

CARACTERIZAÇÃO DAS *O*-ACETIL-4-*O*-METIL-(GLICURONO)XILANAS E DAS 4-*O*-METIL-(GLICURONO)XILANAS ISOLADAS DA MADEIRA DE *Eucalyptus urograndis*

Andréia S. Magaton^{1*}, Jorge L. Colodette^{2**}, Dorila Piló-Veloso^{2*}, Livia P. S. Palmeiras^{3**} e Onel R. Lopes^{4**}.

¹Doctorate Student, ²Full Professor, ³Undergraduate Student, ⁴Master Student. *Chemistry Department, Federal University of Minas Gerais, 31270-901 Belo Horizonte MG – Brazil. **Forestry Engineering Department, Federal University of Viçosa, 36.570-000 Viçosa, MG – Brazil. anmagaton@yahoo.com.br

ABSTRACT

The *O*-acetyl-4-*O*-methyl-(glucurono)xylan and 4-*O*-methyl-(glucurono)xylan was isolated from *E. urograndis* by extraction of holocellulose with potassium hydroxide 24% and dimethyl sulfoxide, respectively. The structure of the xylans was determined by ¹H and ¹³C NMR spectroscopy, using homonuclear and heteronuclear two-dimensional techniques, as well size exclusion chromatography (SEC). On the average, these two xylans contained one 4-*O*-methyl-glucuronic acid substituent for approximately 10 D-xylose residues. About 10% of 4-*O*-methyl-glucuronic acid (MeGlcA) units were branched at O-2. The *O*-acetyl-4-*O*-methyl-(glucurono)xylan showed the degree of acetylation of the xylose residues in these polymers was 0.55 and were composed of the following (1→4)-linked β-D-xylopyranosyl structural elements: unsubstituted (51 mol%), 2-*O*-acetylated (12 mol%), 3-*O*-acetylated (31 mol%), 2,3-di-*O*-acetylated (6 mol%) and [MeGlcA α-(1→2)] [3-*O*-acetylated] (11 mol%). Utilizing size-exclusion chromatography, the weigh-average molar masses (and polydispersities) were shown to be 34,9 KDa (1,16) and 29,3 KDa (1,23) for *O*-acetyl-4-*O*-methyl-(glucurono)xylan and 4-*O*-methyl-(glucurono)xylan, respectively.

Keywords: *Eucalyptus urograndis*, xylans, NMR, SEC.

INTRODUÇÃO

Hemiceluloses são polissacarídeos que ocorrem junto com a celulose na parede celular na maioria das plantas. Na madeira, o teor das hemiceluloses varia de 20 a 40% do total do material orgânico, sendo que esta quantidade varia de acordo com a espécie (TIMELL, 1967). Entre as hemiceluloses, especial atenção tem sido direcionada à estrutura das xilanas, que são as principais hemiceluloses do eucalipto. Embora a

estrutura química de xilanas de algumas espécies de madeira tenha sido elucidada entre as décadas de 1940 e 1960, vários trabalhos recentes têm sido publicados, visando encontrar detalhes estruturais, utilizando metodologias analíticas mais avançadas, dentre estas a espectroscopia de RMN, a cromatografia de exclusão por tamanho e a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (SUNDENBERG *et al.*, 1996; JACOBS *et al.*, 2001; TELEMAN *et al.*, 2003; EVTUGUIN *et al.*, 2003). Além disso, novas espécies de eucalipto têm sido submetidas a esses estudos, já que xilanas de diferentes espécies apresentam diferentes graus de polimerização e diferentes graus de substituição por grupos acetila e ácidos 4-*O*-metilglicurônicos (EBRINGEROVÁ *et al.*, 2000).

O crescente interesse pela química das xilanas se deve ao comportamento destas hemiceluloses durante os processos de polpação alcalina e branqueamento. Por exemplo, durante a polpação *kraft*, as cadeias de xilanas podem ser despolimerizadas, resultando em polissacarídeos de menor massa molecular, ou ainda, ser dissolvidas no licor de cozimento, mantendo parcialmente a natureza polimérica. Quando o pH decresce, no final do cozimento, parte das xilanas dissolvidas pode precipitar ou ser adsorvida na superfície das fibras. Este processo de sorção das xilanas, que conduz a um aumento de rendimento e afeta a qualidade da polpa, tem impulsionado muitas pesquisas cujos objetivos visam esclarecer o mecanismo envolvido e encontrar as melhores condições de sorção na polpa (GENCO *et al.*, 1990; DAHLMAN, 2003; DANIELSSON *et al.*, 2005). Além disso, a estrutura das xilanas é quimicamente modificada pela conversão, via β-eliminação, de parte dos seus grupos de ácidos 4-*O*-metilglicurônicos a ácidos hexenurônicos (TELEMAN *et al.*, 1995). Estes protegem as xilanas contra a reação de despolimerização terminal e, portanto, sua presença na polpa preserva o rendimento. No entanto, as ligações duplas conjugadas na estrutura dos ácidos hexenurônicos influenciam negativamente o processo de branqueamento da polpa.

Embora as xilanas presentes na madeira influenciem muito no processo de produção de celulose, não há na literatura estudo referente à estrutura destas hemiceluloses das principais espécies de eucalipto utilizadas na indústria nacional de celulose e papel. Dessa forma, o presente trabalho relata o primeiro estudo de caracterização química das *O*-acetil-4-*O*-(metil-glicurono)-xilanas e das 4-*O*-(metil-glicurono)-xilanas da madeira do *Eucalyptus urograndis*.

EXPERIMENTAL

Obtenção da Holocelulose

A amostra de madeira do *Eucalyptus urograndis* foi coletada em árvore com sete anos de idade, proveniente da região de Mucuri, na Bahia. A madeira foi transformada em serragem e esta foi submetida à extração em soxhlet utilizando-se etanol: tolueno 1:2 para remoção dos extrativos, que podem interferir na

análise. Para a deslignificação, foram pesados aproximadamente 10 g de serragem livre-de-extrativos em erlenmeyer de 1000 mL onde foram adicionados 500 mL de solução de ácido peracético. Deixou-se a mistura sob agitação constante a 80°C por 40 minutos. Após a deslignificação, o meio reacional foi diluído duas vezes com água destilada e filtrado em funil de placa sinterizada.

Isolamento das *O*-acetil-4-*O*-metil-(glicurono)xilanas

A holocelulose obtida após deslignificação foi submetida à extração com dimetilsulfóxido por 12 horas em atmosfera de N₂ sob agitação. Ao extrato, foram adicionados etanol e acidificação do meio com ácido fórmico até pH 3,5. Após a precipitação, as xilanas foram isoladas por centrifugação, lavadas com metanol e secadas sob vácuo.

Isolamento das 4-*O*-metil-(glicurono)xilanas

As 4-*O*-(metil-glicurono)-xilanas foram extraídas da holocelulose com solução de KOH 24%, por 20 horas, a temperatura ambiente e sob atmosfera inerte. O isolamento desta xilanas foi realizado conforme procedimento descrito para as *O*-acetil-4-*O*-(metil-glicurono)-xilanas.

Espectroscopia no Infravermelho e de RMN

Os espectros na região do infravermelho foram registrados em pastilhas de KBr em espectrofotômetro ABB BOMEM, modelo FTLA 1000, na região de 4000 a 600 cm⁻¹. Para obtenção dos espectros de RMN, a amostra de xilanas foi dissolvida e o 3-trimetilsililpropionato de sódio-d₄ foi utilizado como padrão interno (δ 0.00). Os experimentos foram realizados a 70°C em espectrômetro BRUKER AVANCE DRX400.

Cromatografia de Exclusão por Tamanho

As amostras de xilanas foram dissolvidas em solução de LiCl 8% em dimetilacetamida. Para a análise de cromatografia de exclusão por tamanho foi utilizado um cromatógrafo Shimadzu SCL-10A, equipado com quatro colunas e uma pré-coluna PL-gel Mixed B (Polymer Laboratories). As colunas, o injetor e o detector de índice de refração foram mantidas a 80°C durante a análise. O fluxo do eluente (0,5% LiCl em dimetilacetamida) foi 1,0 mL.min⁻¹.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A estrutura das xilanas isoladas do *Eucalyptus urograndis* foi confirmada através de análises espectroscópicas no Infravermelho e de Ressonância Magnética Nuclear de ¹H, ¹³C, 2D-¹H-¹H COSY e TOCSY e de correlação heteronuclear ¹H-¹³C HSQC. No espectro no Infravermelho da *O*-acetil-(4-*O*-metilglicurono)-xilana (Figura 1) isolada de *E. urograndis*, a banda mais característica foi observada em 1045 cm⁻¹, típica para distinção de xilanas, que

pode ser atribuída aos estiramentos das ligações C-O e C-C e contribuições das ligações glicosídicas C-O-C.

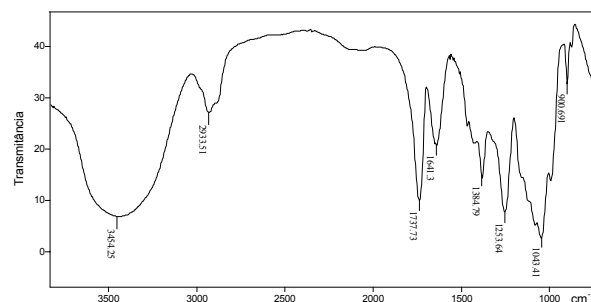


Figura 1- Espectro no Infravermelho da *O*-acetil-(4-*O*-metilglicurono)-xilana isolada do *Eucalyptus urograndis*.

Na região característica de deformação de C-H de hidrogênios anoméricos (950-700 cm⁻¹), uma pequena banda em 901 cm⁻¹ indica a presença de β -anômeros, revelando a presença de ligações β -xilosídicas entre as unidades de xilose nas hemiceluloses.

A presença de grupos acetila é evidenciada pela absorção em 1738 cm⁻¹, atribuída aos estiramentos da ligação C=O. Próximo a esta banda ocorre absorção em 1641 cm⁻¹, que se deve, principalmente, à absorção de água.

A ausência da absorção ao redor 1720 cm⁻¹, devido à oxidação de grupos hidroxilícos hemicelulósicos, permite inferir que não ocorreu oxidação das hemiceluloses durante o procedimento de isolamento sob as condições empregadas.

As vibrações das ligações O-H são evidenciadas pela absorção centrada em 3454 cm⁻¹. As bandas em 2933 cm⁻¹ e 2883 referem-se aos estiramentos das ligações C-H alifáticas.

O espectro no IV da 4-*O*-metilglicurono-xilana apresentou-se muito similar ao espectro da Figura 2, no entanto a banda em 1738 cm⁻¹, atribuída aos estiramentos da ligação C=O, está ausente, devido à hidrólise dos grupos acetilas durante o procedimento de extração da holocelulose com KOH.

Os sinais observados no espectro de RMN de ¹H próximos a δ 2,2 (2,18; 2,13; 2,12 e 2,07) e os sinais de ¹³C na região de δ 22 (22,16; 21,99; 21,77 e 21,59) e δ 176 (171,00; 170,93; 170,68 e 170,60), atribuídos ao CH₃ e à carbonila do grupo acetila, respectivamente, indicam que a xilana está acetilada. Os espectros de RMN de ¹H e de ¹³C das *O*-acetil-4-*O*-(metil-glicurono)-xilanas apresentaram vários sinais presentes na região de prótons anoméricos, entre δ 4,4 e 5,5 e também vários sinais entre δ 90 e 105 no espectro de ¹³C, mostrando a complexidade da estrutura. A partir do mapa de contornos de correlação heteronuclear, HSQC, as ressonâncias dos prótons anoméricos foram separadas daquelas dos demais prótons do anel piranosídico da xilose, desde que os correspondentes núcleos de carbono absorvem em frequências características de mais fácil atribuição. As regiões de ressonância dos prótons e carbonos anoméricos são respectivamente ¹H δ 4,4-5,5/ ¹³C δ 90-105, enquanto a região de xilose acetilada corresponde

à ^1H δ 4,4-5,5/ ^{13}C δ 70-80. No mapa de contornos HSQC, na região característica de ressonância de prótons anoméricos, foram encontradas sete correlações, indicando a presença de sete diferentes unidades de açúcares. Para a atribuição dos sinais, se utilizou dados da literatura, tomando-se como referência os estudos realizados sobre a estrutura de xilanas acetiladas isolada de “fibre flax” (van HAZENDONK *et al.*, 1996) e da madeira de *Populus tremula* (TELEMAN *et al.*, 2000), assim como de glicuronoxilanas (SHATALOV *et al.*, 1999). O sinal do próton anomérico em δ 5,27 e o simpleto em δ 3,45 atribuídos aos prótons do grupo metoxila, são característicos para o ácido 4-*O*-metilglicurônico, ligado à unidade de xilose através da ligação α -(1 \rightarrow 2) (CAVAGNA *et al.*, 1984). Pelo mapa de contornos COSY foi possível atribuir o sinal em δ 3,56 ao H-2 do ácido 4-*O*-metilglicurônico. O mapa de contornos TOCSY permitiu encontrar mais dois sinais neste sistema de spin, em δ 3,78 e δ 3,20. Pelo mapa de contornos HSQC foi possível verificar as seguintes correlações ^1H δ 3,78/ ^{13}C δ 73,3 e ^1H δ 3,20/ ^{13}C δ 83,12 e concluir que o sinal em δ 3,78 se refere ao H-3 e em δ 3,20 trata-se do H-4, por estar ligado ao carbono de deslocamento químico 83,12 característico de carbono ligado a metoxila. O sinal do carbono do grupo metoxila foi encontrado em δ 60,80. Em relação às unidades de xilose, os sinais dos prótons anoméricos foram divididos em seis tipos: i- Xilose interna não acetilada e não vizinha a xilose acetilada (Xil); ii- Xilose interna não acetilada e vizinha a xilose acetilada [Xil-(Xil-Ac)]; iii- Xilose acetilada no O-2 (Xil-2Ac); iv- Xilose acetilada no O-3 (Xil-3Ac); v- Xilose acetilada no O-2 e no O-3 (Xil-2,3Ac); vi- Xilose acetilada no O-3 e substituída no O-2 pelo ácido 4-*O*-metilglicurônico (Xil-3Ac-2AMeGlc). Partindo-se dos sinais dos prótons anoméricos, os sinais de H-2 foram atribuídos pela análise do mapa de contornos COSY e com o auxílio do mapa de contornos TOCSY montou-se os sistemas de spins (A, B, C, D, E e F) referentes aos seis diferentes tipos de xilose (i, ii, iii, iv, v e vi) presentes na estrutura das *O*-acetil-4-*O*-(metil-glicurono)-xilanas, conforme mostra a Tabela 1.

A inspeção do espectro de HSQC na região ^1H δ 4,4-5,5/ ^{13}C δ 70-80 permitiu distinguir as unidades de xilose acetiladas no O-2 e/ou O-3. Nesta região, foram obtidas as seguintes correlações: ^1H δ 5,09/ ^{13}C δ 75,50; ^1H δ 5,02/ ^{13}C δ 76,23; ^1H δ 4,93/ ^{13}C δ 77,40; ^1H δ 4,75/ ^{13}C δ 74,47; ^1H δ 4,64/ ^{13}C δ 74, 55, que se referem, como pode ser visto na Tabela 1, aos sistemas A, B, D, A e C, respectivamente. De posse destes resultados, foi possível concluir que o sistema de spin A refere-se às unidades de xilose acetiladas no O-2 e O-3, pois os prótons H-2 (δ 4,75) e H-3 (δ 5,09) são os mais desblindados em relação aos H-2 e H-3 das outras unidades, por serem adjacentes aos grupos acetila.

Tabela 1 – Sistemas de spins das seis unidades estruturais de xilose presentes na estrutura das xilanas de *E. urograndis*.

Sistemas de Spins	Hidrogênios das Unidades de Xilose		
	H-1	H-2	H-3, H-4, H-5 _{ax} e H-5 _{eq}
A (v)	4,73	4,75	5,09; 4,03; 3,51; 4,18
B (vi)	4,69	3,69	5,02; 3,95; 3,46; 4,13
C (vii)	4,63	4,64	3,77; 3,85; 3,44; 4,17
D (iv)	4,53	3,47	4,93; 3,91; 3,47; 4,15
E (i)	4,45	3,30	3,57; 3,73; 3,37; 4,10
F (ii)	4,37	3,20	3,54; 3,70; 3,36; 4,07

O sistema de spin, que possui o H-3 (δ 5,02) ligado a um carbono acetilado, pode se referir tanto a xilose acetilada no O-3, quanto à xilose acetilada no O-3 e substituída no O-2 pelo ácido 4-*O*-metilglicurônico. Tal dúvida foi solucionada a partir da correlação H-2 δ 3,69/C-2 δ 77,20 deste sistema de spin encontradas no mapa de contornos HSQC, revelando que se trata da xilose acetilada no O-3 e substituída no O-2 pelo ácido 4-*O*-metilglicurônico. O carbono 2 da xilose neste elemento estrutural apresenta desblindagem caracteristicamente experimentada pelos átomos de carbono que estão envolvidos em ligações glicosídicas (CAVAGNA *et al.*, 1984). Este elemento estrutural foi detectado pela primeira vez em xilanas de folhosas de *Populus tremula* no estudo realizado por TELEMAN *et al.* (2000). Neste estudo foi relatado que todas as unidades de ácido 4-*O*-metilglicurônico estão ligados a unidades de xilose acetiladas no O-3. Em posterior trabalho realizado por TELEMAN *et al.* (2002) em xilanas de folhosa de birch e beech, foi encontrado que 80% dos ácidos 4-*O*-metilglicurônicos estão ligados a xilose acetiladas no O-3. Pela integração do sinal do próton H-3 (δ 5,02) do elemento estrutural Xil-3Ac-2AMeGlc e do sinal do próton H-1 (δ 5,27) dos ácidos 4-*O*-metilglicurônicos encontrou-se a razão 1:1, indicando que todos os ácidos 4-*O*-metilglicurônicos estão ligados a xilose acetilada no O-3. O sistema C refere-se à xilose acetilada no O-2 e o sistema D a xilose acetilada no O-3, conforme demonstrado pelas correlações H-2 δ 4,64/C-2 δ 74,55 e H-3 δ 4,93/C-3 δ 77,40, respectivamente. O H-3 do sistema C foi atribuído a partir do mapa de contornos do COSY. A distinção entre as unidades de xilose acetiladas isoladas e xilose vizinha a xilose acetilada foi baseada na literatura (van HAZENDONK *et al.*, 1996). O sistema de spin E refere-se à xilose isolada e o sistema F, à xilose vizinha a xilose acetilada. Adicionalmente, foi encontrado, na região de prótons anoméricos do espectro de RMN de ^1H , o sinal em δ 5,39, que está, geralmente, ausente em xilanas de folhosas. Este sinal foi atribuído ao H-1 do ácido 4-*O*-metilglicurônico substituído no O-2, sendo desblindado por aproximadamente 0,12 ppm, em relação ao H-1 do

ácido 4-*O*-metilglicurônico terminal. Este elemento estrutural também foi encontrado em xilanas de *E. globulus*, e foi proposto que a posição O-2 do ácido 4-*O*-metilglicurônico constitui um ponto de ligação com outros polissacarídeos da parede celular, tal como, as galactanas (SHATALOV *et al.*, 1999). Nas xilanas do *E. globulus* encontrou-se que aproximadamente 30% dos ácidos 4-*O*-metilglicurônicos estão substituídos no O-2. Pela integração dos sinais dos prótons anoméricos referentes aos ácidos 4-*O*-metilglicurônicos terminais e aos substituídos no O-2 das xilanas de *E. urograndis* foi revelado que 10% destes ácidos estão substituídos. No espectro das 4-*O*-metil-glicurono-xilanas este mesmo resultado foi encontrado. A quantificação e distribuição dos grupos acetila na estrutura das xilanas foi realizada empregando-se espectroscopia de RMN de ¹H, utilizando-se a metodologia descrita por TELEMAN *et al.* (2000). Pode-se concluir que a proporção entre as unidades de xilose e grupos acetila é de 10:5,3. O grau de acetilação destas xilanas ficou dentro do esperado, pois é sabido que as folhosas apresentam de 4 a 7 grupos acetila para cada 10 unidades de xilose (SJÖSTRÖM, 1993). Nas unidades de xilose acetiladas, aproximadamente 33% dos grupos acetila das xilanas de *E. urograndis* estão ligados no O-2 e 67% no O-3, sendo 36% em Xil-3Ac, 11% em Xil-2,3Ac e 20% em Xil-3Ac-2AMeGlc. Quanto ao teor de ácidos 4-*O*-metilglicurônicos foi encontrado 1,1 e 1,3 ácido 4-*O*-metilglicurônico para 10 unidades de xilose para as *O*-acetil-4-*O*-(metil-glicurono)-xilanas e 4-*O*-(metil-glicurono)-xilanas, respectivamente. Esta relação ficou bem próxima à encontrada para as folhosas birch, beech e *Populus tremula*. Em xilanas de birch e beech a relação molar (ácido 4-*O*-metilglicurônico: xilose) foi de 0,7:10 (TELEMAN *et al.*, 2002) e para *Populus tremula* a relação foi de 1:10 (TELEMAN *et al.*, 2000). Os deslocamentos químicos de ¹H e ¹³C para as *O*-acetil-4-*O*-(metil-glicurono)-xilanas isoladas da madeira do *E. urograndis* estão em excelente acordo com os valores relatados para as xilanas isoladas de *Populus tremula* ((TELEMAN *et al.*, 2000) e de birch e beech (TELEMAN *et al.*, 2002). A análise cromatográfica de exclusão por tamanho das duas xilanas revelou uma distribuição de massa molecular uniforme, indicando que estas foram isoladas sem impurezas de outros carboidratos poliméricos. A massa molecular média (e polidispersividades) para as *O*-acetil-4-*O*-(metil-glicurono)-xilanas foi 34,9 KDa (1,16), enquanto para as 4-*O*-(metil-glicurono)-xilanas encontrou-se valor inferior, 29,3 KDa (1,23), provavelmente devido à perda de monômeros da cadeia durante a extração em meio alcalino.

CONCLUSÕES

De acordo com os resultados experimentais obtidos pela análise dos espectros de RMN e no Infravermelho das xilanas isoladas do *Eucalyptus urograndis*, pode-se concluir que se trata de hemiceluloses muito semelhantes às encontradas em outras folhosas. A

relação molar de unidades de xilose, grupos acetila e grupos de ácidos 4-*O*-metilglicurônicos foi de 10:5,3:1,1. Estas hemiceluloses mostraram, assim como as xilanas do *E. globulus*, a presença de ácidos 4-*O*-metilglicurônicos, cujos O-2 encontram-se substituídos, sendo de 10% o teor destes. A massa molecular média (e polidispersividade) foi 34,9 KDa (1,16) e 29,3 KDa (1,23) para as *O*-acetil-4-*O*-(metil-glicurono)-xilanas e 4-*O*-(metil-glicurono)-xilanas, respectivamente.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

1. Timell, T. E. Recent Progress in the Chemistry of Wood Hemicelluloses. **Wood Science and Technology**, (1): 45-70, (1967).
2. Sundberg, A.; Sundber, K.; Lillandi, C.; Holmbom, B. Determination of hemicelluloses and pectins in wood and pulp fibres by acid methanolysis and gas chromatography. **Nordic Pulp and Paper Research Journal**, (4): 216-220, (1996).
3. Jacobs, A.; Dahlman, O. Characterization of the Molar Masses of Hemicelluloses from Wood and Pulps Employing Size Exclusion Chromatography and Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry. **Biomacromolecules**, (2): 894-905, (2001).
4. Teleman, A.; Nordström, M.; Tenkanen, M.; Jacobs, A. Isolation and characterization of *O*-acetylated glucomanas from aspen and birch wood. **Carbohydrate Research**, (338): 525-534, (2003).
5. Evtuguin, D. V.; Tomás, J. L.; Silva, A.M.S.; Pascoal Neto, C. Characterization of an acetylated heteroxylan from *Eucalyptus globulus* Labill. **Carbohydrate Research**, (338): 597-604, (2003).
6. Ebringerová, A.; Alfödi, J.; Hromádková, K.; Pavlov, G. M.; Harding, S. E. Water-soluble p-carboxybenzylated beechwood 4-*O*-methylglucuronoxylan: structural features and properties. **Carbohydrate polymers**, (42): 123-131, (2000).
7. Genco, J. M.; Buaysakul, N.; Medhora, H. K.; Robbins, W. Hemicellulose retention during Kraft pulping. **Tappi Journal**, (3): 223 -233, (1990).
8. Dahlman, O. Dahlman, O. Effects of hardwood xylan dissolution/sortion on fibre charge and pulp yield. In: Colóquio Internacional sobre Celulose Kraft de Eucalipto, Viçosa – MG, 59-74, (2003).
9. Danielsson, S.; Lindström, M. E. Influence of birch xylan adsorption during kraft cooking on softwood pulp strength. **Nordic Pulp and Paper Research Journal**, (20): 436 - 441, (2005).

10. Teleman, A.; Harjunpää, V.; Tenkanen, M.; Buchert, J.; Hausalo, T.; Drakenberg, T.; Vuorinen, T. Characterisation of 4-deoxy- β -L-enopyranosyluronic acid attached to xylan in pine Kraft pulp and pulping liquor by ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy. **Carbohydrate Research**, (272): 55-71, (1995).
11. van Hazendonk, J. M.; Reinerink, E. J. M.; de Waard, P.; van DAM, J. E. D. 1996. Structural analysis of acetylated hemicellulose polysaccharides from fibre flax (*Linum usitatissimum* L.). **Carbohydrate Research**, (291): 141-154, (1996).
12. Teleman, A.; Lundvist, J.; Tjernel, F.; Stalbrand, H. Dahlman, O. 2000. Characterization of acetylated 4-*O*-methylglucuronoxylan isolated from aspen employing ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy. **Carbohydrate Research**, (329): 807-815, (2000).
13. Shatalov A. A.; Evtuguin, D. V.; Neto, C. P. (2-*O*- α -Galactopyranosyl-4-*O*-methyl- α -D-glucurono)-D-xylan from *Eucalyptus globulus* Labill. **Carbohydrate Research**, (320): 93-99, (1999).
14. Cavagna, F.; Deger, H.; Puls, J. 2D NMR analysis of the structure of an aldetriouronic acid obtained from birch wood. **Carbohydrate Research**, (129): 1-8, (1984).
15. Teleman, A.; Tenkanen, M.; Jacobs, A.; Dahlman, O. Characterization of *O*-acetyl-4-*O*-methylglucuronoxylan isolated from birch and beech. **Carbohydrate Research**, (337): 373-377, (2002).
16. Sjostrom, E. **Wood chemistry: Fundamentals and applications**. 2 ed. San Diego: Academic Press, 293 p., 1993.