

## Étude structurale de lignines extraites de cœur de bois de chêne

N. Vivas<sup>1,\*</sup>, N. Saint-Cricq de Gaulejac<sup>1</sup>, G. Bourgeois<sup>2</sup>, C. Vitry<sup>2</sup>,  
I. Pianet<sup>2</sup>, B. Barbe<sup>2</sup> et Y. Glories<sup>3</sup>

<sup>1</sup> R&D Tonnerrie Demptos, Détaché à la Faculté d'Oenologie, Université Victor Segalen,  
351 cours de la Libération, 33405 Talence, France

<sup>2</sup> CESAMO, Université Bordeaux I, 351 cours de la Libération, 33405 Talence, France

<sup>3</sup> Faculté d'Oenologie, Université Victor Segalen, 351 cours de la Libération,  
33405 Talence, France

---

\* Correspondance et tirés à part.

### RÉSUMÉ

Dans ce travail les auteurs présentent la structure de deux types de lignines extraites du bois de cœur de *Q. robur*. Il s'agit de LE, lignine extraite en milieu hydroalcoolique acide (PM 23 kDa) et de LD extraite à chaud par le dioxane acidifié (PM 45 kDa). L'analyse des spectres 2D de type TOCSY et HMQC confirme que les deux lignines contiennent principalement des noyaux phénoliques monométhoxylés (Gaiacyles) et diméthoxylés (Syringyles) reliés par des liaisons  $\beta$ -O-4 aryl-ether prépondérantes. LD se distingue de LE par une proportion plus importante de noyaux G.

**Mots clés:** Quercus, bois de cœur, lignines, RMN, structure

### ABSTRACT

In this work, authors present a structural investigation of two extractible heartwood lignins from *Q. robur*: LE, extractable by acidic hydroalcoholic medium (MW 23 kDa) and LD, extractable by acidified dioxan (MW 45 kDa). NMR spectrum analysis with 2D TOCSY and HMQC experiments performed the structural characteristics of this two lignins fractions. LD and LE contain principally monomethoxyl (Gaiacyls) and dimethoxyl (Syringyls) phenolic units with  $\beta$ -O-4 ary-ether linkage. LD are richer in G units than LE.

**Key words:** *Quercus*, Heartwood, Lignins, NMR, Structure

## INTRODUCTION

Le bois de coeur de chêne est riche en lignines, elles représentent 25 à 30 % du poids sec du bois [1]. Les lignines du bois de chêne, comme chez tous les angiospermes, sont des polymères tridimensionnels constitués par la copolymérisation de deux alcools phénylpropénoïques : alcool hydroxy-4-méthoxy-3-cinnamique (structure gäicycle, alcool coniférylique), alcool hydroxy-4-diméthoxy-3,5-cinnamique (structure syringyle; alcool sinapylique). La nature macromoléculaire et réticulée de la lignine ne permet pas d'accéder à la structure complète de ce type de molécule. En revanche, la RMN permet de déterminer la présence (qualitative) et la proportion (quantitative) des principales liaisons intermonomériques et la nature du squelette carboné (fig. 1). De très nombreux travaux concernent les lignines de peuplier, de bouleau, de tremble ou de pin [2,3], mais les publications sur le chêne sont très peu nombreuses [4].

## MATERIELS ET METHODES

### *Matériel*

Les échantillons sont constitués par le bois de coeur d'arbre provenant des forêts de l'Allier (France) pour *Q. petraea* et du Limousin pour *Q. robur*.

### *Extraction et purification des lignines*

Obtention de LE: La sciure obtenue par simple broyage, débarrassée des extractibles est mise à macérer dans l'EtOH 95% vol. ajusté à pH=5 avec de l'acide acétique (24 mois à température ambiante). L'extrait est purifié par précipitations successives à l'eau. Obtention de LD: La sciure débarrassée des extractibles est extraite 6 heures par du dioxane contenant de l'HCl. Le mélange est maintenu sous reflux. La liqueur d'extraction, filtrée et évaporée, est traitée de la même façon que LE. La acétylation est conduite dans la pyridine/anhydride acétique (1/1, v/v) suivie d'une précipitation dans l'eau.

### *Analyses RMN*

Les spectres RMN sont enregistrés dans le chloroforme deutérié sur un Bruker DPX 400. Les spectres TOCSY sont enregistrés pour un temps de mélange

de 100 ms. Les spectres HMQC sont réalisés avec un gradient de champs B<sub>0</sub>, 64 scans sont accumulés avec des fenêtres spectrales de 17600 Hz et 3600 Hz respectivement pour <sup>13</sup>C et <sup>1</sup>H. La résolution est de 68,8 Hz/point pour <sup>13</sup>C et 3,6 Hz/point pour <sup>1</sup>H.

## RESULTATS ET DISCUSSION

### *Structure des chaînes latérales*

Sur les figures 2 et 3 on observe deux types de liaisons: β-O-4 et β-β. Pour les liaisons β-O-4, on distingue les 2 taches dues respectivement au HCα, HCβ et les 2 protons, notés H et H' du Cγ. Les liaisons β-O-4 existent sous deux formes, érythro et thréo mises en évidence sur le spectre 1D <sup>1</sup>H; le HCα a un δ proche de 6,0 ppm pour la forme érythro et de 6,1 ppm pour la forme thréo. Les structures β-β présentent 4 taches attribuées au HCα, HCβ et aux deux protons HCγ et H'Cγ, indiquant une configuration axiale et équatoriale de la liaison en accord avec les données de la littérature [5,7]. La résonance des formes axiales et équatoriales est située dans une zone chargée du spectre, située autour de 4,5 ppm.

### *Substitution des noyaux aromatiques*

Nous avons attribué à partir des données de la littérature [2,5,7] les signaux sur le spectre 1D des <sup>1</sup>H des noyaux syringyles (δ 6,6 ppm) et gaïacyles (δ 6,9-7,05 ppm) ; ainsi que les <sup>13</sup>C, dont les déplacements chimiques sont distincts (δ 104 ppm pour C2 et C6 et 153 ppm pour C3 et C5 des motifs syringyles et 112 ppm pour C2, 119 ppm pour C5 et 123 ppm pour C6 des motifs gaïacyles).

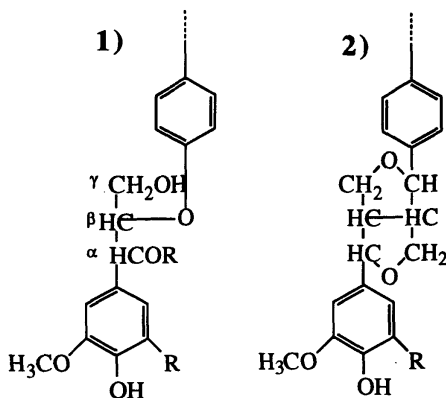


Figure 1 : Principales unités phénoliques et liaisons intermonomériques des lignines de bois de chêne. (1: Liaison  $\beta$ -O-4 aryl-éther; 2: Liaison éther  $\beta$ - $\beta$  "pinorésinol". R=H motif gâiacyl, R= OCH3 motif syringyl)

**TABLEAU I : attribution des signaux  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  de LE et LD (RMN 400 MHz, Chloroforme, référence TMS)**

$\delta$ (ppm)		Attribution
$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$	
-	171	COOH des acétyles
-	153	S3,5
7,0	123	G6
6,9-7,0	119	G5
7,05	112	G2
6,6	104	S2,6
6,0	74	$\alpha$ ( $\beta$ -O-4) †
4,75	86	$\alpha$ ( $\beta$ - $\beta$ )
4,6	81	$\beta$ ( $\beta$ -O-4) †
3,9-4,3	72	$\gamma$ ( $\beta$ - $\beta$ ) ‡
4,1-4,4	63	$\gamma, \gamma'$ ( $\beta$ -O-4) †
3,7	56	OCH3
3,1	54	$\beta$ ( $\beta$ - $\beta$ )
2,3	21	CH3 des acétyles phénoliques
2,0	21	CH3 des acétyles des chaînes aliphatiques

† avec deux formes érythro/thréo

‡ axial et équatorial

**Analyse structurale quantitative**

L'attribution de tous les protons et des carbones des deux fractions lignines étant réalisée (tableau 1), il est possible de quantifier certains aspects structuraux de la molécule. LE possède un rapport S/G plus faible que LD (1,1 et 2,7 respectivement pour LE et LD). Ce qui indique que LE est une lignine avec une proportion équilibrée de motifs S et G; LD au contraire présente une prépondérance de motifs S. Le rapport  $\beta$ -O-4 érythro/thréo est égal à 1 pour LE et LD. Les rapports  $\beta$ -O-4 /G et  $\beta$ - $\beta$ /G sont respectivement de 1,3 et 0,05 pour LE et 1,5 et 0,2 pour LD.

Connaissant d'une part la masse molaire de LE et LD déterminée par spectrométrie de masse en mode positif LSIMS (respectivement 23 kDa et 45 kDa pour LE et LD [5]) et d'autre part les différents rapports obtenus à partir des données RMN et cités ci-dessus, il est possible de calculer le nombre approximatif de chaque élément structuraux identifié. A partir de cette démarche nous proposons des caractéristiques structurales pour les deux fractions lignines LE et LD regroupées dans le tableau 2. Le rapport (G + 2.S)/OCH<sub>3</sub> est proche de 0,8 pour LE et LD. Théoriquement il devrait être de 1 (1 OCH<sub>3</sub> par unité G et 2 par unité S). L'estimation de la structure de la molécule est donc réalisée avec une erreur de 20%, écart acceptable pour une macromolécule.

**TABLEAU II : Caractéristiques structurales de LE et LD**

		LE	LD
Substitution des noyaux aromatiques	S	53	73
	G	47	27
Nature des liaisons des chaînes latérales	$\beta$ -O-4	97	90
	$\beta$ - $\beta$	3	10
structures des lignines		SG( $\beta$ -O-4)	S( $\beta$ -O-4)

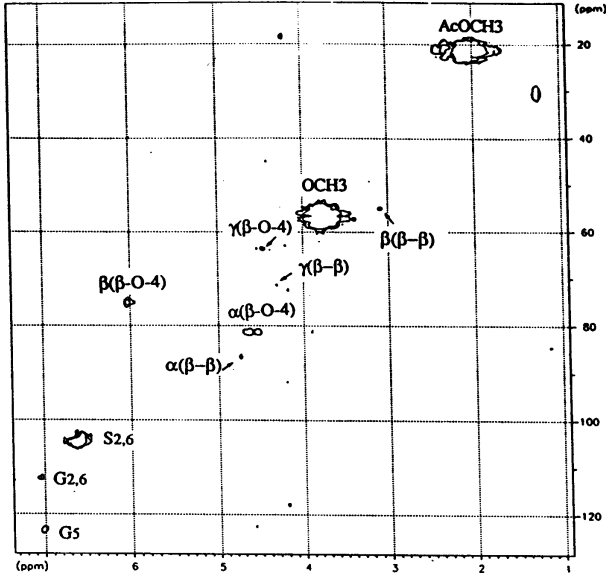


Figure 2 : Détail de la carte 2D HMQC de LD

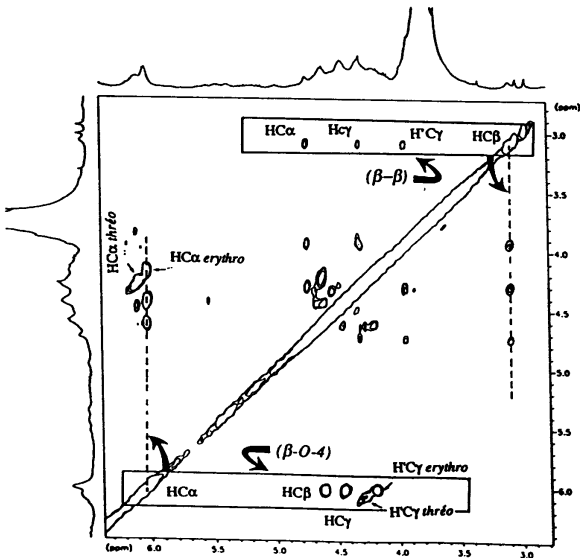


Figure 3 : Détail d'une expérience TOCSY sur LE

## REFERENCES

- 1 Jouin D, Tollier MT, Monties B (1988) *Cellulose Chem. Technol.* 22, 231-243.
- 2 Lapierre C, Monties B, Rolando C (1986) *Holzforschung* 40, 113-118.
- 3 Rolando C, Monties B, Lapierre C (1992) In "Methods in lignins chemistry", Lin SY, Dence CW (Eds.), Springer-Verlag, Berlin, 334-349.
- 4 Vivas N, Pianet I, Bourgeois G, Vitry C, Servens C, Glories Y (1998) *Am. J. Enol. Vitic.* 49, 1, in press.
- 5 Ede RM, Brunow G, Somola LK, Lemmetyinen J (1990) *Holzforschung* 44, 95-101.
- 6 Robert D (1992) In "Methods in lignins chemistry", Lin SY, Dence CW (Eds.), Springer-Verlag, Berlin, 250-271.
- 7 Kilpeläinen I, Sipila J, Brunow G, Lundquist K, Ede R (1994) *Food Agric. Chem.* 42, 290-294.