목재공학 38(3): 223~229, 2010
Mokchae Konghak 38(3): 223~229, 2010

Peroxidase/H_2O_2 조건에서 리그닌 전구물질에 따른 탈수소 중합반응 특성 연구*1

문 선 주*2 · 김 광 호*2 · 엄 인 용*2 · 이 수 민*3 · 김 용 환*4 · 최 준 원*2,5†

Study on Dehydrogenative Polymerization of Monolignols by Peroxidase/H_2O_2*1

Sun Joo Moon*2 · Kwang Ho Kim**2 · In Yong Eom*2 · Soo Min Lee*3 · Yong Hwan Kim*4 · Joon Weon Choi*2,5†

요 약

본 연구에서는 천연리그닌의 전구물질인 3종의 모노리그놀〔*p*-coumaryl alcohol (PCA), coniferyl alcohol (CA), sinapyl alcohol (SA)〕을 이용하여 horseradish peroxidase (HRP, EC. 1.11.1.7)/H_2O_2 조건하에서 dehydrogenative polymers (DHPs)를 제조하였다. 합성한 DHPs와 천연리그닌의 구조적 특성을 비교하기 위해 소나무와 포플라 milled wood lignin (MWL)과 함께 Gel permeation chromatography (GPC)에 의한 분자량 측정과 Derivatization followed by reductive cleavage (DFRC) 분석에 의한 β-O-4 결합 빈도를 측정하였다. DHP 합성 수율은 CA만을 단독으로 주입한 G-DHP가 71%로 가장 높았고 PCA에 의한 H-DHP 수율은 42%로 나타났다. 그러나 horseradish peroxidase/H_2O_2 조건하에서 SA 단독으로는 S-DHP는 전혀 합성되지 않았다. 합성한 DHPs의 분자량(Mw)은 3,000~4,700 범위로 측정되었는데, 이는 침엽수 리그닌인 소나무 MWL (G-type lignin: Mw 7340)의 절반 정도였고 활엽수인 포플라 MWL (GS-type lignin: Mw 13,250)의 1/3 수준으로 측정되었다. DHP 합성 과정에서 형성된 β-O-4 결합 빈도는 GS-DHP가 502 μmol/g으로 가장 높았지만 포플라 MWL (1107 μmol/g)의 1/2 수준에 머물렀고, G-DHP의 경우도 약 286 μmol/g으로 H-DHP (127 μmol/g)보다 약 2.5배 이상 많은 β-O-4 결합을 형성하였지만 소나무 MWL (651 μmol/g)과 비교하여 절반 정도로 측정되었다.

*1 접수 2009년 12월 21일, 채택 2010년 3월 15일
*2 서울대학교 농업생명과학대학 산림과학부. Dept. Forest Science, CALS, Seoul National University, Seoul 151-921, Korea
*3 국립산림과학원 화학미생물과. Div. Wood Chemistry & Microbiology, Korea Forest Research Institute, Seoul 130-712, Korea
*4 광운대학교 화학공학과. Dept. Chemical engineering, Kwangwoon University, Seoul 139-701, Korea
*5 서울대학교 농업생명과학연구원. Research Institute for Agriculture and Life Science, Seoul National University, Seoul 151-921, Korea
† 교신저자(corresponding author) : 최준원(e-mail: cjw@snu.ac.kr)

ABSTRACT

In this study diverse dehydrogenative polymers (DHPs) were synthesized with three precursors of native lignin [*p*-coumaryl alcohol (PCA), coniferyl alcohol (CA), sinapyl alcohol (SA)] in the presence of horseradish peroxidase (HRP, EC. 1.11.1.7)/H_2O_2. To compare the structural features between DHPs and native lignin, the DHPs as well as pine/poplar milled wood lignins were simultaneously subjected to gel permeation chromatography (GPC) to determine average molecular weights and derivatization followed by reductive cleavage (DFRC) to investigate the frequency of β-O-4 linkage. The highest yield of DHP was measured to 71% when CA was solely injected (G-DHP) and the yield of H-DHP was 42%. However, single injection of SA could not form any polymer in this system. The average molecular weights of DHPs were ranged between 3,000~4,700, which were only 1/2 fold compared with that of pine MWL (G-type lignin: Mw 7,340) and 1/3 scale compared with that of poplar MWL (GS-type lignin: Mw 13,250). DFRC analysis revealed that the formation of β-O-4 linkage during dehydrogenative polymerization was the highest in the GS-DHP with *ca.* 502 μmol/g, which was, however, remained to only 50% compared to that in poplar MWL (1107 μmol/g). The β-O-4 linkage was estimated to ca. 286 μmol/g In the G-DHP, which was twice as much as that of H-DHP(127 μmol/g). Similar to GS-DHP, only half amount of β-O-4 linkage, compared to pine MWL, was formed during *in vitro* polymerization of CA by horseradish peroxidase/H_2O_2.

Keywords: lignin, dehydrogenative polymer (DHP), monolignol, horseradish peroxidase

1. 서 론

리그닌은 자연계에서 셀룰로오스 다음으로 풍부하게 존재하는 2차 대사산물로 지구상의 모든 고등식물의 세포벽을 구성하는 주요 페놀성 천연물질이다. 식물체에게 물리적인 강성과 외부의 병원균에 대한 저항성을 부여하는 임무를 담당하는 리그닌은 Fig. 1에 나타낸 C_6C_3 골격(phenylpropane)으로 이루어진 3종의 모노리그놀(*p*-coumaryl alcohol, coniferyl alcohol, sinapyl alcohol)로 구성되며, 이들은 서로 에테르 결합인 *arylglycerol-β-ary lether* 방식과 다양한 탄소-탄소 결합으로 이루어진 삼차원 구조의 페놀고분자체이다.

모노리그놀들은 식물세포 내에서 다양한 페놀화합물의 생합성을 관장하는 phenylpropanoid pathway에 의해 생성되고 이들은 세포가 분화되어 새로운 세포벽이 형성되는 과정에서 세포벽으로 이동하게

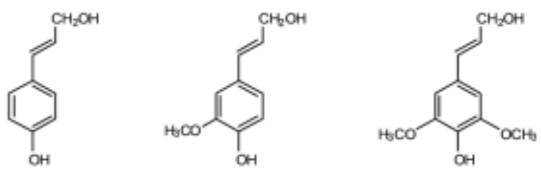

Fig. 1. Lignin precursors : (a) *p*-coumaryl alcohol (H-type), (b) coniferyl alcohol (G-type), (c) sinapyl alcohol (S-type).

된다(Boerjan *et al.*, 2003). 모든 고등식물의 세포벽에는 철이온(Fe)을 함유한 peroxidase (EC. 1.11.1.7)와 H_2O_2가 존재하는데, 이들은 세포벽으로 이동한 모노리그놀들을 'one electron oxidation' 반응에 의해 페놀라디칼로 전환시키고 라디칼들은 서로 중합반응에 의해 리그닌이라는 고분자체를 형성하게 된다. 이러한 목질화 반응(lignification)은 세포벽의 2차막이 형성되는 과정에서 이루어지며, 이

러한 과정동안 리그닌은 다른 세포벽 구성물질인 셀룰로오스/헤미셀룰로오스와 다양한 화학적 결합을 이루게 된다(Higuchi 1985, Watanabe 1995). 리그닌과 셀룰로오스/헤미셀룰로오스의 밀접한 화학적 결합 때문에 세포벽에서 리그닌을 순수한 상태로 분리하는 것이 불가능하였고, 이로 인해 리그닌의 화학적 구조나 고분자 특성이 지금까지 명확하게 규명되지 못한 상태이다. 현재 천연 리그닌의 모델로 알려진 milled wood lignin (MWL)은 화학적 구조 변형을 최소화하기 위해 산이나 알칼리를 사용하지 않고 단지 세포벽 입자를 매우 미세하게 분쇄하여 추출한 리그닌으로 수율은 세포벽에 존재하는 리그닌의 약 10% 정도에 불과하다.

Dehydrogenative polymer (DHP)는 실제 식물 세포벽과 유사한 조건하에서 모노리그놀을 peroxidase와 H_2O_2를 이용하여 *in vitro*에서 합성한 리그닌 고분자이다(Faix, 1986; Faix and Beinhoff, 1988). Horseradish peroxidase (HRP)는 지금까지 수목에서 리그닌 생합성 과정을 이해하기 위한 DHP 합성 연구에 널리 활용되어온 식물성 peroxidase이다(Syrjaenen and Brunow, 2000). DHP합성법은 일반적으로 수용성 유기용매(acetone, dioxane, propanol) 하에서 진행되는데, 모노리그놀의 투입방식에 따라 'Zulaufverfahren'과 'Zutrophverfahren'으로 구분된다(Freudenberg, 1956). Zulaufverfahren은 반응기에 모노리그놀과 효소를 동시에 투입하여 고분자반응을 진행시키는 방식이며, Zutrophverfahren은 일정량의 효소가 존재하는 반응기에 모노리그놀을 일정한 속도로 투입하면서 모노리그놀의 고분자 반응을 유도하는 방식이다. 합성 리그닌은 모노리그놀의 투입방식에 따라 고분자의 결합방식에 차이가 나타나며, 일반적으로 Zutrophverfahren 방식이 *in vivo* 상태의 식물 세포벽에서 리그닌이 생합성되는 과정과 유사하다고 보고된 바 있다(Freudenberg, 1956).

본 실험에서는 모노리그놀에 따른 리그닌의 고분자화 특성과 리그닌의 주요 결합양식인 β-O-4 결합 형성의 차이를 이해하기 위해 horseradish peroxidase/H_2O_2 조건하에서 3종의 모노리그놀을 이용하여 합성리그닌을 제조하였다. 합성된 리그닌(DHPs)과 수목에서 생합성된 천연리그닌의 화학 구조적 차

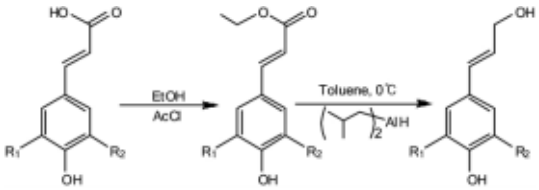

Fig. 2. The synthesis of lignin precursors. PCA : R_1=R_2=H, CA : R_1=H, R_2=OCH_3, SA : R_1=R_2=OCH_3.

이를 비교하기 위해 소나무와 포플라 세포벽에서 MWL를 추출하여 각각의 분자량과 DFRC 분석을 실시하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 리그닌 전구물질 합성

3종의 리그닌 전구물질(*p*-coumaryl alcohol, coniferyl alcohol, sinapyl alcohol)은 Sigma 사에서 구입한 C_6C_3형 페놀산(hydroxycinnamic acid)인 *p*-coumaric acid, ferulic acid, sinapic acid를 이용하여 각각 합성하였다(Fig. 2; Quideau and Ralph 1992). 이 반응은 페놀산(50 mmol)을 에탄올(250 mℓ)에 녹인 후에 acetyl chloride (25 mℓ)를 서서히 첨가하여 페놀산의 9번 위치에 존재하는 카르복실기가 에세틸화된 ethylated cinnamic acid를 제조한 후에 이를 diisobutylaluminum hydride/toluene 조건하에서 12 시간 동안 반응시켜 3종의 전구물질을 합성하였다. 각각의 최종 수율은 *p*-coumayl alcohol 84%, coniferyl alcohol 62%, sinapyl alcohol 43%이었다.

2.2. 탈수소 중합반응

3종의 리그닌 전구물질은 horseradish peroxidase (HRP, EC 1.11.1.7; Sigma-Aldrich P8250)와 H_2O_2 조건에서 합성리그닌(DHP)을 제조하기 위해 아래와 같이 제조용액을 준비하였다. Solution 1: phosphate buffer (0.025 N, pH 6, 200 mℓ); Solution 2: acetone (6 mℓ) + phosphate buffer (44 mℓ) + mono-

lignol (500 mg); Solution 3: phosphate buffer (50 ml) + H_2O_2 (28% wt in water: 0.125 ml). DHP 제조는 solution 1에 HRP (1,500 unit)를 첨가한 후에 solution 2와 solution 3을 상온에서 5시간 동안 서서히 첨가하면서 교반시켰다(Zutrophfverfahren). Solution 2와 solution 3을 모두 첨가한 후에 반응 혼합액은 추가적으로 5시간 동안 교반하였다. 반응 과정에서 형성된 고분자체(DHP)는 원심분리기로 분리한 후에 동결건조하였다.

2.3. 합성리그닌 분자량 측정

DHP의 분자량 분포는 겔크로마토그래피(GPC) 분석을 이용하여 측정하였다. 분자량 측정을 위해 DHP를 pyridine과 acetic anhydride (1:1, v/v)로 아세틸화하였으며, 이를 tetrahydrofuran (THF) 용액에 녹여서 분석하였다. 본 실험에서 사용한 분석 장비는 Viscotek사의 GPCmax이었고 검출장치는 UV와 RI를 사용하였다. DHP의 분자량을 측정하기 전에 분자량이 다른 10개의 polystyrene 표준물질(Mw: 500~1,000,000)을 이용하여 검량선을 작성하였다.

2.4. Derivatization Followed by Reductive Cleavage (DFRC)

DFRC 분석은 Lu와 Ralph (1997)법에 의거하여 실시하였다. 합성한 DHP는 acetyl bromide 용액에 침지하여 상온에서 12시간 동안 교반시켜 브롬화 반응과 수산기의 아세틸화 반응을 실시하였다. 반응 혼합물에서 AcBr용액을 완전히 제거한 후에 남은 잔사는 다시 dioxane/acetic acid/water (5:4:1, v/v/v) 용액에 녹이고 아연분말을 첨가하여 30분 동안 교반하여 DFRC 분해산물을 획득하였다. DFRC 분해산물은 pyridine과 acetic anhydride (1:1, v/v)로 아세틸화한 후에 DB-5 capillary column (60 m × 0.25 mm, 0.25 um)을 장착한 Gas chromatography (HP 6890 series)를 이용하여 분석하였다. 자세한 분석조건은 다음과 같다 - Injection 온도: 220°C; 오븐 온도: 100°C에서 280°C까지 분당 5°C씩 상승, 최고온도에서 8분간 유지; 검출기: FID (온도: 300°C).

Table 1. Preparation of dehydrogenative polymers (DHP) and their yields

DHPs	Monolignols	Yield (%)
H-DHP	*p*-coumaryl alcohol only	41.8
G-DHP	coniferyl alcohol only	71.2
S-DHP	sinapyl alcohol only	–
HG-DHP	*p*-coumaryl + coniferyl alcohol (50:50)	44.8
GS-DHP	coniferyl + sinapyl alcohol (50:50)	53.6

3. 결과 및 고찰

3.1. 합성 리그닌 제조특성

본 연구에서는 3종의 리그닌 전구물질을 horseradish peroxidase (HRP)와 H_2O_2를 이용하여 총 5종의 합성 리그닌(DHP)를 제조하였다(Table 1). *p*-coumaryl alcohol (PCA)와 coniferyl alcohol (CA)로 이루어진 HG-DHP와 coniferyl alcohol (CA)과 sinapyl alcohol (SA)로 구성된 GS-DHP는 각각의 모노리그놀 배합비율을 50:50으로 하여 제조하였다. DHPs의 생성 수율은 각 모노리그놀에 따라 차이가 나타났다. CA만을 단독으로 주입하였을 경우가 DHP 합성 수율이 가장 높아 약 71% 정도 생성되었고, PCA는 주입한 모노머의 약 42% 정도만 고분자를 이루는 것으로 나타났다. SA의 경우에는 전혀 고분자가 합성되지 않았다.

식물에서 발견되는 peroxidase (class III)는 Ca^{+2}를 함유하고 있는 당단백질로서 세포벽이나 세포 내 vacuole에서 발견된다. Peroxidase의 active site에 존재하는 3가 철이온(FeIII)은 H_2O_2에 의해 산화된다. 산화된 철을 보유한 peroxidase는 세포벽에 존재하는 음 전하를 띤 두 분자의 모노리그놀(phenolate anion)로부터 전자를 취하여 모노리그놀 라디칼(phenol radical)로 변환시킴과 동시에 자신은 3가 철이온을 함유한 peroxidase로 환원된다(Barcelo et al., 2007). 이러한 과정에서 생성된 모노리그놀 라디칼들은 서로 중합반응 또는 radical transfer에 의

해 리그닌 고분자로 성장하게 된다. Peroxidase의 라디칼 형성반응은 모노리그놀에 따라 차이가 나타나는데, 일반적으로 SA 〉 CA 〉 PCA 순으로 라디칼이 잘 형성된다. 이러한 모노리그놀의 라디칼 변환 차이는 CA만으로 제조한 G-DHP와 PCA로 제조한 H-DHP 수율의 차이로 잘 설명된다. SA는 라디칼 변환율에 있어서는 다른 두 모노리그놀보다 우수함에도 불구하고 S-DHP가 형성되지 않는 이유는 peroxidase 자체에서 찾을 수 있다. 모델식물인 애기장대(*Arraidopsis thaliana*)에서 발견된 peroxidase와 HRP의 단백질 결정구조를 살펴보면 CA와는 달리 SA는 C5번 위치에 부착된 메톡실기로 인한 구조적인 방해로 peroxidase의 활성부위에 도달하지 못한다. 이로 인해 효소-기질 결합이 이루어지지 못해 라디칼 형성이 불가능하여 고분자를 형성하지 못하는 것으로 알려져 있다. 따라서 활엽수종을 비롯한 쌍자엽식물(angiosperm)의 세포벽에서는 peroxidase에 의해 형성된 CA 라디칼이 SA로 전이되어 GS형 리그닌이 만들어지는 것으로 알려져 있다 (Takahama *et al.*, 1996).

3.2. 합성리그닌의 분자량 분포

Table 2에는 위에서 합성한 DHPs의 평균 분자량과 다분산도 측정값을 소나무와 포플라에서 추출한 MWL의 측정값과 함께 제시하였다. 실험실에서 추출한 MWL의 수율은 세포벽에 존재하는 총 리그닌의 10% 정도에 머무르기 때문에 MWL이 과연 전체 리그닌을 대표할 수 있느냐에 의문도 제기되기도 했지만(Fujimoto *et al.*, 2005), 현재까지 MWL의 화학적 구조가 천연리그닌과 유사하다는 학설에 근거하여 본 실험에서 제조한 DHP 제조 특성 및 화학구조를 MWL과 비교하였다.

Table 2에서 보듯이 *in vitro* 상에서 모노리그놀로 제조된 DHP의 분자량 범위는 약 3,000~4,700으로 측정되어 *in vivo* 상에서 형성된 리그닌(MWL)의 분자량보다 크게 낮은 것으로 확인되었다. 소나무는 전형적인 G형 리그닌으로 평균분자량 값은 약 7,379로 측정되었지만, *in vitro* 상에서 CA로 합성한 G-DHP의

Table 2. Determination of average molecular weight by GPC

Sample	Determination of molecular weight (Dalton)		
	Mn	Mw	Mw/Mn
Pine MWL	3,322	7,379	2.22
Poplar MWL	4,176	13,249	3.17
H-DHP	2,404	4,691	1.95
G-DHP	2,261	3,090	1.37
HG-DHP	2,116	3,396	1.64
GS-DHP	2,807	4,451	1.58

평균분자량은 소나무 MWL의 절반 수준에도 못 미치는 3,100 수준으로 나타났다. 활엽수종인 포플라 리그닌은 대부분 CA과 SA로 구성된 GS-리그닌이다. *In vitro*에서 제조한 GS형 리그닌인 GS-DHP의 분자량은 4,450으로 자연에서 생합성된 리그닌인 포플라 MWL과 비교하여 1/3 수준에 불과하였다. 지금까지 자연계에는 PCA로만 구성된 리그닌(H형 리그닌)은 아직 발견되지 않고 있다. *In vitro* 상에서 제조한 H-DHP의 평균분자량 값은 약 4,700으로 G-DHP나 GS-DHP보다 크게 측정되었다. 구조적인 측면에서 PCA는 페놀구조의 3, 5번 위치에 메톡실기가 존재하지 않아 다른 모노리그놀보다 라디칼 중합반응이 다양할 것으로 예측되고 이로 인하여 탄소-탄소결합 가능성은 높아져 H-DHP는 다른 DHPs와 비교하여 보다 복잡한 삼차원적 구조를 이룰 것으로 예측된다.

3.3. DFRC 분석

Derivatization Followed by Reductive Cleavage (DFRC) 분석법은 리그닌 고분자의 수산기를 아세틸화하여 유기용매에 대한 용해도를 높여주고 이를 다시 금속(아연)촉매를 이용하여 리그닌 결합방식 중에서 β-O-4 결합을 선택적으로 끊어 아세틸화된 C_6C_3형 분해산물[*p*-coumaryl alcohol, coniferyl alcohol, sinapyl alcohol]을 형성하는 분석법이다.

Table 3. Yields of DFRC products of the DHPs

Sample	μmol/g sample				
	H-CH=CHCH$_2$OAc	G-CH=CHCH$_2$OAc	S-CH=CHCH$_2$OAc	Total	G/S
Pine MWL*	–	651	–	651	–
Poplar MWL	–	312.2 ± 2.2	795.2 ± 5.9	1107.4 ± 8.1	0.39
H-DHP	126.7 ± 1.2	–	–	126.7 ± 1.2	–
G-DHP	–	285.9 ± 14.5	–	285.9 ± 14.5	–
HG-DHP	115.6 ± 5.1	135.6 ± 1.9	–	251.2 ± 7.1	–
GS-DHP	–	362.3 ± 7.3	140.2 ± 2.3	502.5 ± 9.6	2.6

* Ref. Lu and Ralph (1998).

따라서 DFRC 분석법을 이용하면 DHPs 제조과정 동안 HRP/H_2O_2 하에서 형성된 모노리그놀 라디칼 사이의 β-O-4 결합 빈도를 간접적으로 측정할 수 있다. Table 3에는 본 실험에서 제조한 DHPs와 소나무와 포플라 MWL을 DFRC 분석에 의해 생성된 모노리그놀의 수율을 비교하였다. 일반적으로 수목 세포벽에서 단리한 MWL을 대상으로 실시한 DFRC 분석결과에 의하면 C_6C_3형 분해산물의 생성 수율은 약 17~20% 정도에 해당된다(Lu and Ralph, 1998). 세포벽에 존재하는 리그닌의 다양한 결합 양식 중 β-O-4 결합이 차지하는 비율을 약 50%라고 가정하면(Alder 1977), 리그닌으로 생성된 DFRC 분해산물은 전체 β-O-4 결합의 약 40% 정도로 예측할 수 있다.

H-DHP와 G-DHP를 DFRC 분석에 의해 형성된 주요 분해산물인 H-CH=CHCH$_2$OAc와 G-CH=CHCH$_2$OAc의 수율은 각각 126.7 (μmol/g)과 285.9 (μmol/g)로 측정되었다. 이는 CA는 페놀구조의 3번 위치에 메톡실기가 존재하여 DHP를 제조할 경우, 3, 5번 위치가 자유로운 PCA보다 약 2.5배 이상 높은 비율로 β-O-4 결합을 형성하였음을 의미한다. 즉, PCA는 HRP/H_2O_2 하에서 H-DHP로 고분자화 될 때 CA보다 탄소-탄소 결합 가능성이 더욱 높음을 의미한다. SA만으로 제조한 S-DHP는 고분자를 형성하지 못하여 H-DHP와 G-DHP와 직접 비교할 수 없었다. 그러나 SA와 CA를 혼합하여 제조한 GS-DHP의 DFRC 분석 결과에 의하면 SA는 CA의 라디칼 전이반응에 의해 SA 라디칼로 변환되어 β-O-4 결합을 형성하는 것으로 분석되었다. GS-DHP 제조과정에서 CA와 SA의 투입 비율을 50:50으로 하였지만, 실제로 β-O-4 결합형성 빈도는 CA가 SA보다 약 2.6배 이상 높은 것으로 나타났다. 합성 리그닌 제조 과정과 천연리그닌 생합성 과정에서 형성되는 β-O-4 결합 빈도를 관찰하기 위해 리그닌 유형별로 DFRC 분해산물 수율을 비교하였다. 우선 침엽수에서 생성되는 G형 리그닌인 소나무 MWL의 DFRC 수율이 약 650 (μmol/g)으로 G-DHP보다 두 배 이상 높았으며, 활엽수에서 나타나는 포플라 MWL도 GS-DHP와 비교하여 두 배 정도 높은 수율을 보였다. 이러한 결과로 미루어 세포벽 내에서 *in vivo* 상으로 형성된 리그닌은 모노리그놀의 라디칼 형성에 관여하는 peroxidase/H_2O_2 이외에 리그닌의 결합방식을 조절할 수 있는 또 다른 요소가 식물 세포벽에 존재할 수 있다는 가능성을 제시해 준다.

4. 결 론

현재까지 명확하게 규명되지 않은 리그닌의 고분자 합성과정을 살펴보기 위해서 리그닌 전구물질인 3종의 모노리그놀{*p*-coumaryl alcohol (PCA), coniferyl alcohol (CA), sinapyl alcohol (SA)}을 이용하여 horseradish peroxidase/H_2O_2 조건하에서 DHP를 합성하였고, 제조된 DHP와 천연리그닌의 구조적 차이를 구명하기 위해서 소나무와 포플라의 MWL과 평균 분자량 크기 및 β-O-4 결합 형성 빈도를 비교하였다. DHP의 수율은 CA만으로 합성하였을 때

71.2%로 가장 높았고 SA 단독으로는 리그닌 고분자를 형성하지 않았다. 이는 모노리그놀에서 peroxidase의 라디칼 형성반응과 peroxidase의 활성부위에 대한 접근성을 고려하여 이해할 수 있었다. 또한 DHP의 분자량은 자연계에 존재하는 소나무나 포플라 MWL보다 훨씬 낮게 측정되었다. 그 중에서 H-DHP는 다른 DHPs보다 비교적 높은 평균 분자량 값을 나타냈지만, 다분산도 값(Mw/Mn) 또한 높게 측정되었다. 이는 PCA의 3번과 5번 위치 탄소에서 메톡실기의 부재로 인해 탄소-탄소 결합이 증가하게 되어 보다 복잡한 구조를 이룬 것으로 생각된다. DHPs의 β-O-4 결합 빈도를 DFRC법에 의거하여 간접적으로 측정해본 결과, G-DHP가 H-DHP보다 높은 빈도로 β-O-4 결합을 형성하는 것으로 나타났다. SA만으로는 S-DHP가 형성되지 않아 직접 비교할 수는 없었지만, 구조적인 측면에서 S-DHP는 H-DHP와 G-DHP보다 훨씬 높은 비율로 β-O-4 결합을 형성할 것으로 예측된다. 또한 GS-DHP의 분석결과에 의하면 CA는 SA가 존재함으로써 보다 높은 비율로 β-O-4 결합에 참여하는 것으로 나타났다. G-DHP와 GS-DHP는 자연계에서 이들과 유사한 모노머 조성을 보이는 침엽수리그닌 또는 활엽수리그닌과 각각 비교해 볼 때 약 50% 미만의 낮은 β-O-4 결합의 빈도를 나타냈다. 이는 peroxidase/H_2O_2 조건하에서 일어나는 라디칼 형성에 의한 리그닌 고분자화 반응 외에도 식물 세포벽 내에서 리그닌 결합방식을 조절하는 다양한 요소들이 존재하고 있음을 암시해 준다.

사 사

본 연구는 한국연구재단의 기초연구과제지원사업(KRF-2008-314-D00081)의 지원에 의하여 이루어진 것입니다.

참 고 문 헌

1. Barakat, A., H. Winter, C. Rondeau-Mouro, B. Saake, B. Charbert, and B. Cathala. 2007. Studies of xylan interaction and cross-linking to synthetic lignins formed by bulk and end-wise polymerization : a model study of lignin carbohydrate complex formation. Planta 226: 267~281.
2. Boerjan, Q., J. Ralph, and M. Baucher. 2003. Lignin biosynthesis. Annu. Rev. Plant Biol. 54: 519~546.
3. Faix, O. 1986. Investigation of lignin polymer models (DHP) by FTIR spectroscopy. Holzforschung 40: 273~280.
4. Faix, O. and O. Beinhoff. 1988. FTIR spectra of milled wood lignins and lignin polymer models (DHP) with enhanced resolution obtained by deconvolution. Journal of wood chemistry and technology 8: 505~522.
5. Freudenberg, K. 1956. Beitraege zur Erforschung des Lignins. Angewandte Chemie. 68: 508~512.
6. Higuchi, T. 1985. Biosynthesis of lignin. In: Biosynthesis and biodegradation of wood components. Eds: T. Higuchi, Academic press, Inc. pp 141~160.
7. Lu, F. and J. Ralph. 1997. Derivatization followed by reductive cleavage (DFRC method), a new method for lignin analysis: Protocol for analysis of DFRC monomers. J. Agric. Food. Chem. 45: 2590~2592.
8. Quideau, S. and J. Ralph. 1992. Facile Large-Scale Synthesis of Coniferyl, Sinapyl, and *p*-Coumaryl Alcohol, J. Agric. Food Chem. 40: 1108~1110.
9. Syrjaenen, K. and G. Brunow. 2000. Regioselectivity in lignin biosynthesis. The influence of dimerization and cross-coupling. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1: 183~187.
10. Takahama, U., T. Oniki, and H. Shimokawa. 1996. A possible mechanism for the oxidation of sinapyl alcohol by peroxidase-dependent reactions in theapoplast: Enhancement of the oxidation by hydroxycinnamic acids and components of the apoplast. Plant cell physiology 37: 499~504.
11. Watanabe, T. 1995. Important properties of lignin-carbohydrate complexes (LCCs) in environmentally safe paper making. Trends in glycoscience and glycotechnology 7: 57~68.
12. Lu, F. and J. Ralph. 1998. The DFRC Method for Lignin Analysis. 2. Monomers from Isolated Lignins. J. Agric. Food. Chem. 46: 547~552.