

Ligniinin biosynteesi, rakenne ja ominaisuudet

Puu-19.210 Puun rakenne ja
kemia

Luennon 9 oppimistavoitteet

- Ymmärrät, että ligniini on amorfinen makromolekyyli, joka muodostuu monomeeriyksiköistä.
- Tiedät ligniinin tehtävät soluseinässä.
- Osaat nimetä ja piirtää ligniinimonomeerit.
- Ymmärrät, että ligniinipitoisuus ja –monomeerikoostumus riippuvat puulajista.
- Tiedät ligniinin keskimääräiset monomeerikoostumukset erilaisissa kasvisoluissa.

Luentojen 9 ja 10 oppimistavoitteet

- Ymmärrät ligniinin biosynteesin perusteet ja pystyt sen perusteella kuvaamaan ligniinimonomeerien sitoutumista ligniinimolekyylissä.
- Tunnistat, millaisin sidoksin hiilihydraatit ja ligniini ovat sitoutuneet toisiinsa soluseinässä.

LIGNIINI

yleisesti käytettyjä termejä

- Natiivi ligniini
- Eristetty ligniini (entsymaattinen ligniini, milled wood-ligniini...)
- Saostettu ligniini (sulfaattiligniini...)

LIGNIINI

- Ligniini on amorfinen ja aromaattinen polymeeri.
- Ligniinipitoisuus havupuussa on ~26 – 32 % ja lehtipuussa ~18 – 26 %.
- Havupuun ligniinistä yli 70% sijaitsee soluseinän sekundaärikerroksessa.
- Ligniini on hydrofobinen.
- Soluseinän ligniini säätelee soluseinän vesipitoisuutta yhdessä hemiselluloosien kanssa.
- Väliamelliligniini "liimaa" solut toisiinsa ja siten vahvistaa puun lujuutta.

LIGNIINI

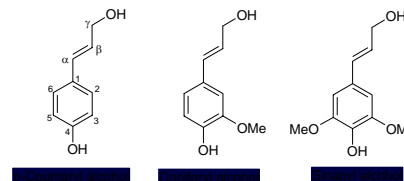
- Lignifioituneet soluseinät ovat resistenttejä mikrobiologisille vaurioille.
- Lignifioituneet soluseinät lisäävät rungon puristuslujuutta.
- Lignifioituneet soluseinät ovat välttämättömiä nesteiden kuljetuksen kannalta, koska ne vähentävät soluseinän permeabiliteettiä.

LIGNIINI

- Natiivi ligniini ei liukene veteen.
- Natiivi ligniini liukenee (osittain) NaOH-liuokseen.
- Metylointi ja hydroksipropylointi (ym.) vähentää ligniinin alkaliliukoisuutta, mutta lisää sen liukoisuutta orgaanisiin liuottimiin.
- Niukkaliukoisuuden takia ligniinin rakenteen tutkiminen on haasteellista.

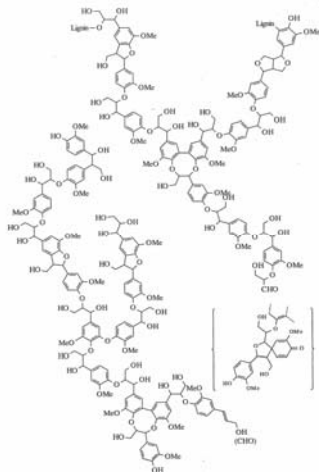
LIGNIINI

- Ligniini on fenyylipropaaniyksiköistä muodostunut polymeeri.
- Ligniinin prekursorit ovat p-kumaryylialkoholi, koniferyylialkoholi ja sinapyylialkoholi.
- Ligniinin prekursorit syntyvät glukoosista monimutkaisten hapetus-, pelkistys-, deaminointi-, dekarboksylointi- ym. reaktioiden tuloksena.



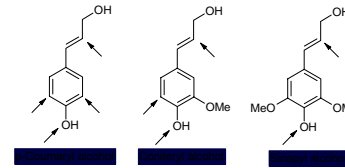
LIGNIINI – rakenne

(Brunow, G., Kilpeläinen, I., Sipilä, J., Syrjänen, K., Karhunen, P., Setälä, H. ja Rummakko, P. Oxidative coupling of phenols and the biosynthesis of lignin. In: Lignin and lignan biosynthesis. Ed. N.G. Lewis and S. Sarkanen. American Chemical Society, Washington. Pp 131-147)



LIGNIINI

- Ligniinin rakenne vaikuttaa monimutkaiselta, vaikka se on vain yhden, kahden tai enimmillään kolmen erilaisen prekursorin polymeroitumistuote.
- Ligniini on verkkomainen polymeeri, koska monomeeri voi polymeroitua neljästä eri kohdasta.
- Metoksyyliryhmät estävät haarautumista, ja siten ne vaikuttavat ligniinin rakenteeseen.
- Säätelämällä eri monomeerien määrää, kasvi säätää ligniinin (ja soluseinän) ominaisuuksia.



LIGNIININ LUOKITTELU

- Ligniini luokitellaan yleensä kolmeen ryhmään rakenneyksiköiden mukaan:
 - Guajasyylliligniini on koniferyylialkoholista muodostunut
 - Guajasyyli-syringyyliligniini on muodostunut koniferyyli- ja sinapyylialkoholista
 - Guajasyyli-syringyyli-*p*-hydroksifenyyliligniini on muodostunut kaikista kolmesta prekursorista.
- Eri prekursorien suhteellinen määrä vaikuttaa ligniinin haaroittuneisuuteen ja siten sen ominaisuuksiin.

LIGNIINI

- Ligniinin rakenne on erilainen eri lajeilla, puun eri osissa, ja soluseinän eri osassa. Tämä johtuu eri prekursorien suhteellisesta määrästä polymeroitumisen aikana.
- Ligniinipitoisuus puristuspuun soluissa on korkeampi kuin muissa soluissa ja ligniini on voimakkaasti haaroittunut (paljon *p*-hydroksifenyylirakenteita). Täten puristuspuukuitujen lujuus on korkeampi kuin tavallisen puukuidun.
- Väliamelliligniini on voimakkaammin haaroittunut kuin S_2 -seinän ligniini.

LIGNIINI

Eri puulajien ligniinipitoisuuksia (tavallisessa puussa ja reaktiopuussa)

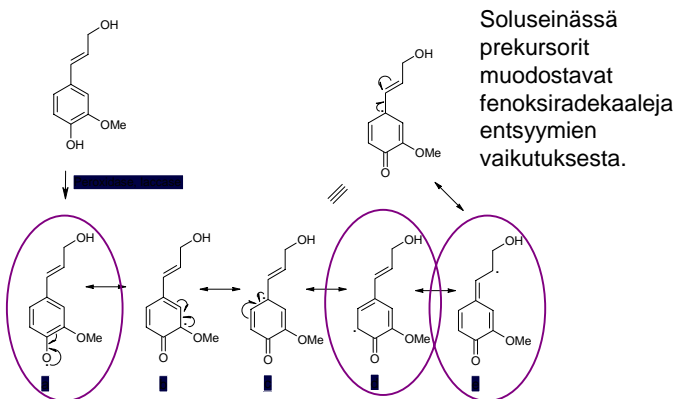
Laji		Tav. puu	Reaktiopuu
Abies balsamea	Balsamikuusi	29	37
Picea abies	Metsäkuusi	28	39
Pinus sylvestris	Mänty	28	37
Larix decidua	Euroopanlehtikuusi	26	38
Sequoia sempervirens	Punapuu	32	38
Eucalyptus globulus	Eukalyptus globulus	22	-
Betula verrucosa	Rauduskoivu	22	18
Acer saccharum	Sokerivaahtera	23	21
Fagus sylvatica	Punapyökki	20	14
Populus tremuloides	Haapa	18	17

LIGNIINI

- Ligniinissä on monia funktionaalisia ryhmiä: metoksyyli-, fenoli-, keto-, aldehydiryhmiä ja alifaattisia hydroksyyli-ryhmiä.
- Havupuuligniinin moolimassa on noin 20 000 (DP ~ 75-100), lehtipuuligniinin moolimassa on alhaisempi.
- Monomeerit ovat liittyneinä toisiinsa eetteri- (yli 2/3) ja hiili-hiilisidoksilla.
- β -O-4 on yleisin sidostyyppi.

LIGNIINI

Dimeerien muodostuminen



LIGNIINI

Dimeerien muodostuminen

- Polymerisoituminen alkaa kun kaksi fenoksiradikaalia liittyy toisiinsa.
- Koniferyylialkoholilla on 15 erilaista mahdollista kombinaatiota.
- Vain 5 stabiilia kombinaatiota.
- Dimeroitumistuote ei ole stabiili, jos:
 - Sidos on muodostunut hiilirikkaaseen kohtaan, jossa on jo substituentti.
 - Yhdistyminen tapahtuu kahden happiatomin välillä.

LIGNIINI

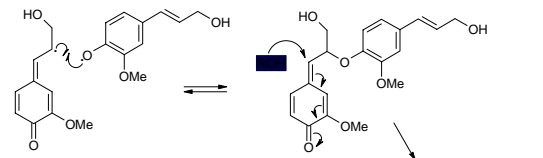
Dimeerien muodostuminen

Kahdesta koniferyylialkoholista muodostuneiden fenoksisradikaalien mahdolliset kombinaatiot:

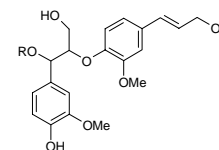
	a	b	c	d	e
a	-				
b	-	-	-		
c	-	-	-		
d	4-O-5 (4-7%) Diaryl ether	-	-	5-5 (5-11%) Biphenyl	
e	β -O-4 (50-60%) β -Aryl ether	-	-	β -5 (6-12%) Phenylcoumaran	β - β Pinoresinol

LIGNIINI

Dimeerien muodostuminen



Yleisin sidostyyppi (β -O-4) muodostuu, kun radikaalit a ja e liittyvät toisiinsa. Väli tuotteena muodostuu kinonimetidi, joka stabiloituu nukleofiilisen addition kautta.



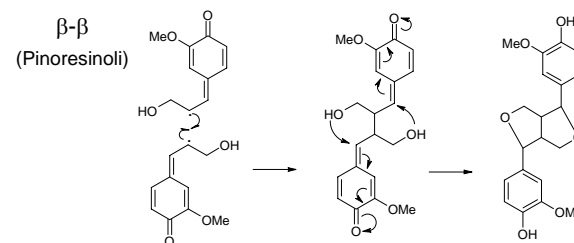
LIGNIINI

Dimeerien muodostuminen

- Yleisimmin vesimolekyylä toimii nukleofiilinä.
- Myös hiilihydraatin alkoholi- tai karboksyylihapporyhmä voi toimia nukleofiilinä, jolloin syntyy ligniini-hiilihydraattikompleksi.
- Vesiaddition seurauksena muodostuu bentsyylialkoholiryhmä (α -hydroksyyliiryhmä), joka on ligniinille ominainen ryhmä.

LIGNIINI

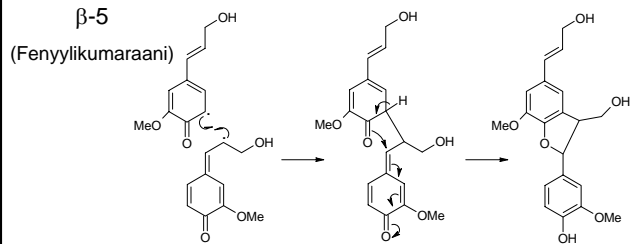
Dimeerien muodostuminen



Radikaalin e dimeroituessa muodostuneet kinonimetidiryhmät stabiloituvat sisäisesti γ -hydroksyyliiryhmien nukleofiilisellä additiolla.

LIGNIINI

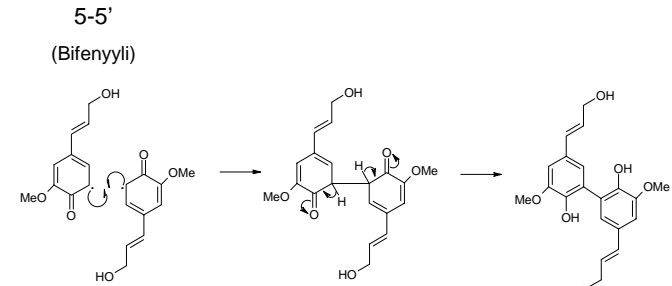
Dimeerien muodostuminen



Radikaalien d ja e liittymistä seuraa radikaalin d aromatisoituminen. Dimeeri stabiloituu, kun muodostunut fenoli additioituu nukleofiilisesti kinonimetidiin.

LIGNIINI

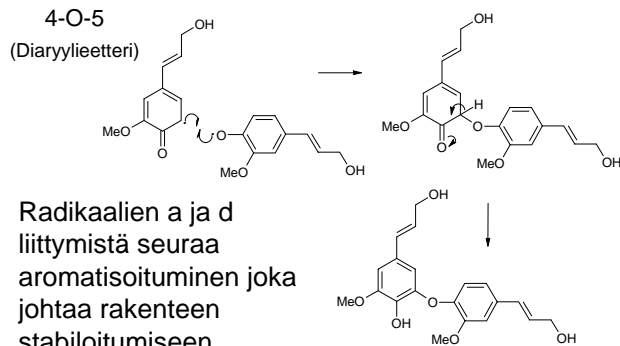
Dimeerien muodostuminen



Kun radikaali d dimeroituu, muodostuu stabiili 5-5'-bifenyylirakenne.

LIGNIINI

Dimeerien muodostuminen



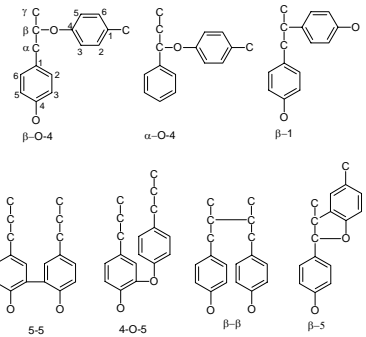
Radikaalien a ja d liittymistä seuraa aromatisoituminen joka johtaa rakenteen stabiloitumiseen.

LIGNIINI

● Fenyylipropaaniyksiköiden välisten sidosten yleisyys:

Osuus fenyylipropaani-
yksiköiden välisistä sidoksista:

Sidos	Havupuu, %	Lehtipuu, %
β -O-4	50	60
β -5	9-12	6
5-5	10-11	5
β -1	7	7
α -O-4	2-8	7
4-O-5	4	7
β - β	2	3



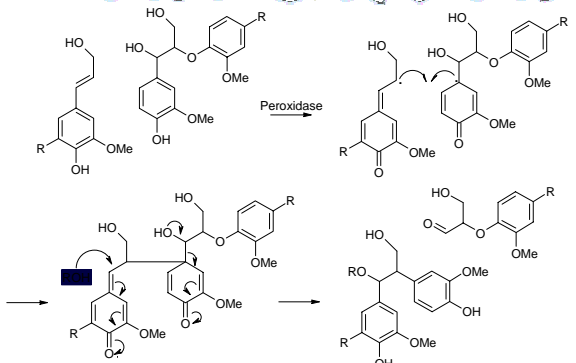
LIGNIINI - polymeroituminen

- Dimeerien muodostuminen on ligniinin polymeroitumisen ensimmäinen askel.
- Dimeroitumisen jälkeen (dimeerin tai oligomeerin) vapaat fenoliset hydroksyyli ryhmät muodostavat uusia radikaaleja peroksidaasin (tai lakkaasin) läsnäollessa.
- Oligomeeriset fenoksiradikaalit nappaavat uusia monomeerejä (tai oligomeerejä) ja siten polymeeri kasvaa.
- Tämä polymeroituminen noudattaa samoja mekanismeja kuin dimeerien muodostuminenkin.
- Ligniininomomeerin muodostuminen on hidasta, joten monomeerikonsentraatio on alhainen. Yleensä uusi monomeeriradikaali kiinnittyy polymeerin päähän (= end-wise polymeroituminen) eikä toiseen monomeeriin (= bulk polymeroituminen).

LIGNIINI polymeroituminen

- Radikaali voi liittyä fenoksiradikaalin 1-hiileen, jos siinä on hydroksyyli ryhmä α -hiilessä.
- Stabiloituminen etenee tällöin propanisivuketjun katkeamisen kautta.
- Tämän reaktion johdosta muodostuu eetteröityneitä glyseraldehydi- ja 1,2-diaryyli-propaanirakenteita.

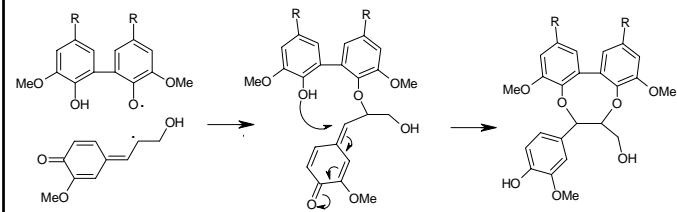
LIGNIINI



Radikaalimonomeeri liittyy fenoksiradikaalin 1 hiileen, jossa on α -hydroksyyli ryhmä. Oligomeeri stabiloituu kun propanisivuketju katkeaa.

LIGNIINI polymeroituminen

- Ligniinissä on myös 8-rengasrakenne (dibentsodioksoosiini), joka muodostuu kun ligniiniradikaali liittyy 5-5'-rakenteeseen.



Dibentsodioksoosiinin muodostuminen

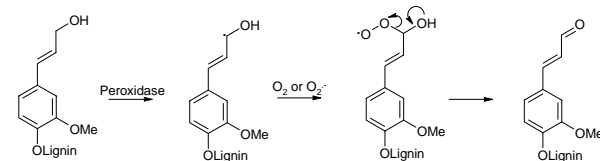
LIGNIINI

Dibentsodioksoosiini

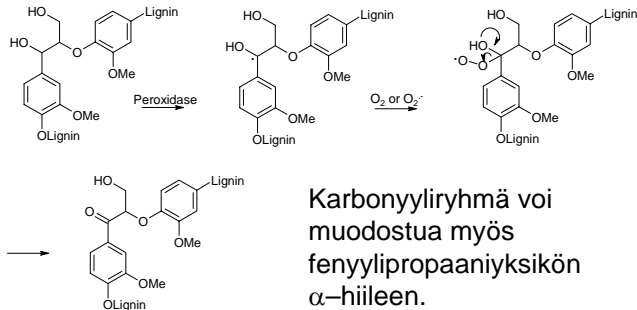
- Esiintyy guajasyyliligniinisä.
- Haaroittaa ligniinipolymeerin.
- Kokeellisten analyysien perusteella on arvioitu, että joka kolmas aromaattinen yksikkö on dibentsodioksoosiini-rakenteessa.

LIGNIINI

Natiivissa ligniinissä on havaittu α -karbonyyli- ja koniferyylialdehydirakenteita. Nämä muodostuvat vastaavista alkoholeista entsyymien (peroksidaasi tai lakkaasi) ja hapen vaikutuksesta. Tässä on esitetty aldehydiryhmän muodostuminen γ -hiileen.



LIGNIINI



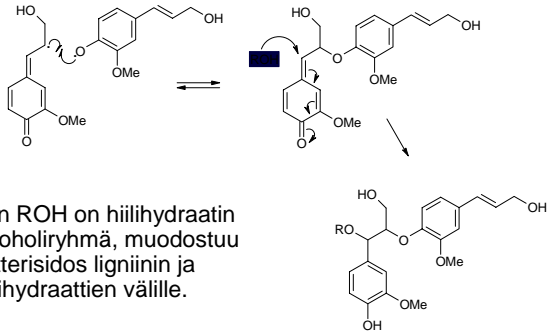
LIGNIINI

sidokset hiilihydraattien kanssa

- Ligniini on kovalenttisesti sitoutunut hemiselluloosiin (esteri-, eeteri- tai glykosidinen sidos)
- Näitä kovalenttisesti sitoutuneita agregaatteja kutsutaan ligniini-hiilihydraattikomplekseiksi (lignin-carbohydrate complexes, LCC)
- Ligniini näyttäisi olevan sitoutunut myös pektiineihin (galaktaaniin ja arabinaaniin) eetterisidoksin.
- Sellun keiton aikana voi muodostua uusia sidoksia ligniinin ja hiilihydraattien välille.

LIGNIINI

sidokset hiilihydraattien kanssa



YHTEENVETO

- Ligniini säätelee soluseinän kosteuspitoisuutta hemiselluloosien kanssa.
- Ligniini sitoo kuidut toisiinsa ja siten vahvistaa puun lujuutta.
- Ligniinin prekursorit ovat p-kumaryylialkoholi, koniferyylialkoholi, ja sinapyylialkoholi.
- Biosynteesissä prekursorit muodostavat radikaaleja, jotka liittyvät toisiinsa.
- Yleisin sidostyyppi fenyylipropaaniyksiköiden välillä on aryylietteri (β -O-4) -sidos.
- Ligniini on sitoutunut hiilihydraatteihin.