

## 이온성액체(1-ethyl-3-methylimidazolium acetate)로 추출한 리기다소나무(pitch pine) 리그닌의 화학·구조 특성\*<sup>1</sup>

김재영\*<sup>2</sup> · 김태승\*<sup>2</sup> · 황혜원\*<sup>2</sup> · 오신영\*<sup>2</sup> · 최준원\*<sup>2,3†</sup>

### Chemical · Structural characterization of lignin extracted from Pitch Pine with Ionic Liquid (1-ethyl-3-methylimidazolium acetate)\*<sup>1</sup>

Jae-Young Kim\*<sup>2</sup> · Tae-Seung Kim\*<sup>2</sup> · Hyewon Hwang\*<sup>2</sup> · Shinyoung Oh\*<sup>2</sup> ·  
Joon Weon Choi\*<sup>2,3†</sup>

#### 요약

바이오매스 전처리에 효과적인 이온성 액체로 주목받고 있는 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate를 사용하여 리기다소나무(pitch pine)로부터 리그닌을 추출하였고, 추출한 리그닌(Ionic Liquid Lignin : ILL)의 화학구조적 특성을 동일한 수종에서 단리한 milled wood lignin (MWL)과 비교분석하였다. 작용기 분석 결과 ILL과 MWL은 각각 10.0, 7.2%의 페놀성 수산기와 4.9, 11.0%의 메톡실기를 갖는 것으로 나타났다. ILL의 중량평균분자량(3,995 Da)은 MWL (8,438 Da)에 비해 약 2배 정도 낮았으며, 다분산지수는 1.36으로 MWL (3.18)보다 낮은 값을 보였다. ILL의 열중량 분석 결과에 의하면 최대중량감소율(Vm)이 나타나는 온도(Tm)는 306.6°C로 MWL (341.9°C)보다 낮아 ILL이 MWL에 비해 열적으로 불안정하다는 것을 확인할 수 있었다.

#### ABSTRACT

1-Ethyl-3-methylimidazolium acetate known as efficient biomass pretreatment reagent was used for the extraction of lignin from rigida pine wood (pitch pine), which was called to ionic liquid

\*<sup>1</sup> 접수 2012년 3월 2일, 채택 2012년 5월 21일

\*<sup>2</sup> 서울대학교 농업생명과학대학 산림과학부. Dept. Forest Sciences, CALS, Seoul National University, Seoul 151-921, Korea

\*<sup>3</sup> 서울대학교 농업생명과학연구원. Research Institute for Agriculture and Life Sciences, Seoul National University, Seoul 151-921, Korea

† 교신저자(corresponding author) : 최준원(e-mail: [cjw@snu.ac.kr](mailto:cjw@snu.ac.kr))

lignin (ILL), and chemical · structural features of ILL were compared with the corresponding milled wood lignin (MWL). The amounts of phenolic hydroxyl groups (Phe-OH) was determined to 10.0% for ILL and 7.2% for MWL, respectively, where those of methoxyl groups (OMe) were 4.9% for ILL and 11.0% for MWL, respectively. The weight average molecular weight (Mw) of ILL (3,995) were determined to ca. 1/2 of that of MWL (8,438) and polydispersity index (PDI: Mw/Mn) suggested that the lignin fragments were more uniform in the ILL (PDI 1.36) than in the MWL (PDI 2.64). The temperature (Tm) corresponding to maximum decomposition rate (Vm) of ILL (306.6°C) was ca. 35°C lower than that of MWL (341.9°C), suggesting that ILL was thermally unstable than MWL, as evidence from the lower Tm for ILL. Moreover, the structural characteristics of ILL and MWL were confirmed by spectroscopic analyses (FT-IR and <sup>13</sup>C-NMR), and these results indicated ionic liquid (1-ethyl-3-methylimidazolium acetate) was chemically or physically bound to ILL.

**Keywords:** lignin, 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate, ionic liquid, milled wood lignin, <sup>13</sup>C-NMR

## 1. 서 론

리그닌은 식물계 바이오매스를 구성하는 고분자 중 하나로 수종마다 약 15~20% 정도를 차지하며, 셀룰로오스 다음으로 지구상에 가장 많이 존재하는 천연고분자이다. 리그닌은 페닐프로판 단위체(C<sub>6</sub>C<sub>3</sub>)인 *p*-coumaryl alcohol, coniferyl alcohol, sinapyl alcohol이 β-O-4, β-β, 5-5' 등 다양한 결합을 통해 이루어진 물질이며 식물 세포벽 내에서 3차원의 무정형성 구조를 형성하고 있다(Fengel and Wegener, 1984; Lai and Sarkanen, 1971). 일반적으로 리그닌은 매우 복잡한 축합된 구조를 이루고 있기 때문에 식물체를 물리적으로 지지하는 역할을 할 뿐만 아니라 외부의 세균이나 미생물로부터의 침입을 방지하는 역할도 한다. 이러한 리그닌은 바이오매스 내에 다른 고분자인 셀룰로오스/헤미셀룰로오스와 공유결합을 통해 물리적·화학적 결합을 하고 있다. 이들 간의 결합을 lignin-carbohydrate complexes (LCC)라 정의하며 benzyl-ether, benzyl-ester, phenyl-glycoside 결합 등이 이에 속한다.

이온성 액체(Ionic Liquids : ILs)는 약 100°C 이하에서 액체로 존재하는 염이나 염혼합물을 뜻하며 액체임에도 불구하고 상온에서 이온결합을 형성하고 있는 특징이 있다(Huddleston *et al.*, 1998).

이온성 액체는 비가연성이며 재활용이 가능하고 휘발성이 낮고 열에 안정하다는 특성이 있어 환경유해적인 유기용매를 대체할 수 있는 대안으로 각광받고 있다(Earle and Seddon, 2000; Van rantwijk and Sheldon, 2007). 또한 이온성 액체는 사용 목적에 맞게 양이온과 음이온을 선택적으로 합성하여 극성을 비롯한 용매 특성을 인위적으로 제어할 수 있는 장점이 있다. 따라서 이러한 이온성 액체는 광범위하게 활용될 수 있는 Green Solvent이며 최근 들어서는 목질계 바이오매스 전처리 분야에도 활용되고 있다. 선행연구에 따르면 이온성 액체는 바이오매스 내에 존재하는 셀룰로오스의 결정화도를 감소시킬 뿐 만 아니라 리그닌을 선택적으로 제거하여, 당화를 위한 효소접근성을 향상시키는 효과가 있다고 조사되었다(Lee *et al.*, 2009; Samayam and Schall, 2010). 하지만 이러한 전처리 과정에서는 리그닌을 다량 함유하고 있는 고품 성분(Ionic Liquid Lignin : ILL)이 부산물로 발생하게 된다. 이들은 지금까지 단순히 공정 내 전력 생산을 위한 고품 연료로 사용되는 등의 저부가가치 원료로써 활용 방안이 제시되어 왔다. 하지만 미래 바이오리파이너리의 산업화를 고려했을 경우, 바이오매스의 전수 활용 및 경쟁성 제고 측면에서 이들의 효율적인 활용방안이 제시되어야 할 필요성이 있다. 따라서

Table 1. Chemical and elemental composition of Rigida xylem

Sample	Chemical composition (%)			Elemental composition (%)			
	Extractives	Holocellulose*	Lignin*	C	H	N	O
Rigida xylem	3.86	68.6	321	45.9	6.5	0.1	47.5

\* Based on the weight of de-waxed sample

일차적으로 이러한 리그닌 부산물의 원료적 특성에 대한 심화적인 연구가 필요하다. 하지만 아직까지 국내외로 이에 대한 연구는 매우 부족한 실정이다.

따라서 본 연구의 목적은 이온성 액체를 활용한 바이오매스의 전처리 과정에서 부산물로 발생하는 리그닌의 화학·구조적 특성을 분석하는 데 의의가 있다. 이를 위해 다양한 이온성 액체 중 바이오매스 전처리에 효과적인 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate를 이용하여 국내 침엽수 대표수종인 리기다 소나무로부터 리그닌을 선택적으로 추출하였다(Sun *et al.*, 2009). 1-Ethyl-3-methylimidazolium acetate은 점도와 녹는점이 낮으며 독성이 없고 생분해되는 특성이 있기 때문에 전처리 분야에서 각광받고 있는 친환경적 이온성 액체 중 하나이다(Mäki-Arvela *et al.*, 2010). 비교 분석을 위해서 천연리그닌이라 불리는 Milled Wood Lignin (MWL)을 동일한 수종으로부터 추출하였으며 실험 대조군으로 사용하였다. 원소 조성, 작용기 정량, Gel Permeation Chromatography (GPC), Derivatization Followed by Reductive Cleavage (DFRC) 등의 분석법을 이용하여 ILL의 화학적 특성을 조사하였다. 뿐만 아니라 Thermogravimetric analysis (TGA)와 분광분석(FT-IR, <sup>13</sup>C-NMR)을 통해 ILL의 열적 분해 거동과 구조적 특성도 분석하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 공시재료

본 연구에서는 국내산 리기다 소나무(pitch pine)를 공시재료로 사용하였다. 전라남도 장흥에서 채취한 20년생 리기다 소나무의 목부 부분을 분쇄하여

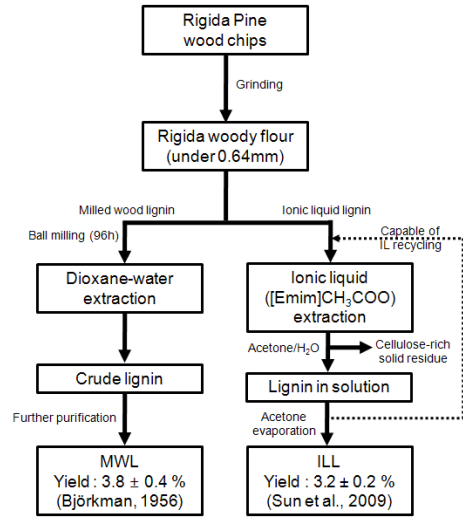


Fig. 1. Flow chart of lignin extraction process.

건조한 후 40 mesh를 통과한 크기만을 사용하였다. 시료의 함수율은 약 10%로 측정되었으며 화학 조성 및 원소조성비는 Table 1에 제시하였다. 시료의 홀로셀룰로오스와 리그닌함량은 각각 Wise 법 (1946)과 72% 황산가수분해법(TAPPI method (T222 om-88))에 의거하여 정량하였다.

### 2.2. 리그닌 추출

Björkman (1956)이 고안한 리그닌 추출법에 의거하여 리기다 소나무 목부로부터 Milled Wood Lignin (MWL)을 추출하였다. Ionic Liquid Lignin (ILL)의 경우 Sun *et al.*, (2009)의 방법에 따라 리그닌을 추출하였으며, 추출 과정은 Fig. 1에 간단히 도시하였다. 자세한 Ionic Liquid Lignin (ILL) 추출 방법은 다음과 같다. 리기다 소나무 목분과 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate를 1 : 20

Table 2. Elemental composition, functional groups, and calculated C<sub>9</sub> formula of ionic liquid lignin (ILL) and milled wood lignin (MWL)

Lignin	Elemental composition (%)				Functional group (%)		C <sub>9</sub> formula	Mw/C <sub>9</sub> (g/mol)
	C	H	N	O*	MeO	Phe-OH		
MWL	61.7	5.9	0.1	32.2	11.0 ± 0.4	7.2 ± 0.4	C <sub>9</sub> H <sub>8.18</sub> O <sub>2.51</sub> (OH) <sub>0.81</sub> (OCH <sub>3</sub> ) <sub>0.66</sub>	187.5
ILL	64.8	6.1	3.8	25.4	4.9 ± 0.6	10.0 ± 0.1	C <sub>9</sub> H <sub>8.62</sub> O <sub>1.48</sub> N <sub>0.17</sub> (OH) <sub>0.98</sub> (OCH <sub>3</sub> ) <sub>0.27</sub>	167.9

\*Calculated by difference

(w/w) 비율로 혼합한 후 110°C 조건에서 16시간 동안 교반시켜 목분을 모두 녹인 후, 아세톤과 증류수 혼합용액(1 : 1 v/v) 200 ml를 첨가하였다. 이후 필터페이퍼(0.45 μm)를 사용해 용액 내에 침전되는 고형분을 걸러낸 후 여과액을 80°C 조건에서 가열하여 아세톤을 제거하면 갈색의 고형 성분이 얻어지게 된다. 이를 증류수를 이용해 몇 번의 세척 과정을 거친 후 동결 건조시켜 최종적으로 Ionic Liquid Lignin (ILL)을 얻었다. 리기다 소나무 목분으로부터 최종적으로 회수된 MWL과 ILL의 수율은 각각 시료의 전건 질량 대비 3.8 ± 0.4%와 3.2 ± 0.2%였다.

## 2.3. 리그닌의 화학적·구조적 특성 분석

### 2.3.1. 리그닌 원소조성 및 작용기 분석

리그닌을 구성하는 탄소, 수소, 질소, 산소의 함량 측정을 위해 US/CHNS-932 (LECO Corp., USA)를 이용하였다. 또한 리그닌에 존재하는 작용기인 메톡실그룹과 페놀성 수산기의 함량은 각각 Baker (1996)와 Mansson (1983)의 방법에 의해 정량하였다.

### 2.3.2. Gel Permeation Chromatography (GPC) 분석

리그닌의 수평균 분자량(Mn), 중량평균 분자량(Mw), 다분산지수(Mw/Mn)을 측정하기 위하여 아세트산무수물과 피리딘을 이용하여 리그닌을 아세틸화(70°C, 6 hr) 시킨 후, 테트라히드로푸란에 녹여 PLgel 5 μm MIXED-C column (300 × 7.5

mm, VARIAN, Inc.)과 PLgel 5 μm guard column (50 × 7.5 mm, VARIAN, Inc.)이 장착된 GPC max instrument (ViscotekRImax, Viscotek, UK)를 이용하여 분석하였으며, 검출장치로는 UV detector를 사용하였다. 표준물질로는 폴리스티렌(분자량 580~3,250,000 Da)을 사용하였다.

### 2.3.3. 리그닌 내 arylglycerol-β-aryl ether (β-O-4) 결합 빈도

리그닌 내에 존재하는 β-O-4 결합 빈도를 측정하기 위하여 Lu와 Ralph (1997)에 의해 고안된 Derivatization Followed by Reductive Cleavage (DFRC)법을 이용하였다.

### 2.3.4. 열적 분해 거동 분석

리그닌의 열적 분해 거동을 관찰하기 위하여 열중량 분석기로 서울대학교 농생명과학공동기기원의 Q-5000 IR 기기(TA instruments, USA)를 이용하였다. 본 연구에서는 열중량 분석조건으로 통용되고 있는 10°C/min 조건으로 분석을 진행하였으며, 측정범위는 40~800°C로 설정하였다.

### 2.3.5. FT-IR

리그닌 내에 존재하는 작용기 분석을 위해 서울대학교 농생명과학공동기기원의 Nicolet 6700 spectrometer (Thermo Scientific, USA)를 이용하였다. 시료는 KBr을 이용해 펠릿 형태로 제조 후 4,000~650 cm<sup>-1</sup> 범위에서 해상도 8 cm<sup>-1</sup>로 측정하였다.

### 2.3.6. $^{13}\text{C}$ NMR

리그닌의 구조적 특성을 파악하기 위해  $^{13}\text{C}$ -NMR 분석을 시행하였다. 분석 기기로는 서울대학교 농생명과학공동기기원의 Bruker AVANCE 600 spectrometer (Bruker, Germany)를 사용하였으며, 리그닌 150 mg을 DMSO-d<sub>6</sub>에 녹여 60°C에서 20,000회 스캔하여 분석하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 원소조성 및 작용기

리기다소나무 목부에서 추출한 MWL과 ILL의 원소조성 및 작용기 함량을 분석하여 Table 2에 제시하였다. 리그닌을 구성하는 원소조성비를 살펴보면 ILL이 MWL에 비해 높은 탄소, 수소, 질소 함량을 갖는 반면 상대적으로 낮은 산소 함량을 보였다. 특히 질소의 경우 ILL이 MWL보다 약 38배 높은 측정값을 나타냈다. 일반적으로 리그닌 내의 질소는 리그닌에 결합되어 있는 소량의 단백질에서 유래한다고 알려져 있다(Pan and Sano, 2000). 하지만 본 실험에서 추출한 ILL은 단백질에서 유래한 질소 외에도 상당량의 질소를 함유하고 있는 것으로 나타났는데, 이는 리그닌 추출과정에서 사용한 이온성액체(1-ethyl-3-methylimidazolium acetate)에 존재하는 질소에서 유래한 것으로 사료된다. 본 실험에서 사용한 이온성 액체인 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate은 1몰 당 2몰의 질소를 함유하고 있으며 ILL 추출 과정 중 양이온 역할을 하는 1-ethyl-3-methylimidazolium이 리그닌 내의 친핵체 원소인 산소와 물리적·화학적으로 흡착되어 위와 같은 결과를 보였음을 알 수 있다. 이를 정량적으로 계산해보면 리그닌을 구성하는 탄소 100몰 당 약 1몰의 1-ethyl-3-methylimidazolium이 흡착되어 있음을 확인할 수 있다.

리그닌에 존재하는 대표적인 작용기인 메톡실기와 페놀성 수산기 함량을 측정된 결과, ILL은 MWL에 비해 약 50% 낮은 메톡실기와 약 39% 높은 페놀성 수산기를 갖는 것으로 나타났다. ILL의

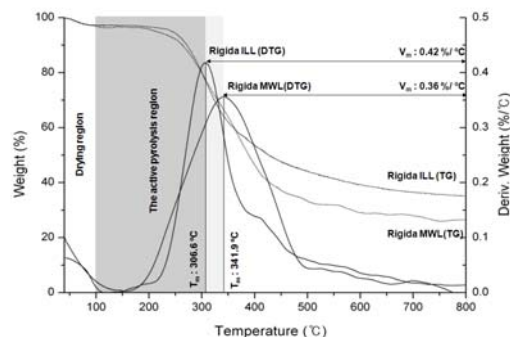


Fig. 2. Thermogravimetric and differential thermal analysis of ionic liquid lignin (ILL) and milled wood lignin (MWL).

높은 페놀성 수산화기 함량은 ILL 추출 과정 중 1-ethyl-3-methylimidazolium에 의해 발생한 리그닌의  $\alpha$ -O-4,  $\beta$ -O-4 등의 aryl-ether 결합의 분열에 의해 생성된 것으로 추측할 수 있으며, 이외에도 3번 탄소 위치에 있는 메톡실기의 탈메틸화 반응에 의한 결과로도 해석할 수 있다(Filley *et al.*, 2002). 이러한 탈메틸화 반응으로 인해 ILL은 MWL보다 상대적으로 낮은 메톡실기를 함유하고 있으며, 결과적으로 ILL을 구성하는 리그닌 단량체(C<sub>9</sub> 형태)의 낮은 분자량에도 기여하는 것으로 예상된다.

### 3.2. 열적 분해 거동

MWL과 ILL의 열적 분해 거동을 살펴보고자 Thermogravimetric 분석을 실시하였으며 온도 변화에 따른 중량감소(TG)와 중량감소율(DTG)을 Fig. 2에 제시하였다. 두 리그닌의 중량감소율 변화를 살펴보면 MWL의 최대중량감소율(V<sub>m</sub>)은 341.9°C 인데 반해 ILL은 상대적으로 낮은 306.6°C에서 최대중량감소율을 보였다. 이에 따라 Hodgson *et al.* (2011)에 의해 정의된 Active pyrolysis region (100°C부터 최대중량감소율이 나타나는 온도(T<sub>m</sub>))은 ILL이 MWL보다 더 좁은 것으로 나타났다. 이는 곧 ILL이 MWL보다 열적으로 더 불안정하다는 것을 의미하며, 이는 앞서 설명한 ILL의 추

Table 3. Average molecular weight and polydispersity index (Mw/Mn) of ionic liquid lignin (ILL) and milled wood lignin (MWL)

Lignin	Mw (Daltons)	Mn (Daltons)	Mw/Mn
MWL	8,483	2,666	3.18
ILL	3,995	2,939	1.36

출 과정 중 1-ethyl-3-methylimidazolium에 의해 발생한 aryl-ether 결합 분열에 의한 리그닌의 저분자화와 탈메틸화 등에 의한 구조적인 불안정성에서 기인한 것으로 사료된다. 특히 Sun *et al.* (2000)에 의하면 중량평균분자량(Mw)이 높은 리그닌일수록 최대중량감소율이 나타나는 온도(Tm)가 높다는 것을 알 수 있는데 이를 통해 위 결과와 ILL과 MWL의 중량평균분자량(Mw)과도 밀접한 연관성이 있을 것으로 사료된다.

### 3.3. 리그닌 구조특성 분석

#### 3.3.1. 평균분자량 및 다분산지수

MWL과 ILL의 구조적 특성을 파악하기 위해 Gel Permeation Chromatography (GPC) 분석을 이용하여 중량평균 분자량(Mw)과 수평균 분자량(Mn) 및 다분산지수(Mw/Mn)를 측정하였다 (Table 3). MWL의 중량평균분자량은 8,483으로 ILL의 중량평균분자량보다 2배 이상 높은 것으로 측정되었으며, 이는 앞서 언급한 TG/DTG 분석 결과와도 연관성이 있음을 알 수 있다. 이러한 ILL의 낮은 중량평균분자량은 추출 과정 중에 발생하는

aryl-ether 결합 분열에 의한 리그닌의 저분자화 반응에 의한 것으로 추정된다. 반면 수평균분자량은 ILL이 2,939로 MWL보다 약 10% 높은 값을 보였으며, 중량평균분자량과 수평균분자량의 비로 계산되는 다분산지수의 경우 ILL은 1.36, MWL은 3.18로 나타났다. 이는 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate을 이용해 추출한 ILL이 MWL보다 상대적으로 작고 균일한 크기의 구조를 갖는 것으로 해석할 수 있다(Tan *et al.*, 2009).

#### 3.3.2. Arylglycerol-β-aryl ether (β-O-4) 결합 빈도

일반적으로 arylglycerol-β-aryl ether (β-O-4) 결합은 리그닌 내에 존재하는 대표적인 결합 양식 중 하나로써 리그닌 내의 다양한 결합양식 중 약 45~60%를 차지할 뿐만 아니라 리그닌의 화학적·물리적 특성을 결정짓는 매우 중요한 요소이다(Kishimoto *et al.*, 2006; Nimz, 1974). 리그닌 내의 β-O-4 결합 빈도는 Derivatization followed by reductive cleavage (DFRC) 법을 이용해 측정하며, DFRC 반응 도중 β-O-4 결합이 분열되어 생성되는 물질인 아세틸화된 coniferyl alcohol을 GC/MS를 이용해 분석함으로써 간접적인 정량이 가능하다. 이를 이용해 MWL과 ILL 내에 존재하는 β-O-4 결합 빈도를 측정하였으며 결과는 Table 4에 제시하였다. Table 4에서 확인할 수 있듯이 MWL과 ILL에서 유래한 아세틸화된 coniferyl alcohol의 양은 비슷하였으며 이는 곧 두 리그닌 내에 존재하는 β-O-4 결합 빈도가 비슷하다는 것을 의미한다. 이와 같은 결과를 앞선 GPC 분석과 연관 지어 보면 ILL이 MWL에 비해 작은 구조를 갖지만

Table 4. Quantitative analysis of DFRC products of ionic liquid lignin (ILL) and milled wood lignin (MWL)

Lignin	DFRC (μmol/g sample)			S/G
	G- CH = CHCH <sub>2</sub> OAc (Acetylated coniferyl alcohol)	S- CH = CHCH <sub>2</sub> OAc (Acetylated sinapyl alcohol)	Total	
MWL	560.8 ± 5.20	-	560.8 ± 5.20	-
ILL	565.2 ± 23.35	-	565.2 ± 23.35	-

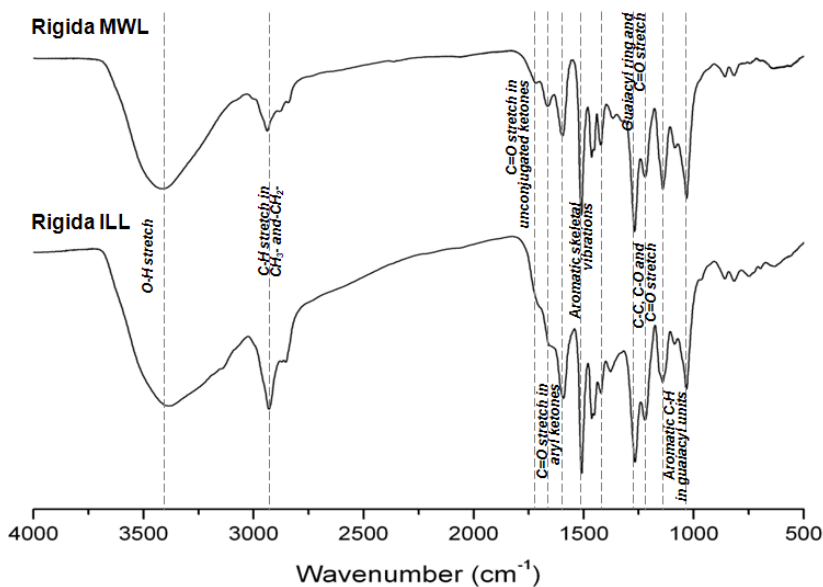


Fig. 3. FT-IR spectra of ionic liquid lignin (ILL) and milled wood lignin (MWL).

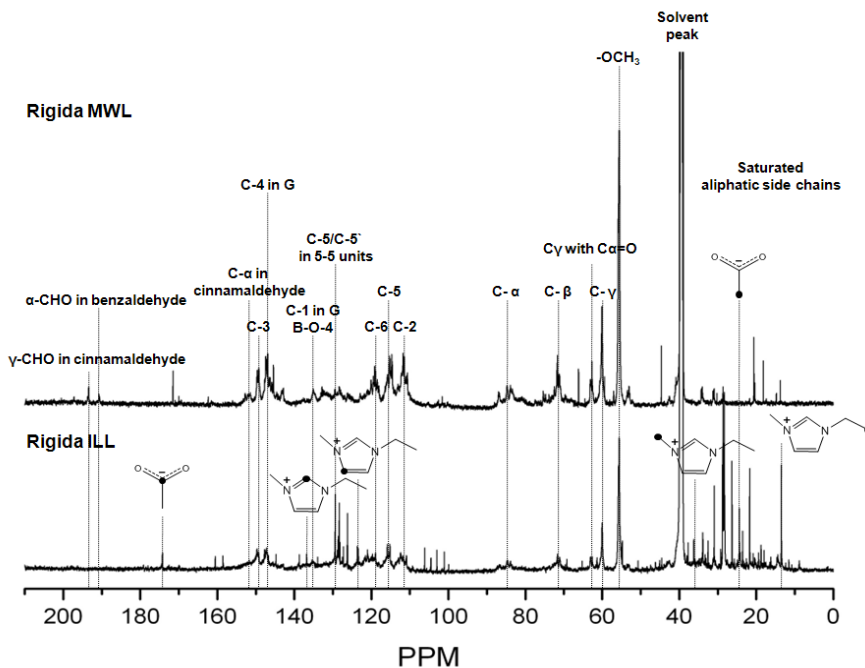


Fig. 4.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectra of ionic liquid lignin (ILL) and milled wood lignin (MWL).

단위질량 당 리그닌 내부에 존재하는  $\beta$ -O-4 결합 빈도에는 큰 차이가 없음을 알 수 있다.

### 3.3.3. 분광 분석(FT-IR, $^{13}\text{C}$ -NMR)

리그닌의 구조적인 특성 비교를 위해 FT-IR과  $^{13}\text{C}$ -NMR 분석을 실시하였으며 이는 각각 Fig. 3과 Fig. 4에 도시하였다. Fig. 3에 나타난 바와 같이 FT-IR 분석을 통해서 두 리그닌의 구조적 차이는 거의 발견할 수 없었다. ILL은 MWL와 마찬가지로 3,412~3,460  $\text{cm}^{-1}$ 에서 수산기를 확인할 수 있었으며 3,000~2,842  $\text{cm}^{-1}$  범위에서는 리그닌 내의 메틸과 메틸렌그룹이 존재함을 확인할 수 있었다. 또한 1,505~1,515  $\text{cm}^{-1}$ 와 1,200~1,100  $\text{cm}^{-1}$ 을 통해 ILL이 아로마틱한 구조를 형성하고 있음을 알 수 있었다.

FT-IR 분석과는 달리  $^{13}\text{C}$ -NMR 분석에서는 두 리그닌의 몇 가지 구조적인 차이를 확인할 수 있었다(Fig. 4). 먼저 ILL은 MWL에 비해 매우 적은 메톡실기(55 ppm)를 가지고 있음을 확인할 수 있었다. 이는 앞선 리그닌의 원소조성 및 작용기 부분에서 확인한 바와 같이 ILL 추출 과정에서 3번 탄소에 결합한 메톡실기에서 탈메틸화 반응이 발생했음을 뒷받침 해주는 결과이다. 일반적으로 리그닌의 탈메틸화 반응은 리그닌의 페놀성 수산기를 증가시키는 것으로 알려져 있으며 이는 앞선 작용기 분석 결과(페놀성 수산기 함량)와 FT-IR의 수산화기 피크(3,412~3,460  $\text{cm}^{-1}$ )차이를 통해 확인 가능하다. 이 외에도 NMR 분석을 통해 두 리그닌에서 side chain에 해당하는 C- $\alpha$ , C- $\beta$ , C- $\gamma$  ( $\beta$ -O-4)를 확인할 수 있었다. 하지만 MWL에 비해 ILL에서는 이들 피크의 강도가 현저히 낮다는 것을 알 수 있다. 이는 앞서 언급한 바와 같이 ILL 추출 과정에서 사용된 1-ethyl-3-methylimidazolium 상당량이 리그닌에 물리적·화학적 결합을 통해 흡착되어 피크 감도가 감쇠되는 현상이 발생되었을 것으로 추측할 수 있다. 실제로 MWL에서 발견되지 않은 몇몇 피크들은 이온성 액체로 사용된 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate에서 유래한 것으로 나타났다. 특히 양이온인 1-ethyl-3-meth-

ylimidazolium 뿐만 아니라 음이온 역할을 하는 acetate 또한 ILL에 흡착되어 있음을 확인할 수 있었다(Köhler *et al.*, 2007). ILL의 또다른 특징은 MWL에 비해 20~40 ppm에 상당량의 강도 높은 피크가 분포한다는 것이다. 이는 리그닌의 포화된 side chain을 나타내는 것으로 이온성 액체에 의한 리그닌의 저분자화 과정 중 발생하는  $\beta$ -O-4 결합 분열과, 이로 인해 생성되는 cinnamyl alcohol이나 aldehyde기 등 환원성 말단기의 환원반응에 의한 것으로 추정된다(Guerra *et al.*, 2004). 실제로 ILL에서는 MWL에서 발견할 수 있는 benzaldehyde나 cinnamaldehyde에서 유래한 피크를 찾을 수 없었다.

이 외에 MWL의 경우 62~63 ppm 부근에서 높은 강도를 보이는 피크를 발견할 수 있었는데 이는 MWL 리그닌 추출 과정 중 ball-milling 과정에서 발생하는 등방성 분해(homolytic cleavage)의 결과로 잘 알려져 있다(El Hage *et al.*, 2009).

## 4. 결 론

리기다소나무 목부로부터 이온성 액체(1-ethyl-3-methylimidazolium acetate)를 이용해 추출한 리그닌(ILL)과 Milled wood lignin (MWL)의 화학적·구조적 특성을 비교 분석하였다. ILL의 높은 페놀성 수산기 함량은 ILL의 추출과정 중 이온성 액체에 의해 aryl-ether 결합이 분열되었음을 의미하며 낮은 메톡실기 함량은 리그닌 추출과정 중 탈메틸화 반응이 진행되었음을 암시한다. ILL의 중량평균분자량은 3,995 Da로 MWL (8,483 Da)보다 2배 이상 낮았다. 이는 ILL의 추출 과정 중 발생하는 aryl-ether 결합 분열에 의한 리그닌의 저분자화 반응과 연관성을 찾을 수 있다. 또한 이러한 ILL의 낮은 분자량은 TGA 분석에서 ILL이 MWL에 비해 열적으로 불안정하다는 사실과도 연관지을 수 있다. FT-IR과  $^{13}\text{C}$ -NMR 분석을 통해 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate가 ILL에 흡착되었음을 확인할 수 있었으며 ILL과 MWL의 구조적인 차이점을 발견 할 수 있었다.



## 사 사

이 논문은 2010년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업(2010-0009289)입니다.

## 참 고 문 헌

- Baker, S. 1996. Rapid methoxyl analysis of lignins using gas chromatography. *Holzforschung* 50: 573~574.
- Björkman, A. 1956. Studies on finely divided wood. Part I. Extraction of lignin with neutral solvents. *Svensk Papperst.* 59: 477~485.
- Earle, M. and K. Seddon. 2000. Ionic liquids. Green solvents for the future. *Pure Appl. Chem.* 72: 1391~1398.
- El Hage, R., N. Brosse, L. Chrusciel, C. Sanchez, P. Sannigrahi, and A. Ragauskas. 2009. Characterization of milled wood lignin and ethanol organosolv lignin from miscanthus. *Polym. Degrade. Stab.* 94: 1632~1638.
- Fengel, D. and G. Wegener. 1984. *Wood - Chemistry, ultrastructure, reactions.* De Gruyter, Berlin.
- Filley, T. R., G. D. Codya, B. Goodell, J. Jellisonc, C. Nosera, and A. Ostrofsky. 2002. Lignin demethylation and polysaccharide decomposition in spruce sapwood degraded by brown rot fungi. *Organic Geochemistry.* 33: 111~124.
- Guerra, A., R. Mendonça, A. Ferraz, F. Lu, and J. Ralph. 2004. Structural characterization of lignin during *pinus taeda* wood treatment with *ceriporiopsis subvermisporea*. *Applied and Environmental Microbiology* 70: 4073~4078.
- Hodgson, E., D. Nowakowski, I. Shield, A. Riche, A. V. Bridgwater, J. C. Clifton-Brown, and I. S. Donnison. 2011. Variation in miscanthus chemical composition and implications for conversion by pyrolysis and thermo-chemical bio-refining for fuels and chemicals. *Bioresour. Technol.* 102: 3411~3418.
- Huddleston, J. G., H. D. Willauer, R. P. Swatloski, A. E. Visser, and R. D. Rogers. 1998. Room temperature ionic liquids as novel media for 'clean' liquid-liquid extraction. *Chem. Commun.* 99: 1765~51766.
- Kishimoto, T., U. Yasumitsu, and M. Ubukata. 2006. Chemical synthesis of  $\beta$ -O-4 type artificial lignin. *Org. Biomol. Chem.* 4: 1343~1347.
- Köhler, S., T. Libert, M. Schöbitz, J. Schaller, F. Meister, W. Günther, and T. Heinz. 2007. Interactions of Ionic Liquids with Polysaccharides 1. Unexpected Acetylation of Cellulose with 1-Ethyl-3-methylimidazolium Acetate. *Macromol. Rapid Commun.* 28: 2311~2317.
- Lai, Y. and K. Sarkanen. 1971. *Lignins - Occurrence, formation, structure and reactions.* Wiley-Interscience, New York.
- Lee, S. H., T. V. Doherty, R. J. Linhardt, and J. S. Dordick. 2009. Ionic liquid-mediated selective extraction of lignin from wood leading to enhanced enzymatic cellulose hydrolysis. *Biotechnol. Bioeng.* 102: 1368~1376.
- Lu, F. and J. Ralph. 1997. DFRC method for lignin analysis. 1. New method for [beta]aryl ether cleavage: Lignin model studies. *J. Agric. Food Chem.* 45: 4655~4660.
- Mäki-Arvela, P., I. Anugwom, P. Virtanen, R. Sjöholm, and J. P. Mikkola. 2010. Dissolution of lignocellulosic materials and its constituents using ionic liquids-A review. *Ind. Crop. Prod.* 32: 175~201.
- Mansson, P. 1983. Quantitative determination of phenolic and total hydroxyl groups in lignins. *Holzforschung* 37: 143~146.
- Nimz, H. 1974. Beech lignin - Proposal of a constitutional scheme. *Angew. Chem. Int. Edit.* 13: 313~321.
- Pan, X. and Y. Sano. 2000. Comparison of acetic acid lignin with milled wood and alkaline lignins from wheat straw. *Holzforschung* 54: 61~65.
- Samayam, I. P. and C. A. Schall. 2010. Saccharification of ionic liquid pretreated biomass with commercial enzyme mixtures. *Bioresour. Technol.* 101: 3561~3566.
- Sun, N., M. Rahman, Y. Qin, M. L. Maxim, H. Rodríguez, and R. D. Rogers. 2009. Complete dissolution and partial delignification of wood in the ionic liquid 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate. *Green Chem.* 11: 646~655.

21. Sun, R., J. Tomkinson, and J. G. Lloyd. 2000. Fractional characterization of ash-AQ lignin by successive extraction with organic solvents from oil palm EFB fibre. *Polym. Degrad. Stabil.* 68: 111~119.
22. Tan, S. S. Y., D. R. MacFarlane, J. Upfal, L. A. Edye, W. O. S. Doherty, A. F. Patti, J. M. Pringle, and J. L. Scott. 2009. Extraction of lignin from lignocellulose at atmospheric pressure using alkylbenzene sulfonate ionic liquid. *Green Chem.* 11: 339~345.
23. Van Rantwijk, F. and R. Sheldon. 2007. Biocatalysis in ionic liquids. *Chem. Rev.* 107: 2757~2785.