95 の温度を有していてもよい。ブランチング溶液は、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、ブランチング溶液中またはリサイクルされたブランチング溶液中、バイオマスの第 2 の部分をブランチングし、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関し、この処理方法は、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】

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%の食物繊維含量；1%未満DMBのシュウ酸含量；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のシュウ酸含量、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】

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%の食物繊維含量；1%未満DMBのシュウ酸含量；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のシュウ酸含量、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。

#### 【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、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、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。

#### 【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、ブ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の部分をブランチングすることは、いくつかの実施形態において、バ

10

20

30

40

50

バイオマスの第 1 の部分と、ブ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、バイオマスをブランチングすることは、バイオマスをブランチング溶液に 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、バイオマスをブランチング溶液に約 4 5 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、バイオマスをブランチングすることは、バイオマスの少なくとも 1 つの表面とブ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 の部分をブランチングすることは、バイオマスをブランチング溶液に 2 分未満さらすことを含んでいてもよく、ブランチング溶液は、約 7 5 ~ 9 5 の温度を有していてもよい。ブランチング溶液は、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

#### 【 0 0 1 6 】

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）。

#### 【 0 0 1 7 】

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、ブランチング溶液中またはリサイクルされたブランチング溶液中、バイオマスの第 2 の部分をブランチングし、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 4 5 % の D M B タンパク質を含んでいてもよく、このタンパク質は、P D C A S S 値が少なくとも 0 . 8 8 である。

20

#### 【 0 0 1 8 】

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、L e m n a、W o l f f i a）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 4 5 % の D M B 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（P D C A S S）値が少なくとも 0 . 8 8 である。いくつかの実施形態によれば、P D C A S S 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

40

#### 【 0 0 1 9 】

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 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

50

うち少なくとも1つが、0.25%未満DMBのシュウ酸含量；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、またはその両方をさらに有していてもよい。

【0020】

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もよい。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。

【0021】

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

【0022】

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】

【0023】

【図1A】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1B】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1C】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1D】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2A】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2B】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2C】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2D】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】

【0024】

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、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部分を粉砕し、粉砕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、粉砕した濡れたタンパク質濃縮物を乾燥させ、粉砕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砕し、タ

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以下のシュ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(iii) 場合により、0.05%以下のシュ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

50

#### 【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进行处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) 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するような構成のブランチングユニット；(c) 濡れたタンパク質濃縮物からブ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、ブランチング溶液を分離し、濾過したブランチング溶液とブ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。

#### 【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%以下のシュ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%以下のシュウ酸含量を有していてもよい。

#### 【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)进行处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进行处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。

#### 【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、ブランピングし、脱水し、分離し、乾燥させ、および／または粉砕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

20

30

40

#### 【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）、*Spirodela*、*Landoltia*、*Wolffiella*、*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 obscura*、*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。

#### 【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ァイル；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）。

#### 【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ァイルを有する。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ァイルを示す。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、繊維含量が低く（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、繊維含量が約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：L e m n a 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

## 【 0 0 3 2 】

## 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うちの少なくとも 1 つを含んでもよい。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 1 2 0 パーツパーミリオン（ppm）以上、または約 1 1 5 ppm 以上、または約 1 1 0 ppm 以上、または約 1 0 5 ppm 以上、または約 1 0 0 ppm 以上、または約 9 5 ppm 以上、または約 9 0 ppm 以上、または約 8 5 ppm 以上、または約 8 0 ppm 以上、または約 7 5 ppm 以上、または約 7 0 ppm 以上、または約 6 5 ppm 以上、または約 6 0 ppm 以上、または約 5 5 ppm 以上、または約 5 0 ppm 以上、または約 4 5 ppm 以上、または約 4 0 ppm 以上、または約 3 5 ppm 以上、または約 3 0 ppm 以上、または約 2 5 ppm 以上、または約 2 0 ppm 以上であってもよく、ここで、「約」は、± 1 0 % 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 2 0 ppm ~ 約 1 2 0 ppm、約 2 5 ppm ~ 約 1 2 0 ppm、または約 3 0 ppm ~ 約 1 2 0 ppm、または約 4 0 ppm ~ 約 1 2 0 ppm、または約 5 0 ppm ~ 約 1 2 0 ppm、または約 6 0 ppm ~ 約 1 2 0 ppm、または約 7 0 ppm ~ 約 1 2 0 ppm、または約 8 0 ppm ~ 約 1 2 0 ppm、または約 2 0 ppm ~ 約 1 0 0 ppm、または約 3 0 ppm ~ 約 1 0 0 ppm、または約 4 0 ppm ~ 約 1 0 0 ppm、または約 5 0 ppm ~ 約 1 0 0 ppm、または約 6 0 ppm ~ 約 1 0 0 ppm、または約 7 0 ppm ~ 約 1 0 0 ppm、または約 8 0 ppm ~ 約 1 0 0 ppm 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 2 0 ppm（例えば、± 1 0 %）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 1 0 0 ppm 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。

## 【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もよい。

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ン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、バブリング、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

30

## 【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、地面に対して水平な面で）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くても）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。

40

## 【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

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）ことができるように維持されてもよい。

#### 【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。

#### 【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もよい。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Lemna）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。

#### 【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。

#### 【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ュ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ュウ酸および/またはシュウ酸塩の含量の低下に寄与し得る。

#### 【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もよい。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もよい。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）

10

20

30

40

50

)、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。

【0045】

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20パーセント未満(ppm)、約18ppm未満、約16ppm未満、または約14ppm未満、または約12ppm未満、または約10ppm未満、または約9ppm未満、または約8ppm未満、または約7ppm未満、または約6ppm未満、または約5ppm未満、または約4ppm未満、または約3ppm未満、または約2ppm未満、または約1ppm未満、または約0.5ppm未満、または約0ppmであってもよい。いくつかの実施形態において、低窒素の第2の媒体は、窒素濃度が約0ppm~約20ppm、または約0.5ppm~約20ppm、または約0.5ppm~約15ppm、または約0.5ppm~約10ppm、または約1ppm~約9ppm、または約1ppm~約7ppm、または約1ppm~約6ppm、または約1ppm~約5ppm、または約3ppm~約6ppm、または約2ppm~約8ppm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10ppm(例えば、 $\pm 1$ ppm)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5ppm(例えば、 $\pm 0.5$ ppm)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、 $N_2$ )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。

10

20

【0046】

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20ppm以下、約18ppm以下、約16ppm以下、または約14ppm以下、または約12ppm以下、または約10ppm以下、または約9ppm以下、または約8ppm以下、または約7ppm以下、または約6ppm以下、または約5ppm以下、または約4ppm以下、または約3ppm以下、または約2ppm以下、または約1ppm以下、または約0.5ppm以下、または約0ppmであってもよい。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、カルシウム濃度が約0ppm~約20ppm、または約0.5ppm~約20ppm、または約0.5ppm~約15ppm、または約0.5ppm~約10ppm、または約1ppm~約9ppm、または約1ppm~約7ppm、または約1ppm~約6ppm、または約1ppm~約5ppm、または約3ppm~約6ppm、または約2ppm~約8ppm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10ppm(例えば、 $\pm 1$ 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おいて、低カルシウムの第2の媒体は、最大で約5ppm(例えば、 $\pm 0.5$ 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、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。

30

40

【0047】

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の媒体は、カルシウム濃度が約800ppm以下、または約750ppm以下、または約700ppm以下、または約650ppm以下、または約600ppm以下、または約550ppm以下、または約500ppm以下、または約450ppm以下、または約400ppm以下、または約350ppm以下、または約300ppm以下、または約250ppm以下、または約200ppm以下、または約150ppm以下、または約100ppm以下、または約50ppm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50ppm~約200ppm、または約50ppm

50

～約400ppm、または約50ppm～約600ppm、または約100ppm～約800ppm、または約100ppm～約700ppm、または約100ppm～約600ppm、または約100ppm～約500ppm、または約300ppm～約600ppm、または約200ppm～約800ppm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800ppm（例えば、±50ppm）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600ppm（例えば、±50ppm）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。

10

#### 【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20ppm以下、または約18ppm以下、または約16ppm以下、または約14ppm以下、または約12ppm以下、または約10ppm以下、または約9ppm以下、または約8ppm以下、または約7ppm以下、または約6ppm以下、または約5ppm以下、または約4ppm以下、または約3ppm以下、または約2ppm以下、または約1ppm以下、または約0.5ppm以下、または約0ppm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20ppm以下、または約18ppm以下、または約16ppm以下、または約14ppm以下、または約12ppm以下、または約10ppm以下、または約9ppm以下、または約8ppm以下、または約7ppm以下、または約6ppm以下、または約5ppm以下、または約4ppm以下、または約3ppm以下、または約2ppm以下、または約1ppm以下、または約0.5ppm以下、または約0ppm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0ppm～約20ppm、または約0.5ppm～約20ppm、または0.5ppm～約15ppm、または0.5ppm～約10ppm、または約1ppm～約9ppm、または約1ppm～約7ppm、または約1ppm～約6ppm、または約1ppm～約5ppm、または約3ppm～約6ppm、または約2ppm～約8ppm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0ppm～約20ppm、または約0.5ppm～約20ppm、または0.5ppm～約15ppm、または0.5ppm～約10ppm、または約1ppm～約9ppm、または約1ppm～約7ppm、または約1ppm～約6ppm、または約1ppm～約5ppm、または約3ppm～約6ppm、または約2ppm～約8ppm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10ppm（例えば、±1ppm）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5ppm（例えば、±0.5ppm）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10ppm（例えば、±1ppm）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5ppm（例えば、±0.5ppm）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。

20

30

40

#### 【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

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。

#### 【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）、濾過されたブランチング溶液（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。

#### 【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）、濾過されたブランチング溶液（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）、濾過されたブランチング溶液（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、濾過されたブランチング溶液（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。

#### 【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

10

20

30

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。

#### 【 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。

#### 【 0060 】

##### バイオマスのブランチング

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、微小作物材料をブランチングし ( 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、ブランチングは、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、ブランチング手順を使用してもよい。ブランチングは、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、シュウ酸含量、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。

#### 【 0061 】

いくつかの実施形態によれば、ブランチングは、ブ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 ) 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、ブ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 つの表面をブ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、ブ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、ブランチング溶液の波は、ブ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、ブ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）に所定量のブランチング溶液を堆積させることが可能な任意の障害（例えば、波作用、畝、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、ブ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】

いくつかの実施形態によれば、バイオマスをブ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、バイオマスをブ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、ブランチング溶液は、 $28$ リットル/分（ $L/\text{分}$ ）のポンプ速度で輸送され、バイオマスは、 $4\text{ kg}/\text{分}$ の供給速度で輸送される。いくつかの実施形態によれば、バイオマスをブ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。

#### 【0063】

ブランチング溶液は、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、ブランチング溶液は、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、ブランチング溶液は、プロセスの別の段階からリサイクルされたもの（例えば、リサイクルされたブランチング溶液（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、ブランチング溶液は、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）を含むブランチング溶液でブランチングすると、不溶性シュ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つかの可溶性シュ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。

#### 【0064】

いくつかの実施形態において、ブランチング溶液は、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、ブランチング溶液は、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。

#### 【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（ $\text{sec}$ ）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

10

20

30

40

50

まで、ブランチングされ（例えば、ブランチング溶液と接触し、ブランチング溶液に浸漬され、ブ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、ブランチングされてもよい。ここで、「約」は、 $\pm 10\%$  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 秒間ブランチングしてもよい。

#### 【0066】

いくつかの実施形態において、ブランチング溶液は、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ブ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、ブランチング溶液は、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、ブランチング溶液は、いくつかの実施形態において、初期温度（例えば、ブ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 より高くてもよい。ブランチング溶液は、いくつかの実施形態において、最終的な接触温度（例えば、バイオマスがブランチングトレイ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、ブ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、ブランチング溶液を、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、スクリーンプレス、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、分離したブ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ブランチング溶液）。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、500 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）を約 0.5 未満、または約 0.75 未満、または約 1.0

0 未満、または約 1.25 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、 $\pm 5\%$ 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 2000  $\mu\text{S}/\text{cm}$  未満、または約 2500  $\mu\text{S}/\text{cm}$  未満、または約 3000  $\mu\text{S}/\text{cm}$  未満、または約 3500  $\mu\text{S}/\text{cm}$  未満、または約 4000  $\mu\text{S}/\text{cm}$  未満、または約 4500  $\mu\text{S}/\text{cm}$  未満、または約 5000  $\mu\text{S}/\text{cm}$  未満、または約 5500  $\mu\text{S}/\text{cm}$  未満、または約 6000  $\mu\text{S}/\text{cm}$  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、 $\pm 250 \mu\text{S}/\text{cm}$ を表していてもよい。

#### 【0070】

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、溶解した固形分、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、ブ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】

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】

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/または全固形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、合計固形物含量が 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、500 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 0.75 未満、または約 1.0 未満、または約 1.25 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、 $\pm 5\%$ 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 2000  $\mu\text{S}/\text{cm}$  未満、または約 2500  $\mu\text{S}/\text{cm}$  未満、または約 3000  $\mu\text{S}/\text{cm}$  未満、または約 3500  $\mu\text{S}/\text{cm}$  未満、または約 4000  $\mu\text{S}/\text{cm}$  未満、または約 4500  $\mu\text{S}/\text{cm}$  未満、または約 5000  $\mu\text{S}/\text{cm}$  未満、または約 5500  $\mu\text{S}/\text{cm}$  未満、または約 6000  $\mu\text{S}/\text{cm}$  未満の値になるように希釈されてもよい。ここで、約は、 $\pm 250 \mu\text{S}/\text{cm}$ を表していてもよい。

#### 【0074】

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】

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、L e m n a）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、ブ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つ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、分離したブランチング溶液を濾過し（例えば、図1Aの128、図2Aの228）、濾過したブランチング溶液（例えば、図1Aの130）とブ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。濾過したブランチング溶液を、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）、ブ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、ブランチング廃棄物（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ブ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ブランチング溶液またはさらなるブ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、ブ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、ブランチング手順は、ブランチング溶液／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。ブランチング溶液／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。

## 【 0 0 7 9 】

冷却溶液は、少なくとも約 3 0 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 1 0 分間、または少なくとも約 1 5 分間、または少なくとも約 2 0 分間、または少なくとも約 2 5 分間、または少なくとも約 3 0 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。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、スクリーンプレス、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

## 【 0 0 8 0 】

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 4 0 %、または少なくとも約 5 0 %、または少なくとも約 6 0 %、または少なくとも約 7 0 %、または少なくとも約 8 0 %、または少なくとも約 9 0 %、または少なくとも約 9 5 % 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。

## 【 0 0 8 1 】

冷却溶液は、使用時に室温より低い温度（例えば、約 1 2 ）を有していてもよい。いくつかの実施形態において、冷却溶液は、使用時に、約 5 0 未満、または約 4 0 未満、または約 3 0 未満、または約 2 0 未満、または約 1 5 未満、または約 1 0 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。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 1 0 、または約 5 ～ 約 1 5 、または約 1 0 ～ 約 2 0 、または 1 5 ～ 約 2 5 、または約 2 0 ～ 約 3 0 、または約 0 ～ 約 5 0 の間の温度を有していてもよい。

20

## 【 0 0 8 2 】

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、ブ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ブ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

## 【 0 0 8 3 】

温度の低い空気は、いくつかの実施形態において、温度が 3 0 未満、または 2 5 未満、または 2 0 未満、または 1 5 未満、または 1 0 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。

## 【 0 0 8 4 】

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 1 B の 1 1 2 ）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。

## 【 0 0 8 5 】

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

40

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、Duralex（登録商標）、Phyt-O-Blend 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、またはそ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

40

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

50

ブレードドライヤー、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 より高くてもよい。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 より高くてもよい。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 より高くてもよい。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 であってもよい。

#### 【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 未満であってもよい。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 未満であってもよい。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 未満であってもよい。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 であってもよい。

#### 【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、

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、Duralox(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、繊維、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もよい。

20

30

#### 【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。

40

#### 【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インから選択される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/g/タンパク質濃縮物(100g)であってもよい。

10

20

#### 【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)である。

30

#### 【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。

## 【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+10%
アラニン	4.8	4.8+10%
アルギニン	5.7	5.7+10%
アスパラギン酸	7.8	7.8+10%
グルタミン酸	9.4	9.4+10%
グリシン	4.1	4.1+10%
ヒスチジン	2.0	2.0+10%
イソロイシン	4.4	4.4+10%
ロイシン	7.7	7.7+10%
フェニルアラニン+チロシン	8.8	8.8+10%
プロリン	3.9	3.9+10%
セリン	3.4	3.4+10%
スレオニン	3.7	3.7+10%
リシン	6.0	6.0+10%
バリン	5.3	5.3+10%
システイン+メチオニン	2.9	2.9+10%

10

20

## 【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。

30

## 【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、無色にみえてもよく、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。

40

## 【0111】

アピオガラクトツロナンおよび/またはオリゴガラクトツロニドの含有量

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つのアピオガラクトツロナンおよび/またはオリゴガラクト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つのアピオガラクトツロニドの濃度が、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

50

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ツロナンの濃度が、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ツロナンの濃度が、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ツロナンまたは 2 種類以上（から全てまで）の存在するアピオガラクトツロナンを合わせた（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ツロナンおよび/またはオリゴガラクトツ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ツロナンおよび/またはオリゴガラクトツ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ツロナンおよび/またはオリゴガラクトツロニドのうち少なくとも 1 つの濃度を決定してもよい。

#### 【0113】

高濃度タンパク質生成物の濃度の単糖組成物は、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（HPAEC）によって決定されてもよい。例えば、HPAEC 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  $H_2SO_4$  を用いて 100 で 6 時間加水分解する、（4）室温で 26 N  $H_2SO_4$  に一晩さらした後、100 で 6 時間、2 N  $H_2SO_4$  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単糖組成は、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単糖の相対組成は、（1）生成物を加水分解して、メタオリシス（methaolysis）によって単糖を生成し；（2）単糖類をトリメチルシリル化し、揮発した単糖を生成し；（3）気相クロマトグラフィーにより揮発した単糖類を 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（ $H_2C_2O_4$  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

・ 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、シュウ酸含量が 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 のシュ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 1.5 mg / 100 g 未満、または約 1.55 mg / 100 g 未満、または約 1.6 mg / 100 g 未満、または約 1.65 mg / 100 g 未満、または約 1.7 mg / 100 g 未満、または約 1.75 mg / 100 g 未満、または約 1.8 mg / 100 g 未満、または約 1.85 mg / 100 g 未満、または約 1.9 mg / 100 g 未満、または約 2.0 mg / 100 g 未満、または約 2.2 mg / 100 g 未満、または約 2.4 mg / 100 g 未満、または約 2.6 mg / 100 g 未満、または約 2.8 mg / 100 g 未満、または約 3.0 mg / 100 g 未満、または約 3.2 mg / 100 g 未満の濃度（mg / 高濃度タンパク質生成物（100 g））で含んでいてもよい。

#### 【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。

#### 【0119】

##### 食物繊維含量

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、食物繊維含量が、少なくと

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%を表していてもよい。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1g当たり約4mlの水（ml/g）、または約4.5ml/g、または約5.0ml/g、または約6.0ml/g、または約7.0ml/g、または約7.5ml/g、または約8.0ml/g、または約8.5ml/g、または約9.0ml/g、または約9.5ml/g、または約10.0ml/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4ml/g、または少なくとも5ml/g、または少なくとも6ml/g、または少なくとも7ml/g、または少なくとも7.5ml/g、または少なくとも8ml/g、または少なくとも8.5ml/g、または少なくとも9ml/g、または少なくとも9.5ml/gであってもよい。

#### 【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1g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）を有していてもよく、または油結合能が約2.5ml/g、または約3.0ml/g、または約3.5ml/g、または約4.0ml/g、または約4.5ml/g、または約5.0ml/g、または約5.5ml/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2ml/g、または少なくとも2.5ml/g、または少なくとも3.0ml/g、または少なくとも3.5ml/g、または少なくとも4.0ml/g、または少なくとも4.5ml/g、または少なくとも5.0ml/g、または少なくとも5.5ml/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。

#### 【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

#### 【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】

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、雨水を集める、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

40

#### 【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

50

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、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、ブランチングされ（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、ブランチング手順は、ブ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、ブ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。ブランチング溶液は、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、ブランチング溶液は、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 分の使用時間でブランチングされ（例えば、ブ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、 $\pm 10\%$  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 秒間ブランチングしてもよい。

#### 【0132】

ブ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、スクリーンプレス、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 1A～1D に示すように、分離したブ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、分離したブランチング溶液を濾過し（128）、濾過したブランチング溶液 130 とブ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 1A～図 1D に示すように、濾過したブランチング溶液を、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、ブ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、ブランチング廃棄物（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

#### 【0133】

図 1B および 1D 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。

30

40

#### 【0134】

図 1A～図 1D 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 1B および図 1C 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 2A、2B、2C および 2D

図 2A、図 2B、図 2C および図 2D 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

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、ブランチングされ(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、ブランチング手順は、ブ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、ブ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。ブランチング溶液は、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、ブランチング溶液は、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分の使用時間でブランチングされ(例えば、ブ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秒間ブランチングしてもよい。

#### 【0142】

ブ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、スクリーンプレス、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、分離したブ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、分離したブランチング溶液を濾過し(228)、濾過したブランチング溶液230とブ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、濾過したブランチング溶液を、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、ブ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、ブランチング廃棄物(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

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。

#### 【0144】

図2A～2Dに示されるように、濡れたタンパク質濃縮物211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232によってさらに処理されてもよい。溶媒抽出232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、機械撹拌する、撹拌する、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（232）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（238）のために回収してもよい（234）。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（236）。

#### 【0145】

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。

#### 【0146】

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砕し（218）、タンパク質濃縮物の粉状物（220）を作成してもよい。粉砕手順は、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。

#### 【0147】

##### 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。

#### 【0148】

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、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、食物繊維源、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

20

#### 【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。

#### 【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 <sup>2</sup>	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

## 【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。

30

## 【表 7】

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；バイオマスをブランチングし、濡れたタンパク質濃縮物を作成するためのブ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ブ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。

10

【表8】

表8:装置例	
栽培ユニット(例えば、102)	バイオリクター
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
ブ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、振動ブランチングトレー
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、エバポレーター
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

20

30

40

## 【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

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。

#### 【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。バイオマスにブ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の蒸留水のブ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ブ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、

10

20

30

40

50

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、1 k g のサンプルを 1 L のエタノール（溶媒溶液）と合わせ、1 0 0 の水浴中で 3 0 ～ 4 0 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。

#### 【 0 1 6 2 】

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 1 0 に要約する。

#### 【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
粗繊維	5
炭水化物	12

#### 【表 1 0】

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
食物繊維	6
炭水化物	43

#### 【 0 1 6 3 】

実施例 2：L e m n a 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、ブランチングの条件と影響

様々なブランチング条件の影響について、タンパク質濃度（D M B）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（L e m n a）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ブ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 1 k g を 3 . 5 L の蒸留水のブ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 ） 6 0 ～ 6 5 で 5 分間、（ 2 ） 6 0 ～ 6 5 で 1 0 分間、（ 3 ） 6 0 ～ 6 5 で 1 5 分間、（ 4 ） 7 0 ～ 7 5 で 5 分間、（ 5 ） 7 0 ～ 7 5 で 5 分間、（ 6 ） 7 0 ～ 7 5 で 1 0 分間、（ 7 ） 7 0 ～ 7 5 で 1 5 分間、（ 8 ） 8 0 ～ 8 5 で 5 分間、（ 9 ） 8 0 ～ 8 5 で 1 0 分間、（ 1 0 ） 8 0 ～ 8 5 で 1 5 分間を含んでいた。濡れたタンパク質濃縮物をブ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 1 1 に示す。

## 【表 1 1】

表11:高タンパク質濃縮物のタンパク質組成(%DMB)

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

## 【0 1 6 4】

実施例 3：L e m n a 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、パ  
ッチ型ブランチングの条件と影響

10

簡潔には、水および栄養素を含む成長媒体中でレムナ（L e m n a）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（W M B）で約 1 0 0 ～ 1 5 0 k g のサンプルをホッパーから取り出し、5 0 0 L の井戸水のブランチング溶液を含むタンク中、開始温度 8 5 ～ 8 8 で浸漬した。ブランチング溶液中、浮いてくる L e m n a 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撹拌した。2 分間にわたって、タンク内のブランチング溶液の温度は、7 6 ～ 7 8 に低下した。サンプルを浸漬してから 2 分後、ブランチング溶液からサンプルを取り出し、1 5 0 0 L の室温（約 2 3 ）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 3 7 ～ 3 8 に上昇した。冷却タンクから L e m n a サンプルを取り出し、排液した後、スクリープレスによって冷却溶液から分離した。脱水した L e m n a 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 1 2 0 μ m のタンパク質濃縮物の粉状物を生成した。

20

## 【0 1 6 5】

3 0 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ァイルを表 1 2 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 1 3 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 m g / 1 0 0 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 1 4 は、処理された L e m n a サンプルの栄養学的プロファイルを示す。

30

【表 1 2】

表12:高タンパク質濃縮物のアミノ酸プロファイル

アミノ酸プロファイル(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

【表 1 3】

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
食物繊維(DMB)	35-45
シュウ酸	≤1

30

【表 14】

表14. 処理された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(β-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、ブランチングされた L e m n a 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 ( L e m n a ) 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 ( W M B ) で約 1 0 0 ~ 1 5 0 k g のサンプルをホッパーから取り出し、5 0 0 L の井戸水のブランチング溶液を含むタンク中、開始温度 8 5 ~ 8 8 で浸漬した。ブランチング溶液中、浮いてくる L e m n a 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撹拌した。2 分間にわたって、タンク内のブランチング溶液の温度は、7 6 ~ 7 8 に低下した。サンプルを浸漬してから 2 分後、ブランチング溶液からサンプルを取り出し、1 5 0 0 L の室温 ( 約 2 3 ) 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 3 7 ~ 3 8 に上昇した。冷却タンクから L e m n a 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 1 0 % のブランチングした L e m n a の 0 . 5 k g W M B 部分を、1 : 5 の比率で 8 0 % ~ 9 0 % のエタノール溶液と温度 5 0 で混合した。エタノールスラリーを約 3 0 分間撹拌した。ブランチングした L e m n a サンプルからエタノール溶液を濾過により分離した。ブランチングした L e m n a サンプルを、再び、温度 5 0 で 8 0 % ~ 9 0 % エタノールの溶液と 1 : 5 の比で混合し、3 0 分間撹拌し、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、L e m n a のサンプル 1 . 5 k g をエタノール溶液でそれぞれ 3 0 分間、4 回抽出した。次いで、L e m n a 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 の部分をオーブンで乾燥させた。組成分析を行い、その結果を表 1 5 に示す。

#### 【表 1 5】

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、ブランチングし、抽出していないLemna	45. 45	7. 79	5. 2
ブランチングし、抽出されたLemna、凍結乾燥品	53. 84	1. 22	4. 75
ブランチングし、抽出されたLemna、減圧乾燥品	51. 9	<0. 1	5. 26
ブランチングし、抽出されたLemna、オーブン乾燥品	52. 57	<0. 1	5. 11

#### 【 0 1 6 7】

#### 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 L e m n a 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 ( L e m n a ) 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 ( W M B ) で約 1 0 0 ~ 1 5 0 k g のサンプルをホッパーから取り出し、5 0 0 L の井戸水のブランチング溶液を含むタンク中、開始温度 8 5 ~ 8 8 で浸漬した。ブランチング溶液中、浮いてくる L e m n a 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撹拌した。2 分間にわたって、タンク内のブランチング溶液の温度は、7 6 ~ 7 8 に低下した。サンプルを沈めてから 2 分後、ブランチング溶液からサンプルを取り出し、1 5 0 0 L の室温 ( 約 2 3 ) 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 3 7 ~ 3 8 に上昇した。冷却タンクから L e m n

a サンプルを取り出し、排液した後、スクリープレスによって冷却溶液から分離した。全固形分含量が約 10 % のブランチングした L e m n a の 0 . 5 k g W M B 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。ブランチングした L e m n a サンプルからエタノール溶液を濾過により分離した。ブランチングした L e m n a 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、L e m n a のサンプル 1 . 5 k g 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。

10

【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

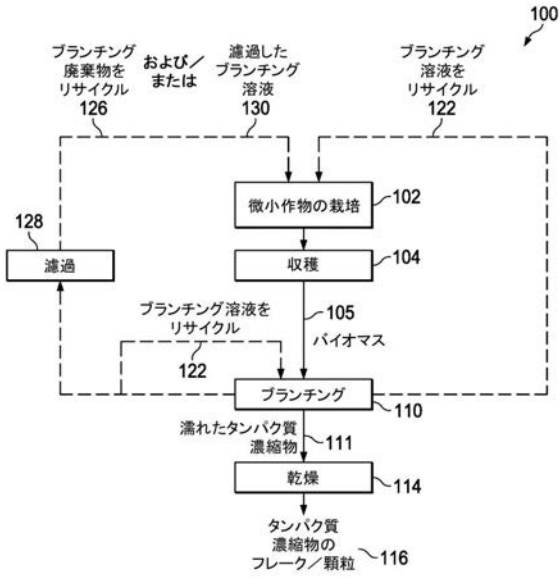
L e m n a 由来の高濃度タンパク質生成物の水結合能を決定するために、タンパク質生成物がもはや追加の水を吸収できなくなるまで高濃縮タンパク質生成物 0 . 5 g に一定量の水を加えてスラリーを作成した。スラリーを 3500 r p m で 5 分間遠心分離し、遠心分離ペレットを作成した。遠心分離ペレットを取り出し、秤量し、上清を捨てた。高濃縮タンパク質生成物の水結合能は、タンパク質濃縮物 1 グラム当たり水 7 . 91 m l であると決定された。

20

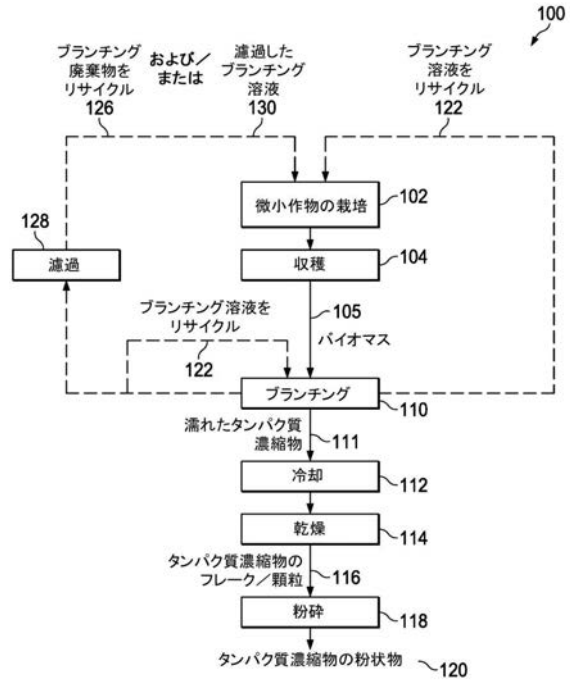
【0170】

L e m n a 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 r p m 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 m l であると決定された。

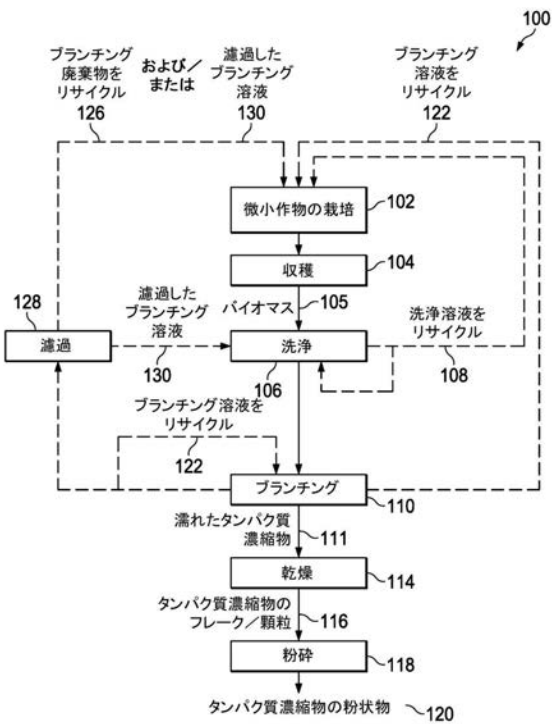
【 図 1 A 】



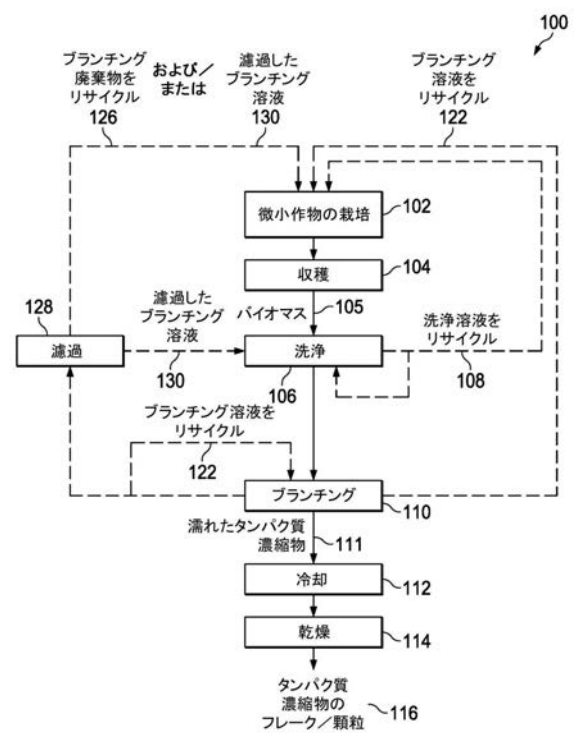
【 図 1 B 】



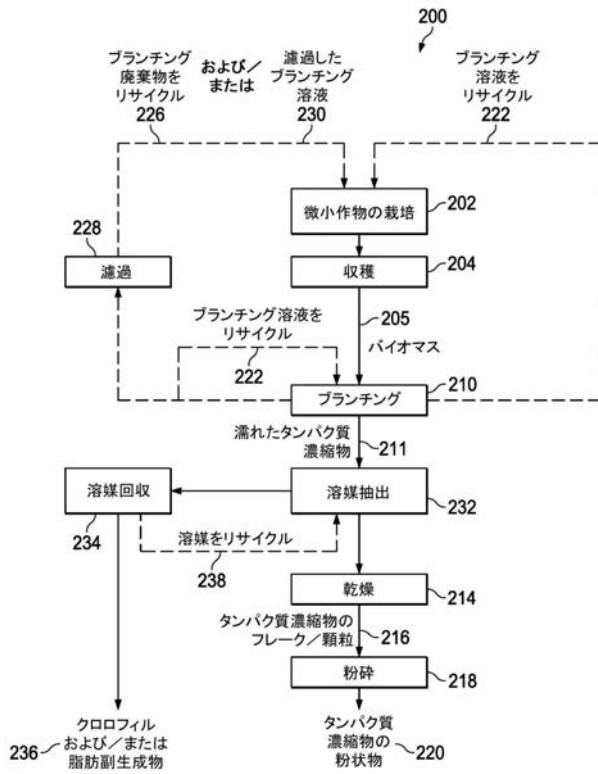
【 図 1 C 】



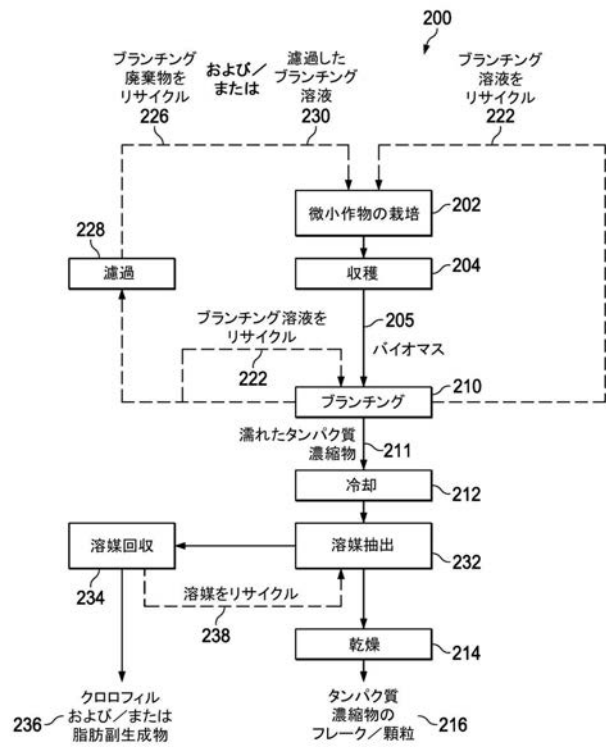
【 図 1 D 】



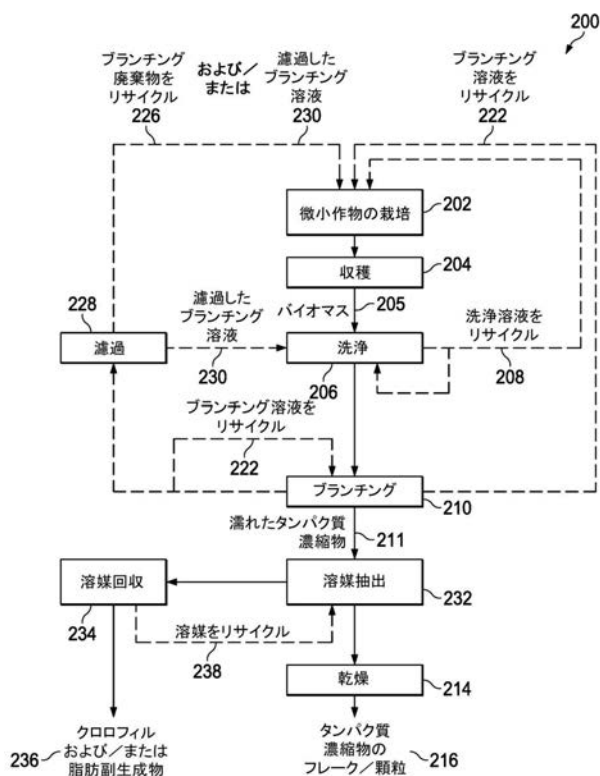
【図 2 A】



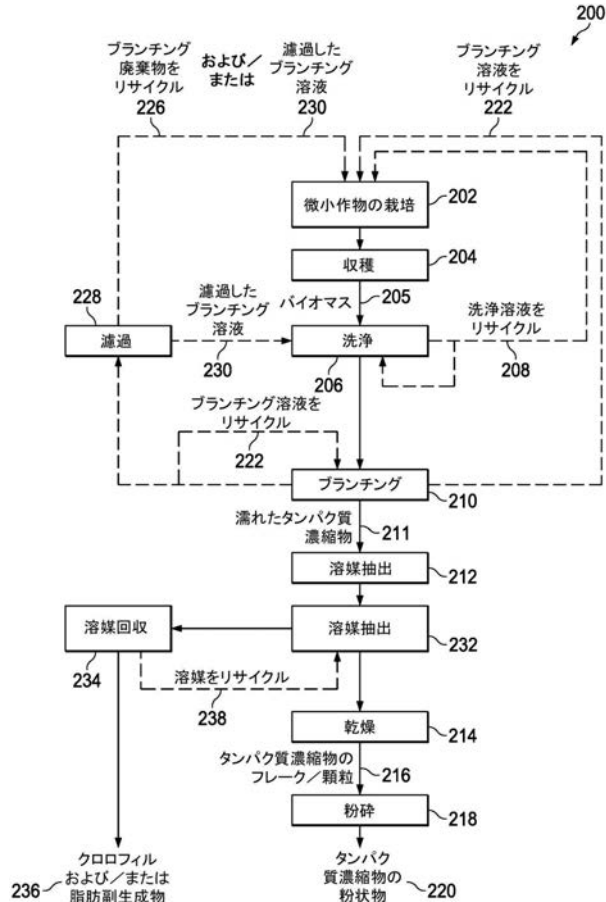
【図 2 B】





【図 2 C】



【図 2 D】



## 【 国際調査報告 】

<b>INTERNATIONAL SEARCH REPORT</b>		International application No. <b>PCT/US2016/051366</b>
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> <b>A23J 1/00(2006.01)i, C07K 1/14(2006.01)i</b>		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) 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, PDCAAS value, milling, Lemna, Wolffia		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	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 (Moringa oleifera)", 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 "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 22 December 2016 (22.12.2016)		Date of mailing of the international search report <b>22 December 2016 (22.12.2016)</b>
Name and mailing address of the ISA/KR  International Application Division Korean Intellectual Property Office 189 Cheongsu-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	22/02/2016
		AU 2011-227145 A1	08/11/2012
		AU 2011-227145 B2	13/08/2015
		CA 2793512 A1	22/09/2011
		CL 2012002563 A1	12/07/2013
		CN 103002752 A	27/03/2013
		CO 6620037 A2	15/02/2013
		EC SP12012256 A	31/01/2013
		EP 2547219 A2	23/01/2013
		IL 221933 A	24/09/2015
		JP 2013-521808 A	13/06/2013
		JP 2015-109859 A	18/06/2015
		KR 10-1336117 B1	03/12/2013
		KR 10-2012-0125525 A	15/11/2012
		MA 34159 B1	03/04/2013
		MX 2012010616 A	23/11/2012
		PE 09572013 A1	15/09/2013
		RU 2012144027 A	27/04/2014
		RU 2557429 C2	20/07/2015
		SG 184069 A1	30/10/2012
		US 2012-0110901 A1	10/05/2012
		US 2014-0221630 A1	07/08/2014
		US 8679352 B2	25/03/2014
		WO 2011-116252 A3	19/01/2012
		ZA 201207745 B	26/03/2014
US 4557937 A	10/12/1985	EP 0074897 A2	23/03/1983
		EP 0074897 A3	29/06/1983
		EP 0074897 B1	04/12/1985
		FR 2512643 A1	18/03/1983
		WO 83-00801 A1	17/03/1983
WO 2011-156662 A2	15/12/2011	KR 10-1345113 B1	26/12/2013
		KR 10-2012-0124486 A	13/11/2012
		US 2012-0009660 A1	12/01/2012
		WO 2011-156662 A3	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, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, 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, UA, UG

(72)発明者 カルピオ、ヴァレンティーナ

アメリカ合衆国 3 2 9 4 8 フロリダ、フェルスメア、コマー ストリート、ヘッドウォーターズ 7 8 9 8

(72)発明者 カサット、ギリシュ

アメリカ合衆国 3 2 9 0 1 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 1 9 0 1、スウィート 6 0 0

(72)発明者 イフェデュバ、エベネゼル

アメリカ合衆国 3 2 9 0 1 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 1 9 0 1、スウィート 6 0 0

(72)発明者 フィクタリ、ジャオウアド

アメリカ合衆国 3 2 9 0 3 フロリダ、インディアランティック、リオ プルモサ エヌ・3 0 7 0

F ターム(参考) 2B150 AB20 AE02 AE08 DD61

4B018 LB07 LB08 MD20 MD48 MF01 MF04 MF06 MF08