

# Étude par microscopie à force atomique de l'organisation cœur-couronne de nanoparticules hétéroxylanes-lignine de synthèse, modèles des parois végétales lignifiées

Cédric Gaillard<sup>1</sup> et Bernard Cathala<sup>1</sup>

**Résumé :** *L'alcool coniférylique, un monomère des lignines a été polymérisé en présence d'hétéroxylanes, un polyoside caractéristique des parois végétales de graminées. La réaction conduit à la formation de particules de dimension nanométrique contenant les hétéroxylanes et les dehydrogénopolymères (lignines synthétiques) formés par la polymérisation de l'alcool coniférylique. Nous avons étudié l'organisation interne de ces particules par microscopie à force atomique en mode intermittent. En faisant varier l'amplitude de vibration de la pointe, donc la force d'appui sur l'objet, nous avons observé deux types de morphologies. Pour une force d'appui faible, les nanoparticules apparaissent avec une forme régulière alors qu'en appliquant une force d'appui environ vingt fois plus intense, une morphologie plus complexe apparaît où l'on distingue clairement deux zones : au centre et en périphérie. Cette différence peut être interprétée comme l'existence de deux régions avec des propriétés mécaniques différentes dans les nanoparticules, suggérant ainsi une structure cœur-couronne. Cet exemple souligne également l'importance des paramètres d'acquisition, notamment la force d'appui en mode intermittent sur la morphologie apparente des matériaux mous tels que les assemblages de biopolymères.*

**Mots-clés :** Microscopie à force atomique (AFM), nanoparticules, lignine de synthèse, hétéroxylanes.

## Introduction

Une des caractéristiques des plantes supérieures est l'existence, en dehors de la cellule, d'un matériau complexe : la paroi végétale. Cette structure est un matériau composite formé de trois principaux types de polymères. La cellulose, un polymère de cellobiose de très haut degré de polymérisation, est organisée sous forme cristalline au milieu de microfibrilles qui forment l'armature de la paroi. La principale fonction du réseau cellulosique est de conférer aux parois végétales des propriétés mécaniques remarquables notamment au regard de la faible densité de ce matériau. Les microfibrilles sont entourées d'une matrice amorphe formée par des polysaccharides (hémicellulose) et de lignine. Parmi les rôles importants de ce ciment, on peut citer notamment l'hydrophobation des parois et la résistance aux pathogènes.

Alors que l'organisation de la cellulose est relativement connue, la structure fine et l'organisation du ciment ligno-hemicellulosique reste encore mal connue. Toutefois, les études *in planta* restent délicates et sont rendues difficiles par la grande diversité structurale des hémicelluloses et des lignines. Afin de pallier ces difficultés, des stratégies utilisant des systèmes reconstruits mimant les assemblages naturels ont été développés (Chanliaud *et al.*, 2002 - Touzel *et al.*, 2003 - Chanliaud *et al.*, 2004 - Cathala *et al.*, 2005 - Lairez *et al.*, 2005 - Zykwincka *et al.*, 2007 - Barakat *et al.*, 2008). Le principal avantage de ces systèmes biomimétiques est de varier à façon les proportions et les structures des polymères qui les composent et de pouvoir les étudier par des techniques inadaptables aux substrats

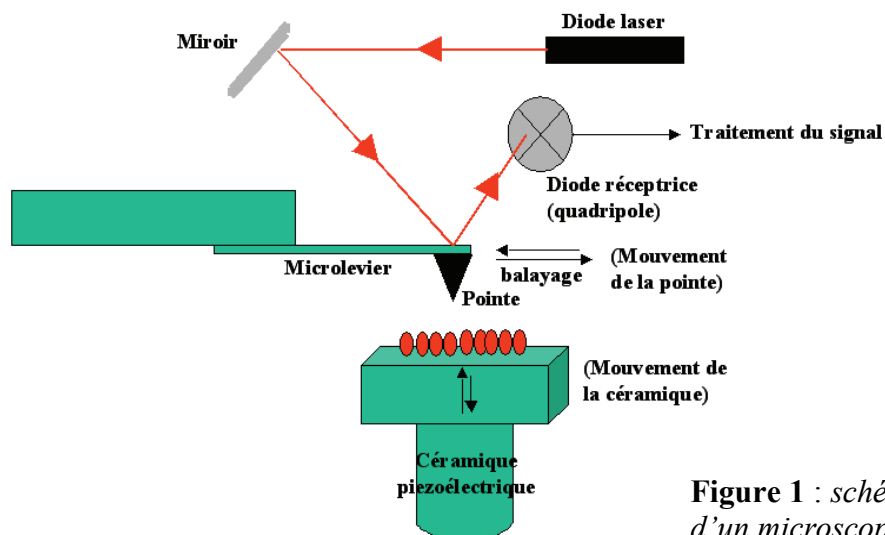
<sup>1</sup> UR1268 Biopolymères, interactions assemblages URIBIA- INRA - F-44316 Nantes

☎ 02 40 67 51 68 ✉ [Cedric.Gaillard@nantes.inra.fr](mailto:Cedric.Gaillard@nantes.inra.fr)

naturels. Les dehydrogénopolymères sont issus de la polymérisation *in vitro* de monomères de lignines. Ces produits, également appelés lignine de synthèse, ont permis d'approfondir la connaissance des réactions de lignification. Lorsque cette réaction se produit en présence de polysaccharides, des assemblages complexes se forment entre les deux espèces (polysaccharide et lignine de synthèse). Ces complexes peuvent exister sous forme de particules de taille nanométrique possédant une bonne stabilité colloïdale.

L'observation de la morphologie précise de particules nanométriques et la caractérisation de leur composition précise sont des questions complexes auxquelles les outils de microscopie résolutive peuvent apporter des éléments de réponse. Alors que la microscopie électronique à transmission s'est avérée efficace dans la connaissance de la structuration de nanoparticules composites (Gaillard *et al.*, 2007), la microscopie à force atomique peut également y contribuer pleinement (Samori P. 2008).

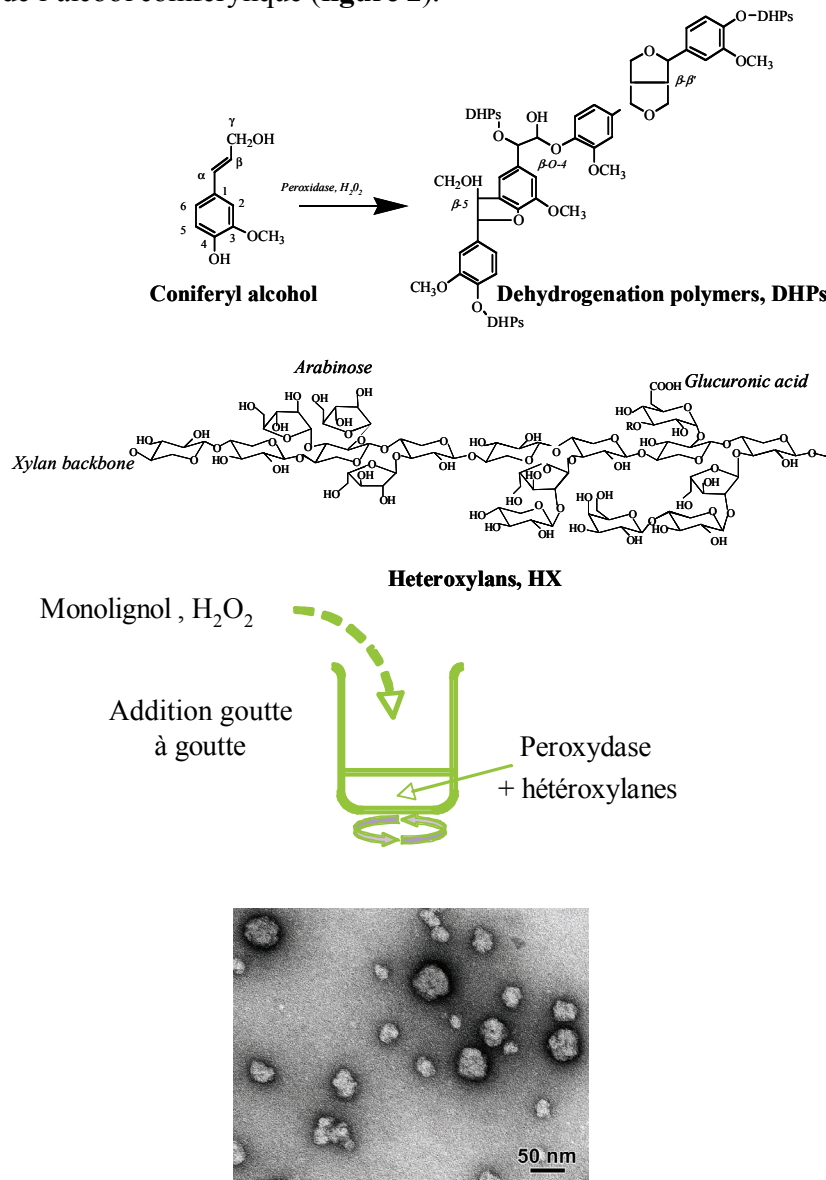
L'AFM, technique d'analyse de surface mise au point en 1986, (Binnig G., 1986) est basée sur la mesure des forces d'interactions qui se mettent en place lorsqu'une pointe solide est rapprochée de la surface d'un échantillon. Les atomes de la surface et ceux de l'extrémité de la pointe ont tendance à s'attirer jusqu'à ce qu'ils soient à une distance proche, où ils se repoussent alors. La pointe AFM est fixée à l'extrémité d'un levier souple dont la mesure précise de la flexion, par le biais d'une réflexion laser, permet d'accéder à une mesure de la force d'interaction. Nous montrons sur la **figure 1**, un schéma type du principe de fonctionnement d'un AFM. En imposant une consigne de force (ou set point), la pointe parcourt l'échantillon en variant son inclinaison pour compenser les fluctuations de la force d'interaction et pour la conserver constante. L'inclinaison de la pointe est traduite par des variations de hauteur entre deux points consécutifs d'une même ligne de l'image en cours d'acquisition. En balayant la pointe ligne par ligne, on reconstruit l'image de la surface de l'échantillon.



**Figure 1** : schéma du fonctionnement d'un microscope de force atomique

Les différents modes de fonctionnement (contact, non-contact, intermittent) apportent des informations complémentaires en termes d'imagerie. En mode contact, la pointe est balayée de façon continue en surface de l'échantillon. En mode résonant, ou en mode contact intermittent ou 'tapping', le micro levier supportant la pointe est mis en oscillation forcée avec une fréquence d'oscillation de valeur voisine de la fréquence propre de résonance du système levier/pointe. Dans ce mode, la pointe n'est pas en contact permanent avec l'échantillon, ce qui préserve mieux les échantillons les plus mous. De plus, l'enregistrement

de l'amplitude d'oscillation peut être utilisé comme signal d'erreur pour détecter toute modification en surface de l'échantillon ou être traité pour suivre le retard de phase de l'oscillogramme du levier en interaction avec l'échantillon et reconstituer ainsi une image de détection de phase très sensible aux changements des propriétés de la surface (adhésion, viscoélasticité, ...) qui apparaissent sur l'image par des variations de contraste. Outre l'ADN qui reste l'exemple de l'échantillon biologique le plus étudié par AFM, les caractéristiques structurales et les propriétés physiques de très nombreux biopolymères ont été obtenues par AFM (Alessandrini *et al.*, 2005 – Ellis *et al.*, 2006 – McIntire et Brant, 1997 – Bottomley *et al.*, 2004). Nous rapportons ici, l'étude par AFM de nanoparticules formées par des hétéroxylyanes, une famille d'hémicellulose caractéristique des graminées et des lignines de synthèse issues de la polymérisation de l'alcool coniférylique (**figure 2**).



**Figure 2** : schéma de la structure des dehydrogénopolymères, des hétéroxylyanes et du protocole de polymérisation. Les complexes hétéroxylyanes/dehydrogénopolymères forment des nanoparticules de forme sphérique (observation en microscopie électronique à transmission après coloration négative).

Nous avons étudié l'organisation interne de ces particules en mode intermittent. En faisant varier l'énergie de vibration imposée à la pointe AFM, on peut observer deux types de morphologie.

## 1. Matériels et méthodes

Nous avons acquis tous les réactifs utilisés dans cette étude auprès de la société Sigma-Aldrich et ils sont utilisés sans purification additionnelle.

### 1.1 Synthèse des composés hétéroxylyanes/lignine de synthèse

Les hétéroxylyanes utilisés dans cette étude sont extraits à partir de son de Maïs selon le protocole préalablement décrit par Chanliaud *et al.*, (1995) Nous avons réalisé l'extraction en milieu alcalin (1% Ca(OH)<sub>2</sub>), à forte température (90°C). Par conséquent la fraction obtenue est presque entièrement dépourvue d'acide férulique.

Nous avons effectué la synthèse des complexes hétéroxylyanes/lignine de synthèse (ou hétéroxylyanes/dehydrogénopolymères) selon le protocole de Barakat *et al.*, (2007). Brièvement, l'alcool coniférylique est obtenu à partir du coniféraldéhyde selon la méthode proposée par Ludley et Ralph (1996). Nous avons synthétisé des complexes hétéroxylyanes/lignine selon la méthode « Zutropfverfahren » qui consiste à additionner goutte à goutte du monomère (concentration finale 1g/l) et du peroxyde d'hydrogène, le co-facteur de l'enzyme (2 équivalents par rapport à l'alcool coniférylique) sur une solution d'hétéroxylyanes contenant 5 mg de peroxydase (Peroxydase de raifort, 250-330 unité par mg de solide). Le temps d'addition total est de 4 heures et le volume final de 250 ml. Toutes les solutions d'hétéroxylyanes sont préparées à 1g/l dans un tampon phosphate 0,15 M pH=6.

### 1.2 Microscopie à force atomique

#### - Préparation des échantillons

Les solutions concentrées de HX-DHPs sont préalablement diluées dans de l'eau ultra pure pour obtenir une concentration de 10 µg/ml. Pour réaliser une observation par AFM, un volume de 5 µl de la solution diluée est placé sur un support plan de mica dont la surface a été rafraîchie en clivant le premier plan atomique. Le support est séché par balayage à l'argon pendant 10 min puis stocké à l'abri de la poussière avant son observation.

#### - Imagerie et traitement de l'image

Les images AFM sont acquises à sec et à température ambiante sur un microscope Autoprobe CP Park Scientific Instrument (Sunnyvale, CA). Le microscope est utilisé en mode intermittent, ou tapping, avec des pointes de silicium dopées au phosphore (Veeco Probes, CA – USA), de constante de raideur du levier de 50 N/m et mises en vibration à une fréquence proche de leur fréquence de résonance (282 kHz). Les vitesses de balayage varient entre 0.5 et 1 Hz. Deux forces d'appui  $F_{av}$  de la pointe sur la surface de l'échantillon ont été choisies ici :  $F_{av} = 4,1$  nN et  $F_{av} = 77,8$  nN.

## 2. Résultats et discussion

### 2.1 Synthèse des nanoparticules

Les hétéroxylyanes utilisés dans cette étude ont été extraits de son de maïs. Le son de maïs n'étant pas lignifié, présente l'avantage d'être exempt de toute contamination par de la lignine résiduelle qui pourrait rendre difficile l'exploitation des résultats. Le choix des xylanes est basé sur le fait qu'il représente la famille d'hémicellulose majoritaire des parois lignifiées. Le

monomère de lignine choisi, l'alcool coniférylique (monomère G pour Gaiacyl) correspond également au monomère le plus abondant des parois lignifiées.

Nous avons obtenu les complexes hétéroxyloxygènes/lignine de synthèse par la méthode d'ajout « Zutropfverfahren » qui consiste à ajouter goutte-à-goutte les monolignols et le cofacteur de l'enzyme sur une solution de peroxydase. La réaction de polymérisation appartient à la classe des polycondensations par recombinaison de radical. Le monomère est oxydé par la peroxydase par un mécanisme monoélectronique. Le radical formé existe sous quatre formes mésomères limites qui se recombinent entre elles pour former des dimères en début de réaction puis avec des espèces de plus haut poids moléculaires par la suite pour former le polymère final. Ce processus, de par l'existence des quatre formes mésomères en équilibre, est donc initié par voie enzymatique et dirigé par les conditions physico-chimiques de la réaction (concentration des réactifs, pH, polarité du milieu, etc.). La présence de polysaccharides peut influencer la réaction ; par conséquent, l'influence de la concentration des polysaccharides pouvant être importante, nous avons solubilisé tous les réactifs dans une solution à 1g/l d'hétéroxyloxygènes dissous dans un tampon phosphate afin d'éviter de faire varier leur concentration au cours de la réaction. La réaction conduit à la formation d'une solution opalescente stable durant des mois. L'observation au microscope électronique des particules présentes dans la solution (**figure 2**) indique que ces objets sont de taille nanométrique expliquant la stabilité colloïdale observée. Leur morphologie est notamment liée à la structure des éléments constitutifs des complexes (monomères de lignine, présence de substituants féruliques etc.) (Barakat *et al.*, 2008). Dans le cas présent, les hétéroxyloxygènes et le monomère choisis forment des objets relativement sphériques de quelques dizaines de nanomètres. Afin d'étudier la structuration interne de ces molécules, nous les avons soumises à une étude par microscopie à force atomique.

#### - Calcul des forces d'indentation

Au cours de cette étude, l'énergie de vibration imposée à la pointe est optimisée de façon à produire une force d'appui moyenne ( $F_{av}$ ) plus ou moins importante selon le niveau de déformation que l'on souhaite appliquer à l'objet. Cette déformation sera plus ou moins prononcée en fonction des variations de rigidité des zones scannées de ce même objet.

La force d'appui moyenne se définit selon l'équation empirique suivante (Lei *et al.*

, 2007).

$$F_{av} = \frac{1}{2} \frac{k}{Q} \left[ 1 - \frac{A_{sp}}{A_0(f_0)} \right] A_0(f) \beta \quad (1)$$

où :

$k$  représente la constante de raideur du levier

$A_{sp}$  correspond à l'amplitude d'oscillation de la pointe lorsque celle-ci est au contact de l'échantillon (également appelé 'set point')

$f_0$  est la fréquence de résonance de la pointe lorsque le cantilever est en mouvement d'oscillation libre (hors du contact avec l'échantillon)

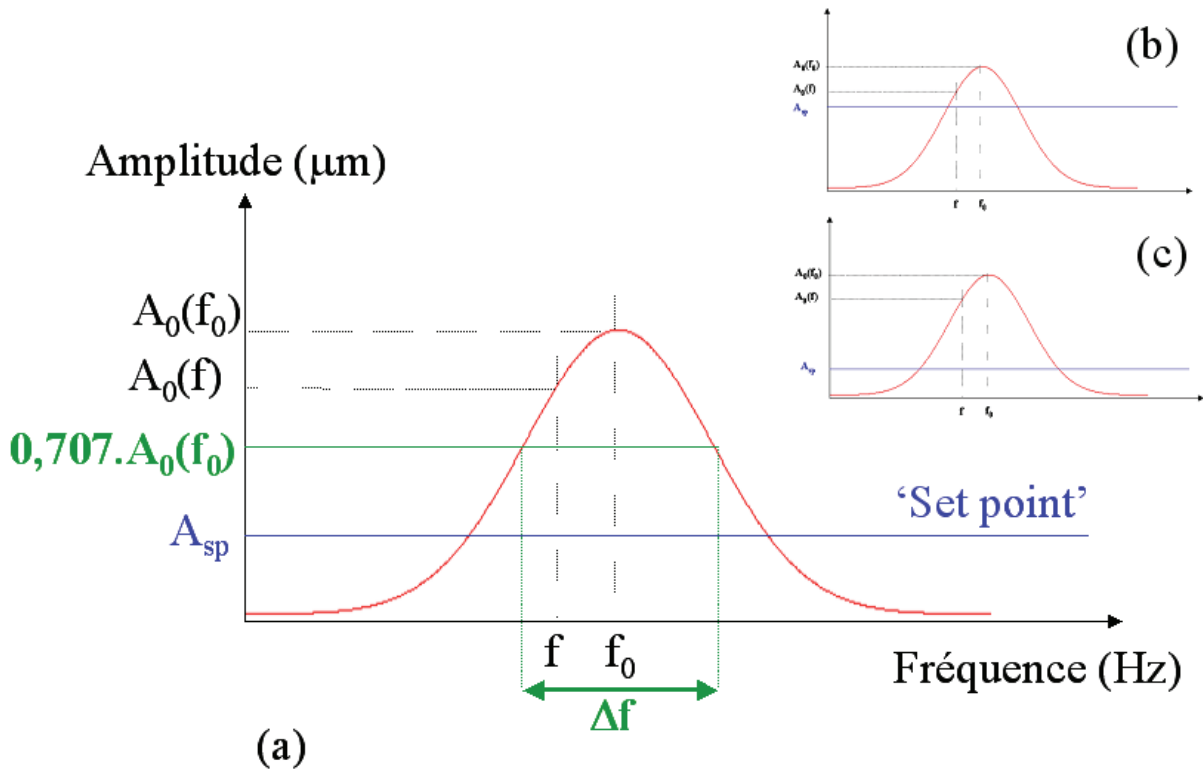
$A_0(f_0)$  est l'amplitude libre d'oscillation de la pointe mise en mouvement à la fréquence  $f_0$

$f$  correspond à la fréquence d'oscillation choisie pour imager l'échantillon

$A_0(f)$  est l'amplitude libre correspondant à une oscillation de la pointe dans l'air avec la fréquence de travail  $f$

$\beta = \frac{A_0(f)}{A_0(f_0)}$  est le paramètre de résonance

$Q = \frac{f_0}{\Delta f}$  donne le facteur de qualité,  $\Delta f$  étant la largeur de bande correspondant à une amplitude de 0,707 l'amplitude maximale (**figure 3**).



**Figure 3** : (a) schéma de la courbe de résonance de la pointe donnant l'amplitude du mouvement de la pointe en fonction de la fréquence de vibration imposée à la pointe ;  
 (b) positionnement des paramètres de fréquence et d'amplitude pour imposer une faible énergie à la pointe et obtenir une force d'appui moyenne ( $F_{av}$ ) faible ;  
 (c) positionnement des paramètres de fréquence et d'amplitude pour imposer une forte énergie à la pointe et obtenir une force d'appui moyenne ( $F_{av}$ ) forte.

La **figure 3a** montre la représentation schématique de la courbe de résonance d'une pointe AFM en mode intermittent ainsi que le positionnement des principaux paramètres expérimentaux intervenant pour le calcul de la force d'appui moyenne ( $F_{av}$ ) d'après l'équation empirique de Lei.

En fixant une fréquence d'oscillation  $f$  importante (mais restant inférieure à la fréquence de résonance), et en choisissant une amplitude d'oscillation du set point  $A_{sp}$  élevée, il est possible d'imposer à la pointe AFM une énergie de vibration faible et produire une valeur de force d'appui moins importante (**figure 3b**). Inversement, en choisissant une amplitude d'oscillation du set point  $A_{sp}$  plus faible, il est possible d'imposer à la pointe AFM une énergie de vibration forte et produire une valeur de force d'appui plus élevée (**figure 3c**).

Pour cette étude, nous avons choisi deux valeurs de force d'appui  $F_{av}$  pour caractériser la morphologie des objets étudiés :  $F_{av} = 4.1$  nN et  $F_{av} = 77.8$  nN. Elles communiquent,

respectivement, une énergie de vibration à la pointe faible et élevée. Les valeurs de ces deux forces d'appui  $F_{av}$  sont calculées d'après l'équation (1) à partir des valeurs expérimentales des différents paramètres rassemblées dans le **tableau 1**.

$f_0$ (Hz)	$A_0(f_0)$ ( $\mu\text{m}$ )	$f$ (Hz)	$A_0(f)$ ( $\mu\text{m}$ )	$A_{sp}$ ( $\mu\text{m}$ )	$\beta$	$\Delta f$ (Hz)	Q	$F_{av.}$ (nN)
281710	0.183	281420	0.134	0.06	0.732	710	396.7	4.1
282530	0.297	278070	0.271	0.123	0.912	6070	46.5	77.8

**Tableau 1** : paramètres expérimentaux mesurés à partir des courbes de résonance du levier de la pointe AFM

## 2.2 Imagerie des nanoparticules

A faible force d'appui, les nanoparticules déposées sur une surface de mica apparaissent comme des objets ovoïdes dispersés (**figures 4a, 4d et 4g**). Cette observation est cohérente avec les images MET (**figure 2**) où les nanoparticules ont une forme sphérique révélée par coloration négative. Lors du dépôt sur la surface, les particules s'étalent comme attesté, dans le cas d'une faible indentation, par les mesures des hauteurs sur les profils linéaires (**figure 4c**). Les particules qui présentent en solution des diamètres de l'ordre de la centaine de nanomètres ont une hauteur de seulement quelques dizaines de nanomètres. Cette observation indique la nature fragile et molle des nanoparticules, cohérente avec une structure de type gel gonflé d'eau. Cette caractéristique explique les images observées à plus forte force d'appui.

En effet, dans cette configuration d'analyse, les particules apparaissent également avec une forme globalement ovoïde mais présentent une morphologie interne différente (**figures 4b, 4e et 4h**). Ces particules ont un profil beaucoup plus accidenté, laissant apparaître deux zones distinctes (**figure 4f**). La partie externe est aplatie alors que la partie interne forme une zone plus abrupte.

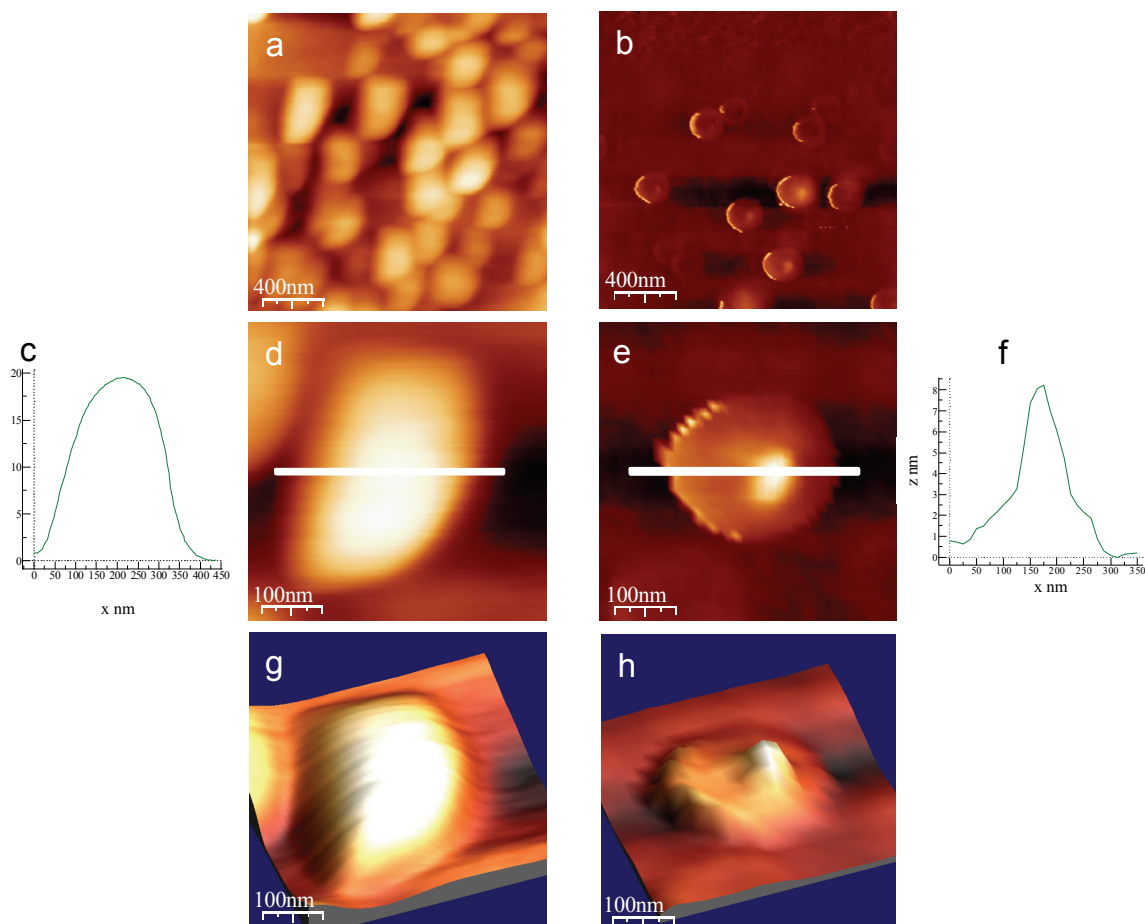
Ces différences entre expériences à faible force d'appui et force d'appui plus élevée sont visibles en comparant les profils linéaires des **figures 4c et 4f** ainsi que sur les représentations en trois dimensions (**figures 4g et 4h**). Tout semble donc indiquer que la partie périphérique des particules est très fortement indentée alors que la partie centrale est plus résistante à la déformation.

Ces résultats sont cohérents avec d'autres exemples rapportés dans la littérature sur les matériaux composites. Ainsi, les images de particules cœur-couronne obtenus à une force d'indentation de 100 nN sont également affectés par l'indentation (Sommer *et al.*, 1995). De même, une autre étude, portant sur des particules de films sensibles à la pression, rapporte que ces objets apparaissent concaves à faible force d'appui et convexes quand une force plus importante est appliquée (Lei *et al.*, 2007).

Ces résultats indiquent que la structure des particules est hétérogène. Un matériau possédant une plus grande résistance mécanique, en raison, soit de la densité de matière soit de la nature du matériau, est localisé au centre des particules alors que l'extérieur des particules est constitué d'un matériau présentant de plus faibles caractéristiques mécaniques. En combinaison avec d'autres techniques d'investigation (diffusion de la lumière, sonde



chimique), nous avons démontré que le cœur des nanoparticules est constitué de lignine de synthèse et d'hétéroxyanes alors que l'extérieur des particules est formé d'une couronne d'hétéroxyanes.



**Figure 4 :** Images AFM en mode topographie des nanoparticules arabinoxylanes/lignines de synthèse obtenues : (a, d, g) à faible force d'appui ; (b, e, h) à forte force d'appui. Les représentations (c) et (f) correspondent aux profils linéaires obtenus au travers des particules (d) et (e) respectivement à faible et forte force d'appui.

## Conclusion

Les résultats acquis par AFM pour obtenir des informations sur la morphologie et sur la structuration interne de nanoparticules démontrent l'efficacité de cet outil de microscopie, en complémentarité avec la microscopie électronique, pour approcher la structure fine de nanoparticules complexes à base de biopolymères et plus largement l'organisation d'assemblages biologiques. Pour une énergie de vibration correspondant à une force d'appui faible, le profil présente une forme régulière alors qu'en augmentant l'intensité de la force d'appui de la pointe sur l'échantillon, les particules subissent plus fortement l'effet de la pointe laissant apparaître un profil plus abrupt entre l'intérieur et l'extérieur des particules. Cette différence est interprétée par une organisation des polymères dans la particule en



structure cœur-couronne où le cœur, moins déformé par la pointe, est logiquement plus rigide que la couronne périphérique alors plus molle.

Toutefois, il faut souligner l'importance des paramètres d'acquisition, notamment la force d'appui en mode intermittent, sur la morphologie apparente des matériaux mous tels que les assemblages de biopolymères. L'optimisation de ces critères est essentielle pour une interprétation correcte des images, et elle peut être une source d'information tout à fait pertinente et riche.

## Bibliographie

- Alessandrini A., Facci P. (2005) AFM: a versatile tool in biophysics, *Meas. Sci. Technol.* 16 R65-R92
- Barakat A., Putaux J.-L., Saulnier L., Chabbert B., Cathala B. (2007) Characterization of arabinoxylan-dehydrogenation polymer (synthetic lignin polymer) nanoparticles, *Biomacromolecules* 8: 1236-1245
- Barakat A., Gaillard C., Lairez D., Saulnier L., Chabbert B., Cathala B. (2008) Supramolecular Organization of Heteroxylan-Dehydrogenation Polymers (Synthetic Lignin) Nanoparticles, *Biomacromolecules* 9: 487-493
- Binnig G., Quate C.F., Gerber C. (1986) Atomic force microscope, *Phys. Rev. Lett.* 56: 930-933
- Bottomley L.A., Lillehei P.T., Poggi M.A., Horowitz E., A. J.RConticello V. (2004) Force Spectroscopy of Biopolymers: Correlating Molecular Structure with Single Molecule Elasticity, *Microscopy and Microanalysis* 10: 204-205
- Cathala B., Rondeau-Mouro C., Lairez D., Belval F.B., Durand H., Gorrichon L., Touzel J.P., Chabbert B., Monties B. (2005) Model systems for the understanding of lignified plant cell wall formation, *Plant Biosystems* 139: 93-97
- Chanliaud E., Saulnier L., Thibault J.-F. (1995) Alkaline extraction and characterisation of heteroxylans from maize bran, *Journal of Cereal Science* 21: 195-203
- Chanliaud E., Burrows K., Jeronimidis M. G., Gidley M. (2002) Mechanical properties of primary cell wall analogues, *Planta* 215: 989-996
- Chanliaud E., De Silva J., Strongitharm B., Jeronimidis G., Gidley M.J. (2004) Mechanical effects of plant cell wall enzymes on cellulose/xyloglucan composites, *Plant Journal* 38: 27-37
- Ellis J.S., Allen S., Chim Y.T.A., Roberts C.J., Tendler S.J.B., Davies M.C. (2006) Molecular-scale studies on biopolymers using atomic force microscopy, *Polymer Therapeutics II: Polymers as Drugs, Conjugates and Gene Delivery Systems*, Springer-Verlag Berlin, Berlin, 123-172
- Gaillard C., Fuchs G., Plummer C.J.G., Stadelmann P.A. (2007) The morphology of submicron-sized core-shell latex particles: an electron microscopy study, *Micron* 38: 522-535
- Lairez D., Cathala B., Monties B., Bedos-Belval, F. Duran D., Gorrichon L., (2005) On the first steps of lignification : aggregation during coniferyl alcohol polymerisation in pectin solution., *Biomacromolecules*, 763-774

- Lei C.H., Ouzineb K., Dupont O., Keddie J.L. (2007) Probing particle structure in waterborne pressure-sensitive adhesives with atomic force microscopy, *Journal of Colloid and Interface Science* 307: 56-63
- Ludley F.H., Ralph J. (1996) Improved preparation of Coniferyl and Sinapyls Alcohols, *J. Agric. Food Chem.* 44: 2942-2943
- McIntire T.M., Brant D.A. (1997) Imaging of individual biopolymers and supramolecular assemblies using noncontact atomic force microscopy, *Biopolymers* 42: 133-146
- Samori P. (2008) STM and AFM studies on (bio)molecular systems: unravelling the nanoworld" Series: Topics in Current Chemistry, Vol. 285, Springer, p. 318
- Sommer F., Duc T.M., Pirri R., Meunier G., Quet C. (1995) Surface Morphology of Poly(butyl acrylate)/Poly(methyl methacrylate) Core Shell Latex by Atomic Force Microscopy, *Langmuir* 11: 440-448
- Touzel J.P., Chabbert B., Monties B., Debeire P., Cathala B. (2003) Synthesis and characterization of dehydrogenation polymers in *Glucunoacetobacter xylinus* cellulose and cellulose/pectin composite., *Journal of Agric. Food Chemistry* 51: 981-986
- Zykwinska A., Gaillard C., Buleon A., Pontoire B., Garnier C., Thibault J.F., Ralet M.C. (2007) Assessment of *in vitro* binding of isolated pectic domains to cellulose by adsorption isotherms, electron microscopy, and X-ray diffraction methods, *Biomacromolecules* 8: 223-232