



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2014년09월24일

(11) 등록번호 10-1443422

(24) 등록일자 2014년09월16일

(51) 국제특허분류(Int. C1.)

C10G 11/00 (2006.01) C12P 5/00 (2006.01)

C10L 1/04 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2010-7008277

(22) 출원일자(국제) 2008년09월17일

심사청구일자 2013년09월13일

(85) 번역문제출일자 2010년04월16일

(65) 공개번호 10-2010-0084628

(43) 공개일자 2010년07월27일

(86) 국제출원번호 PCT/US2008/076716

(87) 국제공개번호 WO 2009/039201

국제공개일자 2009년03월26일

(30) 우선권주장

60/973,394 2007년09월18일 미국(US)

61/085,780 2008년08월01일 미국(US)

(56) 선행기술조사문현

US4300009 A

US4508930 A

US5186772 A

US20040074760 A1

전체 청구항 수 : 총 20 항

심사관 : 김길수

(73) 특허권자

사파이어 에너지, 임크.

미국 92121 캘리포니아주 샌 디에고 메리필드 로우 3115

더 유니버시티 오브 털사

미국 74104 오클라호마주 털사 싸우스 터커 드라이브 800

(72) 발명자

아라바니스, 알렉스

미국 92130 캘리포니아주 샌 디에고 마이코노스 레인 #127 3738

파일, 제이슨

미국 92127 캘리포니아주 샌 디에고 런 오브 더 놀스 8455

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

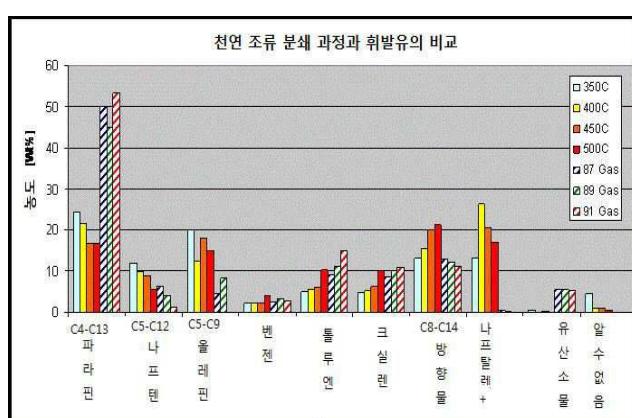
양영준, 양영환

(54) 발명의 명칭 조류로부터의 오일을 분쇄하기 위한 촉매적 분쇄 방법

### (57) 요약

본 발명은 탄수화물을 포함하는 공급원료를 경탄수화물 생산물을 포함하는 조성분으로 전환하는 방법을 개시한다. 또한, 바이오매스로부터 연료 생산물로서 적합한 테르펜을 포함하는 조성물을 생산하고 정제하는 방법을 개시한다.

대 표 도 - 도5b



(72) 발명자

프라이스, 지오프리

미국 74136 오클라호마주 텔사 싸우스 에리 애비뉴 6413

크런클레튼, 다니엘

미국 74014 오클라호마주 브로큰 애로우 싸우스 193번 이스트 애비뉴 9625

## 특허청구의 범위

### 청구항 1

조류로부터 오일을 추출하여 하나 이상의 쿠파렌, 파르네센, 파이톨 및 스쿠알렌을 포함하는 공급원료를 생산하는 단계 및 상기 공급원료를 대구경 분자 시브를 포함하는 제1 촉매 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하며, 상기 대구경 분자 시브가 12 링 제올라이트인, 조류로부터의 오일을 분쇄하기 위한 촉매적 분쇄 방법.

### 청구항 2

제 1항에 있어서, 쿠파렌, 파르네센, 파이톨 또는 스쿠알렌의 생산을 증가시키기 위해 상기 조류를 유전적으로 변형하는 것을 특징으로 하는 조류로부터의 오일을 분쇄하기 위한 촉매적 분쇄 방법.

### 청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 촉매적 분쇄 조건은 공급원료를 100-1000°C 사이의 온도에서 가열하는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 조류로부터의 오일을 분쇄하기 위한 촉매적 분쇄 방법.

### 청구항 4

제 3항에 있어서, 상기 촉매적 분쇄 조건은 공급원료를 180°C와 580°C 사이의 온도에서 가열하는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 조류로부터의 오일을 분쇄하기 위한 촉매적 분쇄 방법.

### 청구항 5

제 4항에 있어서, 상기 촉매적 분쇄 조건은 공급원료를 200°C와 400°C 사이의 온도에서 가열하는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 조류로부터의 오일을 분쇄하기 위한 촉매적 분쇄 방법.

### 청구항 6

제 5항에 있어서, 상기 촉매적 분쇄 조건은 공급원료를 350°C와 400°C 사이의 온도에서 가열하는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 조류로부터의 오일을 분쇄하기 위한 촉매적 분쇄 방법.

### 청구항 7

제 1항에 있어서, 상기 대구경 분자 시브는 6Å보다 큰 구멍 크기를 가지는 것을 특징으로 하는 조류로부터의 오일을 분쇄하기 위한 촉매적 분쇄 방법.

### 청구항 8

제 7항에 있어서, 상기 대구경 분자 시브는 10-15Å의 케이지 지름을 가지는 것을 특징으로 하는 조류로부터의 오일을 분쇄하기 위한 촉매적 분쇄 방법.

### 청구항 9

제 1항에 있어서, 상기 대구경 분자 시브는 베타, L 또는 Y 형 제올라이트인 것을 특징으로 하는 조류로부터의 오일을 분쇄하기 위한 촉매적 분쇄 방법.

### 청구항 10

제 9항에 있어서, 상기 대구경 분자 시브는 LZY-72, 발포(Valfor) CP811BL-25, ELZ-L 또는 T-4546인 것을 특징으로 하는 조류로부터의 오일을 분쇄하기 위한 촉매적 분쇄 방법.

### 청구항 11

제 1항에 있어서, 상기 제1 촉매 조성물과 다른 제2 촉매 조성물을 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 조류로부터의 오일을 분쇄하기 위한 촉매적 분쇄 방법.

### 청구항 12

조류로부터 오일을 추출하여 캐로틴을 포함하는 공급원료를 생산하는 단계 및 상기 공급원료를 대구경 분자 시브를 포함하는 제1 촉매 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하며, 상기 대구경 분자 시브가 12 링 제올라이트인, 조류로부터의 오일을 분쇄하기 위한 촉매적 분쇄 방법.

### 청구항 13

제 12항에 있어서, 상기 촉매적 분쇄 조건은 공급원료를 100-1000°C 사이의 온도에서 가열하는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 조류로부터의 오일을 분쇄하기 위한 촉매적 분쇄 방법.

### 청구항 14

제 13항에 있어서, 상기 촉매적 분쇄 조건은 공급원료를 180°C와 580°C 사이의 온도에서 가열하는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 조류로부터의 오일을 분쇄하기 위한 촉매적 분쇄 방법.

### 청구항 15

제 14항에 있어서, 상기 촉매적 분쇄 조건은 공급원료를 200°C와 400°C 사이의 온도에서 가열하는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 조류로부터의 오일을 분쇄하기 위한 촉매적 분쇄 방법.

### 청구항 16

제 15항에 있어서, 상기 촉매적 분쇄 조건은 공급원료를 350°C와 400°C 사이의 온도에서 가열하는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 조류로부터의 오일을 분쇄하기 위한 촉매적 분쇄 방법.

### 청구항 17

제 12항에 있어서, 상기 대구경 분자 시브는 6Å보다 큰 구멍 크기를 가지는 것을 특징으로 하는 조류로부터의 오일을 분쇄하기 위한 촉매적 분쇄 방법.

### 청구항 18

제 17항에 있어서, 상기 대구경 분자 시브는 10-15Å의 케이지 지름을 가지는 것을 특징으로 하는 조류로부터의 오일을 분쇄하기 위한 촉매적 분쇄 방법.

### 청구항 19

제 12항에 있어서, 상기 대구경 분자 시브는 베타, L 또는 Y 형 제올라이트인 것을 특징으로 하는 조류로부터의 오일을 분쇄하기 위한 촉매적 분쇄 방법.

### 청구항 20

제 19항에 있어서, 상기 대구경 분자 시브는 LZY-72, 발포 CP811BL-25, ELZ-L 또는 T-4546인 것을 특징으로 하는 조류로부터의 오일을 분쇄하기 위한 촉매적 분쇄 방법.

### 청구항 21

삭제

### 청구항 22

삭제

### 청구항 23

삭제

### 청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

## 명세서

### 기술분야

- [0001] 본 발명은 탄화수소 공급원료 정제 방법에 관한 것이다.
- [0002] 본 출원은 본 명세서에 참조로써 통합된 미국 예비출원 60/973,394(2007년 9월 18일 출원)과 61/085,780(2008년 8월 1일 출원)에 의한 이점을 주장한다.

### 배경기술

- [0003] 석탄, 석유 및 천연 가스와 같은 탄소 기반의 화석연료는 유한하며 재생이 불가능한 자원이다. 현재의 소비 추세라면 화석연료의 공급은 가까운 미래에 고갈되게 된다. 그동안, 화석연료의 연소로 인해 대기 중에 이산화탄소의 농도가 증가하게 되며 이는 전 세계적인 기후 변화를 야기하는 것으로 믿어지고 있다.
- [0004] 바이오 연료는 여러 가지 이유에서 가능성 있는 대안 에너지이다. 바이오 연료는 최근까지 생존한 유기체로부터 얻어지는 물질인 바이오매스로부터 생산되는 재생 가능한 에너지원이다. 바이오 연료 역시 탄소 기반이기는 하지만, 바이오 연료가 야기하는 대기 중 이산화탄소 함량의 순증가는 그리 크지 않은데, 이는 연료 소모 중 방출되는 이산화탄소가 유기체의 새로운 성장을 통해 재흡수되기 때문이다.
- [0005] 교통과 관련한 휘발유 소모가 전체 액체 화석연료 소비의 대부분을 차지하기 때문에 휘발유를 액체 바이오 연료로 보충하거나 대체함으로써 화석연료와 이산화탄소 생산에 관한 현재의 의존도를 줄일 수 있을 것으로 기대된다. 현재 사용 가능한 액체 바이오 연료는 에탄올과 지방질을 포함한다. 에탄올은 일반적으로 당분이나 전분과 같이 탄화수소가 풍부한 작물로부터 생산된다. 셀룰로즈나 다당류 탄수화물과 같은 복잡한 탄화수소도 또한 당분으로 분해될 수 있으며 이는 다시 미생물에 의해 에탄올로 전환된다. 바이오디젤로도 불리는 지방질 기반의 바이오 연료는 옥수수, 콩, 해바라기 및 수수와 같은 식물로부터 얻어지는 식물 기름이다.
- [0006] 그러나, 에탄올 및 지방질 기반의 바이오 연료를 사용함으로써 얻는 에너지의 이점은 의문시되어 왔다. 에탄올은 휘발유에 비해 에너지 함량이 적어서 같은 양의 에너지를 제공하기 위해 더 많은 에탄올을 필요로 한다. 더욱 중요한 것은, 현재 에탄올과 지방질의 생산에 화석 연료를 필요로 한다는 것이다. 예를 들어, 에탄올을 생산하기 위한 에너지 소비는 농장의 기기와 개간 도구들을 동작시키고, 작물을 수송하고 분쇄하며, 살충제와 비료를 생산하며 에탄올을 발효시키고 증류하는 것을 포함한다. 에탄올 생산에 투입되는 에너지가 에탄올을 연소시킴으로써 얻을 수 있는 에너지보다 더 많지 않은가에 대한 우려가 있어 왔다. 또, 에탄올과 바이오디젤은 종래의 연료 분배 인프라스트럭처를 이용해서 운반하는 것이 적절치 않기 때문에 이들의 광범위한 생산과 사용에 따른 새로운 분배 파이프라인의 건설을 요구한다. 또한, 에탄올이나 전통적인 바이오디젤과 같은 작물 기반 연료의 대규모 개발은 식품 생산을 위한 동일한 자원과 경합하게 되고, 궁극적으로는 경작 가능 토지의 양에 의해 제한되게 된다.

### 발명의 내용

#### 해결하려는 과제

- [0007] 따라서, 현재 바이오 연료의 단점을 극복할 뿐만 아니라 재생 가능한 에너지원으로부터 연료를 생산할 필요가 있다.

#### 과제의 해결 수단

- [0008] 본 발명은 촉매 분쇄 조건하에서 세스퀴테르펜을 포함하는 공급원료를 촉매 조성물에 접촉시키는 것을 포함하는 세스퀴테르펜을 분쇄하기 위한 촉매 분쇄 방법을 개시한다. 예를 들어, 세스퀴테르펜은 쿠파렌 또는 파르네센일 수 있다.
- [0009] 상기 방법은 50 중량% 보다 많은 톨루엔, 2 중량% 보다 적은 벤젠, 20 중량% 보다 적은 크실렌 및 30 중량% 보다 많은 사이클로헥산과 사이클로펜탄의 조합을 포함하는 혼합물을 제조하는 것을 포함할 수 있다. 다른 경우에, 상기 방법은 15 중량% 보다 많은 톨루엔과 10 중량% 보다 많은 파라핀을 포함하는 혼합물을 제조하는 것을 포함할 수 있다. 어떤 경우에, 상기 분쇄 조건은 공급원료를 350°C 보다 높은 온도로 가열하는 것을 포함하며, 상기 방법은 옥탄가가 90보다 큰 성분이 75 중량% 보다 많은 성분을 포함하는 혼합물을 제조하는 것

을 포함할 수 있다. 또한, 상기 기술된 혼합물은 약 15 중량% 내지 약 20 중량%의 톨루엔 및 약 10중량% 내지 약 15 중량%의 파라핀을 포함할 수 있다. 혼합물은 50중량% 보다 큰 방향 탄수화물을 포함할 수 있다.

[0010] 다른 측면에서, 촉매 분쇄 조건하에서 디테르펜을 포함하는 공급원료를 촉매 조성물과 접촉시키는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 디테르펜을 분쇄하기 위한 촉매 분쇄 방법이 제공된다. 어떤 경우에서, 디테르펜은 파이톨일 수 있다. 상기 방법은 55 중량%보다 많은 C5-C9 파라핀을 포함하는 혼합물을 생산하는 것을 포함할 수 있으며, 상기 파라핀은 70 중량% 보다 많은 모노메틸 파라핀을 포함한다. 어떤 경우에, 분쇄 조건은 공급원료를 350°C 보다 높은 온도로 가열하는 것을 포함하며, 상기 방법은 옥탄가가 90보다 큰 성분을 75 중량% 보다 많이 포함하는 혼합물을 생산하는 것을 포함한다. 어떤 경우에, 상기 혼합물은 40 중량% 보다 많은 메틸부탄을 포함한다. 상기 혼합물은 1 중량% 미만의 C4 파라핀을 포함할 수 있다.

[0011] 또 다른 측면에서, 촉매 분쇄 조건하에서 트리테르펜을 포함하는 공급원료를 촉매 성분에 접촉시키는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 트리테르펜 분쇄를 위한 촉매 분쇄 방법이 제공된다. 상기 트리테르펜은 스쿠알렌일 수 있다.

[0012] 또한, 촉매 분쇄 조건하에서 트리테르펜을 포함하는 공급원료를 촉매 성분에 접촉시키는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 테트라테르펜 분쇄를 위한 촉매 분쇄 방법이 제공된다. 상기 테트라테르펜은 캐로틴일 수 있다.

[0013] 한 측면에서, 촉매 분쇄 조건하에서, 최소한 3개의 테르펜을 포함하는 혼합물을 포함하는 공급원료를 촉매 성분에 접촉시키는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 최소한 3개의 테르펜을 포함하는 혼합물의 분쇄를 위한 촉매 분쇄 방법이 제공된다. 상기 최소 3개의 테르펜은 세스퀴테르펜일 수 있다. 어떤 경우에, 상기 공급원료는 생강 오일을 포함할 수 있다. 상기 방법은 15 중량% 보다 많은 나프텐, 20 중량% 보다 많은 파라핀, 5 중량% 보다 많은 크실렌 및 5 중량% 보다 많은 톨루엔을 포함하는 혼합물을 제조할 수 있다. 상기 혼합물은 또한 모노테르펜, 세스퀴테르펜, 디테르펜, 트리테르펜 및 테트라테르펜으로 구성된 군에서 선택되는 최소한 3개의 다른 크기의 테르펜을 포함할 수 있다. 이러한 방법은 조류(alga)로부터의 최소한 3개의 테르펜을 포함하는 혼합물을 추출하는 것을 더 포함할 수 있다.

[0014] 다른 측면으로, 조류로부터 오일을 분쇄하기 위한 촉매 분쇄 방법이 제공되며 상기 방법은 조류로부터 오일을 추출하여 테르펜을 포함하는 공급원료를 생산하는 단계 및 촉매 분쇄 조건하에서 테르펜을 포함하는 공급원료를 촉매 성분에 접촉시키는 단계를 포함한다. 어떤 경우에는, 상기 방법은 오일을 추출하기 이전에 조류를 유전적으로 변형하는 것을 더 포함한다. 상기 조류를 유전적으로 변형하는 방법은 조류를 유전적으로 변형시키지 않는 것에 비해 증가된 양의 테르펜을 생산할 수 있다. 어떤 경우에, 상기 방법은 공급원료를 접촉시키기 전에 조류로부터의 오일을 연료 성분과 혼합하는 것을 더 포함한다. 연료 성분은, 예를 들어, 화석 연료, 석유, 연료 혼합물, 휘발유, 디젤, 제트 연료 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 테르펜은, 예를 들어, 세스퀴테르펜, 디테르펜, 트리테르펜, 테트라테르펜, 쿠파렌, 파르네센, 파이톨, 스쿠알렌 또는 캐로틴일 수 있다.

[0015] 어떤 경우에, 촉매 분쇄 방법은 공급원료를 약 100-1000°C 사이의 온도에서 가열하는 것을 포함한다. 추가적인 경우에, 촉매 분쇄 조건은 공급원료를 약 180 과 580°C 사이, 또는 약 200 과 400°C 사이, 또는 약 350 과 400°C 사이의 온도에서 가열하는 것을 포함한다.

[0016] 어떤 경우에는, 촉매 분쇄 방법은 공급원료를 분자 시브(sieve)를 포함하는 촉매 성분과 접촉시키는 것을 포함한다. 상기 분자 시브는 6Å보다 큰 구멍 크기를 가지는 대구경 분자 시브 및/또는 10-15Å의 케이지 지름을 가지는 분자 시브일 수 있다. 어떤 경우에, 대구경 분자 시브는 베타-타입, L-타입, Y-타입, LZY-72, 발포(Valfor) CP811BL-25, ELZ-L, 또는 T-4546와 같은 12링 제올라이트일 수 있다. 다른 경우에, 분자 시브는 ZSM-5 제올라이트와 같은 10링 제올라이트이다. 어떤 경우에 촉매 성분은 둘 이상의 분자 시브를 포함한다. 예를 들어, 촉매 성분은 상기 분자 시브와 다른 크기를 가질 수 있는 제 2 분자 시브를 더 포함한다.

[0017] 한 측면에서, 트리글리세리드를 포함하는 조성물로서, 7 중량% 보다 많은 프로필렌, 50 중량% 보다 많은 경알칸 및 2 중량%보다 적은 코크를 포함하는 조성물이 제공된다. 또한, 트리글리세리드 과 25 중량% 보다 적은 파라핀 포함하는 조성물로서, 상기 파라핀은 C11-C13 파라핀을 포함하는 조성물이 제공된다. 트리글리세리드와 60 중량% 보다 많은 경알칸을 포함하는 또 다른 조성물이 제공된다. 상기 조성물은 약 15-25 중량% 사이의 디메틸사이클로헥산, 약 12-22 중량% 사이의 트리메틸사이클로펜탄 및 약 50-65 중량% 사이의 톨루엔을 포함할 수 있다. 다른 측면에서, 조성물은 진제론(zingerone), 15 중량% 보다 많은 나프텐, 20 중량% 보다 많은 파라핀, 5 중량% 보다 많은 크실렌 및 5 중량% 보다 많은 톨루엔을 포함한다.

[0018] 한 측면에서, 스쿠알렌을 포함하는 공급원료를 흐름 반응기 내에서 분쇄하는 방법, 분쇄 생산물을 중류하는 방법 및 85 내지 125의 옥탄 등급을 가지는 연료 생산물을 얻는 방법을 포함하는 정제 방법이 제공된다. 어떤 경우에, 상기 옥탄 등급은 90보다 클 수 있다.

[0019] 또한, 유전적으로 변형된 비판다발성(non-vascular) 광합성 유기체으로부터 공급원료를 얻는 단계 및 촉매 분쇄 조건에서 상기 공급원료를 촉매 조성물에 접촉시켜 연료 생산물을 제조하는 단계를 포함하며, 상기 촉매 조성물은 6Å보다 큰 구멍 사이즈를 가지는 대구경 분자 시브를 포함하는 것을 특징으로 하는 연료 생산물 제조 방법이 제공된다. 상기 분쇄는 420°C까지의 온도에서 일어날 수 있다. 상기 촉매 성분은 12 렁 제올라이트 일 수 있다. 연료 생산물은 85 와 125 사이, 또는 90 보다 큰 옥탄가를 가질 수 있다. 어떤 경우에, 상기 방법은 연료 생산물에 연료 성분을 추가하는 것을 더 포함하며 상기 연료 성분은 에탄올, 제트 연료, 디젤, 바이오디젤 또는 휘발유일 수 있다. 어떤 경우에, 상기 방법은 연료 생산물에 연료 첨가물을 추가하는 것을 더 포함할 수 있다.

[0020] 한 측면에서, 조류에서 추출한 오일과 촉매 분쇄 조성물을 포함하는 조성물이 제공된다. 또한, 테르펜과 촉매 분쇄 조성물을 포함하는 조성물로서, 상기 테르펜은 모노테르펜, 세스퀴테르펜, 다이테르펜, 트라이테르펜, 테트라테르펜, 쿠파렌, 파르네센, 스쿠알렌, 진게린(zingerene) 및 캐로틴으로 이루어지는 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 조성물이 제공된다. 본 발명에서 기술된 다른 조성물들은 생강 오일과 촉매 분쇄 조성물을 포함하는 조성물 및 파이톨과 촉매 분쇄 조성물을 포함하는 조성물을 포함한다. 상기 촉매 분쇄 조성물은 분자 시브(sieve)이다. 어떤 경우에, 분자 시브는 6Å 보다 큰 구멍 크기를 가지거나 또는 동시에 10-15Å의 케이지 지름을 가지는 대구경 분자 시브이다. 어떤 경우에, 상기 대구경 분자 시브는 베타-타입, L-타입, Y-타입, LZY-72, 발포 CP811BL-25, ELZ-L 또는 T-4546 와 같은 12 렁 제올라이트이다. 다른 경우에, 상기 분자 시브는 ZSM-5 제올라이트와 같은 10 렁 제올라이트이다.

#### 참조에 의한 통합

[0022] 본 명세서에서 언급된 모든 출판물, 특히, 특허출원은 동일한 분량으로 참조로써 본 명세서에 통합되며, 각각의 출판물, 특히, 특허출원이 본 명세서에 특정적으로 참조로써 통합된 것으로 간주한다.

### 도면의 간단한 설명

[0023] 본 발명의 많은 신규한 특징들이 첨부된 청구항들에서 특정하게 개시될 것이다. 본 발명의 예시적인 특징과 이점들은 예시적인 실시예를 개시하고 본 발명의 많은 이론들이 이용되는 하기 상세한 설명을 참조함으로써 더 잘 이해될 수 있으며 첨부된 도면에 대한 기술은 하기와 같다.

도 1a는 촉매 반응을 수행하고 생산물 분포를 평가하기 위한 펄스 반응기를 도시한다.

도 1b은 동작중인 펄스 반응기를 대략적으로 도시한다.

도 1c는 서로 다른 온도에서 얻어진 쿠파렌으로부터의 다양한 분쇄 생산물을 요약하여 도시한다.

도 2a는 SN27 촉매를 사용하는 다양한 반응 온도에서 쿠파렌의 분쇄 생산물을 도시한다.

도 2b는 LZY-72 촉매를 사용하는 다양한 반응 온도에서 쿠파렌의 분쇄 생산물을 도시한다.

도 2c, 2d 및 2e는 서로 다른 세 온도에서 LZY-72에 의해 촉매 반응한 쿠파렌의 분쇄 생성물의 정량적 양을 정리한 것이다.

도 3a는 제올라이트 베타 촉매를 사용하는 다양한 반응 온도에서 쿠파렌의 분쇄 생산물을 도시한다.

도 3b 및 3c는 서로 다른 두 온도에서 제올라이트 베타에 의해 촉매 반응한 쿠파렌의 분쇄 생성물의 정량적 양을 정리한 것이다.

도 4는 ELZ-L 제올라이트 촉매를 사용하는 다양한 반응 온도에서 쿠파렌의 분쇄 생산물을 도시한다.

도 5a는 조류에서 추출된 오일을 분쇄하기 위해 사용되는 표본적인 펄스 반응기 설정을 예시한다.

도 5b는 원래의 조류 오일을 분쇄하여 얻어지는 생산물을 도시한다.

도 5c는 정제된 조류 오일을 분쇄하여 얻어지는 생산물을 도시한다.

도 5d는 천연 조류 오일과 정제된 조류 오일을 분쇄하여 얻어지는 생산물과 87, 89 및 91 옥탄 석유 휘발유를

비교한 것을 예시한다.

도 6a는 LZY-72 제올라이트 촉매를 사용하는 다양한 반응 온도에서 파르네센의 분쇄 생산물을 도시한다.

도 6b는 파르네센 분쇄 생산물의 블렌딩 옥탄가를 도시한다.

도 7은 다양한 반응 온도에서 LZY-72 제올라이트 촉매를 사용하는 생강 필수 오일의 분쇄 생산물을 도시한다.

도 8a은 다양한 반응 온도에서 LZY-72 제올라이트 촉매를 사용하는 스쿠알렌의 분쇄 생산물을 도시한다.

도 8b는 스쿠알렌 분쇄 생산물의 블렌딩 옥탄가를 도시한다.

도 9a는 다양한 반응 온도에서 LZY-72 제올라이트 촉매를 사용하는 파이톨의 분쇄 생산물을 도시한다.

도 9b 및 9c는 파이톨 분쇄의 파라핀 생산물들의 탄소 분포와 분지 정도를 도시한다.

도 9d는 파이톨 분쇄 생산물의 블렌딩 옥탄가를 도시한다.

도 10a는 상용 휘발유 샘플의 탄수화물 성분과 비교하여 상용 및 조류 소스로부터의 파이톨 분쇄 생산물의 분쇄 생산물을 도시한다.

도 10b는 상용 휘발유 샘플에 비교하여 파이톨 분쇄 생산물의 블렌딩 옥탄가를 도시한다.

도 11a는 니켈/LZY-72 제올라이트 촉매를 사용하는 다양한 반응 온도에서 파이톨의 분쇄와 수소화(수소 분쇄) 생산물을 도시한다.

도 11b는 파이톨 수소 분쇄 생산물의 블렌딩 옥탄가를 도시한다.

도 12a는 대규모 분쇄 방법에 적합한 장치를 대략적으로 도시한다.

도 12b는 스쿠알렌의 분쇄로 얻어지는 기체와 액체 생산물의 성분을 도시한다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0024]

탄화수소 혼합물의 정제는 연료 생산물을 생산하기 위한 탄화수소 혼합물의 종류, 형태 및 크기를 최적화함으로써 수행된다. 연료 업계에서의 일반적인 정제 방법은 증류, 분류, 추출, 용매 추출, 수소처리, 이성질체화, 이분자체화, 알킬화 및 분쇄를 포함하지만 반드시 여기에 한정되지는 않는다. 분쇄 방법은 일반적으로 탄소와 탄소 간의 결합을 분리함으로써 탄화수소를 더 작은 탄화수소로 분쇄하는 것을 말한다. 이소프레노이드나 무거운 탄화수소와 같은 복잡한 유기 분자는 전구체의 탄소와 탄소 간의 결합을 제거함으로써 간단한 문자(예를 들어 가벼운 탄화수소)들로 분쇄될 수 있다. 분쇄는 보통 고온 또는 촉매, 또는 고온과 촉매의 조합을 사용하여 수행된다. 분쇄 방법의 예는 열 분쇄, 유체 촉매 분쇄, 촉매 분쇄, 증기 분쇄 및 수화분쇄를 포함하나 여기에 한정되지는 않는다.

[0025]

촉매 분쇄 방법은 일반적으로 실리카-알루미늄 촉매 또는 제올라이트와 같은 산성 촉매인 촉매의 존재 하에서의 유기 분자의 분리를 포함할 수 있다. 촉매는 결합의 비균형적(heterolytic: 비대칭적) 과정을 촉진하여 반대 전하를 가지는 이온 쌍, 일반적으로는 탄소 양이온과 매우 불안정한 수소화물 음이온을 형성한다. 탄소가 위치한 자유 라디칼(radical)과 양이온들은 모두 매우 불안정하며 연쇄 재배열 방법을 거치는데, 예를 들어 베타 위치에서의 C-C 결단과 또 분자 내부 및 분자 간 수소 전이 또는 수화물 전이가 일어난다. 두 종류의 방법 모두에서, 해당 반응 중간물(라디칼, 이온)은 영구히 재생되며, 따라서 반응은 자체 전파 체인 메커니즘에 의해 진행된다. 일련의 반응들은 다시 라디칼 또는 이온 재조합에 의해 종료되게 된다.

[0026]

한 실시예에서, 촉매 분쇄 방법과 촉매 분쇄 조건은 유기 분자를 예를 들어 제올라이트와 같은 분자 시브(sieve)에 접촉시키는 것을 포함한다. 촉매 분쇄 조건은 또한 유기 분자를 예를 들어 100-1000°C의 온도에서 가열하는 것을 포함할 수 있다. 한 실시예에서, 분쇄 조건은 공급원료를 약 100-1000°C 사이의 온도에서 가열하는 것을 포함한다. 또한, 촉매 분쇄 조건은 공급원료를 약 180-580°C 사이의 온도에서 가열하는 것을 포함한다. 다른 예에서, 촉매 분쇄 조건은 공급원료를 약 200-400°C 사이, 또는 약 350-400°C 사이의 온도에서 가열하는 것을 포함한다. 촉매 분쇄 조건은 촉매의 존재하에 공급원료를 C-C 결합 결단이 촉진되는 온도에서 가열하는 것을 포함할 수 있다.

[0027]

본 발명의 한 측면에서, 촉매 분쇄 방법은 테르펜의 분쇄에 대하여 개시되며 촉매 분쇄 조건에서 테르펜을 포함하는 공급 원료를 촉매 조성물에 접촉시키는 방법을 포함한다.

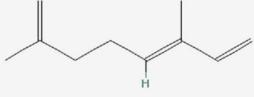
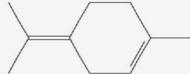
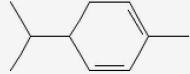
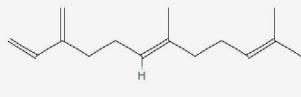
[0028] 테르펜은 대형의 변형된 종류의 탄수화물이며, 광범위한 범위의 광합성 유기체들에 의해 주로 생산된다. 테르펜이 산화 또는 탄소 공격의 재배열 등에 의해 화학적으로 변형될 때, 결과적인 화합물은 일반적으로 테르페노이드 또는 이소프레노이드로 불린다. 테르페노이드 또는 이소프레노이드는 일반적으로 헤테로 원자를 포함한다. 본 명세서에서 테르펜이라는 용어는 테르페노이드 또는 이소프레노이드를 기술하기 위해 사용될 수 있다.

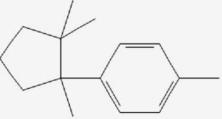
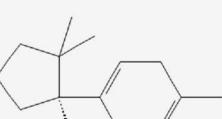
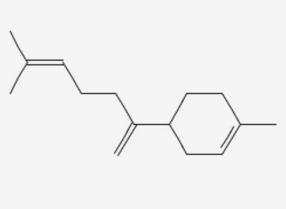
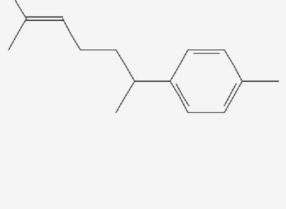
[0029] 테르펜은 많은 종류의 식물과 꽃에서 필수 오일의 주요 성분이 될 수 있다. 필수 오일은 음식의 천연 방향 첨가제, 향수의 향료 및 일반 약품 또는 방향 치료와 같은 대체 약품에 많이 이용된다. 천연 테르펜의 합성적 변형물이나 유도체 또한 향수류의 여러 아로마 종류 및 식품 첨가물의 미각 재료로 광범위하게 이용된다.

[0030] 테르펜은 생합성 탄수화물의 여러 종류로서 여러 단위의 이소프렌 (2-methyl-buta-1,3-diene)을 포함하는 5 탄소 탄수화물이다. 이소프렌 단위들은 함께 연결되어 비순환적 (분지되거나 선형으로 배열된 탄소 원자들을 포함) 또는 순환적 프레임워크를 형성할 수 있다. 이들 중에서, 헤미테르펜은 하나의 이소프렌 단위(예를 들어 이소프렌)로 구성되며, 모노테르펜은 두 개의 이소프렌 잔기로 구성되고, 예를 들어 리모닌과 미르센을 포함한다. 세스퀴테르펜은 3개의 이소프렌 잔기로 구성되며, 비순환적 세스퀴테르펜(예를 들어, 파르네센)과 순환적 세스퀴테르펜(예를 들어, 쿠파렌, 쿠루쿠멘, 징기베렌 및 비사볼렌)을 포함한다. 또, 디테르펜은 4 개의 이소프렌 잔기로 구성되며, 예를 들어, 셈브렌, 탁사디엔을 포함한다. 트리테르펜은 6 개의 이소프렌 잔기로 구성되며, 예를 들어, 스쿠알렌을 포함하고, 테트라테르펜은 8 개의 이소프렌 잔기로 구성되고, 예를 들어, 캐로틴, 비순환적 리코펜, 단순환적(monocyclic) g-캐로틴과 양순환적(bicyclic) 알파 및 베타 캐로틴을 포함한다. 이소프레노이드의 크기는 이소프레노이드 프레임워크의 전체 탄소 원자들의 개수를 의미하며, 일반적으로 5의 배수이다. 표 1은 정제를 위한 적절한 substrate 또는 공급원료인 표본적인 테르펜을 보여준다.

표 1

이름	구조	크기	CAS	MW
이소프렌		5		68.1
미르센		10		136.2

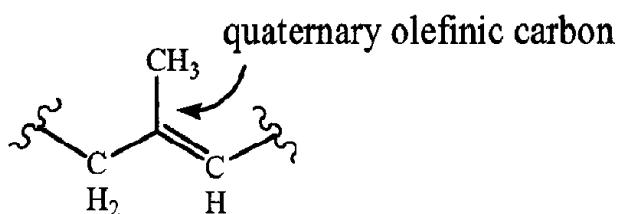
오시멘		10	13877-91-3	136.2
리모닌		10		136.2
테르피놀렌		10	586-62-9	136.2
펠란드텐		10	99-83-2	136.2
파르네센		15		204.3

쿠파렌		15		202.3
쿠프리넨		15	5046-93-5	204.4
아이소바자넨		15	88661-59-0	
세스키펠란드렌		15	20307-83-9	204.4
비사볼렌		15	495-61-4	204.3
쿠루쿠멘		15	28976-68-3	202.3

징기베렌		15	495-60-3	204.3
바르바텐		15	53060-59-6	204.3

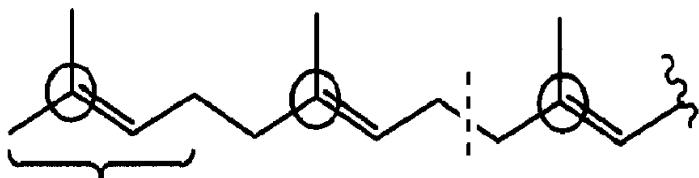
[0032] 어떤 실시예에서는, 탄수화물은 폴리엔 구조를 가진다. 본 명세서에서, "폴리엔"은 탄소 원자들이 단일 또는 이중 결합에 의해 선형으로 결합된 주 탄소 기반 주쇄를 가지는 탄수화물을 의미한다. 주 탄소 기반 주쇄는 탄수화물 구조에서 가장 긴 직선 체인을 의미하며, 최소한 두 개의 이중 결합을 포함한다. 주쇄를 이루는 하나 또는 그 이상의 탄소 원자는 알킬기 특히 메틸기로 더 치환될 수 있다. 폴리엔은 E 및 Z(각각 cis 및 trans) 기하 이성질체를 모두 나타낼 수 있다. 어떤 실시예에서, 폴리엔은 탄소 기반 백본의 하나의 단 또는 양단에 단말 순환 구조(예를 들어, 싸이클로헥세닐 또는 치환 싸이클로헥세닐을 포함한다.

[0033] 한 실시예에서, 폴리엔 구조는 최소한 하나의 "쿼터너리 올레핀 탄소"를 포함하며, 이는 폴리엔 백본의 탄소 원자 즉, C=C 결합 및 C-C 결합을 통해 두 개의 인접한 폴리엔 백본의 탄소 원자에 각각 연결되어 있는 것을 의미한다. 쿼터너리 올레핀 탄소 (quaternary olefinic carbon)는 알킬 대체기(예를 들어, 메틸)에 더 연결된다. 대표적인 쿼터너리 올레핀 탄소가 아래 도시되었다.



[0034] [0035] 쿼터너리 올레핀 탄소는 일반적으로 테르펜과 같은 이소프렌 유도체에 존재한다. 기술된 바와 같이, 이소프렌 잔기는 생체 시스템에서 일반적인 구조적 모티프(motif)이다. 캐로테노이드와 같은 이소프렌의 여러 생물학적 유도체는 다중 이소프렌 잔기의 체인에 의해 연장된 생산물이다.

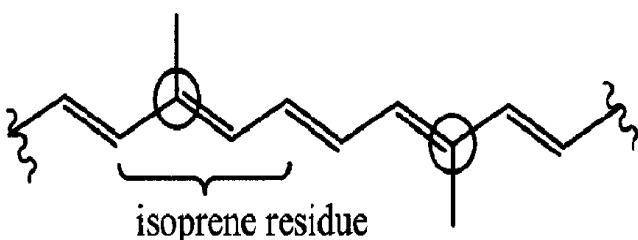
[0036] 따라서, 어떤 실시예에서, 폴리엔 체인은 이소프레노이드를 제공하기 위한 둘 또는 그 이상의 반복되는 이소프렌 잔기 (isoprene residue) 단위를 포함한다. 이소프렌 잔기의 반복되는 세 단위를 가지는 폴리엔 백본 단편의 예시적 구조가 하기에 보여지는데, 쿼터너리 올레핀 탄소가 원으로 나타내어지고 있다.



### isoprene residue

[0037]

[0038] 이소프렌 단위들이 연결되는 방식에 따라서, 폴리엔 이소프렌 잔기의 다른 배열을 포함할 수 있다. 하기와 보인 바와 같이, 폴리엔 단편은 결례(공액) 구조를 제공하기 위해 교차하는 C-C 결합과 C=C 결합을 포함한다. 표본적인 결례 백본 단편은 하기와 보여 지는데 쿼터너리 올레핀 탄소는 원으로 나타내었다.



[0039]

[0040] 한 측면에서, 세스퀴테르펜을 분쇄하기 위한 촉매 분쇄 방법이 제공되며 상기 방법은 촉매 분쇄 조건하에서 세스퀴테르펜을 포함하는 공급원료를 촉매 성분과 접촉시키는 방법을 포함한다. 세스퀴테르펜은 유기 분자 혼합물의 일부이거나 75% 보다 많은 세스퀴테르펜을 포함하는 혼합물의 일부일 수 있다. 세스퀴테르펜은 세 개의 이소프렌 단위를 포함하는 임의의 유기 분자이다. 세스퀴테르펜은 세 개의 이소프렌 단위와 C15 분자로 구성되는 테르펜의 종류이다. 모노테르펜과 마찬가지로, 세스퀴테르펜은 비순환적이거나 많은 특정한 조합을 포함하는 링을 포함할 수 있다. 산화 또는 재배열 방법과 같은 생화학적 변형은 세스퀴테르페노이드로 알려진 세스퀴테르펜을 생성할 수 있다. 본 발명의 개시를 목적으로, 세스퀴테르펜이라는 용어는 세스퀴테르페노이드 또는 산소와 같은 추가적인 분자뿐만 아니라 세 개의 이소프렌 단위를 포함하는 다른 유기 분자를 포함한다. 세스퀴테르펜은, 예를 들어, 제한없이 쿠파렌, 파르네센 및 징기베렌을 포함한다.

[0041]

세스퀴테르펜은 세스퀴테르펜 또는 세스퀴테르펜을 포함하는 혼합물을 반응기 내에서 가열함으로써 본 명세서에 기술된 방법을 이용하여 분쇄될 수 있다. 예를 들어 반응기는 제한 없이 펠스 반응기, 플리그 흐름 반응기 또는 연속 흐름 반응기일 수 있다. 촉매, 예를 들어 제올라이트 촉매는 원하는 대기 및 촉매가 얻어질 때까지 기체로써 전 처리될 수 있다. 예를 들어, 헬륨 (비활성 대기), 수소(활원성 대기) 또는 산소(산화성 대기)를 사용하여 촉매를 반응기에서 전처리할 수 있다. 촉매를 선택적으로 전처리한 후에, 반응기는 바람직한 반응 온도, 예를 들어 분쇄 조건의 온도에서 유지될 수 있다. 펠스 반응기를 이용하는 표본적인 실시예에서, 적은 양의 세스퀴테르펜이 촉매를 거쳐 반응기로 단속적으로 공급될 수 있다. 온도와 반응을 위해 사용된 촉매에 따라, 분쇄 반응으로부터 다른 생산물이 생산될 수 있다. 선택적으로, 반응이 진행된 후에, 반응 생산물들은, 예를 들어, 가스 크로마토그래피 및/또는 질량 분석법(GC/MS)으로 파악될 수 있다. 해당 분야의 숙련자에게 명백한 다른 원자의 파악 기술이 또한 사용될 수 있다.

[0042]

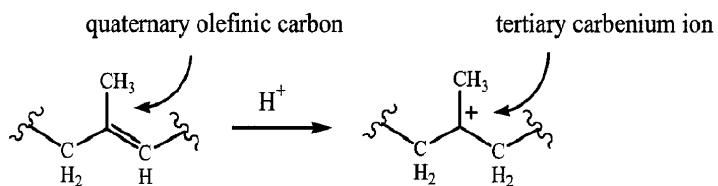
촉매 성분은, 예를 들어, 분자 시브와 같은 산성 촉매를 포함할 수 있다. 분자 시브(sieve)는 정확하고 균일한 크기의 구멍을 가지는 물질로서 기체나 액체의 흡수제로서 또는 유기 분자를 포획하는데 사용될 수 있다. 이를 구멍을 통과하기에 충분히 작은 분자들은 흡수되지만 더 큰 분자들을 흡수되지 않는다. 이는 분자적인 수준에서 동작한다는 점에서 일반적인 필터와는 다르다. 예를 들어, 물 분자는 이를 통과할 정도로 충분히 작은 반면에 대형 분자는 그렇지 않다. 한 실시예에서, 분자 시브는 제올라이트이다. 제올라이트는 소구경 구조를 가지는 수화 알루미노실리케이트 광물이다.

[0043]

제올라이트와 같은 분쇄 촉매는 일반적으로 여러개의 브뢴스테드(Brønsted) 산성 싸이트를 제공한다. 이러한 산성 조건 하에서, 바이오매스의 폴리엔의 쿼터너리 올레핀 탄소는 터셔리카르베늄 이온(식 4에 도시)으로 전환될 수 있다. 본 명세서에서 사용된 바와 같은 "터셔리카르베늄 이온"(또는 간단히 "카르베늄 이온"은 다른

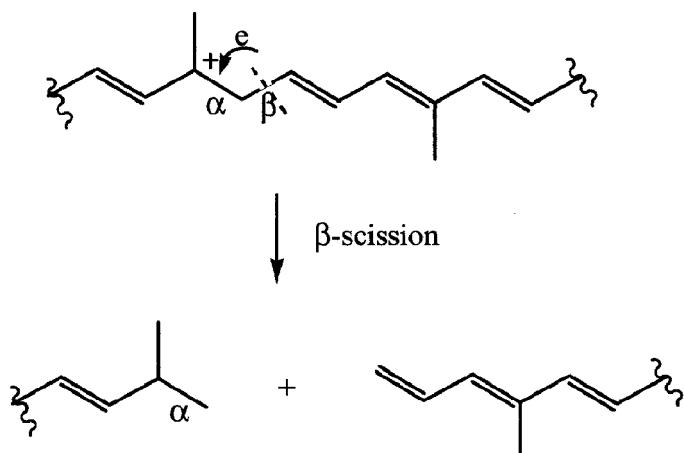
3개의 탄소들에 연결된 3가 탄소 양이온(carbocation)을 말한다.

[0044] 식 4



[0045] 터셔리 카르베늄 이온 (tertiary carbenium ion)은 탄소-탄소 결합 절단을 일으키는 반응성 중간물로 믿어지고 있다. 식 5에 보여진 바와 같이, 카르베늄 위치의 탄소-탄소 결합이 깨어짐에 따라, 결합 전자가 카르베늄 이온을 중성화시킨다.

[0047] 식 5



[0048]

[0049] 또한, 반응성 카르베늄 이온은 또한 이성질체화와 저중합체화를 야기할 수 있다. 따라서, 퀴터너리 올레핀 탄소로부터의 카르베늄 중간물질은 폴리엔 기반 공급원료를 다양한 생산물로 변환시키는데 중요한 역할을 한다.

[0050] 본 명세서에서 상세히 기술되었듯이, 제올라이트는 분쇄 방법들에 광범위하게 이용되며, 형태 선택성으로 인해 연료의 생산에 특히 유용하다(N.Y. Chen et al, Shape Selective Catalysis in Industrial Applications, Marcel Dekker, New York, 1996). 형태 선택성이란 제올라이트의 정확하게 정의된 구멍 구조에서 유래하는 제올라이트의 특성을 말하며 좁은 범위로 정의되는 분자량과 분자 구조의 생산물을 생산할 수 있다.

[0051] 일반적으로, 촉매 절단은 경올레핀 또는 경알칸을 생성하는데, 폴리엔 구조의 짧은 단편에 해당한다. 실제 절단 구조와 절단 위치에 따라, 경올레핀은 폴리엔의 짧은 비순환적 체인이나, 또는 순환 구조(예를 들어, 싸이클로헥세닐)를 포함할 수 있다. 여러 실시예들에서, 경올레핀은 3에서 15 사이, 좀더 상세하게는, 3에서 12 사이의 탄소를 포함한다.

[0052] 석유 정제 방법에서 촉매 분쇄에 적합한 어떤 촉매라도 공급원료와 조합되어 사용될 수 있다. 상용 분쇄 촉매는 산 처리된 천연 알루미노규산염(aluminosilicate), 비정질 실리카 알루미늄 합성물의 조합 및 결정질 합성 실리카 알루미늄(제올라이트)을 포함하기는 하지만, 가장 널리 사용되는 상용 액체 촉매 분쇄용 촉매는 제올라이트이다.

[0053] 제올라이트는 분자 시브(sieve)로 알려진 미세 구멍을 가지는 물질들의 분류에 속하는 알루미노 규산염이다. 분자 시브라는 용어는 이들 물질들의 특정한 성질을 말하는데, 예를 들어 주로 크기에 따라 분자를 배제하는 방법에서 분자들을 선택적으로 분류하는 능력을 말한다. 이러한 성질은 분자 수준에서 매우 균일한 구멍 구조에서 기인한다. 제올라이트의 구멍에 들어갈 수 있는 분자 또는 이온류의 최대 크기는 터널의 지름에 의해 제어된다. 1500 개 이상의 제올라이트 종류가 합성되었으며 48 개의 자연적으로 발생하는 제올라이트가 알려져 있다. 일반적으로 사용되는 제올라이트는 프로자사이트(faujasite)형 제올라이트인데, 예를 들어, X-제올라이트, Y-제올라이트, ZSM-5, 제올라이트 베타 및 제올라이트 L 등이 있다. 이러한 제올라이트 촉매와 이들의 생

산은 본 발명 분야에 능숙한 자의 지식 범위 내에 있다.

[0054] 제올라이트의 수소 형태(이온 교환으로 제조)는 강력한 고체 상태 산이며, 이성질체화, 알킬화 및 분쇄와 같은 다수의 산성 촉매 반응을 촉진할 수 있다. 좀더 상세하게는, 제올라이트는 탄수화물을 작은 공간으로 제한하여 탄수화물이 쿼터너리 올레핀 탄소로부터 카르베늄 중간 물질로 변환되는 것과 같이 그 구조 또는 반응성을 바꾸도록 한다.

[0055] 제올라이트 촉매의 구멍 크기는 촉매 반응을 역학적으로 또 화학적으로 모두 제어하는데 중요할 수 있다. 따라서, 적절한 제올라이트 촉매를 선택하는데 있어서, 분쇄되는 탄수화물을 고려할 필요가 있다. 추가적으로, 구멍 크기 또한 주어진 탄수화물 공급원료의 분쇄 방법을 선택하는데 영향을 줄 수 있다. 산성 분쇄 촉매의 다른 가능한 종류는 미네랄 산과 유기산을 포함한다.

[0056] 촉매 분쇄 동안, 탄수화물로부터의 중간 물질 양이온은 다른 분쇄 방법에 비해 반응성이 줄고 안정될 수 있다. 이에 따라 양이온들이 촉매의 능동적 위치에 축적되게 되며, 따라서 일반적으로 코크로 알려진 탄소성 물질의 증착을 일으킨다. 이러한 증착은 촉매 활성을 회복하기 위해 (예를 들어 제어된 연소에 의해) 제거될 필요가 있다.

[0057] 촉매 분쇄와 더불어, 열, 수소화 및 중기 분쇄 조건과 같은 다른 산업적 분쇄 방법이 또한 폴리엔 구조 내에서 탄소-탄소 절단을 일으킬 수 있다. 이러한 분쇄 방법들은 반드시 카르베늄 중간 물질을 포함하지는 않는다. 대신에, 탄소와 탄소간 결합 절단이 폴리엔 주쇄를 따라 무차별적으로 발생하여 경올레핀을 생산한다.

[0058] 본 명세서에서 기술된 방법은 예를 들어 세스퀴테르펜과 같은 테르펜을 제올라이트 촉매 성분과 접촉시키는 것을 포함할 수 있다. 한 실시예에서, 제올라이트는 6Å보다 작은 구경을 가지는 10 링 제올라이트이다. 10 링 제올라이트의 예로서 ZSM-5가 있다. 한 실시예에서, 제올라이트는 SN27이다.

[0059] 다른 실시예에서, 본 발명의 방법은 테르펜을 대구경 분자 시브, 예를 들어, 6Å보다 큰 구경의 분자 크기의 분자 시브에 접촉시키는 것을 포함한다. 예를 들어, 대구경 분자 시브는 10-15Å의 케이지 지름을 가진다. 대구경 분자 시브는 12 링 제올라이트 또는 12 링 제올라이트보다 큰 제올라이트일 수 있다. 한 실시예에서, 12 링 제올라이트는 베타, L 또는 Y-타입 제올라이트이다. 본 명세서에 기술된 방법에 유용한 제올라이트의 예는 LZY-72, 발포(Valfor) CP811BL-25, ELZ-L 및 T-4546를 포함하나 이에 한정되지는 않는다. 촉매 성분은 사용 전에 암모늄 교환을 통해 그의 완전한 양성자화된 형태로 변환될 수 있다. 한 실시예에서, 양성자화된 제올라이트를 Ni(II) 아세테이트 수용액과 교환하여 니켈 함유 물질이 제조될 수 있는데, 이론적으로는 20% 와 80%의 양성자가 니켈 양이온으로 대체되게 된다. 다른 실시예에서, 촉매 성분은 이온 교환되어 제올라이트의 암모늄 형태를 생성할 수 있으며, 이를 가열함으로써 암모니아를 제거하여 양성자 형태로 변환할 수 있다. 제올라이트의 양성자 형태는 촉매 반응을 위한 강력한 고체 산으로 작용한다.

[0060] 예를 들어 세스퀴테르펜과 같은 테르펜을 분쇄하기 위한 촉매 분쇄 방법은 테르펜을 촉매 성분 및 제 2 촉매 성분과 접촉시키는 것을 또한 포함할 수 있다. 제 2 촉매 성분은 제 1 촉매 성분과 같거나 다를 수 있다. 예를 들어, 12 링 제올라이트가 제 1 촉매 성분으로 이용되면, 10 링 또는 12 링 제올라이트가 제 2 촉매 성분으로 이용될 수 있다. 이는 여러 면에서 유용할 수 있으며, 예를 들어, 탄수화물들이 다른 크기를 가질 때 탄수화물의 혼합물을 분쇄하는 경우이다. 다른 예에서, 제 1 촉매와 동일한 종류 또는 크기를 가지는 제 2 촉매 성분이 남아 있는 대형 탄수화물이나 제 1 촉매 성분으로 분쇄되지 않은 공급원료를 분쇄하기 위해 사용될 수 있다.

[0061] 한 측면에서, 쿠파렌을 분쇄하기 위한 촉매 분쇄 방법이 개시된다. 쿠파렌은 세스퀴테르펜이다. 한 실시예에서, 분쇄는 쿠파렌을 포함하는 공급원료를 촉매 분쇄 조건하에서 촉매 성분과 접촉시킴으로써 수행된다. 쿠파렌은 예를 들어, 펠스 반응기 또는 연속 흐름 반응기와 같은 반응기 내에서 분쇄될 수 있다. 반응기는 반응기와 쿠파렌을 촉매 분쇄 온도, 예를 들어, 100-1000°C, 180-510°C, 200-400°C 또는 350-400°C의 온도에서 가열하는 것을 포함하는 촉매 분쇄 조건을 제공할 수 있다. 예를 들어, 쿠파렌은 촉매 성분을 포함하는 반응기를 통해 흐를 수 있으며, 이 반응기는 촉매 분쇄 조건 온도로 가열된다. 촉매 성분에 접촉되는 쿠파렌은 원래 C15 쿠파렌 분자보다 작은 탄수화물들로 분쇄된다. 촉매의 예는 SN27, ELZ-L 및 LZY-72와 같이 본 명세서에 기술된 것들을 포함한다.

[0062] 쿠파렌은 약 275°C의 끓는점을 가지며 크로마토그래피 컬럼과의 반응 후에 그 존재를 측정하기 위해서 조절 기술을 필요로 한다. 한 실시예에서, 컬럼을 조절하여 쿠파렌 분석이 부정확한 질량 분석 결과를 야기하지 않

도록 할 수 있다.

[0063] 한 실시예에서, 쿠파렌 운반 가스(예를 들어 헬륨)를 가지는 촉매 성분을 포함하는 반응기를 통해 흐르게 된다. 쿠파렌을 포함하는 공급원료는 액체 또는 기체 상태이다.

[0064] 한 실시예에서, 쿠파렌은 본 발명에서 제공된 방법에 따라 쿠파렌을 베타, L, 또는 Y-타입 제올라이트와 같은 대구경 분자 시브에 접촉시킴으로써 분쇄된다. 쿠파렌은 대형 탄수화물(C15)이기 때문에, 대구경 분자 시브는 쿠파렌 분자를 작은 탄수화물로 분쇄하는 높은 변환율을 제공할 수 있다.

[0065] 어떠한 실시예에서, 쿠파렌을 분쇄하는 방법은 50중량% 보다 큰 톨루엔, 2 중량% 보다 작은 벤젠, 20중량% 보다 작은 크실렌 및 30 중량% 보다 큰 싸이클로헥산과 싸이클로펜坦의 조합을 포함하는 혼합물을 생산한다. 다른 실시예에서, 쿠파렌 분쇄 방법은 50%, 60% 또는 70% 보다 많은 톨루엔을 포함하는 혼합물을 생산한다. 톨루엔은 높은 옥탄가를 가지는 탄수화물이며, 따라서 연료 조성물의 귀중한 성분이다. 한 실시예에서, 쿠파렌의 분쇄 생산물은 연료 생산물을 생산하기 위해 기본 연료와 블렌딩되거나 기본 연료에 첨가된다.

[0066] 다른 실시예에서, 쿠파렌을 분쇄하기 위한 방법은 휘발유 연료 생산물에 있어서 바람직하지 않은 탄수화물인 1% 미만의 알킬싸이클로펜坦 또는 알킬싸이클로헥센을 포함하는 혼합물을 생산한다. 쿠파렌을 분쇄함으로써 생산되는 혼합물은 또한 휘발유 연료 생산물 내에 1%보다 작거나 측정불가능한 양의 벤젠, 또 다른 바람직하지 않은 탄수화물을 포함할 수 있다.

[0067] 한 측면에서, 파르네센을 분쇄하기 위한 촉매 분쇄 방법이 개시된다. 파르네센은 세스퀴테르펜의 부류이며, 3 개의 이소프렌 단위를 가진다. 한 실시예에서, 파르네센은 본 명세서에 기술된 촉매 성분을 이용하여 분쇄된다. 예를 들어, 파르네센은 LZY-72와 같은 12 링 제올라이트 촉매를 이용하여 분쇄될 수 있다. 한 실시예에서, 파르네센을 포함하는 공급원료가 분쇄된다. 공급원료는 50, 60, 70, 80 또는 90 중량% 보다 많은 파르네센을 포함할 수 있다. 공급원료는 또한 비사블렌과 쿠루쿠멘과 같은 다른 분자와 탄수화물을 포함할 수 있다. 한 실시예에서, 파르네센은 약 200 내지 약 500°C 범위의 온도를 포함하는 분쇄 조건에서 분쇄된다. 예를 들어, 파르네센은 약 350°C에서 분쇄될 수 있다.

[0068] 파르네센을 분쇄하는 방법은 15 중량% 보다 많은 톨루엔과 10 중량% 보다 많은 파라핀을 포함하는 혼합물을 생산하는 것을 포함할 수 있다. 한 실시예에서, 상기 혼합물은 약 15 중량% 내지 약 20 중량%의 톨루엔과 약 10 중량% 내지 약 15 중량%의 파라핀을 포함한다. 다른 실시예에서, 혼합물은 50 중량% 보다 많은 방향 탄수화물을 포함한다. 한 실시예에서, 50, 60, 70, 75 또는 80중량%보다 큰 파르네센 분쇄로부터의 옥탄가 90을 초과하는 탄수화물을 포함할 수 있다. 혼합물은 연료 생산물로 이용되거나, 연료 생산물과 블렌딩되거나 연료 생산물을 생산하기 위해 정제될 수 있다. 연료 생산물의 고옥탄가 혼합물은 연료 생산물로 이용되거나, 예를 들어, 화석 연료 기반의 연료를 블렌딩하기 위한 연료 생산물로 이용될 수 있다.

[0069] 다른 측면에서, 본 발명에서 기술된 최소한 세 세스퀴테르펜을 포함하는 혼합물을 분쇄하기 위한 촉매 분쇄 방법은 촉매 분쇄 조건하에서 최소한 세 세스퀴테르펜을 포함하는 공급원료를 촉매 성분과 접촉시키는 것을 포함한다. 세스퀴테르펜의 혼합물은 제트 연료, 휘발유 또는 디젤과 같은 연료 생산물 또는 첨가제를 생산하기 위한 적절한 배열의 탄수화물로 분쇄될 수 있다. 또한, 세스퀴테르펜 혼합물을 분쇄함으로써, 다양한 분쇄 생산물들이 완전한 연료를 생성하도록 한다. 다른 실시예에서, 세스퀴테르펜의 한 종류의 전부 또는 대부분을 포함하는 혼합물을 분쇄하는 방법이 완전한 연료를 생성하기 위해 사용될 수 있다.

[0070] 예를 들어, 최소한 세 세스퀴테르펜을 포함하는 혼합물은 생강 오일일 수 있다. 생강 오일은 정기베렌, 베타-세스퀴펠란드렌, 비사블렌, 파르네센, 베타-펠란드렌, 시네올, 쿠루쿠멘 및 시트랄을 포함하는 분자를 포함할 수 있으나 이에 한정되지는 않는다.

[0071] 생강 오일은 이산화탄소를 첨가하여 생강 오일로부터 정제롤을 제거하는 것을 포함하는 방법으로 분쇄될 수 있다. LZY-72 와 같은 12-링 제올라이트와 같이 완전히 양성자가 가해진 촉매는 촉매 분쇄 조건하에서 분쇄 방법과 세스퀴테르펜의 탄소-탄소 결합 절단을 일으키기 위해 생강 오일을 접촉시키는데 사용될 수 있다.

[0072] 생강 오일을 분쇄하는 한 실시예에서, 방법은 15 중량% 보다 많은 나프텐, 20 중량% 보다 많은 파라핀, 5 중량% 보다 많은 크실렌, 5 중량% 보다 많은 톨루엔을 포함하는 혼합물을 생산한다. 혼합물의 많은 파라핀들은 고옥탄가를 가지는 분지된 파라핀일 수 있다. 고옥탄가의 많은 생강 오일 성분은 휘발유 또는 휘발유 첨가물과 같은 연료 생산물로서 사용될 수 있다.

[0073] 한 측면에서, 진게론, 15 중량% 보다 많은 나프텐, 20 중량% 보다 많은 파라핀, 5 중량% 보다 많은 크실렌 및 5 중량% 보다 많은 톨루엔을 포함하는 조성물이 개시된다. 진게론은 정제롤을 가열하여 생산되며 조성물 내에

검출 가능한 양으로 존재할 수 있다.

[0074] 또 다른 측면에서, 트리테르펜을 분쇄하기 위한 촉매 분쇄 방법이 개시되며, 상기 방법은 촉매 분쇄 조건하에서 트리테르펜을 포함하는 공급원료를 촉매 성분과 접촉시키는 것을 포함한다. 트리테르펜은 6 개의 이소프렌 단위를 포함하는 C30 테르펜이다. 방법에서 사용하기 위한 트리테르펜의 예는 스쿠알렌을 포함하지만 이에 한정되지는 않는다. 스쿠알렌은 원래는 주로 상어 간 오일에서 상업적으로 얻어지는 천연 유기 화합물이지만, 아마란스 씨, 쌀겨, 밀의 쌀 또는 올리브와 같은 식물에서도 또한 얻을 수 있다. 인간을 포함하는 대부분의 고등 유기체는 스쿠알렌을 생산한다. 스쿠알렌은 탄수화물 및 트리테르펜이다. 스쿠알렌은 또한 천연적으로 스쿠알렌을 생성하지 않는 유기체를 스쿠알렌을 생성하도록, 또는 천연적으로 스쿠알렌을 생성하는 유기체를 더 많은 스쿠알렌을 생성하도록 유전적으로 변형한 유기체로부터 생성될 수 있다. 예를 들어, 조류 세포가 변환되어 MVA 또는 MEP 경로를 통해 스쿠알렌을 생산하는 효소를 생산할 수 있으며, 조류 세포로부터 생산된 스쿠알렌은 본 명세서에 기술된 방법을 이용하여 분쇄될 수 있다.

[0075] 한 실시예에서, 스쿠알렌을 분쇄하는 방법은 촉매 분쇄 조건하에서 스쿠알렌을 양성자가 가해진 12 렉 제올라이트와 같은 촉매 성분에 접촉시키는 것을 포함할 수 있다.

[0076] 스쿠알렌을 분쇄하는 다른 예에서, 정제 방법은 스쿠알렌을 포함하는 공급원료를 흐름 반응기에서 분쇄하는 것, 분쇄 생산물을 증류하는 것, 및 85에서 125사이의 옥탄 등급을 가지는 연료 생산물을 얻는 것을 포함한다. 한 실시예에서, 연료 생산물의 옥탄 등급은 90보다 크다. 스쿠알렌은 본 발명의 분야에 능숙한 기술자에게 알려진 적합한 반응기에서 분쇄될 수 있다. 한 예에서, 스쿠알렌은 일련의 액체가 일정하고 프로그래밍 가능한 속도로 반응기로 흐르도록 하는 펌프를 포함하는 투브형 반응기에서 분쇄된다. 펌프는 또한 운반 가스 또는 헬륨이나 질소와 같이 반응기에 공급될 필요가 있는 기체들이 흐르도록 한다. 본 예에서, 투브형 반응기는 촉매 성분으로 채워질 수 있으며, 분쇄될 공급원료가 촉매 성분에 더해 공급된다. 반응기에서의 촉매 분쇄 조건은 예를 들어, 300-500°C 등, 사용자가 결정하는 적절한 온도로 설정될 수 있다. 분쇄에 의한 반응 생산물은 반응기의 출력부에서, 예를 들어, 응축 기구에 의해서 수집될 수 있다. 분쇄 생산물은 다시 본 명세서에 기술된 대로 파악된다. 또한, 분쇄 생산물을 더 정제하기 위해 증류와 같은 증분화가 수행될 수 있다.

[0077] 또 다른 측면에서, 본 발명은 디테르펜을 분쇄하기 위한 촉매 분쇄 방법을 개시하며, 상기 방법은 촉매 분쇄 조건하에서 공급원료를 촉매 성분을 가지는 디테르펜에 접촉시키는 것을 포함한다. 디테르펜은 4 개의 이소프렌을 포함하는 C20 테르펜이다. 한 예에서, 파이톨이 분쇄되는 공급원료에 포함될 수 있으나 이에 한정되지는 않는다. 파이톨은 엽록소의 분쇄시에 생산되는 천연 테르펜 알콜이다. 파이톨은 본 발명에 기술된 분쇄 방법으로 식물 유기체로부터 추출될 수 있다. 한 실시예에서, 유기체는 더 많은 파이톨을 생산하도록 유전적으로 변형될 수 있다. 예를 들어, 조류 세포는 더 우수한 파이톨과, 더 많은 양의 세포의 엽록소를 생산하고 또는 세포내의 엽록소 봉괴를 잘 일으키도록 유전적으로 변형될 수 있다.

[0078] 파이톨은 Y, L 또는 베타형 제올라이트와 같은 제올라이트 촉매를 사용하여 촉매적으로 분쇄될 수 있다. 한 실시예에서, 약 350°C의 온도에서 파이톨을 분쇄하여 측정 불가능하거나 1 중량% 미만의 벤젠 분쇄 생산물을 얻었다. 휘발유와 같은 연료 생산물을 생산할 때, 조절로 인한 벤젠의 생성을 억제하는 것이 바람직하다. 파이톨 분쇄 생산물의 분석은 상기에서 기술된 대로, GC/MS 등을 통해서 수행된다.

[0079] 한 실시예에서, 파이톨을 분쇄하는 방법은 55 중량% 보다 많은 C5-C9 파라핀을 포함하는 혼합물을 생산하는 것을 포함하며, 70 중량% 보다 많은 파라핀은 모노메틸 파라핀이다. 다른 실시예에서, 이 방법은 옥탄가가 90을 초과하는 성분을 75 중량% 보다 많이 포함하는 혼합물을 생산하는 것을 포함하며 이 혼합물은 40 중량% 보다 많은 메틸부탄을 더 포함할 수 있다.

[0080] 파이톨을 분쇄하는 방법은 또한 1 중량% 보다 작은 C4 파라핀을 포함하는 혼합물을 생산하는 것을 포함할 수 있다. 화석 연료 휘발유는 대조적으로 종종 5 중량% 보다 많은 C4 파라핀을 포함한다. 여름에 생산되는 화석 연료 휘발유인, C4 파라핀은 종종 저하된다. 한 실시예에서, 파이톨을 분쇄하는 방법은 오일로부터 파이톨을 추출하는 것을 더 포함할 수 있다. 예를 들어, 유기 용매를 사용하여 조류 오일로부터 파이톨을 추출할 수 있다.

[0081] 파이톨을 분쇄하는 방법은 또한 수소 분쇄 조건 하에서 파이톨을 촉매 성분과 수소 소스에 접촉시킴으로써 파이톨을 수소 분쇄하는 것을 포함할 수 있다. 예를 들어, 촉매 성분은 Ni/LZY-72와 같은 니켈 이온 교환 제올라이트 촉매를 포함할 수 있다. 수소 분쇄 조건은 100-1000°C의 온도를 포함할 수 있다. 또 다른 실시예에서, 온도는 200-500°C이다. 한 예로서, 파이톨은 수소와 함께 25μl 펄스에서 펄스 반응기를 통해 흐르게 된다.

- [0082] 한 측면에서, 테르펜과 촉매 분쇄 조성물을 포함하는 조성물이 개시된다. 상기 조성물은 본 명세서에서 기술된 방법 또는 방법을 수행하는데 이용될 수 있다. 예를 들어, 상기 조성물은 테르펜을 조성물 또는 연료 생산물로 분쇄하기 위한 반응물일 수 있다. 조성물이 반응하여 테르펜을 경탄수화물로 분쇄하도록 상기 조성물은, 예를 들어, 반응기에서의 촉매 분쇄 조건에 포함될 수 있다.
- [0083] 한 실시예에서, 테르펜은 모노테르펜, 세스퀴테르펜, 다이테르펜, 트라이테르펜, 테트라테르펜, 쿠파렌, 파르네센, 스쿠알렌, 진게린 및 캐로틴으로 이루어지는 군에서 선택된다. 테르펜은 본 명세서에서 기술된 것을 포함하여 작은 탄수화물들로의 촉매 분쇄에 적절한 어떤 테르펜도 가능하다.
- [0084] 한 측면에서, 조류(alga)에서 추출한 오일과 촉매 분쇄 조성물을 포함하는 조성물이 개시된다. 다른 측면에서, 개시된 조성물은 생강 오일과 촉매 분쇄 조성물, 파이톨과 촉매 분쇄 조성물, 또는 스쿠알렌과 촉매 분쇄 조성물을 포함한다. 표본적인 촉매 분쇄 조성물은 본 명세서에서 기술된 물질을 제한없이 포함한다. 예를 들어, 촉매 분쇄 조성물 문자 시브일 수 있다. 다른 예에서, 문자 시브는 6Å 보다 큰 구멍 크기를 가지는 대구경 문자 시브이다. 대구경 문자 시브는 10-15Å의 케이지 지름을 가지거나 12 링 제올라이트일 수 이거나 두 경우 모두일 수 있다. 대구경 문자 시브의 예는 제한없이 LZY-72, 발포 CP811BL-25, ELZ-L 또는 T-4546와 같은 베타, L 또는 Y-타입 제올라이트를 포함한다. 다른 경우에, 문자 시브는 ZSM-5 제올라이트와 같은 10 링 제올라이트일 수 있다.
- [0085] **바이오매스 공급원료**
- [0086] 한 실시예에서, 정제(예를 들어, 분쇄)와 경탄수화물 또는 재배열 탄수화물에 적절한 바이오매스 공급원료로 정제(예를 들어, 분쇄)하거나 이들을 변환하는 방법이 기술된다. 바이오매스 공급원료는 유전적으로 변형된 조류와 박테리아와 같은 생물학적 자원으로부터 추출된 것을 포함할 수 있다. 일반적으로, 오일을 분쇄하여 생산되는 경탄수화물 또는 재배열 탄수화물은 연료(예를 들어, 휘발유, 디젤 연료 또는 제트 연료), 연료 첨가제 및 플라스틱으로 더 가공되는 석유 화학 제품, 수지, 섬유, 탄성 중합체, 윤활제 및 젤 등으로 적합하다.
- [0087] 좀더 상세하게, 어떤 바이오매스 탄수화물은 공급원료로서 선택되어, 분쇄 및 변경을 포함하는 하나 또는 그 이상의 정제 방법을 거칠 수 있다. 어떤 실시예에서, 바이오매스 탄수화물은 탄소-탄소 결합의 절단을 통해 깨어지거나 분쇄되어 작은 탄수화물 분자들로 된다. 다른 실시예에서, 바이오매스 탄수화물은 변경되어(예를 들어, 알킬화, 수소화 또는 이성질체화) 분지된 탄수화물, 고온탄가를 가지는 탄수화물(예를 들어, 90 초과) 등과 같은 특정한 구조를 가지는 탄수화물을 형성한다. 이들 바이오매스 공급원료들은 종래의 석유 정제 방법을 이용할 수 있는 이점이 있으며 생산된 경탄수화물 또는 재배열 탄수화물은 기존의 석유 정제 인프라스트럭처를 통해 더 가공되거나 분배될 수 있다.
- [0088] 어떤 경우에 바이오매스 공급원료는 정제 이전에 화석 연료 또는 석유 기반의 공급원료와 블렌딩되거나 혼합된다. 예를 들어, 조류로부터 추출된 공급원료는 원유와 블렌딩된 후 촉매 성분에 접촉되어 혼합물을 촉매 분쇄할 수 있다. 중분화화 같은 다른 정제 방법이 바이오매스 공급원료가 석유 기반 공급원료와 블렌딩되거나 혼합된 후에 수행될 수 있다. 어떤 경우에, 석유 기반 공급원료는 바이오매스 공급원료와 블렌딩 되기 전에 이미 정제된다. 예를 들어, 석유 기반 공급원료는 휘발유, 디젤 또는 제트 연료일 수 있다. 다른 경우에, 석유 기반 공급원료는 연료 블렌딩을 위한 혼합물을 수 있는데, 예를 들어, 다른 탄수화물과 혼합되었을 때 적합한 연료 생산물을 생성할 수 있는 탄수화물 혼합물이 있다. 연료 블렌딩 또는 바이오매스 공급원료, 또는 둘 모두를 위한 혼합물은 정제 이전의 연료 생산물로서 적절할 수 있다. 다른 경우에, 연료 블렌딩 또는 바이오매스 공급원료, 또는 둘 모두를 위한 혼합물은 정제 이전의 연료 생산물로서 적절하지 않을 수 있다.
- [0089] 본 명세서에서, "바이오매스 탄수화물" 또는 "바이오매스 공급원료"는 최근 50년 이내에 생존하였고 주로 탄소와 수소를 포함하는 생물 유기체에서 얻을 수 있는 하나 또는 그 이상의 유기 화합물을 의미할 수 있으며, 선택적으로 산소, 질소 및 황과 같은 혼합원자를 포함할 수 있다. 6억년 전에 이르는 식물 생명체에서 유래하는 화석 기반의 원유와는 달리, 본 명세서에 기술된 탄수화물은 생존하거나 최근까지 생존하였던 유기체로부터 추출된다. 이러한 재생 가능한 생물학적 원료는 유전적으로 변형된 유기체뿐만 아니라 자연적으로 발생하는 유기체를 포함한다. 어떤 실시예에서, 이러한 유기체는 조류 또는 박테리아를 포함한다. 어떤 경우에, 바이오매스 탄수화물 약 5-80 탄소, 10-50 탄소, 10-40 탄소, 10-60 탄소, 15-40 탄소, 15-60 탄소, 20-40 탄소 등을 가진다. 다른 경우에, 탄수화물은 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 또는 40 개의 탄소를 가진다. 탄수화물 분자의 탄소는 단일, 이중 또는 삼중 탄소-탄소 공유 결합으로 연결되며, 일반적으로 선형, 분지형, 환형 또는 이들의 조합에 의한 구조를 가진다.

- [0090] 어떤 경우에, 바이오매스 탄수화물은 테르펜, 이소프레노이드, 지질, 알킬 에스테르, 알카노이드와 페닐 프로파노이드의 형태를 가진다. 테르펜은 순수한 탄수화물뿐만 아니라 혼합 원자율 포함하는 임의의 테르페노이드 또는 이소프레노이드를 의미할 수 있다. 본 명세서에서 기술된 바이오매스 탄수화물은 산업적 정제에서의 공급원료로 이용될 수 있다. 통상의 공급원료와 같이, 바이오매스 탄수화물은 분쇄되거나 변경될 수 있다. 어떤 실시예에서, 바이오매스 탄수화물은 경탄수화물로 분쇄되는데 이를 경탄수화물은 탄수화물 공급원료보다 작은 탄소를 가지는 탄수화물(본 명세서에서 정의된 대로)을 말한다. 경탄수화물은, 예를 들어, 정제된 바이오매스 공급원료 생산물일 수 있다. 일반적으로, 경탄수화물은 20 탄소 보다 적거나, 15 탄소 보다 적거나, 12 탄소 보다 적거나, 10 탄소 보다 적거나, 또는 8 탄소 보다 적은 탄소를 가질 수 있다. 경탄수화물은 순환적이거나 비순환적, 포화되거나 비포화될 수 있다. 포화된 비순환적 탄수화물은 파라핀으로도 불리운다. 포화된 순환적 탄수화물은 또한 나프тен을 말할 수 있다. 비포화 탄수화물은 또한 올레핀을 말할 수 있다. 비포화 탄수화물은 또한 방향성일 수 있다. 경탄수화물의 예는, C2-C20 올레핀, C6-C20 방향 탄수화물 (예를 들어, 벤젠, 툴루엔, 크실렌, 나프탈렌 등), C6-C20 나프тен (예를 들어, 치환 또는 비치환된 싸이클로펜탄 및 싸이클로헥산), C1-C20 파라핀 등을 포함하지만 이에 한정되지는 않는다. 종류의 범위에 따라, 경탄수화물은 휘발유 생산물, 디젤, 케로신 또는 제트 연료에 적합한 증분을 포함할 수 있다.
- [0091] 특정한 화학 구조적 특성이 분쇄 방법에 특별한 이점을 제공할 수 있다. 예를 들어, 바이오매스 탄수화물은 특정하게 치환되거나 위치되어 분쇄 조건(예를 들어, 촉매, 증기, 열 또는 수소 분쇄)에서 반응 중간 물질로 전환될 수 있는 탄소 중앙 물질을 가질 수 있다. 이를 반응 중간 물질들은 부가적인 탄소-탄소 결합 절단을 촉진하고 경탄수화물을 생산한다. 분지된 탄수화물은 탄소-탄소 절단에 특히 민감하며 이는 전기적 안정성과 원자간 가속과 같은 효과 때문으로 이를 효과는 치환된 탄소 중앙 물질과 관련된다. (예를 들어, Ruchardt C. et al. Angew. Chem. Ed. Engl. 18, 429-440 (1980) 참조)
- [0092] 다른 실시예에서, 바이오매스 공급원료는 6 개보다 적은 이소프렌 잔기를 가지는 테르펜인 저준위 이소프레노이드를 포함한다. 이를 저준위 이소프레노이드는 고온 탄소 연료 또는 연료 첨가제로서 적합한 분지된 탄수화물 구조를 생산하는데 특히 유용하다.
- [0093] 특히, 저준위 이소프레노이드는 모노테르펜(2개의 이소프렌 잔기를 가지는 C10 테르펜), 세스퀴테르펜(3개의 이소프렌 잔기를 가지는 C15 테르펜), 디테르펜 (4개의 이소프렌 잔기를 가지는 C20 테르펜) 및 트리테르펜(6개의 이소프렌 잔기를 가지는 C30 테르펜)을 포함한다. 이소프렌 잔기는 선형 또는 순환적 구성으로 배열된다. 저준위 테르펜 또는 이소프레노이드의 특정한 예는 리모닌, 쿠파렌, 미르센, 파르네센, 게라니올, 테르피네올, 파르네솔, 파이톨, 스쿠알렌 등을 포함하나 이들로 한정되지는 않는다.
- [0094] 이러한 저준위 이소프레노이드는 분지된 탄소 중앙 물질(환형 또는 비환형 탄소를 모두 포함)을 포함한다. 따라서 이들은 높은 옥탄 등급과 기타 바람직한 특성을 가지는 휘발유 범위 증분에 있는 탄수화물을 분쇄, 수소화, 이성질체화 및/또는 다른 알려진 정제 방법에 통상적으로 사용되는 방법을 통해 생산하기 위한 전구체로서 적합하다.
- [0095] 본 명세서에서, "옥탄 등급"은 고분자 C8 탄수화물인 아이소옥탄(2,2,4-트리메틸펜탄)과 직렬 체인 C7 탄수화물인 n-헵탄의 혼합물과 비교하여 스파크 점화 엔진 연료의 노킹(knocking)에 대한 저항성(anti-knock rating)을 말한다. 좀 더 상세하게, 내연 기관 엔진에서, 휘발유 혼합물과 공기는 점화 이전에 압축된다. 압축된 혼합물은 부드럽게 연소하기 보다는 조기에 점화하려는 경향을 가진다. 조기 점화(또는 자체 점화)는 노킹을 일으키며, 하나 또는 그 이상의 실린더에서 덜그럭거리거나 터지는 소리를 내게 한다. 노킹으로 인해 최고 출력의 손실이 일어난다. 일반적으로, 고도로 분지된 탄수화물이 선형 탄수화물에 비해 좋은 노킹 저항을 보인다.
- [0096] 따라서 옥탄가는 휘발유의 노킹에 대한 저항을 측정하는 정량적 양이다. 옥탄가는 휘발유의 특성을 아이소옥탄(옥탄가 100, 최소 노킹)과 헵탄(옥탄가 0, 최대 노킹)과 비교함으로써 결정된다. 일반적으로 이들 두 성분의 선형 조합이 특정 휘발유의 옥탄가를 측정하는데 사용된다. 따라서, 옥탄가가 91인 휘발유는 91% 아이소옥탄과 9%의 헵탄의 혼합물과 동일한 노킹을 나타낸다. 본 명세서에서, 고온 탄수화물은 90 이상의 옥탄가를 의미하며, 좀 더 일반적으로는, 90 이상의 옥탄가를 의미한다.
- [0097] 기본 휘발유와 블렌딩된 물질 또는 직접 사용되는 휘발유는 일반적으로 60에서 70 사이의 옥탄가를 가진다. 치환된 나프тен(예를 들어, 메틸사이클로펜탄, 메틸사이클로헥산)을 포함하는 분지된 탄수화물과 방향물은 90 보다 높은(90+) 옥탄가를 가진다. 90+ 옥탄가를 가지는 탄수화물은 옥탄가를 올리기 위한 첨가물로 사용될 수 있다. 이를 첨가물은 또한 "옥탄 부스터"로 불리운다. 일반적인 옥탄 부스터는, 예를 들어, 툴루엔(옥탄가

124)와 같은 고옥탄가의 방향 탄수화물, 에탄올(옥탄가 115) 및 메탄올 (옥탄가 113)과 같은 알코올, 및 테트라에틸 납과 같은 유기 금속 등을 포함한다.

[0098] 적절한 분쇄 조건 하에서, 저준위 이소프레노이드는 더 짧고(예를 들어, C12 미만) 분지된 탄수화물들로 쪼개질 수 있다. 고옥탄 연료로 적합한 증분은, 예를 들어, 분지된 C8 탄수화물, 환형 C5-C7 탄수화물 및 방향 탄수화물(예를 들어, 톨루엔과 크릴렌)을 포함한다. 원하는 증분은 증류에 의해 분리될 수 있다.

[0099] 다른 실시예에서, 저준위 이소프레노이드는 직접 수소화되어 분지된 알칸으로 되거나 최초 분쇄 방법 이후에 수소화될 수 있다. 특히, 비대칭 탄소 프레임워크를 가지는 분지된 알칸은 이들이 주어진 연료의 운점(cloud point)을 감소시킬 수 있기 때문에 유용한 첨가물이다. "운점"은 어떤 온도 아래에서는 연료가 고형화되거나 결정화되는 온도를 말한다. 구름과 같은 모양은 고체 입자가 형성되기 때문에 나타난다. 연료의 고형화는 일반적으로 저온에서 일어나며, 연료의 흐름 성질에 영향을 미치고, 엔진의 구멍 또는 필터에서 고체를 응축시키거나 고체의 덩어리를 만들게 한다. 일반적으로, 대칭된 탄소 프레임워크를 가지는 중탄수화물 또는 탄수화물(예를 들어, 선형 탄수화물)은 정돈되거나 결정형의 구조를 만들기 쉽다. 반대로, 비대칭적 탄소 프레임워크를 가지는 저준위 탄수화물 및/또는 분지된 탄수화물은 고형화되기 어렵다. 이에 따라, 이들은 운점을 낮추기 위해 적합한 첨가제이다.

[0100] 이소프레노이드와 달리, 다른 종류의 바이오매스 탄수화물들은 지질과 질소 함유 탄수화물을 포함한다. 지질은 일반적으로 지방산이나 이들의 유도체와 스테롤을 의미한다. 자유 지방산은 일반적으로 카르복실 산으로 종료되는 긴 탄수화물 체인을 포함한다. 탄수화물 체인은 포화 또는 불포화일 수 있으며 일반적으로 길이는 12 내지 24 탄소(예를 들어, C12-C24)이다. 지방산 유도체는 지방산의 에스테르를 포함한다. 예를 들어, 글리세리드(예를 들어, 채소 오일)는 하나 또는 그 이상의 지방산 기를 가지는 글리세롤(프로판-1,2,3-triol) 코어 구조를 소유하는 지질이다. 추가적인 지방산 유도체는 채소 오일의 에스터 교환 생산물인 알킬 에스테르를 포함한다. 일반적으로, 메탄올이 지방산의 메틸 에스테르를 생산하는데 사용될 수 있다. 알카노이드와 페닐프로마이드는 식물 유도 질소를 포함하는 탄수화물이다. 이들은 일반적으로 아미노산 유도체이며 세포 대사 경로에 기반하여 만들어 진다.

[0101] 논의된 바와 같이, 바이오매스 탄수화물은 재생 가능한 생물학적 자원에서 얻어지는데, 이들은 자연적으로 발생하는 유기체와 유전적으로 변형된 유기체를 포함한다. 탄수화물은 많은 자연 발생적 유기체(원핵 및 진핵 생물)에 존재하며, 이들은 식물체, 균류, 조류 및 박테리아 등을 포함한다. 본 명세서에서 기술된 바이오매스 탄수화물은 유기 생명체와 최근까지 생존한 유기 생명체(바이오매스) 모두로부터 얻을 수 있다.

[0102] 특히, 본 발명에서 기술된 폴리엔은 식물에서 자연적으로 발생하는 유기 색소와 조류와 같은 기타 광합성 유기체, 일부 형태의 균류 및 박테리아로서 존재한다. 알파캐로틴, 베타캐로틴 (b,b-캐로틴) 및 리코펜 (g,g-캐로틴)과 같은 캐로테노이드는 이소프레노이드로 알려져 있다.

[0103] 조류는 바이오매스의 소스로서 조류가 에너지 생산을 위해 광합성에 의존하고 고농도의 캐로틴(예를 들어, 해양 조류 *Dunaliella salina*)을 축적하기 때문에 생물학적 탄수화물 생산에 특히 유용하다. 작물과는 달리, 조류 재배는 경작지를 점유하거나 관개 시설을 필요로 하지 않는다. 또한, 조류는 다양한 유전적으로 조작되어 캐로틴의 생명학적 합성 생산을 증대시키는 미세유기체이다.

[0104] 캐로테노이드(예를 들어, 캐로틴)는 수확용 연못에서 길러진 조류에서 생산될 수 있다. 조류의 종류에 따라, 연못은 담수 또는 소금물을 포함할 수 있다. 조류는 수확되어 건조된다. 건조된 조류로부터 유기 용매를 이용하여 캐로테노이드를 추출할 수 있다. 일반적으로, 낮은 끓는점을 가지는 용매가 사용된다. 용매는 캐로틴 추출물이 농축되었을 때 예를 들어, 증류 또는 응축을 통해 재활용될 수 있다. 표본적인 용매는 헥산, 탄소 이황화물, 석유 에테르, 아세톤 및 이들의 혼합물을 포함하나 이에 한정되지는 않는다.

[0105] 한 측면에서, 조류로부터 오일을 분쇄하는 촉매 분쇄 방법에 제공되며, 이 방법은 조류로부터 오일을 추출하여 테르펜을 포함하는 공급원료를 생산하는 것, 및 촉매 분쇄 조건하에서 세스퀴테르펜을 포함하는 공급원료를 촉매성분을 가지는 세스퀴테르펜에 접촉시키는 것을 포함한다. 한 실시예에서, 조류로부터 얻어지는 오일은 테르펜, 예를 들어, 캐로테노이드와 같이 자연적으로 발생하는 테르펜을 포함한다. 다른 실시예에서, 조류로부터의 오일은 쿠파렌 또는 파르네센과 같은 세스퀴테르펜을 포함한다.

[0106] 조류 오일은 여러 가지 방법으로 방법에 제공될 수 있다. 예를 들어, 조류는 수확되어 건조된 후 용해되거나 파괴된 세포로부터 오일을 추출할 수 있다. 세포들은 화학적으로 기계적 힘을 이용하여 세포벽을 파괴할 수 있다. 오일은 헥산과 같은 유기 용매를 사용하여 조류로부터 추출될 수 있다. 조류로부터 오일을 추출하는 다

른 방법이 본 발명의 방법에서 사용될 수 있으며 이는 본 발명의 분야에 능숙한 기술자에게는 자명한 것이다.

[0107] 한 실시예에서, 조류로부터의 오일은 긴 체인 길이 C10과 조류에서 자연적으로 발생하는 것보다 큰 탄수화물과 테르펜을 포함한다. 다른 종류의 조류는 다른 탄수화물 혼합물을 가지는 오일을 생성할 수 있다. 어떤 실시예에서, 조류로부터 얻어지는 오일은 하나 또는 그 이상의 조류의 종류에서 얻어지는 오일들의 혼합물이다.

[0108] 어떤 경우에, 본 발명의 방법은 또한 조류로부터의 오일을 공급원료에 접촉시키기 이전에 연료 성분과 혼합하는 단계를 포함한다. 예를 들어, 본 발명에서 기수 돌인 방법에서 조류 오일과 원유를 블렌딩하고 촉매 성분과 접촉시키는 것이 제공된다. 또 다른 실시예에서, 조류 오일과 휘발유와 같은 정제된 연료의 혼합물이 촉매 조성물과 접촉될 수 있다. 예를 들어, 연료 성분은 화석 연료, 석유, 연료 블렌딩을 위한 혼합물, 휘발유, 디젤, 제트 연료 및 이들의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택되지만 이에 한정되지는 않는다.

[0109] 한 실시예에서, 방법은 조류를 이로부터 오일을 추출하기 전에 유전적으로 변형시키는 것을 포함한다. 예를 들어, 조류의 엽록체 또는 핵은 테르펜의 생산을 촉진시키는 효소를 생성하도록 변형될 수 있다. 테르펜은 조류에서 자연적으로 발생하거나 조류의 이종 조직으로 나타날 수 있다. 한 실시예에서, 조류는 유전적으로 변형되어 조류에서 자연적으로 발생하는 테르펜의 생산을 향상시킨다. 이러한 방식으로, 조류로부터의 오일은 더 많은 양의 테르펜을 포함하며 이들은 본 발명에 기술된 방법에서 촉매 분쇄 조건하에서 분쇄될 수 있다. 다른 실시예에서, 조류는 유전적으로 변형되어 조류에서 자연적으로 발생하지 않는 테르펜의 생산을 향상시킨다. 예를 들어, 유전자를 코딩하고 MVA 또는 MEP 경로를 통해 테르펜을 생성하는 효소는 엽록체 또는 조류의 핵에 삽입될 수 있다. 효소는 유기체에서 자연적으로 발생하지 않는 테르펜을 생성하도록 조절된다. 이러한 방법으로, 유기체는 연료 생산물의 생산에 유용할 수 있는 대형 탄수화물을 측정할 수 있는 정도의 양으로 함유하도록 조절될 수 있다. 예를 들어, 조류는 유전적으로 변형되어 유전적으로 변형되지 않은 조류와 비교하여 증가된 양의 세스퀴테르펜을 생산할 수 있다. 세스퀴테르펜을 생성하는 유전자 변환 코딩 효소는 조류로 삽입될 수 있다. 한 실시예에서, 세스퀴테르펜은 쿠파렌이다. 다른 실시예에서, 세스퀴테르펜은 파르네센이다. 또 다른 예에서, 세스퀴테르펜은 징기베렌이다. 조류는 또한 유전적으로 변형되어 임의의 크기의 테르펜, 예를 들어 모노테르펜, 디테르펜, 트리테르펜 등을 생성할 수 있다. 유전적으로 변형된 조류로부터 얻어지는 테르펜의 예는 파이톨과 스쿠알렌을 포함하나 이들에 한정되지는 않는다.

[0110] 한 측면에서, 본 발명은 조류로부터 오일을 분쇄하기 위한 촉매 분쇄 방법을 개시하며, 상기 방법은 조류로부터 오일을 추출하여 쿠파렌을 포함하는 공급원료를 형성하는 것, 및 촉매 분쇄 조건하에서 공급원료를 촉매 성분을 가지는 쿠파렌과 접촉시키는 것을 포함한다. 한 실시예에서, 상기 방법은 오일을 추출하기 이전에 조류를 유전적으로 변형시키는 것을 포함한다. 예를 들어, 조류를 유전적으로 변형하여 유전적으로 변형되지 않은 조류와 비교하여 증가된 양의 쿠파렌을 생산할 수 있다.

[0111] 조류로부터의 오일 분쇄는 본 명세서에 기술된 임의의 촉매 성분을 이용하여 수행될 수 있다. 한 실시예에서, 조류 오일은 제올라이트 베타 촉매를 이용하여 분쇄된다. 분쇄를 위한 반응기는 촉매 성분을 통해 오일이 흐르도록 펌프 또는 주사식 펌프를 이용할 수 있다. 한 실시예에서, 오일은 헬륨과 같은 운반 가스와 함께 반응기에 주입된다. 반응의 분쇄 생산물은 본 발명의 분야에서 알려진 적절한 방법으로 파악될 수 있는데, 기체 또는 액체 크로마토그래피와 질량 분석을 포함하지만 이에 한정되지는 않는다.

[0112] 한 실시예에서, 조류로부터 얻어진 원유는 분쇄 방법이 실행되기 이전에 정제될 수 있다. 예를 들어, 원래의 조류 오일은 RBD(정제, 표백, 방향: refining bleaching deodorizing) 방법을 거칠 수 있다. 다른 예에서, 원래 조류 오일은 중류 등에 의해 바람직한 성분으로 중분화될 수 있다. 중분화는 사용자에 의해 사전 결정되거나, 원래의 조류 오일을 원하는 크기, 성분 또는 모양의 탄수화물 성분들로 중분화 되도록 설정될 수 있다.

[0113] 한 측면에서, 기술된 조성물은 트리글리세리드와 25 중량% 보다 작은 파라핀을 포함하며, 상기 파라핀은 C11-C13 파라핀을 포함한다. 조류 효소 또는 이들의 파편은 조성물 내에 추적할 수 있는 정도로, 또는 상당한 양으로 존재할 수 있다. 상기 조성물은 제트 연료, 휘발유 또는 디젤과 같은 연료 생산물과 유사할 수 있다. 한 실시예에서, 조성물은 조류로부터의 오일을 분쇄하는 것을 포함하는 방법을 수행함으로써 유도된다. 한 실시예에서, 조성물은 화석 연료 기반 휘발유보다 적은 파라핀을 포함한다. 조성물은 또한 화석 연료 기반의 휘발유, 예를 들어 C11 내지 C13 파라핀에 존재하는 큰 크기의 파라핀을 포함할 수 있다.

[0114] 한 측면에서, 본 발명은 트리글리세리드과 60 중량% 보다 많은 경알칸을 포함하는 조성물을 개시한다. 한 실시예에서, 경알칸은 휘발유 증분을 포함한다. 예를 들어, 경알칸은 225°C 보다 낮은 끓는점을 가지는 탄수화물일 수 있다. 한 실시예에서, 조성물은 조류로부터 오일을 분쇄하는 것을 포함하는 방법을 수행함으로써 유도된다. 다른 실시예에서, 조성물은 약 15-25 중량%의 디메틸사이클로헥산과 약 12-22 중량%의 트리메틸사이

클로펜탄 및 약 50-65 중량%의 톨루엔을 더 포함한다.

[0115] 한 측면에서, 트리글리세리드를 포함하는 조성물이 개시되며, 상기 조성물은 7 중량% 보다 많은 프로필렌, 50 중량% 보다 많은 경알칸 및 2 중량% 보다 적은 코크를 포함한다. 조성물은 분쇄 방법으로부터 생성될 수 있으며, 이에 의해 테르펜을 포함하는 바이오매스 물질이 분쇄된다. 예를 들어, 상기 기술된 흐름 반응기가 조성물을 생성하는 방법을 수행하는데 사용될 수 있다. 트리글리세리드는 광합성 유기체에 존재하며 지방산을 포함한다.

[0116] 바이오매스 공급원료는 실험실 수준뿐만 아니라 산업적 규모의 정제 방법에서도 적절하다. 종래에는, 정제 방법에서 광범위한 범위의 탄수화물을 포함하는 원유를 유용한 물질들의 증분들, 일반적으로 특정한 길이와 구조의 특성을 가지는 탄수화물로 변환시켰다. 이들 증분들은 직접 종류에 의해, 또는 좀더 효율적으로는 더 긴 탄수화물을 짧은 탄수화물로 분쇄하여 얻어진다. 원유를 물리적으로 변형시키는 것에 더하여, 일부 정제 방법은 또한 분쇄된 탄수화물을 좀더 바람직한 구조로 변형시킬 수 있다. 예를 들어, 알킬화 방법은 고온 연료 또는 연료 첨가제로서 적합한 고도로 분지된 탄수화물을 제공할 수 있다.(예를 들어, Petroleum Refining Technology and Economics, Gary J. et al., Taylor & Francis Group (제 5판)을 참조).

[0117] 바이오매스 공급원료는 원유와 유사한 방식으로 정제될 수 있다. 따라서, 본 발명의 일부 실시예는 바이오매스 공급원료를 하나 또는 그 이상의 경탄수화물로 전환하는 방법을 포함한다. 바람직한 경탄수화물 증분의 상세 규격에 따라서, 특정한 구조적 특성을 가지는 생물학적 탄수화물을 선택하여 합리적인 디자인과 생합성적 경로의 조작을 통해 천연적인 소스나 유전적으로 변형된 유기체로부터 획득하는 것이 유리할 수 있다. 예를 들어, 고온 휘발유 생산물들은 일반적으로 약 3 내지 12 탄소를 포함하며 탄소 골격 분지 (예를 들어, 분지된 탄수화물), 나펜(naphenic)적 특성(예를 들어, 환현 비방향성 구조) 또는 방향성 특성과 같은 구조적 성질에 의해 제공되는 선형 파라핀에 비해 좀더 컴팩트한 분자들이다. 이러한 상세 규격에 따라, 적절한 탄소 골격 성질을 가지는 생물학적 탄수화물(예를 들어, 캐로테노이드)이 선택되어, 예를 들어, 촉매 분쇄 등을 통해 바람직한 증분을 생산할 수 있다.

[0118] 일반적으로, 정제 방법은 이성질체화, 변경 또는 수소화 분쇄와 같은 화학적 변환과 더불어 분쇄 방법(예를 들어, 촉매 분쇄, 열 분쇄, 증기 분쇄 및 수소 분쇄)을 포함할 수 있다.

[0119] 한 실시예는 촉매 분쇄 방법에 적합하며, 바이오매스 공급원료와 분쇄 촉매를 포함하는 조성물을 제공한다. 특정 실시예에서, 바이오매스 공급원료는 폴리엔 체인 구조를 가지는 최소한 하나의 탄수화물을 포함하며, 이러한 폴리엔 체인 구조는 하나 또는 그 이상의 쿼터너리 올레핀 탄소를 포함한다.

[0120] 액체 촉매 분쇄(FCC)는 중탄수화물을 더 가치있는 휘발유와 가벼운 생산물로 전환하기 위한 정제 방법에서 가장 광범위하게 사용되는 방법의 하나이다. 도 1은 바이오매스 공급원료를 분쇄하기 위한 표준적인 FCC 방법을 개략적으로 도시한다. 공급원료는 가열되어 "라이저"(수직 또는 윗 방향으로 향하는 파이프)의 기저로 분사되는데, 이러한 사전 가열된 공급원료는 약 1230 내지 1400°F(665 내지 760°C)의 온도에서 액체화된 제올라이트 촉매를 포함한다. 뜨거운 촉매는 공급원료를 증발시키고 분쇄 반응의 촉매로 작용하여 고분자량 탄수화물을 액화석유가스(C3-C4 올레핀과 같은 액화 석유 가스)와 환형 및 비환형 탄수화물(C5-C12)을 포함하는 가벼운 성분으로 변환시킨다. 촉매-탄수화물 혼합물은 라이저를 통해 단지 수 초 동안 위쪽으로 흐르며, 그 후 혼합물이 싸이클론에 의해 분리된다. 촉매를 지니지 않는 탄수화물은 무거운 연료로부터 짧은 탄수화물 생산물(예를 들어, C3-C12 탄수화물)을 분리하기 위해 증분기로 향해지게 된다. 짧은 탄수화물은 많은 경우 휘발유 생산물로 적합하며, 무거운 연료보다 휘발성이 강하다. 증연료는 200°C에서 350°C 사이의 온도와 대기압에서 부분적으로 증류되는 디젤과 제트 연료를 포함한다.

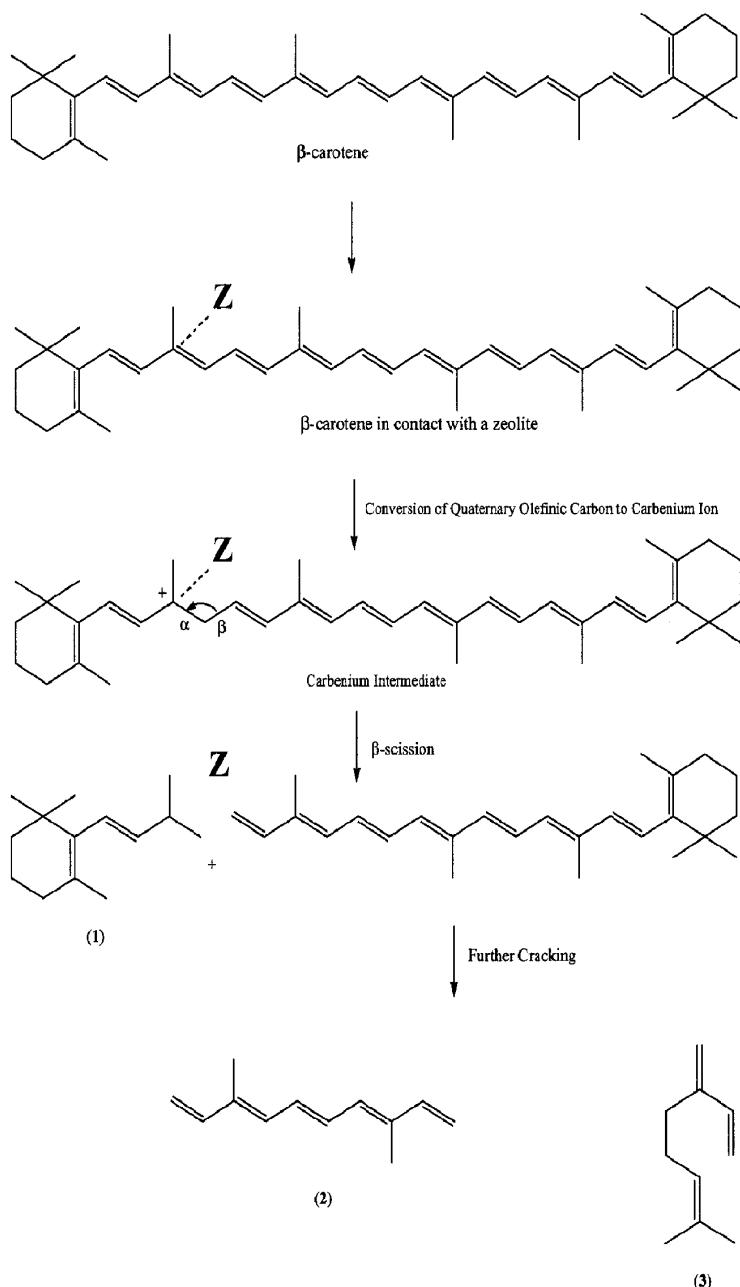
[0121] 라이저를 통해 움직이는 동안, 분쇄 촉매는 촉매에 코크를 증착시키는 반응에 의해 "소비"되며 활동성과 선택성이 크게 저하된다. 코크 형성 방법은 휘발유에 더 적합한 범위의 기체 생산물의 H/C (수소 대 탄소) 비율을 증가시키기 때문에 전체 방법에서 중요하다. "소비"된 촉매는 분쇄된 탄수화물 증기로부터 수거되어 스트리퍼(미도시)로 보내지며 여기서 증기와 접촉하여 촉매 구멍에 남아 있는 탄수화물들이 제거된다. "소비"된 촉매는 액체화된 베드 재생기로 흐르게 되며 여기에서 공기(또는 경우에 따라서는 산소가 첨가된 공기)를 사용하여 코크를 불어서 제거하여 촉매 활성을 회복하고 또한 이후 반응 싸이클에 필요한 열을 공급한다. "재생"된 촉매는 다시 라이저의 기저로 흘러서 싸이클을 반복한다.

[0122] 일부 실시예에서 탄소를 제거하거나 H/C 비율을 증가시키지 않고 생성물의 전체적 분자량을 감소시키기 위한 주된 목적으로 완화된 조건이 사용되기는 하였지만, 비슷한 종류의 분쇄 방법 또한 생물학적으로 유도된 공급 원료에 대하여 보여질 수 있다.

- [0123] 한 실시예에서, 바이오매스 공급원료는 최소한 하나의 탄수화물 화합물을 포함한다. 어떤 실시예에서, 촉매가 생물학적으로 유도된 공급원료에 작용함으로써 카르베늄 이온이 형성되는데, 이는 카르베늄 이온의 베타 위치에서 탄소-탄소 결합 절단(예를 들어, 베타 절단)을 유도하는 것으로 믿어진다. 다른 실시예에서, 알콕사이드 종류의 중간 물질이 쿼터너리 올레핀 탄소에 형성되는데, 이로 인해 베타 절단이 일어나게 된다.
- [0124] 본 발명의 또 다른 실시예는 바이오매스 공급원료를 촉매 분쇄 조건 하에서 분쇄 촉매에 접촉시키는 것을 포함하는 탄수화물 분쇄 방법을 제공하며, 상기 바이오매스 공급원료는 폴리엔 구조를 가지는 최소한 하나의 탄수화물을 포함하며, 상기 폴리엔 구조는 하나 또는 그 이상의 쿼터너리 올레핀 탄소를 포함한다.
- [0125] 식 6은 생물 소스로부터의 베타-캐로틴 ( $3, 7, 12, 16$ -테트라메틸- $1, 18$ -bis ( $2, 6, 6$ -트리메틸- $1$ -싸이클로헥세닐)-옥타데카- $1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17$ -노넨)의 분쇄를 예시한다. 예시된 바와 같이, 베타-캐로틴은 제올라이트 촉매(Z)와 접촉하게 되며, 이에 의해 쿼터너리 올레핀 탄소는 카르베늄 이온으로 전환된다. 카르베늄 중간 물질은 카르베늄 이온의 베타 위치에서 C-C 결합 파괴를 거치게 된다. 경올레핀(1), 3-메틸- $1$ -bis( $2, 6, 6$ -트리메틸- $1$ -싸이클로헥세닐)- $1$ -부텐이 생산된다. 추가적인 분쇄에 의해 경올레핀(2), 3,8-디메틸- $1, 3, 5, 7, 9$ -펜타데센이 생산되며, 이후 분쇄 방법을 더 거칠 수 있다. 다른 경테르펜, 예를 들어, 미르센과 같은 모노테르펜(3)도 분쇄 및 발생 가능한 재배열에 의해 생산될 수 있다.

[0126]

식 6



[0127]

[0128]

생산된 경올레핀은 혼합하거나 재형성을 통해 직접 연료 첨가제로 사용될 수 있다. 이들은 추가적으로 처리되어 (예를 들어, 수소화) 다수의 휘발유 생산물을 생산할 수 있다. 경올레핀은 석유 화학적 방법에서 직접 이용될 수 있다.

[0129]

또 다른 실시예에서, 바이오매스 공급원료는 최소 하나의 모노테르펜과 세스퀴테르펜과 같은 저준위 이소프레노이드를 포함한다.

[0130]

다른 실시예에서, 바이오매스 공급원료는 경알칸을 생산하기 위해 수소 분쇄 방법을 거치게 된다. 수화 분쇄 방법은 촉매 분쇄 방법과 수소화 방법을 결합하여 짧은 포화 알칸을 생성한다. 일반적으로, 분쇄 방법은 수소 가스의 분압이 증가된 상태에서 일어난다. 수소 분쇄는 보통은 이중 기능 촉매에 의해 이루어지는데 이 촉매는 나프텐과 알칸을 생산하기 위해 방향물과 올레핀에 수소를 첨가할 뿐만 아니라 탄수화물 체인을 재배열하거나 끊을 수도 있다.

[0131]

다른 실시예에서, 바이오매스 공급원료는 가벼운 올레핀을 생산하기 위한 열분쇄를 거친다. 열분쇄는 증가된 온도(약 800°C)와 압력(약 700kPa)에서 수행된다. 열에너지에는 일반적으로 탄소-탄소 결합의 호모리티(homolytic) 분열을 야기하고 작은 올레핀을 생산한다. 호모리티 분열은 라디칼을 생성하기 때문에, 반응의

추가 또는 제거를 포함하여 많은 화학 반응이 열 분쇄 동안 일어날 수 있다.

[0132] 다른 실시예에서, 바이오매스 공급원료는 열 분쇄를 거쳐 경올레핀을 생산한다. 열 분쇄는 바이오매스 공급원료를 증기로 희석함으로써 수행될 수 있으며 화로(약 850°C)에서 잠깐 가열된다. 반응에 의해 생산된 생산물은 공급물의 성분, 탄수화물 대 증기의 비율 및 분쇄 온도와 화로에서 머무른 시간 등에 따라 달라진다. 일반적으로, 경올레핀이 생산된다.

[0133] 여기에서 기술된 바이오매스 탄수화물은 하나 또는 그 이상의 제올라이트 촉매의 존재 하에 가벼운 탄수화물로 분쇄될 수 있다. 예에서 보여진 바와 같이, 분쇄 방법들은 일반적으로 온도에 무관한 생성 분포를 나타낸다. 또한, 분쇄되는 탄수화물의 구조에 따라, 생성 분포는 고온탄가의 경탄수화물을 선호할 수 있다. 부가적으로, 촉매의 종류가 분쇄 물질의 성질과 분포를 결정하는데 중요한 역할을 한다.

[0134] 기술된 바와 같이, 저준위 테르펜(예를 들어, 쿠파렌, 파르네센, 생강 오일, 파이톨 및 스쿠알렌)은 촉매 분쇄 조건을 거칠 수 있다. 분쇄 생산물은 일반적으로 파라핀(예를 들어, C4-C9), 나프тен(예를 들어, C5-C9), 방향물(예를 들어, 벤젠, 툴루엔, 크실렌, 나프탈렌)을 포함한다. 분쇄 생산물 중에서, 분지된 파라핀, 나프тен 및 방향물과 같이 분지된 탄소 중앙물을 가지는 탄수화물은 높은 옥탄가(예를 들어, 91 초과)를 가지기 쉽다.

[0135] 어떤 실시예에서, 고온탄가를 가지는 분쇄 생산물은 200°C 내지 500°C의 범위의 온도에서 60%가 넘는 수율로 생산된다. 바람직한 생산물에 따라, 최적의 온도 범위가 경험적으로 설정될 수 있으며, 이 온도에서 고온탄가 생산물(예를 들어, 벤젠 이외의 방향물, 나프тен)이 최대화되고 저온탄가 생산물(예를 들어, 선형 파라핀)은 최소화된다. 일반적으로, 온도는 200°C 내지 350°C, 또는 350°C 내지 450°C의 범위이다.

[0136] 분쇄 생산물은 이러한 방법으로 고수율로 생산되어 바람직하고 또는 다양한 구조적 특성을 가지므로 연료, 연료 첨가제 석유화학 제품으로 직접 사용될 수 있다. 따라서, 본 명세서에 기술된 바이오매스 탄수화물은 유용한 물질로 정제하는데 적절하며, 정제 방법에서 화석 연료를 대체하거나 보충하는데 사용될 수 있다.

[0137] 한 측면에서, 본 발명은 연료 생산물을 생산하는 방법을 개시하며 상기 방법은 유전적으로 변형된 비판다발성 광합성 유기체로부터 공급원료를 얻는 것, 및 촉매 분쇄 조건하에서 상기 공급원료를 촉매 성분과 접촉시켜 연료 생산물을 생산하는 것을 포함하며, 상기 촉매 성분은 6Å 보다 큰 구멍 크기를 가지는 대구경 분자 시브를 포함한다. 예를 들어, 공급원료는 유전적으로 변형된 조류일 수 있다. 조류는 테르펜의 생산을 향상시키도록 하는 등의 여러가지 방법으로 유전적으로 조작될 수 있다. 한 실시예에서, 유전자 변이는 유기체가 유기체에서 자연적으로 발생하지 않는 탄수화물이나 테르펜을 생성하도록 허용할 수 있다. 촉매 분쇄 조건은 본 명세서에 기술된 조건일 수 있다. 예를 들어, 분쇄는 420°C에 이르는 온도에서 일어날 수 있다. 유전적으로 변형된 비판다발성 광합성 유기체에 접촉하는 촉매 성분은 또한 본 명세서에 기술된 임의의 촉매 성분이거나 해당 분야의 기술자에게 알려진 촉매 분쇄 조건하에서 사용될 수 있는 자명하거나 예상될 수 있는 조성물이다. 어떤 경우에, 대구경 분자 시브는 12 링 제올라이트이다.

[0138] 본 발명에 기술된 방법 또는 방법으로 생산된 연료 생산물은 약 85에서 125 사이의 옥탄가를 가질 수 있다. 연료 생산물은 또한 90 보다 큰 옥탄가를 가질 수 있다.

[0139] 어떠한 경우에, 방법이나 방법들은 연료 생산물에 부가적인 연료 성분을 포함할 수 있으며, 상기 연료 성분은 에탄올, 제트 연료, 디젤, 바이오디젤 또는 휘발유와 같은 블렌딩 연료이다. 예를 들어, 연료 생산물은 연료 생산물과 연료 성분을 포함하는 약 5-95%의 혼합물 일 수 있다. 다른 실시예에서, MTBE와 같은 연료 첨가제, 세제 및 산화제 등이 연료 생산물에 첨가될 수 있다.

#### 조성물과 생산물

[0141] 본 발명은 테르펜으로부터 생산물을 생성하고, 바이오매스로부터의 테르펜에서 생산된 생산물을 생성하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다. 생산물의 예는 연료 생산물, 방향 생산물 및 살충제 생산물을 포함하지만 이에 한정되지는 않는다. 생산물은 분자에 저장된 에너지를 방출하는 물질일 수 있다. 한 실시예에서, 생산물은 유기 분자이다. 다른 실시예에서, 생산물은 탄수화물이다. 어떤 경우에 생산물은 수소를 포함하지 않는다. 어떤 경우에 산소를 포함하지 않는다. 어떤 경우에, 생산물은 항체나 단백질을 포함하지 않는다. 어떤 경우에 생산물은 지방산을 포함하지 않는다.

[0142] 연료 생산물의 예는 석유화학 생산물과 이들의 전구체 및 석유 화학 산업에 유용한 모든 다른 물질들을 포함한다. 연료 생산물은 석유화학 생산물 및 이들의 전구체뿐만 아니라, 예를 들어, 석유 생산물과 석유의 전구체를 포함한다. 연료 생산물은 석유 제품과 석유 화학제품을 포함하여 석유 화학 산업에서 유용한 물질이나

원료를 생산하는데 사용될 수 있다. 연료 또는 연료 생산물은 보일러, 가마, 건조기 또는 화로와 같은 연소기에 사용될 수 있다. 연소기의 다른 예는 휘발유 엔진, 디젤 엔진, 제트 엔진 등을 포함하는 차량 엔진이나 발전기를 포함한다. 연료 생산물은 또한 플라스틱, 수지, 섬유, 탄성 중합체, 윤활제 및 젤을 생산하는데 사용될 수 있다.

[0143] 본 명세서에서 고려된 생산물은 탄수화물 생산물 및 탄수화물 유도체 생산물을 포함한다. 탄수화물 생산물은 수소 분자와 탄소 분자로만 구성되는 생산물이다. 탄수화물 유도체 생산물은 하나 또는 그 이상의 헤테로 원자를 가지는 탄수화물 생산물이며, 이 헤테로 원자는 수소나 탄소가 아닌 임의의 원자이다. 헤테로 원자의 예는 질소, 산소, 황 및 인을 포함하지만 이에 한정되지는 않는다. 어떤 생산물은 탄수화물-리치(rich)이며, 생산물의 최소한 50 중량%, 60 중량%, 70 중량%, 80 중량%, 90 중량%, 95 중량% 및 99%는 탄소와 수소로 구성된다. 한 실시예에서, 생산물은 100 중량%의 탄소와 수소 원자이다.

[0144] 탄수화물과 같은 연료 생산물은 전구체이거나, 액체 석유 가스, 나프타(리그로인), 휘발유, 케로센, 디젤, 윤활 오일, 무거운 가스, 코크, 아스팔트, 타르 및 왁스와 같이 원유나 석유에서 일반적으로 유도되는 생산물일 수 있으나 이에 한정되지는 않는다. 예를 들어, 연료 생산물은 메탄, 에탄, 프로판 또는 부탄과 같은 작은 알칸(예를 들어, 1 내지 약 4 탄소)을 포함할 수 있는데, 이들은 요리와 같은 가열 연료나 플라스틱을 제조하는데 사용된다. 연료 생산물은 또한 나프타나 리그로인, 또는 이들의 전구체와 같이 약 5 내지 약 9 탄소 원자를 가지는 탄소 주체를 가지는 분자를 포함할 수 있다. 다른 연료 생산물들은 휘발유 또는 차량 원료로 사용되는 약 5 내지 약 12 탄소 원자이거나 싸이클로알칸이다. 케로센이나 그 전구체와 같이 약 10 내지 약 18 탄소 원자를 가지는 분자 또는 방향물은 또한 연료 생산물일 수 있다. 연료 생산물은 또한 윤활 오일에 사용되는 것과 같이 12 보다 많은 탄소를 가지는 분자 또는 그 전구체일 수 있다. 다른 연료 생산물은 무거운 기체나 연료 오일 또는 이들의 전구체를 포함하며, 일반적으로 알칸, 싸이클로알칸 및 약 20 내지 약 70 탄소 원자를 가지는 방향물을 포함한다. 연료 생산물은 또한 코크, 아스팔트, 타르 및 왁스와 같은 원유의 다른 잔류물을 포함하며, 이들은 일반적으로 70 또는 그 이상의 탄소 및 이들의 전구체를 가지는 다중 링을 포함한다.

[0145] 다양한 연료 생산물은 더욱 정제되어 최종 사용자가 많은 수의 방법에 사용할 수 있는 최종 생산물로 될 수 있다. 정제는 분별 종류에 의해 수행될 수 있다. 예를 들어, 여러 다양한 체인 길이를 가지는 서로 다른 탄수화물의 혼합물과 같은 연료 생산물의 혼합물이 분별 종류에 의해 다양한 성분으로 분리될 수 있다.

[0146] 연료 생산물은, 예를 들어, 백금이나 백금-레늄 합금과 같은 촉매를 사용하는 등, 이들을 통합된 단계로 결합하여 정제될 수 있다. 통합 방법은 일반적으로 분쇄 시 사용될 수 있는 부산물인 수소 가스를 생산한다.

[0147] 연료 생산물은 또한 탄수화물의 변경, 재배열 또는 재구성을 통해 작은 분자들로 정제될 수 있다. 촉매 재형성 방법에서 일어나는 많은 반응 중에 본 발명의 분야의 기술자에게 잘 알려진 화학 반응들이 있다. 일반적으로, 촉매 재형성은 촉매의 존재하에서 수소의 높은 분압에서 일어난다. 흔한 예로써 알킬레이션이 있다. 예를 들어, 프로필렌과 뷰틸렌은 염화수소산 또는 황산과 같은 촉매와 혼합된다.

[0148] 연료 생산물은 혼합물로 블렌딩되거나 조합되어 최종 생산물을 생산할 수 있다. 예를 들어, 연료 생산물들은 블렌딩되어 여러 등급의 휘발유, 첨가제가 첨가되거나 첨가되지 않은 휘발유, 다양한 중량과 등급을 가지는 윤활 오일, 여러 등급의 케로센, 제트 연료, 디젤 연료, 난방 오일 및 플라스틱과 다른 중합체를 만들기 위한 화학 물질 등을 형성할 수 있다. 본 발명에서 기술된 연료 생산물의 조성물은 조합되거나 블렌딩되어 다른 수단으로 생산되는 연료 생산물을 생산할 수 있다.

[0149] 생산물들은 자연적으로 또는 변환된 숙주 세포와 유기체에 의해 생산되는 비자연적(변환의 결과로) 방법으로 생산될 수 있다. 생산물은 또한 자연계에 존재하지 않는 신규한 분자일 수 있다. 예를 들어, 조류에서 자연적으로 생산되는 생산물은 캐로테노이드(예를 들어 베타캐로틴)과 같은 테르펜일 수 있다. 조류에서 자연적으로 생산되지 않는 생산물의 예는 리모닌과 같은 비천연적 테르펜을 포함할 수 있다.

[0150] 어떤 경우에, 본 발명에서 고려된 생산물(연료 생산물 등)은 무기 탄소 소스에서 유도된 하나 또는 그 이상의 탄소를 포함한다. 한 실시예에서, 본 명세서에 기술된 생산물에서 최소한 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99%의 탄소는 무기 탄소 소스로부터 유도된다. 무기 탄소 소스의 예는 이산화탄소, 탄화물, 이탄화물 및 탄산을 포함하나 이에 한정되지는 않는다. 생산물은 광합성 방법에서 고쳐지는 무기 탄소 소스로부터의 유기 분자일 수 있다.

[0151] 본 명세서의 생산물은 그 탄소 동위원소 분포(CID)에 의해 기술될 수 있다. 분자적 수준에서, CID는 분자 내

의 단일 탄소 원자가 자연적으로 발생하는 탄소 동위원소(예를 들어, 12C, 13C 또는 14C) 중의 하나일 수 있는 통계적 확률이다. 대량의 생산물 수준에서, CID는 최소한 하나의 탄소 원자를 포함하는 화합물에서 자연적으로 발생하는 탄소 동위원소 (예를 들어, 12C, 13C 또는 14C)의 상대적인 양일 수 있다. 각 화석 연료의 CID가 그 소스에 따라 다를 수 있음을 유의할 필요가 있지만, CID(fos) (예를 들어, 석유, 천연 가스 및 석탄과 같은 화석 연료에서 탄소의 CID)는 CID(atm) (예를 들어, 현재 대기 중 이산화탄소의 CID)과 식별하는 것이 불가능하다. 부가적으로, CID(photo-atm)는 근래의 역사 기간 동안 광합성에 의해 만들어진 탄소 기반의 화합물의 CID를 의미하며 무기 탄소의 근원은 대기 중의 이산화탄소이다. CID(photo-fos)는 근래의 역사 기간 동안 광합성에 의해 만들어진 탄소 기반의 화합물의 CID를 의미하며 실질적인 모든 무기 탄소의 근원은 화석 연료 (예를 들어, 석탄, 천연 가스, 및/또는 석유)의 연소에서 발생하는 이산화탄소이다.

[0152] 정확한 분포는 또한 (1) 분자를 생산했던 광합성 유기체의 종류와, (2) 무기 탄소의 소스에 따른 특성이다. 이들 동위원소 분포는 광합성적으로 유도되는 연료 생산물의 성분을 정의하는데 사용될 수 있다.

[0153] 탄소 동위원소는 여러 화합물들 내부에 불균일하게 분포하며, 동위원소 분포는 탄소 변환에 관련된 물리적, 화학적 및 대사적 방법에 관련된 정보를 알려준다. 전반적으로 광합성 유기체 조직 내에서 13C가 12C에 비해 풍부하지만 대기 중 이산화탄소 내에 있는 탄소보다는 적으며, 이는 탄소 동위원소 이산화탄소를 광합성 바이오매스로 통합하는 방법에서 탄소 동위원소가 차별적으로 작용하는 것을 의미한다.

[0154] 어떤 연료 생산물은 바이오매스로부터 생산될 수 있으며, 정제된 이후에 가끔은, 종래의 석유 화합물과 동일할 수 있으며, 예를 들어 같은 구조를 가질 수 있다. 연료 생산물들의 일부는 종래의 석유 화합물과 다를 수 있다. 한 실시예에서, 연료 생산물 또는 조성물은 탄소 동위원소 분포를 제외하고는 종래의 석유 화합물과 같았다. 예를 들어, 화석 연료 석유는  $-32\%$ 보다 적은 델타  $^{13}\text{C}$ 분포를 가지지 않는 것으로 믿어지지만, 본 발명에서 기술된 연료 생산물은  $-32\%$ ,  $-35\%$ ,  $-40\%$ ,  $-45\%$ ,  $-50\%$ ,  $-55\%$  또는  $-60\%$ 보다 적은 델타  $^{13}\text{C}$ 분포를 가진다. 다른 실시예에서, 연료 생산물 또는 조성물은 종래의 화석 연료 석유 화합물과 유사하지만 같지는 않으며,  $-32\%$ ,  $-35\%$ ,  $-40\%$ ,  $-45\%$ ,  $-50\%$ ,  $-55\%$  또는  $-60\%$ 보다 적은 델타  $^{13}\text{C}$ 분포를 가진다. 그러나, 종래의 석유 화합물이나 정제에서 분자가 존재하지 않거나, 이는 산업에서 여전히 유용할 수 있다. 예를 들어, 휘발유의 끓는점 범위에 있는 탄수화물을 생산할 수 있고, 탄수화물이 보통은 휘발유에서 발생하지는 않지만 이는 휘발유 또는 첨가물로 사용될 수 있다. 연료 생산물은 수소와 탄소 분자를 포함하는 조성물일 수 있으며, 이 수소와 탄소 분자는 최소한 조성물 원자량의 80%를 차지하고, 조성물의 델타  $^{13}\text{C}$  분포는  $-32\%$ 보다 적다. 본 명세서에 기술된 일부 연료 생산물에서, 수소 및 탄소 분자는 조성물 원자량 중 최소한 90%를 차지한다. 예를 들어, 바이오디젤 또는 지방산 메틸 에스테르(질량에서 수소와 탄소가 90% 미만)는 조성물의 성분이 되지 않을 수 있다. 또 다른 조성물에서, 수소와 탄소 분자들은 조성물 원자량 중 최소한 95 내지 99%를 차지한다. 또 다른 조성물에서, 수소와 탄소 분자들은 조성물 원자량의 100%를 차지한다. 어떤 경우에, 조성물은 액체이다. 다른 경우에, 조성물은 연료 첨가제 또는 연료 생산물이다.

[0155] 본 발명은 또한 수소와 탄소 분자들을 포함하는 조성물을 포함하는 연료 생산물을 개시하며, 상기수소와 탄소 분자들은 조성물 원자량의 최소한 80%를 차지하며, 또한 조성물의 델타  $^{13}\text{C}$ 분포는  $-32\%$ 보다 작은 연료 성분이다. 어떤 실시예에서, 조성물의 델타  $^{13}\text{C}$ 분포는 약  $-35\%$ ,  $-40\%$ ,  $-45\%$ ,  $-50\%$ ,  $-55\%$  또는  $-60\%$ 보다 적다. 어떤 경우에, 연료 성분은 블렌딩 연료로서, 화석 연료, 휘발유, 디젤, 에탄올, 제트 연료, 또는 이들의 조합일 수 있다. 또 다른 경우에서, 블렌딩 연료는  $-32\%$ 보다 큰 델타  $^{13}\text{C}$ 분포를 가진다. 본 발명은 연료 생산물을 기술하며, 그 연료 성분은 연료 첨가제로서, MTBE, 항산화제, 정전기 방지제, 내부식제 및 이들의 조합일 수 있다. 본 명세서에서 기술된 연료 생산물은 본 명세서에 기술된 바와 같은 연료 생산물과 연료 성분을 블렌딩하여 생산한 생산물일 수 있다. 어떤 경우에, 연료 생산물은  $-32\%$ 보다 큰 델타  $^{13}\text{C}$ 분포를 가진다.

다른 경우에, 연료 생산물  $-32\%$ 보다 작은 델타  $^{13}\text{C}$ 분포를 가진다. 예를 들어, 유기체로부터 추출된 조성물은 정제(예를 들어, 분쇄) 이전에 본 명세서에 기술된 연료 생산물을 생성하기 위해 연료 성분과 블렌딩 될 수 있다. 본 명세서에 기술된 연료 성분은 화석 연료, 또는 연료 생산물을 생성하기 위한 혼합된 블렌딩 물질일 수 있다. 예를 들어, 블렌딩을 위한 혼합물은 연료 생산물을 생산하기 위해 또 다른 탄수화물 혼합물에 블렌딩하기에 적합한 탄수화물 혼합물일 수 있다. 예를 들어, 경알칸의 혼합물은 연료 종류에 적합한 특정한 옥탄 가를 가지지 않을 수 있지만, 이 혼합물은 연료 생산물을 생성하기 위해 고옥탄 혼합물과 블렌딩될 수 있다. 한 예에서,  $-32\%$ 보다 작은 델타  $^{13}\text{C}$ 분포를 가지는 조성물이 연료 생산물을 생성하기 위해 블렌딩을 위한

탄수화물 혼합물과 블렌딩될 수 있다. 어떤 경우에, 연료 성분을 위한 조성물 하나가 연료 생산물을 위한 조성물로 적절하지 않을 수 있지만, 조합된 경우에는, 이들은 연료 생산물을 포함한다. 다른 경우에, 조성물, 연료 성분 또는 둘 모두가 연료 생산물로서 적절하다. 또 다른 경우에, 연료 성분은 휘발유 또는 제트 연료와 같은 종래의 석유 생산물이다. 또 다른 예에서, 연료 성분은 바이오에탄올, 바이오디젤, 바이오휘발유 등과 같은 재생가능 자원으로부터 얻어진다.

[0156] 바이오매스 공급원료는 고온 탄수화물 생성물을 생산하는데 적합하다. 따라서, 한 실시예는 연료 생산물을 형성하는 방법을 기술하며, 상기 방법은 바이오매스 공급원료를 분쇄하여 80 또는 그 이상의 옥탄가를 가지며 4 내지 12의 탄소를 가지는 하나 또는 그 이상의 경탄수화물을 형성하는 단계와, 상기 80 또는 그 이상의 옥탄가를 가지는 하나 또는 그 이상의 경탄수화물을 80 또는 그 이하의 옥탄가를 가지는 탄수화물과 블렌딩하는 방법을 포함한다. 일반적으로, 옥탄가 80 또는 그 이하의 탄수화물은 원유 정제로부터 파생되는 화석연료이다. 특정 실시예에 있어서, 바이오매스 공급원료는 폴리엔 구조를 가지는 최소한 하나의 탄수화물을 포함하며, 이 폴리엔 구조는 하나 또는 그 이상의 퀴터너리 올레핀 탄소를 포함한다. 다른 실시예에서, 바이오매스 공급원료는 최소한 하나의 본 명세서에 정의된 바와 같은 저준위 이소프레노이드를 포함한다.

[0157] 바이오매스 공급원료 분쇄되거나 변경된 경탄수화물 생산물에서 보존되는 신뢰성있는 특성을 제공하기 위해 변형되거나 표시될 수 있으며, 이에 의해 경탄수화물 생산물들이 식별되거나 그 원래의 공급원료로 재추적될 수 있다. 예를 들어, 탄소 동위원소는 광합성 방법에서 바이오매스 탄수화물에 도입될 수 있다. 탄소 동위원소는 생산된 탄수화물 공급원료에서 마커로 작용한다. 표시된 탄수화물 공급원료는 본 명세서에 기술된 정제 방법을 거쳐 탄소 동위원소로서 표시된 경탄수화물 생산물을 생산할 수 있다. 동위원소는 단독으로 또는 다른 비표시 생산물과 조합으로 표시된 생산물을 식별할 수 있게 해주며, 이에 따라 표시된 생산물을 그 바이오매스 공급원료로 재추적될 수 있다.

#### 바이오매스 탄수화물 생산

[0159] 본 명세서에 기술된 모든 생성물은 유기체를 이들 유기체를 통해 생산물이 생산되도록 변형시킴으로써 생산된다. 유기체는 변형 이전 또는 이후에 광합성될 수 있다.

#### 유기체

[0161] 본 발명에서 개시된 조성물 및 방법을 이용하여 변환될 수 있는 유기체의 예는 관형 및 비관다발성 유기체를 포함한다. 유기체는 원핵생물(prokaryotic) 또는 진핵생물(eukaryotic)일 수 있다. 유기체는 단세포이거나 다세포일 수 있다.

[0162] 비관다발성 광합성 유기체의 예는 마르칸티오파이트(marchantiophyte) 또는 안트로세로파이트(anthocerotophyte)와 같은 선태식물(bryophyte)을 포함한다. 어떤 경우에, 유기체는 시아노박테리아이다. 어떤 경우에, 유기체는 조류(예를 들어, 중대형 조류 또는 소형조류)이다. 조류는 단세포 또는 다세포 조류다. 어떤 경우에, 유기체는 로도파이트, 클로로파이트, 헤테로콘토파이트, 트리보파이트, 글로소파이트, 클로라라크니파이트, 유글레노이드, 합토파이트, 크립토모나드, 디노플라겔룸 또는 파이토플랑크톤이다.

[0163] 예를 들어, 소형조류 클라미도모나스 라인하티(Chlamydomonas reinhardtii)는 리모닌을 생산하기 위해 리모닌 신타아제를 코딩하는 벡터로써 변형될 수 있다. 다른 실시예에서, 소형조류는 리모닌 생산을 향상시키기 위해 리모닌 신타아제를 코딩하는 하나 또는 그 이상의 벡터와 단백질로써 변형될 수 있다.

[0164] 상기 방법의 예는 소형조류, C. 라인하티를 사용하는 것이다. 본 발명의 방법에 따르면 폴리펩티드 또는 단백질 복합체를 발현하기 위해 소형조류를 사용하며, 이에 의해 상용(Cyanotech Corp.; Kailua-Kona HI)을 포함하여 많은 수의 소형조류가 재배될 수 있는 이점이 제공되며 필요한 경우에는 원하는 생산물의 많은 양을 생산하거나 분리할 수 있다. 그러나, 발현 능력, 예를 들어, 단백질 복합체를 포함하는 모든 식물의 엽록체 내의 기능성 포유류 폴리펩티드는 식물과 같은 작물을 생산할 수 있게 하고, 따라서 많은 양의 폴리펩티드를 편리하게 생산할 수 있는 능력을 부여한다. 따라서, 상기 방법은 엽록체를 가지는 모든 식물체, 예를 들어 땅에서 자라는 식물뿐만 아니라 해양 조류와 미역과 같은 중대형 조류를 포함하는 식물체에서 수행된다.

[0165] 본 명세서에서 "식물"이라는 용어는 색소체, 특히 엽록체를 포함하는 진핵 생물 유기체를 의미하는 것으로 넓게 사용되며, 개발 단계에 있는 상기 유기체, 또는 식물 조각, 식물 세포, 식물 세포 배양, 식물 조직, 식물의 씨 및 묘목을 포함하는 식물의 일부를 포함한다. 식물 세포는 식물 단위의 구조적, 생리학적 단위이며, 원형질체와 세포벽을 포함한다. 식물 세포는 분리된 단일세포, 또는 배양된 세포 또는 식물 섬유, 식물 조직이나 식물 자체와 같은 고등 조직 기관의 일부 일 수 있다. 따라서, 식물 세포는 원형질체, 생식세포 생산

세포, 또는 전체 식물로 재생될 수 있는 세포 또는 세포의 집합일 수 있다. 따라서, 다수의 식물 세포를 포함하고 전체 식물로 재생될 수 있는 씨앗은 본 발명의 개시의 목적에서 보면 식물 세포로 간주된다. 식물 섬유 또는 식물 조직은 씨, 원형질체, 유상체 또는 구조적 또는 기능적 단위로 조직되는 다른 군의 식물 세포들을 포함한다. 특별히 유용한 식물 부분은 수화 가능한 부분과 자손 식물을 퍼뜨리는데 유용한 부분들을 포함한다. 식물의 수화가능 부분은 식물의 유용한 부분일 수 있으며, 예를 들어, 꽃, 꽃가루, 묘목, 덩이 줄기, 잎, 줄기, 과일, 씨, 뿌리 등이 있다. 전파에 유용한 식물의 부분은, 예를 들어, 씨, 과일, 잘린 부분, 묘목, 덩이 줄기, 뿌리 줄기 등을 포함한다.

[0166] 본 명세서에 기술된 방법은 통합된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 유전적으로 변형된 엽록체(Hager and Bock, Appl. microbiol. Biotechnol. 54:302-310, 2000)를 포함하는 식물을 생성할 수 있다. 따라서, 본 방법은 특정하게 연관되어 기능 단백질 복합체를 형성할 수 있는 폴리펩티드를 포함하여 하나 또는 그 이상의 이종 조직 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 하나 또는 그 이상의 엽록체 포함하는, 예를 들어 C. 라인하티와 같은 유전자 이식(transplastomic) 식물을 더 제공할 수 있다. 본 명세서에 기술된 광합성 생물을 생산물을 생성하기 위해 변형된 최소한 하나의 숙주 세포를 포함할 수 있다.

#### 발현 벡터와 숙주 세포 전환

[0168] 여기에서 유기체/숙주 세포는 발현 벡터를 가지는 생산물의 생산을 변화시키도록, 예를 들어, 생산물의 생산을 증대시키도록 전환될 수 있다. 생산물은 유기체에 의해 자연적으로 발생하거나 자연적으로 발생하지 않을 수 있다.

[0169] 발현 벡터는 하나 또는 그 이상의 상동조직 또는 이종 조직 뉴클레오티드 서열(숙주 유기체 또는 다른 유기체로부터 유도) 및/또는 하나 또는 그 이상의 자가조직 뉴클레오티드 서열(동일한 유기체로부터 유도) 및/또는 상동의 또는 이형 조직의 폴리펩티드를 코딩하는 서열을 코딩할 수 있다. 조류 숙주 세포로 전환될 수 있는 이형 조직 뉴클레오티드 서열의 예는 박테리아, 균류, 식물, 광합성 박테리아 또는 다른 조류로부터의 유전자를 포함한다. 조류 숙주 세포로 전환될 수 있는 동일 조직 뉴클레오티드 서열의 예는 이소프레노이드 합성 유전자, 내인성 프로모터, 및 psbA, atpA, 또는 rbcL 유전자로부터의 5' UTR을 포함한다. 어떤 경우에, 이종 조직 서열은 두 개의 자가 조직 서열이나 동일 조직 서열로 연결되어 있을 수 있다. 동일 조직 서열은 숙주 세포의 서열에 대한 상동성이 최소한 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%인 경우이다. 어떤 경우에, 동일 조직 서열은 두 개의 자가 조직 서열로 연결된다. 제 1 및 제 2 자가 조직 서열은 이형 조직 서열이 숙주 유기체의 게놈으로 재배열되도록 해 준다. 제 1 및 제 2 동일 조직 서열은 최소한 100, 200, 300, 400 또는 500 뉴클레오티드의 길이를 가진다.

[0170] 발현 벡터는 변환되는 유기체에서 코돈 바이어스된 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다. 능숙한 기술자라면 주어진 아미노산을 규정하기 위한 뉴클레오티드 코돈의 사용에서 특정 숙주 세포에 의해 나타나는 "코돈-바이어스"를 알고 있을 것이다. 이론에 얹매이지 않고, 숙주 세포의 바람직한 코돈을 사용함으로써 이전 비율이 더 커질 수 있다. 따라서, 숙주 세포에서 개선된 발현을 위한 유전자를 합성할 때, 유전자의 코돈 사용 주파수가 숙주 세포의 바람직한 코돈 사용 주파수와 가까워 지도록 유전자를 디자인하는 것이 바람직하다. 코돈은 일반적으로 A/T 리치(rich)로서, 예를 들어, 코돈의 세번째 뉴클레오티드 위치에서 A/T 리치(rich)이다. 일반적으로, A/T 리치 코돈 바이어스가 조류를 위해 사용된다. 어떤 실시예에서, 코돈의 세번째 뉴클레오티드 위의 최소한 50%는 A 또는 T이다. 다른 실시예에서, 코돈의 세번째 뉴클레오티드 위의 최소한 60%, 70%, 80%, 90% 또는 99%는 A 또는 T이다.

[0171] 유전적으로 조작된 종류의 조류를 생산하는 한 방법은 관계된 유전자, 일반적으로 전구체를 연료 생산물 연료 생산물의 전구체로 전환할 수 있는 효소를 코딩하는 핵산에 의한 변환을 포함한다. 어떤 실시예에서, 변환은 핵산을 숙주 조류 세포의 임의의 색소체(예를 들어, 엽록체)에 도입할 수 있다. 변형된 세포들은 일반적으로 외인성 핵산의 도입에 이어 선택성 매체에 증착되게 된다. 이 방법은 스크린 단계를 또한 포함할 수 있다. 시초에 주된 변형제의 스크린은 어떠한 클론이 외인성 핵산의 적절한 삽입을 가지는지를 결정하기 위해 수행된다. 적절한 통합을 보이는 클론은 유전적 안정성을 보장하기 위해 보충되거나 다시 스크린될 수 있다. 이러한 종류의 방법들은 관련된 유전자를 포함하는 변환을 보장한다. 많은 경우에, 이러한 스크리닝은 폴리머라제 연쇄 반응(PCR)에 의해 수행된다; 그러나, 해당 분야에서 알려진 적절한 다른 방법이 사용될 수도 있다. PCR에 의한 많은 다른 방법들이 본 발명의 분야에서 알려져 있다(예를 들어, 내재된 PCR, 실시간 PCR). 본 발명에서 기술된 예에서 특별한 예들이 사용되었지만, 해당 분야에 익숙한 기술자라면 다른 PCR 기술들이 본 발명에 기술된 특정한 기술들에 대입될 수 있음을 알 수 있을 것이다. 적절한 외인성 핵산의 통합에 의한 클론의 스크리닝에 이어, 클론은 일반적으로 코딩된 단백질의 존재하에서 스크린된다. 단백질 발현 스크리닝은 일반적으

로 웨스턴 블롯(Western blot) 분석 및/또는 효소 활성 평가에 의해 수행된다.

[0172]

본 발명의 방법에서 유용한 재조합 핵산 분자는 벡터에 포함될 수 있다. 또한, 제 2(또는 그 이상)의 재조합 핵산 분자를 이용하여 방법을 수행할 때, 상기 제 2 재조합 핵산 분자는 또한 벡터에 함유될 수 있으며, 제 1 재조합 핵산 분자를 함유하는 벡터와 같을 수도 있으나 반드시 그러할 필요는 없다. 벡터는 폴리뉴클레오티드를 염록체로 도입하는데 유용한 벡터일 수 있으며, 또 바람직하게는, 염록체 게놈 DNA, 예를 들어, 약 400 내지 1500 또는 그 이상의 실질적으로 인접한 염록체 게놈 DNA의 뉴클레오티드를 포함하는 뉴클레오티드 서열과의 상동 재조합에 충분한 염록체 게놈 DNA의 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 벡터로 사용하기 위해 염록체와 염록체 게놈 영역을 선택하는 방법은 잘 알려져 있다(예를 들어, Bock, J. Mol. Biol. 312:425-438, 2001; Staub and Maliga, plant cell 4:39-45, 1992; Kavanagh et al., Genetics 152:1111-1122, 1999 참조, 각 문현은 본 발명에 참조로써 통합됨).

[0173]

어떤 경우에, 이러한 벡터들은 프로모터를 포함한다. 프로모터는 임의의 소스(예를 들어, 바이랄, 박테리아, 균류, 원생 생물, 동물)에서 기인할 수 있다. 본 발명에서 고려된 프로모터는 광합성 유기체, 비판다발성 광합성 유기체 및 관형 광합성 유기체(예를 들어, 조류, 개화 식물)에 특정적일 수 있다. 본 발명에 사용된 바와 같이, "관형 광합성 유기체"란 용어는 어떤 중대형 또는 소형 유기체를 의미하며 고등 식물에서 발견되는 관형 시스템을 가지지 않는 조류, 시아노박테리아 및 광합성 박테리아 등을 포함하지만 이에 한정되지는 않는다. 어떤 경우에, 상기 핵산은, 예를 들어 조류와 같은 광합성 유기체의 프로모터를 포함하는 벡터에 삽입된다. 프로모터는 염록체 및/또는 다른 색소체에서의 발현을 위한 프로모터일 수 있다. 어떤 경우에, 핵산은 염록체 기반이다. 본 발명에서 고려된 염록체로의 본 발명의 핵산으로의 삽입을 위한 프로모터의 예는 미국 특허 출원 2004/0014174에 개시된 것을 포함한다. 프로모터는 구성 요소적 프로모터이거나 유도가능 프로모터일 수 있다. 프로모터는 전사의 시작 위치 근처(예를 들어, TATA 성분)에 일반적으로 필요한 핵산 서열을 포함한다.

[0174]

C. 라인하티의 전체 염록체 게놈이 월드와이드웹을 통해(URL 주소 "biology.duke.edu/chlamy\_genome/-chloro.html", "view complete genome as text file" 링크와 "maps of the chloroplast genome" 링크 참조)에 공개되어 있으며, 이를 각각은 본 발명에 참조(J. Maul, J. W. Lilly, and D. B. Stern, unpublished results; revised, Jan. 28, 2002; GenBank Acc. No. AF396929로서 출판됨)로써 통합되었다. 일반적으로, 염록체 게놈 DNA의 뉴클레오티드 서열은 이 서열이 조절 서열 또는 코딩 서열, 특히 상동 재조합이 일어나 교란이 생기는 경우에, 예를 들어, 염록체 게놈 또는 이 염록체를 포함하는 식물 세포의 복제를 위해, 염록체의 파괴를 일으키는 것을 포함하는 유전자의 부분을 포함하지 않도록 선택된다. 이러한 면에서, C. 라인하티 염록체 게놈 서열을 포함하는 상기 웹 사이트는 염록체 게놈의 코딩 및 비코딩 영역을 보여주는 맵을 또한 제공하며, 따라서 벡터를 구성하는데 유용한 서열의 선택을 촉진시킨다. 예를 들어, 염록체 벡터, p322,는 143.1 kb 위치의 Eco(Eco RI) 싸이트로부터 약 148.5 kb 위치의 Xho(Xho I) 싸이트로 확장되는 클론이다(인터넷 사이트 "biology.duke.edu/chlamy\_genome/chloro.html" 참조, "maps of the chloroplast genome" 링크, "140-150 kb" 링크; 월드와이드웹의 URL "biology.duke.edu/chlamy/chloro/chloro140.html"을 통해 직접 접근 가능).

[0175]

본 발명의 방법 또는 방법의 실행에서 사용된 벡터는 또한 하나 또는 그 이상의 추가적인 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있으며, 이들은 바람직한 특성을 벡터에 부여하며, 예를 들어, 벡터의 조작을 쉽게 하는 클론 싸이트와 같은 서열, 벡터의 복제나 그 안에 포함된 뉴클레오티드 서열의 전사를 인도하는 조절 요소, 선택 가능 마커를 코딩하는 서열 등을 포함한다. 따라서, 벡터는, 예를 들어, 하나 또는 그 이상의 다중 클론 싸이트와 같은 클론 싸이트를 포함할 수 있으며, 이들은 이형 폴리뉴클레오티드가 벡터에 삽입되고 바람직한 요소에 동작적으로 연결될 수 있는 자리에 위치할 수 있으나 이는 반드시 필요한 것은 아니다. 벡터는 또한 프로카리오톤 근원의 복제(ori), 예를 들어, 대장균 오리(ori) 또는 코스미드 오리(ori)를 포함할 수 있으며, 따라서 필요한 경우 벡터 원핵생물 숙주 세포 내에서 식물 염록체 뿐만 아니라 벡터의 통과를 허용한다.

[0176]

본 명세서에서 사용된 용어 조절 요소는 넓은 의미로 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드가 동작적으로 연결된 부위의 전사 및 변형을 조절하는 뉴클레오티드 서열을 의미한다. 그 예는 RBS, 프로모터, 개선제, 전사 종결부위, 개시(시작) 코돈, 삭제 및 올바른 읽기 프레임의 유지를 위한 연결 신호, 정지(STOP) 코돈, 호박(amber) 또는 오커(ochre) 코돈, IRES를 포함하나 이에 한정되지는 않는다. 추가적으로, 세포 구획화 신호(예를 들어, 폴리펩티드를 사이토졸, 핵, 염록체 막 또는 세포막으로 타깃팅하는 서열). 이러한 신호는 본 발명의 분야에서 잘 알려져 있고 널리 보고되어 있다(예를 들어, 미국특허 5,776,689 참조).

[0177]

본 명세서에서의 모든 발현 벡터는 조절 제어 서열을 더 포함할 수 있다. 조절 제어 서열은 예를 들어, 프로

모터, 오퍼레이터, 억압제(repressor), 개선제(enhancer), 전사 종료 서열, 번역 조절 서열, 또는 숙주 세포와 양립할 수 있고 핵산 분자의 발현을 제어하는 기타 다른 조절 제어 서열을 포함할 수 있다. 어떤 경우에, 조절 제어 서열은 전사의 시작, 연장 및/또는 종료를 제어, 조정 또는 실행하는 전사 제어 서열을 포함할 수 있다. 예를 들어, 조절 제어 서열은 전사 및 번역 속도를 증가시키고, 또는 유전자 또는 유기체 내 유전자의 효율을 높이며, 이에 의해 유전자 또는 유전자 생산물의 발현이 개선되어 본 명세서에 기술된 생산물의 생산을 (직접 또는 간접적으로) 증대시키는 결과를 가져 온다. 조절 제어 서열은 또한 유전자 또는 유전자 생산물의 안정성을 증가시켜 생산물 생산을 증대시키는 결과를 가져 온다.

[0178] 조절 제어 서열은 자가 조직 또는 이종 조직일 수 있으며, 이종 조직의 경우, 상동 조직일 수 있다. 조절 제어 서열은 발현과 생산물 생산을 촉진하는 효소인 하나 또는 그 이상의 폴리펩티드를 코딩할 수 있다. 예를 들어, 이종 조직 조절 제어 서열은 동일한 유기체 유전자를 가지는 또 다른 종(예를 들어, 다른 조류 종)으로부터 유도될 수 있으며 조류 내의 신타아제를 코딩한다. 또 다른 예에서, 자가 조직 조절 제어 서열은 발현 벡터가 발현되는 유기체로부터 유도될 수 있다.

[0179] 응용에 따라서는, 유도 가능한 또는 구성요소적 발현을 수행하는 조절 제어 서열이 사용될 수 있다. 조류 조절 제어 서열이 사용될 수 있으며, 이는 핵, 바이랄, 염색체외, 미토콘드리아 또는 엽록체에서 기인할 수 있다.

[0180] 적절한 조절 제어 서열은 발현되는 뉴클레오티드 서열(예를 들어, 자연계의 조류에서 유도된 뉴클레오티드 서열에 동작적으로 연결된 조류 프로모터)에 자연적으로 연관되는 것들을 포함한다. 적절한 조절 제어 서열은 발현될 핵산 분자에 자연적으로 연관되지 않는 조절 제어 서열을 포함한다(예를 들어, 한 종의 조류 프로모터가 다른 유기체 또는 조류의 종의 뉴클레오티드 서열에 동작적으로 연결된다). 나중의 조절 제어 서열은 같은 종의 또 다른 유전자 (예를 들어, 자가 조직)의 발현을 제어하는 서열, 또는 다른 유기체나 종(예를 들어, 이 종의)으로부터 유도되는 서열일 수 있다.

[0181] 추정상의 조절 제어 서열이 적합한지를 결정하기 위해, 이 추정상의 조절 제어 서열은 핵산 분자에 연결되어 일반적으로 쉽게 관찰되는 신호를 생성하는 단백질을 코딩한다. 이러한 구성은 표준적인 기술에 의해 조류 또는 다른 유기체에 도입될 수 있으며, 이로부터의 발현이 모니터링된다. 예를 들어, 핵산 분자가 주요선택 가능 마커를 코딩하는 경우에는, 사용되는 조류 또는 유기체는 마커가 저항성을 제공하는 화합물의 존재하에서 자랄 수 있는 능력이 시험된다.

[0182] 어떤 경우에, 조절 제어 서열은 프로모터로서, 비판다발성, 광합성 생물에서 뉴클레오티드 서열의 발현을 위해 적응된 프로모터와 같은 것이다. 예를 들어, 프로모터는 조류 프로모터, 예를 들어 미국 특허 출원 공개 공보 2006/0234368과 2004/0014174, 그리고 문현(Hallmann, Transgenic Plant J. 1:81-98(2007))에 기술된 것과 같은 것들이다. 프로모터는 엽록체 특정 프로모터 또는 핵 프로모터일 수 있다. 프로모터는 EF1-유전자 프로모터 또는 D 프로모터일 수 있다. 어떤 실시예에서, 신타아제는 EF1-유전자 프로모터에 동작적으로 연결된다. 다른 실시예에서, 신타아제는 D 프로모터에 동작적으로 연결된다.

[0183] 본 명세서에서 조절 제어 서열은 여러 다양한 위치에서 찾을 수 있는데, 예를 들어, 코딩 또는 비코딩 영역, 5' 비전환 영역(예를 들어, 코딩 영역으로부터의 업스트림) 및 3' 비전환 영역(예를 들어, 코딩 영역으로부터의 다운스트림)을 포함한다. 따라서, 어떤 경우에 자가 조직 또는 이종 조직의 뉴클레오티드 서열은 하나 또는 그 이상의 3' 또는 5' 비전환 영역, 하나 또는 그 이상의 인트론, 또는 하나 또는 그 이상의 엑손을 포함할 수 있다.

[0184] 예를 들어, 어떤 실시예에서, 조절 제어 서열은 싸이클로텔라 크립티카 아세틸-CoA 카르복실라제 5' 미번역 조절 제어 서열 또는 싸이클로텔라 크립티카 아세틸-CoA 카르복실라제 3' 미번역 조절 제어 서열(미국 특허 5,661,017)을 포함할 수 있다.

[0185] 조절 제어 서열은 단백질 AB 또는 SAA와 같이 이종의 뉴클레오티드 서열과 단백질의 발현을 촉진하는 키메릭(chimeric) 또는 융합 폴리펩티드를 코딩할 수 있다. 다른 조절 제어 서열은 이종의 서열의 번역을 촉진할 수 있는 자가 조직의 인트론 서열을 포함한다.

[0186] 본 발명의 모든 발현 벡터에서 사용된 조절 제어 서열은 유도 가능하다. 프로모터와 같은 유도 가능 조절 제어 서열은 예를 들어 빛에 의해 유도 가능하다. 조절 제어 서열은 자동 조절 가능하다. 자동 조절 가능한 조절 제어 서열의 예는, 예를 들어, 내인성의 ATP 수준, 또는 유기체에 의해 생산된 생산물에 의해 자동 조절되는 서열들을 포함한다. 어떤 경우에, 조절 제어 서열은 외인성 작용제에 의해 유도할 수 있다. 다른 유도 가

능 요소는 해당 분야에 잘 알려져 있으며 본 발명을 위해 적응되어 사용될 수 있다.

[0187] 본 명세서에 기술된 조절 제어 서열의 다양한 조합은 구현되어 본 명세서에 기술된 다른 특성들과 함께 조합될 수 있다. 어떤 경우에, 발현 벡터는, 예를 들어, 본 발명에 기술된 생산물 생산을 촉진하는 등, 서열에 작용하는 폴리펩티드를 코딩하는 뉴클레오티드 서열에 동작적으로 연결되는 하나 또는 그 이상의 조절 제어 서열을 포함한다. 어떤 경우에, 발현 벡터는, 예를 들어, 생산물 생산의 촉진 등에 작용하는 폴리펩티드를 코딩하는 뉴클레오티드 서열에 동작적으로 연결되는 하나 또는 그 이상의 조절 제어 서열을 포함한다.

[0188] 벡터 또는 다른 재조합 핵산 분자는 리포터 폴리펩티드 또는 다른 선택 가능 마커를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다. 용어 "리포터" 또는 "선택 가능 마커"는 검출 가능한 폐노타입을 부여하는 폴리뉴클레오티드(또는 코딩된 폴리펩티드)를 말한다. 리포터는 일반적으로 검출 가능한 폴리펩티드, 예를 들어, 녹색 형광 단백질 또는 루시페라제와 같은 효소를 코딩하는데, 이들은 적절한 물질(각각, 특정 광장의 빛 또는 루시페린)과 접촉하여 사람의 눈이나 적절한 도구를 사용하여 검출할 수 있는 신호를 생성한다(Giacomin, Plant Sci. 116:59-72, 1996; Scikantha, J. Bacteriol. 178:121, 1996; Gerdes, FEBS Lett. 389:44-47, 1996; see, also, Jefferson, EMBO J. 6:3901-3907, 1997, f1-glucuronidase). 선택 가능 마커는 일반적으로 분자이며, 이들이 세포 내에 존재하거나 발현하는 경우, 마커를 함유하는 세포에 대해 선택적으로 유리하거나(또는 불리한) 점을 제공하며, 예를 들면, 다른 경우 세포를 죽이는 물질의 존재하에서 자라나는 능력을 들 수 있다.

[0189] 선택 가능 마커는 마커를 발현하는 원핵생물 세포 또는 식물 세포 또는 둘 모두를 얻는 수단을 제공할 수 있고, 따라서, 벡터(예를 들어, Bock, supra, 2001 참조)의 성분으로 유용할 수 있다. 선택 가능 마커들의 예는 반대사 저항을 부여하는 것들, 예를 들어, 메토트렉세이트(methotrexate)에 대한 저항성을 부여하는 디하이드로폴레이트 리덕타제(Reiss, Plant Physiol. (Life Sci. Adv.) 13:143-149, 1994); 아미노글리코사이드 네오마이신, 카나마이신 및 파로마이신에 대한 저항성을 부여하는 네오마이신 포스포트랜스페라제(Herrera-Estrella, EMBO J. 2:987-995, 1983), 하이그로마이신에 대한 저항성을 부여하는 하이그로(Marsh, Gene 32:481-485, 1984), 세포들이 트립토판 대신 인돌을 사용하도록 해주는 trpB; 세포들이 히스티딘 대신 히스티놀을 사용하도록 해주는 hisD(Hartman, Proc. Natl. Acad. Sci., USA 85:8047, 1988); 세포들이 마노제를 사용하도록 해주는 마노제-6-포스페이트 아이소머라제(WO 94/20627); 오르니틴 디카복실라제 억제제, 2-(디플루로메틸)-DL-오르니틴에 대한 저항성을 부여하는 오르니틴 디카복실라아제(ornithine decarboxylase)(DFMO; McConlogue, 1987, In: Current Communications in Molecular Biology, Cold Spring Harbor Laboratory ed.); 및 블라스티시딘 S에 대한 저항성을 부여하는 아스페르길루스 테레우스(Aspergillus terreus)로부터의 디아미나제(Tamura, Biosci. Biotechnol. Biochem. 59:2336-2338, 1995)를 포함하지만 이들로 한정되지는 않는다. 추가적인 선택성 마커들은 제초제에 대한 저항성을 부여하는 것을 포함하며, 예를 들어, 포스피노트리신에 대한 저항성을 부여하는 포스피노트리신 아세틸트랜스페라제(phosphinothricin acetyltransferase) 유전자(White et al., Nucl. Acids Res. 18:1062, 1990; Spencer et al., Theor. Appl. Genet. 79:625-631, 1990), 글리포세이트 저항을 부여하는 변이 EPSPV-신타아제 (Hinchee et al., BioTechnology 91:915-922, 1998), 이미다졸린 또는 셀포지루레아 저항을 부여하는 변이 아세톨락테이트 신타아제(Lee et al., EMBO J. 7:1241-1248, 1988), 아트라진 저항성을 부여하는 변이 psbA(Smeda et al., Plant Physiol. 103:911-917, 1993), 또는 변이 프로토포르피리노젠 옥사다제(protoporphyrinogen oxidase)(미국 특허 5,767,373 참조), 또는 글루포시네이트와 같은 제초제 저항성을 부여하는 다른 마커들이 포함된다. 선택 가능 마커는 진핵생물 세포와 테트라싸이클린을 위한 디하이드로폴레이트 리덕타제(DHFR) 또는 네오마이신 저항성을 부여하는 폴리뉴클레오티드, 대장균과 같은 원핵 생물을 위한 암페실린 저항성, 및 블레오마이신, 젠타마이신, 글리포스테이트, 하이그로마이신, 카나마이신, 메토트렉세이트, 플레오마이신, 포스피조트리신, 스펙티노마이신, 스트렙토마이신, 셀폰아미드 및 셀포니루레아 저항성을 제공하는 것들이 있다(예를 들어, Maliga et al., Methods in Plant Molecular Biology, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1995, page 39 참조).

[0190] 리포터 유전자가 고등 식물의 엽록체에서 성공적으로 사용되었으며, 높은 수준의 재조합 단백질 발현이 보고되었다. 추가적으로, 리포터 유전자는 C. 라인하티의 엽록체에서 사용되었으나, 대부분의 경우에 매우 작은 양의 단백질이 생산되었다. 리포터 유전자는 많은 수의 생물학적 유기체에서 유전자 발현을 크게 증가시켰다. 고등 식물의 엽록체에서, 베타-글루쿠로니다제(uidA, Staub and Maliga, EMBO J. 12:601-606, 1993), 네오마이신 포스포트랜스페라제(nptII, Carrer et al., Mol. Gen. Genet. 241:49-56, 1993), denosyl-3-adenyltransf-erase (aadA, Svab and Maliga, Proc. Natl. Acad. Sci., USA 90:913-917, 1993), 및 Aequorea victoria GFP (Sidorov et al., Plant J. 19:209-216, 1999) 등이 리포터 유전자로서 사용되었다(Heifetz, Biochemie 82:655-666, 2000). 이들 각각의 유전자는 이들을 분석을 용이하게 하고, 반응성과 발현을 검사하는 능력을 향상시키는 등, 유용한 엽록체 유전자 발현의 리포터로 만드는 속성을 가지고 있다. 이들 연구에

따르면, 다른 이종의 단백질이 초식 곤충에 대한 저항성을 부여하는 *Bacillus thuringiensis* Cry toxins (Kota et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA 96:1840-1845, 1999), 또는 잠재적 생명의학 물질인 인간 성장 호르몬 (Staub et al., Nat. Biotechnol. 18:333-338, 2000)과 같이 고등 식물의 엽록체에서 발현되었다. 진핵 녹색 조류, C. 라인하티(reinhardtii)의 엽록체에서 여러 리포터 유전자가 발현되었으며, 여기에는 aadA (Goldschmidt-Clermont, Nucl. Acids Res. 19:4083-4089 1991; Zerges and Rochaix, Mol. Cell Biol. 14:5268-5277, 1994), uidA (Sakamoto et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA 90:477-501, 1993, Ishikura et al., J. Biosci. Bioeng. 87:307-314 1999), Renilla luciferase (Minko et al., Mol. Gen. Genet. 262:421-425, 1999) 및 아미노 글리코사이드 포스포트랜스퍼라제 from *Acinetobacter baumanii*, aphA6 (Bateman and Purton, Mol. Gen. Genet. 263:404-410, 2000)가 포함된다.

[0191] 어떤 경우에, 백터는 대장균(대장균) 또는 *S. cerevisiae* 복제에서 유래하는 요소를 포함할 수 있다. 이러한 특성은, 적절한 선택 가능 마커와 결합하여, 백터가 타겟 숙주 세포와 박테리아 및/또는 효모 세포 사이에 "셔틀"하도록 해준다. 셔틀 백터를 제 2 숙주로 운반하는 능력은 백터의 특성을 좀더 편리하게 조작하도록 해준다. 예를 들어, 관련된 백터와 추정상 삽입된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 반응 혼합물은 일반적인 방법으로 증폭되고 수집되며 관련된 삽입물 또는 구성물을 포함하는 백터를 파악하기 위해 검사된 대장균과 같은 원형 숙주 세포로 변환될 수 있다. 원하는 경우에는, 백터는 예를 들어, 삽입된 폴리뉴클레오티드의 싸이트를 지향한 돌연변이 생성을 수행함으로써 더욱 조작될 수 있으며, 그 후에 관련된 변이 폴리뉴클레오티드를 가지는 백터를 증폭하고 선택하게 된다. 셔틀 백터가 식물 세포 엽록체에 도입되어, 관심있는 폴리펩티드가 발현되거나, 원하는 경우, 방법에 따라 분리될 수 있다.

[0192] 폴리뉴클레오티드 또는 재조합 핵산 분자는 해당 분야에 알려진 방법을 이용하여 식물 엽록체에 도입될 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 여러 가지 방법으로 세포에 도입될 수 있으며, 이들은 해당 분야에 잘 알려져 있고, 부분적으로는 특정 숙주 세포에 따라서 선택된다. 예를 들어, 폴리뉴클레오티드는 전기 천공법 또는 입자 총을 이용한 마이크로 포물체 매개의(biostatic) 변환과 같은 직접 유전자 이전 방법, 또는 "유리 구슬 방법" 또는 꽃가루 매개 변환, 리포좀 매개 변환, 상처나거나 효소에 의해 저하된 미성숙 배아, 또는 상처나거나 효소에 의해 저하된 배아 유전자 유상체를 이용하는 변환에 의해 식물 세포에 도입될 수 있다(Potrykus, Ann. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol. 42:205-225, 1991).

[0193] 색소체(색소체) 변형은 폴리뉴클레오티드를 식물 세포 엽록체에 도입하기 위한 일반적인 잘 알려진 방법이다 (미국 특허 5,451,513, 5,545,817 및 5,545,818; WO95/16783; McBride et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA 91:7301-7305, 1994 참조). 어떤 실시예에서, 엽록체 변환은 엽록체 DNA 가 원하는 뉴클레오티드 서열에 측면 연결되는 영역을 포함하며, 이에 따라 외인성 DNA의 타깃엽록체 계놈으로의 상동 재조합이 허용된다. 어떤 경우에 1 내지 1.5 kb의 엽록체 계놈DNA 의 측면 배열 뉴클레오티드 서열이 이용될 수 있다. 이 방법을 이용하여, 엽록체 16S rRNA 및 rps12 유전자에서의 점절단이 스펙티노마이신과 스트렙토마이신에 대한 저항성을 부여하며, 또한 이 변환을 위한 선택 가능 마커로 이용될 수 있고(Svab et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA 87:8526-8530, 1990), and can result 안정된 호모플라스미 변환이 약 타깃된 일의 100회 타격에 대한 1회의 주파수로 일어나게 된다.

[0194] 마이크로 포물체로 중재되는 변환은 또한 폴리뉴클레오티드를 식물 세포 엽록체로 도입하는데 이용될 수 있다 (Klein et al., Nature 327:70-73, 1987). 이 방법은 금이나 텅스텐과 같은 마이크로 포물체를 이용하며, 이들 마이크로 포물체는 염화 칼슘, 스퍼미다인 또는 폴리에틸렌 글리셀에 침전시킴으로써 원하는 폴리뉴클레오티드로 코팅된다. 마이크로 포물체 입자는 BIOLISTIC PD-1000 입자 총(BioRad; Hercules Calif.)과 같은 도구를 이용하여 식물 조직으로 고속으로 가속된다. 바이올리스틱 방법을 사용하는 변환 방법은 해당 분야에서 잘 알려져 있다(예를 들어; Christou, Trends in Plant Science 1:423-431, 1996 참조). 마이크로 포물체로 매개된 변환이, 예를 들어, 목화, 담배, 옥수수, 하이브리드 포플라 및 파파야를 포함하는 유전자 변환 식물 종을 생산하기 위해 사용되었다. 밀, 귀리, 보리, 수수 및 쌀과 같은 주요 곡물들 또한 마이크로 포물체 매개 전달을 사용하여 변환되어 왔다(Duan et al., Nature Biotech. 14:494-498, 1996; Shimamoto, Curr. Opin. Biotech. 5:158-162, 1994). 대부분의 쌍떡잎 식물의 변환이 상기 기술된 방법에 의해 가능하다. 모노타일레노이드 식물의 변환 또한, 예를 들어, 상기 기술된 바이올리스틱 방법이나 원형질체 변환, 부분 침투화 세포의 전기 천공법, 유리 섬유를 사용한 DNA 도입, 유리 구슬 여기 방법 등을 통해서 변환될 수 있다.

[0195] 변환 주파수는 열성의 rRNA 또는 r-단백질 항체 저항 유전자를 주된 선택 가능 마커로 대체함으로써 증가될 수 있으며, 상기선택 가능 마커는 박테리아 aadA 유전자(Svab and Maliga, Proc. Natl. Acad. Sci., USA 90:913-917, 1993)를 포함하지만 이에 한정되지는 않는다. 변환에 뒤이어, 호모 색소체 상태에 이르기까지 대

략 15 내지 20의 세포 분할 싸이클이 요구된다. 본 발명에 능숙한 기술자에게 있어 엽록체가 그 계놈의 다중 복제본을 함유할 수 있으며, 따라서, "호모플라스미적" 또는 "호모플라스미"의 용어는 관련된 특정 발생 장소의 모든 복사본이 실질적으로 동일한 상태를 의미한다. 색소체 발현은 유전자가 상동 재조합에 의해 각 식물 세포 내에 존재하는 환상 색소체 계놈의 수천개 복사본 모두에 삽입되는 것을 의미하는 것으로, 매우 많은 복사 개수의 이점을 이용할 수 있는데 이는 핵 발현 유전자에 비해 전체 용해 가능 식물 단백질의 10%가 넘는 수준의 발현을 허용할 수 있는 큰 이점이 된다.

[0196] 어떤 경우에, 이들 방법은 재조합 핵산 분자를 엽록체에 도입함으로써 수행될 수 있는데, 상기 재조합 핵산 분자는 제 1 폴리뉴클레오티드를 포함하며, 최소한 하나(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 그 이상)의 폴리펩티드를 코딩한다. 어떤 실시예에서는, 폴리펩티드가 두번째, 세번째, 네번째, 다섯번째, 여섯번째, 일곱번째, 여덟번째, 아홉번째, 열번째 및/또는 이어지는 폴리펩티드에 동작적으로 연결된다. 예를 들어, 탄수화물 생산 경로의 여러 효소들이 직접 또는 간접적으로 연결되어 경로 상의 한 효소에 의해 생산된 생산물이 일단 생산된 후에, 경로 상의 다음 효소에 밀접히 연관되게 된다.

[0197] 엽록체의 변환을 위해서, 본 발명의 주된 이점은 선택 가능 마커 및 하나 또는 그 이상의 관련있는 유전자 모두를 포함하는 재조합 핵산 구성물의 사용에 있다. 일반적으로, 엽록체의 변환은 두 구성체를 가지는 엽록체의 상호 변환에 의해 수행되는데, 한 구성체는 선택 가능 마커를 포함하고 다른 하나는 관련된 유전자를 포함한다. 이러한 변환을 스크린하는 것은 여러가지 이유로 노동과 시간이 많이 드는 작업이다. 먼저, 변형된 유기체를 재배하는 데 필요한 시간이 길어진다. 두 번째로, 변형물은 선택 가능 마커의 존재와, 관련있는 유전자의 존재에 대해 스크린되어야 한다. 일반적으로, 관련된 유전자에 대한 2차 스크리닝은 서던 블로트 (Southern blot)(예를 들어 PCT/US2007/072465 참조)에 의해 수행된다.

[0198] 엽록체에서 유전자 발현의 조절은 일반적으로 전사 이후에, 그리고 종종 번역의 개시 중에 일어난다. 이러한 조절은 핵 코딩된 조절 요소 뿐만 아니라 엽록체 번역 기구에 의존한다 (Barkan and Goldschmidt-Clermont, Biochemie 82:559-572, 2000; Zerges, Biochemie 82:583-601, 2000 참조). 엽록체 번역 장치는 일반적으로 박테리아 안의 장치와 비슷하다; 엽록체는 70S 리보솜을 함유하며, 5' 캡을 가지고 일반적으로 3' polyadenylated tail을 포함하지 않으며(Harris et al., 소형biol. Rev. 58:700-754, 1994), 엽록체와 박테리아에서 클로람페니콜과 같은 선택성 물질에 의해 번역이 금지된다.

[0199] 여기에서 기술된 일부 방법들은 코딩 서열에 대한 리보솜 binding 서열(RBS)의 적절한 위치 설정을 이용할 수 있다. 이전에 이러한 RBS 결과의 위치가 식물 엽록체에서의 충실한 번역을 가져 온다는 것이 알려져 있다(본 명세서에 참조로써 통합된 미국 특허 출원 2004/0014174 참조). 엽록체 내에서 폴리펩티드를 발현하는 이점은 폴리펩티드가 일반적으로 핵 유전자로부터 발현된 폴리펩티드를 가로지르는 분자 구획을 통해 진행되지 않는다는 것, 따라서 글리코실레이션과 같은 번역후 변형의 특정 방법을 거치지 않는다는것이라는 것은 해당 분야에서 잘 알려져 있다. 이에 따라, 본 발명의 방법에 따라 생산된 폴리펩티드와 단백질 복합체는 이러한 번역 후 변형을 거치지 않고 생산되는 것으로 기대될 수 있다.

[0200] 코딩 폴리뉴클레오티드의 하나 또는 그 이상의 코돈은 바이어스되어 엽록체 및/또는 핵 코돈 사용을 반영할 수 있다. 대부분의 아미노산은 둘 또는 그 이상의 다른(퇴보된) 코돈에 의해 코딩되고, 여러 유기체들이 다른 코돈에 비해 특정 코돈을 선호하여 이용한다는 것은 잘 알려진 사실이다. 이러한 선호성의 코돈 사용은 엽록체에서도 또한 나타나며. 본 명세서에서는 "엽록체 코돈 사용"으로 명명하였다. Chlamydomonas 라인하티(reinhardtii)의 코돈 바이어스가 보고된 바 있다(미국 출원 2004/0014174 참조). C. 라인하티(reinhardtii)에서 발현을 위해 바이어스된 이소프레노이드 생합성 효소를 코딩하는 핵산의 예는 표 5 내지 표 8에 제공되었다. 자연 서열(서열이 분리되는 유기체 내에서)과의 동일성 비율은 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90% 또는 그 이상이었다. 어떤 벡터들은 표 5에 제공된 하나 또는 그 이상의 핵 및/또는 핵산을 약 70%의 이에 대한 동일성 비율로 포함할 수 있다.

[0201] "바이어스"란 용어는 코돈과 관련하여 사용되며, 폴리뉴클레오티드 내에서 코돈의 서열이 변화되어 코돈이 바이어스가 향하는 타깃, 예를 들어, 조류 세포등의 엽록체내에서 선호적으로 사용되는 것이 된다. 엽록체 코돈 사용을 위해 바이어스된 폴리뉴클레오티드는 처음부터 새로이 합성될 수 있고, 또는 일반적인 재조합 DNA 기술, 예를 들어 싸이트 지향 돌연변이 생성 방법에 의해 유전적으로 변형되어 하나 또는 그 이상의 코돈을 변화시킴으로써 이들이 엽록체 코돈 사용을 위해 바이어스되도록 할 수 있다. 엽록체 코돈 바이어스는 다른 식물들에서 예를 들어, 담배 엽록체에 비교하여 조류 엽록체에서 여러가지로 왜곡될 수 있다. 일반적으로, 선택된 엽록체 코돈 바이어스는 핵산을 통해 변환되고 있는 식물의 엽록체 코돈 사용을 반영한다. 예를 들어, C. 라인하티(reinhardtii)가 숙주인 경우에, 엽록체 코돈 사용은 조류 엽록체 코돈 사용을 반영하도록 바이어스된

다 (제 3 코돈 위치에서 약 74.6% AT 바이어스).

[0202] 본 발명에 기술된 모든 생산물은 유기체를 이러한 생산물의 유기체를 생산하도록 변형시킴으로써 제조될 수 있다. 유기체는 변환 방법으로 인하여 변형된 유기체 (예를 들어, 외인성 핵산이 광합성에 필요한 유전자 코딩 단백질에 삽입)의 광합성 능력이 파괴되거나 줄어든다 해도 광합성 유기체로 간주된다.

### 변경되는 경로

[0204] 본 발명의 발현 벡터는 중간 물질, 생산물, 전구체 및 상기 기술된 생산물의 유도체의 생산을 촉진하는 폴리펩티드를 코딩할 수 있다. 예를 들어, 발현 벡터는 중간 물질, 생산물, 전구체 및 이소프레노이드 경로의 유도체의 생산을 촉진하는 폴리펩티드를 코딩할 수 있다.

[0205] 이소프레노이드 또는 테르펜과 관련있는 유기 화학물질의 군이다. 테르펜은 일반적으로 이소프렌 단위로부터 유도된다. 이소프렌 단위는 5-탄소 단위(C5)이다. 테르펜은 이소프렌 단위의 수에 의해 분류되며, 헤미테르펜(C5), 모노테르펜(C10), 세스퀴테르펜(C15), 디테르펜(C20), 트리테르펜(C30), 테트라테르펜(C40) 및 폴리테르펜(C<sub>n</sub>, 이 때, n은 45 이상)이 있다. 테르펜은 이소프레노이드와 같은 테르펜 유도체를 형성하기 위해 변형되거나(예를 들어 산화, 메틸기 제거 등) 변형될 수 있거나(예를 들어 산화, 메틸기 제거 등), 또는 그 탄소 골격이 재배열될 수 있는 탄수화물이다. 이소프레노이드는 다른 스테로이드 및 지질을 또한 포함한다.

[0206] 테르펜 전구체는 두 경로를 통해 생성되는 것으로 생각된다. 메발로네이트(메발로네이트) 경로, 또는 HMG-CoA 환원 요소 경로는 테르펜을 위한 보통의 C5 전구체인 디메틸알릴 파이로포스페이트(DMAPP)와 이소펜틸 파이로포스페이트(IPP)을 생산할 수 있다. 비메발로네이트(non-메발로네이트) 경로는 DMAPP와 IPP를 생성하기 위한 대체 경로이다. DMAPP와 IPP는 응축되어 게라닐-diphosphate(GPP) 또는 farnesyl-diphosphate(FPP), 게라닐게라닐-diphosphate (GGPP)와 같은 다른 전구체를 형성할 수 있으며, 이들로부터 높은 이소프렌이 형성된다.

[0207] 여기에서 발현 벡터는 예를 들어, 티올라제, HMG-CoA 신타아제, HMG-CoA 리덕타제, 메발로네이트 키나제, 포스피메발로네이트 키나제 및 메발로네이트-5-파이로포스페이트 디카르복실라제와 같이 메발로네이트 경로에서 역할을 하는 폴리펩티드를 코딩한다. 다른 실시예에서, 폴리펩티드는 DOXP 신타아제, DOXP 리덕타제, 4-디포스포시티딜-2-C-메틸-D-에리트리톨 신타아제, 4-디포스포시티딜-2-C-메틸-D-에리트리톨 키나아제, 2-C-메틸-D-에리트리톨 2,4-시클로디포스페이트 신타아제, HMB-PP 신타아제, HMB-PP 리덕타제 또는 DOXP 리덕토아이소머라제와 같은 비메발로네이트 경로에서의 효소이다.

[0208] 다른 경우에, 발현 벡터는 예를 들어 신타아제-코딩 서열과 같은 이소프레노이드 경로에서 폴리펩티드를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다. 신타아제는 C10, C15, C20, C30 또는 C40 신타아제이다. 어떤 실시예에서, 신타아제는 보트리요록신 신타아제, 리모닌 신타아제, 1,8 시네올 신타아제, 알파-피넨 신타아제, 캄펜 신타아제, (+)-사비넨 신타아제, 미르센 신타아제, 아비에타디엔 신타아제, 탁사디엔 신타아제, 파르네실 파이로포스페이트 신타아제, 아모르파디엔 신타아제, (E)-알파-비사볼렌 신타아제, 디아포피토엔 신타아제, 또는 디아포피토엔 디세투라아제이다. 신타아제 및 이들 서열의 예가 도 2에 기술되었다.

### 표 2

신타아제	기원	NCBI 단백질 ID
리모닌	M. 스피카타	20NH_A
시네올	S. 오피시날리스	AAC26016
피넨	A. 그란디스	AAK83564
캄펜	A. 그란디스	AAB70707
사비넨	S. 오피시날리스	AAC26018
미르센	A. 그란디스	AAB71084
아비에타디엔	A. 그란디스	Q38710
탁사디엔	T. 브레비폴리아	AAK83566
FPP	G. 갈러스	P08836
아모르파디엔	A. 안누아	AAF61439
비사볼렌	A. 그란디스	081086
디아포파이토엔	S. 아우레우스	
디아포파이토엔 디세투라아제	S. 아우레우스	
GPPS-LSU	M. 스피카타	AAF08793
GPPS-SSU	M. 스피카타	AAF08792

GPPS	A. 탈리아나	CAC16849
GPPS	C. 레인하르티	EDP05515
FPP	대장균	NP_414955
FPP	A. 탈리아나	NP_199588
FPP	A. 탈리아나	NP_193452
FPP	C. 레인하르티	EDP03194
IPP 아이소머라제	대장균	NP_417365
IPP 아이소머라제	H. 플루비알리스	ABB80114
리모닌	L. 앙구스티풀리아	ABB73044
모노테르펜	S. 리코페르시쿰	AAX69064
테르페놀렌	O. 바실리쿰	AAV63792
미르센	O. 바실리쿰	AAV63791
징기베렌	O. 바실리쿰	AAV63788
미르센	O. 일렉스	CAC41012
미르센	P. 아비에스	AAS47696
미르센, 오시메	A. 탈리아나	NP_179998
미르센, 오시멘	A. 탈리아나	NP_567511
세스퀴테르펜	Z. 마이즈; B73	AAS88571
세스퀴테르펜	A. 탈리아나	NP_199276
세스퀴테르펜	A. 탈리아나	NP_193064
세스퀴테르펜	A. 탈리아나	NP_193066
쿠루쿠멘	P. 카블린	AAS86319
파르네센	M. 도메스티카	AAX19772
파르네센	C. 사티브스	AAU05951
파르네센	C. 주노스	AAK54279
파르네센	P. 아비에스	AAS47697
비사볼렌	P. 아비에스	AAS47689
세스퀴테르펜	A. 탈리아나	NP_197784
세스퀴테르펜	A. 탈리아나	NP_175313
GPP 키메라		
GPPS-LSU+SSU 퓨전		
게라닐게라닐 리덕타제	A. 탈리아나	NP_177587
게라닐게라닐 리덕타제	C. 레인하르티	EDP09986
엽록소리도하이드롤라제	C. 레인하르티	EDP01364
엽록소리도하이드롤라제	A. 탈리아나	NP_564094
엽록소리도하이드롤라제	A. 탈리아나	NP_199199
포스파타제	효모	AAB64930
FPP A118W	G. 갈러스	

[0210]

신타아제는 또한  $\beta$ -카리오플렌 신타아제, 게르마크렌 A 신타아제, 8-에피세드롤 신타아제, 발렌신 신타아제, (+)- $\delta$ -카디넨 신타아제, 게르마크렌 C 신타아제, (E)- $\beta$ -파르네센 신타아제, 카스벤(casbene) 신타아제, 비스티스파라딘(vetispiradiene) 신타아제, 5-에피아리스톨로센 신타아제, 아리스톨센 신타아제,  $\alpha$ -후몰렌, (E,E)- $\alpha$ -파르네센 신타아제, (-)- $\beta$ -페넨 신타아제,  $\gamma$ -테르페넨 신타아제, 리모닌 시클라아제, 리날룰 신타아제, (+)-보르닐 디포스페이트 신타아제, 레보페마라디엔 신타아제, 이소페마라디엔 신타아제, (E)- $\gamma$ -비사볼렌 신타아제, 코팔릴 파이로포스페이트 신타아제, 카우렌 신타아제, 롱기풀렌 신타아제,  $\gamma$ -후몰렌 신타아제,  $\delta$ -셀리넨 신타아제,  $\beta$ -펠란드렌 신타아제, 테르페놀렌 신타아제, (+)-3-카렌 신타아제, 신코팔릴 디포스페이트 신타아제,  $\alpha$ -테르페네올 신타아제, 신-파마라-7,15-디엔 신타아제, 엔트산다라코리마라디엔 신타아제, 스테르네르-13-엔 신타아제, E- $\beta$ -오시멘, S-리날룰 신타아제, 게라니올 신타아제,  $\gamma$ -테르페넨 신타아제, 리날룰 신타아제, E- $\beta$ -오시멘 신타아제, 에피-세드롤 신타아제,  $\alpha$ -징기베렌 신타아제, 구아이아디엔 신타아제, 카스카릴라디엔 신타아제, 시스-무롤라디엔 신타아제, 아피디콜란-16b-올 신타아제, 엘리자베타트리엔 신타아제, 산다롤 신타아제, 파초우롤 신타아제, 진자놀 신타아제, 세드롤 신타아제, 스카레올 신타아제, 코팔롤 신타아제, 또는 마눌 신타아제일 수 있다.

[0211]

본 발명에 기술된 방법을 위해 사용된 경로는 싸이톨이나 색소체 (예를 들어, 엽록체), 또는 둘 모두에 존재하는 효소를 포함할 수 있다. 일부 실시예의 효소를 코딩하는 외인성 핵산이 숙주 세포로 도입되어, 코딩된 효소가 사이토졸이나 색소체, 또는 둘 모두의 내부에서 활성을 가질 수 있다. 어떤 실시예에서, 하나의 세포

간 구획(예를 들어, 사이토졸 내부)에 존재하는 자연적으로 발생하는 효소는 다른 세포간 위치(예를 들어, 엽록체 내부), 또는 숙주 세포의 변환 후에 자연적 및 비자연적으로 발생하는 위치 모두에서 발현될 수 있다.

[0212] 이 개념을 예시하기 위해, 단순한 예로써, 비판다발성의 광합성 소형조류 종이 유전적으로 조작되어 리모닌(특수 화학 및 석유 화학 산업에서 높은 값을 가지는 분자)과 같은 이소프레노이드를 생성할 수 있다. 리모닌은 순수한 탄수화물로서 수소와 탄소 원자를로만 구성된 모노테르펜이다. 리모닌은 C. 레인하르티 종에서 자연적으로 생성되지 않는다. 소형조류에서의 리모닌 생산은 소형조류를 조작하여 엽록체 내에서 이종의 효소 리모닌 신타아제를 발현하도록 함으로써 이루어진다. 리모닌 신타아제는 테르펜 전구체 게라닐 파이로포스페이트를 리모닌으로 변환시킬 수 있다. 리모닌과는 달리, 게라닐 파이로포스페이트는 소형조류의 엽록체에 자연적으로 존재한다. 리모닌 신타아제의 발현은 리모닌 신타아제를 코딩하는 이종의 gene을 소형조류의 엽록체 게놈에 삽입함으로써 완수될 수 있다. 변경된 종의 소형조류는 호모플라스미(호모플라스미)로 되어 리모닌 유전자가 모든 후손의 엽록체 게놈에서 안정하게 유지되도록 해준다. 소형조류는 삽입된 유전자가 엽록체 게놈의 모든 복사본에 존재할 때 유전자에 대해 호모플라스미이다. 본 발명 분야에 능숙한 자에게 엽록체가 그 게놈의 다중 복사본을 함유할 수 있다는 사실은 자명하며, 따라서, "호모플라스미적" 또는 "호모플라스미"라는 용어는 관심의 대상이 되는 특정 로커스(locus)의 모든 복사본이 실질적으로 동일한 상태를 의미한다. 색소체 발현에 따라 상동 재조합에 의해 각각의 식물 세포에 존재하는 환상 색소체 게놈의 수 천개의 복사본 모두로 유전자가 삽입되며, 이러한 많은 복사본의 수를 이용함으로써 핵 발현 유전자에 비해 큰 이점을 가질 수 있고, 전체 용해 가능한 식물 단백질의 10%를 초과하는 수준의 발현을 성취할 수 있다.

## 발 현

[0214] 엽록체는 광합성 생물의 생산적 세포기관이며 다양한 단백질 합성이 일어나는 곳이다. 여기에 있는 모든 발현 벡터들은 엽록체 발현을 위해 선택적으로 적응될 수 있다. 고등 식물로부터의 여러 개의 엽록체 프로모터가 기술되어 있다(Kung and Lin, Nucleic Acids Res. 13: 7543-7549 (1985)). 유전자 생산물은 엽록체 내의 발현 벡터로부터 발현될 수 있다. 발현 벡터에 의해 코딩된 유전자 생성물은 또한 엽록체 타깃팅 서열에 의해 엽록체로의 타깃이 될 수 있다. 예를 들어, 타깃팅 발현 벡터 또는 발현 벡터에 의해 엽록체로 코딩되는 유전자 생산물은 연료 분자의 생산을 허용하거나 개선시키는 단백질이나 웨타이드를 코딩하는 조절 제어 서열과 서열이 제공하는 효과들을 더욱 증진시킨다.

[0215] 본 명세서에 기술된 엽록체 타깃팅을 다양하게 조합하여 실행할 수 있으며 본 명세서에 기술된 다른 특성과 결합될 수 있다. 예를 들어, 테르펜 신타아제를 코딩하는 뉴클레오티드 서열은 엽록체 타깃팅 서열을 코딩하는 뉴클레오티드 서열에 동작적으로 연결될 수 있다. 숙주 세포는 엽록체로 타깃팅된 리모닌 신타아제를 코딩하는 발현 벡터에 의해 변형될 수 있으며, 따라서, 엽록체 타깃팅 서열이 아닌 리모닌 신타아제를 코딩하는 발현 벡터에 의해 변형되는 숙주 세포에 비하여 더 많은 리모닌 신타아제를 생산할 수 있다. 증가된 리모닌 신타아제 발현은 적은 생산물을 생산하는 숙주 세포에 비하여 더 많은 리모닌을 생산할 수 있다.

[0216] 또 다른 예에서, 유기체에 의해 자연적으로 생산되지 않는 생산물(예를 들어 연료 생산물, 방향 생산물, 살충제 생산물)을 유기체를 기관으로 하여 자연적으로 생산된 전구체를 이용하여 생산하는 효소를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 발현 벡터는 엽록체로 타깃팅된다. 효소를 엽록체로 타깃팅함으로써, 생산물의 생산이 효소가 발현되지만 엽록체에 타깃팅되지 않는 숙주 세포에 비해 증가될 수 있다. 이론에 구속되지 않고, 이는 증가된 전구체가 엽록체에서 생산되고 따라서, 도입된 뉴클레오티드 서열에 의해 코딩된 효소에 의해 더 많은 생산물이 생산되기 때문이다.

## 방 법

[0218] 생산물(예를 들어 연료 생산물, 방향제 생산물, 살충제 생산물)은 본 발명의 하나 또는 그 이상의 핵산에 의해 변형된 비판다발성 유기체를 재배하고 배양하는 단계를 포함하는 방법에 의해 생산될 수 있다. 상기 본 발명의 방법은 유기체를 변형하는 단계를 더 포함할 수 있다. 이러한 변형은 본 발명의 분야에서 알려진 방법이나 본 명세서에 기술된 방법에 의해 수행될 수 있다. 본 발명의 방법은 유기체에 의해 생산된 생산물을 수집하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0219] 본 발명의 방법은 유기체에 플루 가스(flu gas)와 같은 무기 탄소 소스를 제공하는 단계를 더 포함할 수 있다. 어떤 경우에, 상기 무기 탄소 소스는 생산물(예를 들어, 연료 생산물)을 만들기 위해 필요한 모든 탄소를 제공한다. 재배 및 배양 단계는 바람직하게는 미네랄 및/또는 비타민을 함유하는 것과 같은 적절한 매체에서 일어난다.

- [0220] 관련되지만 별개의 측면에서, 생산물(예를 들어, 연료 생산물, 방향제 생산물, 살충제 생산물)을 생산하기 위한 방법은 발현 벡터를 가지는 광합성 유기체를 변환하는 단계, 유기체를 재배하는 단계, 및 유기체로부터 생산물을 수집하는 단계를 포함한다. 발현 벡터는 일반적으로 본 명세서에서 기술된 발현 벡터이며, 유기체의 부가적인 생합성 능력을 추가하기 위해 특정적으로 사용되거나 유기체 내에서 기존의 생합성 경로를 수정하기 위해 사용되는데, 두 경우 모두 광합성 유기체에 의한 분자의 생산을 증가시키거나 허용하기 위해 사용된다.
- [0221] 본 발명의 방법은 연료, 방향물 및 살충제 등의 생산물을 생산하기에 적합한 유전자를 선택하는 단계, 광합성 유기체의 세포를 상기 유전자로 변형하는 단계, 및 상기 유기체를 생산물을 생산하기에 적합한 조건에서 재배하는 단계를 포함한다. 본 발명에서 사용하기 위한 유기체는 종래의 발효 생물 반응기에서 배양될 수 있으며, 상기 반응기는 배치 배양, 유가(fed-batch) 배양, 세포 재생 및 연속 발효기를 포함하나 이에 한정되지는 않는다. 또한, 이들은 광생명 반응기(예를 들어, 미국 공개 특허 20050260553, 미국 특허 5,958,761 및 미국 특허 6,083,740 참조)에서 배양될 수 있다. 배양은 또한 쉐이크 플라스크, 테스트 튜브, 소형 타이터 접시 및 페트리 플레이트에서 수행될 수 있다. 배양은 재조합 세포에 적합한 온도, pH 및 산소 함량의 조건에서 수행된다. 이러한 배양 조건은 본 발명의 분야에서 통상의 지식의 범위에 있다.
- [0222] 숙주 유기체는 또한, 예를 들어, 매립지와 같은 땅에서 재배될 수 있다. 숙주 유기체는 에탄올 생산 공장 또는 이산화탄소를 생성하는 다른 시설이나 지역(예를 들어, 도시, 고속도로 등)의 근처에서 재배된다. 따라서, 본 발명의 방법은 에탄올 생산 식물의 근처에서 본 발명에 기술된 하나 또는 그 이상의 변형된 유기체를 재배함으로써 연료를 생산하는 동안, 탄소 부채를 에탄올 공장 또는 이산화탄소를 생성하는 다른 시설이나 지역에 판매하는 비즈니스 방법을 고려한다.
- [0223] 또한, 유기체는 옥외의 연못, 대양, 바다, 강, 강 바닥, 습지, 얕은 물, 호수 및 저수지 등 야외에 있는 물에서 자랄 수 있다. 물에서 자라는 경우, 유기체는 레고와 같은 입자를 포함하는 할로겐성 물체를 포함할 수 있다. 할로겐성 물체는 조류를 둘러싸서 영양성분을 아래의 물로부터 보존하도록 해 주고 햇빛을 쪼일 수 있게 해준다.
- [0224] 어떤 경우에, 유기체는 컨테이너에서 재배될 수 있으며 각 컨테이너는 1 또는 2개 또는 다수의 유기체를 재배할 수 있다. 컨테이너는 물에 뜨도록 조절될 수 있다. 예를 들어, 컨테이너는 물과 공기의 조합으로 채워져 컨테이너와 포함된 유기체를 물에 뜨게 할 수 있다. 담수에서 성장하도록 적응된 숙주 유기체는 따라서 염분을 포함하는 물(예를 들어, 대양)에서 재배할 수 있고 그 반대도 가능하다. 이러한 메커니즘으로 인해 컨테이너에 결함이 생기는 경우에 유기체의 자동적인 사망이 허용된다.
- [0225] 어떤 경우에 다수의 컨테이너가 상기 기술된 할로겐 유사 구조에 포함될 수 있다. 예를 들어, 100, 1,000, 10,000, 100,000 또는 1,000,000개에 이르는 컨테이너가 1 평방미터의 할로겐 유사 구조에 배열될 수 있다.
- [0226] 어떤 실시예에서, 생산물(예를 들어, 연료 생산물, 방향 생산물, 살충제 생산물)들은 유기체를 수확함으로써 수집된다. 생산물은 그 후에 유기체로부터 추출될 수 있다.
- [0227] 어떤 실시예에서, 생산물의 발현(예를 들어, 연료 생산물, 방향 생산물, 살충제 생산물)은 유도 가능하다. 생산물들은 발현되도록 유도될 수 있다. 발현은 빛에 의해 유도될 수 있다. 또 다른 실시예에서, 생산물의 생산은 자동으로 조정 가능하다. 생산물은 또한 피드백 루프를 형성할 수 있으며, 이들 생산물(예를 들어, 연료 생산물, 방향 생산물, 살충제 생산물)이 특정 수준에 이르면, 생산물의 발현은 억제될 것이다. 다른 실시예에서, 유기체의 대사 산물의 수준이 생산물의 발현을 억제한다. 예를 들어, 생산물을 발현하기 위해 증가된 에너지 생성으로 인해 유기체에 의해 생산된 내인성의 ATP는 피드백 루프를 형성하여 생산물의 발현을 억제하게 된다. 또 다른 예에서, 예를 들어, 가볍거나 외인성의 작용체에 의해 생산물의 생산이 유도 가능한데, 예를 들어, 숙주 유기체에서 생산물의 생산을 실행하기 위한 발현 벡터는 외인성 작용체에 의해 활성화되거나 비활성화되는 유도 가능한 조절 제어 서열을 포함할 수 있다.
- [0228] 본 명세서에 기술된 방법은 본 발명에서 기술된 모든 연료 생산물을 생산하기 위해 새로운 유전자 및 발현 벡터를 스크린하는 방법에 관한 것일 수 있다. 이러한 방법들은 (1) 핵산의 후보 핵산 발현 벡터를 광합성 유기체로 삽입하는 단계, (2) 이들로부터 생산된 추정상의 연료 생산물을 수집하는 단계, (3) 상기 추정상의 연료 생산물을 질량 분석을 거쳐 추정상의 연료 생산물의 특성과 생산물이 연료 생산물에 적합한지를 결정하는 단계를 포함한다. 어떤 실시예에서, 단계 (2)는 알려진 연료 생산물을 수집하고 후보 발현 벡터가 후보 발현 벡터가 없는 광합성 유기체에 비교하여 연료 생산물의 생산을 더 증가시키는지를 조사하는 방법을 포함할 수 있다.

[0229] 본 발명의 개시는 하기 예들에 의해 더 상세히 기술되며, 이는 어떠한 경우에도 본 발명을 제한하기 위한 것은 아니다. 데이터를 산출하기 위한 실험방법들이 허기에 좀더 상세히 기술되었다. 이들 개시는 예시적인 방법으로 기술되었으며, 사용된 용어는 제한적인 의도가 아닌 본질적으로 발명을 기술하기 위한 의도로 사용된 것으로 이해되어야 한다.

### 실시예 1

[0231] 세스퀴테르펜, 쿠파렌의 분쇄는 본 명세서에서 제공된 방법에 의해 이루어졌다. 본 예에서, 쿠파렌의 촉매 분쇄를 예시하기 위해 10-링 분자 시브 촉매 조성물이 선택되었다. 제올라이트는 SN27로 알려진 ZSM-5 물질이며 ZSM-5 종류의 제올라이트에서는 비교적 높은 27/1  $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ 의 알루미늄 함량을 가진다. 이 물질은 암모늄 양이온과의 교환과 이어지는 펠스 반응기 내에서의 500°C에서의 소성(calcination)에 의해 사용하기 전에 양성자 형태로 변환된다.

[0232] 본 명세서에서 기술된 생물학적으로 유도된 탄수화물의 촉매 반응을 연구하기 위해 펠스 반응기가 제조되었다. 디자인적 기준은 신뢰성 있는 결과를 가져오기 위하여 필요한 반응물의 양을 최소화하고, 생산물과 생산물 분포의 측정을 허용하는 것을 포함한다. 도 1a에 도시된 바와 같이, 펠스 반응기(10)는 1000°C를 초과하는 온도를 견딜 수 있는 30cm 길이의 수정 튜브(20)로 구성된다. 수정 튜브는 각각의 단에 가스 입구(24)와 가스 출구(28)를 구비하고 있다. 브릿 디스크(30)가 중앙에 배치되어 촉매 표본(미도시)을 지지하는데 사용된다. 수정 응기 내 촉매의 꼭대기와 바닥에 위치하여 촉매를 제자리에 위치하도록 한다. 꼭대기의 0-링 커넥터(44)는 바닥에 있는 주사 주입 포트(50)와 다른 0-링 결합체(60)가 제거 가능한 U자형 트랩(70)을 연결하는데 사용되도록 허용한다. 선택적으로, 부가적인 튜브(80)가 0-링 연결부(60)에 부착되어 0-링 상에 생산물이 응축되는 것을 방지할 수 있다. 메인 튜브(20)는 튜브형 반응기에 위치할 수 있으며 온도 제어기(미도시)가 부착된다. 도 1b는 동작중인 펠스 반응기의 개략적 다이어그램이다. 간단히, 운반 가스의 연속적 흐름이 일반적으로 압력 및 흐름 조절기를 통해 제공된다. 운반 가스는 주사 주입 포트를 거쳐, 튜브 아래쪽으로 촉매 표본을 지나 트랩으로 흐른다. 운반 가스는 탄수화물 반응물을 촉매로 운반하며 선택점으로 특정한 반응 기체를 제공할 수 있다. 예를 들어, 운반 가스는 헬륨 또는 질소(비활성 대기), 수소(환원성 대기) 또는 산소(산화성 대기)일 수 있다. 촉매 표본은 반응물의 펠스를 도입하기 전에 바람직한 대기와 온도 하에서 전처리될 수 있다. 반응기는 화로 안에서 원하는 반응 온도에 이르게 되며, 반응 온도에서 적은 양의 탄수화물 반응물이 이러한 "펠스"를 촉매로 전달하는 연속적 흐름으로 주입된다. 반응 생산물을 수집하기 위해, 바닥의 U자 튜브 트랩(70)이 액체 질소가 채워진 냉각된 트랩에 잡기게 된다. 촉매 반응의 생산물은 U-튜브 트랩 안에서 동결되며 U-튜브 트랩을 제거하여 용매(예를 들어, 메탄올)로 세척함으로써 회복될 수 있다. 생산물은 생산 종의 정량적 결정을 위해 다시 GC/MS로써 분석되고, 또는 정량적 분석을 위해 FID 검출기를 가지는 GC로 분석될 수 있다. GC 및 GC/MS 시스템 모두에서, 동일한 컬럼의 온도 프로그래밍 프로파일을 가지는 크로마토그래피 컬럼들이 사용되었다. 이들은 50-m PONA 모세 컬럼들이며, 두 장치 모두에서 분리인젝터가 사용되었다.

[0233] 쿠파렌은 C15 분자로서, 높은 녹는점(약 275°C)을 가지며 따라서 분석을 위해 크로마토그래피 방법의 조절을 거칠 수 있다. GC/MS 시스템이 분쇄 생산물의 분석을 위해 사용되었다.

[0234] 쿠파렌 분쇄의 촉매 분쇄를 위한 실험은 완전히 양자가 가해진 SN27 상에서 수행되었다. 분쇄 조건은 500°C이고 쿠파렌이 헬륨 운반 가스(100cc/min)에 의해 25mL 펠스의 펠스 반응기에 제공되었다. 쿠파렌의 분쇄 생성물로의 변환은 거의 100%였으며 주요 생산물은 톨루엔, 벤젠, 크실렌, 에틸벤젠 및 무거운 방향물이었다. 벤젠과 크실렌과 같은 일부 방향물을 피하기 위해, 분쇄는 450, 400, 350 및 300°C의 낮은 온도의 분쇄 조건 하에서 수행되었다. 여러 다른 온도에서 얻어진 다양한 분쇄 생산물이 도 1c에 요약되었다.

### 실시예 2

[0236] LZY-72는 분쇄 촉매로 자주 사용되는 유니온 카바이드의 Y-타입 제올라이트이다. 본 예에서 사용된 촉매 성분은 일반적으로는 나트륨 형태인 LZY-72 기반으로 시작되며, 이로부터 기반이  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  수용액과 이온 교환되어 제올라이트의 암모늄 형태를 생산한다. 암모늄 제올라이트를 가열함으로써 암모니아를 제거하여 양성자 형태로 변환시킬 수 있다. 제올라이트의 양성자 형태는 강력한 산성으로 작용한다. Y-타입 제올라이트는 구멍이 3차원적 네트워크를 이루며 그 입구는 약 8.6Å이고 구멍 안은 거의 구형의 케이지 형태로 자유 직경은 약13Å이다.

[0237] 제2 촉매, SN27는 ZSM-5 독일 VAW-AG사에서 제조하는 제올라이트 기반 물질이다. 이물질의  $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$  비율

은 27/1이다. 이 제올라이트는 또한 나트륨의 형태로 공급되었으며, 가열 후에 이를 강산으로 만들기 위해 유사한 암모늄 교환 방법이 사용되었다. ZSM-5 제올라이트는 거의 실린더 모양에 약 5.5Å 직경의 구멍 크기를 가지는 2차원 채널 시스템의 특징을 가진다.

[0238] 본 예에서 쿠파렌인 세스퀴테르펜의 분쇄는 쿠파렌을 SN27 촉매에 접촉시킴으로써 수행되며, 이 방법에서 생산되는 생산물은 도 2a에 요약되었다. 도 2a에 예시된 바와 같이, 높은 쿠파렌 전환은 고온(450 내지 500°C)에서 얻어지며, 적은 양의 벤젠, 크실렌 및 에틸-메틸 벤젠을 포함하는 톨루엔이 주된 생산물이다.

[0239] LZY-72 촉매를 사용하여, 쿠파렌은 훨씬 낮은 온도에서 도 2b에 요약된 바와 같은 고온탄가 성분으로 분쇄되었다. LZY-72 촉매로 쿠파렌을 분쇄하기 위한 모든 성분의 주성분은 톨루엔이었다. 크실렌과 벤젠 유도체가 바람직하게 고온에서 생산되었으며 이는 SN27 촉매를 사용하였을 때의 결과와 유사하였다. 저온에서, 싸이클로펜탄과 싸이클로헥산의 유도체는 매우 적은 양의 벤젠으로 상당한 양이 제조되었으며, 이는 상기 고온탄가 연료 생산물이나 연료 성분이 연료 생산물로서의 블렌딩에 적합함을 나타낸다. 도 2c, 2d 및 2e는 쿠파렌을 LZY-72 제올라이트로 각각 200, 250 및 300°C에서 분쇄하였을 때 조성물을 나타낸다. 팔호 안의 숫자는 각종 성분에 대한 옥탄가 범위를 나타낸다.

[0240] 쿠파렌 분쇄로부터 얻은 생산물의 수소 대 탄소 (H/C) 비율이 또한 관찰되었다. 반응성 쿠파렌은  $C_{15}H_{22}$ 이며, H/C 비율은 1.47이다. 쿠파렌이 두 개의 기본 링으로 정확히 분쇄되면, 생산물들은 54.5% 트리메틸싸이클로펜텐,  $C_8H_{14}$ , 및 45.5% 톨루엔,  $C_7H_8$ , 일 것이며 이 혼합물은 원래 분자와 동일한 H/C 비율 1.47을 가져야 할 것이다. 그러나, 본 예의 분쇄 생산물 혼합물은 트리메틸싸이클로펜텐 대신에 트리메틸싸이클로펜탄 및 디메틸사이클로헥산을 포함하였다. 포화 나프텐은 불포화 나프텐보다 더 높은 H/C 비율을 가지기 때문에, 전체 생산물은 반응물에 비해 더 높은 H/C 함량을 가질 것으로 기대할 수 있다. 결과적으로, 반응에 수소를 더 첨가하는 것이 필요하다. 그러나, 실제 생산물의 측정된 H/C 비율은 도 2b에 도시된 바와 같이 1.43이며 이것은 수소의 추가 없이도 가능하였는데, 이는 실제 톨루엔의 무게 중분(62.1%)이 45.5%를 초과하였기 때문이다. 따라서, 분쇄 생산물은 휘발유 또는 제트 연료와 같은 연소 연료 생산물에 적합한 고온탄 생산물을 포함한다.

[0241] 또한, LZY-52 촉매를 사용함으로써 SN27 촉매를 사용한 경우에 비해 모든 온도에서 적은 양의 방향물로써 더 많은 쿠파렌을 분쇄하였다. 이러한 차이는 구멍 크기의 차이로부터 기인한다. SN27의 구멍 직경은 약 5.5Å이고 구멍 구조는 방향 링을 받아 들이는 것으로 알려져 있으나, 쿠파렌의 크기와 모양이 그 구멍에 들어가기에는 다소 크다. 높은 온도가 SN27을 이용한 촉매 분쇄에는 높은 온도가 필요한 것으로 보이나, 고온에서는 선택성이 잘 발휘되지 못한다. 8.6Å 정도의 구멍 크기를 가지는 LZY-52가 쿠파렌 분자를 분쇄하기에 더 적절한 것으로 보인다.

[0242] 본 예의 다른 경우에, 생산물에서 휘발유와 같은 연료 생산물에서 바람직하지 않은 알킬싸이클로펜텐이나 알킬싸이클로헥센은 측정 가능한 정도의 양으로 검출되지 않았다. 이러한 불포화물은 사용이 가능하기는 하지만, 휘발유에 다양으로 함유되면 반응성에 문제를 야기할 수 있다. 어떤 경우에, 휘발유와 같은 연료 생산물에서 바람직하지 않은 또 다른 물질인 벤젠도 또한 측정 가능한 정도의 양으로 검출되지 않았다.

### 실시예 3

[0244] 제올라이트 베타는 PQ 촉매(현재 Zeolyst International의 일부)로부터 얻어진다. 이 물질은 발포(Valfor) CP811BL-25으로 알려져 있다. 그  $SiO_2/Al_2O_3$  비율은 약 25 정도이며, 산성(완전히 양성자화된) 형태로 제공되었다. 제올라이트 베타는 펄스 반응기로 적재되기 전에 20-40 메쉬 입자 상태의 거친 분말로부터 펠릿으로의 가압하고, 모르타르와 막자로 분마 및 체거름하여 전환된다.

[0245] 예 2에서 예시된 제올라이트 Y와 비슷하게, 제올라이트 베타는 12 링, 3차원 구멍 시스템을 가진다. 제올라이트 Y와는 달리, 제올라이트 베타는 훨씬 높은  $SiO_2/Al_2O_3$  비율로써 합성될 수 있다. 이는 단백질 싸이트에 낮은 밀도를 갖게 하지만, 각각의 싸이트는 일반적으로 제올라이트 베타에서 더 강하다.

[0246] 쿠파렌을 분쇄하는 방법은 펄스 반응기내에서 촉매 분쇄 조건 하에서 쿠파렌을 제올라이트 베타와 접촉시킴으로써 수행된다. 200°C의 낮은 온도의 조건에서 높은 쿠파렌 전환이 관찰되며, 200 내지 500°C의 사용된 모든 온도에서 톨루엔이 주된 생산물이었다. 도 3a는 제올라이트 베타(Valfour CP811BL-25) 촉매를 사용한 쿠파렌 분쇄에서의 온도 반응성과 이로부터 얻어진 생산물을 상세히 예시한다. 도 3b와 도 3c는 200 및 250°C에서 제올라이트 베타(Valfour CP811BL-25) 촉매를 사용하여 쿠파렌을 분쇄한 생산물을 상세히 도시한다. 팔호 안의 숫자는 물질의 옥탄가를 나타낸다. 다른 이성질체가 다른 옥탄가를 가지게 되는 범위가 도시되었다.

## [0247] 실시예 4

[0248] ELZ-L 제올라이트의 암모늄 칼륨 형태(Linde 문자 시브)를 시초로 하여 제조되었다. 10g의 칼륨 형태의 제올라이트가 10g의 암모늄 아세테이트를 포함하는 수용액 50cc에 슬러리되었다. 이 혼합물은 데워진 후 밤새 교반되었으며, 그 이후에 용액을 필터링하여 제거한 후, 상기 방법을 두 번째 반복하였다. 이 물질들을 사용전에 125°C에서 밤새 건조시켰다. 마이크로밸런스 흡수물 제거 실험은 500°C에서 건조된 이후 물질의 강한 양성자 함량을 보여 준다.

[0249] 쿠파렌의 분쇄는 펄스 반응기 내에서 쿠파렌을 ELZ-Z 촉매 성분에 접촉시킴으로써 수행되었다. 분쇄 생산물을 GC와 GC/MS로써 분석되었다. 나타난 크로마토그램은 넓은 배였던 분쇄 생산물을 보여 주며, 특히 저온에서 이러한 경향이 강하였다. 크로마토그램의 최대 피크 영역의 최소한 1%를 가지는 피크 만이 분석되었다. 무시된 피크들은 각각 크로마토그램의 전체 영역 숫자의 약 0.3% 정도를 차지하였다. 보존된 피크들은 NIST MS 지문 데이터베이스를 이용한 라이브러리 검색을 이용하여 식별되었다.

[0250] ELZ-L 촉매로 쿠파렌을 분쇄하여 테스트된 모든 온도에서 주로 톨루엔과 나프텐(환형 알칸)을 생산하였으며, 도 4에 도시하였다. 높은 분쇄 온도는 크실렌(디메틸벤젠)과 기타 다른 벤젠 유도체들(트리메틸벤젠, 에틸벤젠, 메틸-아이소프로필벤젠)의 생산을 증대시켰으나, 나프텐과 일부 톤루엔의 생산은 감소하였다. 1% 미만의 생산물이 벤젠이었다. 올레핀은 250와 490°C에서 분쇄 생산물의 1%와 9%를 각각 차지하였다. 주목할 만한 양의 나프탈렌(C10+ 방향물)이나 유산소물(산소 함유 분자)은 생산되지 않았다.

[0251] ELZ-L 촉매는 예 2와 예 3에서 예시된 LZY-72 및 제올라이트 베타 촉매와 유사한 분쇄 생산물을 생산하였다. 특히, LZY-72와 ELZ-L는 톤루엔과 나프텐을 비슷한 양으로 생산하였다. 하지만, LZY-72 촉매는 동일한 온도에서 ELZ-L에 비해 더 많은 크실렌과 벤젠을 생산하였으나, LZY-72는 또한 250와 300°C에서 더 좋은 쿠파렌 전환율을 보여 주었다. 제올라이트 베타는 400°C 및 그 이하에서 ELZ-L에 비해 더 많은 톤루엔을 생산하였다. LZY-72와 같이, 제올라이트 베타는 또한 필적할 만한 온도에서 ELZ-L에 비해 더 많은 크실렌과 벤젠을 생산하였다. LZY-72와 ELZ-L 모두 상당한 양의 나프탈렌을 모든 온도에서 생산하지 않은 반면에, 제올라이트 베타는 또한 400°C 및 그 이상의 온도에서 나프탈렌을 생산하였다. 제올라이트 베타에 비교하면, ELZ-L는 300°C 또는 그 이하의 온도에서 빈약한 쿠파렌 전환율을 보여 주었다.

[0252] 제올라이트 베타, LZY-72 및 ELZ-L를 통한 쿠파렌 분쇄는 상당한 양의 톤루엔을 생산하였으며, 그 양은 30% 미만으로는 내려가지 않았으며 보통 50% 또는 그 이상의 양이 본 예와 예 2 및 예 3에서 예시되었다. 높은 온도(450°C)에서, 크실렌은 약 20%로서 두번째로 풍부한 물질이었다. 분쇄 온도를 200에서 300°C 사이의 온도로 낮추면 약 30%의 나프텐이 LZY-72와 ELZ-L 촉매를 통해 생산된다. 중간 정도의 온도에서도 벤젠과 올레핀 형성이 감소하였다. 쿠파렌 분쇄를 위한 세 개 모두의 대구경 문자 시브는 쿠파렌을 고온 탄 연료 생산물, 조성분 또는 첨가제로 분쇄하기 위한 훌륭한 후보로 보인다.

## [0253] 실시예 5

[0254] 조류로부터 추출된 오일은 도 5a에 도시된 바와 같은 구성의 펄스 반응기에서 분쇄되었다. 본 발명에 기술된 신선한 제올라이트 베타 촉매가 각 분쇄 실험에서 사용되었으며 사용 전에 건조되었다. 분쇄 실험들은 500, 450, 400, 350 및 300°C에서 수행되었다. 분쇄 생산물은 GC/MS에 의해 분석되었다. 피크들은 보존 시간과 NIST MS 지문 데이터베이스를 이용한 라이브러리 검색을 조합하여 식별되었다. MS 지문이나 GC 보유 시간에 의해 식별될 수 없었던 피크는 "알 수 없음"으로 표시되었다.

[0255] 오일이 조류로부터 CO<sub>2</sub>를 이용하여 추출되었으며 제 1 천연 표본을 제공하였다. 일부 천연 조류 오일은 RBD 방법으로 정제되어 제 2 정제 표본을 제공하였다. 각 표본은 500, 450, 400 및 350°C의 온도의 분쇄 조건에서 분쇄되었다.

[0256] 천연 조류 오일은 도 5b에 도시된 바와 같이 본 명세서에 기술된 방법에 의해 거의 같은 양의 파라핀, 올레핀, C8-C14 방향물 및 나프탈렌으로 분쇄되었는데, 이 방법에 의해 0.1g의 천연 조류 오일이 여러 온도에서 0.1g의 제올라이트 베타와 접촉하여 분쇄되었다. C4-C13 파라핀과 나프탈렌은 생산물의 평균 19%를 차지하였고, 나프텐과 올레핀은 평균 16%를 차지하였다. 메틸부탄이 모든 온도에서 주요 생산물이었으며, 생산물의 약 9%를 차지하였다. 파라핀, 나프텐 및 올레핀 생산은 분쇄 온도가 증가함에 따라 감소하였다. 벤젠, 톤루엔, 크실렌 및 C9-C14 방향물의 함량은 분쇄 온도에 따라 증가하였다. 나프탈렌 생산은 400°C에서 가장 많았다. 결정되지 않은 구조를 가지는 유산소물은 모든 온도에서 생산물의 1% 미만이었다. 결과적으로, 수분이 의미있는 반응 생산물로 기대되었으나, 수분은 이들 특정 방법들에서 그 양이 산출되지 않았다. 350°C에서의 알 수

없는 물질들은 각각 0.1-0.5%에서 전체 농도에 기여하는 18개의 피크를 식별할 수 없었던 것에서 유래한다.

[0257] 도 5b는 또한 일반 표준 주유소에서 채취한 87, 89 및 91 옥탄가 휘발유의 성분을 예시한다. 석유 휘발유에 비하여, 자연 조류 추출물로부터의 생산물은 실질적으로 매우 적은 파라핀과 더 많은 나프탈렌을 포함하였다. 휘발유는 또한 관찰된 자연 조류 오일 생산물보다 작은 분자를 가지려는 경향을 보였다. 예를 들어, 휘발유내의 파라핀은 C4-C10이었지만, 분쇄 생산물 내의 파라핀은 C13까지의 범위를 가졌다. 이러한 경향은 나프텐, 올레핀 및 C8-14 방향물에서도 마찬가지였다.

[0258] 조류 오일의 두번째 표본은 본 예의 방법에 의해 분쇄되었으며, 상기 두번째 표본은 RBD 방법에 의해 정제된 후, 0.1g의 두번째 표본이 0.1g의 제올라이트 베타를 이용하여 분쇄되었다. 도 5는 파라핀이 정제된 조류 오일의 주된 분쇄 생산물임을 보여 주는데, 전 온도에서 평균 20%이었다. 올레핀, C8-C14 방향물 및 나프탈렌은 모두 평균 약 18% 정도였다. 벤젠의 함량은 모든 온도에서 생산물의 평균 2.5% 정도였으며 400°C에서 최대 3.8%에 이르렀다. 정제된 오일의 분쇄로부터 유산소물은 발견되지 않았으나, 수분은 존재할 가능성이 매우 높았다. 평균적으로 1% 미만의 피크는 식별되지 않았다. 기술된 나프텐 함량은 온도가 높아짐에 따라 감소하였고, C8-C14 방향 물질은 증가하였다.

[0259] 정제된 조류 오일로부터의 분쇄 생산물은 원유 분쇄 생산물과 유사하였다. 또한, 톨루엔과 크릴렌 함량은 본 예의 휘발유 표본에 비해 낮았다. 도 5d는 천연 및 정제 조류 오일로부터 분쇄된 생산물을 87, 89 및 91 옥탄가 석유 휘발유와 비교한다. 평균적으로, 조류 오일로부터 분쇄된 두 세트의 생산물 사이에 의미있는 차이는 존재하지 않았는데, 이는 RBD에 의한 정제가 분쇄 생산물의 생산을 개선시키지 않음을 보여 준다. 어떤 경우에, 분쇄 생산물은 통상적인 분별 정제를 거쳐 적절한 휘발유 생산물을 생산할 수 있다. 다른 경우에, 분쇄 생산물은 연료 생산물, 성분 또는 첨가제로서 사용될 수 있다.

## 실시예 6

[0261] 세스퀴테르펜인 파르네센은 파르네센을 상기 쿠파렌 분쇄 예에서와 같은 암모늄 교환 형태인 LZY-72 촉매에 접촉시킴으로써 분쇄되었다. 이 물질은 전처리 방법에서 500°C로 가열함으로써 산성(양성자화) 형태로 변환되었다.

[0262] 분쇄 생산물은 GC/MS로써 분석되었다. 크로마토그램은 특히 저온에서 분쇄 생성물의 넓은 배열로 인해 매우 복잡해 지는 경향이 있다. 크로마토그램의 최대 피크 영역의 최소한 1%를 가지는 피크 만이 본 보고서에서 분석되었다. 더 작은 피크들은 각각 크로마토그램의 전체 영역 숫자의 약 0.3% 정도를 차지하는 경향이 있었다. 보존된 피크들은 보존 시간과 NIST MS 지문 데이터베이스를 이용한 라이브러리 검색을 조합하여 식별되었다. MS 지문이나 GC 보유 시간에 의해 식별될 수 없었던 피크는 "알 수 없음"으로 표시되었다.

[0263] 파르네센은 25 $\mu$ L을 준비된 GC 컬럼에 2mL의 농축된 파르네센이 수집될 때까지 반복 주입하여 61%로 농축되었으며 그 조성물은 표 3에 나타내었다.

표 3

성분	중량%
파르네센	61.4
비사볼렌	11.2
알 수 없음	10.3
쿠루쿠멘	7.8
알파 세드렌	2.2
감마 구아이엔	2.2
5,5-디메틸-1-프로필-1,3-싸이클로펜타디엔	1.7
2-메틸-3-(3-메틸-부트-2-에닐)-2-(4-메틸-펜트-3-에닐)-옥세탄	1.6
카리오플렌	1.6

[0265] 농축된 파르네센은 LZY-72 촉매로써 분쇄된다.

[0266] 총체적으로, LZY-72 촉매를 이용하여 파르네센을 분쇄함으로써 60%의 방향성 분자, 25%의 나프텐 및 13%의 파라핀을 생산하였다. 도 6a에 도시된 것과 같이 분쇄를 통해 200 내지 300°C에서는 주로 나프텐이, 더 높은 온도에서 난 방향물이 생성되었다. 200 내지 300°C 사이의 분쇄 조건에서 메틸 및 디메틸사이클로헥산이 주된 나프텐으로서, 전체 나프텐의 21% 및 17%를 각각 차지하였다. 나프텐 생산물은 도 6a에 도시된 바와 같이 분쇄

온도가 올라감에 따라 감소하였다. 크실렌, C9-C10 방향물, 나프탈렌 및 벤젠의 함량은 분쇄 온도가 올라감에 따라 증가하였다. 트리메틸벤젠이 주된 C9-C10 방향물 분자였으며, 평균 63%의 C9-C10 방향물 분자가 모든 온도에서 나타났다. 벤젠은 400°C에서 전체 생산물의 1.5%에 이르렀으며, 파르네센을 490°C에서 분쇄할 때 최고치인 3%에 이르렀다. 톨루엔과 파라핀은 모든 온도에서 비교적 균일하게 생산되었으며 각각 평균 17%와 12%에 이르렀다. 중간 구조의 산소물은 모든 온도에서 생산물의 2% 미만이었다. 유의할 정도의 올레핀은 검출되지 않았다. 485°C에서 알 수 없는 물질이 증가한 것은 전체 농도에서 각각 1-3%에 이르는 4 개의 피크를 파악하지 못한 것에서 비롯된다.

[0267] 분쇄 온도가 높아짐에 따라 파르네센이 방향 생산물로 분쇄되는 경향이 커지는 것은 다른 세스퀴테르펜 분쇄 예에서 보여진 것과 일치한다. 일반적으로, 분쇄 온도가 높아짐에 따라 LZY-72를 이용하여 분쇄된 세스퀴테르펜은 나프텐이 감소하는 대신 더 많은 크실렌과 벤젠을 생산한다.

[0268] 도 6b는 파르네센 분쇄 생산물에서 발견되는 종에 대한 연구 및 차량 옥탄가의 평균값을 보여 준다. 91+ 컬럼은 메틸부탄, 메틸사이클로펜탄, 메틸사이클로헥산 및 벤젠을 제외한 방향성 분자를 포함한다. 다른 모든 나프텐과 파라핀은 기본 석유 휘발유 블렌딩 물질이나 직접 사용되는 휘발유에 좀 더 가까운 옥탄가를 나타내었는데, 60 내지 70의 옥탄가를 가진다.

[0269] 파르네센을 350°C에서 분쇄하여 높은 블렌딩 옥탄가, 예를 들어, 90보다 큰 옥탄가를 가지는 생산물을 78%가 넘게 포함하는 생산물을 생산하였다. 350°C에서 파르네센 분쇄로부터의 고옥탄가 생산물은 전반적인 혼합물이 높은 옥탄가를 가짐을 암시한다. 본 예에서 예시되었듯이, 파르네센과 이로부터 비롯되는 조성물을 분쇄하는 방법은 유용한 연료 생산물, 조성물 또는 첨가제일 수 있으며, 상기 조성물은 기본 석유 휘발유 공급물(옥탄가 60-80)과 더 높은 옥탄 블렌딩 공급물(옥탄가 91+)이다.

#### 실시예 7

[0271] 세스퀴테르펜의 혼합물을 분쇄하는 표본적인 방법이 본 예에서 수행된다. 생강 오일은 약 80%의 세스퀴테르펜을 포함한다. 징기베렌은 생강 오일의 36%를 차지한다. 다음으로 큰 성분은 16%를 차지하는 베타 세스퀴펠란드렌이다. 쿠루쿠멘, 파르네센 및 비사볼렌 또한 각 10% 정도의 양으로 존재한다. 본 예에서 분쇄된 생강 오일은 징계롤의 양을 최소화하기 위해 이산화탄소를 이용하여 생산하였는데, 오일의 약 6%를 차지하였다.

[0272] 생강 필수 오일을 분쇄하는데 사용된 LZY-72 촉매는 이전 쿠파렌의 분쇄 예에서 사용된 것과 같은 암모늄 교환 형태였다. 이 물질은 전처리 방법에서 500°C로 가열함으로써 산성(양성자화) 형태로 되었다.

[0273] 생강 오일은 펄스 반응기 촉매 분쇄 조건하에서 생강 오일을 촉매 성분과 접촉시켜 상기 예들과 유사한 방법으로 분쇄되었다. 약 절반의 생강 오일이 파라핀과 나프텐으로 분쇄되었다. 분쇄 온도가 높으면 나프텐과 일부 파라핀은 줄어들지만 방향 성분의 생산이 향상되었다. 따라서, 벤젠 형성이 200-250°C에서는 없었지만 485°C에서 약 5%가 형성되었다. 올레핀은 200°C에서 분쇄 생산물의 1.5%에 이르렀으며 고온에서는 검출되지 않았다. 유산소물은 어떠한 분쇄 생산물에서도 분명히 파악되지 않았다. 도 7은 이 예에서는 생강 오일에 해당하는 세스퀴테르펜 혼합물의 분쇄 방법으로부터 생산된 분쇄 생산물의 조성물을 예시한다. 생강 필수 오일을 300°C에서 분쇄하여 양호하며 다양한 나프텐, 파라핀, 크실렌과 벤젠 유도체를 얻었다. 많은 파라핀들이 분지되어 높은 옥탄가를 제공한다.

#### 실시예 8

[0275] 스쿠알렌은 표본적인 트리테르펜이다. 본 명세서에서 기술된 방법이 스쿠알렌을 분쇄하는데 사용되었다. 스쿠알렌의 분쇄에 사용된 LZY-72 촉매는 이전의 쿠파렌 및 파르네센 분쇄 예에서 사용된 것과 동일한 암모늄 교환 형태이다. 이들 물질은 전처리 방법에서 500°C로 가열함으로써 산성(양성자적) 형태를 변환시킨다. 분쇄 생성물은 GC/MS로서 분석되었다. 크로마토그램은 분쇄 생산물의 넓은 배열로 인해 매우 복잡해지는 경향이 있었으며, 이는 특히 저온에서 나타났다. 크로마토그램에서 가장 큰 피크 영역의 최소한 1% 정도의 영역을 가지는 피크들 만이 본 보고서를 위해 분석되었다.

[0276] 분쇄 방법은 도 8a에 도시되며, 이전 분쇄 예에서 관찰된 것과 유사한 생산물을 보여 주며 낮은 온도에서는 더 많은 나프텐이, 높은 온도에서는 더 많은 방향물이 생성되었다. 추가적으로, GC/MS 결과는 고온(> 450°C)에서만 검출가능한 정도의 벤젠이 나타나고 유산소물과 올레핀의 양은 무시할 수 있는 정도임을 보여 준다.

[0277] 분쇄 생산물의 옥탄가는 도 8b에 도시되는데, 생산물의 평균 블렌딩 옥탄가를 보여 준다. 고온에서의 높은 블렌딩 옥탄가는 생산물이 높은 방향 농도를 가짐을 나타낸다. 저온에서 낮은 옥탄가의 농도가 높은 것은 순환

성 성분의 옥탄가가 낮은 것에서 비롯된다.

#### [0278] 실시예 9

파이톨은 광합성 생물체에서 종종 발견되는 디테르펜이다. 파이톨 업록소 저하의 산물일 수 있다. 도 9a는 파라핀이 모든 온도에 걸쳐 평균 62%로서 파이톨의 주된 분쇄 생산물임을 보여준다. 나프텐은 200°C의 온도에서의 약 24%에서 490°C의 약 1%로 감소하였다. 분쇄 생산물의 방향물 함유는 온도가 올라감에 따라 모든 생산물에서 7%에서 42%로 증가하였다. 벤젠과 나프탈렌의 농도는 각각 3%와 2%에 이르렀으며, 둘 모두의 온도는 490°C였다. 어떠한 올레핀이나 유산소물도 파이톨의 분쇄로부터 발견되지 않았다.

도 9b와 9c는 파라핀 중에서 탄소 분포와 분지의 정도를 각각 도시한다. 낮은 분쇄 온도는 메틸펜탄이나 메틸헵탄과 같은 C6-C8 파라핀의 생산을 증대시켰으며, 높은 온도에서는 주로 메틸부탄이 생성되었다. 파이톨을 분쇄하여 생산된 파라핀 중 많은 부분은 도 9c에 도시된 바와 같이 모노메틸이었으며, 200°C와 490°C에서 각각 노멀 및 디메틸파라핀이 생성되는 경향이 있었다.

대부분의 파이톨 분쇄 생산물의 옥탄 블렌딩 수는 파르네센에서 유도된 것과 비슷하였다. 도 9d는 문자 군들을 평균적인 연구 및 차량 블렌딩 옥탄가에 따라 분류한다. 91+ 컬럼의 고옥탄가 문자는 방향족, 메틸부탄, 메틸사이클로펜탄 및 메틸사이클로헥산으로 구성된다.

#### [0282] 실시예 10

파이톨의 분쇄에 사용된 LZY-72 촉매는 이전 예에서 사용된 암모늄-교환 형태와 동일한 것이다. 분쇄는 350°C의 단일한 온도에서만 수행되었는데, 이 온도에서는 벤젠의 생산이 없거나 매우 적을 것으로 기대되었기 때문이다. 분쇄 생산물은 이전 예에서 기술된 것과 같은 GC/MS로써 분석되었다. 이후, 분쇄된 파이톨의 성분은 털사, 오클라호마의 소매 주유소에서 구매한 87, 89 및 91 등급 휘발유와 비교되었다.

본 예에서 보고된 6 개의 표본이 조사되었다: 생산물들은 조류로부터 유래하는 단일 펠스의 생산물이었다. 파이톨은 조류로부터 추출되었고 "조류 파이톨 추출물"로 명명되었다; 상업용 공급자(Sigma-Aldrich)로부터 유래하는 단일 펠스의 파이톨 생산물은 "상용 파이톨"로 명명되었다; 다중 펠스의 상용 파이톨 생산물은 약 0.5cc의 생산물 표본으로 생산되고 기체 바이알 내로 포획되었는데, 이들은 "상용 파이톨의 바이알"로 명명되었으며 87 옥탄 휘발유 표본, 89 휘발유 표본 및 91 휘발유 표본이 사용되었다.

본 명세서에 기술된 바와 같이, 파이톨 표본은 펠스 반응기 내에서 LZY-72 촉매와 접촉하여 분쇄되었다. 파이톨의 분쇄 생산물들이 도 10a에 휘발유 표본의 분석과 비교되어 보여진다. 파이톨로부터의 분쇄 생산물은 상용 휘발유 표본과는 달리 C4 탄수화물을 보이지 않는다. C5-C9 파라핀이 파이톨 생산물에 상용 휘발유의 경우 보다 많이 포함되어 있다. 파이톨 생산물에서 저농도의 톨루엔, 유산소물(휘발유 표본은 5% 에탄올을 포함) 및 벤젠이 관찰되었다.

350°C에서 분쇄된 파이톨 생산물의 옥탄 범위를 휘발유 표본과 비교한 데이터를 도 10b에 나타내었다. 상용 파이톨의 바이알은 다른 물질과 실질적인 차이를 보여주는 유일한 것이었다. 이로부터 낮은 91+ 옥탄 성분이 나타나며 주로 낮은 에탄올, 벤젠 및 톨루엔 농도의 결과이다. 이 문제는 분쇄 온도를 450°C로 조절함으로써 교정될 수 있다. 단일 펠스 표본으로부터 바이알의 대형 표본에서의 차이는 생산물 분포를 변경시킬 수 있는 촉매 비활성화에서 기인하는 것으로 보인다.

#### [0287] 실시예 11

다른 예들에서 사용된 LZY-72 촉매는 부분적으로 니켈과 이온교환되어 수소 분쇄 촉매로 사용될 수 있는 Ni/LZY-72를 생산한다. 이온 교환 방법은 다음과 같다. 10.0g의 암모늄 형태의 LZY-72가 50g의 물 안에 슬러리되고, 2.4g의 니켈(II) 아세테이트 테트라하이드레이트가 첨가된다. 이 혼합물은 밤새 상온에서 교반되어, 그 용액은 필터링되어 125°C에서 밤새 고체 건조된다. 이러한 촉매들은 둘다 니켈 및 양성자 존재로 인한 분쇄 활성 때문에 수소화 활성을 가진다. 펠스 실험을 위해, 0.5g의 상기 촉매가 펠스 반응기에 놓여 졌으며, 사용 전에 300°C에서 1시간 동안 수소 흐름하에서 활성화되었다. 수소 분쇄는 25μl 펠스의 파이톨을 사용하여 250, 300, 350, 400, 450 및 500°C의 온도에서 수소를 흐르게 하면서 수행되었다. 생산물은 액체 질소에 포획된 후, GC/MS 시스템에서 분석되기 전에 메탄올을 이용하여 포획물에서 세척되었다. 수소 분쇄 파이톨의 수소 분쇄 생산물이 도 11a에 도시되었다. 생산물의 옥탄가는 도 11b에 예시되었다.

#### [0289] 실시예 12

본 예는 테르펜으로부터 유도된 연료 생산물의 마크로 스케일에서의 생산을 기술한다. 간단히 서술하면, 스쿠

알렌은 털사 대학교의 노스 캠퍼스 시설에서 투브형 반응기를 통해 성공적으로 분쇄되어 1.37 갤런의 액체 생산물을 얻었다. 이 원료 액체 생산물로부터 0.95 갤런의 가장 가벼운 물질이 중류되었으며 ASTM 휘발유 분석을 위해 보내져서, 생산물의 옥탄가가 91.5임을 확인하였다.

[0291]

분쇄 방법은 털사(Tulsa) 대학의 노스 캠퍼스 시설에서 수행되었으며, 후드 안에 많은 화로와 투브형 반응기가 설치되었다. 장치의 간단한 개략적 그림이 도 12a에 도시되었다. 3-영역 화로(100)는 각각 6인치 길이와 600W를 가지는 상부 영역(110)과 하부 영역(120), 12인치 길이와 1180W를 가지는 중앙 영역(130)을 포함한다. 독립된 열전대(140, 150, 160)가 각 영역의 온도를 각각 측정한다. 2 피트 길이의 투브형 반응기(170)가 3-영역 화로(100)에 수직으로 설치된다. 열전대(180)가 투브형 반응기(170)의 측면 영역(190)에 축으로 삽입되어 측면 베드의 중앙부에서의 온도를 측정한다. 랩뷰(LabVIEW) 기반의 제어 프로그램을 이용하여 화로를 등온 조건으로 만들 수 있으며, 측정된 측면 온도를 설정점으로 한다. 같은 프로그램을 또한 이용하여 흐름율, 온도 및 압력을 포함하는 측정 시스템 파라미터를 기록하도록 할 수 있다. ISCO 펌프(200)는 500cc의 액체 공급물(205) 덩이를 일정한 프로그램 가능한 속도로 반응기(170)로 한다. 이 경우, 흐름이 제어된 기체(210)는 질소이며, 반응기(170)로도 동시에 공급될 수 있다. 사용된 분쇄 수행의 대부분은 약 12g의 제올라이트 베타(T-4546) 압출(Sud Chemie)로 채워진 1 인치 OD 투브형 반응기에서 수행되었다. 최초의 500cc 스쿠알렌 반응물을 이용한 3회의 실행은 약 57g의 제올라이트 베타(T-4546)로 채워진 0.75 인치 OD 반응기에서 수행되었다. 도 12a에 도시된 바와 같이, 액체와 기체 흐름이 투브형 반응기(170)로 흘러 들어가며, 유리 구슬들(직경 3mm)이 채워진 사전 가열영역(220)을 지나면서 혼합되게 된다. 18 인치 길이의 측면 베드(230)는 유리 구슬 베드 위에 얹혀 지며 이 두 베드는 금속 스크린(240)으로 분리된다. 코일형 동심 투브 열 교환기(250)를 거쳐 위 흐름에서 흘러가는 반응기 생산물은 8°C의 온도로 유지된다. 냉각된 생산물은 열 교환기를 빠져 나가, 순간적인 액체 표본의 수집("라인 표본"으로 알려짐)을 가능하게 하는 밸브 배열(260)을 거쳐서, 냉각된 분리기(270)로 들어 간다. 응축되지 않은 기체 생산물은 소량의 흐름 물질이 기체 분석을 위해 사용되는 소형-GC 280로 포집되는 지점으로 연속적으로 흐르며, 그 후 후면 압력 조절기(290), 습식 검사 가스 흐름 측정기(300) 및 배출구(310)로 흐르게 된다. 후면 압력 조절기는 모든 실행에서 약 5psig로 설정된다.

[0292]

표본의 실행은 반응기에 신선한 측면 베드에 112g까지의 질량을 채움으로써 시작된다. 그리고 반응기는 화로에 적재되어 380-400°C에서 반응 전에 건조시키기 위해 질소를 흐르게 하면서 하루밤 동안 가열된다. 다음날 아침, 500cc의 스쿠알렌이 ISCO 펌프에 적재되고, 1인치 OD 반응기가 사용되는 경우에는 질소와 스쿠알렌의 흐름이 분 당 2 표준리터(SLM)와 4cc/min로 각각 설정되고, 0.75 인치 OD 반응기가 사용되는 경우에는 1 SLM과 2cc/min로 설정된다. 일반적으로, 반응 온도는 최초 500cc의 스쿠알렌에 대하여 380°C로 설정된다. 이후 500cc의 스쿠알렌에 대해 최초 500cc의 실행 동안 저하되는 측면의 활성을 보충하기 위해 온도는 430°C로 올려진다. 적절한 조건이 수립되는 초기 실행을 포함하여, 모든 실행은 300 내지 450°C의 반응온도에서 실행되며, 두 경우의 실행만이 380 내지 450°C의 반응 온도에서 실행된다. 수집 저장소(액체 생산물을 포함)는 주기적으로 배수되며, 라인 샘플이 정기적으로 채취되고, GC에 의해 가능한 한 빨리 분석되어 반응물의 전환을 완수하도록 한다.

[0293]

112g 까지의 측면로써 1 인치 직경 반응기를 사용할 때에는, 제 2의 500cc의 스쿠알렌(총 1000cc 또는 855g)이 처리되면, 반응기는 냉각되고 측면은 제거되어 대체된다. 0.75 인치 직경의 반응기에서 57g의 측면을 이용하여 3번 시행한 경우에, 측면 500cc의 스쿠알렌이 분쇄된 후에 측면이 변화하였다. 두 반응기에서, 거의 같은 처리된 스쿠알렌 대 대전된 측면 비율이 사용되었다.

[0294]

반응기로부터 측면 전하가 제거되면, 매우 작은 측면 샘플을 사용하여 마이크로밸런스 시스템에서 코크 함량을 결정하고, 남아 있는 소비된 측면은 수평 투브 화로에 놓여 전 후 Ar/O<sub>2</sub>의 비율이 80/20 인 채로 575°C에서 4시간 동안 연소시켜 재생된다. 연소된 측면은 이후 마이크로밸런스 시스템에 대한 n-프로필라민 열 흡수물 제거 분석을 거쳐 제올라이트 측면의 구조적 안정성에 직접적인 상호 연관성을 가지는 측면 양성자 함량을 측정한다. n-프로필라민 열 흡수물 제거 분석의 결과는 사용되지 않은 버진 측면과 비교되었으며 이로부터 측면이 여전히 구조적으로 안정하고 측면 활성을 가짐을 확인하였다. 완전한 하나의 재생 싸이클이 종료된 후에 어떠한 주목할 만한 장애도 측면에서 관찰되지 않았다. 그러나, 모든 실행은 재생된 측면이 아닌 신선한 측면을 이용한 스쿠알렌으로 수행되었다. 총, 8.5L 또는 약 7268g의 스쿠알렌이 처리되어 1.37 갤런 또는 약 4410g의 액체 분쇄 생산물을 회복된다.

[0295]

총 7268g의 공급된 스쿠알렌으로부터 분쇄된 전체 결과가 표 4에 표시된다.

[0296]

표 4는 전체적인 물질의 양들을 나타낸다.

표 4

[0297]	총질량(g)	공급된 총 스쿠알렌(%)	총 알려진 성분(%)
기체( $N_2$ 없음)	2236	30.76	33.07
액체	4410	60.68	65.24
코크	114	1.57	1.69
설명되지 않음	508	6.99	-

[0298] 소형-GC로부터, 기체 생산물로부터 상세한 분석을 시간에 걸쳐 통합함으로써 각 생산물에 대한 총량을 구하였고 응축된 생산물이 아닌 기체의 전체 중량을 구하기 위해 더해졌다. 수집된 액체의 총 중량은 4410g으로 기록되었다. 코크는 소비된 촉매에 대해 약 12 중량%로 결정되었고, 따라서 112g의 촉매에 대해 13.44g의 양이 되고 총 8.5의 분리된 촉매들이 함께 사용되어 114g을 산출하였다. 공급된 7,268g에서 이 숫자를 빼서 설명되지 않은 508g을 산출하였다. 도 12b에서 최종 컬럼은 실제로 수집되어 이후의 분석을 위해 사용될 전체 생산물의 백분율을 나타낸다. 설명하기 어려운 물질들은 대부분 표본 채취 방법이나 액체 라인을 채우는 물질들에서 기인한다.

[0299] 액체 생산물의 종류 시뮬레이션의 결과는 액체 생산물의 58%가 휘발유 증분 (예를 들어, 끓는점이 220°C보다 작은 것)임을 보여 준다. 따라서, 분쇄된 액체 생산물은 ASTM 테스트 이전에 증류된다. ASTM 분석을 위해 갤런 단위의 생산물을 수집하는 것은 생산물을 275°C까지의 온도에서 끓이는 것을 의미하는데 이는 휘발유 차단 온도 220°C를 훨씬 초과하는 것으로서 모의 종류에서 더 많은 액체가 휘발유 범위 내에 있는 것으로 가정한 것을 고려한다면 예상되지 않은 것이다. 그러나, 이 표본은 테스트를 위해 최소한의 갤런을 수집하기 위해 수행된 것이다. ASTM 샘플은 3070g의 분쇄 생산물을 함유하였는데 이는 휘발유가 끓는 범위에 가장 가까운 것이다. 휘발유 검사를 하기에 너무 무거운 1340g의 액체가 남았으며 "액체 잔류"로 명명되었다. ASTM 테스트는 표본의 연구 옥탄가가 98.5이고 차량 옥탄가는 84.6이며  $(R+M)/2$ 의 값이 91.5로서 펌프가 제공하는 통상 옥탄가와 같음을 보여 준다. 표 5는 각종 증분들로 회복된 스쿠알렌의 증분을 보여준다. 증기 성분의 상세한 분석은 평균적으로 3회의 실험으로 수행되었다. 상세한 액체 성분은 액체 분쇄 생산물 단지로부터의 작은 표본의 GC/MS 분석으로부터 산출되었다.

표 5

[0300]	총 질량(g)	전체 공급 스쿠알렌(%)
기체 ( $N_2$ 없음)	2236	33.07
ASTM 표본	3070	45.41
액체 잔류 ( $> 275^{\circ}\text{C}$ )	1340	19.83
코크	114	1.69

[0301] 표 5. 전반적인 스쿠알렌 생산

[0302] 도 12b는 현재의 예에서 스쿠알렌을 흐름 반응기에서 분쇄할 때 얻어지는 성분을 보여 준다. 기체 생산물의 구체적인 분석은 도 6에 나타내었다. 아이소부탄과 아이소펜탄은 블렌딩 연구 옥탄가가 각각 122 및 100이기 때문에, 액체 생산물의 옥탄가를 합리적으로 평가는 표 6에 보여진 아이소부탄과 아이소펜탄이 액체 생산물에 포함된다면 계산될 수 있을 것이다. 연구 옥탄가는 약 100.8이고 차량 옥탄가는 88.8로서  $(R+M)/2 = 94.8$ 의 값을 산출한다. 아이소부탄 (5.02%의 변환된 스쿠알렌을 나타냄)과 아이소펜탄 (2.24%의 변환된 스쿠알렌을 나타냄)도 또한 회복되어 ASTM 분석을 위해 회복된 표본에 더해질 수 있다면 ASTM 분석을 위해 변환된 스쿠알렌의 수율은 7.26%가 증가하여 52.67%에 이를 수 있음을 유의하여야 한다. 기체 상태의 C4+ 성분이 회복되어 ASTM 분석을 위해 회복된 표본에 다시 더해지면, 수율은 22.5% 포인트가 증가하여 67.91%에 이르게 되며 C4 및 C5 올레핀의 블렌딩 옥탄가는 109 내지 176에 이르기 때문에, 옥탄가에 있어서 추가적인 개선이 이루어질 수 있으며 옥탄가 100 이상도 가능하게 된다.

[0303] 표 6은 기체 생산물의 조성물의 상세사항을 보여준다.

표 6

[0304]	기체 생산물의 중량%	스쿠알렌 반응물의 중량%
수소	0.59	0.19
메탄	0.91	0.30
에틸렌	3.56	1.18
에탄	0.67	0.22
프로필렌	21.74	7.19
프로판	4.46	1.47
트랜스-2-부텐	5.54	1.83
1-부텐	3.60	1.19
아이소부텐	9.67	3.20
시스-2-부텐	4.26	1.41
아이소부탄	15.19	5.02
n-부탄	9.97	3.30
트랜스-2-펜텐	1.98	0.65
2-메틸-2-부텐	4.51	1.49
1-펜텐	3.29	1.09
시스-2-펜텐	0.84	0.28
아이소펜탄	6.78	2.24
n-펜탄	0.86	0.29
헥산 플러스	1.57	0.52

[0305] ASTM 표본은 표본 내의 중분쇄의 양을 최소화하기 위해 중류한 후, 테스트를 위해 보내졌다. 테스트 결과는 도 7에 나타내었으며, 2004년 아래로 요구되는 규격에 대한 사항들을 포함한다. 생산물의 다수의 특성들이 판매용 휘발유의 ASTM 규격을 만족한다. 예를 들어, 연구 옥탄가(RON)와 차량 옥탄가(MON)가 각각 96.5와 84.6이었으며,  $(R+M)/2$  값은 91.5로서 모두 휘발유에서 요구되는 최소한의 91 RON 및 82 MON을 만족한다. 표 7에서 굵은 글씨는 표본의 실험이 실패했음을 의미한다. 일반적으로, ASTM 표본은 중류 프로파일과 관련된 테스트에서만 실패하였다. 이러한 실패는 휘발유의 끓는점 범위의 밖에 있는 물질이 1 갤런의 최소 표본 분량을 얻기 위해 포함되었기 때문에 예상된 것이었다. ASTM 중류 결과는 수행된 중류가 끓는점이 가장 높은 성분(예를 들어, 안트라센)만을 제거하고, 추가적인 무거운 성분(예를 들어, 나프탈렌과 폴리 치환 벤젠)은 남겨 놓았음을 보여 준다. 이에 따라 최종 끓는점은 260°C가 되며, 이는 상용 휘발유에서 허용되는 최대값보다 35°C 높은 것이다. 주행계수는 10, 50 및 90%의 표본이 회복되는 온도에서 계산되었으며, 시동, 아이들 및 주행 시에 연료가 얼마나 잘 작동하는지를 알려 주는 지수가 된다. 예상된대로, 표본 주행계수는 허용된 최고치를 초과하였는데 이는 중류 커브가 지정된 끓는점을 초과하였기 때문이다. 이 예들은 ASTM 테스트를 위한 스쿠알렌으로부터의 1 갤런의 액체 생산물에 대한 예시이다.

[0306] 표 7은 스쿠알렌 분쇄로부터의 휘발유 중분에 대한 ASTM 결과이다(굵은 글씨는 실패한 테스트)

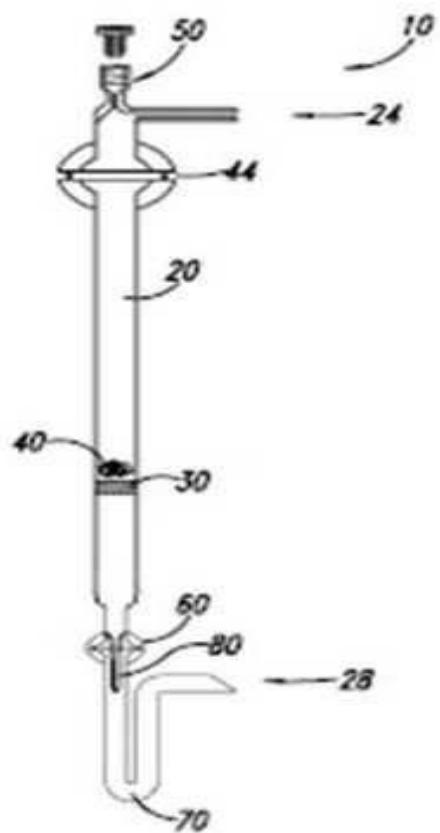
표 7

[0307]	매개변수	방법, 조절에 대한 참조	스쿠알렌 분쇄 생산물 측정	표준/조절 요건 (ASTM D4814-04a)
60°F에서 API 중력	ASTM D4052-02e1	35.1		
실험실에서의 외양	ASTM D4176-04e1 P1	C+B	맑고 밝음	
인 함량 (g/gal)	ASTM D3231-07	0.891	0.005 MAX	
황 함량	ASTM D5453-08a*, 40 CFR, title 40, subpart H.	3.8 ppm	120 ppm	
외양	시각	통과		
산화 안정성	ASTM D525-05	60.52 분	240 분 MIN	
검(Gum)의 존재 (비세척) (mg/100mL)	ASTM D381-04e1	< 0.5	5 MAX	
검(Gum)의 존재 (비세척) (mg/100mL)	ASTM D381-04e1	< 0.5	5 MAX	

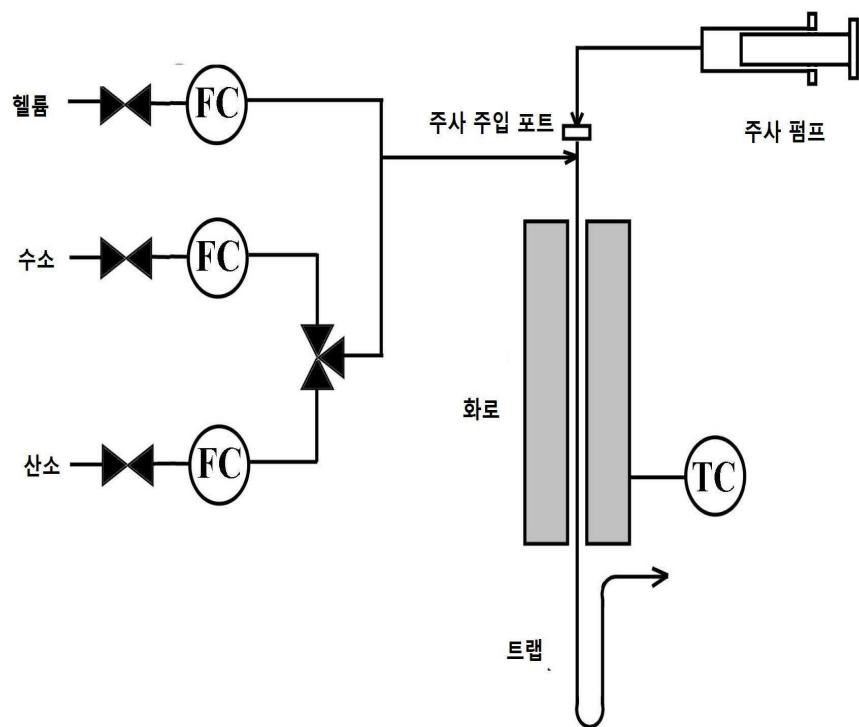
케캡탄 설퍼 (Mercaptan Sulfur) (중량%)	ASTM D3227-04a	< 0.002	0.035 MAX
옥탄가- 리서치	ASTM D2699-07a	98.5	
옥탄가- 모터	ASTM D2700-07b	84.6	82
AKI-Ant i-Knock Index, = (RON+MON)/2		87 (일반) 89 (중급) 91+ (고급)	91.5
은 부식 (3 시간, 122°F)	ASTM D4814-07b A1	1	
구리 부식 (3 시간, 122°F)	ASTM D130-04e1	1B	1
Nace 부식	TMO172-01	B	
벤젠 함량(vol %)	ASTM D3606-07; 40 C.F.R 80.1220, 80.1230	0.34	4 MAX (2011년, 0.62 Vol % MAX 예정)
산소 함량 (중량 %)	ASTM D4815-04	0.08	1 MAX
MTBE (vol %)	ASTM D4815-04	<0.1	
V/L-20°F	ASTM D4814-06a	199	20 MAX
증기압, 100°F (psi)	ASTM D5191-07-EPA	2.94	7.8-15 MAX <sup>1</sup>
주행계수(°F)	ASTM D4814-07b	1749	1200-1250 MAX <sup>1</sup>
증류	ASTM D86-07b		
	IBP	117.6°F(47.5°C)	
	10%	207.1°F(97.3°C)	50-70° C MAX <sup>1</sup>
	30%	270.3°F(132.4°C)	
	50%	324.8°F(162.7°C)	66-77°C=>110-121°C (MIN => MAX) <sup>1</sup>
	70%	394.8°F(201.6°C)	
	90%	463.6°F(239.8°C)	185-190° C MAX <sup>1</sup>
	95%	489.2°F(254.0°C)	
끌점		500.0°F(260.0°C)	225° C MAX
회복됨		95.5%	
잔기		2.3 vol %	2 vol % MAX
손실		2.2%	

도면

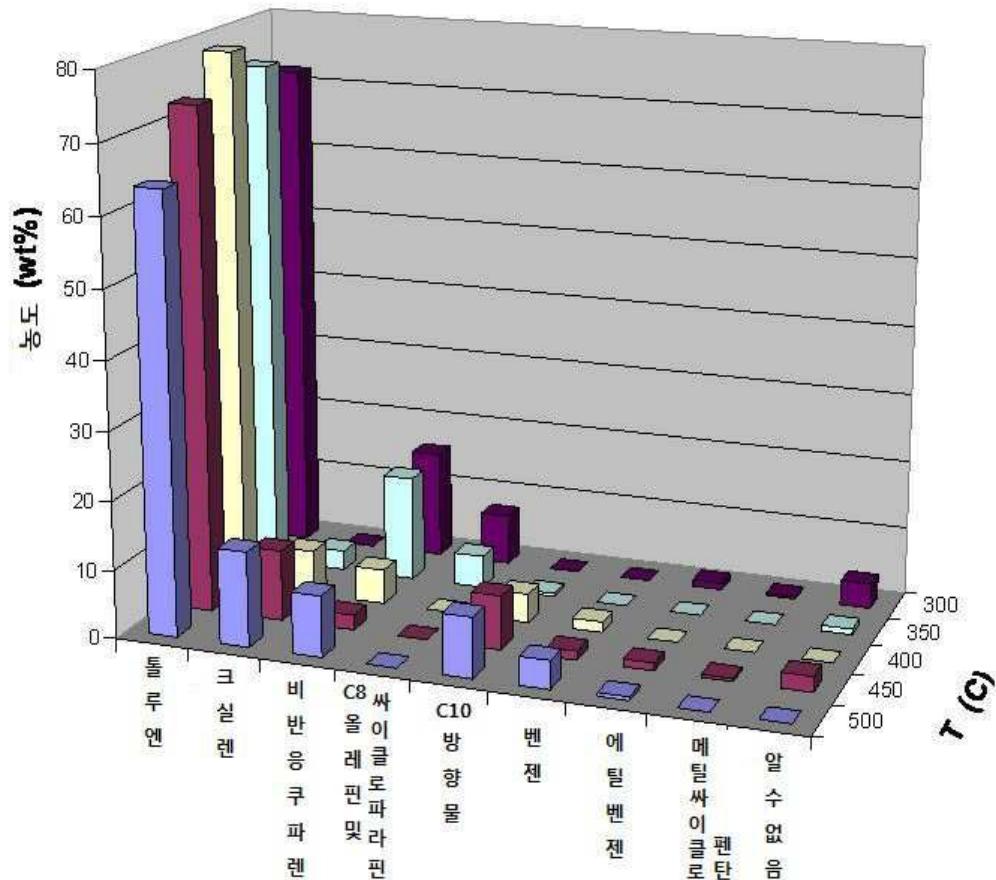
도면 1a



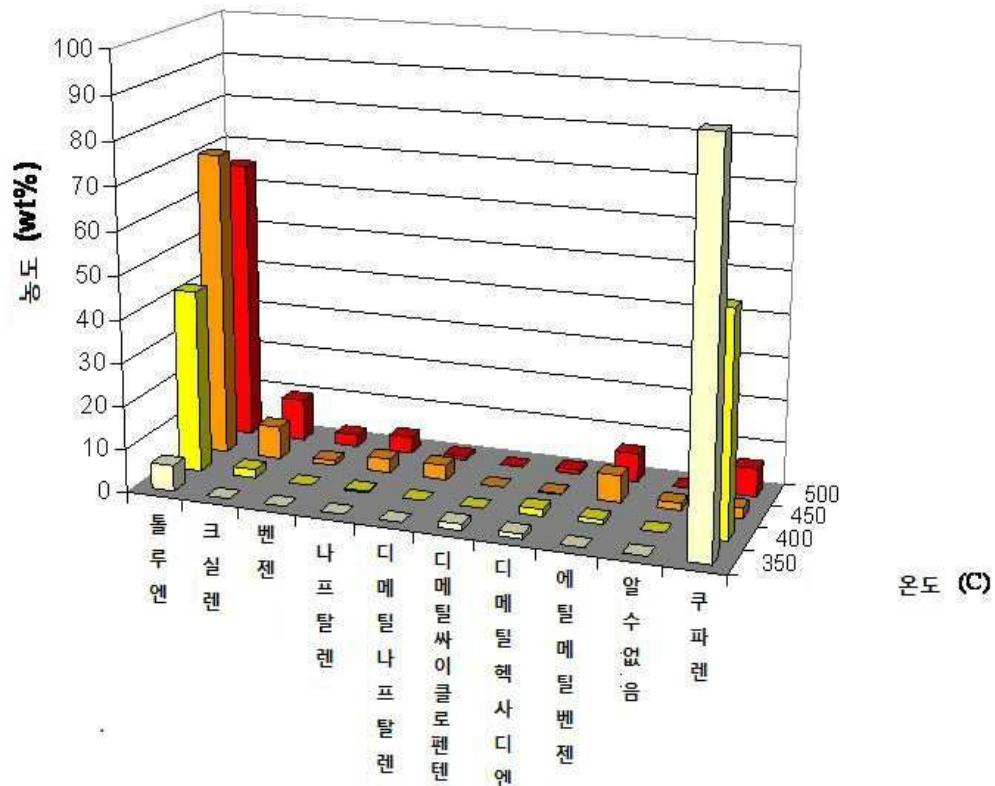
도면1b



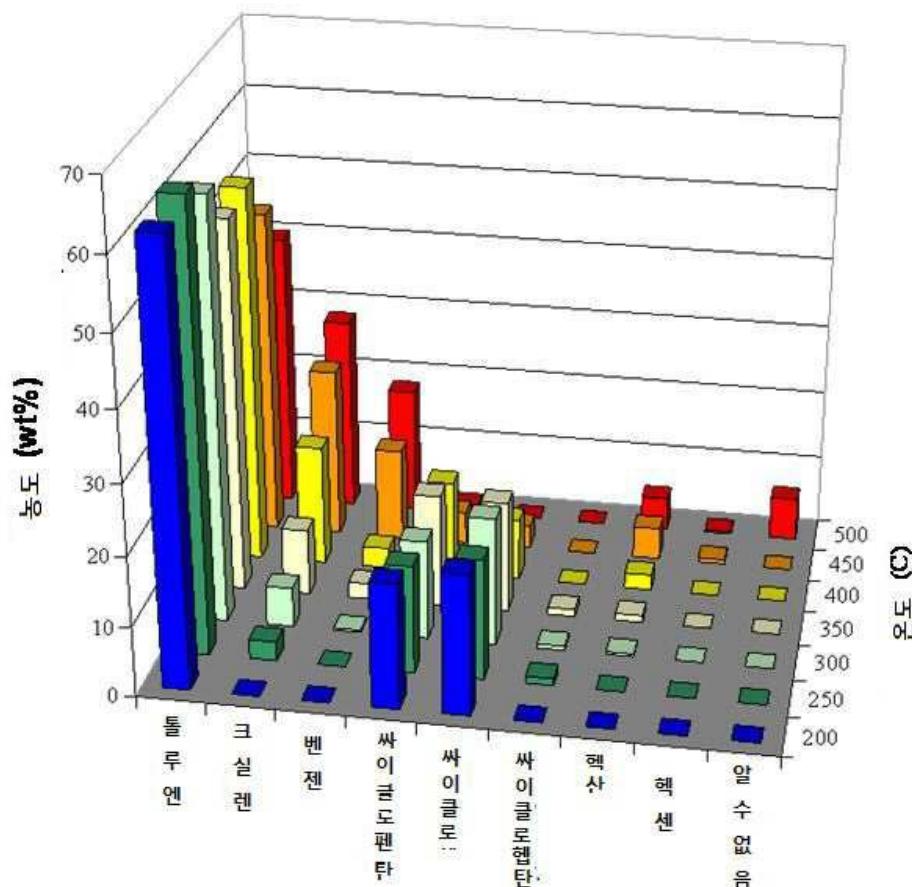
도면1c



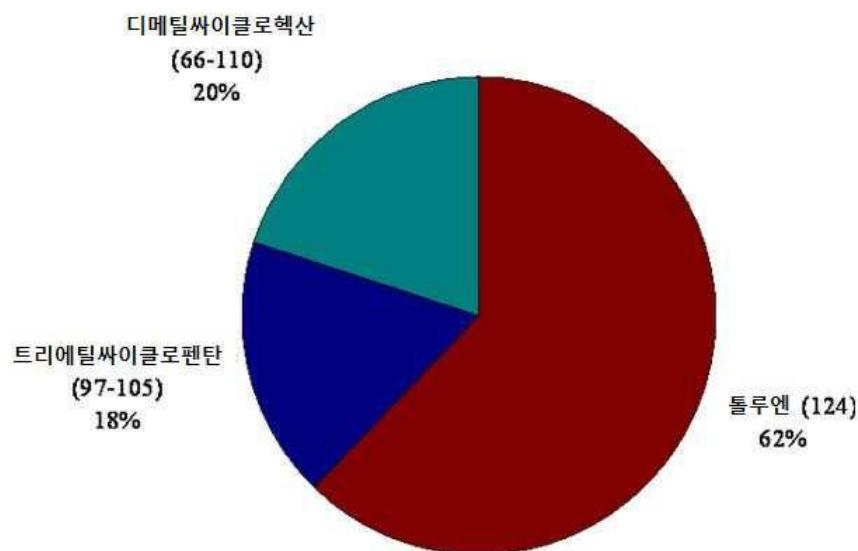
도면2a



도면2b



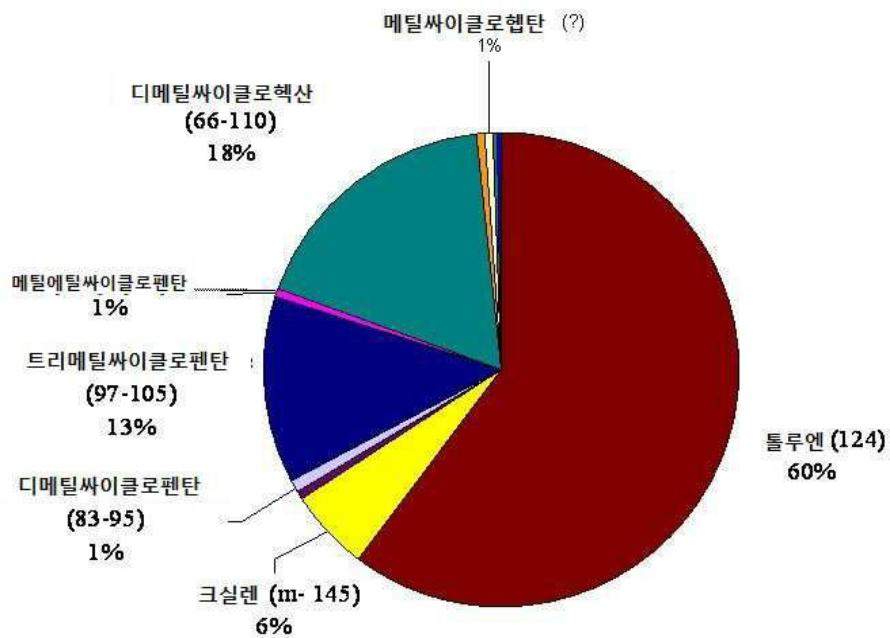
도면2c



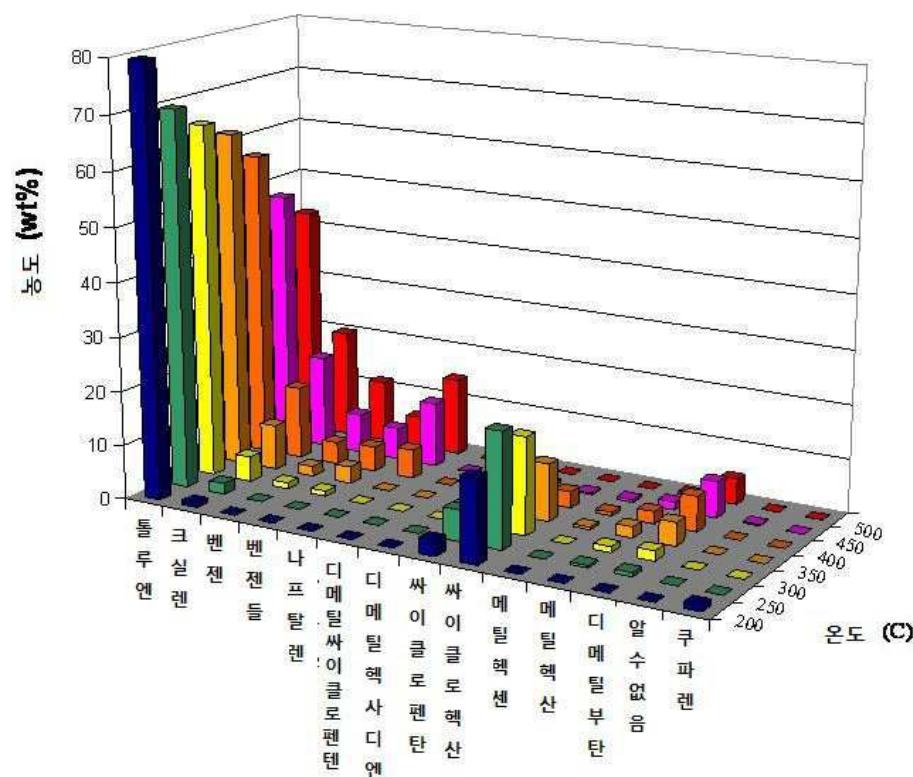
도면2d



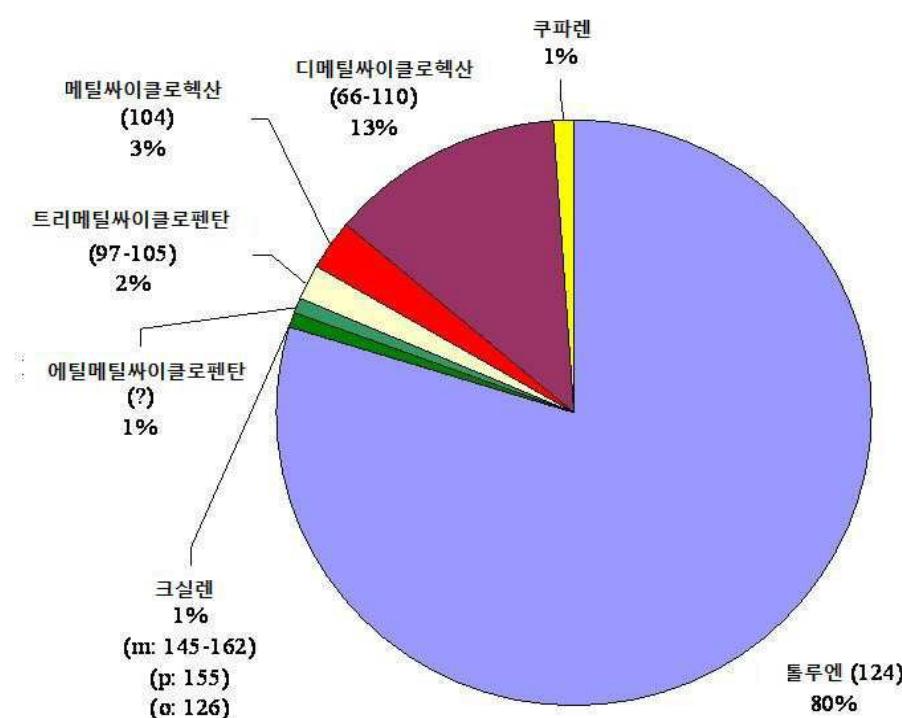
도면2e



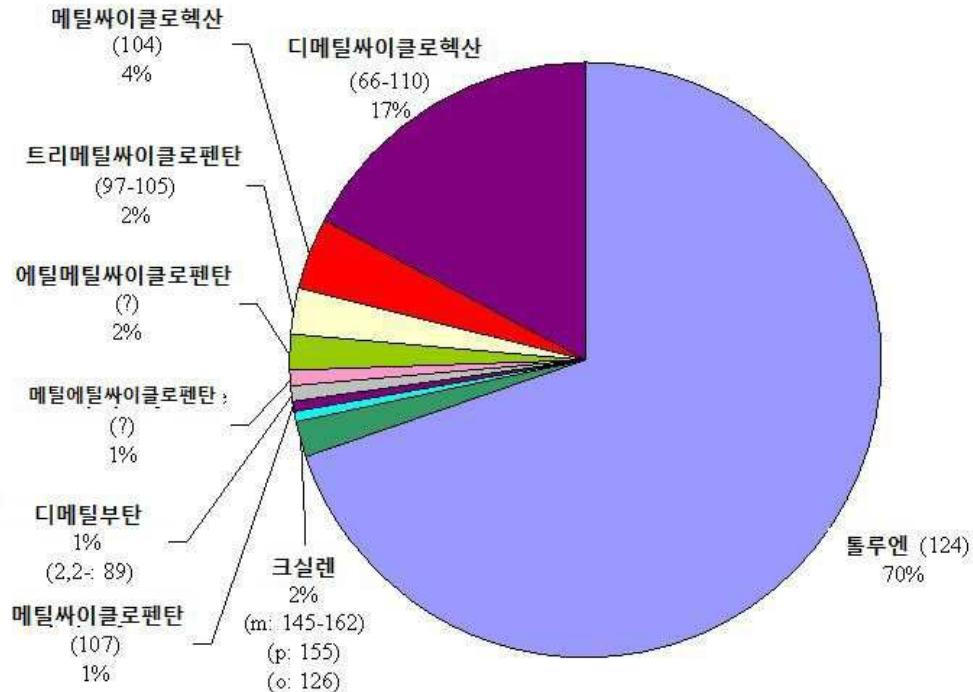
도면3a



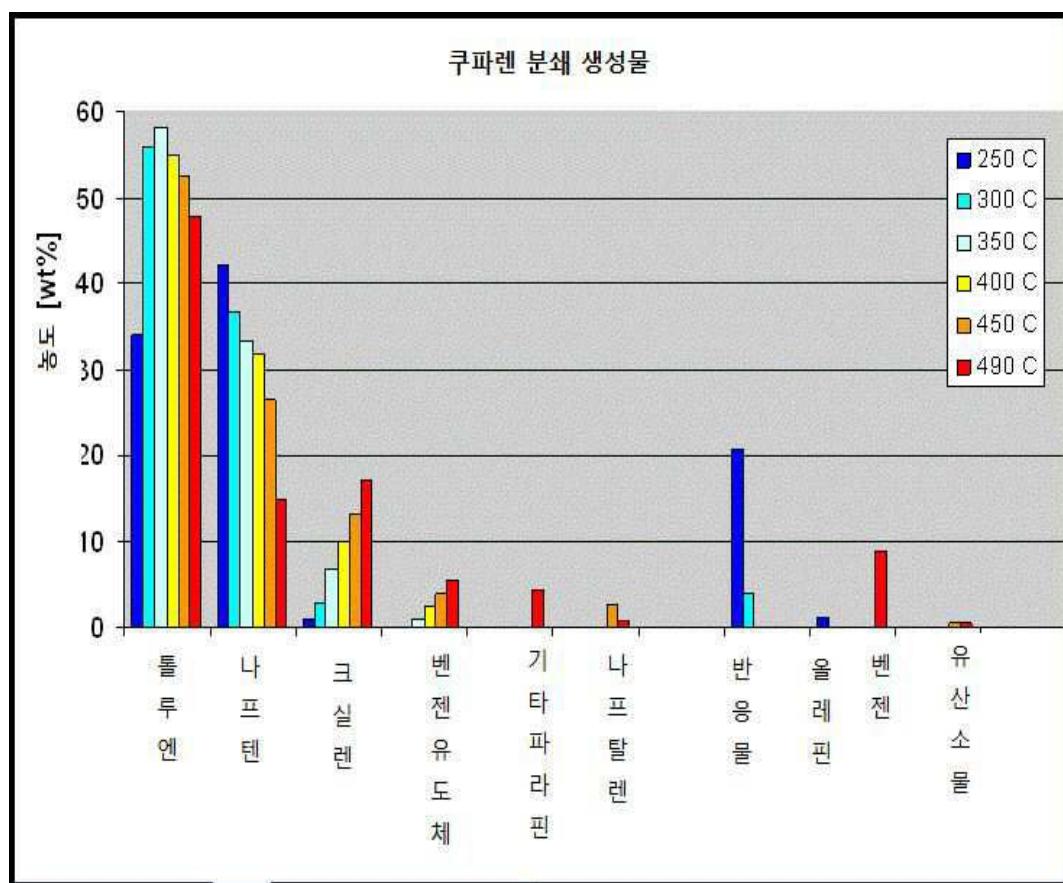
도면3b



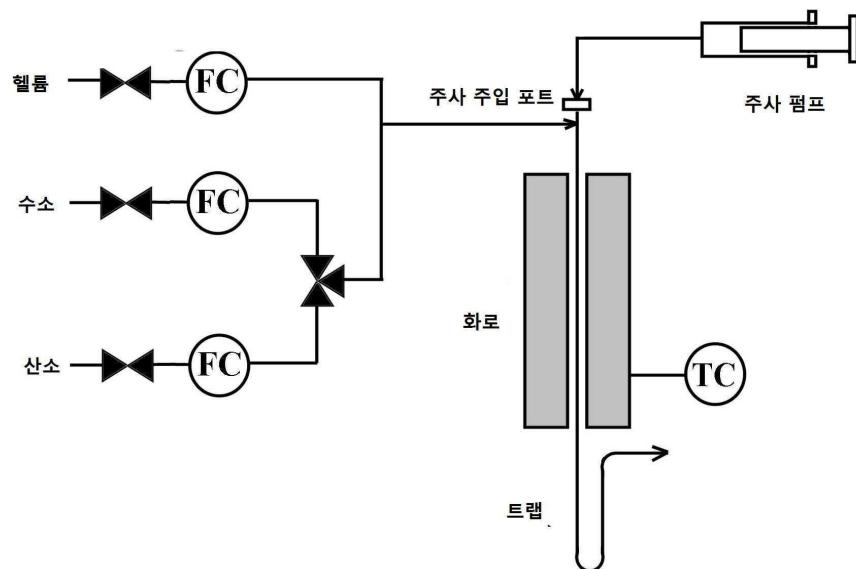
도면3c



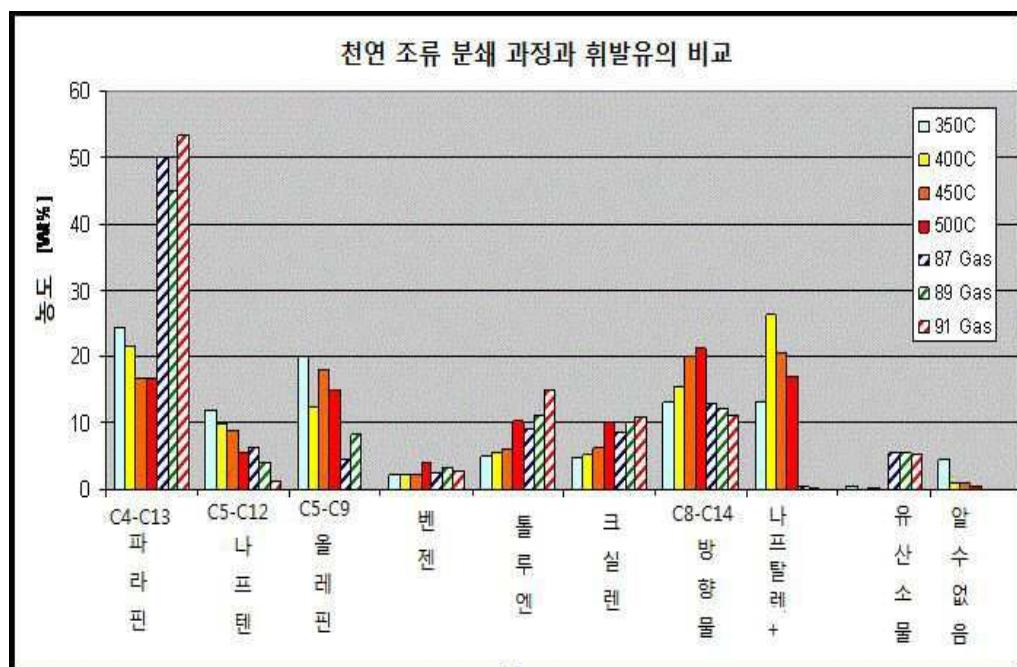
도면4



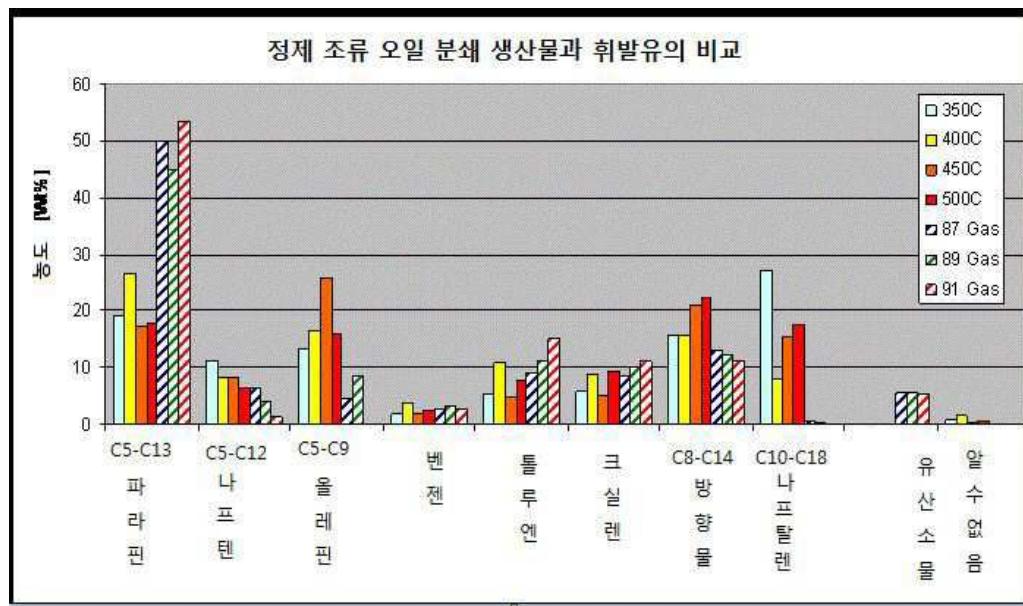
도면5a



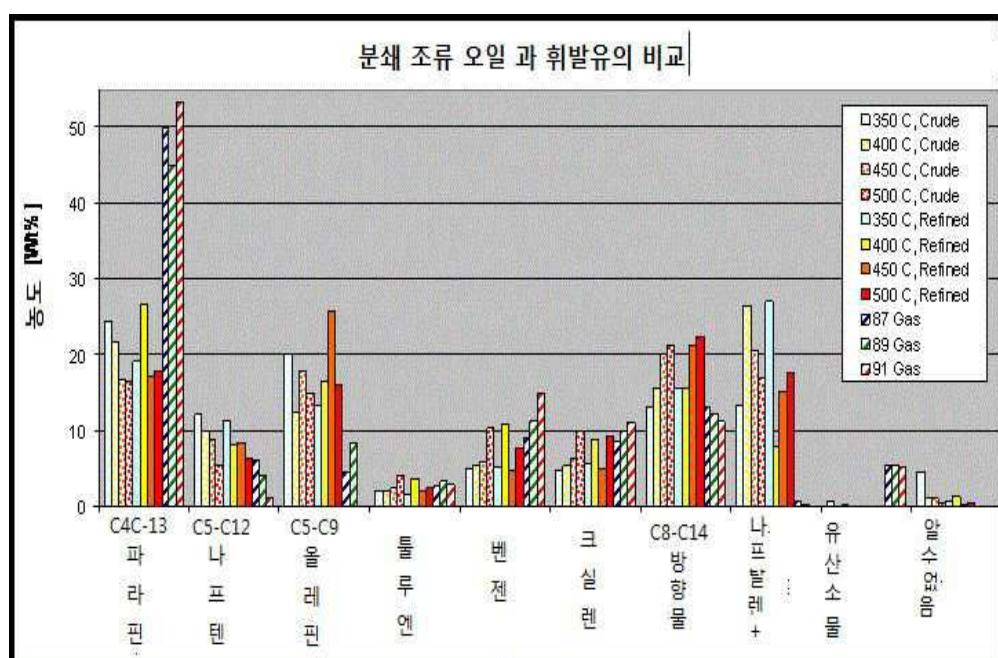
도면5b



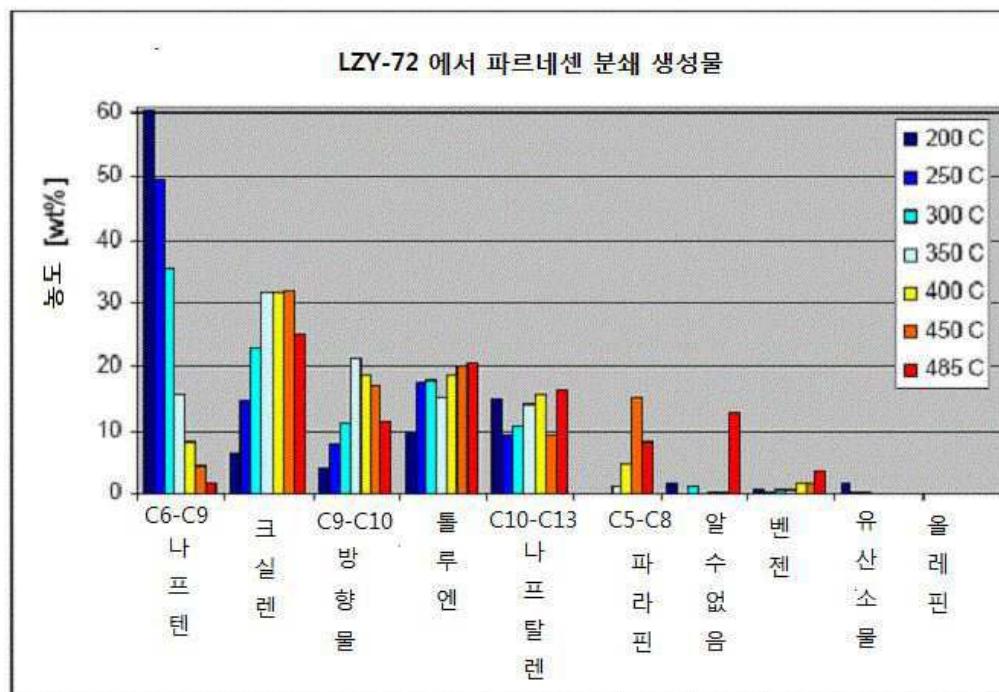
## 도면5c



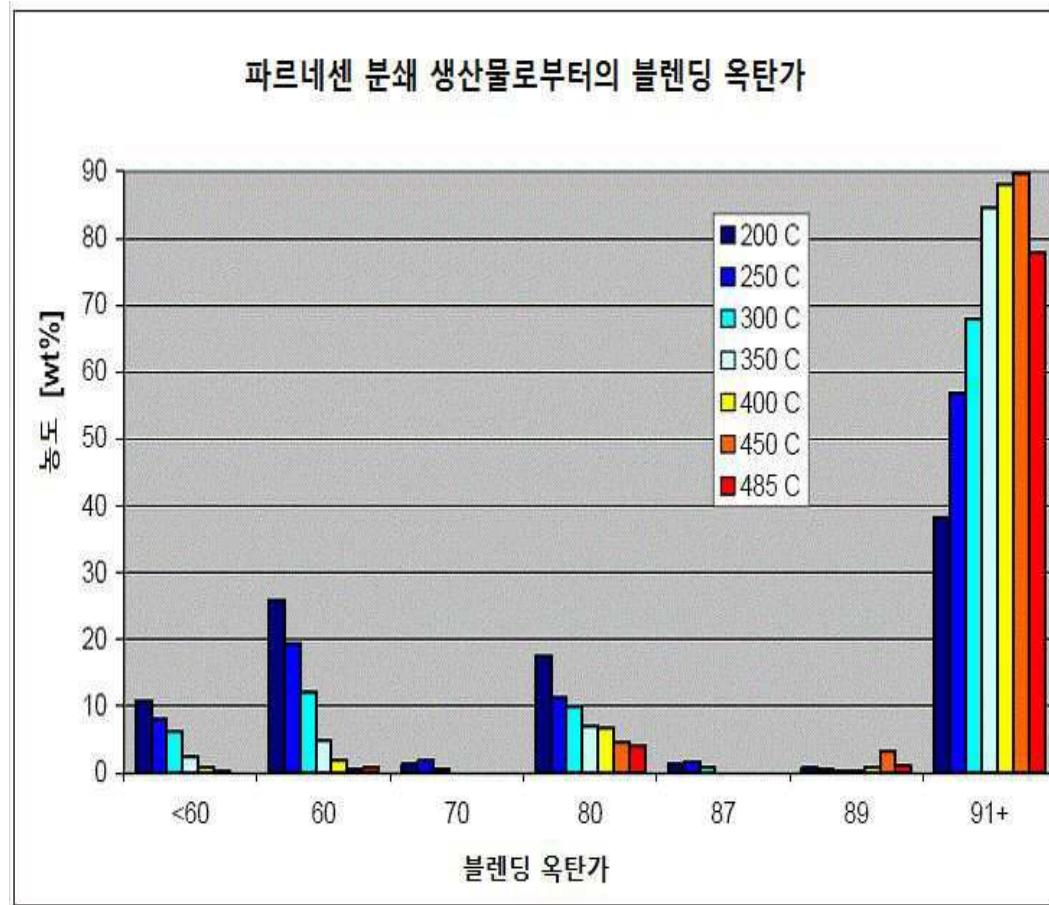
## 도면5d



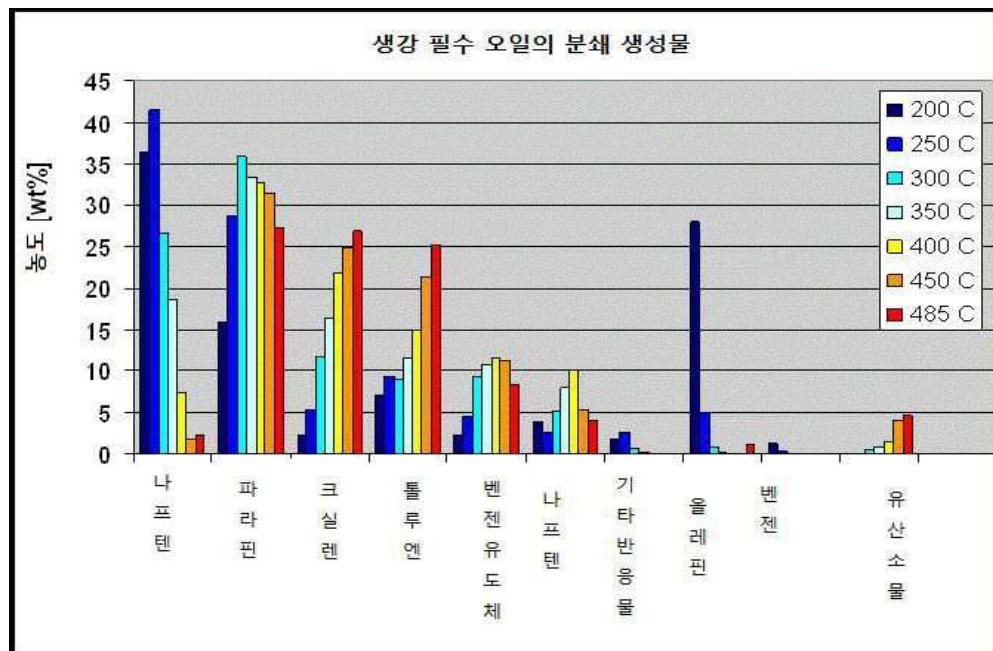
도면6a



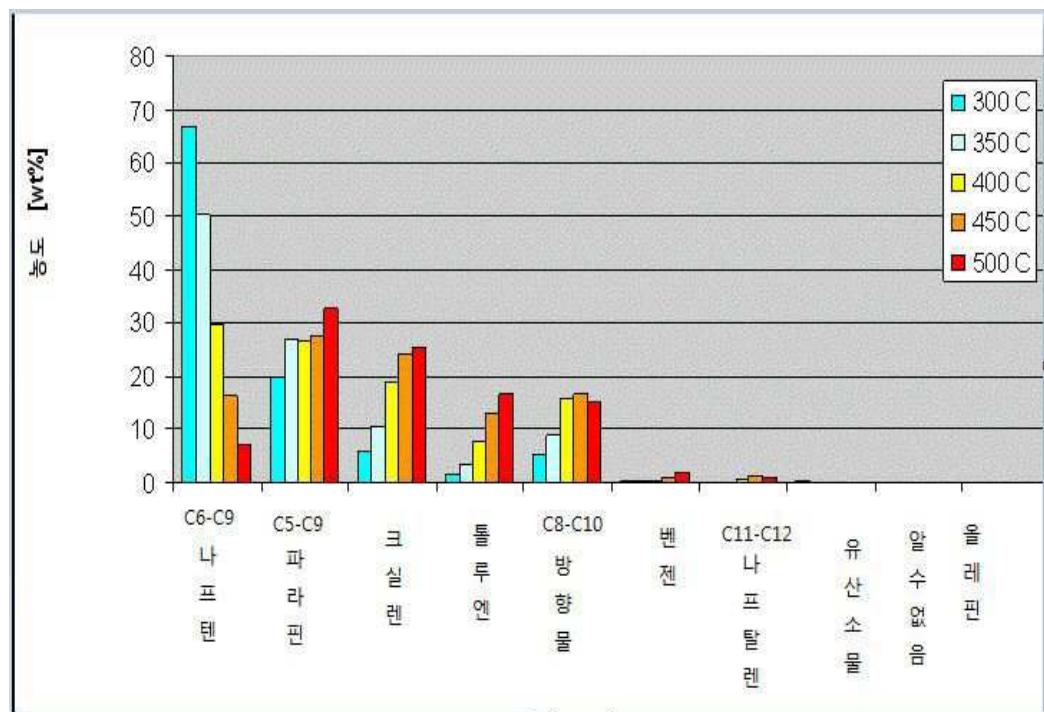
도면6b



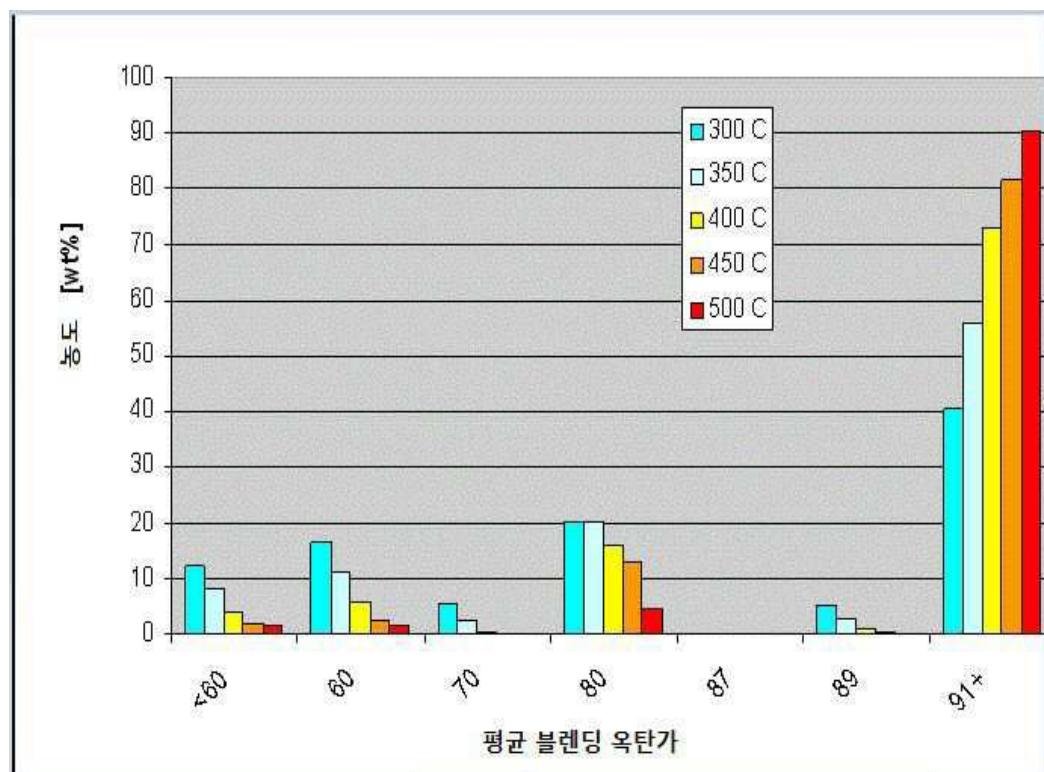
도면7



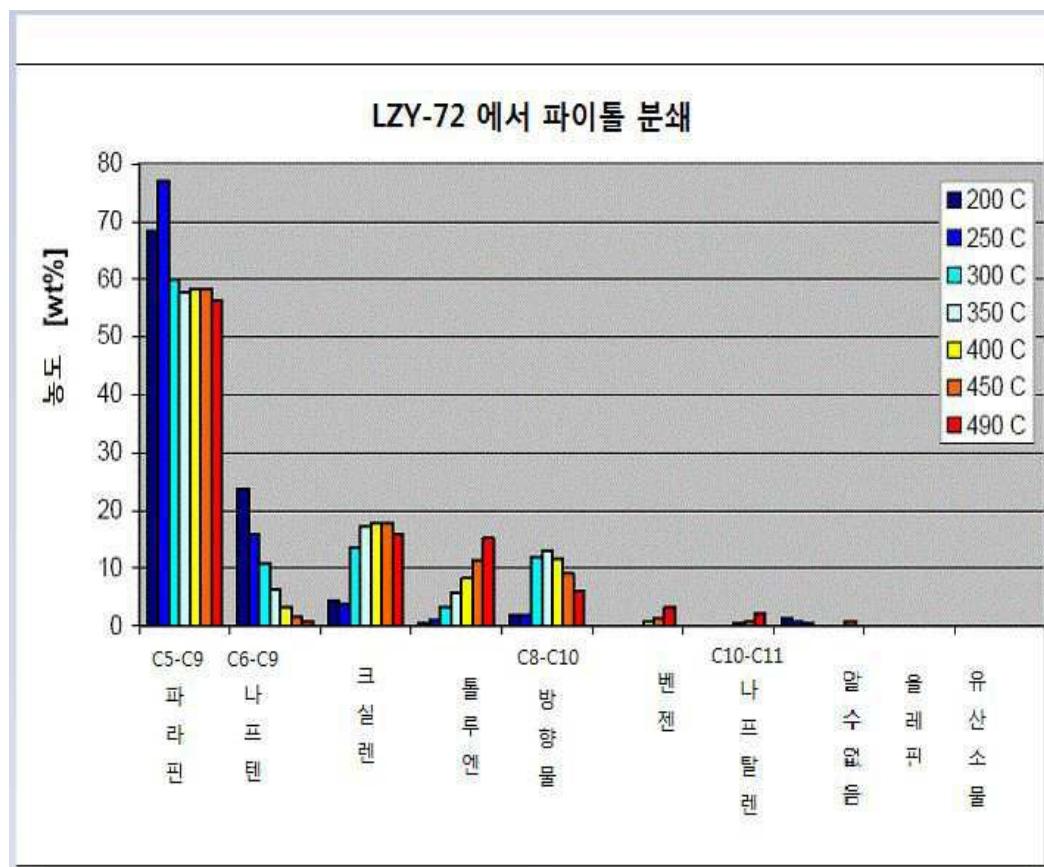
도면8a



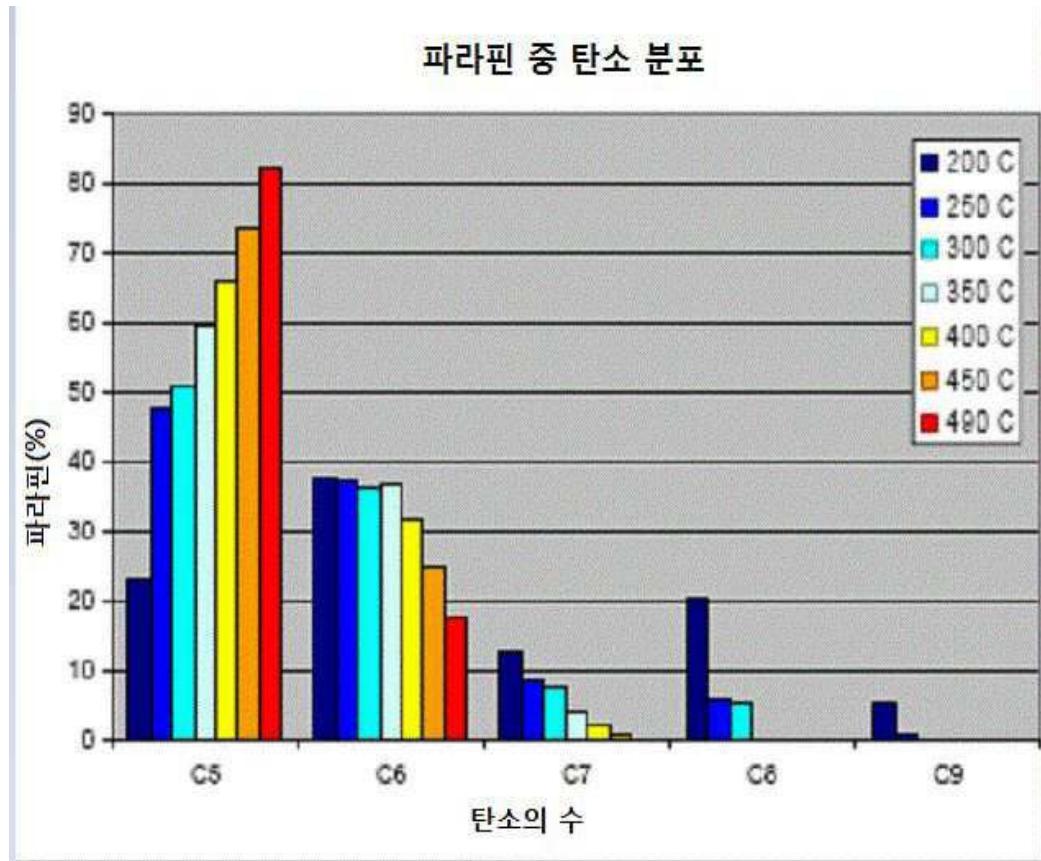
도면8b



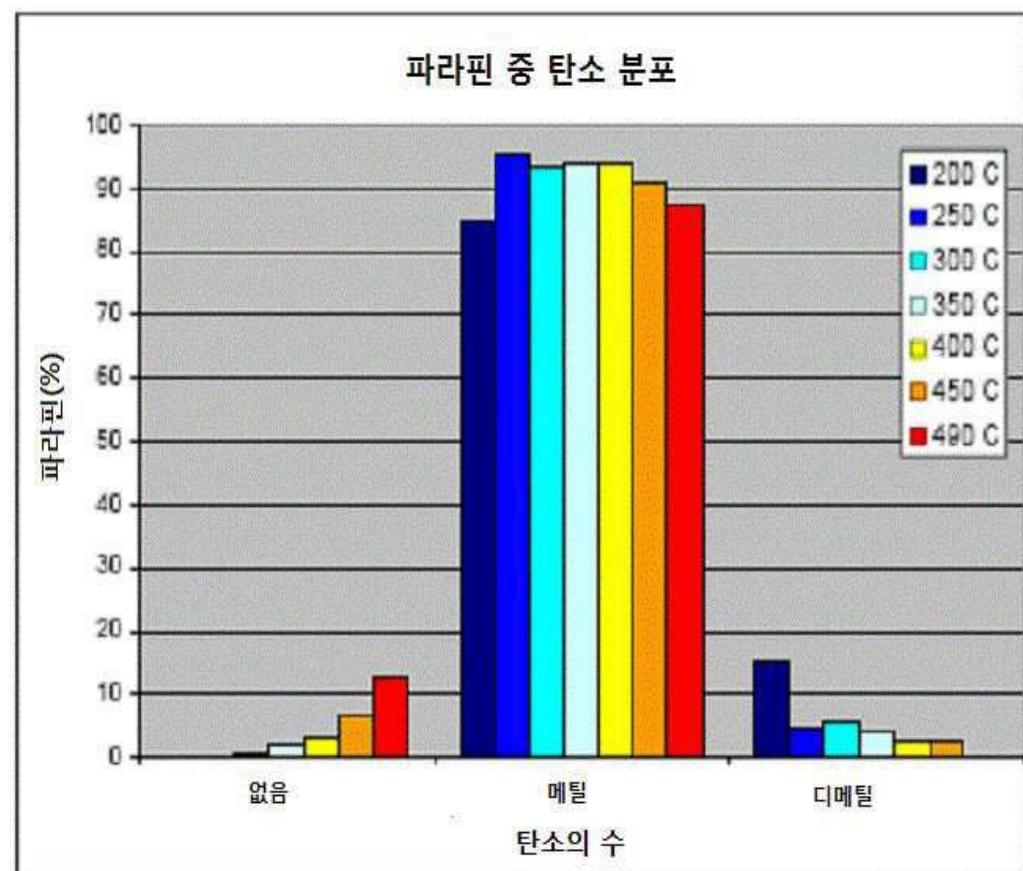
도면9a



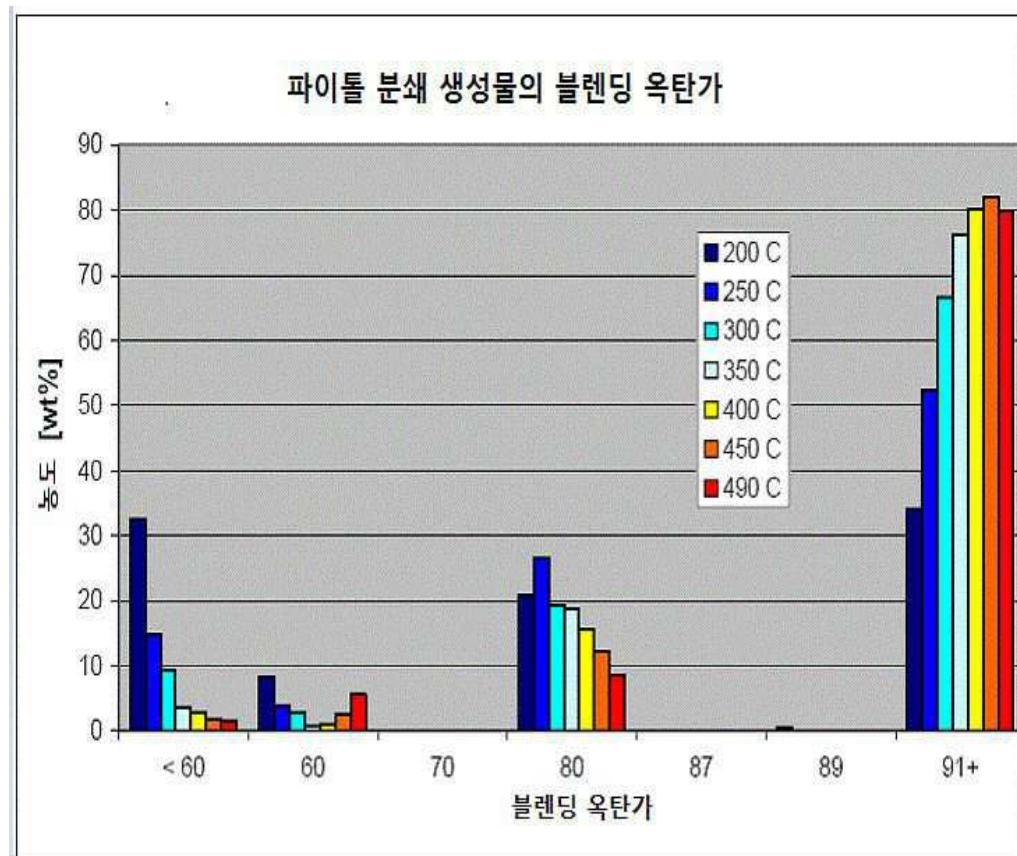
도면9b



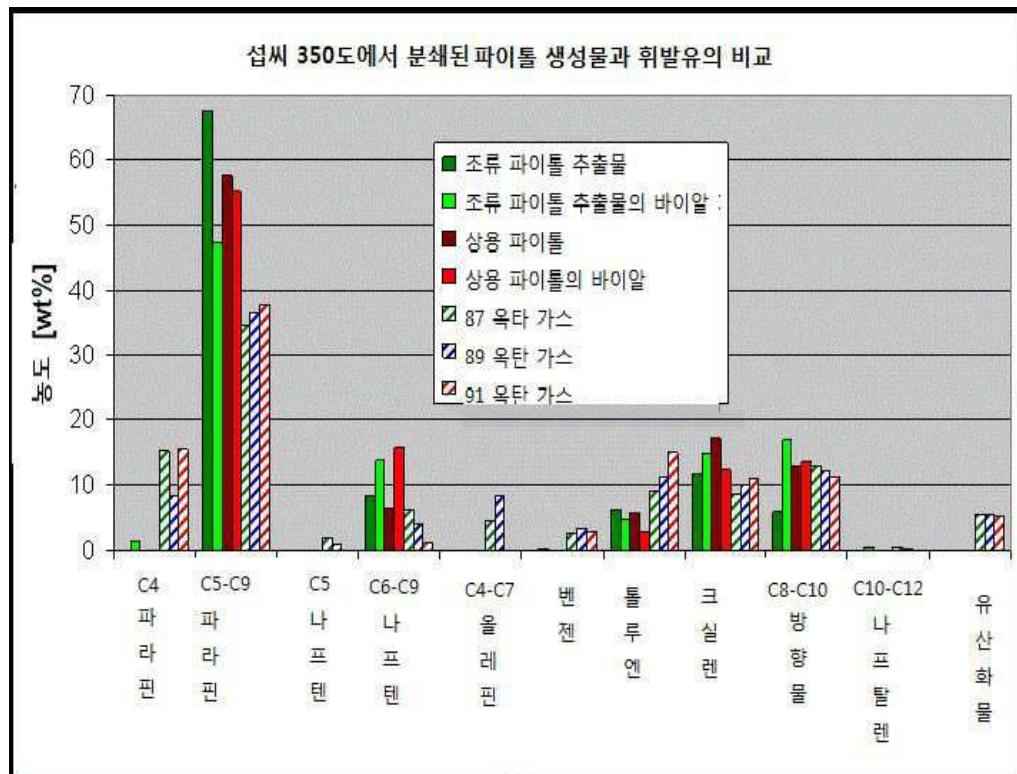
도면9c



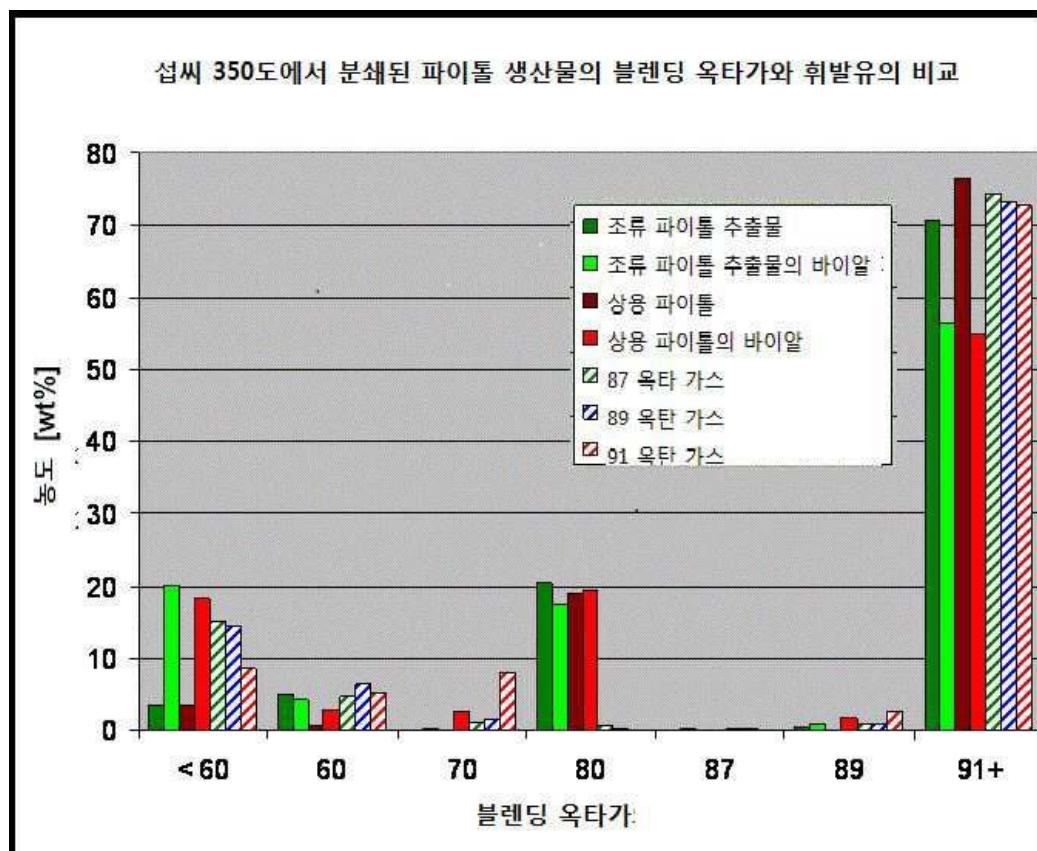
도면9d



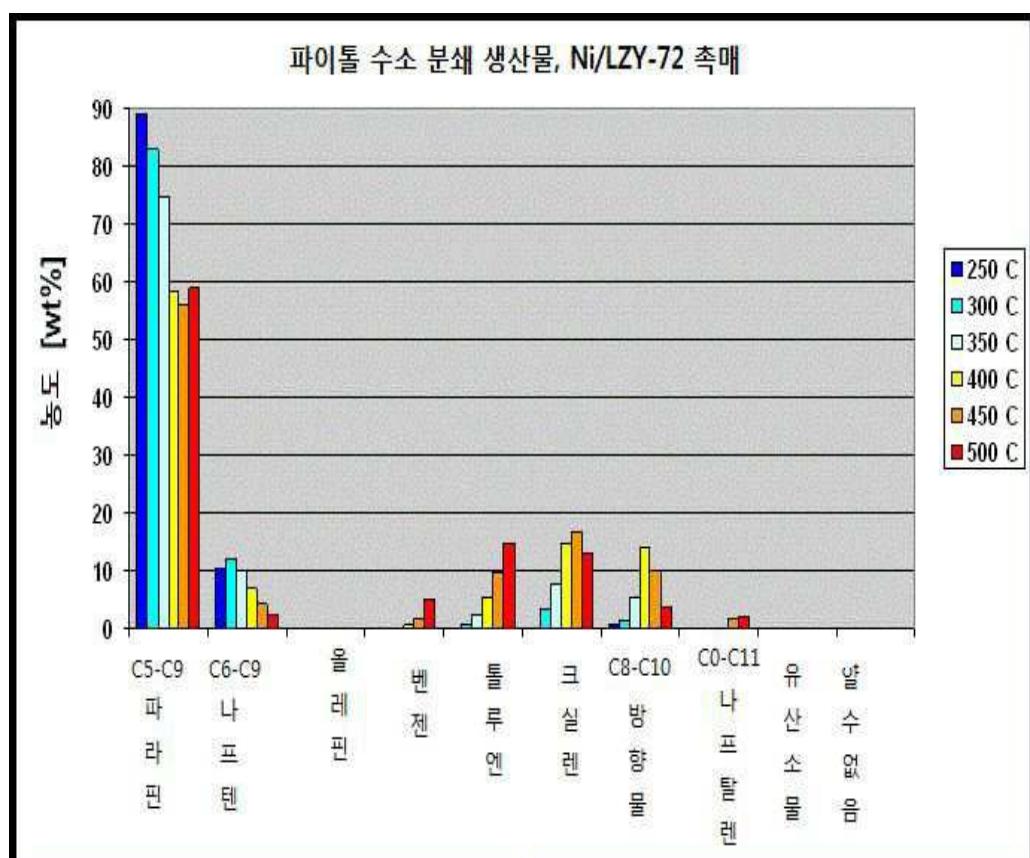
도면10a



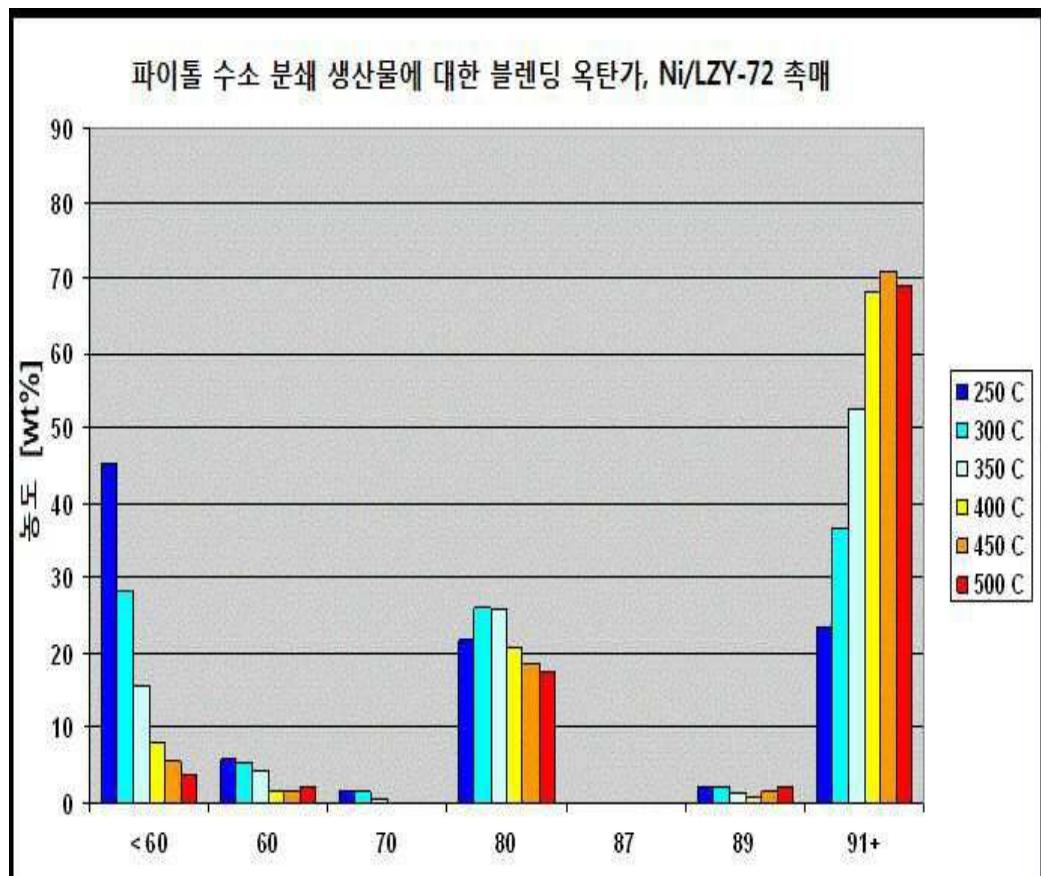
도면10b



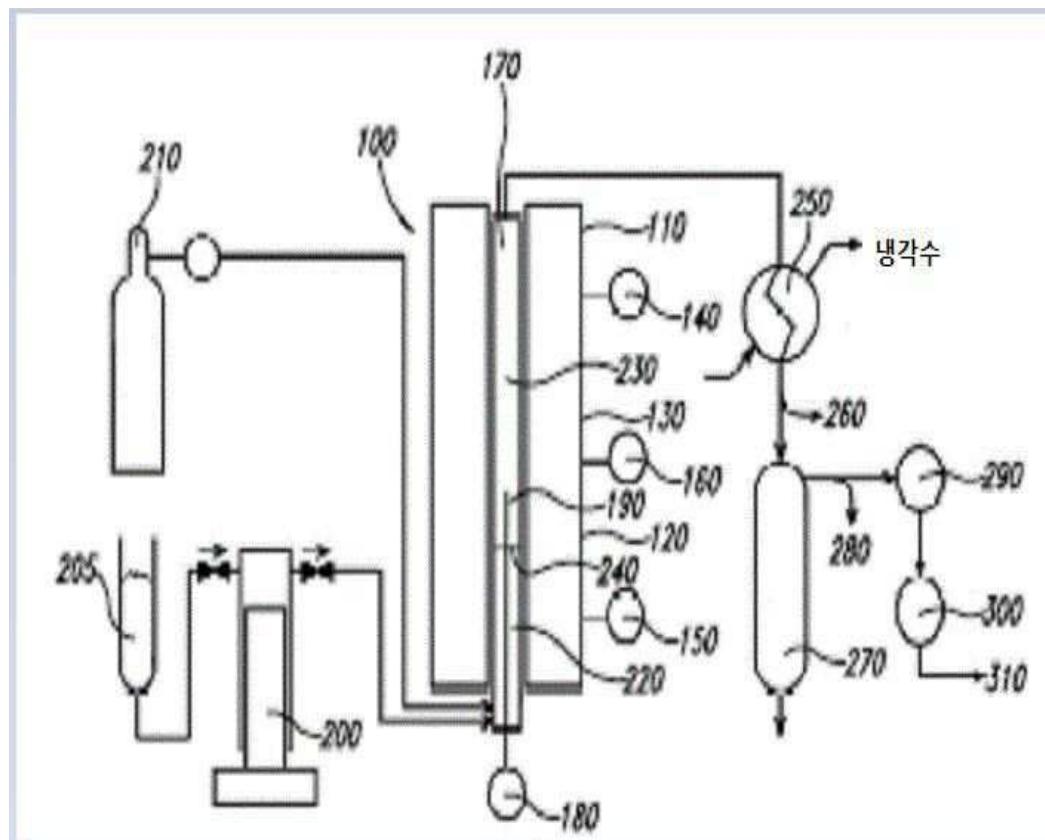
도면11a



도면11b



도면12a



도면12b

