

UNIVERSITE DU QUEBEC A TROIS-RIVIERES

MEMOIRE PRESENTE A

UNIVERSITE DU QUEBEC A TROIS-RIVIERES

COMME EXIGENCE PARTIELLE

DE LA MAITRISE ES SCIENCES (BIOPHYSIQUE)

PAR

DANIEL GUAY

B. SC. (PHYSIQUE)

ETUDE THERMODYNAMIQUE DES SYSTEMES

MONOMOLECULAIRES MIXTES CHL α -TQ, CHL α /PQ 2,
CHL α /PQ 3 ET CHL α /PQ 9 A L'INTERFACE AIR-EAU

FEVRIER 1986

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

RESUME

Nous présentons une étude thermodynamique à l'interface air-eau des systèmes chl a/α-TQ, chl a/PQ 2, chl a/PQ 3 et chl a/PQ 9. Les exigences particulières du travail en monocouche nous ont conduit à purifier les échantillons de quinones à notre disposition. La PQ 2 s'est avérée former un film monomoléculaire instable dans nos conditions expérimentales et nous proposons une explication basée sur la solubilité de la molécule dans la sous-phase. Aux fractions molaires étudiées, les mélanges chl a/PQ 9 sont miscibles, comme en fait foi l'évolution de la pression de surface au changement de phase avec la fraction molaire de chl a. Les mélanges chl a/α-TQ et chl a/PQ 3 sont eux aussi miscibles et ils dévient négativement par rapport à la loi d'additivité. Nous avons calculé les énergies libres de mélange en excès de ces systèmes et fait la comparaison avec certaines valeurs déjà publiées. Nous proposons d'expliquer les similitudes et les différences de comportement entre ces divers systèmes en invoquant une interaction entre l'atome de magnésium de la chl a et les groupements cétones des quinones. Des mesures de potentiel de surface sont également présentées pour ces divers systèmes, mesures qui viennent appuyer les conclusions tirées des isothermes de pression de surface.

REMERCIEMENTS

La page des remerciements est peut-être la plus difficile à écrire. Comment en effet remercier à leur juste valeur l'apport des diverses personnes m'ayant cotoyé au cours du travail passé. Il y a bien sûr M. Roger M. Leblanc, mon directeur de maîtrise, et M. Gaétan Munger. A eux deux, pour leur aide et leur support, un gros merci. Je tiens également à remercier la compagnie Hoffman-La Roche d'avoir mis à ma disposition les échantillons de quinones qui m'ont permis de réaliser le présent travail expérimental. Et il y a tous les autres, souvent inconscients du soutien apporté grâce à un bon mot, une réflexion pertinente. A tous ces gens ayant partagé mon quotidien, je désire exprimer ma gratitude.

TABLE DES MATIERES

	Page
RESUME	i
REMERCIEMENTS	ii
TABLE DES MATIERES	iii
LISTE DES TABLEAUX	v
LISTE DES FIGURES	vi
CHAPITRES	
I. INTRODUCTION	1
1. Problématique	1
2. But de la recherche	12
II. PURIFICATION	17
1. Nécessité de la purification	17
2. Purification de l'eau	17
3. Purification des solvants et des sels de phosphate	18
4. Purification des molécules étudiées	19
5. Purification des quinones	28
6. Extraction et purification de la chl <u>a</u> et de la phéo <u>a</u>	33
7. Résultats des expériences de contrôle	34
8. Résultats de la purification	36
III. LES MONOCOUCHEs	38
1. Préambule	38
2. Pression de surface	38

3.	Potentiel de surface	39
4.	Description de l'appareillage	40
5.	Mesure de la pression de surface	43
6.	Mesure du potentiel de surface	47
7.	Réalisation des monocouches	49
8.	Préparation des échantillons	51
IV.	RESULTATS	53
1.	Préambule	53
2.	Système chl <u>a</u> / α -tocophérylquinone	53
3.	Système chl <u>a</u> /plastoquinone 2	85
4.	Système chl <u>a</u> /plastoquinone 3	91
5.	Système chl <u>a</u> /plastoquinone 9	107
V.	INTERPRETATION DES RESULTATS	114
VI.	CONCLUSION	133
	REFERENCES	135
	ANNEXE	144

LISTE DES TABLEAUX

	Page
Tableaux	
1. Liste des solvants de migration utilisés pour la purification des quinones	25
2. Résultats des expériences de contrôle sur l'électrobalance.	35
3. Comparaison entre les aires moléculaires expérimentales et théoriques pour le système chl <u>a</u> /PQ 9 à $\pi = 0.75$ mN/m	110
4. Valeurs empiriques de $(-A_0)$ et $(-\pi_0)$	117
5. Valeurs empiriques des paramètres ω_2 et f^S_1	120
6. Tableau récapitulatif	145

LISTE DES FIGURES

Figures	Page
1. Coupe d'un chloroplaste	3
2. Schéma en Z	6
3. Structure moléculaire de la vitamine K ₁ , de l' α -tocophérol et du phytol	14
4. Structure moléculaire de l' α -tocophérylquinone et des plastoquinones 2, 3 et 9.	15
5. Structure moléculaire de la chlorophylle <u>a</u> et de la phéophytine <u>a</u>	16
6. Chromatogramme de l' α -tocophérylquinone	20
7. Chromatogramme de la plastoquinone 2.	21
8. Chromatogramme de la plastoquinone 3.	22
9. Chromatogramme de la plastoquinone 9.	23
10. Représentation schématique de l'appareillage utilisé pour l'étude des films monomoléculaires à l'interface air-eau. . .	41
11. Représentation schématique du transducteur magnétique linéaire.	44
12. Représentation schématique du système de mesure des potentiels de surface	48
13. Isothermes de pression de surface de l' α -tocophérylquinone avant et après purification	54
14. Isothermes de pression de surface de l' α -TQ	57

15. Isothermes de pression de surface des mélanges mixtes chl \underline{a}/α -TQ.	60
16. Comparaison des valeurs d'aire moléculaire expérimentales et prédites par la loi d'additivité pour le système chl \underline{a}/α -TQ.	62
17. Comparaison des valeurs d'aire moléculaire expérimentales et prédites par la loi d'additivité pour le système chl \underline{a}/α -TQ.	63
18. Evolution de la pression de surface au collapse selon la miscibilité des composés.	67
19. Valeurs d'énergie libre de mélange en excès pour le système chl \underline{a}/α -TQ à $\pi = 5$ mN/m.	70
20. Valeurs d'énergie libre de mélange en excès pour le système chl \underline{a}/α -TQ à $\pi = 10$ mN/m	71
21. Valeurs d'énergie libre de mélange en excès pour le système chl \underline{a}/α -TQ à $\pi = 15$ mN/m	72
22. Valeurs d'énergie libre de mélange en excès pour le système chl \underline{a}/α -TQ à $\pi = 20$ mN/m	73
23. Comparaison entre les valeurs d'énergie libre de mélange en excès pour les systèmes chl $\underline{a}/$ vitamine K ₁ et chl \underline{a}/α -TQ à $\pi = 10.6$ mN/m.	75
24. Isothermes de potentiel de surface et de moment dipolaire pour la PQ 3, l' α -TQ et la chl \underline{a}	77
25. Comparaison entre les valeurs de potentiel de surface prédites par la loi d'additivité, par l'équation 4 et les valeurs expérimentales à $\pi = 5$ mN/m pour le système chl \underline{a}/α -TQ	80

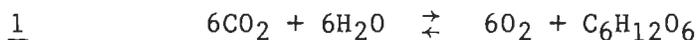
26. Comparaison entre les valeurs de potentiel de surface prédites par la loi d'additivité, par l'équation <u>4</u> et les valeurs expérimentales à $\pi = 10$ mN/m pour le sys- tème chl \underline{a}/α -TQ	81
27. Comparaison entre les valeurs de potentiel de surface prédites par la loi d'additivité, par l'équation <u>4</u> et les valeurs expérimentales à $\pi = 15$ mN/m pour le sys- tème chl \underline{a}/α -TQ	82
28. Comparaison entre les valeurs de potentiel de surface prédites par la loi d'additivité, par l'équation <u>4</u> et les valeurs expérimentales à $\pi = 20$ mN/m pour le sys- tème chl \underline{a}/α -TQ	83
29. Isothermes de pression de surface de la plastoquinone 2	89
30. Isothermes de pression de surface de la plastoquinone 3	92
31. Isothermes de pression de surface des mélanges mixtes chl \underline{a}/PQ 3.	94
32. Comparaison des valeurs d'aire moléculaire expérimenta- les et prédites par la loi d'additivité pour le système chl \underline{a}/PQ 3.	95
33. Comparaison des valeurs d'aire moléculaire expérimenta- les et prédites par la loi d'additivité pour le système chl \underline{a}/PQ 3.	96
34. Valeurs d'énergie libre de mélange en excès pour le sys- tème chl \underline{a}/PQ 3 à $\pi = 1$ mN/m.	98
35. Valeurs d'énergie libre de mélange en excès pour le sys- tème chl \underline{a}/PQ 3 à $\pi = 3$ mN/m.	99

36. Valeurs d'énergie libre de mélange en excès pour le système chl \underline{a}/PQ 3 à $\pi = 5$ mN/m	100
37. Valeurs d'énergie libre de mélange en excès pour le système chl \underline{a}/PQ 3 à $\pi = 7$ mN/m	101
38. Comparaison entre les valeurs de potentiel de surface prédites par la loi d'additivité, par l'équation 4 et les valeurs expérimentales à $\pi = 1$ mN/m pour le système chl \underline{a}/PQ 3.	103
39. Comparaison entre les valeurs de potentiel de surface prédites par la loi d'additivité, par l'équation 4 et les valeurs expérimentales à $\pi = 3$ mN/m pour le système chl \underline{a}/PQ 3	104
40. Comparaison entre les valeurs de potentiel de surface prédites par la loi d'additivité, par l'équation 4 et les valeurs expérimentales à $\pi = 5$ mN/m pour le système chl \underline{a}/PQ 3	105
41. Comparaison entre les valeurs de potentiel de surface prédites par la loi d'additivité, par l'équation 4 et les valeurs expérimentales à $\pi = 7$ mN/m pour le système chl \underline{a}/PQ 3	106
42. Comparaison entre les valeurs d'énergie libre de mélange en excès pour les systèmes chl \underline{a}/α -TQ et chl \underline{a}/PQ 3 à $\pi = 7$ mN/m.	108
43. Isothermes de pression de surface des mélanges chl \underline{a}/PQ 9	109
44. Isothermes de potentiel de surface des mélanges chl \underline{a}/PQ 9	112
45. Comparaison entre les isothermes de pression de surface et les valeurs théoriques selon Gaines (1978)	121

CHAPITRE I

INTRODUCTION1.1 Problématique

Notre compréhension du processus photosynthétique s'est grandement accrue depuis le jour où l'équation photosynthétique générale des plantes vertes a pu être correctement écrite.



Dès 1842, la photosynthèse fut identifiée à un processus de conversion de l'énergie solaire en énergie chimique. Une valeur $\Delta G_0'$ de + 2870 kJ/mole est assignée à la réaction photosynthétique décrite par l'équation 1, l'apport énergétique nécessaire à la complétion de la réaction étant justement fourni par la lumière du soleil (Renger (1983)).

La simplicité de ces quelques considérations sur les réactifs et les produits du processus photosynthétique contraste avec la grande complexité des mécanismes mis en oeuvre pour réaliser la transformation décrite.

Au cours des ans, un grand nombre de chercheurs se sont consacrés à l'élucidation du processus photosynthétique. Ils furent d'abord contraint de l'étudier du strict point de vue cinétique parce qu'il était impossible d'isoler les constituants à partir desquels on pouvait, *in vivo*, régénérer l'activité photosynthétique. Cette restriction s'est graduellement atténuée suite aux travaux de Robert Hill en 1937. Dès lors, on a pu localiser le site de l'activité photosynthétique et établir la séquence des réactions chimiques et physiques, de même que la nature des molécules concourant à la réalisation de la photosynthèse.

Dans les plantes vertes, les chloroplastes constituent le siège de l'activité photosynthétique; organites hautement spécialisés, ils présentent les structures identifiées dans la figure 1. De celles-ci, deux nous intéressent plus particulièrement: les thylakoïdes et le stroma. Les thylakoïdes sont des membranes constituées d'un double feuillet de lipides, ces derniers étant principalement des galactolipides, des phosphatidylglycérols et des sulfolipides. D'autres molécules s'imbriquent dans cet assemblage de lipides et confèrent une fonction particulière à l'ensemble; ce sont les chlorophylles, les caroténoïdes, les plastoquinones, les cytochromes, les plastocyanines et divers polypeptides. Pour sa part, le stroma désigne le milieu aqueux dans lequel baignent les divers constituants du chloroplaste.

On peut précisément utiliser ces deux structures (thylakoïdes et stroma) pour classifier les réactions partielles conduisant à la réalisation de la transformation décrite par l'équation 1. Les réactions de la première classe se déroulent dans la membrane des thylakoïdes. C'est

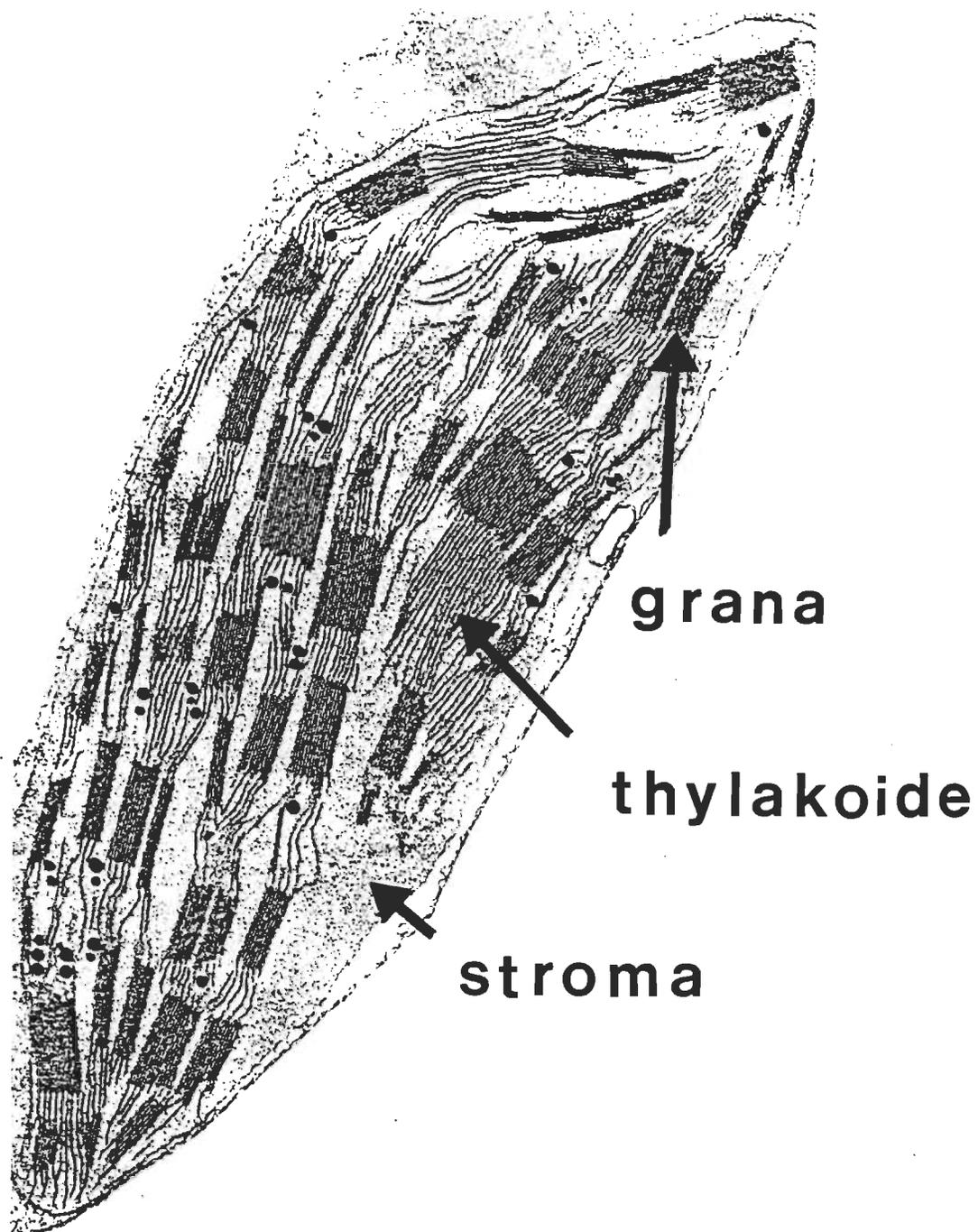


Figure 1. Coupe d'un chloroplaste (Goodenough et Levine (1970)).

à ce niveau que l'apport énergétique provenant de l'énergie lumineuse est requis pour produire de l'adénosine triphosphate (ATP) et de la ferrédoxine réduite. Ces deux molécules sont indispensables aux réactions de la seconde classe qui s'effectuent dans le stroma. Ces dernières achèvent la réduction enzymatique du CO_2 grâce à toute une série de réactions biochimiques ayant pour point de départ la réduction du nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADP^+) par la ferrédoxine.

Nous ne nous intéresserons qu'à la première classe de réactions, celles se déroulant dans la membrane des thylakoïdes et dont les produits (ferrédoxine réduite, ATP et O_2) illustrent la fonction de conversion et d'emmagasinage de l'énergie lumineuse par les plantes.

L'appareillage photosynthétique des plantes vertes est capable d'utiliser l'énergie lumineuse du soleil pour produire une molécule d'une grande capacité réductrice (ferrédoxine réduite, $E^\circ = -400 \text{ mV}$) à partir d'un composé abondant et commun, possédant un faible pouvoir réducteur (l'eau avec $E^\circ = +775 \text{ mV}$). De la même manière, cet appareillage achève la synthèse d'une substance hautement énergétique, l'ATP, qui fournira l'énergie indispensable à la réalisation de divers processus métaboliques. L'accomplissement de ces deux transformations (réduction de la ferrédoxine et synthèse de l'ATP) repose sur l'opération de la machinerie moléculaire implantée dans la membrane des thylakoïdes. Le fonctionnement de cette dernière est tributaire de l'énergie fournie par les photons absorbés par la plante, les produits à être synthétisés possédant une énergie libre plus élevée que les réactifs.

Le schéma de la figure 2 identifie les molécules prenant part aux processus siégeant dans la membrane des thylakoïdes et explicite les relations énergétiques qu'elles entretiennent les unes avec les autres. Il montre clairement que la photosynthèse est un processus de conversion et d'emmagasinage de l'énergie lumineuse, cette dernière étant recueillie par deux antennes collectrices et transférée aux centres réactionnels (P680 et P700) où elle est transformée en énergie chimique.

C'est en effet au niveau des centres réactionnels que l'énergie lumineuse, présente sous forme d'énergie d'excitation du P680 et du P700, permet la réduction de molécules possédant une valeur de potentiel d'oxydo-réduction inférieure à celle du réducteur non-excité. L'excitation électronique des centres réactionnels permet justement ce premier transfert d'électron en modifiant le potentiel d'oxydo-réduction des centres réactionnels. A strictement parler, on crée une nouvelle espèce moléculaire dont les propriétés sont totalement différentes de celles de l'espèce non-excitée. Par suite de ce transfert initial d'électron des centres réactionnels à leur premier accepteur, les réactions d'oxydo-réduction subséquentes sont thermodynamiquement possibles en l'absence de toute source d'énergie extérieure et ne requièrent aucun nouvel apport d'énergie lumineuse (voir le schéma de la figure 2).

Selon cette représentation, communément appelée "schéma en Z", les deux photosystèmes opèrent en série en participant à un transfert non-cyclique des électrons de la molécule d'eau à la ferrédoxine. Ce déplacement de charges contribue à l'établissement d'un potentiel électrochi-

mique au travers la membrane des thylakoïdes grâce à la capacité qu'ont certaines molécules de la chaîne de transport de s'associer des protons qu'elles soutirent du milieu liquide environnant et qu'elles relâchent à la face opposée de la membrane. Il s'établit ainsi une différence dans la concentration des protons de part et d'autre de la membrane. Selon l'hypothèse de Mitchell, cet état de fait, conjugué à la présence de certaines protéines membranaires (CF_0 et CF_1), serait suffisant pour produire de l'ATP.

Les molécules apparaissant dans le schéma en Z sont organisées en 3 complexes polypeptidiques incorporés dans la membrane des thylakoïdes et sont communément appelés photosystème II (PS II), cytochrome b-f et photosystème I (PS I). Le premier (PS II), sous irradiation, réduit la plastoquinone. Le second complexe conduit les réactions d'oxydo-réduction entre la plastoquinone réduite (PQH_2) et la plastocyanine tandis que le dernier (PS I) oxyde la plastocyanine et réduit la ferrédoxine qui, ultérieurement, cèdera cet électron au $NADP^+$.

La chlorophylle a (chl a) possède deux rôles particulièrement importants dans ce processus de conversion et d'emmagasinement de l'énergie lumineuse, d'abord au niveau de l'antenne collectrice où l'on retrouve la presque totalité de ces molécules, puis à celui du centre réactionnel. Bien que d'autres pigments s'intègrent à l'antenne collectrice (la nature de ces derniers varie selon l'organisme photosynthétique considéré), la participation de la chl a au processus d'absorption de l'énergie lumineuse n'a jamais été remise en question depuis l'émer-

gence du concept d'unité photosynthétique. D'autre part, des études en spectroscopie ultra-rapide ont permis d'identifier la nature des molécules constituant les centres réactionnels I et II, lieux où l'énergie d'excitation captée dans l'antenne réceptrice est finalement transférée et où s'effectue la séparation des charges qui effectivement fixe l'énergie contenue dans le photon absorbé. Ces molécules constitutives des centres réactionnels sont des chl a et, bien que la structure exacte de ces entités soit encore l'objet de spéculation, les modèles de structure dimérique (Katz (1979)) coexistant avec les modèles monomériques (Wasielwski et coll. (1981)), elles seraient liées aux polypeptides principaux constituant chacun des photosystèmes (Satoh et Mathis (1981)). Notre propos visant un but bien précis, nous concentrerons notre attention sur le photosystème II, plus particulièrement sur son centre réactionnel.

Le photon initialement absorbé par l'antenne collectrice du photosystème II est transféré, sous forme d'excitation électronique, au centre réactionnel du même photosystème (le P680). Une séparation de charges s'opère alors, le P680 est oxydé, l'électron libéré étant introduit dans la chaîne de transporteurs d'électrons. Le P680 oxydé retrouve son état initial grâce au réducteur Z (Boska et coll. (1983)) qui, par l'intermédiaire d'un enzyme capable d'oxyder l'eau, regagne l'électron précédemment cédé au P680.

Divers travaux expérimentaux ont permis d'établir la nature de la molécule identifiée par "Z" de même que celle de l'accepteur final de

l'électron dans le PS II. Ces travaux furent d'abord ceux de Stiehl et Witt (1969), puis ceux, plus récents, de Nugent et coll. (1981) et d'Okamura et coll. (1982). Ils permirent d'établir la présence d'une plastoquinone dans le complexe acceptant l'électron du P680. D'autre part, l'identité de la molécule Z, réducteur immédiat du P680 oxydé, a pu être apparentée à un composé de la classe des quinones. Sur la base du spectre EPR, O'Malley et Babcock (1983) ont suggéré la 2,5-diméthylhydroquinone tandis que Dekker et coll. (1983) et Diner et de Vitry (1983), en s'appuyant sur des mesures d'absorptivité, ont respectivement proposé la plastosemiquinone et la naphthosemiquinone.

Cette description de la photosynthèse (où l'on énumère les molécules et présente leur potentiel d'oxydo-réduction) n'est cependant pas suffisante. Comme souligné plus tôt, les diverses molécules participant au processus photosynthétique sont regroupées en 3 complexes protéiques incorporés dans la membrane des thylakoïdes. Il est très tôt apparu que l'organisation spatiale des diverses composantes de la chaîne de transport d'électrons était une donnée *sine qua non* du processus. L'information dont nous disposons sur les complexes protéiques des plantes vertes est restreinte. On ne connaît pas encore la composition en acides aminés et la structure tri-dimensionnelle de ces protéines (Codgell (1983)). Il en va autrement pour les bactéries photosynthétiques. On a en effet pu extraire et cristalliser les complexes protéine-bactériochlorophylle de ces dernières et obtenir une image de l'arrangement spatial des molécules attachées à la protéine (Boardman et coll. (1978)). Ce qui avait été longtemps pressenti se trouva confirmé. Les molécules

participant à la transformation de l'énergie lumineuse en énergie chimique entretiennent entre elles des orientations et des distances bien précises, chacune étant liée à un site spécifique de la protéine.

Bien que les considérations précédentes s'appliquent aux bactéries, diverses évidences expérimentales nous incitent à penser qu'il en est de même pour les plantes vertes, i.e. que les molécules attachées aux polypeptides occupent des positions particulières et maintiennent des orientations spécifiques. Satoh et Mathis (1981) ont montré que les molécules identifiées par Z, P680, et Q étaient liées au polypeptide central composant le PS II. De plus, le centre réactionnel (P680) et la molécule identifiée par Z (et reconnue comme étant un composé quinonique) sont orientés dans le photosystème II. Cette affirmation découle des conclusions avancées par Mathis et coll. (1976), suite à des mesures de dichroïsme linéaire effectuées sur le P680; ces auteurs rapportent un angle d'inclinaison plus petit que 20° pour le moment de transition Q_y (par rapport au plan de la membrane). Dans le même ordre d'idées, divers travaux ont mis en évidence l'orientation des quinones dans la membrane photosynthétique. D'abord ceux de Dismukes et coll. (1979) et de Hales et Das Gupta (1979a) sur les bactéries photosynthétiques et, plus près de nous, ceux sur les chloroplastes où la dépendance du signal EPR de la molécule Z sur l'orientation de l'échantillon est interprétée en invoquant une orientation spécifique de la quinone (la normale au plan de la quinone ferait un angle de 35 degrés avec le plan de la membrane (Hales et Das Gupta (1979))).

La conclusion de ces diverses observations s'impose d'elle-même; dans les plantes, la chl a du P680 et les quinones du photosystème II sont liées au segment principal de la protéine constituant le PS II, cette fixation des molécules créant du même coup une géométrie spécifique à l'ensemble.

Plusieurs chercheurs ont tenté de mettre en évidence l'importance de la distance et de l'orientation sur le transfert d'électron entre la chl a et une quinone. Une approche synthétique fut retenue pour cette démonstration et divers types de molécules furent synthétisées. On en trouvera un compte-rendu dans l'article de Ganesh (1984).

Nous avons également privilégié l'emploi d'un système modèle pour étudier les interactions entre la chlorophylle a et les quinones. Parce qu'il nous a semblé primordial de fournir une orientation particulière aux deux molécules afin de se rapprocher le plus possible de la situation *in vivo* et parce que la chl a et certaines quinones sont des molécules amphiphiles, notre choix s'est arrêté sur la technique des monocouches qui, depuis les premiers travaux d'Irving Langmuir, est reconnue pour orienter les molécules amphiphiles. Le contexte général englobant le présent travail étant défini, nous pouvons formuler explicitement le but de notre recherche.

1.2 But de la recherche

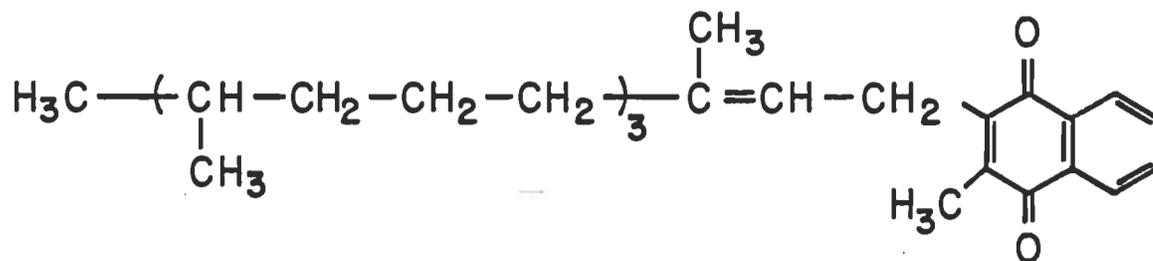
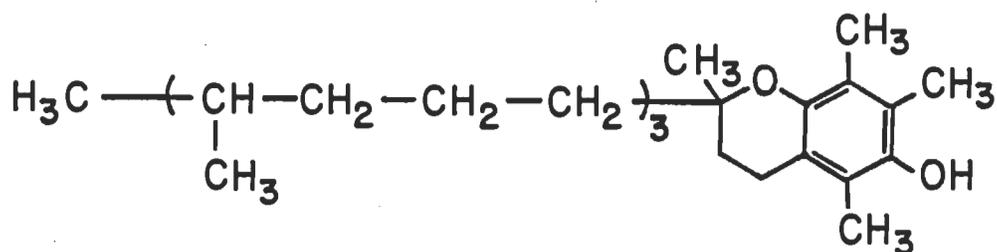
La discussion précédente a établi l'importance de la chlorophylle a et des quinones dans le processus de conversion et d'emmagasinage de l'énergie lumineuse par les plantes. Nous avons de plus montré que ces molécules étaient parties intégrantes de complexes protéiques, ce qui leur confèrent des orientations spécifiques.

Désireux de travailler en milieu organisé afin de nous rapprocher le plus possible des conditions *in vivo*, nous avons décidé d'utiliser la technique des monocouches pour simuler l'orientation relative des chlorophylles a et des quinones et étudier les interactions qu'elles présentent l'une pour l'autre. L'objet de notre recherche peut donc se formuler de la manière suivante: nous allons entreprendre une étude thermodynamique des films monomoléculaires mixtes chl a/quinone déposés à l'interface air-eau.

Notre choix des quinones à étudier fut guidé par plusieurs facteurs. Ces quinones devaient d'abord présenter un caractère amphiphile afin de pouvoir former une monocouche stable à l'interface air-eau. De plus, nous désirions étudier des quinones présentant des similitudes de structure moléculaire afin d'être à même de préciser l'importance de telle ou telle partie de la molécule lors de son interaction avec la chl a. Compte tenu de ces exigences, nous avons retenu les quinones suivantes: l' α -tocophérylquinone (α -TQ) et les plastoquinones 2, 3 et 9 (respectivement PQ 2, PQ 3 et PQ 9).

Comme il est possible de le constater grâce aux figures 3 et 4, ces quinones présentes, avec d'autres molécules comme la vitamine K₁, le phytol et l' α -tocophérol, des similitudes de structure intéressantes. Les plastoquinones 2, 3 et 9 possèdent toutes la même tête polaire et ne diffèrent entre elles que par la longueur de leur chaîne hydrocarbonée tandis que l' α -TQ, le phytol, la vitamine K₁, et l' α -tocophérol sont dotés de chaînes hydrocarbonées identiques et présentent des têtes polaires différentes.

Nous espérons que ce choix particulier de quinones à mélanger avec la chl a (figure 5) nous permettra d'établir des corrélations intéressantes entre la structure des molécules et leur interaction. Certains systèmes ayant déjà été étudiés, le présent travail de recherche portera exclusivement sur les mélanges chl a/PQ 2, chl a/PQ 3, chl a/PQ 9 et chl a/ α -TQ. Par contre, l'analyse des résultats sera conduite en utilisant les résultats obtenus par d'autres auteurs, notamment ceux concernant les systèmes chl a/phytol et chl a/vitamine K₁.

Vitamine K₁ α -Tocophérol (vitamine E)

Phytol

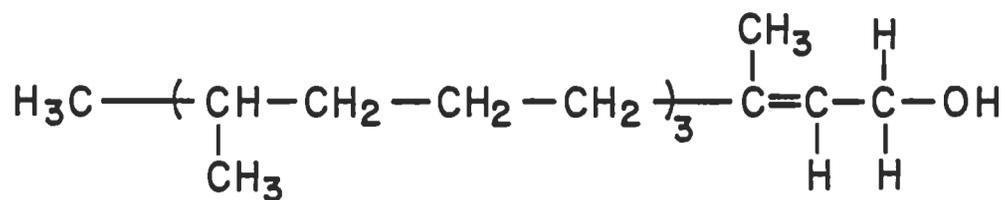
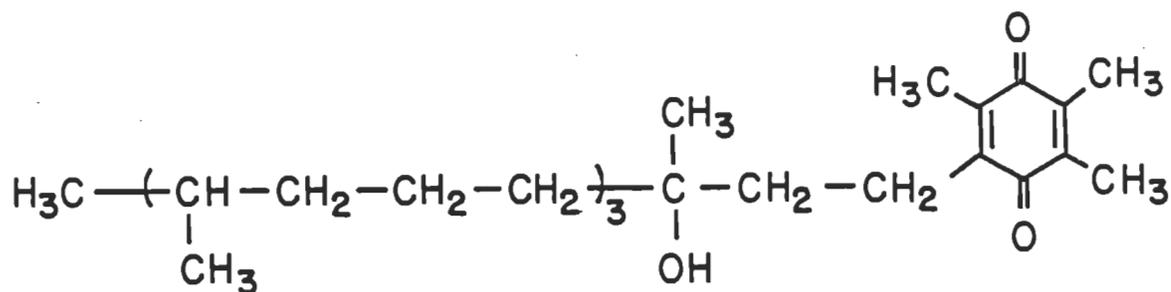
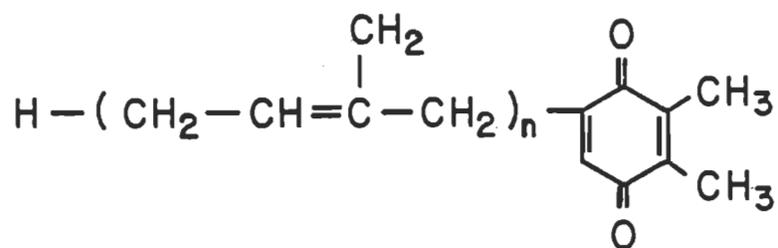


Figure 3. Structure moléculaire de la vitamine K₁, de l' α -tocophérol et du phytol.

α -Tocophérylquinone (α -TQ)



Plastoquinone



avec $n = 2, 3$ et 9

Figure 4. Structure moléculaire de l' α -tocophérylquinone et des plastoquinones 2,3 et 9.

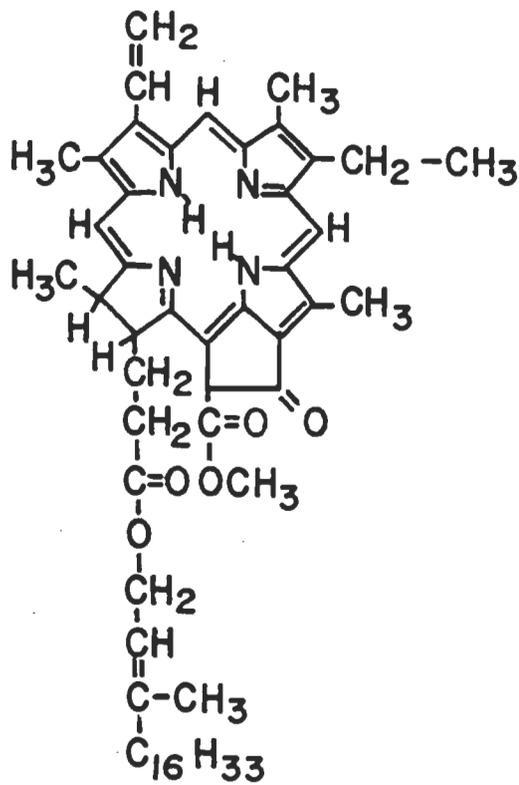
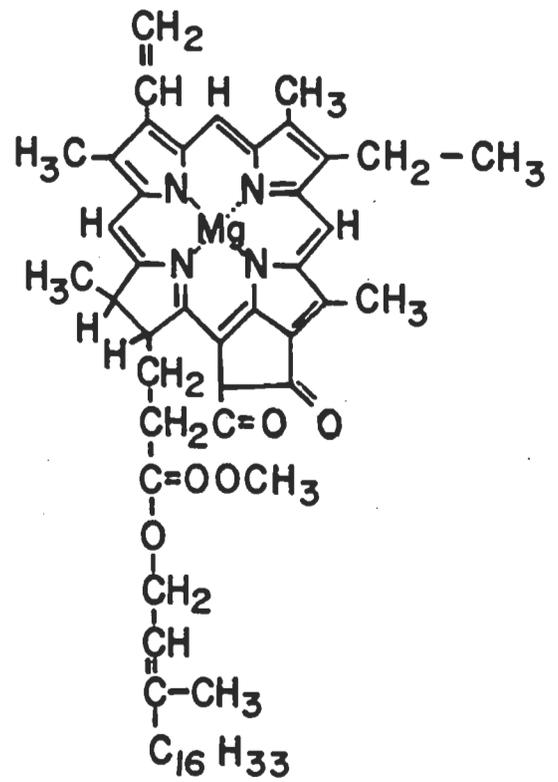
Phéophytine aChlorophylle a

Figure 5. Structure moléculaire de la chlorophylle a et de la phéophytine a.

CHAPITRE II

PURIFICATION

2.1 Nécessité de la purification

L'étude de films insolubles à l'interface air-eau pose des exigences très strictes sur la propreté du matériel utilisé et la pureté des molécules incorporées dans le film monomoléculaire (Gaines (1966), Fendler (1982)). Compte tenu de ces exigences et du caractère extrême d'un travail sur les films monomoléculaires, nous nous attarderons assez longuement à décrire les précautions prises pour garantir la propreté et la pureté de ces éléments.

2.2 Purification de l'eau

La technique de purification de l'eau utilisée fut initialement mise au point par Munger (1978) et Morin (1978). Elle procède en deux étapes; dans un premier temps, l'eau est filtrée dans un système millipore (modèle super Q, Millipore Co., Mississauga, Ontario) constitué de quatre filtres. Le premier élimine la matière organique, les deux suivants retiennent les ions, tandis que le dernier exclut les particules ayant un diamètre supérieur à 0.2 micron. Dans un second temps, cette eau filtrée est distillée deux fois dans un système en quartz (modèle Bi-18, Brinkmann Inst. Canada Ltd, Rexdale, Ontario), avant d'être fina-

lement entreposée dans des bouteilles de verre jusqu'à ce que sa température s'équilibre avec celle de la pièce. La résistivité spécifique d'une telle eau est supérieure à 18 megohms-cm et sa tension superficielle, mesurée par la méthode de l'anneau de Nott, est de l'ordre de 71 mN/m. Ces caractéristiques physiques satisfont nos conditions d'utilisation.

2.3 Purification des solvants et des sels de phosphate

Tous les solvants utilisés dans cette étude ont été distillés avant usage; benzène, chloroforme, éthanol et méthanol étaient tous de qualité spectroscopique (Fisher Co.). Ces distillations furent accomplies sur des colonnes Vigreux d'une hauteur de 45 cm. Seule la partie médiane du distillat fut conservée dans chaque cas. Les résultats des diverses expériences de contrôle montrent qu'une telle distillation est suffisante pour produire des solvants exempts de matières tensio-actives (voir à ce sujet l'article de Tancredi et coll. (1981)).

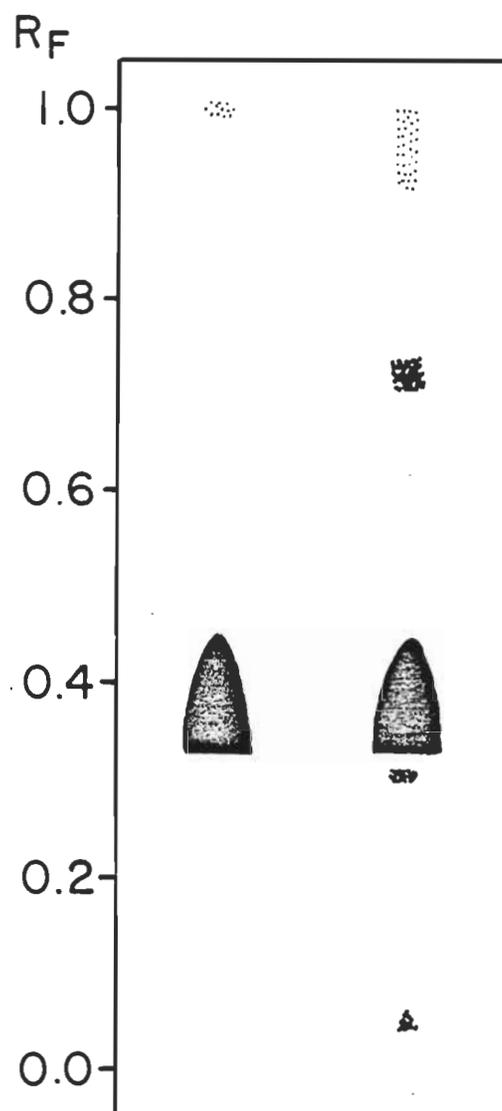
Par contre, les sels de phosphate (Na_2HPO_4 et NaH_2PO_4 ; J.T. Baker Chem. Co.) nécessaires à la réalisation de la solution tampon furent utilisés sans purification préalable, leur pureté ayant été jugée satisfaisante (voir la section 3.8).

2.4 Purification des molécules étudiées

Comme l'ont fait remarquer avant nous Gaines (1966) et Cadenhead et Phillips (1968), lorsqu'on désire étudier, à l'interface air-eau, les interactions entre deux molécules, il est de la plus haute importance de s'assurer que les échantillons soient composés exclusivement des deux molécules en question. Dans le cas d'un travail en monocouche, une telle exigence d'exclusivité, à cause de la possibilité toujours présente d'une contamination des échantillons par des molécules tensio-actives d'origine diverse, nécessite l'établissement d'un double critère de pureté.

Nos échantillons de quinones nous furent gracieusement fournis par la compagnie Hoffmann-La Roche (Basel, Switzerland). Il s'est avéré qu'ils ne présentaient pas une pureté satisfaisante (voir les figures 6, 7, 8 et 9); nous avons donc cherché à les purifier. En ce qui a trait à la chl a, des méthodes de purification adéquates furent antérieurement développées dans nos laboratoires et nous n'avons pas cherché à les modifier. Cet état de fait explique la grande importance attachée à la purification des quinones dans le présent mémoire.

Qui dit pureté dit critère de pureté, i.e. utilisation d'une technique physique particulière pour décider de l'état de pureté des échantillons. Comme mentionné ci-haut, deux critères de pureté ont été retenus: la chromatographie en couche mince (CCM) et l'expérience de contrôle.

α - Tocophérylquinone

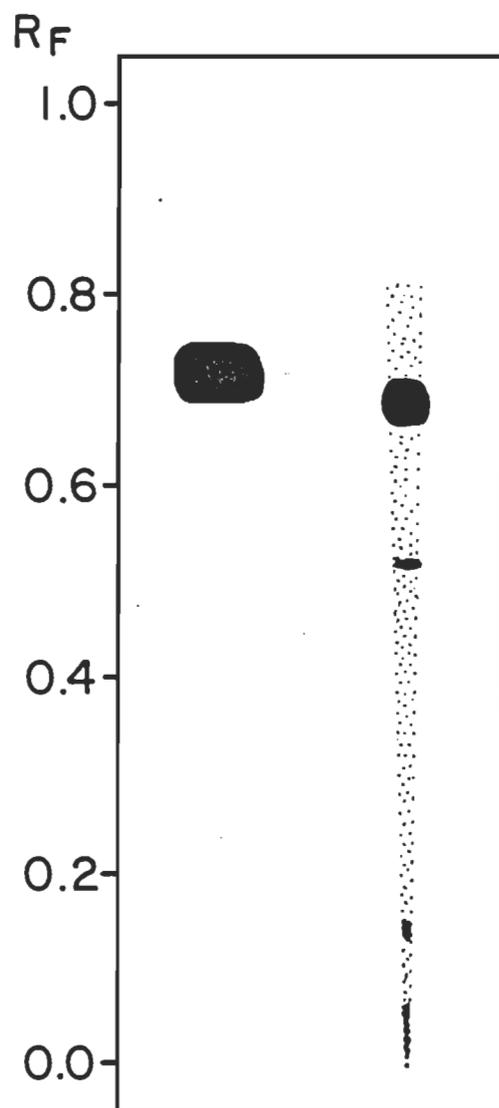
APRES PURIFICATION
 1.32×10^{17} molécules

AVANT PURIFICATION
 1.05×10^{17} molécules

Solvant migration $\text{CHCl}_3/\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (100:1, V/V)

Figure 6. Chromatogramme de l' α -tocophérylquinone.

Plastoquinone 2



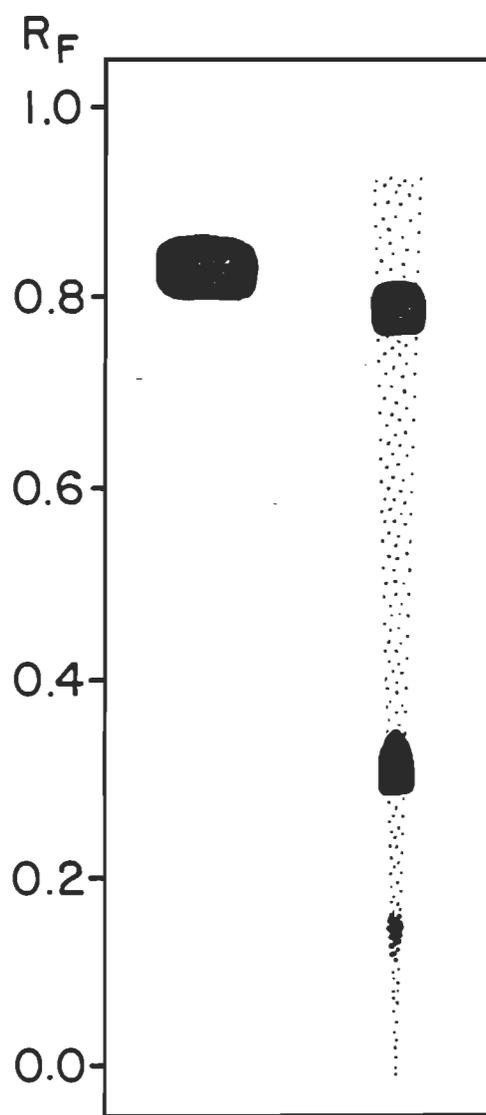
APRES PURIFICATION
 1.0×10^{17} molécules

AVANT PURIFICATION
 9×10^{16} molécules

Solvant migration CHCl_3

Figure 7. Chromatogramme de la plastoquinone 2.

Plastoquinone 3



APRES PURIFICATION
 5.7×10^{16} molécules

AVANT PURIFICATION
 7.7×10^{16} molécules

Solvant migration CHCl_3

Figure 8. Chromatogramme de la plastoquinone 3.

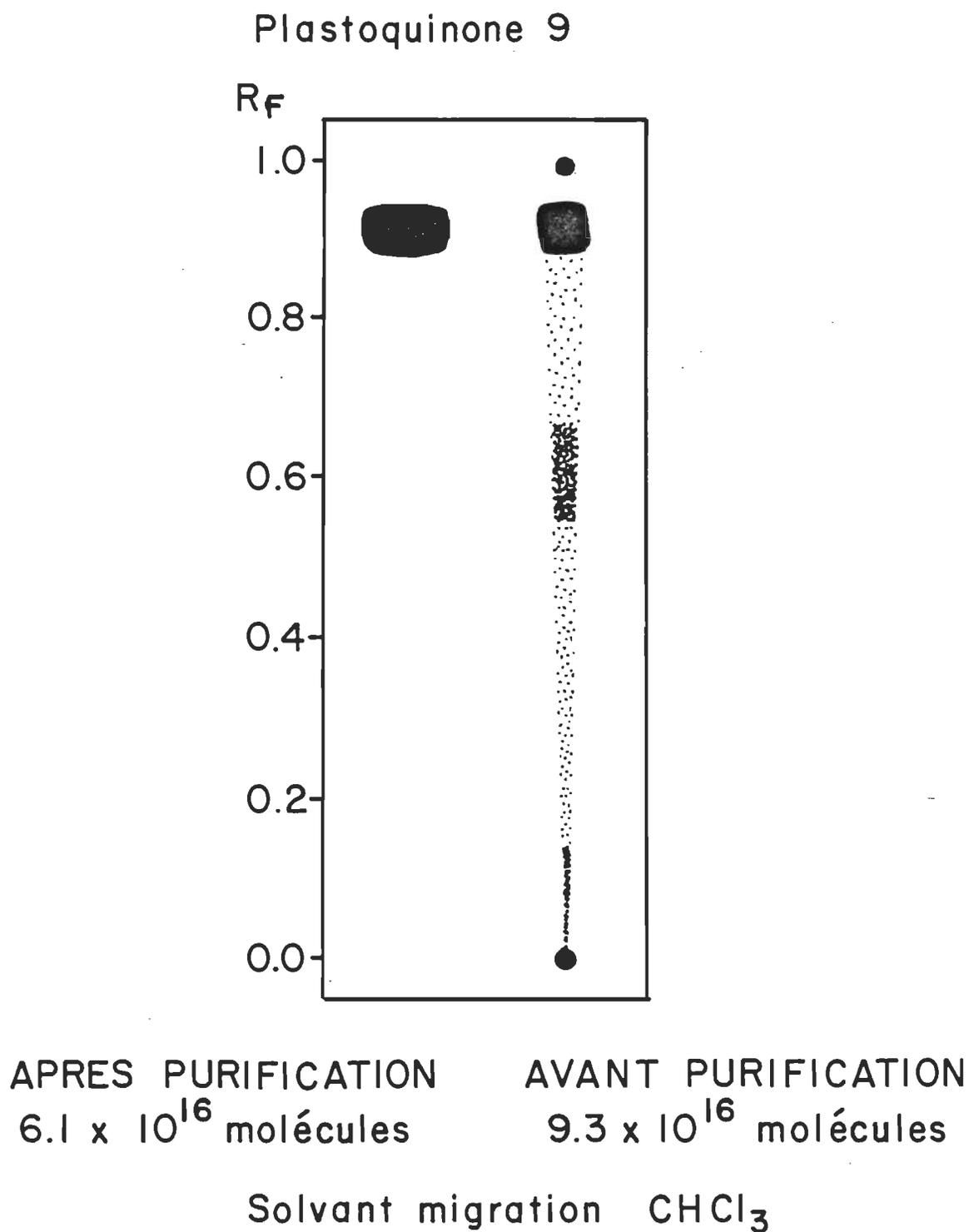


Figure 9. Chromatogramme de la plastoquinone 9.

2.4.1 Chromatographie en couche mince Nous n'avons pas la prétention de présenter un exposé détaillé de la technique de chromatographie en couche mince. Kirchner (1967) et Stahl et coll. (1969) s'y sont consacrés et nous nous contenterons d'exposer les éléments indispensables à la compréhension de cette technique.

Le principe de la chromatographie en couche mince est simple: sur une plaque de verre préalablement recouverte d'une mince couche d'un adsorbant (un gel de silice d'une épaisseur de 250 microns; Mendel Sc.), on dépose la solution d'intérêt (une quinone) solubilisée dans du benzène) au moyen d'une seringue (Pierce Co., Calif.). Après avoir évaporé le solvant sous un jet d'azote, on place la plaque de verre dans une cuve fermée (chambre à migration) contenant un solvant particulier (solvant de migration). Ce dernier mouillera graduellement l'adsorbant et, à son passage, les molécules précédemment déposées seront plus ou moins entraînées selon les affinités qu'elles présentent pour l'adsorbant et le solvant de migration. On peut donc ainsi séparer diverses molécules les unes des autres. Dès lors, notre critère de pureté peut s'exprimer comme suit: une molécule sera déclarée pure si elle ne présente qu'une seule tache, qu'un seul spot lors d'une analyse par chromatographie en couche mince.

La liste des solvants de migration utilisés pour vérifier l'état de pureté de chacune des quatre quinones est présentée dans le tableau 1. Il est à remarquer que ces solvants ne sont pas nécessairement identiques à ceux communément rencontrés dans la littérature. Ils ont

été choisis pour assurer une séparation optimale des molécules, afin de bien mettre en évidence leur état de pureté. On fera référence dans la section 2.8 à des solvants de migration qui permettront la comparaison avec ceux utilisés par d'autres auteurs.

TABLEAU 1

Liste des solvants de migration utilisés pour la purification des quinones

MOLÉCULE	SOLVANT	PROPORTION (v/v)
α -tocophérylquinone	CHCl ₃ /C ₂ H ₅ OH	100/1
plastoquinone 2	CHCl ₃	Pur
plastoquinone 3	CHCl ₃	Pur
plastoquinone 9	CHCl ₃	Pur

Tel que formulé précédemment, notre critère de pureté repose sur les propriétés optiques des molécules ("... ne présente qu'une seule tache..."). Les quinones ayant une couleur jaune, la présence d'une seule tache sur une CCM ne peut nous permettre de conclure à la pureté de notre échantillon, d'autres molécules pouvant être présentes tout en étant invisibles.

L'usage de la chromatographie en couche mince comme moyen de vérifier la pureté des composés ne va donc pas sans l'emploi d'un

révélateur adéquat. Les mécanismes d'action des révélateurs sont différents les uns des autres et il convient d'être prudent lorsqu'on doit en choisir un. On peut grossièrement les classer en deux catégories, selon leur spécificité. Pour les composés quinoniques, les révélateurs spécifiques s'avèrent effectifs (apparition d'une tache colorée) en raison d'une réaction d'oxydo-réduction s'établissant entre la partie cyclique du composé quinonique et une molécule déterminée de la solution révélatrice. Plusieurs solutions différentes ont été utilisées, comme en font foi les travaux de Dilley et Crane (1963) et Dilley (1964); on peut également consulter à ce sujet l'article de Bolliger et König (1969) pour une revue de ces divers révélateurs.

Désireux d'utiliser la chromatographie en couche mince comme critère de pureté, il nous est apparu trop restrictif d'user d'un révélateur spécifique pour déterminer l'état de pureté de nos échantillons. Nous avons préféré employer un révélateur non-spécifique, ne reposant pas sur une réaction d'oxydo-réduction et par le fait même apte à mettre en évidence un plus grand nombre d'espèces moléculaires différentes. Ce révélateur, une solution 5% d'acide sulfurique (Anachemia) que l'on vaporise sur les plaques de CCM avant de les déposer sur une plaque chauffante pour une durée de deux minutes, permet la carbonisation des molécules organiques qui deviennent dès lors facilement détectables en raison de la couleur noire qu'elles acquièrent. Cette façon de procéder a, sur l'emploi des révélateurs spécifiques, l'avantage de permettre la visualisation d'un nombre accru d'espèces moléculaires en ne faisant plus dépendre celle-ci d'une réaction d'oxydo-réduction à laquelle seuls

certains types bien particuliers de molécules peuvent prendre part. On confère ainsi une plus grande sensibilité à notre critère de pureté. Il nous est cependant impossible de quantifier le degré de pureté ainsi obtenu. Une telle quantification exigerait l'établissement d'une courbe de calibration où, par exemple, des mesures de densité optique seraient enregistrées en fonction d'une quantité déterminée de matière initialement présente, cette corrélation devant être établie pour chacun des spots. Bien qu'un tel travail soit effectivement possible (le travail de Bitman et Wood (1982) en constitue un exemple), il présuppose une connaissance de la nature des molécules constituant chacun des spots, connaissance que nous ne possédons pas. L'acquisition d'une telle information dépasserait le cadre que nous désirons donner au présent travail et nous avons choisi de nous en remettre à un critère moins quantitatif; nous comparerons les chromatogrammes des composés avant et après leur purification.

2.4.2 Expérience de contrôle Le critère de pureté basé sur les résultats de l'expérience de contrôle vise à nous renseigner sur la présence de matières tensio-actives autres que celle devant constituer l'objet de notre étude. Ces surfactants étrangers peuvent être recueillis en cours de manipulation (préparation des solutions, purification des composés) ou être tout simplement présents dans les solvants utilisés. Il est donc de toute première importance de s'assurer qu'ils sont absents.

L'expérience de contrôle se déroule comme suit: elle consiste à effectuer l'ensemble des manipulations normalement exécutées lorsqu'on désire réaliser une monocouche tout en omettant d'introduire la molécule étudiée. Si, comme il est supposé, seul ce composé est présent dans la monocouche lors de la réalisation de l'expérience, son absence devrait conduire à l'enregistrement de valeurs nulles pour la pression et le potentiel de surface. De tels résultats (absence de signal) lors de la réalisation des expériences de contrôle nous permettent de considérer qu'il n'y a, à l'interface, rien d'autre que la molécule que nous désirons étudier.

2.5 Purification des quinones

La technique retenue pour la purification des quinones s'inspire grandement des travaux faits par Tancredi et coll. (1981). Essentiellement, celle-ci consiste à faire migrer le composé à purifier sur une plaque de CCM en usant d'un solvant qui sépare bien les différentes molécules les unes des autres, à gratter la silice à l'endroit où se trouve la molécule que l'on désire purifier et à désorber cette dernière dans un solvant approprié. De manière plus détaillée, la méthode de purification est la suivante:

- 1) sur une plaque de CCM (plaque de verre de 5 par 20 cm) portant une mince couche de gel de silice (250 microns d'épaisseur), lavée de la manière prescrite dans la section 2.5.2, on dépose quatre

spots d'une solution benzénique de quinone (chaque spot contient environ 1×10^{17} molécules).

2) La plaque est placée dans une chambre à migration contenant un solvant approprié (voir le tableau 1). La migration s'effectue de bas en haut et on retire la plaque lorsque le front de solvant a parcouru une distance de 11.5 cm; elle est alors asséchée sous un jet d'azote.

3) On gratte l'endroit où la molécule d'intérêt s'est logée au moyen d'une spatule de métal, préalablement nettoyée au méthanol et à l'éthanol, et on recueille la silice dans un tube à centrifuger contenant déjà de 1 à 2 ml de CHCl_3 . L'endroit à gratter est facilement identifiable, les quinones ayant une coloration jaune.

4) On complète le volume de CHCl_3 à 9 ml et on centrifuge pendant 10 minutes à vitesse maximale (centrifugeuse de modèle clinique, IEC 428, Canlab).

5) La silice formant un culot, on recueille le surnageant au moyen d'une pipette Pasteur. Il est transféré dans un bécher, puis évaporé sous jet d'azote.

6) Après évaporation complète du chloroforme, on ajoute 200 l de benzène pour redissoudre la quinone. On recueille cette solution

dans une seringue afin de la peser sur l'électrobalance (Cahn, modèle RG 2000).

7) On ajuste le zéro de l'appareil, la cupule devant servir lors de la pesée étant sur le plateau gauche de la balance. On la retire et on y dépose la solution à peser, on évapore le benzène sous jet d'azote avant de placer la cupule sous vide pendant 30 minutes; le vide est obtenu au moyen d'une trompe à eau.

8) La cupule étant replacée sur le plateau de la balance, on enregistre la pesée.

Bien que les échantillons obtenus en appliquant cette méthode de purification soient chromatographiquement purs et que la procédure employée n'introduise pas de matières tensio-actives (ces deux affirmations seront ultérieurement étayées de résultats expérimentaux dans les sections 2.7 et 2.8), deux points méritent d'être soulevés. D'abord la pesée que l'on effectue à l'étape 8 pourrait perdre tout son sens s'il s'avérait que des traces de silice demeurent dans le surnageant recueilli à l'étape 5. Nous nous sommes donc assurés que cette éventualité devait être écartée et que seule la quinone se trouvait dans la cupule lors de la pesée; des expériences de contrôle à être décrites furent conduites à cet effet. De plus, nous avons vérifié (spectre d'absorption sous la forme oxydée et réduite, valeurs de R_f) que la molécule

recueillie à l'étape 3 était bel et bien celle nous intéressant. Les sections 2.7 et 2.8 contiennent les informations pertinentes à ces deux sujets.

2.5.1 Nettoyage de la verrerie La procédure suivante s'est avérée nécessaire et suffisante pour produire une verrerie exempte de matières tensio-actives, i.e. une verrerie qui, utilisée lors des expériences de contrôle, conduira à l'obtention de résultats satisfaisant nos exigences de pureté.

1) On laisse d'abord tremper la vaisselle pendant une heure dans une solution d'acide sulfurique concentrée à laquelle on a ajouté du No-Chromix (Godax Lab.).

2) La verrerie est rincée 6 fois à l'eau du robinet et est mise à tremper pendant 45 minutes dans une solution de NaOH, 0.01M.

3) On rince à nouveau de 10 à 12 fois à l'eau du robinet et on laisse tremper 30 minutes dans de l'eau filtrée, doublement distillée dans un système en quartz.

4) Les pièces de verre sont placées à l'étuve, à une température de 100°C, pendant 60 minutes.

2.5.2 Nettoyage des plaques Les plaques de CCM devant servir à la purification des quinones nécessitent un nettoyage particulier si

l'on désire éviter la contamination de nos échantillons par des matières tensio-actives que l'on pourrait autrement recueillir (en ne les nettoyant pas). Il s'est avéré nécessaire et suffisant d'utiliser la procédure suivante pour laver les plaques de CCM:

1) on place les plaques de CCM dans une chambre à migration contenant une solution d'eau et de méthanol (1:1, v/v), en ayant soin de fixer un papier Kimwipe dans la partie supérieure de la plaque. Maintenu à l'extérieur de la chambre à migration, celui-ci assure un écoulement constant du solvant vers l'extérieur, permettant ainsi un nettoyage efficace de la silice; la durée du nettoyage est de 2 jours.

2) La plaque ainsi lavée est mise à l'étuve (100-110°C) pendant 4 heures.

3) Les plaques sont de nouveau placées dans la chambre à migration qui contient cette fois-ci du chloroforme, solvant qui sera ultérieurement utilisé pour désorber la molécule de la sicile qu'on grattera. Cette opération est répétée deux fois encore, après avoir retiré les plaques de la chambre pour les assécher à l'air libre lorsque le front de solvant atteint le bord supérieur de la couche de silice.

4) Avant d'être utilisées aux fins de purification, les plaques sont remises à l'étuve (à 100°C) pendant 15 à 20 minutes.

2.6 Extraction et purification de la chlorophylle a et de la phéophytine a

Comme mentionné précédemment, nous n'avons pas cherché à modifier les techniques d'extraction et de purification de la chl a et de la phéo a développées dans nos laboratoires. Celles-ci furent développées et utilisées par M. Gaétan Munger pour préparer les échantillons ayant servi à divers travaux antérieurs; en particulier, on peut citer ceux de Dodelet et coll. (1981), Lawrence et coll. (1981), Clarke et coll. (1982), Tancredi et coll. (1982) et de Parent (1983). Nos échantillons de chl a et de phéo a nous ont d'ailleurs été fournis par M. Munger.

L'extraction et la purification de la chl a ont été réalisées selon les méthodes combinées d'Iriyama et coll. (1979), de Shiraki et coll. (1978) et d'Omata et coll. (1980). La pureté de la chl a ainsi obtenue est vérifiée par chromatographie en couche mince sur un gel de silice (type GF, 250 microns d'épaisseur). Dans un solvant d'élution composé d'hexane et d'acétone (7:1, v/v), la chl a fraîchement extraite présente trois taches; deux de celles-ci sont attribuables à la chl a et à la chl a', la dernière à la phéo a. La proportion de chl a présente dans le produit final est évaluée à plus de 99%.

La phéophytine a est préparée selon la méthode de Perkins et Roberts (1962). Après avoir dissous la chl a dans de l'éther de pétrole, on ajoute du HCl concentré à la solution (1:200, v/v) que l'on agite pendant deux minutes avant de laver abondamment avec un tampon phosphate

10^{-3} M, pH=8.0. Cette opération est recommencée jusqu'à ce que les analyses en CCM (gel de silice de type GF, 250 microns d'épaisseur) montrent la transformation complète de la chl a en phéo a.

2.7 Résultats des expériences de contrôle

Deux types d'expériences de contrôle furent réalisées afin de s'assurer de l'adéquation de notre méthode de purification. Les premières expériences ont montré que nos échantillons purifiés étaient exempts de matières tensio-actives étrangères alors que les secondes sont venues confirmer l'absence de silice dans le surnageant recueilli à l'étape 5 de la procédure de purification.

Afin de réaliser ces tests de contrôle, nous avons effectué l'ensemble des manipulations décrites dans la section 2.4 tout en omettant d'introduire la quinone à purifier.

2.7.1 Expérience de contrôle pour la pesée Trois tests indépendants furent réalisés. On donne dans le tableau 2 les résultats de ces trois expériences.

TABLEAU 2

Résultats des expériences de contrôle sur l'électrobalance

Test	Pesée (mg)
1	.004
2	.003
3	.003

Ces valeurs viennent confirmer la quantité négligeable de silice dans le surnageant recueilli à l'étape 5 de la procédure de purification et nous permettent d'affirmer que les masses enregistrées suite à l'introduction des quinones dans la procédure ne seront pas dues à la présence d'un quelconque corps étranger, mais bien à celle du produit purifié. Cette dernière affirmation recevra une confirmation supplémentaire dans la section où l'on présentera les résultats du système chl α/α -TQ.

2.7.2 Expérience de contrôle à l'interface air-eau Suite à chacun des trois tests précédents, 500 μ l de benzène furent ajoutés afin de solubiliser les matières tensio-actives qui auraient pu être présentes dans la cupule. Déposées à l'interface air-eau, ces solutions ont dans les trois cas donné la même réponse: la pression de surface fut de .36 mN/m lorsque la barrière mobile était à 1.6 cm du flotteur. Le dépôt de 500 μ l de benzène à l'interface air-eau donnant le même signal, nous

pouvons conclure que notre procédure de purification n'introduit pas de matières tensio-actives dans nos échantillons.

Ces deux séries d'expériences de contrôle viennent donc confirmer l'adéquation de notre procédure de purification et sa capacité à nous fournir des échantillons de quinones exempts de matières tensio-actives, dont les masses sont représentatives des quantités de quinones présentes dans l'échantillon.

2.8 Résultats de la purification

Les schémas des figures 6, 7, 8 et 9 nous permettent de comparer les divers échantillons de quinones avant et après purification. Ces chromatogrammes furent obtenus en déposant un nombre élevé de molécules (entre 3 et 5 fois plus que le nombre utilisé lors de la réalisation des monocouches, qui est de l'ordre de 2 à 3 X 10¹⁶ molécules). Bien qu'il nous soit impossible de quantifier la pureté obtenue, la comparaison des chromatogrammes montre qu'il est possible d'obtenir des échantillons de quinones présentant un haut degré de pureté.

2.8.1 Identification des molécules Avant de clore définitivement cette section, mentionnons que nous nous sommes attardés à vérifier l'identité des molécules purifiées.

Kirchner (1967) présente des valeurs de R_f de .89 et .26 pour la plastoquinone 9 et l' α -tocophérylquinone chromatographiées sur des pla-

ques de silice et développées avec du chloroforme, tandis que Crane et coll. (1966) publiaient des valeurs de .87 et .3 pour les mêmes systèmes. Nous avons obtenu des valeurs respectives de .90 et .29 pour ces systèmes. Il nous fut cependant impossible de trouver dans la littérature des valeurs de R_f nous permettant de comparer les résultats obtenus avec la PQ 2 et la PQ 3 (respectivement .72 et .83). Nous avons également comparé les spectres d'absorption des molécules purifiées avec ceux disponibles dans la littérature (Lichtenthaler (1977)). Après avoir purifié chacune des quinones, nous avons ajouté de l'éthanol pour solubiliser la molécule plutôt que le benzène normalement utilisé pour la réalisation des monocouches. Les spectres de la PQ 9 et de l' α -TQ correspondent, tant sous leur forme oxydée que sous leur forme réduite, à ceux publiés par Lichtenthaler (1977). Les spectres de la PQ 2 et de la PQ 3 sont également caractéristiques des quinones; nous ne disposons cependant d'aucune référence permettant la comparaison.

Nous pouvons donc clore ce chapitre avec la certitude d'avoir maîtrisé une technique de purification des quinones efficace. La technique retenue s'est également avérée remplir les exigences très strictes d'un travail en monocouche, n'introduisant aucun artefact expérimental. Avant de présenter les résultats effectivement obtenus avec les molécules ainsi purifiées, nous allons nous attarder quelque peu à décrire notre montage expérimental de même que notre façon d'opérer.

CHAPITRE III

LES MONOCOUCHE3.1 Préambule

Depuis les premiers travaux d'Irving Langmuir, un très grand nombre de molécules ont été étudiées sous forme de film déposé à l'interface air-eau (on trouvera un aperçu de ces études dans l'excellente monographie de G.L. Gaines (1966)). Un examen de la structure des molécules sous étude (voir les figures 3, 4 et 5) montre qu'elles possèdent un double caractère. Une partie de ces molécules est hydrophile (tête polaire) tandis que l'autre est hydrophobe (chaîne hydrocarbonée): ce sont des molécules amphiphiles. Déposées à l'interface air-eau, de telles molécules forment une monocouche insoluble dont il est possible de caractériser les propriétés mécaniques (pression de surface) et électriques (potentiel de surface).

3.2 Pression de surface

Tout liquide possède une tension superficielle (γ_0) qui le caractérise; en particulier, l'eau a une tension superficielle de 72.88 mN/m à 20°C (Adamson (1976)). Le dépôt de matières insolubles à l'interface air-eau modifie la tension superficielle de l'eau. Le système de mesure initialement développé par Langmuir permet de mesurer la différence

de tension superficielle entre une étendue d'eau propre (exempte de toutes molécules surfactantes) et une autre où l'on dépose les molécules étudiées. Cette différence de tension superficielle entre les deux étendues d'eau est à l'origine de la force mesurée par le système de Langmuir et enregistrée grâce au déplacement d'un flotteur relié à un fil de torsion.

$$\pi = \gamma_0 - \gamma$$

où π est la pression de surface, γ_0 , la tension superficielle de l'eau pure et γ la tension superficielle de l'étendue d'eau à la surface de laquelle on a déposé le film monomoléculaire; chacun de ces termes a les unités de mN/m.

En variant mécaniquement l'aire occupée par le film (au moyen d'une barrière mobile), on enregistrera les variations de la force exercée sur le flotteur, i.e. les variations de pression de surface en fonction de la concentration moléculaire (à l'interface).

3.3 Potentiel de surface

Près de la surface de l'eau, et en raison même du changement de milieu (passage de la phase aqueuse à une phase gazeuse), il existe un champ électrique que l'on peut caractériser grâce à une mesure de différence de potentiel. Suite au dépôt d'un film à l'interface air-eau, cette différence de potentiel (et partant ce champ électrique) est modi-

fiée en raison de la présence d'une nouvelle espèce moléculaire et du réarrangement que subissent les molécules de la sous-phase. Mesurés en fonction de la concentration moléculaire, ces potentiels de surface caractérisent les molécules du film monomoléculaire.

3.4 Description de l'appareillage

Avant de nous attacher à décrire spécifiquement les techniques de mesure des pressions et des potentiels de surface, nous désirons introduire les diverses composantes de notre montage expérimental. On trouvera dans la figure 10 une représentation schématique de celui-ci.

3.4.1 Bain Le bain de monocouche est fabriqué de plaques de verre maintenues ensemble par une colle à base de silicone. Les plaques de verre ont une épaisseur de 5 mm et le tout a les dimensions intérieures suivantes: 33.0 cm de long, 14.7 cm de large et 2.0 cm de profondeur. Entièrement recouvert d'une feuille de Teflon interchangeable (Fluorocarbon Dielectric Division, Lockport NY), sa surface interne et ses parois sont hydrophobes et peuvent être facilement nettoyées en utilisant la procédure décrite dans la section 2.5.1. Cette opération de nettoyage fut d'ailleurs conduite régulièrement afin de prévenir toute contamination de la sous-phase.

3.4.2 Barrière mobile La barrière mobile est constituée d'une pièce de laiton (0.5 x 1.0 x 17.0 cm) recouverte d'une feuille de Teflon. Le poids de cette pièce assure un bon contact entre la barrière

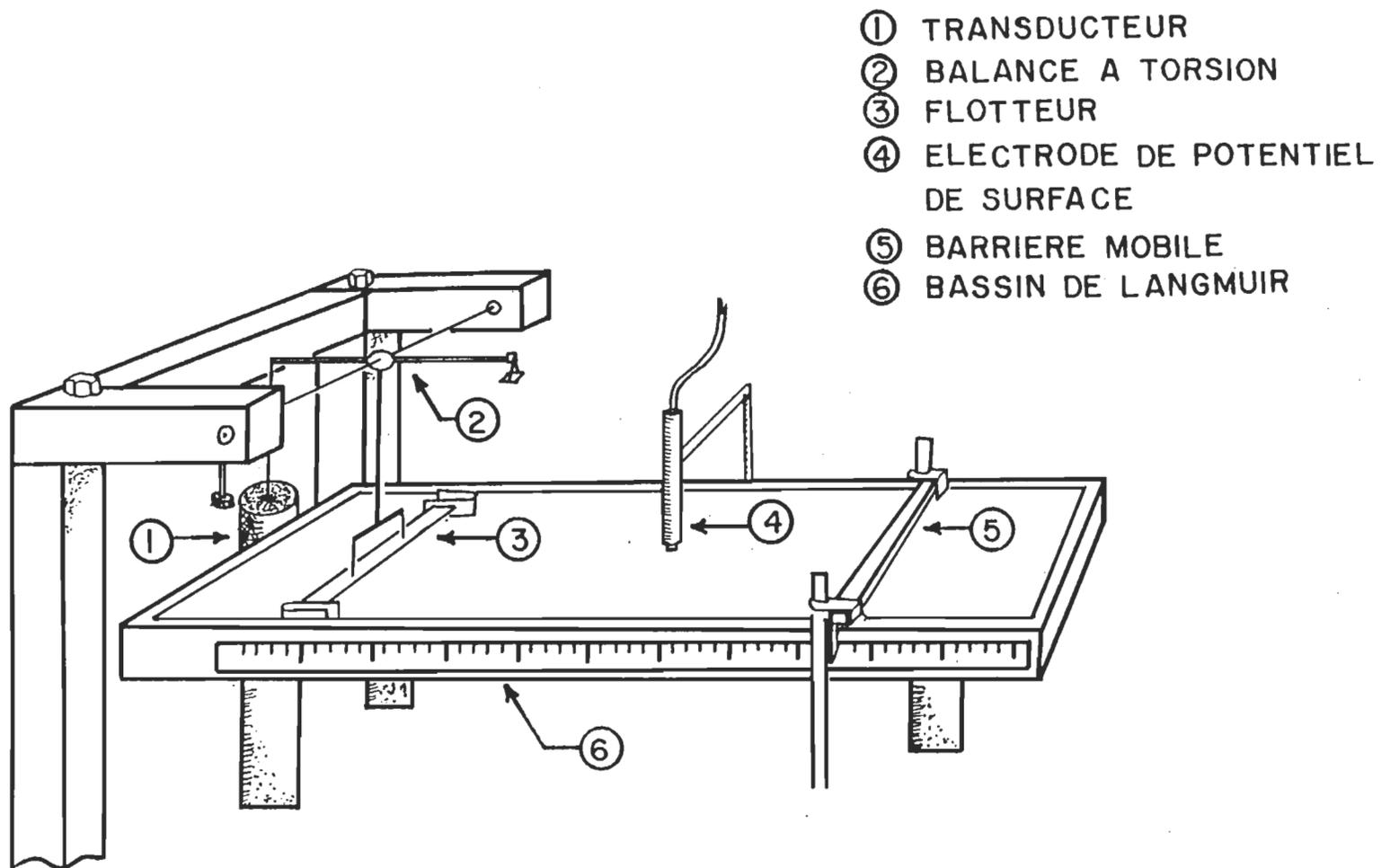


Figure 10. Représentation schématique de l'appareillage utilisé pour l'étude des films monomoléculaires à l'interface air-eau.

et les rebords du bain sur lesquels elle repose, prévenant ainsi toute fuite de matériel hors de la surface occupée par le film. La barrière est reliée à une vis sans fin située sous le bain; elle est mue par un moteur électrique que l'on a suspendu au plafond afin d'éviter que les vibrations ne perturbent la surface de l'eau. L'une des deux pièces de métal reliant la barrière mobile à la vis sans fin est munie d'un pointeur permettant une lecture aisée de la position de la barrière.

3.4.3 Règle graduée La règle graduée est maintenue rigidement en place, parallèlement au bain. Elle est ajustée de telle sorte que son zéro coïncide avec le bord du flotteur du côté de la barrière mobile. Cet ajustement s'effectue en présence de la sous-phase, la partie supérieure du ménisque excédant de 1 mm le rebord du bain (ces conditions correspondent à celles prévalant lors de la réalisation des isothermes).

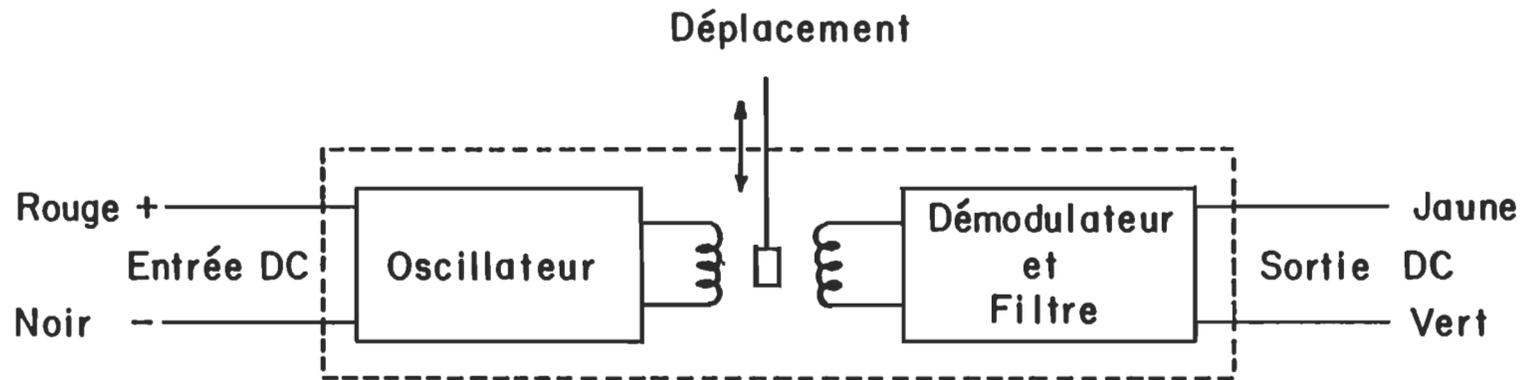
3.4.4 Flotteur Le flotteur est de mica (12.7 x .6 cm). Il est percé de deux petits trous (1mm de diamètre) qui recevront les deux dents de la fourchette terminant la partie verticale du balancier. Ce flotteur est relié aux parois du bain par de minces feuilles de Teflon (.075 x 1 x 5 cm; Fluorocarbon Dielectric Division, Lockport NY), maintenues en place par de la cire. On impose une forme en demi-cercle aux feuilles de Teflon afin de permettre un libre mouvement du flotteur lors de son déplacement.

3.4.5 Balancier Le balancier est constitué de tiges de métal soudées les unes aux autres. Il a la forme représentée dans la figure 10 et est fixé sur le fil de torsion au moyen d'une vis. Son extrémité verticale est terminée par une fourchette qui s'introduit dans le flotteur: le mouvement de ce dernier est donc communiqué à l'ensemble du balancier. Des deux extrémités terminant le bras horizontal, l'une porte un plateau sur lequel on dépose les poids servant à calibrer l'appareil de mesure tandis que l'autre sert de point de fixation pour le fil de nylon attaché à la barre de métal se déplaçant dans le transducteur magnétique linéaire.

3.4.6 Transducteur magnétique linéaire Le schéma de la figure 11 décrit le principe de fonctionnement du transducteur magnétique linéaire (Hewlett Packard, Québec). La barre métallique se déplaçant dans l'espace central du transducteur crée une différence de potentiel que l'on enregistre au moyen d'un multimètre. La position de la barre étant directement reliée à la tension lue aux bornes du transducteur, on peut grâce à un tel système connaître le déplacement du flotteur. Une courbe de calibration nous renseignera sur les valeurs de pression de surface associées à de tels déplacements.

3.5 Mesure de la pression de surface

Comme mentionné dans une section précédente, la différence de tension superficielle entre les liquides des deux côtés du flotteur est



Modèle : 7 DCDT - 050
 Voltage d'entrée : 6 volts DC
 Déplacement maximal : $\pm .05$ pouce
 Linéarité = ± 0.5 % pleine échelle

Figure 11. Représentation schématique du transducteur magnétique linéaire.

responsable de la force causant le déplacement de ce dernier. Le transducteur magnétique linéaire permet d'enregistrer l'amplitude de ce déplacement que l'on relie, au moyen d'une courbe de calibration, à la force s'exerçant sur le flotteur. La force de rappel est fournie par le fil de torsion sur lequel est fixé le balancier. Gaines (1966) traite de la calibration et montre que la sensibilité de l'appareil de mesure est donnée par l'expression

$$S = \frac{m \cdot g \cdot L_h}{L_v \cdot L_e}$$

où m est la pente de la courbe de calibration, obtenue en déposant des masses variables sur le plateau du bras horizontal du balancier et en mesurant la tension développée aux bornes du transducteur magnétique linéaire; g est l'accélération due à la pesanteur (9.8 m/sec^2); L_h est la longueur du bras horizontal du balancier, i.e. la distance comprise entre le point d'attache du plateau où l'on dépose les masses et le point d'attache du balancier sur le fil de torsion; L_v est la longueur du bras vertical, i.e. la distance entre la surface du film et le fil de torsion et L_e la longueur effective du flotteur, i.e. la longueur réelle du flotteur + 1/2 (largeur du bain - longueur du flotteur). Dans nos conditions expérimentales, la sensibilité de notre appareil est de l'ordre de 12 mN/m.V .

3.5.1 Facteur de correction L'utilisation du transducteur magnétique linéaire pour mesurer la pression de surface nous oblige à prendre en considération le fait que le flotteur, qui en début de compression est situé au zéro de l'échelle graduée, se voit progressivement déplacé de cette position, modifiant ainsi la longueur de la surface occupée par le film. Celle-ci n'est plus simplement la longueur lue sur l'échelle graduée, à l'extrémité où se trouve la barrière mobile, mais bien cette dernière plus un certain facteur de correction pour prendre en compte le déplacement du flotteur. La longueur du film se trouve être modifiée par les deux extrémités.

Nous avons pris en considération ce facteur de correction à apporter aux lectures en reliant la tension développée aux bornes du transducteur au déplacement du flotteur la causant. Mesuré dans la plan contenant l'interface air-eau, ce déplacement du flotteur correspond à la modification à apporter à la longueur du film lue sur la règle graduée. En reliant cette modification au voltage développé par le transducteur, on peut facilement en tenir compte lors de la compilation des courbes de pression et de potentiel de surface par un traitement mathématique simple. Le graphique "Déplacement du flotteur = f(tension développée aux bornes du transducteur)" est une droite de pente .13 cm/V (ce graphique n'est pas présenté dans le présent texte).

L'aire moléculaire présentée dans nos graphiques est donc obtenue par la formule suivante:

$$A = \frac{l(L + .13T)}{n}$$

où A est l'aire moléculaire; n, le nombre de molécules déposées à l'interface; l, la largeur du bain (14.7 cm); L, la longueur du film, lue sur l'échelle graduée et T, la tension développée aux bornes du transducteur.

3.6 Mesure du potentiel de surface

Le potentiel de surface fut mesuré au moyen d'une électrode radioactive. Une source radioactive (Américium 241, 20 μ C; Nuclear radiation Devel Inc., Grand Island NY) ionise l'air au-dessus de la surface de l'eau et permet la mesure de la différence de potentiel entre deux électrode, l'une de platine, plongée dans la sous-phase, à l'arrière du flotteur, l'autre montée avec la source radioactive sur une tige de métal facilement amovible.

Lors de la prise de mesure, l'électrode radioactive est située à une distance de 3 mm de la surface de sous-phase. Entre les expériences, l'électrode est maintenue au-dessus d'un béccher rempli d'eau; ces conditions de fonctionnement assurent une grande reproductibilité des résultats. Le schéma de la figure 12 reproduit le système de mesure permettant la lecture des potentiels de surface.

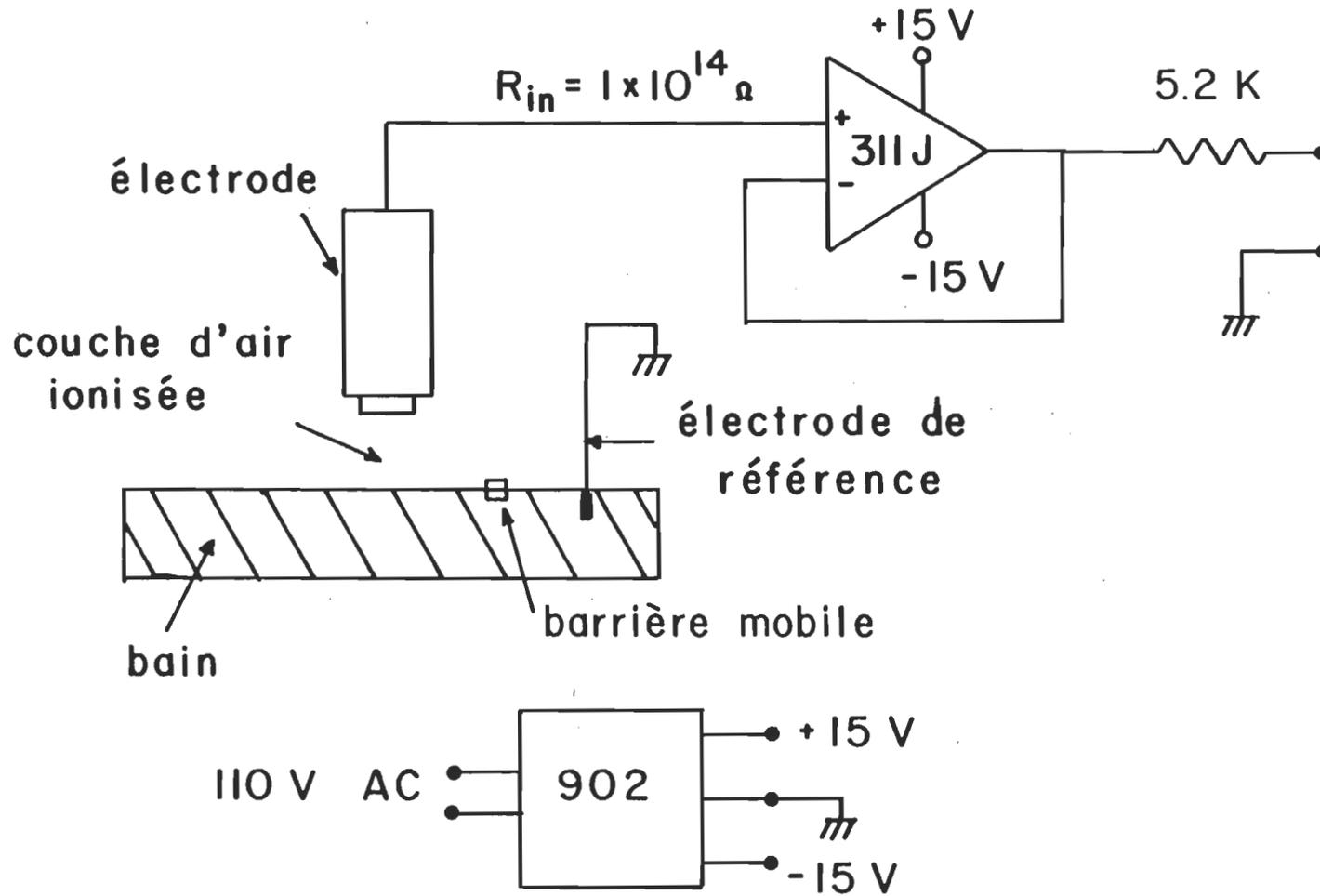


Figure 12. Représentation schématique du système de mesure des potentiels de surface.

3.7 Réalisation des monocouches

Toutes les mesures expérimentales furent réalisées en utilisant un tampon phosphate (10^{-3} M, pH=7.8) comme sous-phase. L'eau utilisée fut purifiée de la manière décrite dans la section 2.2.

Avant le dépôt d'un film monomoléculaire, une période d'attente de 15 minutes fut respectée suite à l'ajout de la solution tampon dans le bain: la partie supérieure de la surface de l'eau excède alors d'environ 1 cm le bord du bain.

Ce laps de temps écoulé, la surface de la phase aqueuse est aspirée au moyen d'une pipette Pasteur reliée à un système de succion (trompe à vide); en usant d'un jeu de barrières mobiles, la surface est rigoureusement nettoyée. Cette opération est répétée jusqu'à propreté complète. Le niveau d'eau est ajusté au moyen du système de succion (1 mm au dessus du bord du bain); c'est donc dire que la dernière opération effectuée avant le dépôt du film est le nettoyage de la surface de la sous-phase aqueuse.

Les résultats des expériences de contrôle (nettoyage de la surface tel que décrit ci-haut, attente de 15 minutes, compression jusqu'à ce que la barrière mobile soit distante de 1.6 cm du flotteur) ont montré qu'une telle façon de procéder était adéquate (absence de tout signal de pression de surface). Ce faisant, notre procédure de nettoyage, la pureté de l'air en contact avec la monocouche et l'absence de matières

tensio-actives dans notre eau et les sels utilisés se trouvent vérifiés.

Tous les films monomoléculaires furent formés à partir d'une solution benzénique de la molécule étudiée (à moins d'avis contraire). Entre 80 et 100 μ l de la solution furent déposés à l'interface en usant d'une micro-seringue (Pierce Chemical Co., Calif.). Notre bain étant enfermé dans une cage en Plexiglas que l'on clôt immédiatement après le nettoyage de la surface, ce dépôt s'effectue par des trous percés dans le couvercle de la cage. La solution est déposée goutte à goutte, la pointe de la seringue à 1 ou 2 mm au-dessus de la surface de l'eau, un laps de temps de quelques secondes séparant le dépôt des gouttes afin de permettre au benzène de s'évaporer.

Deux thermomètres servent à nous indiquer la température; l'un est placé dans la sous-phase, l'autre dans la pièce près du bain. Une température de l'ordre de $18 \pm 3^\circ\text{C}$ a prévalu lors de la réalisation de l'ensemble de nos expériences.

La compression du film monomoléculaire s'effectue à vitesse constante; le taux de réduction de l'aire moléculaire moyen fut de l'ordre de $7 \text{ \AA}^2/\text{molécule min.}$ Le film monomoléculaire est retiré de la surface immédiatement après la réalisation de la monocouche (au moyen du système à succion). Cette opération est effectuée avec beaucoup de soins afin de prévenir la contamination des films subséquents par des molécules demeurant à la surface; l'identité entre les isothermes de pression de surface au début et à la fin de la journée (différence plus

petite que 2 \AA^2 par molécule) indique l'adéquation de notre technique de prélèvement. L'élimination du film monomoléculaire effectuée, nous pouvons répéter la procédure et réaliser une autre isotherme.

Toutes les mesures furent effectuées sous un faible éclairage de lumière verte. La très grande majorité des manipulations furent exécutées avec les mains de l'expérimentateur recouvertes de gants, ceci afin de minimiser toute contamination du matériel par les graisses présentes sur la peau.

3.8 Préparation des échantillons

Les solutions mixtes furent préparées à partir de deux solutions pures de quinones et de chl a. Les solutions furent conservées dans de petites fioles (3 ml, Pierce Chemical Co, Calif.) fermées d'un bouchon muni d'un robinet (Pierce Chemical Co., Calif.) permettant l'introduction d'une seringue; un tel système minimise les variations de concentration dues à l'évaporation du solvant.

L'analyse des résultats prendra appui sur les différences d'aire moléculaire entre les films mixtes et certaines valeurs calculées. Étant donné que nous considérerons ces différences d'aire moléculaire comme caractéristiques des molécules composant le film mixte, nous avons jugé important de vérifier l'adéquation de notre façon de faire les solutions.

Pour ce faire, nous avons étudié le système chl a/phéo a; des études non-publiées réalisées dans nos laboratoires ont montré que ce système obéissait à la loi d'additivité; nous avons voulu mettre à l'épreuve notre façon de procéder en reproduisant ces résultats. Étudiées à trois fractions molaires (0.25, 0.50 et 0.75) et à quatre pressions de surface différentes (4, 8, 12 et 16 mN/m), les aires moléculaires des films mixtes respectent la loi d'additivité, confirmant ainsi la validité de notre façon de réaliser les solutions mixtes.

CHAPITRE IV

RÉSULTATS4.1 Préambule

Nous avons jusqu'à présent discuté des diverses facettes de la technique des monocouches et de l'ensemble des précautions prises lors de la réalisation des expériences. Nous pouvons donc aborder le chapitre suivant, dans lequel nous présenterons nos résultats expérimentaux.

4.2 Système chl a/ α -tocophérylquinone

Le graphique de la figure 13 montre les isothermes de pression de surface de deux quinones; le tracé a correspond à l'isotherme de pression de surface de l' α -TQ purifiée, alors que le tracé b représente l'isotherme de pression de surface de la même molécule non-purifiée, i.e. utilisée telle que fournie par la compagnie Hoffman-La Roche.

La courbe a (α -TQ purifiée) est la moyenne des isothermes de pression de surface réalisées en employant quatre solutions différentes de quinone, i.e. quatre purifications indépendantes de la même molécule (deux ou trois isothermes furent réalisées à partir de chacune de ces solutions). L'écart maximal entre une quelconque isotherme et la courbe moyenne est de 3 \AA^2 par molécule. Pour une même solution (une même

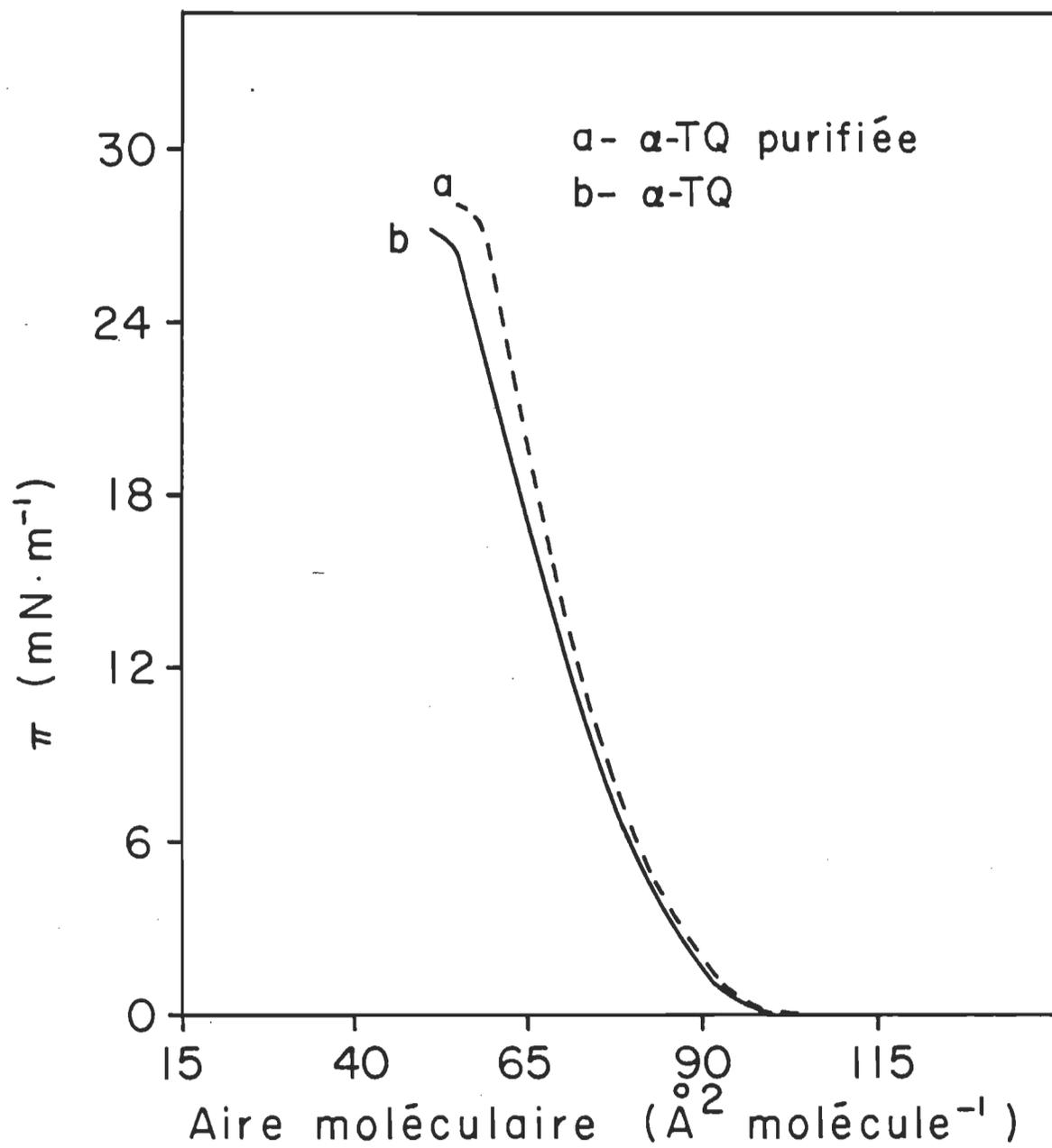


Figure 13. Isothermes de pression de surface de l' α -tocophérylquinone avant et après purification.

purification), les diverses isothermes réalisées se chevauchent (écart plus petit que 1 A^2 par molécule). La dispersion précédemment notée est donc causée par la purification elle-même. Cependant, cette dispersion minime est considérée acceptable.

Les deux isothermes sont très similaires, coïncidant même aux faibles pressions de surface et s'écartant graduellement l'une de l'autre au fur et à mesure que la pression de surface croît (la différence est de 4.5 A^2 par molécule à $\pi = 24 \text{ mN/m}$). On note également une légère différence dans la pression au collapse, de l'ordre de 1 mN/m (la pression de surface au collapse est ici définie comme étant la valeur de pression de surface à laquelle la pente du graphique $\pi = f(\text{aire moléculaire})$ est minimale et où $\pi \neq 0$). L'isotherme de l' α -TQ purifiée présente une pression au collapse de 27.2 mN/m .

La grande similitude de ces deux isothermes de pression de surface reflète la pureté initiale de l' α -TQ. Cette affirmation est appuyée par l'allure du chromatogramme de la figure 6. Il montre en effet que notre échantillon de départ est relativement pur, à tout le moins lorsque comparé aux autres quinones utilisées dans cette étude (voir les figures 7, 8 et 9).

On peut également considérer le chevauchement des deux courbes aux faibles pressions de surface comme une indication supplémentaire de l'adéquation de notre méthode de purification. En effet, pour des valeurs de pression de surface près de zéro, les deux courbes sont indifféren-

ciées l'une de l'autre. Or, si notre méthode de purification s'était avérée inadéquate, introduisant des matières tensio-actives ou créant des artefacts expérimentaux (traces de silice recueillie à l'étape 5 de la procédure de purification), l'isotherme de l' α -TQ purifiée pourrait, aux faibles pressions de surface, différer de celle du produit non-purifié pour des raisons autres qu'une augmentation de la pureté de l'échantillon. Ce chevauchement des isothermes aux faibles pressions de surface laisse peu de place à l'introduction d'artefacts expérimentaux lors de la procédure de purification et vient compléter et appuyer les vérifications déjà effectuées et présentées au chapitre II.

D'autres avant nous ont travaillé avec l' α -TQ et nous présentons leurs résultats dans la figure 14, conjointement avec notre isotherme d' α -TQ purifiée. L'isotherme de pression de surface présentée par Morin (1978) fut réalisée à partir d'un échantillon non-purifié d' α -TQ, solubilisé dans l'éther éthylique et déposé à l'interface air-eau (les autres variables expérimentales sont identiques à celles prévalant dans notre étude). Notre courbe, obtenue en travaillant avec un produit purifié, lui est très similaire, particulièrement aux faibles pressions de surface. Les différences entre les deux courbes rappellent celles précédemment observées entre l' α -TQ purifiée et non-purifiée (voir figure 13). D'ailleurs, une comparaison entre la courbe b de la figure 13 et la courbe b de la figure 14 (on compare alors des isothermes de pression de surface d' α -TQ non-purifiée) montre que celles-ci sont identiques, l'écart maximal entre les deux courbes étant de 1 A^2 par

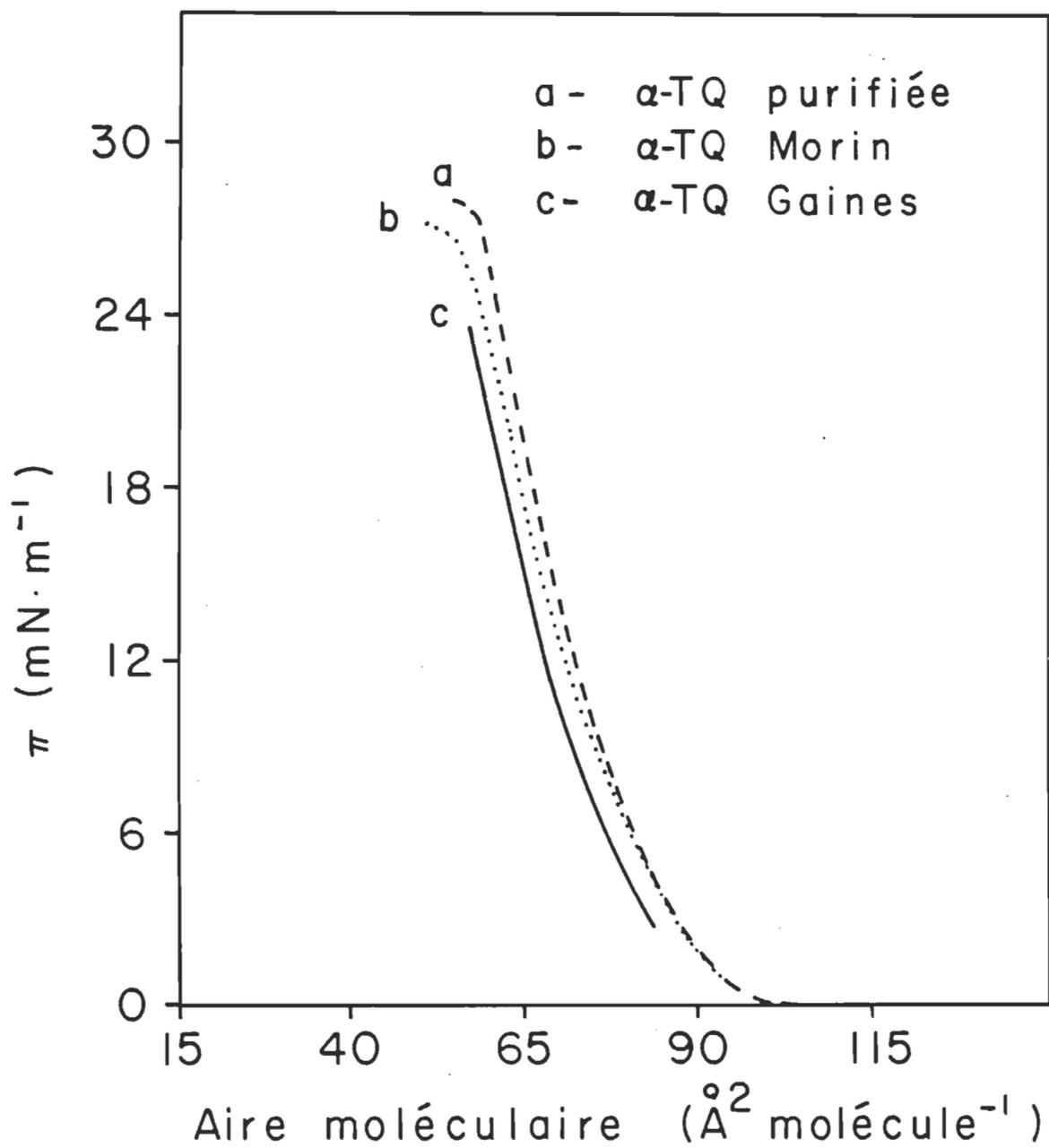


Figure 14. Isothermes de pression de surface de l' α -TQ.

molécule ($\pi = 21$ mN/m). Ces deux isothermes présentent une même pression de surface au collapse.

La courbe c de la figure 14 reproduit celle présentée par Gaines (1968). Cette courbe est parallèle à celle que nous obtenons pour le produit purifié, mais se trouve déplacée de 5 \AA^2 par molécule vers les plus petites aires moléculaires. Il nous est difficile de rendre compte de cette différence. Les deux isothermes furent réalisées à partir d'une solution benzénique de la quinone, déposée à la surface d'un tampon phosphate 10^{-3} M; Gaines a travaillé avec un tampon de $\text{pH} = 8.0$ alors que le nôtre avait un $\text{pH} = 7.8$. Cette différence de pH n'explique cependant pas la différence entre les deux isothermes de pression de surface.

Le parallélisme entre les deux courbes suggère une différence entre les facteurs intervenant dans le calcul de l'aire moléculaire. La similitude de nos isothermes d' α -TQ purifiée et non-purifiée aux faibles pressions de surface exclut l'introduction d'une erreur systématique dans notre procédure de purification et le chevauchement de notre courbe d' α -TQ non-purifiée avec celle réalisée par Morin confirme l'adéquation de notre façon de réaliser les solutions et de mesurer l'aire occupée par le film monomoléculaire. Il nous est présentement impossible de préciser davantage la source de cet écart.

Nous pouvons maintenant aborder la présentation et la discussion des isothermes de pression de surface des mélanges binaires chl a/ α -TQ

(voir figure 15). Le tracé identifié par la lettre "a" reprend celui présenté dans la figure 13 et correspond à l'isotherme de pression de surface de l' α -TQ purifiée. Celui identifié par la lettre "b" représente l'isotherme de pression de surface de la chl a. Comme mentionné au chapitre II, la chl a fut préparée selon des méthodes mises au point par des gens de notre laboratoire et son isotherme de pression de surface a fait l'objet de discussion; nous référons le lecteur à l'article de Tancredi et coll. (1982) pour une comparaison de cette isotherme avec celles réalisées par d'autres chercheurs.

Quatre solutions différentes de chl a furent utilisées pour réaliser les isothermes des mélanges chl a/ α -TQ, une solution nouvelle de chl a étant utilisée pour chacune des quatre purifications d' α -TQ. La courbe "b" représente la moyenne des diverses isothermes de pression de surface de chl a réalisées à partir de ces quatre solutions (dix isothermes au total). L'écart maximal entre une quelconque isotherme et la courbe moyenne est de 2.6 \AA^2 par molécule, quelle que soit la pression de surface considérée.

Les courbes tracées en trait plein correspondent aux isothermes de pression de surface des mélanges chl a/ α -TQ; la proportion de chl a dans le mélange fut retenue comme indicateur. Nous n'avons pas tracé la totalité des isothermes réalisées afin de faciliter la lecture du graphique. Les informations pertinentes seront présentées d'une autre manière dans les graphiques des figures 16 et 17; on peut cependant connaître la gamme des fractions molaires étudiées en consultant la figure

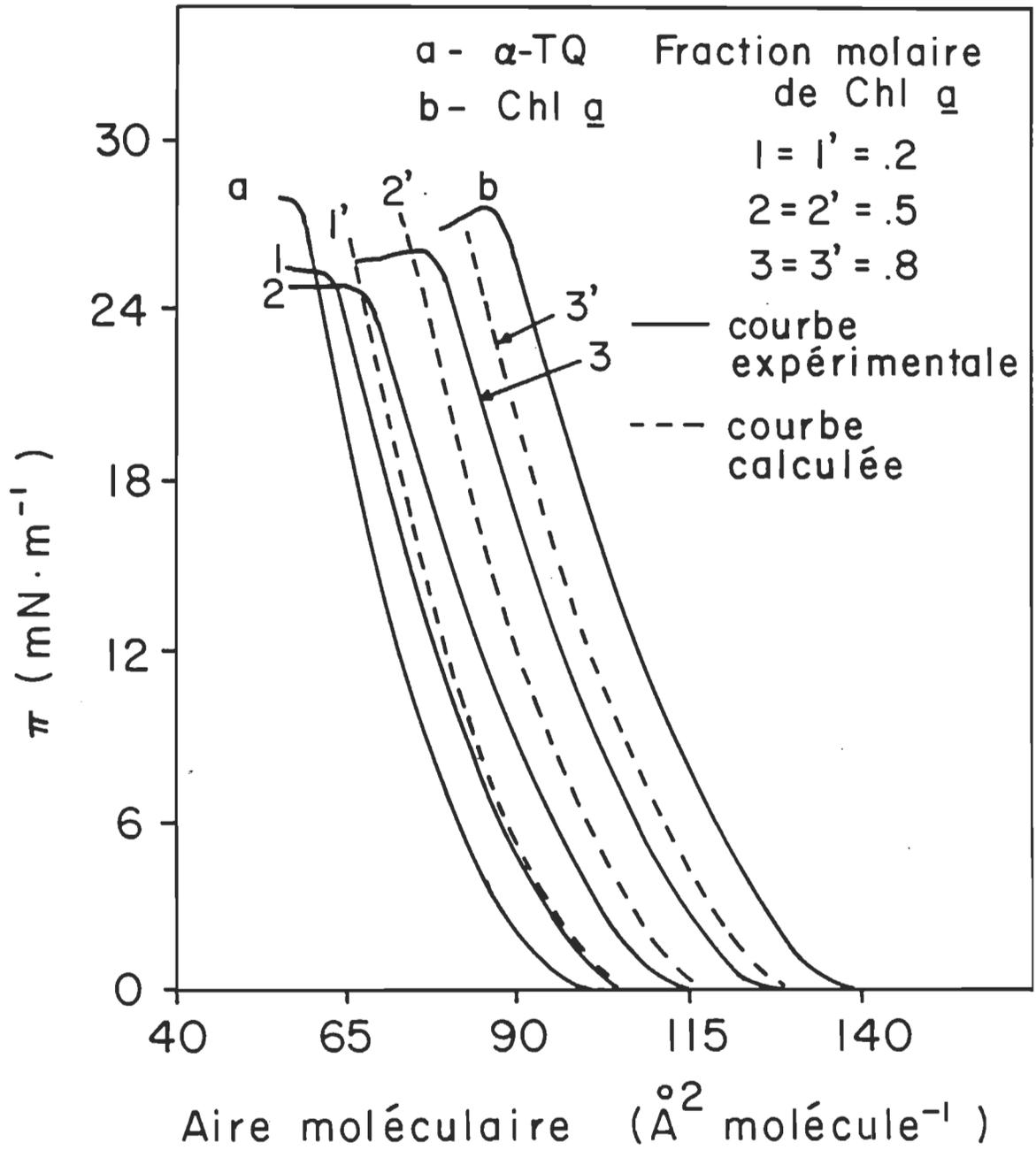


Figure 15. Isothermes de pression de surface des mélanges mixtes Chl a/ α -TQ.

16. Chacun des points présentés dans ce graphique correspondent à un mélange particulier dont la fraction molaire est donnée par l'abscisse du point en question. Les résultats correspondant à une même fraction molaire furent obtenus à partir de deux purifications et de deux solutions différentes d' α -TQ et de chl a.

Les courbes tracées en traits pointillés font référence au traitement théorique nous permettant d'analyser nos résultats. Basée sur une analyse présentée par Gaines (1966), l'argumentation vise à établir la miscibilité des deux molécules constituant le film monomoléculaire. Si les deux molécules ne sont pas miscibles à l'interface, les propriétés du film mixte seront à l'image des propriétés de chacun des deux films purs. En particulier, l'aire moléculaire du mélange A_{12} , à une pression de surface déterminée, sera donnée par l'équation

$$\underline{2} \quad A_{12} = X_1 A_1 + X_2 A_2$$

où X_1 et X_2 représentent respectivement les fractions molaires des composés 1 et 2 tandis que A_1 et A_2 , les aires moléculaires, à la pression de surface déterminée, occupées par les deux films purs formés des composés 1 et 2. La règle exprimée par cette équation est connue sous le nom de loi d'additivité. L'aire moléculaire ainsi obtenue (A_{12}) représente l'aire moléculaire que l'on devrait observer si les deux molécules formant le mélange n'étaient pas miscibles. C'est cette équation qui est représentée par le trait en pointillé dans les schémas des figures 16 et 17, et ce pour les diverses pressions de

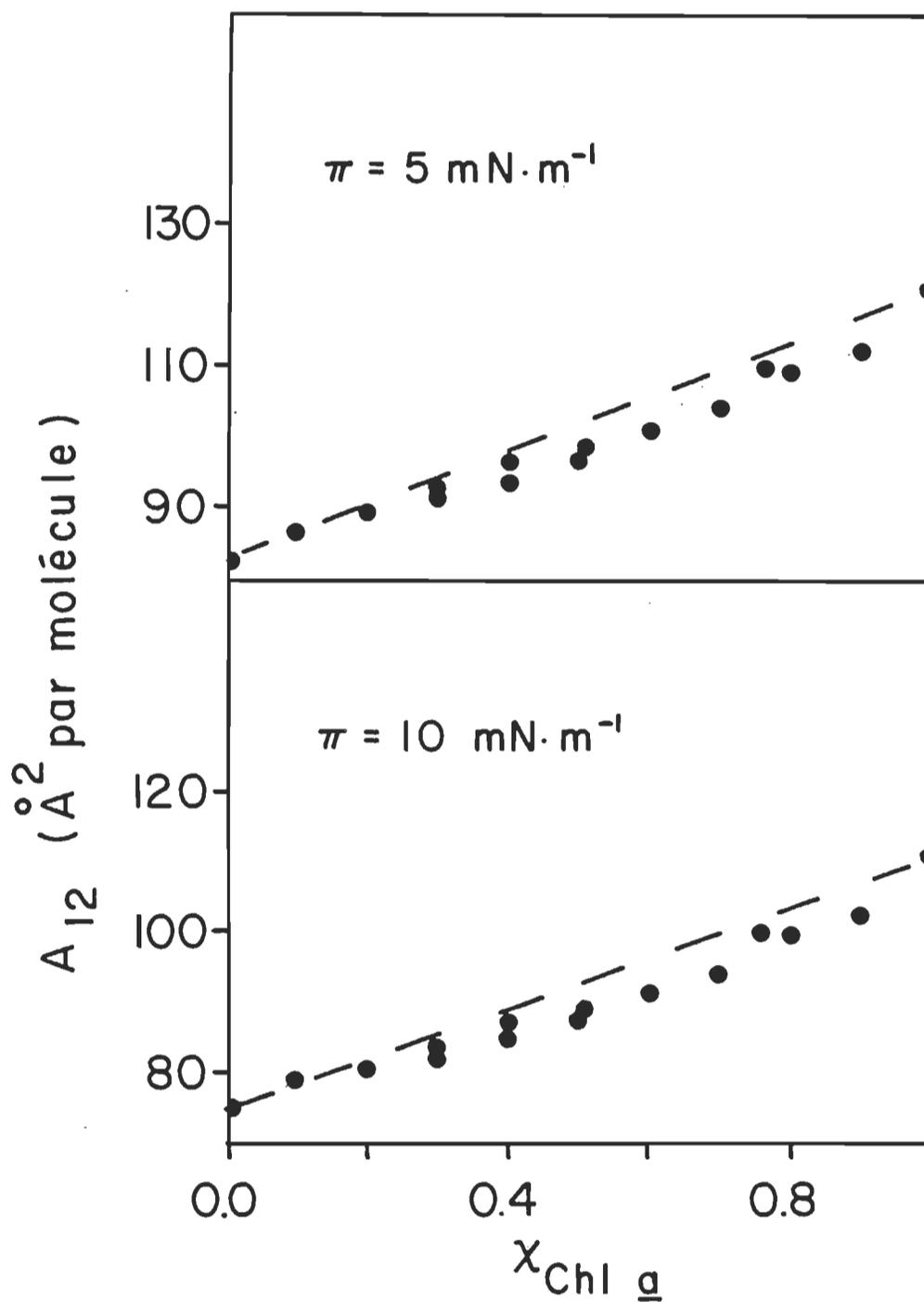


Figure 16. Comparaison des valeurs d'aire moléculaire expérimentales (●) et prédites par la loi d'additivité (---) pour le système Chl a/ α -TQ.

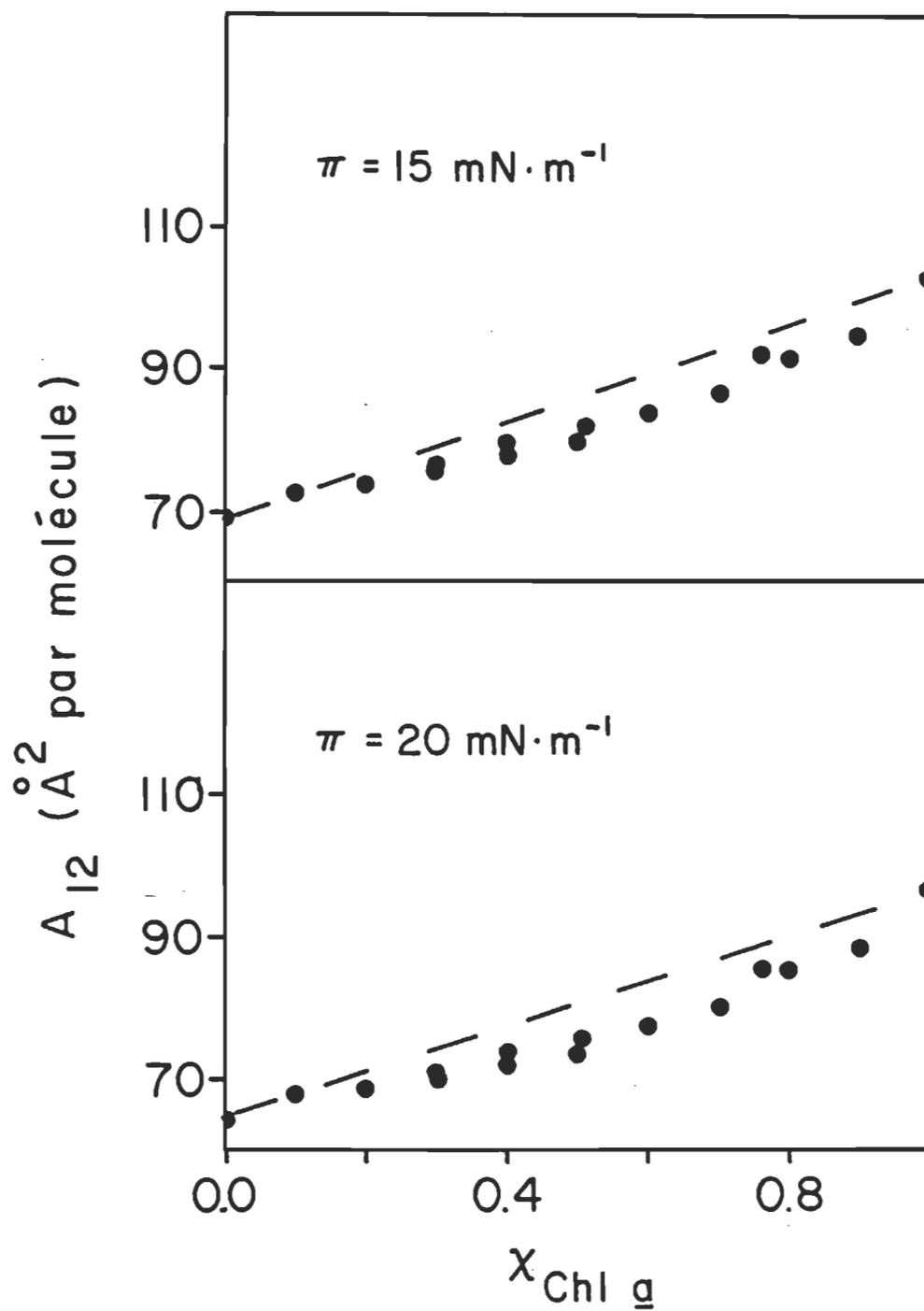


Figure 17. Comparaison des valeurs d'aire moléculaire expérimentales (●) et prédites par la loi d'additivité (---) pour le système Chl \underline{a} / α -TQ.

surface indiquées. C'est également cette même équation qui nous a permis de tracer les courbes en traits pointillés de la figure 15. Comparées avec ces courbes calculées, les isothermes de pression de surface des mélanges sont déplacées vers les plus petites aires moléculaires; la déviation, $A-A_{12}$, est négative (A est l'aire moléculaire du mélange à une pression de surface donnée).

Bien que mise en relief dans le schéma de la figure 15, cette déviation négative est également visualisable dans les figures 16 et 17. Les cercles de ces figures correspondent aux valeurs expérimentales de l'aire moléculaire des films mixtes tandis que la courbe en traits pointillés représente l'aire moléculaire prédite par la loi d'additivité. Elles montrent clairement que, pour toutes les pressions de surface considérées et toute la gamme des fractions molaires (différentes de 0 et 1), la déviation est négative.

Indépendamment du sens de la déviation (négative dans notre cas) et de son importance (ces deux informations seront prises en ligne de compte lorsque l'on présentera les énergies libres de mélange en excès), l'unique fait de la déviation nous permet de conclure que la chl a et l' α -TQ sont miscibles dans un film monomoléculaire, et ce sur toute la gamme des fractions molaires et pour toutes les pressions de surface. Comme le notait Gaines (1966, p. 283) "any deviation of mixed monolayers from equation such as 2 provides evidence for miscibility in the film". Il note également un peu plus loin (p. 291) "deviations from equations

such as 2, indicate miscibility, as well as some sort of molecular interaction".

Il existe une autre approche nous permettant de parvenir à la même conclusion. Celle-ci est particulièrement utile lorsque les molécules se conforment à la loi d'additivité tout en étant miscibles dans le film monomoléculaire. Elle fut développée par Crisp et on s'y réfère sous le nom de règle des phases en deux dimensions.

La présentation que Gaines (1966) en fait va comme suit: dans un système comme celui nous intéressant, le nombre de degrés de liberté est donné par l'équation

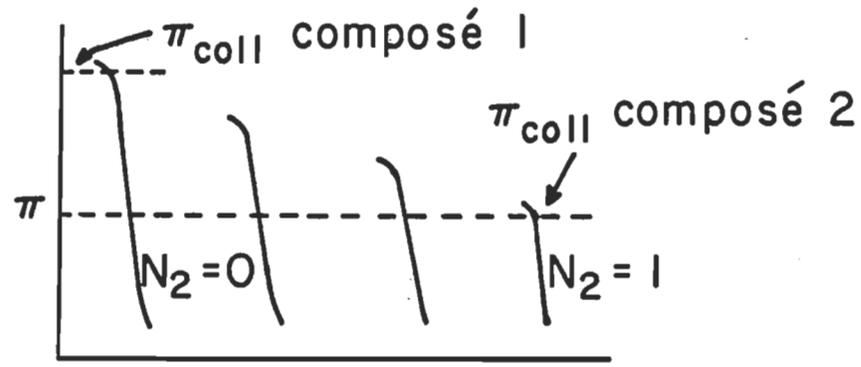
$$F = C_b + C_s - P_b - q + 3$$

où F est le nombre de degrés de liberté du système; C_b , le nombre de composantes formant les phases macroscopiques; C_s , le nombre de composantes contraintes de demeurer à la surface; P_b , le nombre de phases macroscopiques et q , le nombre de phases en équilibre les unes avec les autres dans le film.

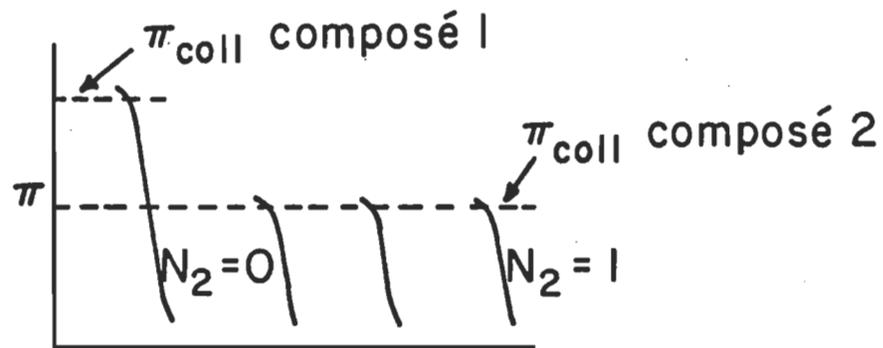
Au collapse, le système présente 3 phases macroscopiques ($P_b = 3$) et l'équation donnant le nombre de degrés de liberté devient $F = 4 - q$ ($C_b = 2$, $C_s = 2$ et $P_b = 3$). Dès lors, si les composés sont miscibles, il n'y aura qu'une seule phase dans le film monomoléculaire ($q = 1$) et partant 3 degrés de liberté ($F = 4 - 1 = 3$). Si la température

et la pression externe sont maintenues constantes, la pression de surface au collapse peut varier avec la composition. Par contre, si les deux composés du système binaire sont non-miscibles, $q = 2$ et le système ne possède que deux degrés de liberté. A température et pression extérieure fixes (conditions qui prévalent lors de la réalisation de nos expériences), la pression de surface au collapse est indépendante de la composition du système. En observant de quelle façon varie la pression au collapse avec la composition du film, il nous sera possible de départager les systèmes binaires miscibles de ceux qui ne le sont pas (voir la figure 18).

Une telle analyse est cependant sujette à deux cautions. La première a trait à la pression de surface à laquelle la conclusion concernant la miscibilité des molécules est valable. L'analyse selon la règle des phases en deux dimensions requiert la présence d'une phase "collapsée" dans le film monomoléculaire et n'est donc valable que pour la pression de surface au collapse. La seconde remarque a trait à la définition de la pression de surface au collapse. Comme Gaines (1966) le faisait remarquer, le collapse est un processus cinétique et la localisation de la pression au collapse sur une isotherme de pression de surface dépend de la définition que l'on en donne. Il note également (p. 285) que "in the event that there are kinetic difficulties in determining the equilibrium spreading pressure, the experimental problem may be increased somewhat, but the criterion of an enhanced surface pressure stability for miscible films is still applicable". C'est dans cette



A
Composés miscibles



A
Composés non miscibles

Figure 18. Evolution de la pression de surface au collapse selon la miscibilité des composés.

dernière acception que nous nous servirons de la règle des phases en deux dimensions.

Elle nous sera cependant de peu d'utilité pour l'analyse des résultats du système chl \underline{a}/α -TQ. En effet, l' α -TQ et la chl \underline{a} ont approximativement même pression de surface au collapse (environ 27.0 mN/m) et on ne peut espérer pouvoir faire la discrimination entre les deux comportements décrits dans la figure 18 (les deux composés doivent présenter des pressions de surface au collapse différentes). Cet état de fait n'est cependant pas critique car nous disposons déjà de l'information concernant la miscibilité de l' α -TQ et de la chl \underline{a} dans un film monomoléculaire, et ce pour toute la gamme des fractions molaires et toutes les pressions de surface auxquelles le film est stable.

Il existe une autre analyse applicable à nos données expérimentales et qui nous renseignera sur l'importance de la déviation observée en comparant nos résultats expérimentaux avec les valeurs attendues aux termes de la loi d'additivité. Ce traitement, d'abord développé par Goodrich (1957) et complété par Gaines (1966 et 1966a), est basé sur le calcul des énergies libres de mélange en excès et permet une quantification qui sera utile lors de la comparaison des divers systèmes étudiés.

L'énergie libre de mélange en excès est donnée par l'expression

$$\underline{3} \quad \Delta G_{XS}^{\pi} = \int_0^{\pi} (A - \chi_1 A_1 - \chi_2 A_2) d\pi$$

où ΔG_{XS}^{π} représente l'énergie libre de mélange en excès lorsque le film monomoléculaire est comprimé jusqu'à la pression de surface π ; A_1 , A_2 et A sont respectivement les aires moléculaires occupées par les films purs 1 et 2 et le mélange binaire, alors que χ_1 et χ_2 représentent les fractions molaires des composés 1 et 2 dans le film mixte. Les valeurs de ΔG_{XS}^{π} peuvent être calculées au moyen des isothermes de pression de surface des produits purs et des mélanges, et ce pour les diverses fractions molaires. Les résultats de ces calculs, pour des pressions de surface de 5, 10, 15 et 20 mN/m, sont compilés dans les figures 19, 20, 21 et 22.

D'emblée, un certain nombre de remarques s'imposent. Pour toutes les pressions de surface considérées, les énergies libres de mélange en excès sont négatives. De plus, la valeur optimale de ΔG_{XS}^{π} décroît avec la pression de surface considérée; elle est de -150 J/mole à 5 mN/m, de -300 à 10 mN/m, de -500 à 15 mN/m et de -700 J/mole à 20 mN/m. Finalement, l'allure générale des quatre courbes permet de situer leur extrémum à une fraction molaire de 0.65.

L'image qui se dégage des observations précédentes est donc la suivante: la chlorophylle a et l' α -tocophérylquinone sont miscibles dans les films monomoléculaires et l'énergie libre de mélange en excès est

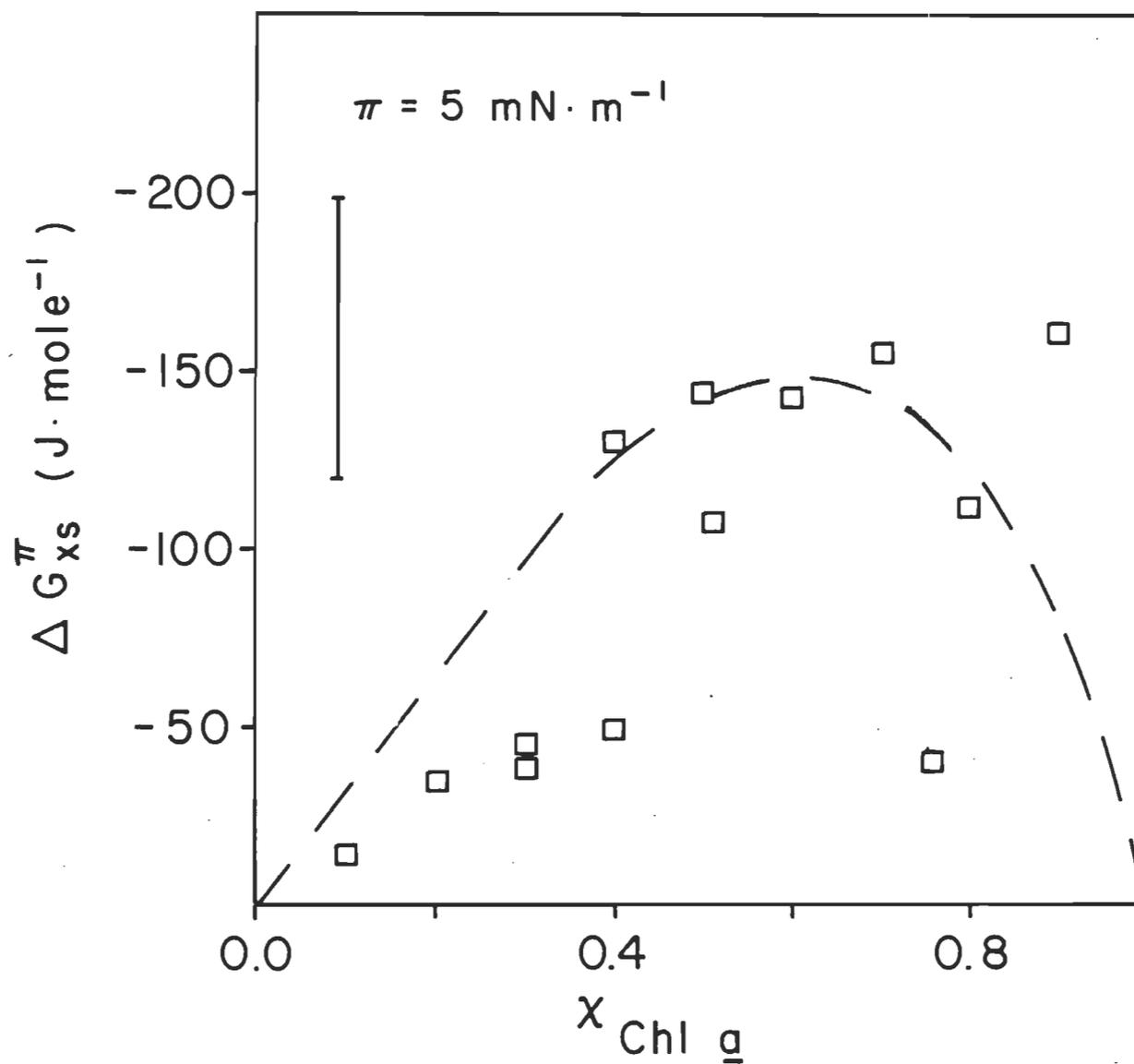


Figure 19. Valeurs d'énergie libre de mélange en excès pour le système Chl a/ α -TQ à $\pi=5 \text{ mN/m}$.

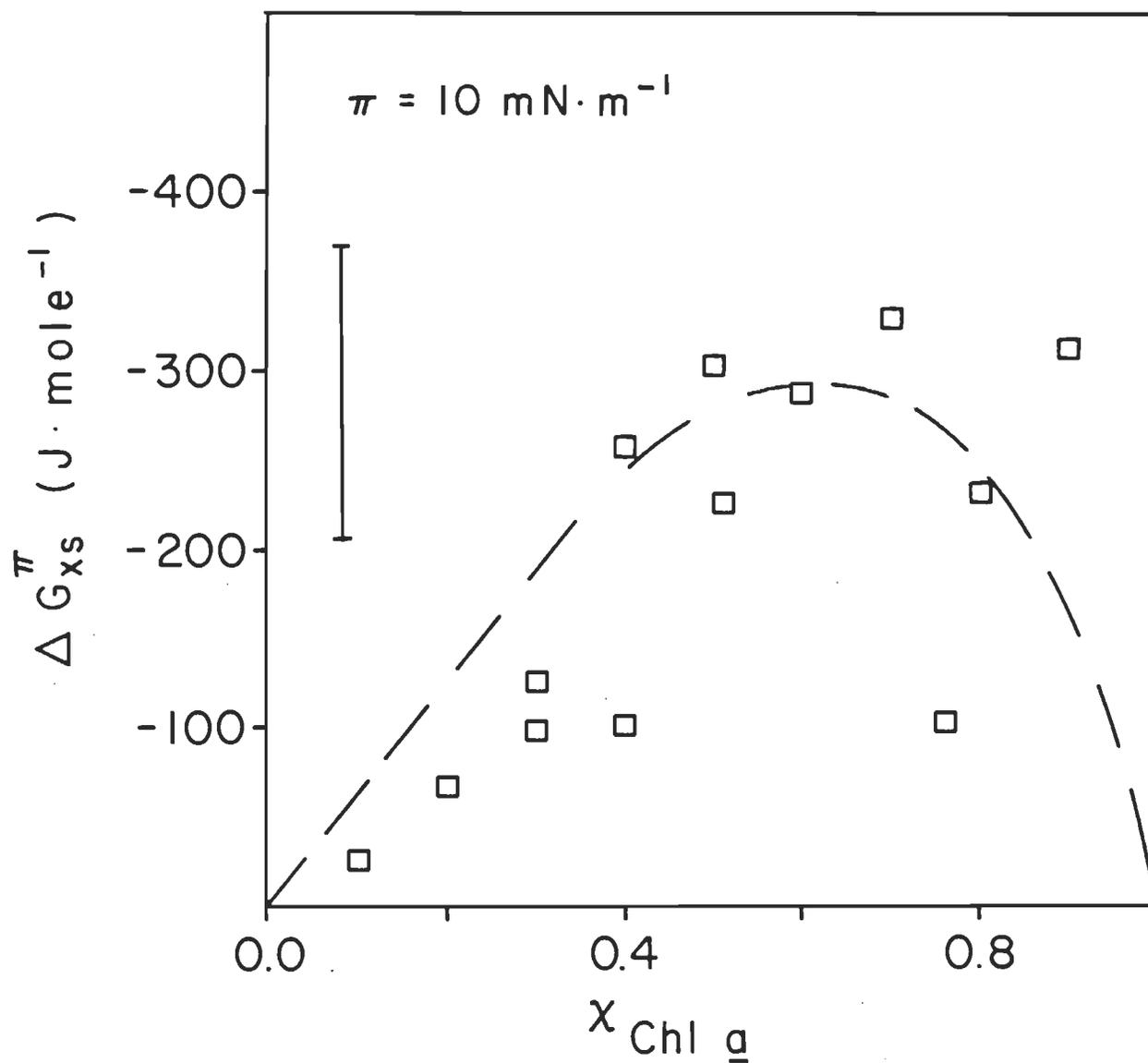


Figure 20. Valeurs d'énergie libre de mélange en excès pour le système Chl a/ α -TQ à $\pi=10 \text{ mN/m}$.

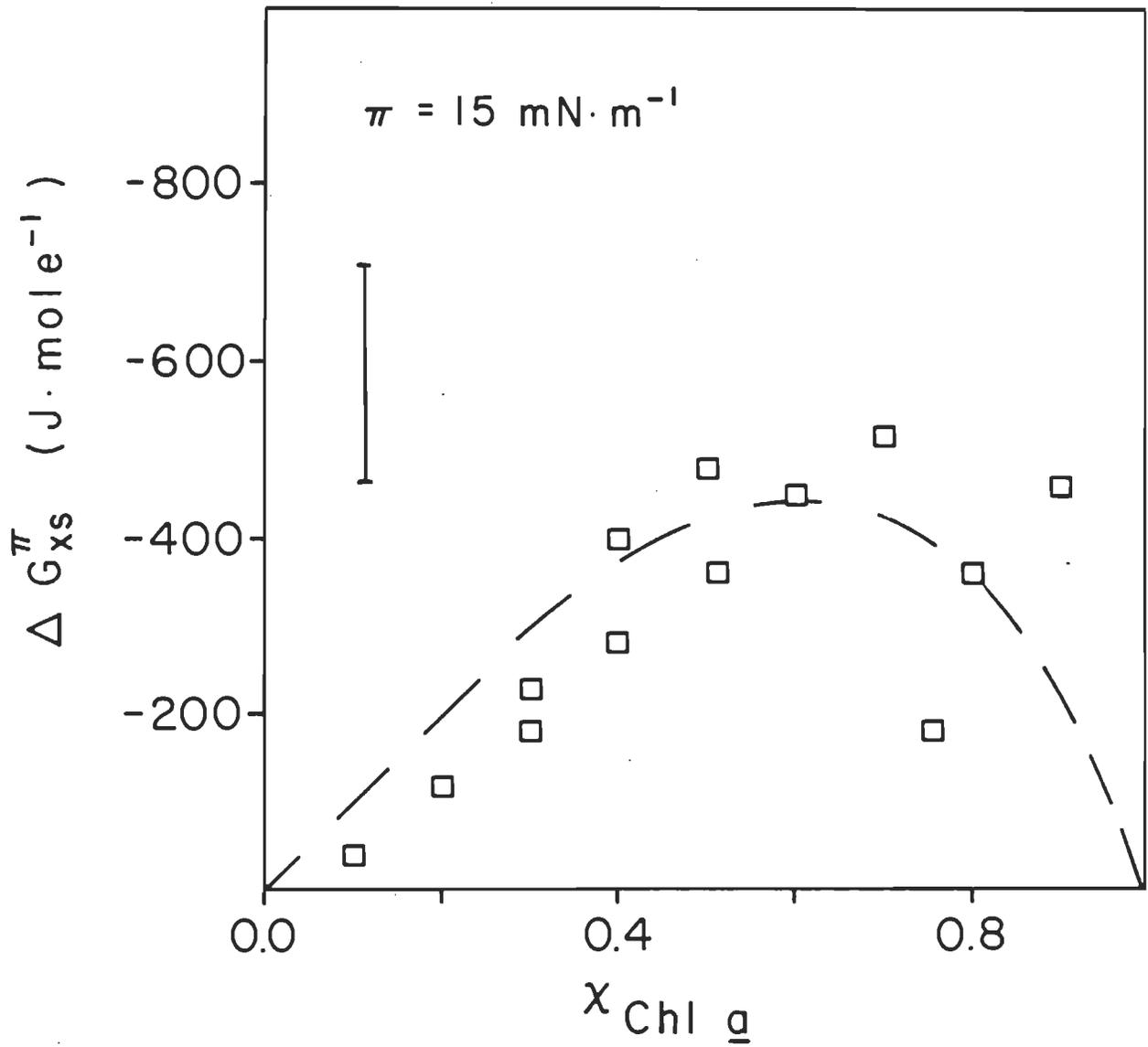


Figure 21. Valeurs d'énergie libre de mélange en excès pour le système Chl a/ α -TQ à $\pi=15 \text{ mN/m}$.

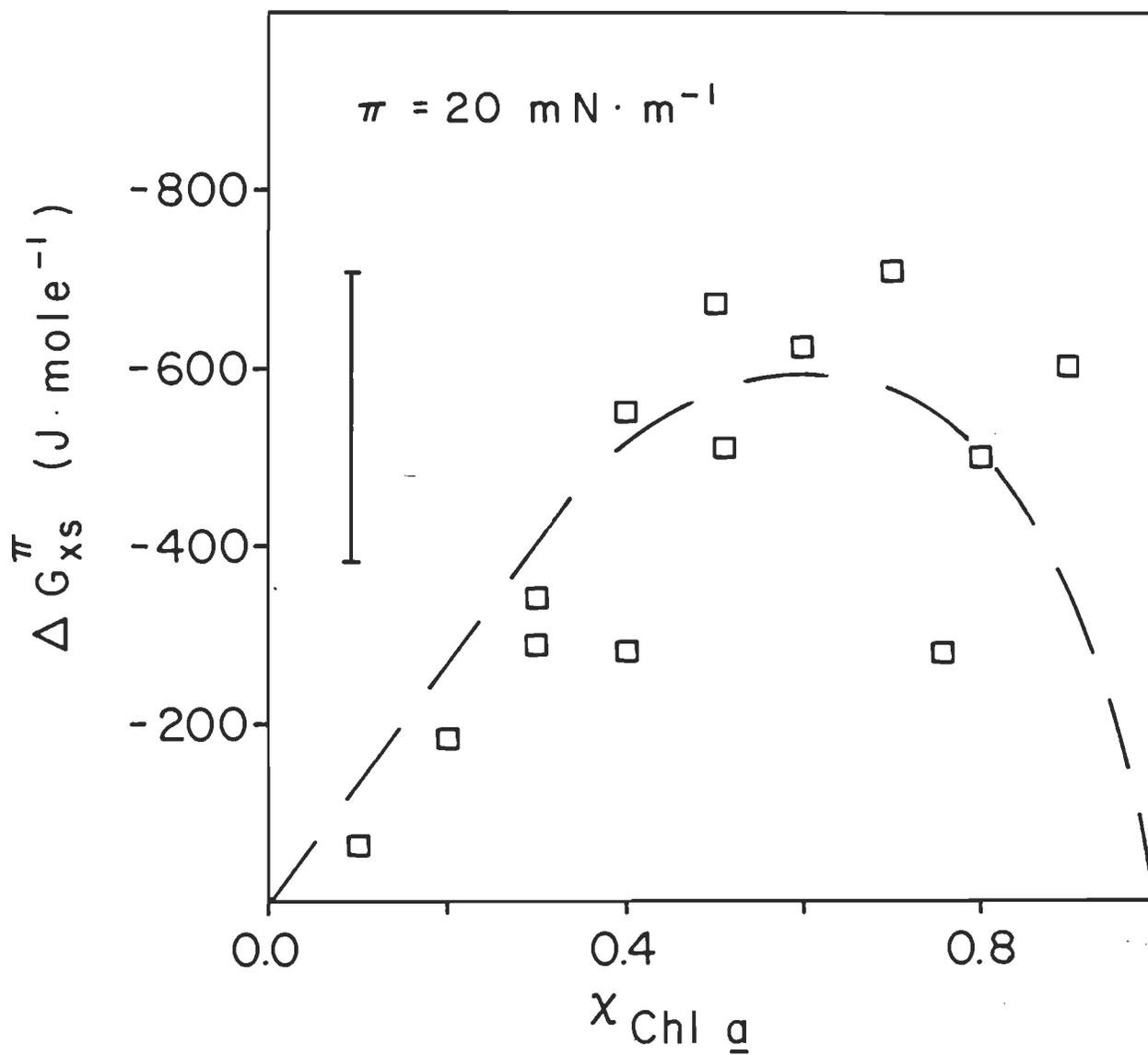


Figure 22. Valeurs d'énergie libre de mélange en excès pour le système Chl a/ α -TQ à $\pi=20 \text{ mN/m}$.

négative pour toutes les valeurs de pression de surface et toutes les fractions molaires.

La précédente conclusion est appuyée de résultats similaires obtenus par Gaines (communication personnelle). Réalisées dans des conditions expérimentales se rapprochant des nôtres (seul le pH de la sous-phase change un peu), les deux courbes de pression de surface qu'il nous a été possible de voir (fraction molaire de chl a = 0.46 et 0.64) montraient une déviation négative par rapport à la loi d'additivité. Par contre, les résultats des travaux de Morin (1978) vont dans une autre direction. Bien que nos deux isothermes de pression de surface pour l' α -TQ coïncident (voir discussion précédente), les isothermes de pression de surface présentées par cet auteur indiquent une déviation positive par rapport à la loi d'additivité. Nos conditions expérimentales semblent différer de celles de Morin (1978) uniquement au niveau du solvant de déposition (benzène dans notre cas et éther éthylique dans le sien). Aucune recherche supplémentaire n'a été conduite dans le but de vérifier l'influence du solvant de déposition sur les films mixtes chl a/ α -TQ.

Afin de mieux jauger l'importance des valeurs d'énergie libre de mélange en excès du système chl a/ α -TQ, nous comparons celles-ci avec les valeurs obtenues pour le système chl a/vitamine K₁. La figure 23 reproduit les valeurs de ΔG_{XS}^{π} obtenues par Gaines et coll. (1965) et celles non-publiées de Munger et Leblanc pour le système chl a/vitamine K₁. Deux faits ressortent d'une telle analyse comparative.

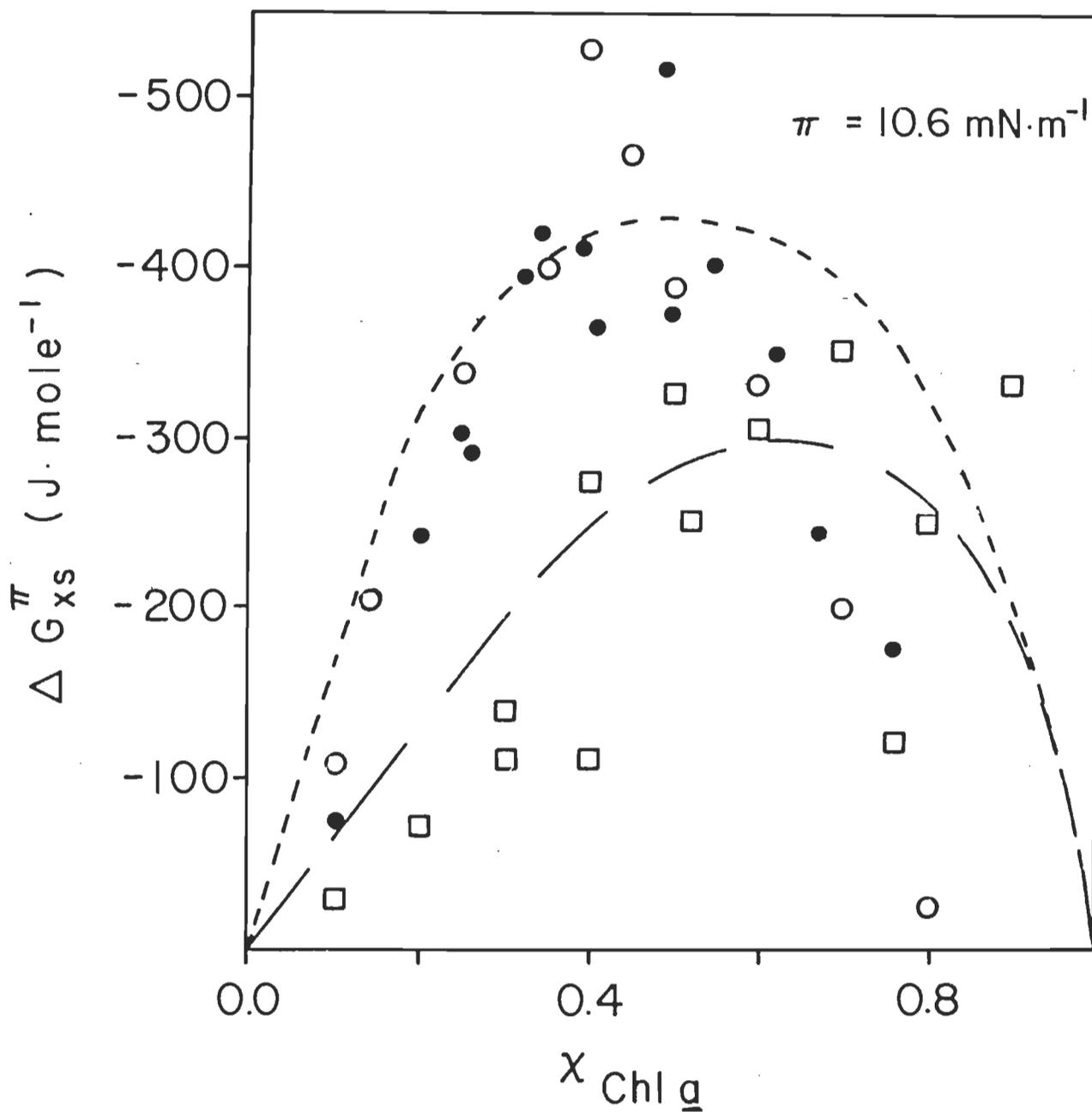


Figure 23. Comparaison entre les valeurs d'énergie libre de mélange en excès pour les systèmes chl a/vitamine K₁ (● Leblanc et Munger, ○ Gaines (1965)) et chl a/α-TQ (□ présent travail) à $\pi = 10.6 \text{ mN/m}$.

D'abord une différence dans la valeur maximale d'énergie libre de mélange en excès pour les deux systèmes (-350 et -500 J/mole pour les systèmes chl a/α-TQ et chl a/vitamine K₁) et une différence dans la valeur de la fraction molaire à laquelle cette valeur optimale d'énergie libre de mélange en excès est atteinte (respectivement 0.65 et 0.5).

D'autres éléments d'information nous sont disponibles grâce à la mesure du potentiel de surface. On trouvera dans la figure 24 les courbes de potentiel de surface de l'α-TQ et de la chl a (l'isotherme de potentiel de surface de la PQ 3 sera discutée ultérieurement). En cours de compression, le potentiel de surface de l'α-TQ passe de 225 à 254 mV tandis que celui de la chl a varie de 294 à 386 mV. Pour la chl a et l'α-TQ, l'écart maximal entre une quelconque isotherme de potentiel de surface et la valeur moyenne est de 10 mV, indépendamment de l'aire moléculaire. Nous avons tracé sur le même graphique le moment dipolaire perpendiculaire correspondant à ces potentiels de surface (cercles ouverts). Le moment dipolaire perpendiculaire est donné par l'expression

$$\mu = \frac{A \cdot V}{12\pi}$$

où A représente l'aire moléculaire à laquelle on mesure le potentiel de surface; V, le potentiel de surface (exprimé en mV) et μ le moment dipolaire perpendiculaire à la surface de l'eau (ce dernier est exprimé en milli-debye). Exprimées de cette façon, les mesures de potentiel de

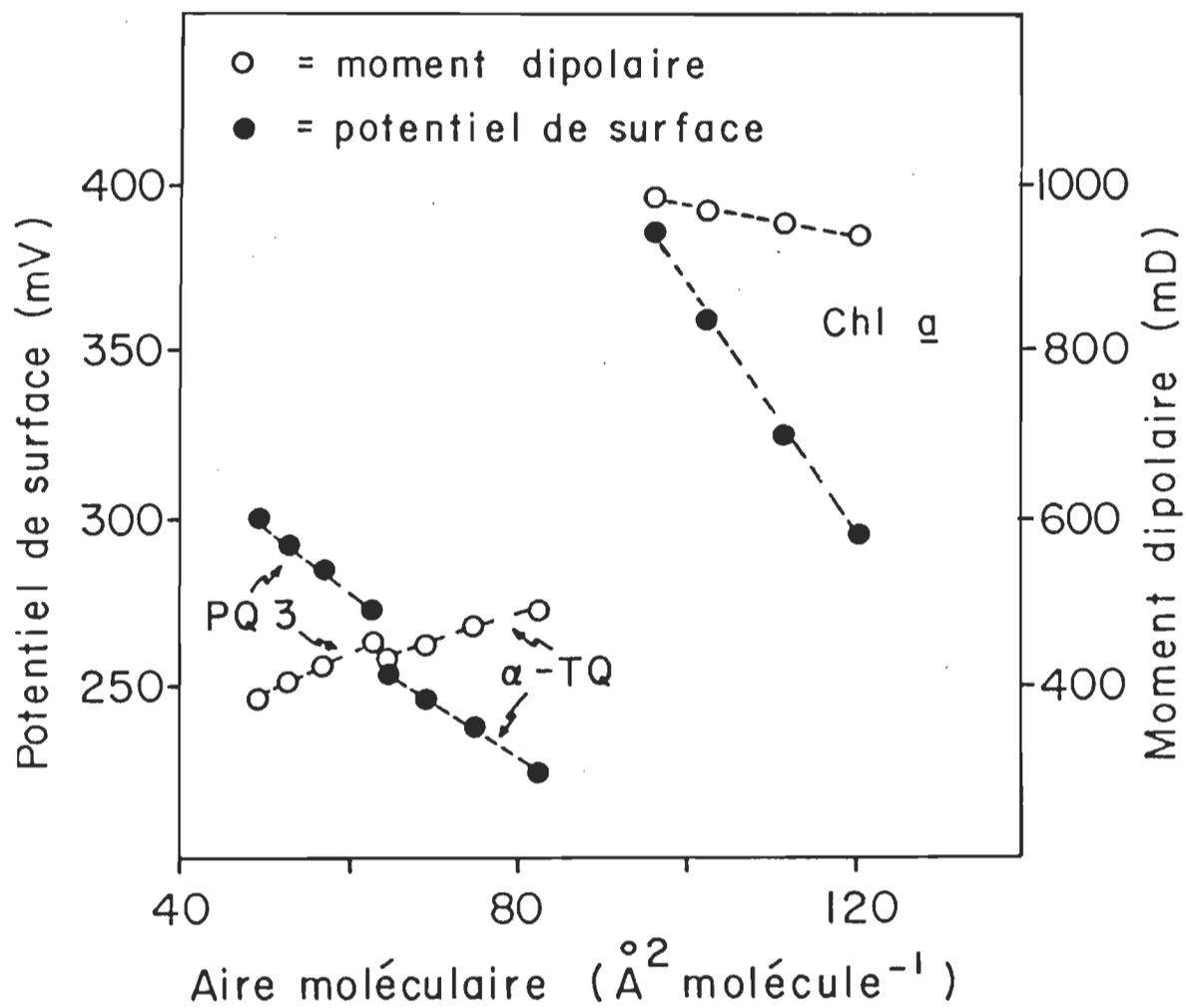


Figure 24. Isothermes de potentiel de surface et de moment dipolaire pour la PQ 3, l' α -TQ et la Chl a.

surface se trouvent être normalisées afin de tenir compte du nombre de molécules par unité de surface. Cette façon de faire équivaut à distribuer le potentiel de surface entre les molécules de la monocouche, attribuant à chacune un moment dipolaire perpendiculaire moyen.

Les courbes de moment dipolaire de l' α -TQ et de la chl a présentent des allures différentes; celle de la chl a a une pente négative tandis que celle de l' α -TQ possède une pente positive. Si le potentiel de surface était uniquement dû aux molécules constituant le film monomoléculaire et si la compression de la monocouche ne faisait qu'accroître la densité des molécules sans modification de l'orientation du moment dipolaire de celles-ci, on devrait observer une courbe de moment dipolaire de pente nulle. Tel n'est cependant pas le cas. L'établissement d'un champ électrique près de la monocouche dépend de plusieurs facteurs, dont la densité des molécules dans la monocouche, leur orientation, l'arrangement des molécules d'eau dans la monocouche et autour de la tête polaire des molécules. Tous ces facteurs peuvent être modifiés en cours de compression. Nos courbes de moment dipolaire demeurent tout de même significatives, en ce qu'elles nous permettent de connaître le potentiel de surface à une aire moléculaire donnée.

Il est possible de traiter les données de potentiel de surface de la même manière que les pressions de surface. Si les deux molécules du mélange binaire ne sont pas miscibles, les propriétés électriques du

film mixte seront données par celles des films purs. Dans le cas des potentiels de surface, la loi d'additivité s'écrit

$$V_{12} = \chi_1 V_1 + \chi_2 V_2$$

où χ_1 et χ_2 représentent respectivement les fractions molaires des composés 1 et 2 dans le mélange binaire et V_1 et V_2 , les potentiels de surface, à une pression de surface donnée, des deux films purs.

Cette loi d'additivité pour les potentiels de surface est représentée par la ligne en traits pointillés dans les graphiques des figures 25, 26, 27 et 28, conjointement avec les valeurs expérimentales des potentiels de surface (cercles pleins). Pour toutes les valeurs de fraction molaire et pour les quatre pressions de surface indiquées, la déviation par rapport à la loi d'additivité est positive i.e.

$$V - V_{12} < 0$$

où V est le potentiel de surface du mélange.

Le maximum de la déviation est aux environs de la fraction molaire 0.6. Cette déviation par rapport à la loi d'additivité nous permet de conclure que la chl a et l' α -TQ sont miscibles dans les films monomoléculaires, et ce pour toutes les fractions molaires et toutes les valeurs de pression de surface pour lesquelles le film monomoléculaire est stable.

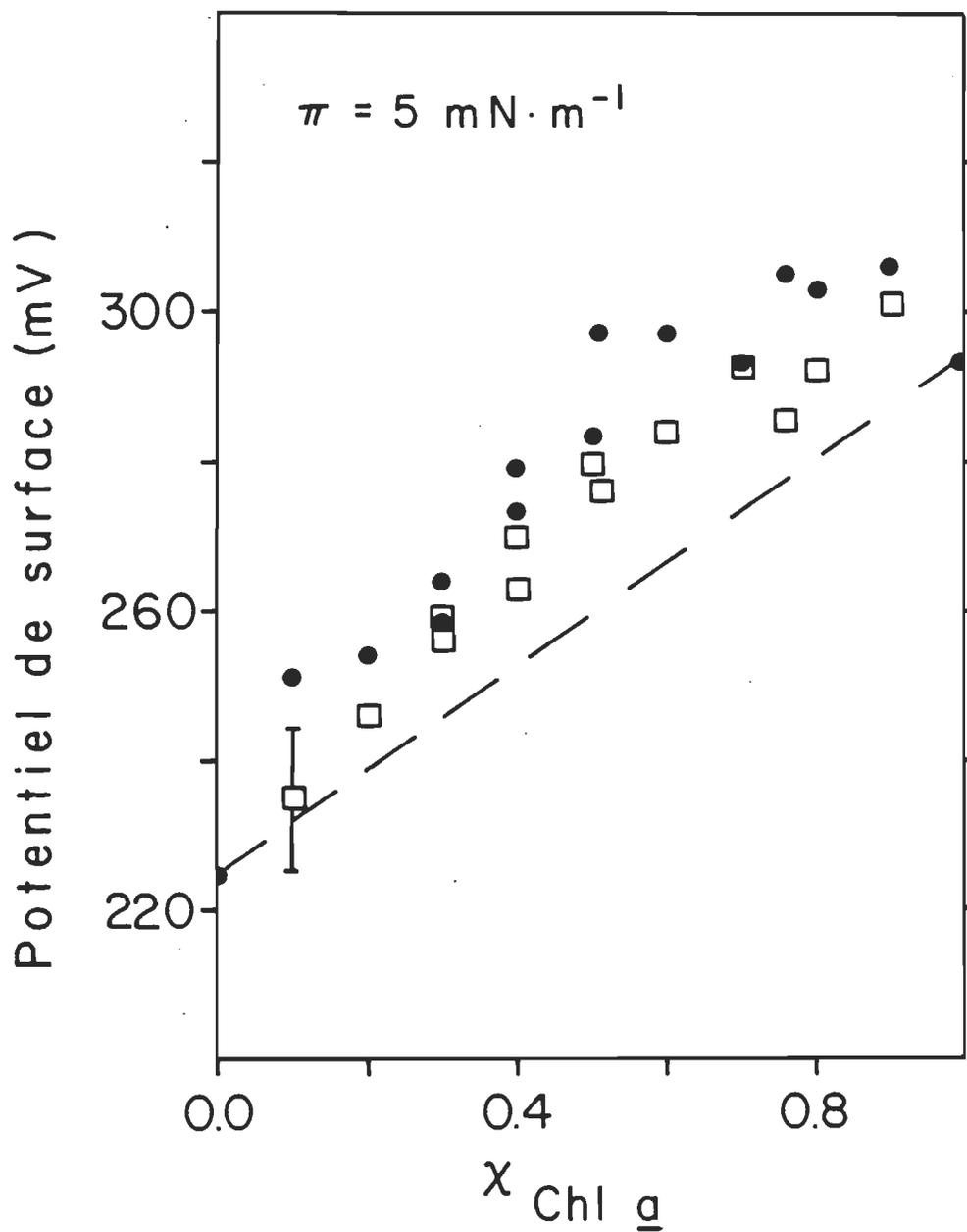


Figure 25. Comparaison entre les valeurs de potentiel de surface prédites par la loi d'additivité (---), par l'équation 4 (□) et les valeurs expérimentales (●) à $\pi=5 \text{ mN/m}$ pour le système Chl a/ α -TQ.

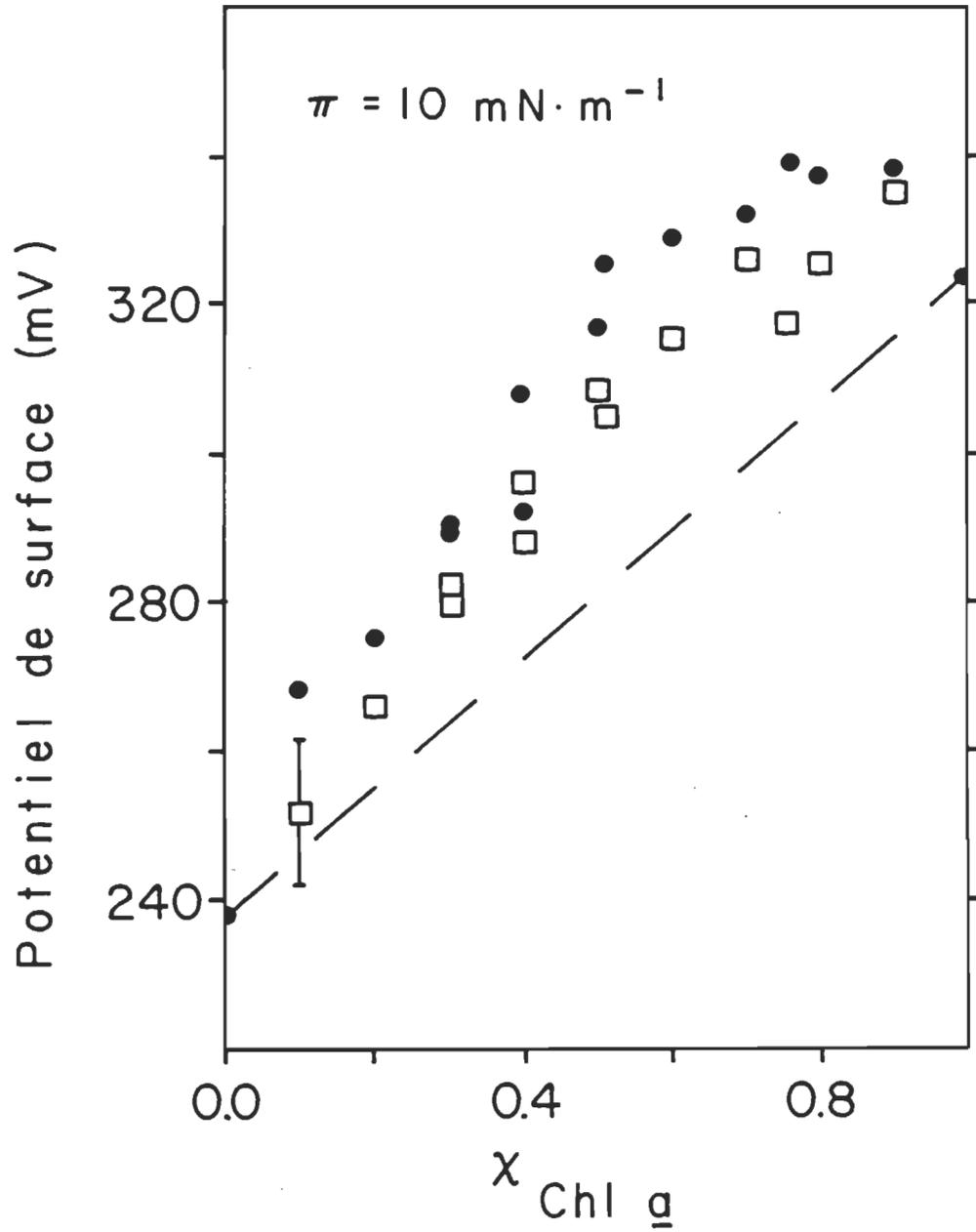


Figure 26. Comparaison entre les valeurs de potentiel de surface prédites par la loi d'additivité (---), l'équation 4 (□) et les valeurs expérimentales (●) à $\pi=10 \text{ mN/m}$ pour le système Chl a/ α -TQ.

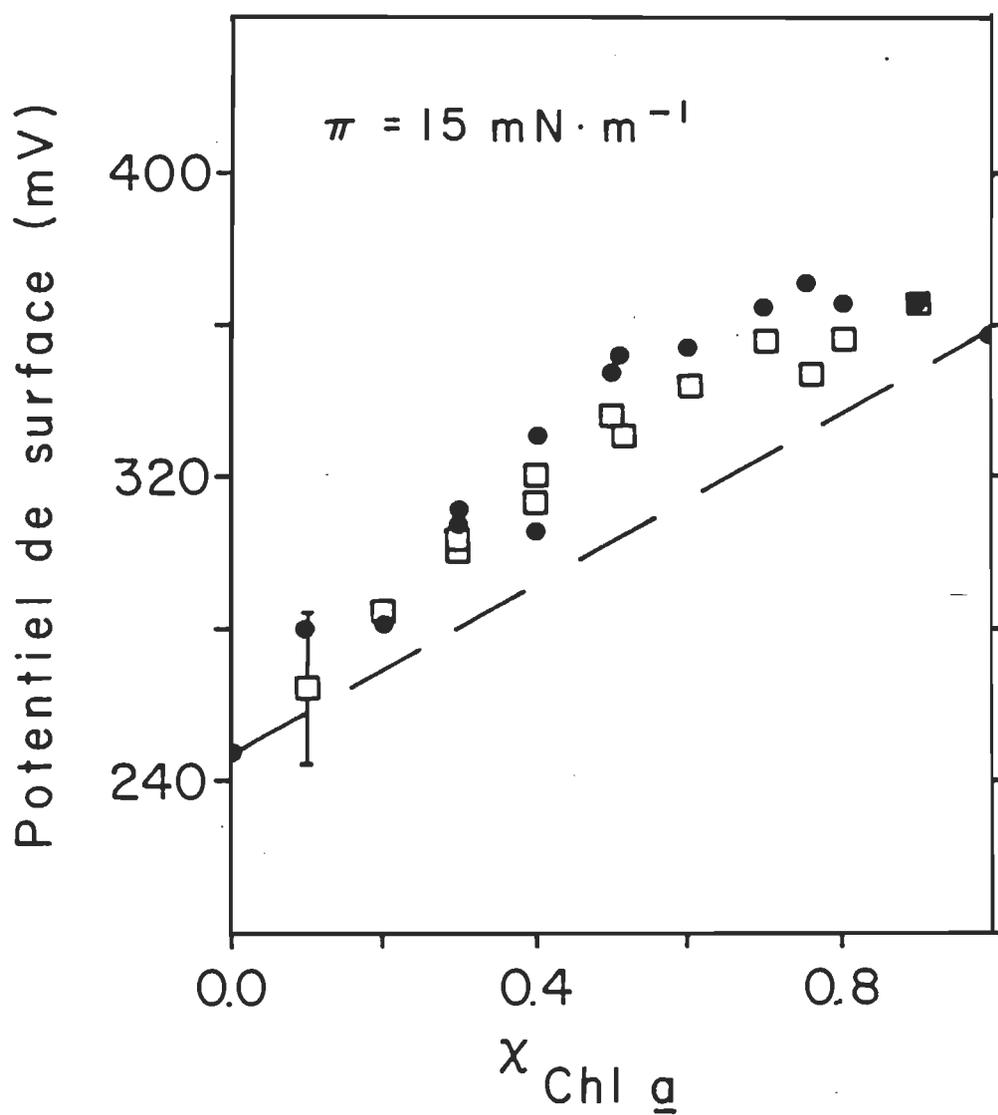


Figure 27. Comparaison entre les valeurs de potentiel de surface prédites par la loi d'additivité (— —), par l'équation 4 (□) et les valeurs expérimentales (●) à $\pi=15 \text{ mN/m}$ pour le système Chl a/ α -TQ.

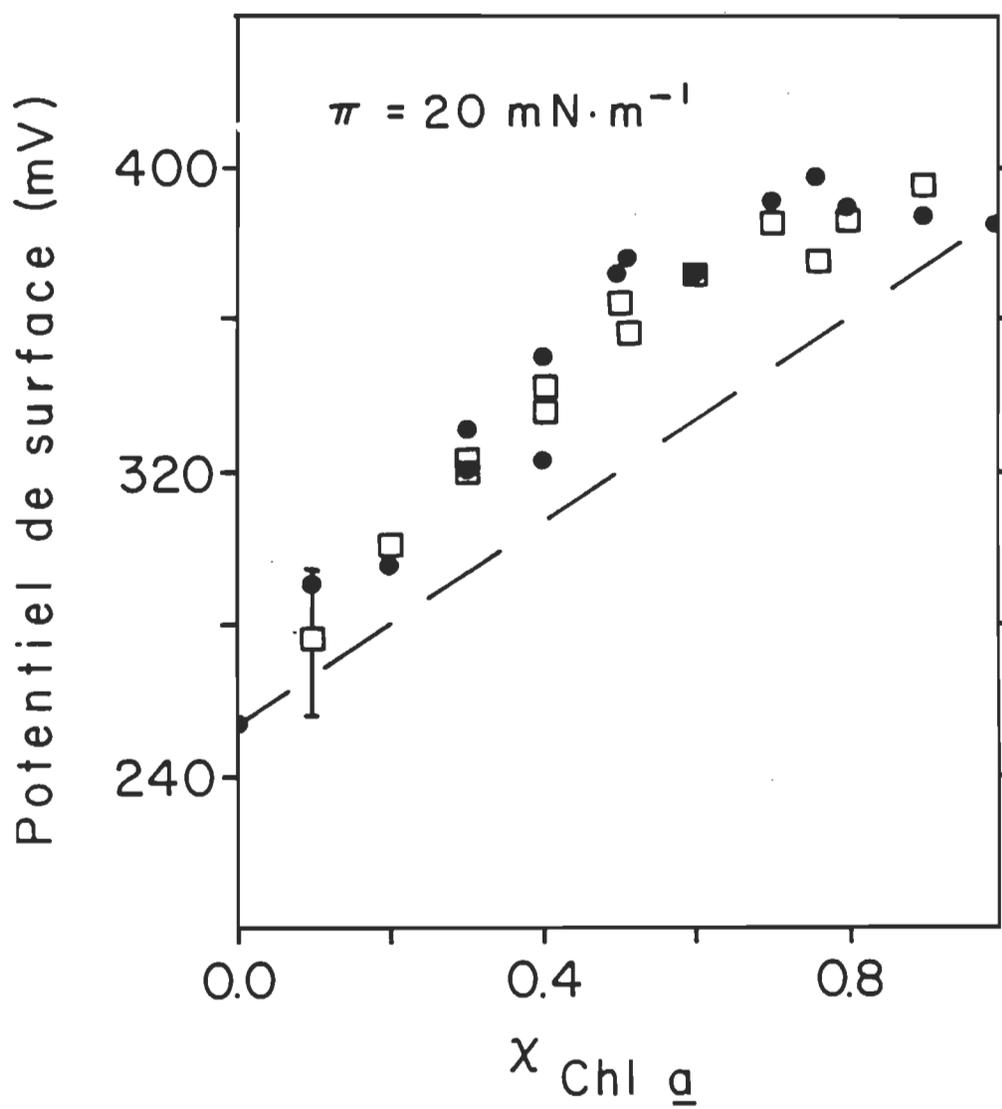


Figure 28. Comparaison entre les valeurs de potentiel de surface prédites par la loi d'additivité (---), par l'équation 4 (□) et les valeurs expérimentales (●) à $\pi=20 \text{ mN/m}$ pour le système Chl a/ α -TQ.

En s'appuyant sur les expressions donnant le moment dipolaire perpendiculaire de chacune des deux molécules, il est possible de calculer le potentiel de surface d'un film mixte grâce à l'équation 4

$$\underline{4} \quad V' = 12 \pi (\chi_1 \mu_1 + \chi_2 \mu_2) / A$$

où χ_1 et χ_2 sont respectivement les fractions molaires des composés 1 et 2; μ_1 et μ_2 , les moments dipolaires perpendiculaires des molécules 1 et 2 à une pression de surface donnée et A, l'aire moléculaire du film mixte à cette même pression de surface.

Si le mélange binaire se conforme à la loi d'additivité i.e. si $A = A_{12} = \chi_1 A_1 + \chi_2 A_2$, cette expression est équivalente à celle exprimant la loi d'additivité pour les potentiels de surface. Dans le cas où $A < A_{12}$ (cas qui nous préoccupe présentement), l'expression 4 prédit un accroissement des valeurs de potentiel de surface i.e. $V' > V_{12}$. Cet accroissement est d'autant plus grand que l'aire moléculaire du film mixte A diffère de A_{12} . Les valeurs de potentiel de surface prédites par l'équation 4 sont indiquées par des carrés dans les figures 25, 26, 27 et 28. L'allure générale d'une courbe reliant ces valeurs de potentiel de surface calculées est la même que celle d'une courbe reliant les valeurs expérimentales de potentiel de surface (points noirs). De plus, au fur et à mesure que la pression de surface croît, l'écart entre les valeurs calculées au moyen de l'équation 4 et les valeurs expérimentales s'amenuise et, à une pression de

surface de 20 mN/m, les valeurs calculées reproduisent les valeurs expérimentales.

4.3 Système chl a/plastoquinone 2

Les résultats présentés dans le chapitre II ont montré qu'il était possible d'obtenir des échantillons de plastoquinone 2 d'un haut degré de pureté. Cependant, aucune étude détaillée du comportement en monocouche de cette molécule n'a été entreprise; il s'est en effet avéré que la plastoquinone 2 ne formait pas un film stable à l'interface air-eau.

Nous avons vérifié la stabilité du film monomoléculaire de PQ 2 de la manière suivante; en opérant toujours selon la procédure précédemment décrite, nous avons comprimé le film monomoléculaire jusqu'à une pression de surface de 5.5 mN/m et avons maintenu son aire constante durant une période de 200 minutes. A la fin de cette période d'attente, tout signal de pression de surface avait disparu et nous avons dû diminuer l'aire occupée par le film de 43% avant d'enregistrer de nouveau un signal de pression de surface.

Divers arguments nous incitent à penser que cette instabilité de la plastoquinone 2 est due à un processus de solubilisation dans la sous-phase. Le premier s'appuie sur les données expérimentales concernant la solubilité des acides gras dans une phase aqueuse. C'est un fait bien documenté que la solubilité des acides gras dans l'eau varie en fonction

de la longueur de la chaîne hydrocarbonée, les chaînes plus petites (moins d'atomes de carbone) impliquant une solubilité accrue de la molécule (Gaines 1966). Bien que la valeur absolue de la solubilité varie selon le type de molécules considérées (cette valeur dépend également de la température et de la pression de surface auxquelles on la mesure), on est tout à fait en droit, par comparaison avec les molécules d'acide gras, de prévoir une augmentation de la solubilité de la plastoquinone avec une diminution du nombre d'atomes de carbone dans sa chaîne hydrocarbonée. Les données concernant la stabilité des films de plastoquinone de la série PQ 1, PQ 2 et PQ 3 peuvent être interprétées en ce sens. En effet, la plastoquinone 1, avec seulement 5 atomes de carbone dans sa chaîne hydrocarbonée, ne forme pas de monocouche détectable lorsque déposée à la surface de l'eau (Gaines, communication personnelle). D'autre part, la plastoquinone 3, avec ses 15 atomes de carbone dans sa queue hydrophobe, forme un film monomoléculaire très stable (voir la section Système chl a/plastoquinone 3). On observe donc, au fur et à mesure de l'accroissement du nombre d'atomes de carbone dans la chaîne hydrophobe de ces molécules, une augmentation de la stabilité du film monomoléculaire formé par celles-ci. Les cinq atomes de carbone (dans la partie hydrophobe) de la PQ 1 ne seraient pas suffisants pour empêcher la solubilisation complète de la molécule, empêchant ainsi la détection d'un signal en monocouche. A l'autre extrême, la partie hydrophobe de la PQ 3 serait assez importante pour prévenir la solubilisation de la molécule et permettrait à celle-ci de former une monocouche stable. Intermédiaire entre ces deux cas, la PQ 2 serait soluble

dans la phase aqueuse, sans toutefois que la vitesse à laquelle ce processus s'accomplisse soit du même ordre de grandeur que celle régissant la solubilisation de la PQ 1. Bien que soluble, la PQ 2 pourrait tout de même réduire la tension superficielle de l'eau et former une monocouche (détection d'un signal de pression de surface). Cette monocouche serait toutefois instable à cause de la solubilité non négligable de la molécule. Nous n'avons pas réalisé les expériences complémentaires qui auraient pu nous permettre de vérifier l'hypothèse avancée (des variations dans la force ionique de la sous-phase pourrait nous fournir des renseignements à cet effet en modifiant la vitesse de solubilisation de la molécule).

Comme il a été vu précédemment (voir la section 4.2), notre analyse des résultats expérimentaux repose sur des différences d'aire moléculaire entre les isothermes des systèmes binaires et certaines valeurs calculées. Ces différences sont sensées être caractéristiques des deux molécules présentes dans le film monomoléculaire et refléter les interactions qu'elles présentent l'une pour l'autre. Une telle interprétation est permise tant que les deux molécules constituant le système binaire demeurent dans la monocouche et que la réduction d'aire moléculaire n'est pas due à un processus accru de solubilisation de l'une des molécules. Devant l'incertitude que l'instabilité du film de PQ 2 laisserait planer sur l'interprétation des résultats, nous avons préféré ne pas étudier en détail le système binaire chl a/PQ 2.

Cette hypothèse concernant la solubilité de la PQ 2 peut nous servir à expliquer la différence entre les isothermes de pression de surface b et c dans la figure 29. Les solutions utilisées pour réaliser ces isothermes ne diffèrent qu'en un seul point, le solvant de déposition. Purifiée selon la même procédure, la PQ 2 fut solubilisée dans du benzène pour la réalisation de l'isotherme b, alors qu'elle fut déposée à partir d'une solution d'éther éthylique pour celle notée c. Les courbes sont similaires et seraient identiques si ce n'était d'un déplacement de $7.5 \text{ \AA}^2/\text{molécule}$ selon l'axe des aires moléculaires. Ce décalage entre les isothermes peut s'expliquer si l'on considère la différence de solubilité des solvants de déposition et l'effet de celle-ci sur la solubilité de la PQ 2. Le benzène a une solubilité de 1.8 g/1000 g d'eau tandis que celle de l'éther éthylique est de 75 g/1000 g d'eau (à 25°C). Avant l'évaporation complète du solvant de déposition, une fraction de celui-ci peut passer dans la phase aqueuse, entraînant avec lui une molécule qui, d'elle-même, aurait tendance à se solubiliser. Moins soluble dans la sous-phase, le benzène ne favoriserait pas autant le processus de solubilisation de la PQ 2 que ne le pourrait l'éther éthylique, si bien qu'au moment de réaliser la monocouche, après l'attente de 15 minutes suivant la fin de la déposition, un plus grand nombre de molécules de la solution benzénique déposée à l'interface seraient présentes dans le film, entraînant ainsi une différence dans les aires moléculaires. L'hypothèse de la solubilité de la PQ 2 et du solvant peut donc expliquer le décalage entre les isothermes b et c de la figure 29.

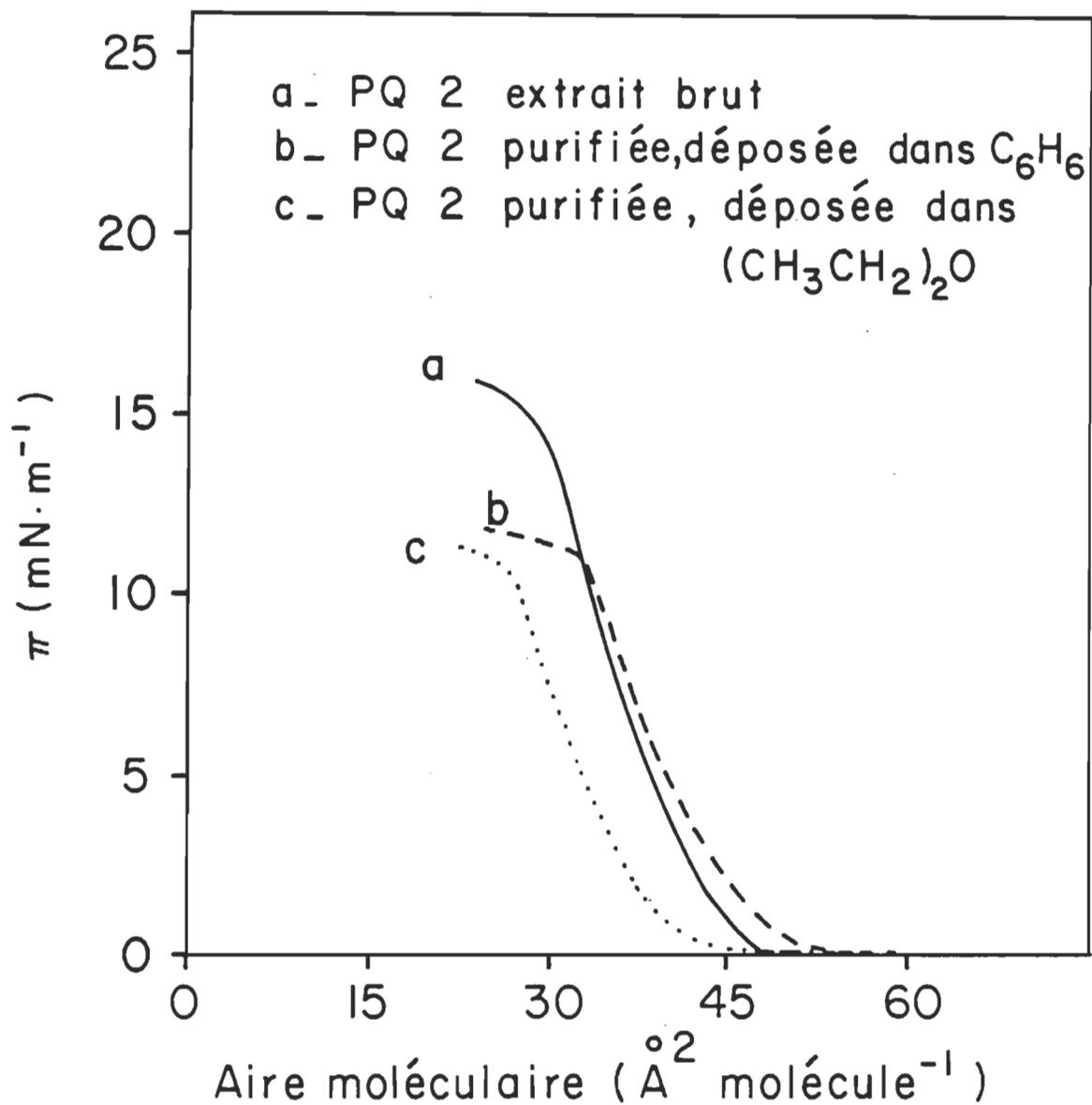


Figure 29. Isothermes de pression de surface de la plastoquinone 2.

On peut également se questionner sur la signification de la pression de surface au collapse de l'isotherme de la plastoquinone 2. Lorsque la molécule n'est pas soluble dans la sous-phase, la pression de surface au collapse correspond à la pression de surface à laquelle le film monomoléculaire est en équilibre avec la phase "collapsée" du matériel constituant la monocouche. Or le film monomoléculaire de PQ 2 est instable et nous pensons que cette instabilité est due à un processus de solubilisation de la molécule. Dépendamment de la pression de surface, la solubilité de la molécule variera et il peut se faire que la monocouche devienne hautement instable par rapport à la solubilisation de la molécule à partir d'une certaine pression de surface. Il est donc hasardeux d'attribuer l'extrémum dans la pente de l'isotherme de pression de surface de la PQ 2 à l'établissement d'une nouvelle phase, une explication par la solubilisation de la molécule pouvant tout aussi bien rendre compte des données expérimentales.

Finalement, le tracé a de la figure 29 reproduit l'isotherme de pression de surface de la plastoquinone 2 utilisée sans purification préalable. Ce tracé diffère de celui obtenu pour la PQ 2 purifiée en deux points majeurs. Les aires moléculaires limites des deux isothermes sont respectivement de 42 et 45 Å^2 /molécule et la variation, dans la région du collapse, de la pente de l'isotherme est plus grande dans le cas de la PQ 2 purifiée que dans celui du même produit non-purifié. Ces deux échantillons diffèrent grandement quant à leur contenu respectif (voir la figure 7) et les différences entre les isothermes sont à imputer à la contamination de notre échantillon de départ.

4.4 Système chl a/plastoquinone 3

L'analyse des résultats du système chl a/PQ 3 suivra exactement le même patron que celui développé lors de l'analyse des résultats du système chl a/ α -TQ.

Avant toute chose, mentionnons que nous avons vérifié la stabilité du film monomoléculaire de PQ 3. Comprimé jusqu'à une pression de surface de 5 mN/m, nous avons maintenu l'aire occupée par le film constante pendant 100 minutes. Au terme de cette période, la pression de surface était toujours de 5 mN/m, aucun changement n'étant détectable.

La figure 30 reproduit les isothermes de pression de surface de diverses plastoquinone 3. Les tracés b et a sont respectivement les isothermes de pression de surface de la PQ 3 (fournie par la compagnie Hoffman-La Roche) et de la PQ 3 purifiée. Cette dernière est la moyenne des isothermes de pression de surface réalisées à partir d'échantillons provenant de quatre purifications différentes (deux ou trois isothermes furent réalisées à partir de chaque échantillon). L'écart maximal entre une quelconque de ces isothermes et la courbe moyenne présentée est de 2.5 \AA^2 par molécule, indépendamment de la pression de surface considérée. Les différences entre ces deux isothermes (pression de surface au collapse, aire moléculaire limite) sont à imputer aux différences de pureté entre les deux échantillons (voir la figure 8). Notre isotherme de pression de surface pour la PQ 3 purifiée diffère de celle publiée par de Costa et coll. (1972). La pression de surface au collapse présentée

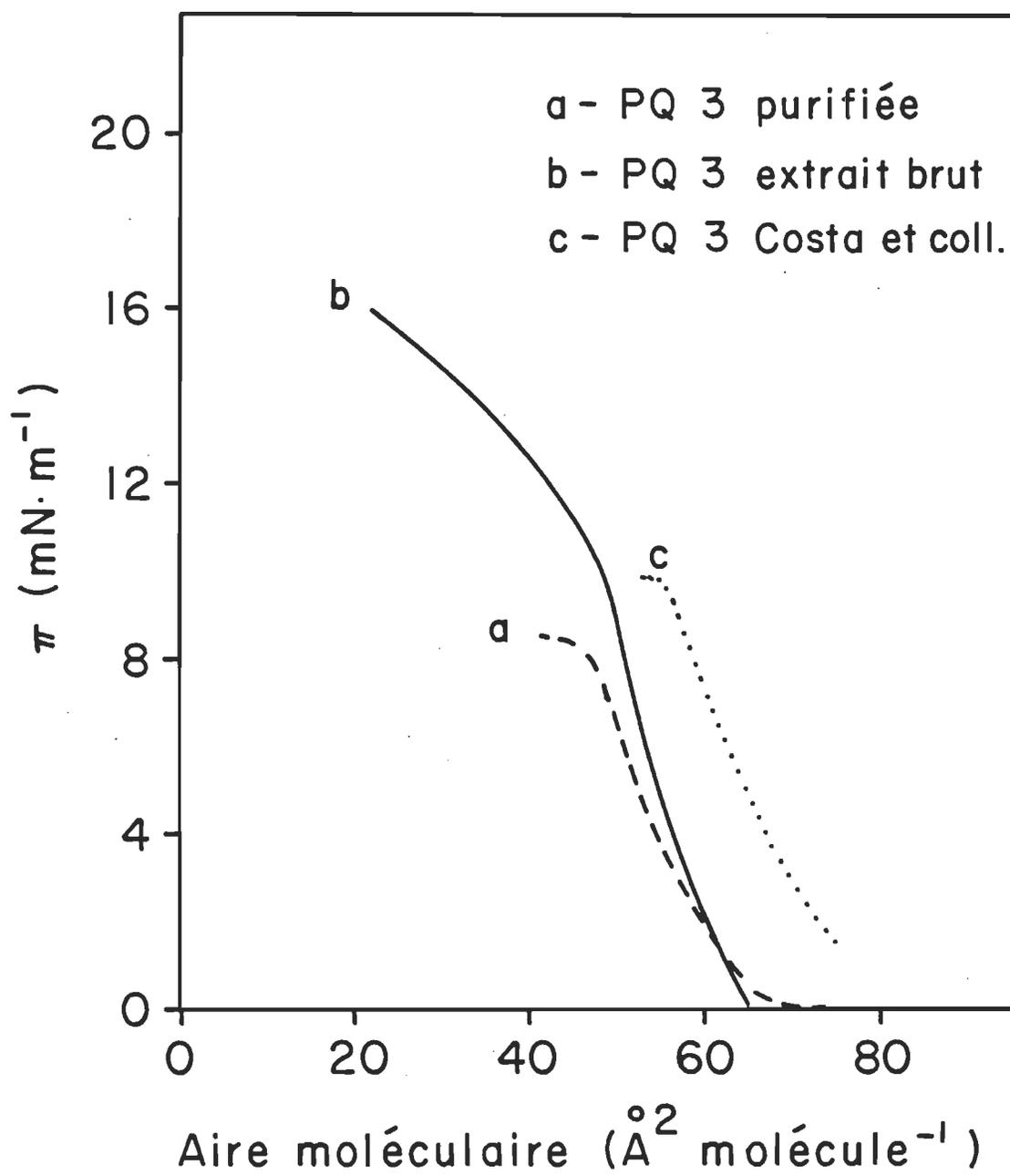


Figure 30. Isothermes de pression de surface de la plastoquinone 3.

par ces chercheurs est de 9.6 mN/m alors que celle que nous obtenons est de 8 mN/m. De même, les aires moléculaires à pression de surface donnée diffèrent de quelque 12 Å² par molécule. De Costa et coll. (1972) n'ont pas purifiée leur PQ 3 avant de l'utiliser et cette omission, selon le type d'impuretés présent dans leur échantillon, pourrait expliquer la différence dans l'allure des isothermes.

Quelques unes des isothermes de pression de surface des mélanges chl a/PQ 3 sont présentées dans la figure 31. Afin de conserver un maximum de clarté dans la présentation de nos résultats, nous n'avons pas tracé les courbes calculées selon l'équation $A_{12} = \chi_1 A_1 + \chi_2 A_2$. Les informations concernant le respect de la loi d'additivité dans le présent système binaire sont contenues dans les figures 32 et 33. Dans ces figures, les valeurs d'aire moléculaire du film mixte sont données par les cercles tandis que l'aire moléculaire prédite par la loi d'additivité ($\chi_1 A_1 + \chi_2 A_2$) est donnée par le trait pointillé. Les quinze mélanges présentés furent réalisés à partir des quatre purifications indépendantes de PQ 3 en utilisant dans chacun des cas une nouvelle solution de chl a. Les mélanges de même fraction molaire furent obtenus à partir d'échantillon de PQ 3 provenant de deux purifications indépendantes.

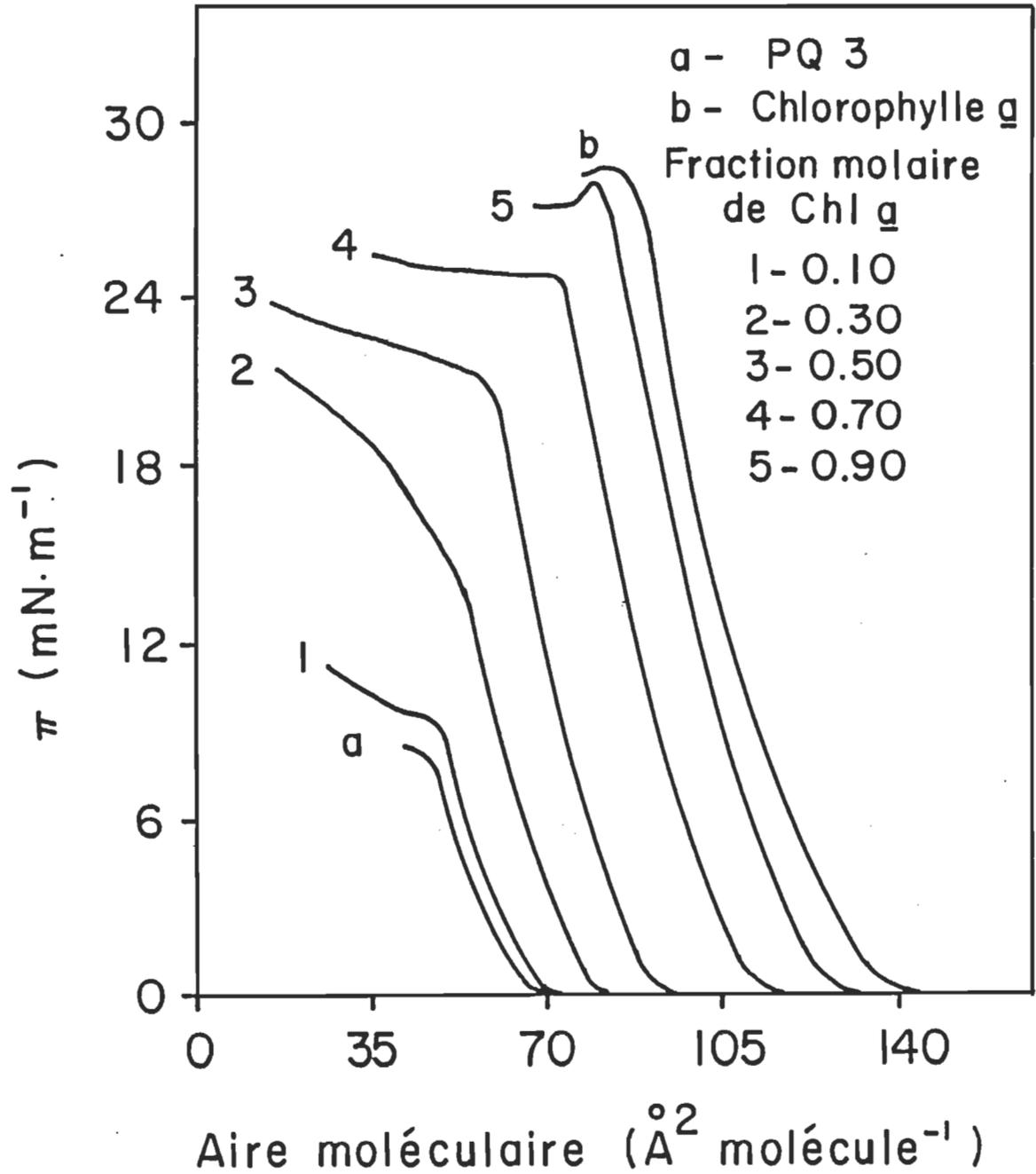


Figure 31. Isothermes de pression de surface des mélanges mixtes Chl a/PQ 3.

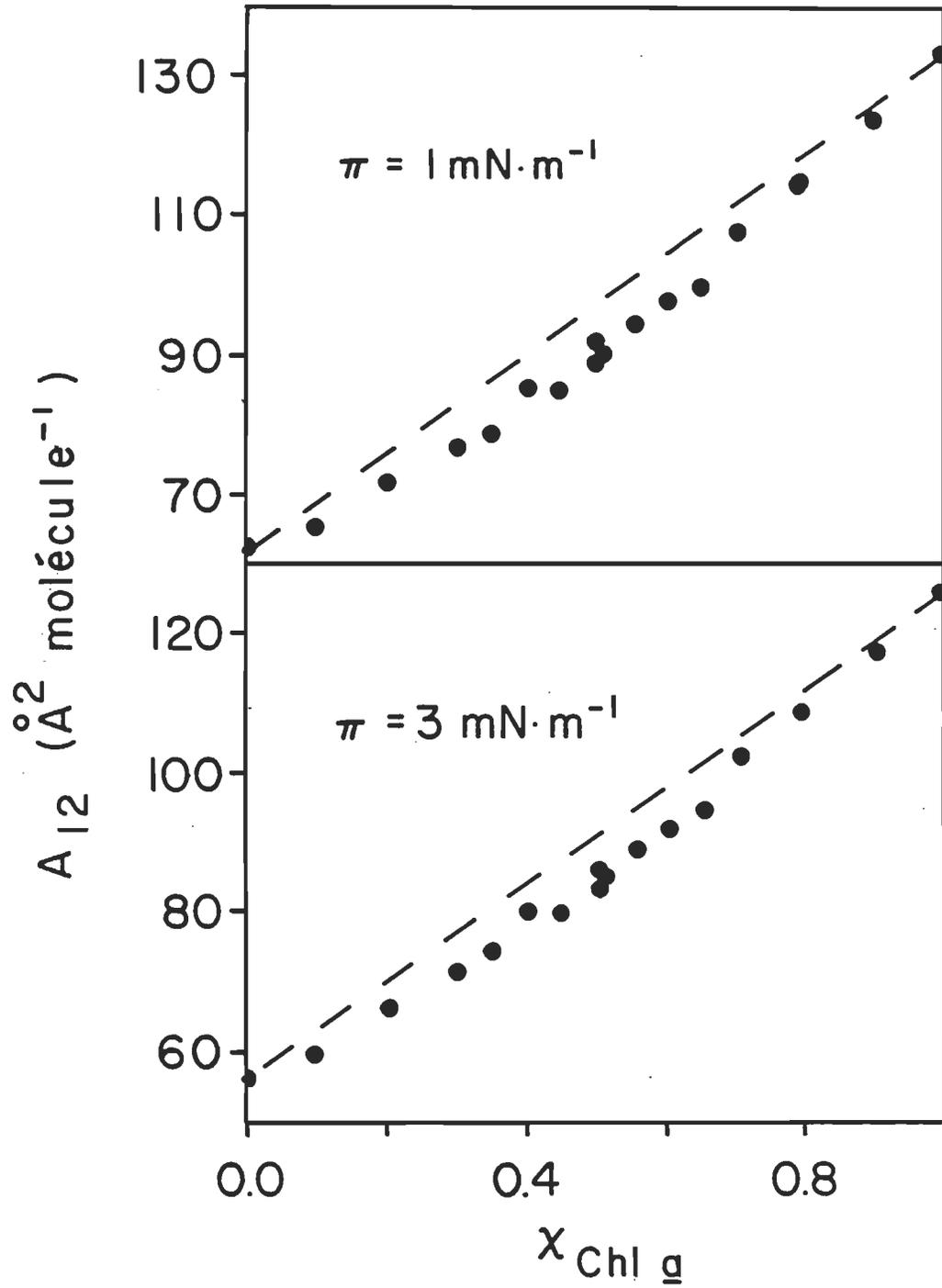


Figure 32. Comparaison des valeurs d'aire moléculaire expérimentales (●) et prédites par la loi d'additivité (---) pour le système Chl a/PQ 3.

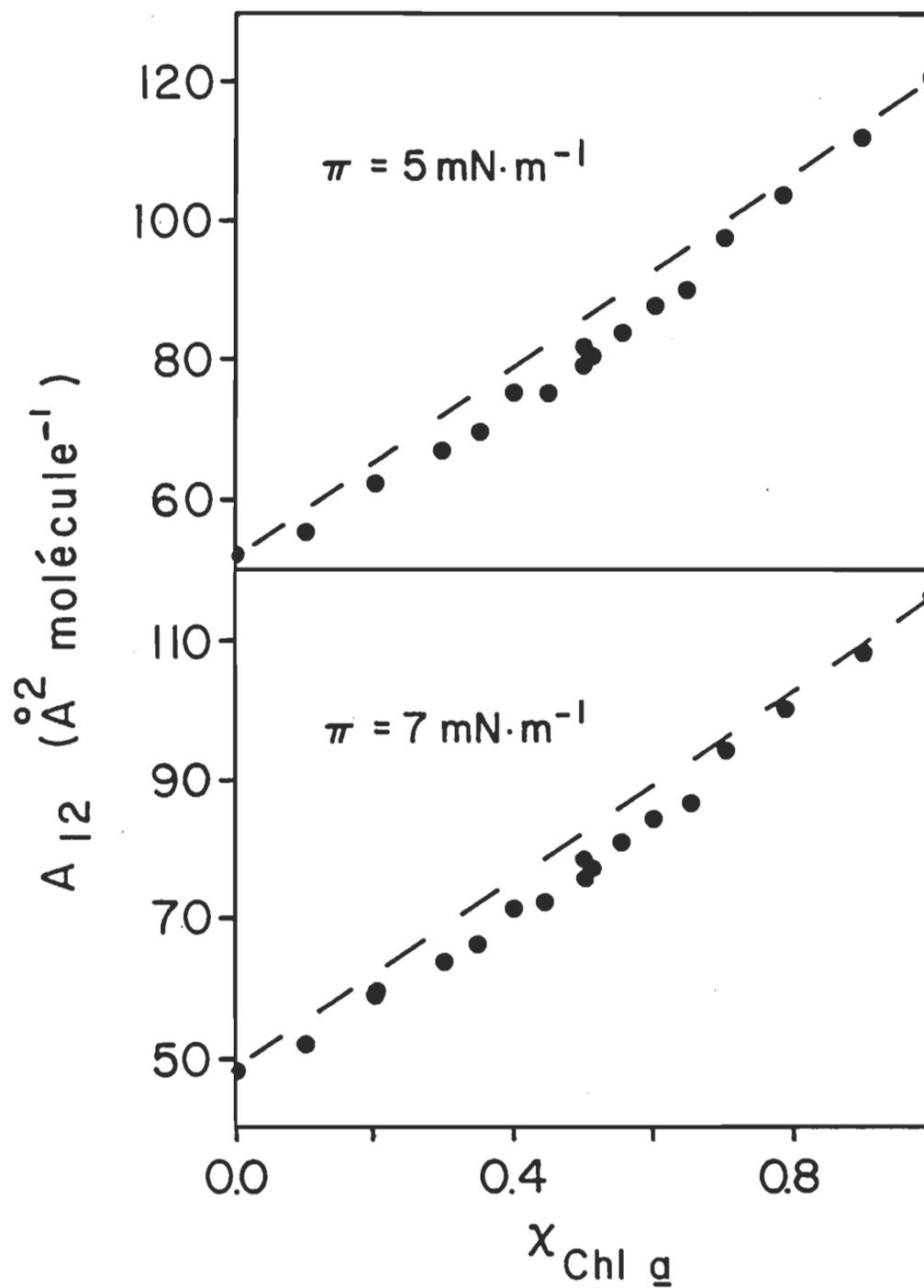


Figure 33. Comparaison des valeurs d'aire moléculaire expérimentales (●) et prédites par la loi d'additivité (—) pour le système Chl a/PQ 3.

Pour toutes les pressions de surface auxquelles le film monomoléculaire est stable et pour toutes les fractions molaires, on a la relation suivante

$$A_{12} < X_1A_1 + X_2A_2$$

i.e. qu'on observe une déviation négative par rapport à la loi d'additivité. La chl a et la PQ 3 sont donc miscibles dans les films monomoléculaires, et ce à toutes les fractions molaires et toutes les pressions de surface pour lesquelles le film monomoléculaire est stable.

Cette dernière conclusion est appuyée par la variation de la pression de surface au collapse avec la fraction molaire du mélange. La règle des phases en deux dimensions peut s'appliquer au système chl a/PQ 3 et le comportement de la pression de surface au collapse correspond bien à celui attendu lorsque les composés sont miscibles (voir la figure 18). Cette miscibilité de la chl a et de la plastoquinone 3 déduite par la règle des phases en deux dimensions vient renforcer, si besoin était, la conclusion précédemment établie par l'analyse des résultats selon la loi d'additivité.

Les énergies libres de mélange en excès furent calculées pour les pressions de surface de 1, 3, 5 et 7 mN/m. Les résultats sont présentés sous forme de graphique dans les figures 34, 35, 36 et 37. L'énergie libre de mélange en excès optimale augmente régulièrement avec la

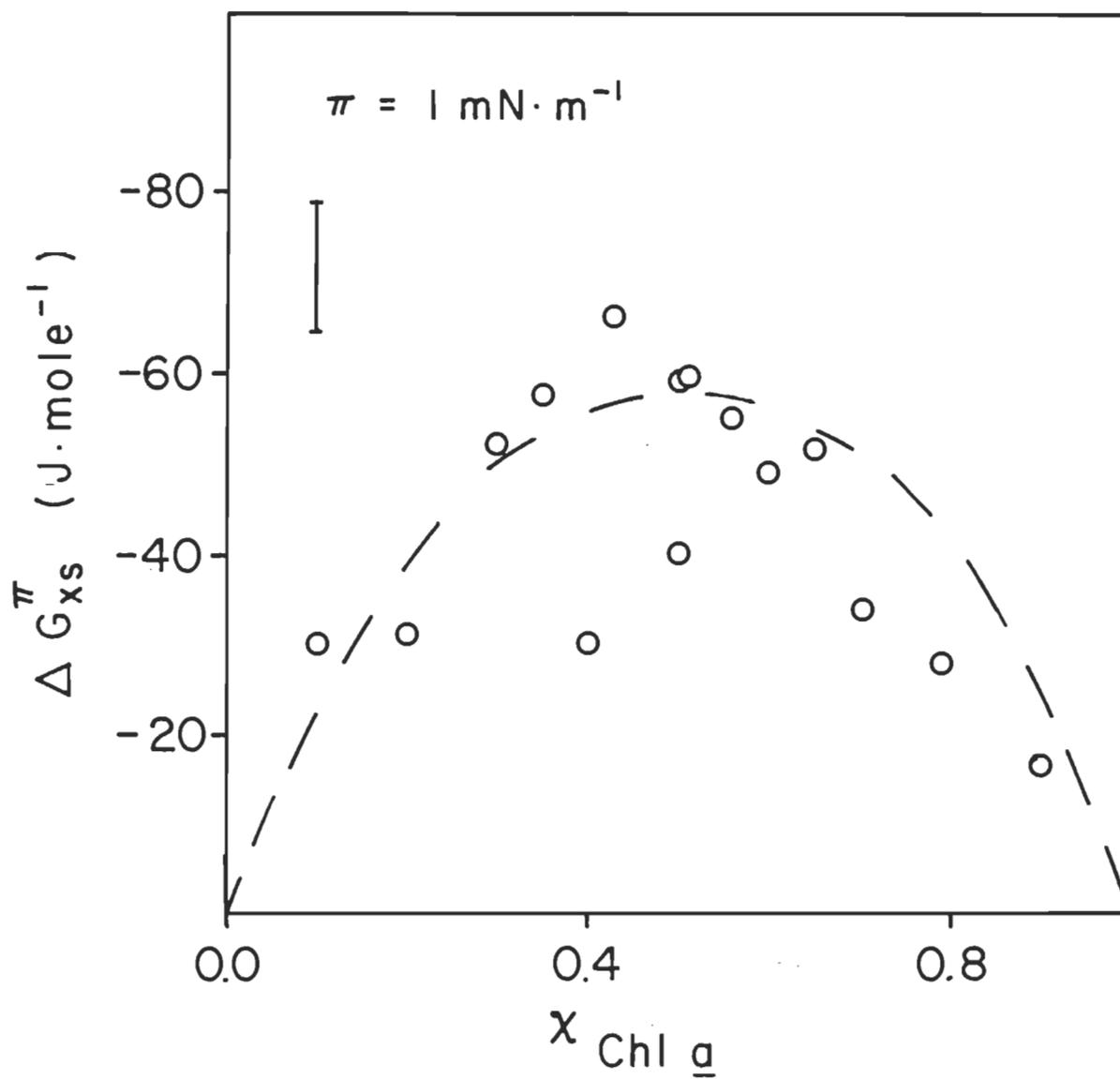


Figure 34. Valeurs d'énergie libre de mélange en excès pour le système Chl a/PQ 3 à $\pi=1$ mN/m.

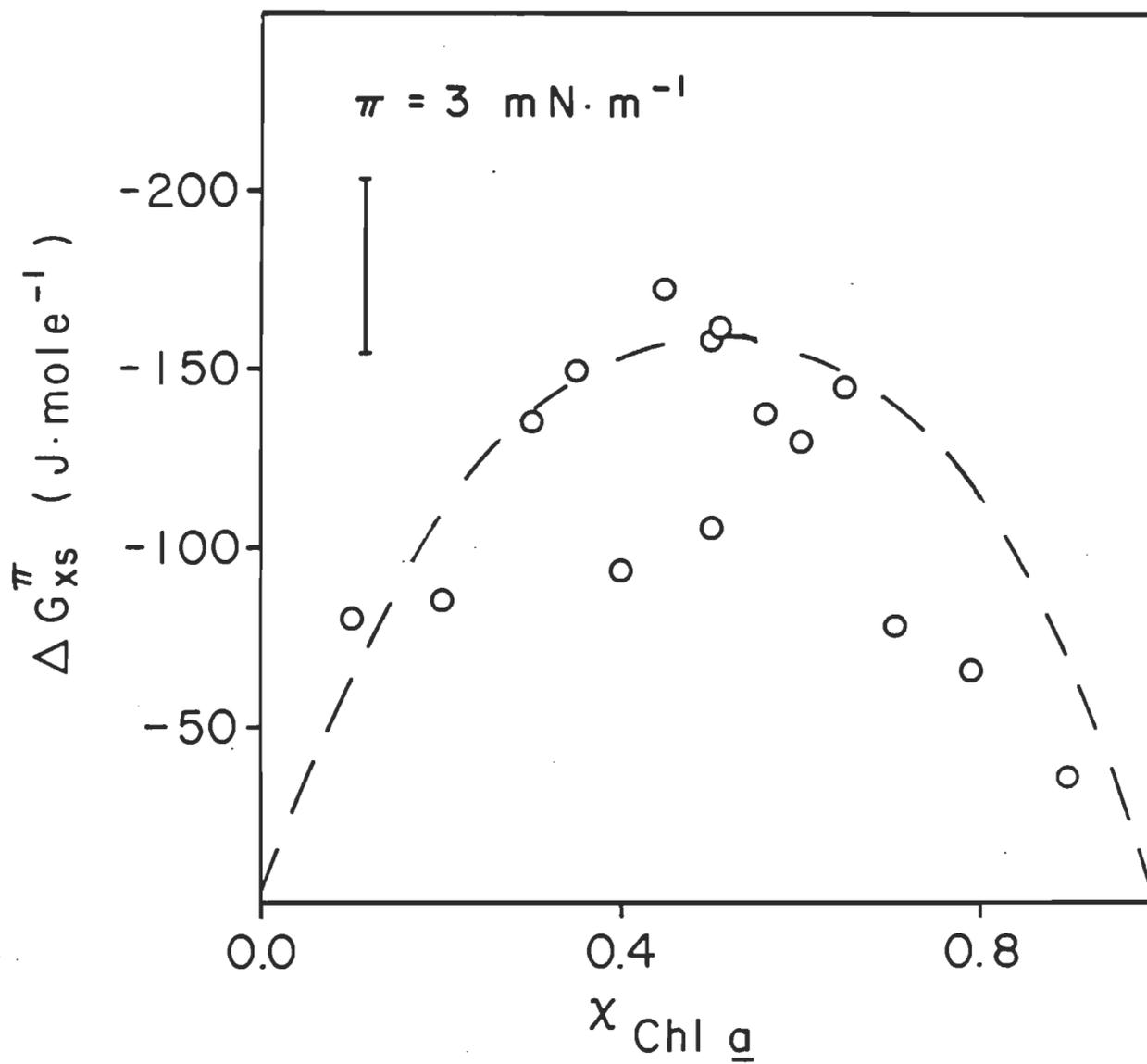


Figure 35. Valeurs d'énergie libre de mélange en excès pour le système Chl a/PQ 3 à $\pi=3 \text{ mN/m}$.

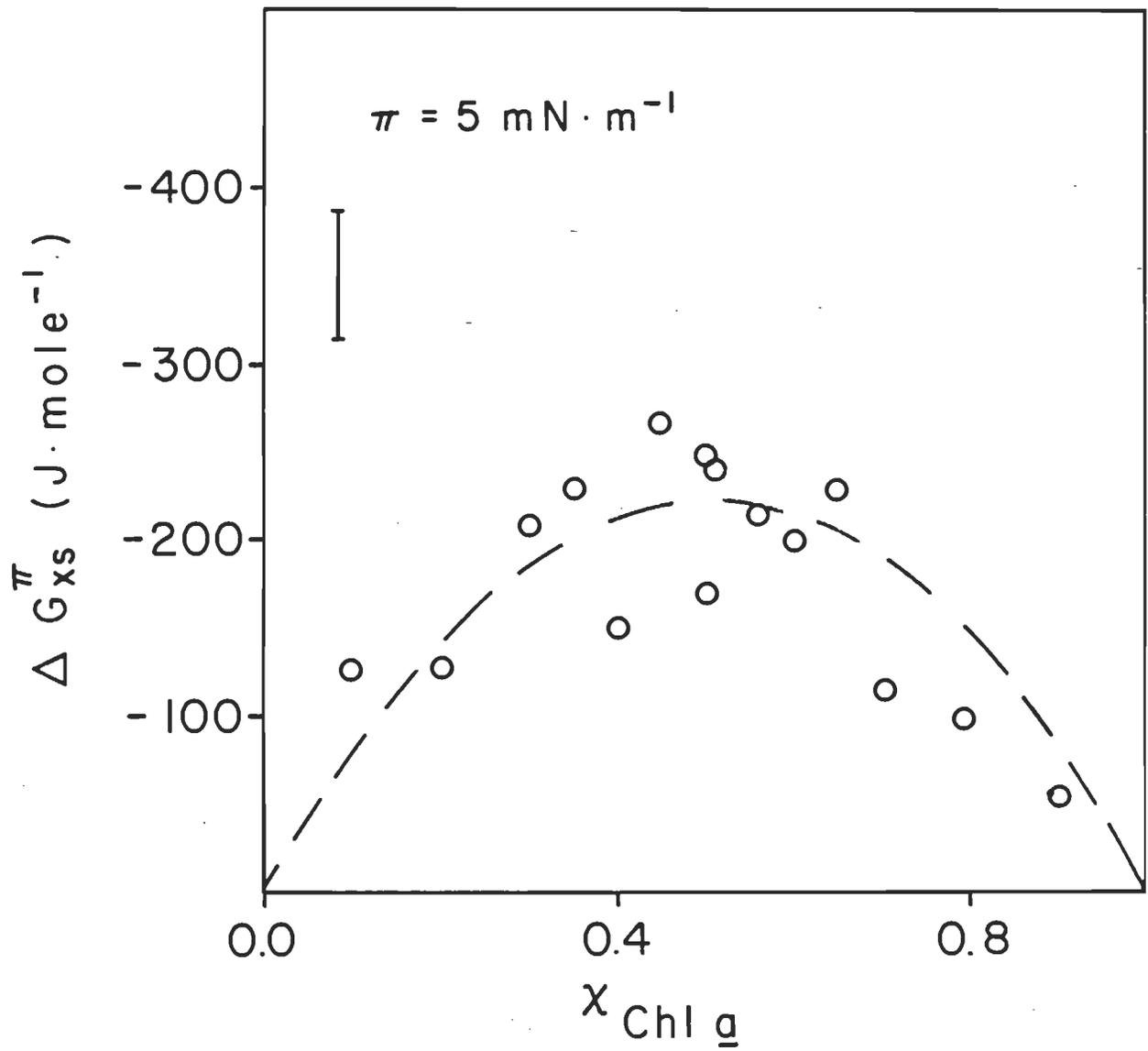


Figure 36. Valeurs d'énergie libre de mélange en excès pour le système Chl a/PQ 3 à $\pi=5 \text{ mN/m}$.

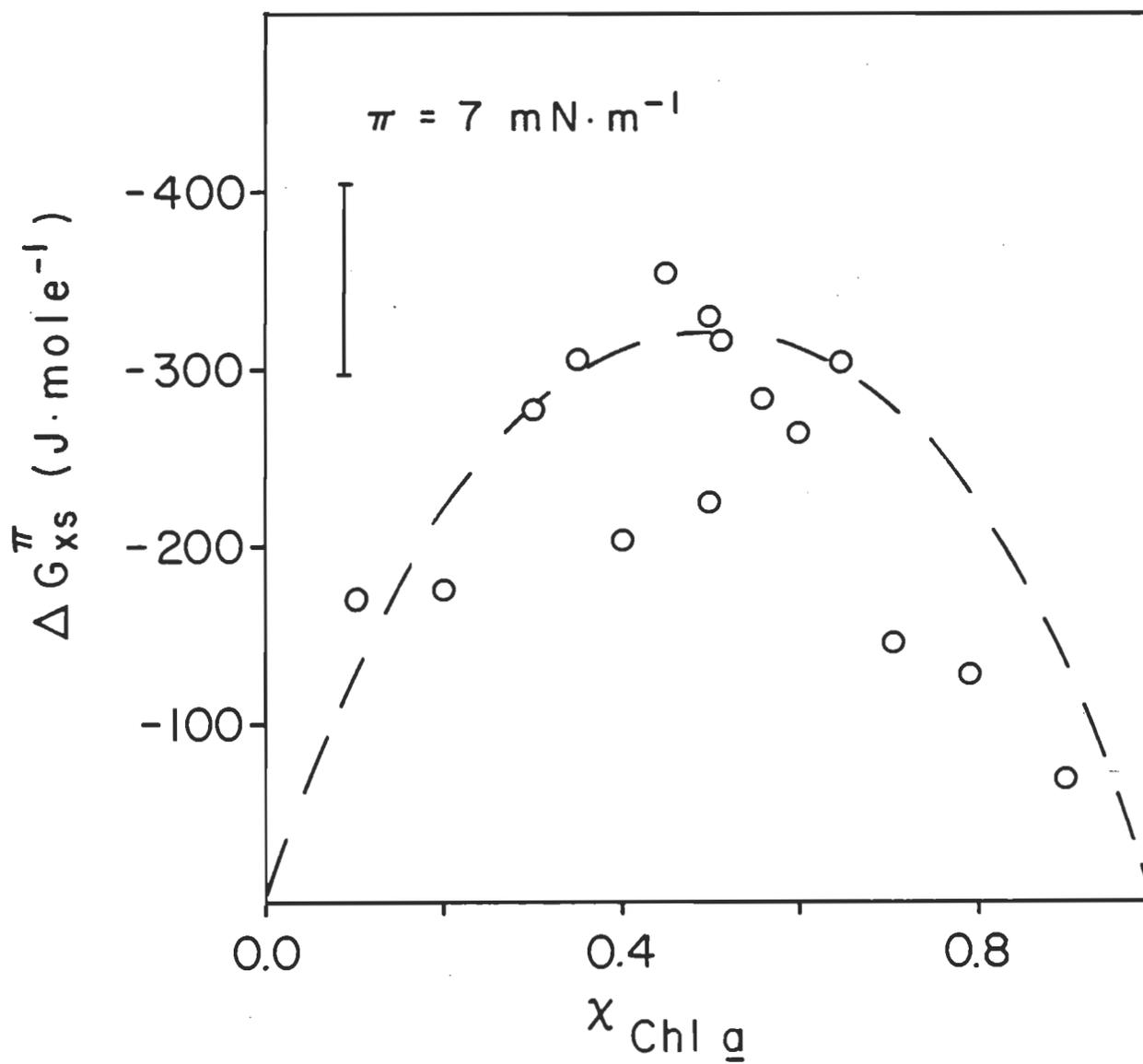


Figure 37. Valeurs d'énergie libre de mélange en excès pour le système Chl a/PQ 3 à $\pi=7 \text{ mN/m}$.

pression de surface considérée (-76, -170, -270 et -360 J/mole respectivement), cet extrémum étant situé à la fraction molaire 0.5.

En cours de compression, le potentiel de surface du film de PQ 3 varie de 272 à 301 mV et sa courbe de moment dipolaire a une pente positive (voir la figure 24). L'écart maximal entre une quelconque isotherme de potentiel de surface et la valeur moyenne est de 17 mV.

Les potentiels de surface des mélanges chl a/PQ 3 sont donnés dans les figures 38, 39, 40 et 41, conjointement avec les valeurs calculées selon la loi d'additivité et celles obtenues au moyen de l'équation 4. Les valeurs V' présentent la même allure générale que celles observées dans le cas du système chl a/ α -TQ. $V' > V_{12}$ comme il convient de s'y attendre du fait que $A < A_{12}$. L'écart maximal entre V' et V_{12} survient à une fraction molaire de 0.5.

L'examen des valeurs expérimentales de potentiel de surface montre qu'elles sont très dispersées. Tout mauvais fonctionnement de l'électrode de potentiel de surface et du système de mesure l'accompagnant est à exclure des explications. Les isothermes de potentiel de surface des films purs de PQ 3 et de chl a furent réalisées en même temps que celles des mélanges binaires et rien dans leur allure ne permet d'envisager un mauvais fonctionnement du système de mesure. Cette dispersion dans les valeurs de potentiel de surface empêche toute conclusion sur la base de ces données.

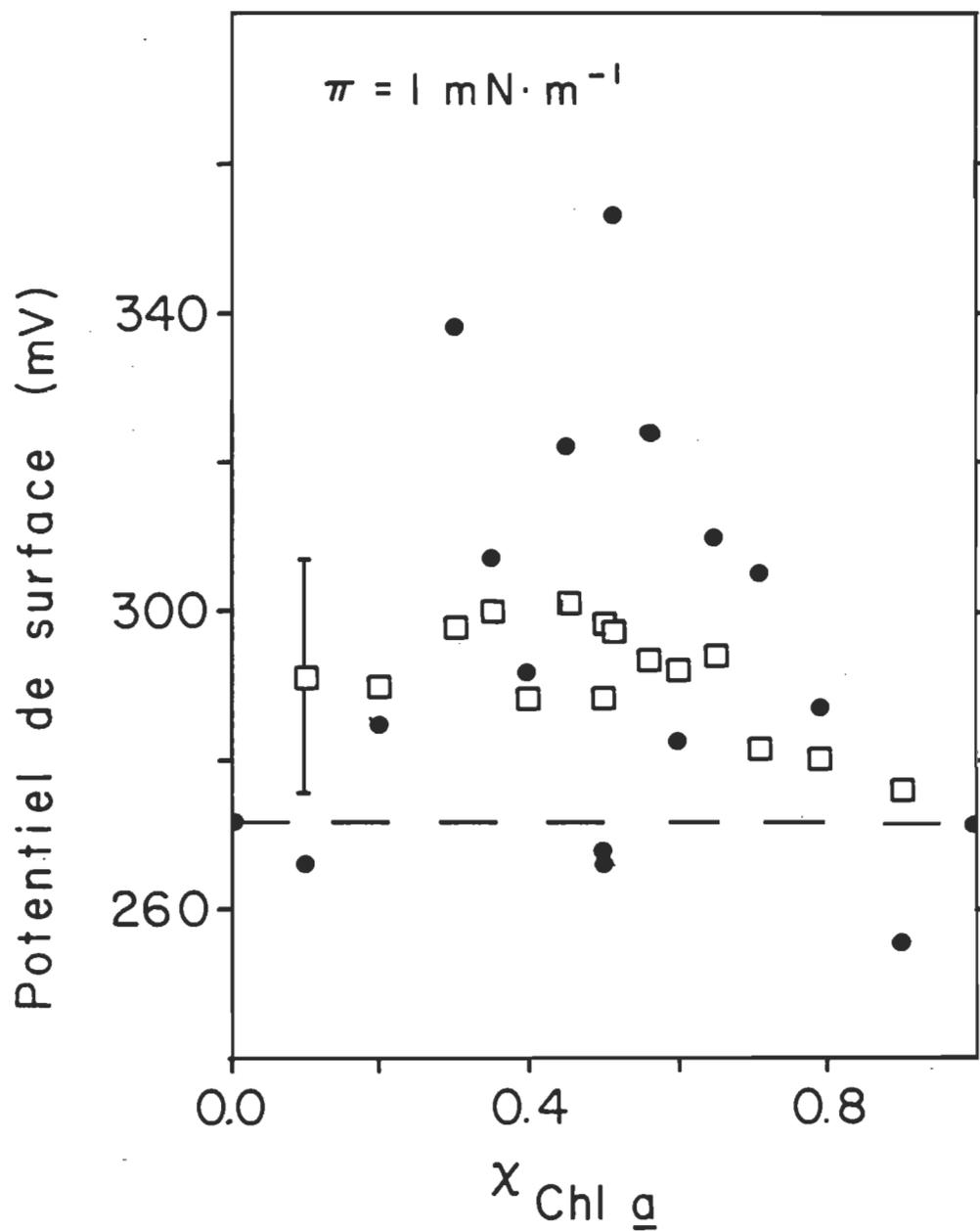


Figure 38. Comparaison entre les valeurs de potentiel de surface prédites par la loi d'additivité (---), par l'équation 4 (□) et les valeurs expérimentales (●) à $\pi=1 \text{ mN/m}$ pour le système Chl a/PQ 3.

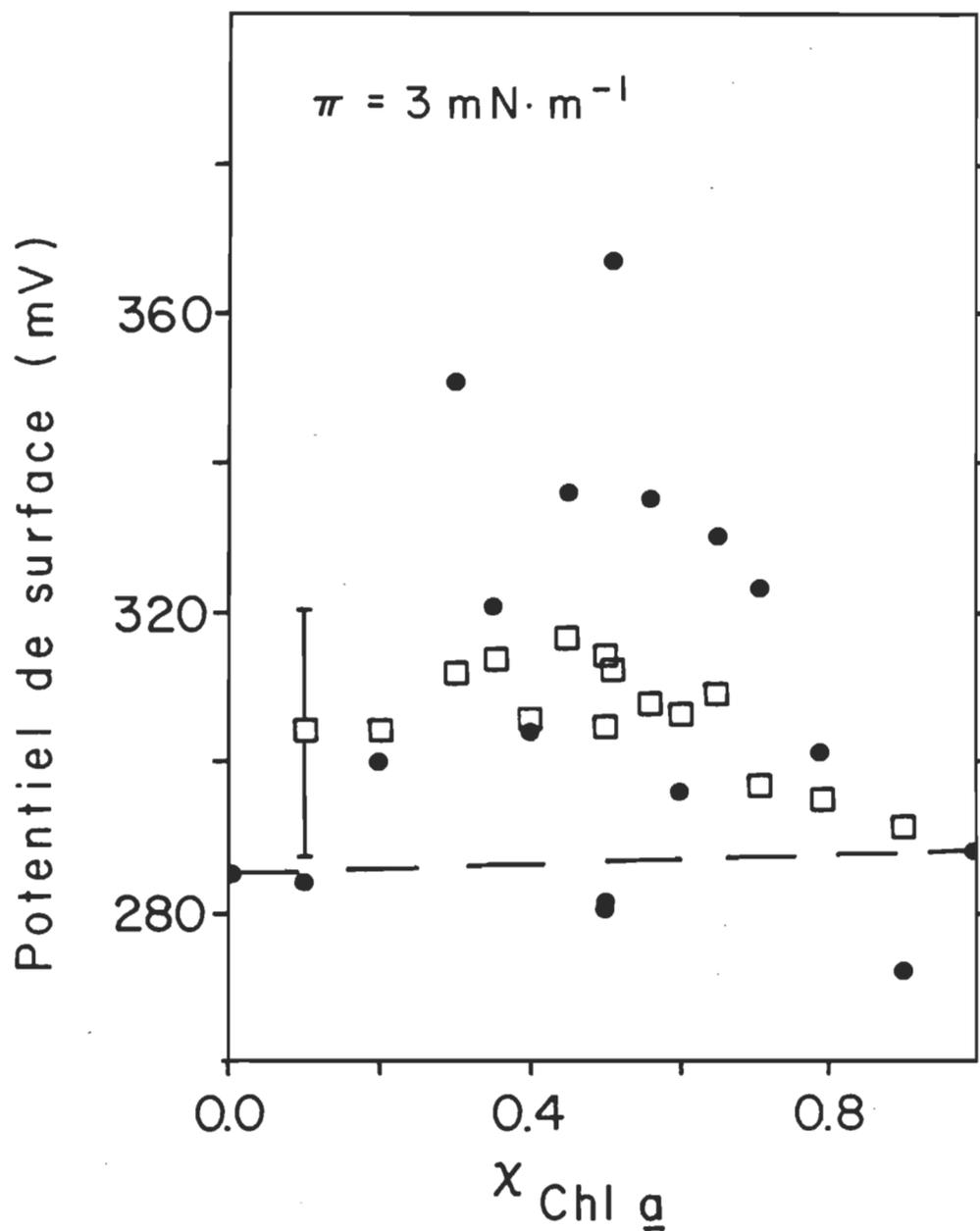


Figure 39. Comparaison entre les valeurs de potentiel de surface prédites par la loi d'additivité (---), par l'équation 4 (□) et les valeurs expérimentales (●) à $\pi=3 \text{ mN/m}$ pour le système Chl a/PQ 3.

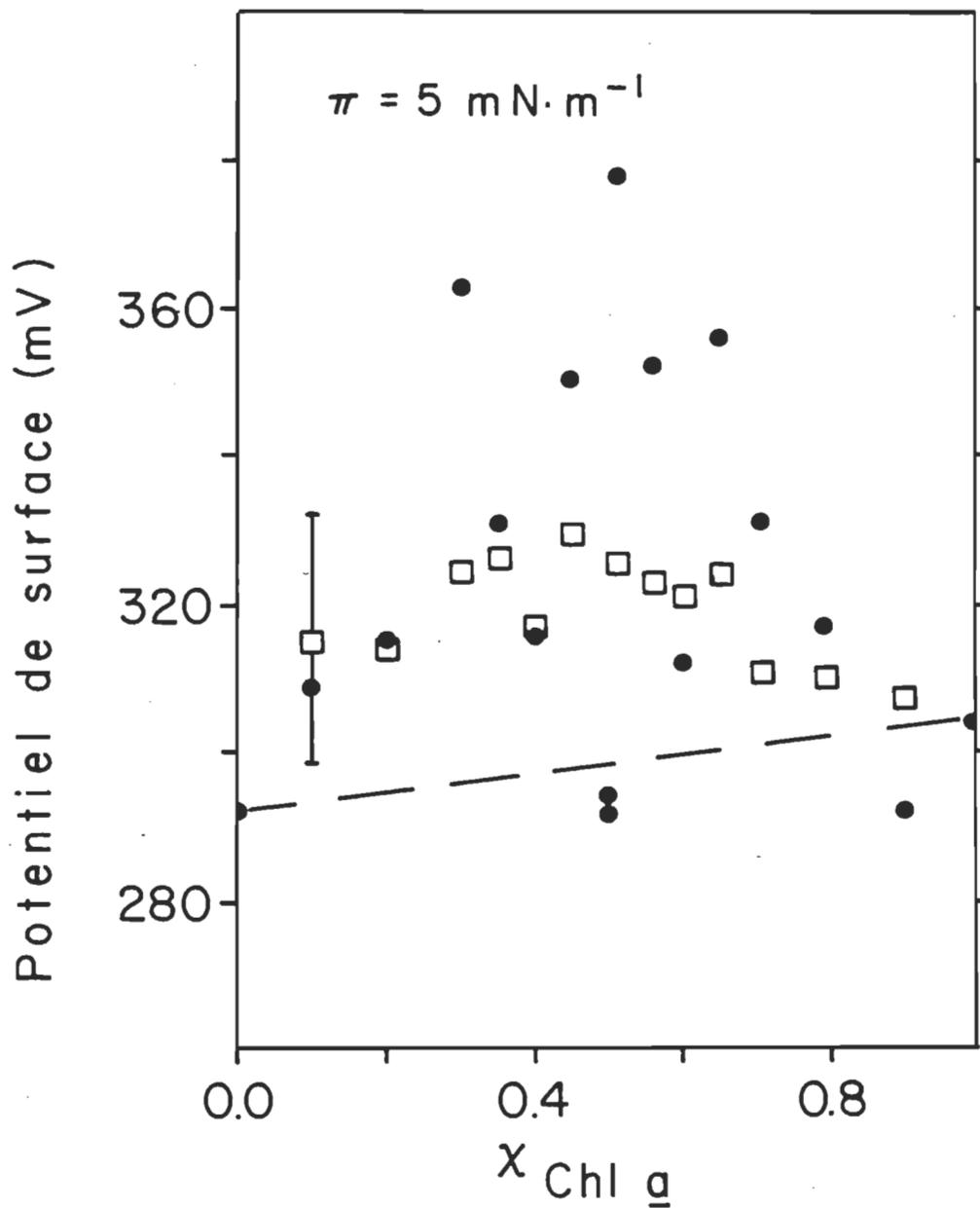


Figure 40. Comparaison entre les valeurs de potentiel de surface prédites par la loi d'additivité (— —), par l'équation 4 (□) et les valeurs expérimentales (●) à $\pi=5 \text{ mN/m}$ pour le système chl a/PQ 3.

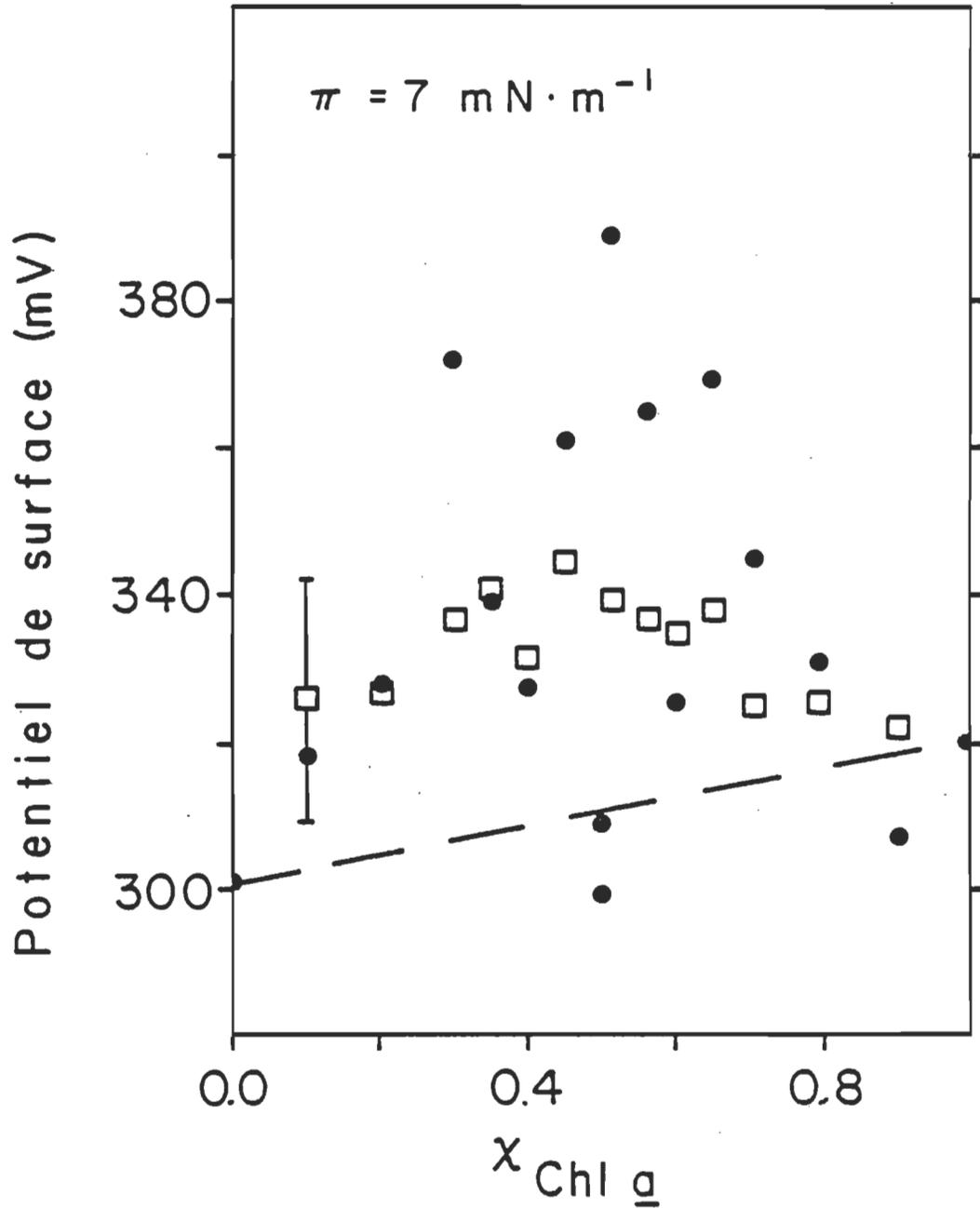


Figure 41. Comparaison entre les valeurs de potentiel de surface prédites par la loi d'additivité (---), par l'équation 4 (□) et les valeurs expérimentales (●) à $\pi=7 \text{ mN/m}$ pour le système Chl a/PQ 3.

Le graphique de la figure 42 montre clairement les différences entre les mélanges des systèmes chl a/PQ 3 et chl a/ α -TQ. Calculées pour une pression de surface de 7 mN/m (à cette pression de surface, les deux films monomoléculaires sont stables), les données expérimentales montrent que la valeur minimale de l'énergie libre de mélange en excès du système chl a/PQ 3 est environ 1.5 fois plus élevée (en valeur absolue) que celle du système chl a/ α -TQ. Présentée de cette façon, la figure met également en évidence la différence dans la position de l'extrémum de la courbe (fraction molaire de 0.5 dans le cas de la PQ 3 et 0.65 dans celui de l' α -TQ).

4.5 Système chl a/plastoquinone 9

Les isothermes de pression de surface de la PQ 9 sont présentées dans la figure 43, le tracé a pour l'échantillon purifié et le tracé c pour celui non-purifié. La PQ 9 a une faible pression de surface au collapse (1.3 mN/m). Les courbes a et c diffèrent par leur pression au collapse (respectivement 1.3 et 1.5 mN/m), de même que par les valeurs d'aire moléculaire limite apparente (78.0 et 73.5 Å² par molécule). Encore une fois, ces différences entre les isothermes de pression de surface sont à imputer aux modifications dans la composition des échantillons suite à leur purification.

Les fractions molaires de 0.25, 0.50 et 0.75 furent étudiées et leur courbe de pression de surface est représentée dans la figure 43.

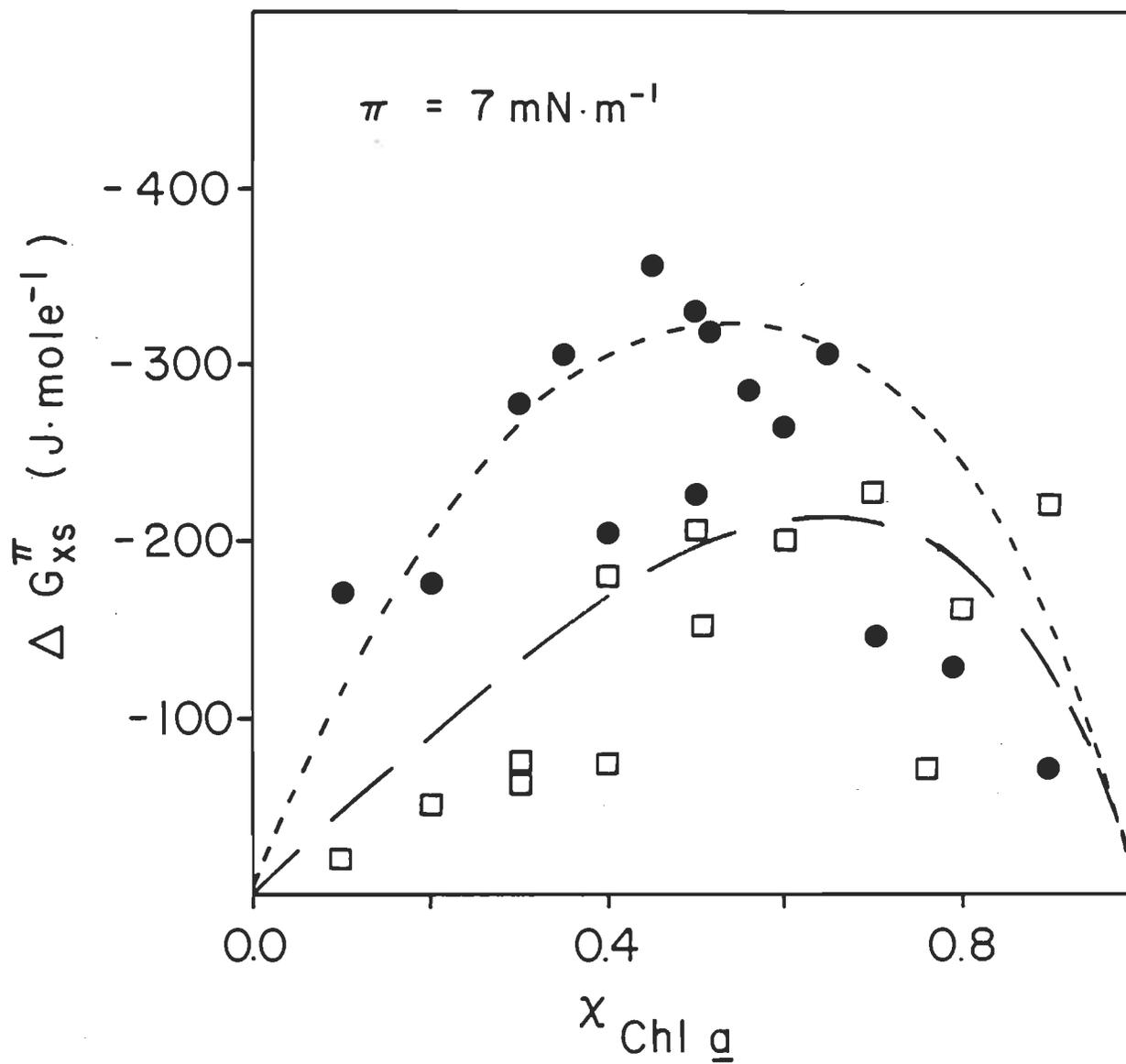


Figure 42. Comparaison entre les valeurs d'énergie libre de mélange en excès pour les systèmes Chl a/α-TQ (□) et Chl a/PQ 3 (●) à $\pi = 7 \text{ mN/m}$.

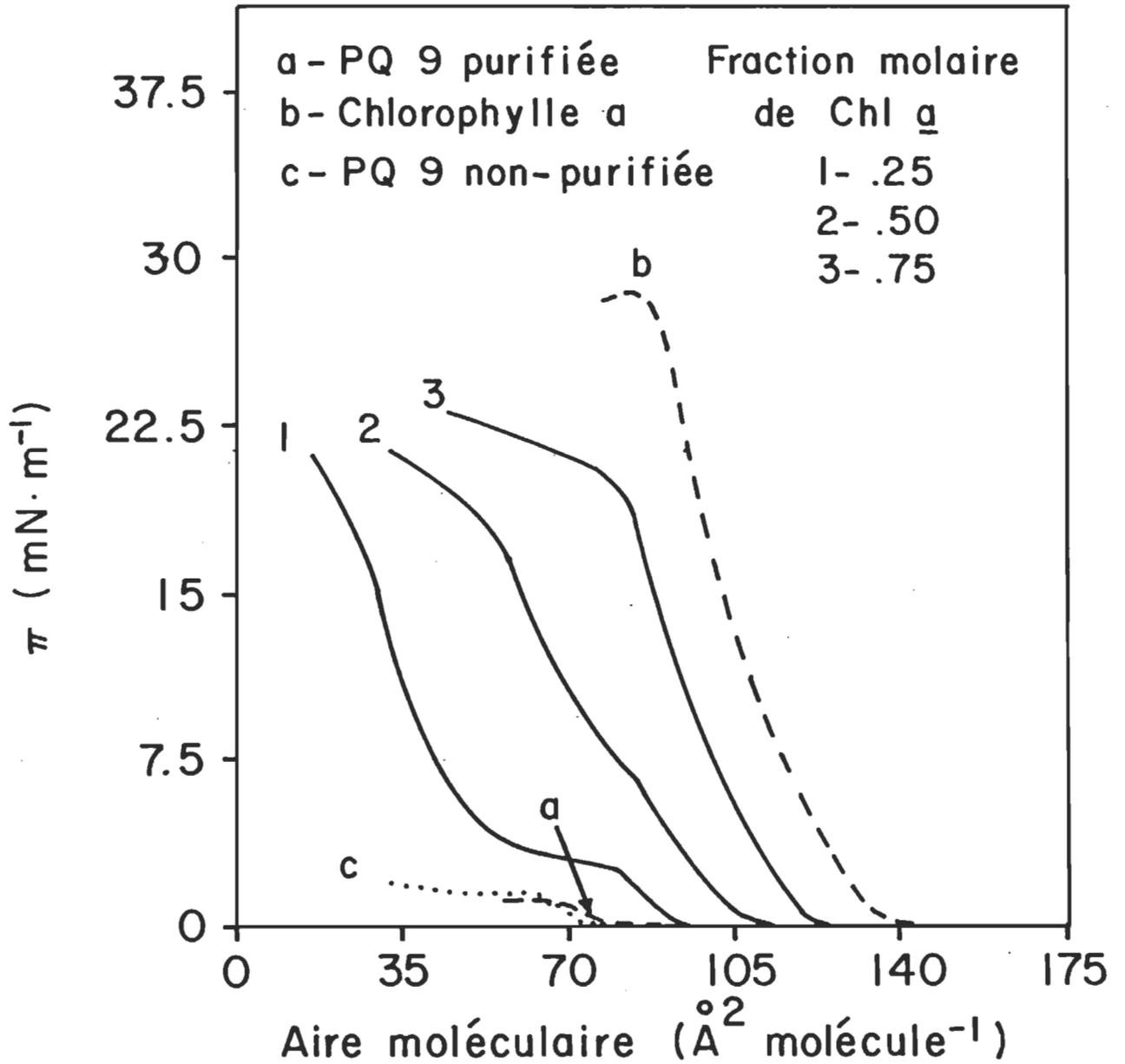


Figure 43. Isothermes de pression de surface des mélanges Chl a/PQ 9.

L'analyse des mélanges selon la loi d'additivité à $\pi = 0.75$ mN/m est présentée dans le tableau 3.

Tableau 3

Comparaison entre les aires moléculaires expérimentales et théoriques pour le système chl a/PQ 9 à $\pi = 0.75$ mN/m

Fraction molaire de chl <u>a</u>	Aire moléculaire du mélange (A ² /molécule)	Aire moléculaire calculée (A ² /molécule)
0.25	89.1	87.4
0.50	103.2	103.2
0.75	118.5	118.6

Cette comparaison des valeurs calculées et des valeurs expérimentales montre qu'à une pression de surface de 0.75 mN/m, les mélanges chl a/plastoquinone 9 se conforment à la loi d'additivité. On ne peut donc, sur la base de ces seules informations, conclure à la miscibilité de ces molécules dans les films monomoléculaires.

Cependant, la présence d'un point d'inflexion dans l'isotherme de pression de surface des mélanges de fraction molaire 0.25 et 0.50 nous permet de parvenir à cette conclusion. En effet, lorsque deux molécules ne sont pas miscibles, les propriétés mécaniques des films mixtes sont

données par la moyenne des propriétés des films purs. Si la chl a et la PQ 9 sont non-miscibles dans les films monomoléculaires, les isothermes de pression de surface des mélanges ne devraient pas présenter les points d'inflexion observés ($[80.5 \text{ \AA}^2/\text{molécule}, 2.7 \text{ mN/m}]$ et $[87.5 \text{ \AA}^2/\text{molécule}, 6.8 \text{ mN/m}]$). Ces points d'inflexion dans l'isotherme de pression de surface des mélanges ont leur contre-partie dans l'isotherme de potentiel de surface. On observe en effet un point d'inflexion dans les isothermes de potentiel de surface aux aires moléculaires correspondantes (voir la figure 44).

Nous nous sommes assuré que la position du point d'inflexion dans la courbe de pression de surface était indépendante de la direction par laquelle on l'approchait. Pour ce faire, nous avons comprimé le mélange de fraction molaire 0.25 jusqu'à une pression de surface de 8 mN/m, i.e. jusqu'à une pression de surface supérieure à celle où l'on observe le point d'inflexion. Nous avons par la suite décomprimé le film monomoléculaire pour observer que l'isotherme de décompression se superposait à l'isotherme de compression. Nous avons ensuite recomprimé le film monomoléculaire, cette fois jusqu'à une pression de surface de 25 mN/m, i.e. jusqu'à une pression de surface supérieure à celle où l'on observe le deuxième point d'inflexion. A partir de ce point, l'isotherme mesurée en recomprimant à nouveau le film monomoléculaire ne se superpose plus aux isothermes précédents; elle a même allure générale, mais est décalée vers les plus petites aires moléculaires.

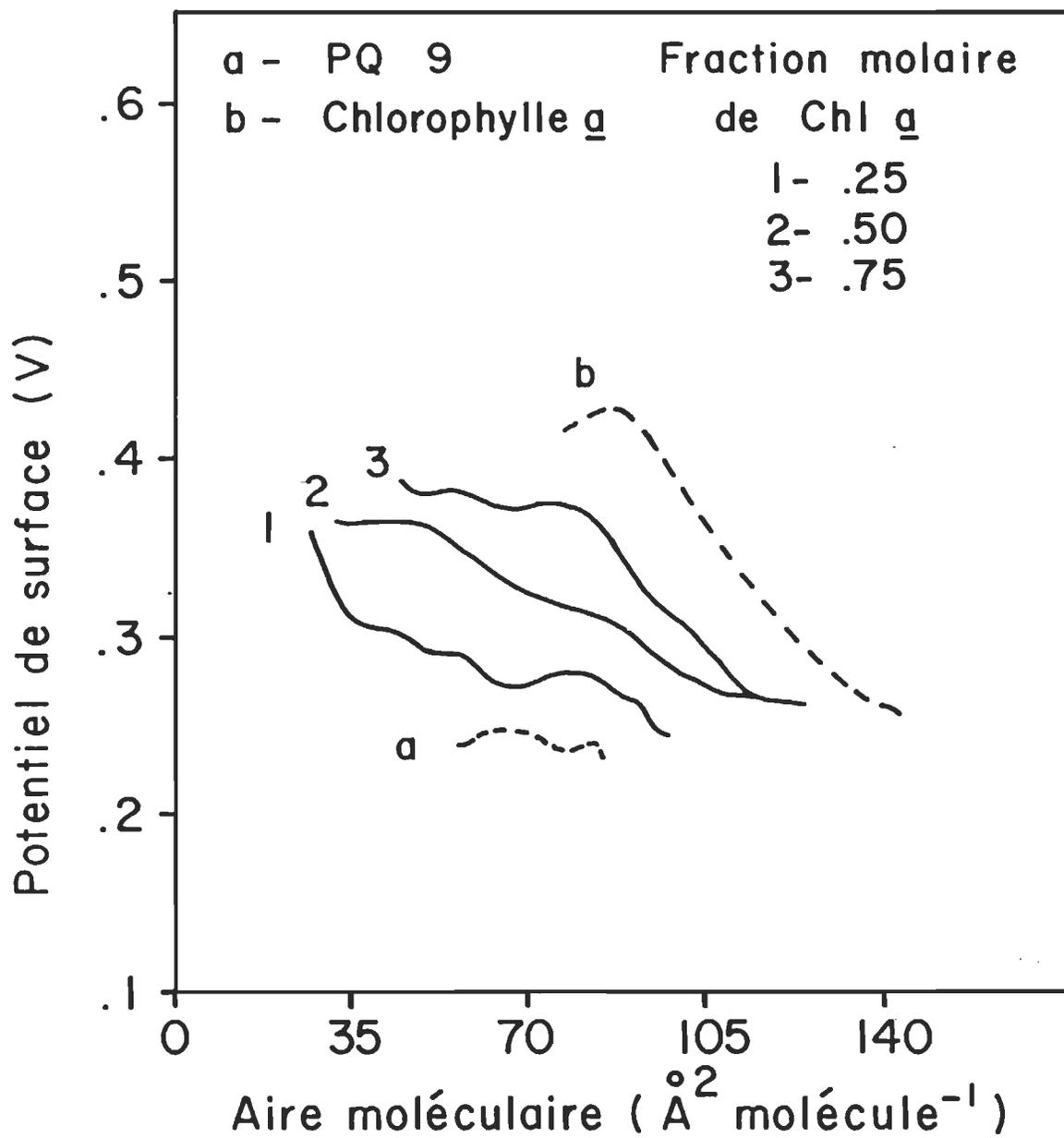


Figure 44. Isothermes de potentiel de surface des mélanges Chl a/PQ 9.

Ces données viennent appuyer l'analyse que nous faisons précédemment et à partir de laquelle nous avons conclu à la miscibilité de la chl a et de la PQ 9 dans les films monomoléculaires. Le fait que la position du premier point d'inflexion de l'isotherme de pression de surface du mélange de fraction molaire 0.25 ne dépend pas de la direction par laquelle on l'approche nous incite à le considérer comme une transition entre deux états du même film monomoléculaire; dès lors, nous pouvons appliquer l'argument développé par Crisp pour décider de la miscibilité des composés. La position de ce point d'inflexion variant avec la composition du film, nous pouvons conclure à la miscibilité des molécules dans le film monomoléculaire.

CHAPITRE V

INTERPRETATION DES RESULTATS

Les caractéristiques des isothermes de pression de surface de nos composés (chl a, α -TQ, PQ 2, PQ 3 et PQ 9) nous permettent de les classer dans la catégorie des monocouches à l'état liquide. Les isothermes de pression de surface de ces molécules ont une courbure importante et les aires moléculaires sont dans la gamme caractérisant cet état de la monocouche (entre 60 et 120 A² par molécule; voir Gaines (1966)). Bien que l'on ait distingué entre deux états possibles des films liquides ("liquid expanded films" et "liquid condensed films" dans la terminologie employée par Adamson (1976)), la régularité de nos isothermes de pression de surface, l'absence de point d'inflexion dans la courbe nous empêche de les classer avec certitude dans l'une ou l'autre de ces catégories.

En utilisant les données expérimentales présentées par Tancredi et coll. (1982) pour le phytol et celles de Gaines et coll. (1965) pour la vitamine K₁ (les mesures expérimentales de ces deux équipes furent conduites sur un tampon phosphate, 10⁻³ M, pH = 8.0), nous pouvons discerner l'influence de la tête polaire de la molécule sur l'allure de l'isotherme de pression de surface. Pour toutes les pressions de surface où la comparaison est possible, on observe que l'aire moléculaire occupée par le film augmente selon la série phytol, vitamine K₁, α -TQ,

chl a. Ces molécules sont toutes constituées de la même partie hydrophobe et il devient évident que la pression de surface n'est pas uniquement déterminée par la chaîne hydrocarbonée de la molécule. Si l'on pousse un peu plus loin la comparaison, on peut constater que la série ci-haut énumérée correspond à celle établie en prenant la taille de la tête polaire des molécules comme critère de classement. En effet, l'examen des figures 3, 4 et 5 montre que la grosseur de la tête polaire va en croissant selon la série phytol, vitamine K₁, α -TQ et chl a.

Cette observation est intéressante et nous permet une certaine généralisation. Ainsi, une isotherme de pression de surface de l' α -tocophérol (qui possède la même chaîne hydrocarbonée que le phytol, la vitamine K₁, l' α -TQ, et la chl a) devrait présenter des aires moléculaires du même ordre de grandeur que celles de la vitamine K₁, en raison de la similitude dans la taille des têtes polaires de ces deux molécules. L'isotherme de pression de surface de l' α -tocophérol présentée par Liljenberg et coll. (1981) montre que c'est effectivement le cas, cette isotherme se confondant même avec celle de la vitamine K₁ (Gaines (1965)).

Langmuir a le premier présenté un modèle pour rendre compte des isothermes de pression de surface des films liquides, modèle qui prend en considération la taille des molécules. Dans ce modèle, (Gaines (1966)), la partie supérieure de la monocouche (région des queues hydrophobes) est assimilée à un liquide non-polaire tandis que la contribution des têtes polaires à la pression de surface est donnée par une

expression analogue à celle prévalant pour les monocouches à l'état gazeux avec, pour tenir compte de la portion non-négligeable de la surface occupée par les molécules du film, un terme de correction A_0

$$(\pi - \pi_0) (A - A_0) = kT.$$

Dans ce modèle, une fraction de la pression de surface mesurée est due à la partie hydrophobe du film monomoléculaire (π_0), alors que l'énergie cinétique des molécules du film (kT) est responsable de l'autre fraction ($A - A_0$). En portant en graphique $(\pi - \pi_0)$ en fonction de $(A - A_0)$, on peut déplacer la courbe obtenue de manière à la superposer aux diverses isothermes de pression de surface. Les origines des deux courbes ne coïncideront pas mais leur position relative nous fournira des valeurs empiriques de π_0 et A_0 . En nous servant des données expérimentales de Tancredi et coll. (1982) et de Gaines (1965), nous avons pu établir le tableau 4.

L'isotherme de pression de surface de la PQ 2 n'a pas été analysée de cette façon. La PQ 2 ne forme pas un film stable et, conséquemment, le sens à attribuer à son isotherme de pression de surface n'apparaît pas clairement (voir la section 4.3). La juxtaposition de la courbe calculée et de l'isotherme de pression de surface est excellente sur toute la gamme des pressions de surface pour la vitamine K₁, le phytol et les plastoquinones 3 et 9. Elle est excellente pour l' α -TQ jusqu'à 16 mN/m et l'écart entre les deux courbes est de 3.7 Å²/molécule à

Tableau 4

Valeurs empiriques de $(-A_0)$ et $(-\pi_0)$

Molécule	$-A_0$ ($\text{Å}^2/\text{molécule}$)	$-\pi_0$ (mN/m)
PQ 9	8.8	6.0
phytol	19.5	13.8
PQ 3	22.9	8.4
vitamine K_1	32.5	16.0
α -TQ	54.0	8.4
chl <u>a</u>	90.0	8.3

24 mN/m. Pour la chl a, la juxtaposition est excellente jusqu'à 10.5 mN/m et l'écart entre les deux courbes est de 10 $\text{Å}^2/\text{molécule}$ à $\pi = 24$ mN/m.

Le tableau 4 fut construit en respectant l'ordre croissant du paramètre $(-A_0)$. La série phytol, vitamine K_1 , α -TQ et chl a est encore obtenue au terme de ce classement. Le paramètre $(-A_0)$ représente la partie de la surface occupée par les molécules du film et il va de soi que la valeur de ce paramètre augmente avec la grosseur de la tête polaire de la molécule lorsque l'on passe du phytol à la chl a. Par con-

tre, la différence entre les valeurs ($-A_0$) des plastoquinones 3 et 9 est frappante. Ces deux molécules ont la même tête polaire et si ($-A_0$) doit être lié à la fraction de la surface occupée par la tête polaire de la molécule formant le film, on devrait trouver des valeurs identiques pour ces deux molécules. Cette différence n'est pas non plus rationnalisable si ($-A_0$) doit être rattachée à la fraction de la surface occupée par la molécule entière (tête polaire et queue hydrophobe). La PQ 9 a une taille plus importante que la PQ 3 et devrait avoir une valeur ($-A_0$) plus grande. De plus, selon les termes du modèle, les isothermes de pression de surface de ces quatre molécules (phytol, vitamine K₁, α -TQ et chl-a) devraient, en raison de l'identité de leur chaîne hydrocarbonée, présenter la même valeur ($-\pi_0$). Il n'en est rien et le modèle révèle ici l'une de ces limites. Il est possible de trouver des paramètres ($-A_0$) et ($-\pi_0$) permettant de reproduire les résultats expérimentaux et, si l'on parvient avec quelque succès à lier le sens de ($-A_0$) à la taille de la molécule, le paramètre ($-\pi_0$) semble dépourvu de signification consistante. Ceci étant établi, il serait hasardeux de conclure, sur la base de valeurs identiques du paramètre ($-\pi_0$), à une quelconque similitude de comportement de la partie hydrophobe de la PQ 3 avec celle de l' α -TQ ou de la chl a.

Une autre interprétation théorique fut développée pour tenir compte de la présence du substrat (l'eau dans la monocouche). Présentée par Lucassen-Reynders (1973 et 1976) et Motomura (1974), elle a aussi fait

l'objet d'une série de trois articles par Gaines (1978, 1978a et 1982). Ce dernier (Gaines (1978)) a montré que l'on pouvait dériver l'équation d'état suivante

$$\pi = \frac{kT}{\omega_1} \left[\ln \left(1 + \frac{\omega_1}{A-\omega_2} \right) - \ln f^{s_1} \right]$$

où π est la pression de surface;

$\omega_1 = 9.65 \text{ \AA}^2$ est assimilé à la surface occupée par une molécule d'eau;

A est l'aire moléculaire expérimentale

et ω_2 et f^{s_1} des paramètres empiriques.

ω_2 a les unités d'angstrom carrés. On l'interprète comme étant la surface occupée par la molécule formant le film monomoléculaire. L'autre paramètre, f^{s_1} , représente le coefficient d'activité de l'eau dans la monocouche. Il est possible de porter en graphique l'expression $\pi + (kT)/\omega_1 \ln f^{s_1}$ en fonction de $(A-\omega_2)$ (voir Gaines (1978)) et de juxtaposer cette courbe aux isothermes de pression de surface. La position relative des origines des deux graphiques nous renseigne sur les valeurs f^{s_1} et ω_2 .

Si cette façon d'analyser les résultats expérimentaux est plus valable (elle tient compte de l'eau présente dans la monocouche), l'image qu'elle nous fournit n'est cependant pas très claire. Le rôle joué par l'eau est tout entier résumé dans un chiffre, le coefficient d'activité de l'eau dans la monocouche.

Pour nos systèmes et ceux de Gaines (1965) et Tancredi (1982), nous avons obtenu les valeurs suivantes

Tableau 5

Valeurs empiriques des paramètres ω_2 et f^{S_1}

Molécule	ω_2 (Å^2)	f^{S_1}
PQ 9	10	1.13
Phytol	24	1.41
PQ 3	30	1.25
vitamine K_1	35	1.41
α -TQ	56	1.21
chl <u>a</u>	94	1.21

La figure 45 reproduit les isothermes de pression de surface de la PQ 3, de l' α -TQ et de la chl a avec la courbe théorique assurant la meilleure description des mesures expérimentales. Les valeurs des paramètres ω_2 et f^{S_1} furent déterminées à partir de telles courbes. Pour les autres molécules (PQ 9, phytol et vitamine K_1), le recouvrement des courbes expérimentales et théoriques est excellent sur toute l'étendue des pressions de surface.

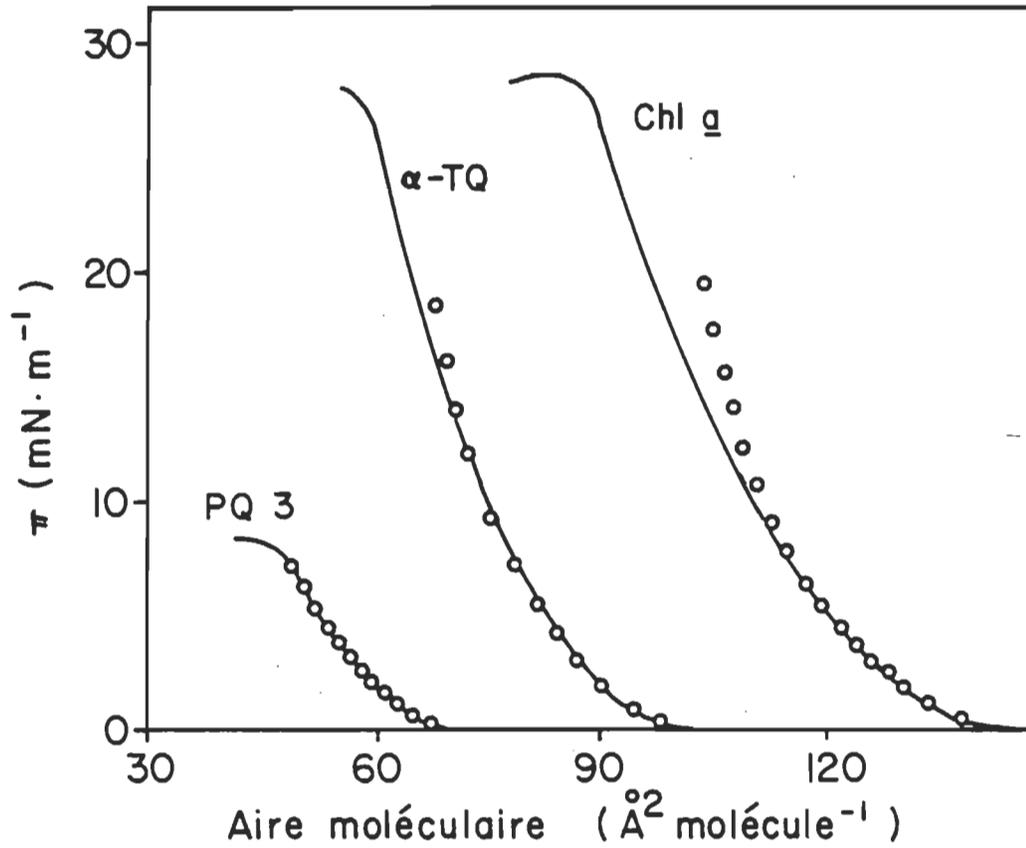


Figure 45. Comparaison entre les isothermes de pression de surface (traits pleins) et les valeurs théoriques selon Gaines (1978) (O).

La déviation entre les courbes expérimentales et théoriques observée dans le cas de la chl a n'est pas due à une quelconque instabilité du film (une telle instabilité pourrait causer une diminution de la pression de surface à aire constante). Il est possible de comprimer le film de chl a jusqu'à une pression de surface de 20 mN/m et de maintenir l'aire constante durant une période de 15 minutes sans observer de variation dans la pression de surface.

Encore une fois, le paramètre ω_2 semble lié à la taille de la molécule. Il croît selon l'importance de la tête polaire de la molécule. La PQ 9 fait toutefois exception à cette règle, une faible valeur du paramètre étant requise pour reproduire la courbure de l'isotherme de pression de surface. En se basant sur les similitudes de structure moléculaire entre la PQ 3 et la PQ 9, la différence entre les valeurs ω_2 de ces deux molécules surprend. Bien que l'analyse théorique soit d'application générale et qu'elle ne se limite pas à un état particulier de la monocouche, il est permis de se demander si la PQ 9 forme bien un film monomoléculaire de la catégorie des films "liquid condensed". La classification du film de PQ 9 parmi les films "liquid expanded" nous permettrait de considérer les transitions de phase observées dans les mélanges chl a/PQ 9 comme des transitions entre les états "liquid expanded" et "liquid condensed" du même film. A cet égard, il serait intéressant de voir l'influence de la température sur la position du point d'inflexion dans l'isotherme de pression de surface et d'en suivre l'évolution lorsque l'on varie la fraction molaire de chl a dans le film mixte.

Aucune image de niveau moléculaire ne se dégage des valeurs de f^s_1 . Gaines (1978) a montré que les valeurs de f^s_1 étaient supérieures à l'unité et que celles-ci croissaient pour les films passant de l'état gazeux à l'état solide. Nos valeurs de f^s_1 sont dans la gamme attendue pour les films à l'état liquide.

En travaillant toujours dans le même cadre théorique, Gaines (1978) a indiqué que la loi d'additivité ne pouvait être respectée qu'à la condition que les coefficients d'activité de l'eau dans les films purs et le film mixte soient identiques. On peut également montrer, en réarrangeant les équations 5, 10 et 11 de Gaines (1978) que, si deux molécules ont des isothermes de pression de surface ayant un même coefficient d'activité pour l'eau et si les aires moléculaires du film mixte dévient négativement par rapport à la loi d'additivité (contraction du film), alors

$$f^s_1 \text{ mixte} > f^s_1 \text{ pur}$$

où $f^s_1 \text{ mixte}$ et $f^s_1 \text{ pur}$ sont les coefficients d'activité de l'eau dans les films mixtes et purs. En particulier, pour les systèmes mixtes chl \underline{a}/α -TQ et chl \underline{a}/PQ 3, les films monomoléculaires purs possèdent des coefficients d'activité de l'eau identiques. Les films mixtes de ces systèmes dévient négativement par rapport à la loi d'additivité et, de la conclusion précédente, $f^s_1 \text{ mixte} > 1.21$.

Cependant, un tel résultat ne constitue qu'une façon différente de signifier la déviation négative des aires moléculaires du film mixte

(par rapport à la loi d'additivité). En effet, l'équation 6 de Gaines (1978) s'écrit

$$\sum_i \omega_i N_i^s = s$$

où s est la surface du film,

$$\omega_i = \left(\frac{\partial s}{\partial N_i^s} \right)_{T,P,N_j^s}$$

et N_i^s est le nombre de molécules de l'espèce i assignées à l'interface (en anglais "surface excess"). Les molécules formant nos films sont contraintes de demeurer à l'interface, et, à une pression de surface donnée, on aura réduction de l'aire totale (contraction du film) si des molécules d'eau en sont exclues. Celles demeurant à l'interface se verront de moins en moins entourées d'autres molécules d'eau (état standard) et de plus en plus elles seront à proximité des molécules formant la monocouche. Le potentiel chimique de telles molécules d'eau s'écarte donc de plus en plus de celui de l'état standard, cet écart grandissant étant reflété par un coefficient d'activité de l'eau qui augmente. Ainsi présentée, l'augmentation du coefficient d'activité de l'eau dans un film mixte ne fait que refléter la contraction du film. La cause de cette contraction, de cette exclusion des molécules d'eau doit être cherchée du côté de la nature des molécules constituant le film. Il est vrai que l'on pourrait également faire le raisonnement inverse et prétendre que c'est à cause d'un coefficient d'activité de l'eau différent que les films mixtes chl \underline{a}/α -TQ et chl \underline{a}/PQ 3 dévient de la loi

d'additivité. En fait, on est ici en face d'une égalité et l'on doit choisir l'un des deux membres de l'équation pour le comparer à l'autre (du genre $2 = 1+1$ ou $1+1 = 2$). Ce dernier point de vue ne nous renseigne cependant pas sur les causes de l'augmentation du coefficient d'activité de l'eau dans les films mixtes et l'on doit une fois de plus invoquer la nature des molécules formant ce film mixte pour l'expliquer.

Gaines (1978) terminait son article en mentionnant que "with regard to mixed monolayers, it is clear that differences in water activity coefficients in monolayers of the pure components can lead to deviations from area additivity in the mixed films even without specific interactions between surfactant molecules". Si des différences dans les coefficients d'activité de l'eau des films des composés purs peuvent conduire à des déviations par rapport à la loi d'additivité, ces différences ne sont cependant pas une condition suffisante à l'observation de telles déviations. Les films de phytol et de vitamine K₁ présentent les mêmes coefficients d'activité de l'eau ($f^S_1 = 1.41$). Ces coefficients diffèrent de celui attribué à l'eau dans les films de chl-a ($f^S_1 = 1.21$). Pourtant, les films mixtes chl a/vitamine K₁ montrent une déviation négative par rapport à la loi d'additivité (Gaines (1965)) alors que les films mixtes chl a/phytol obéissent à cette même loi (Tancredi (1982)). L'observation d'une contraction du film mixte ne dépend pas uniquement des coefficients d'activité de l'eau dans les films purs mais bien aussi de la nature des molécules impliqués. Ces trois molécules ayant la même partie hydrophobe, un recours à la nature

de la tête polaire est indispensable pour expliquer la contraction du film observée dans les mélanges chl a/vitamine K₁.

Deux faits ressortent de la précédente argumentation. Premièrement, on doit recourir à la nature des molécules si l'on désire expliquer les contractions des films mixtes (système chl a/ α -TQ et chl a/PQ3), qu'on exprime ces dernières en parlant de déviation négative par rapport à la loi d'additivité ou d'augmentation du coefficient d'activité de l'eau dans le film mixte. Deuxièmement, on doit une fois de plus faire intervenir le type particulier des molécules, plus précisément de leurs têtes polaires (chl a, phytol et vitamine K₁), si l'on désire rendre compte du respect et du non respect de la loi d'additivité dans les systèmes chl a/phytol et chl a/vitamine K₁. Le recours au type particulier des molécules invoqué précédemment est beaucoup plus spécifique qu'une explication basée sur les différences de taille entre les molécules constituant le film mixte. Bien que nos molécules présentent des différences de taille évidentes (voir les structures moléculaires aux figures 3, 4 et 5), une telle explication s'avère inadéquate pour nos systèmes. Pour expliquer les contractions des films mixtes, Muller-Landau et Cadenhead (1982) ont proposé un modèle faisant intervenir uniquement la géométrie particulière des molécules constituant le film mixte. Selon l'argumentation développée par l'auteur, deux molécules, dépendamment de leur forme, pourraient être miscibles (à l'interface air-eau) et s'imbriquer l'une dans l'autre de manière à produire une

pression de surface donnée à des aires moléculaires moindres. Ce modèle ne nécessite aucune interaction particulière entre les deux molécules et ne repose que sur des considérations géométriques. Il fait également de la pression de surface un phénomène cinétique, la possibilité pour les molécules de ne pas être en contact étant la cause de la diminution de pression de surface à une aire moléculaire donnée. Bien qu'intéressant en soi, ce modèle ne s'applique pas à nos résultats. La chl a et les quinones étudiées présentent effectivement des différences de taille. Cependant, une molécule comme le phytol, ayant même queue hydrophobe que l' α -TQ et que la vitamine K₁ et une tête polaire encore plus petite que chacune de ces deux molécules, devrait, aux termes de ce modèle, présenter des déviations négatives lorsque mélangé avec la chl a. Ces déviations négatives devraient être de l'ordre de celles observées pour les systèmes chl a/ α -TQ et chl a/vitamine K₁. Les données de Tancredi (1982) montrent que le système chl a/phytol respecte la loi d'additivité et il devient évident que la seule taille de la molécule mélangée à la chl a n'est pas un facteur déterminant pour le respect de la loi d'additivité.

Ayant établi l'importance de la nature des molécules et de leurs têtes polaires et ayant exclu une explication basée uniquement sur des facteurs géométriques, nous proposons d'expliquer les énergies libres de mélange en excès négatives observées pour les systèmes chl a/vitamine K₁, chl a/PQ3 et chl a/ α -TQ en recourant à la caractéristique commune aux trois molécules mélangées à la chl a, i.e. aux groupements

cétones présents dans celles-ci. Ce type d'interaction entre une cétone et l'atome de magnésium central de la chl a a déjà été invoqué dans la littérature. En autres, les travaux de Katz (1979) ont montré que ce type d'interaction était responsable du processus de dimérisation de la chl a dans des solvants non-polaires.

Dans ces systèmes, les molécules du solvant sont très peu aptes à solvater les molécules de chl a et ces dernières s'associent entre elles de manière à réduire l'énergie libre du système. Il va sans dire que l'interface air-eau diffère grandement d'un solvant non-polaire. Ici, les molécules d'eau peuvent effectivement solvater les constituants du film monomoléculaire. Cependant, la pression de surface contribue à augmenter l'énergie libre du système et toute modification ayant pour effet de la diminuer contribuera à réduire l'énergie libre du système. Nous proposons d'expliquer les résultats obtenus en les incorporant dans ce schéma conceptuel. Nous avons précédemment montré que, pour les films mixtes, la réduction d'aire moléculaire à pression de surface donnée s'effectuait par l'exclusion de molécules d'eau du film monomoléculaire. Une telle exclusion se fait au détriment de la solvation des molécules constituant le film. Dans les cas où les molécules du film mixte possèdent des groupements fonctionnels présentant des affinités les uns pour les autres (comme c'est le cas pour les quinones et la chl a), cette perte d'énergie de solvation due à l'exclusion des molécules d'eau peut être compensés par l'interaction entre les deux molécules.

L'explication développée ci-haut fournit une image de niveau moléculaire des résultats expérimentaux obtenus. Les systèmes chl a/ α -TQ, chl a/vitamine K₁, et chl a/PQ 3 présentent des énergies libre de mélange en excès négatives et les trois molécules mélangées à la chl a sont des quinones. A l'opposé, le phytol ne possède pas de groupement cétone et les mélanges chl a/phytol respectent la loi d'additivité. Comme indiqué dans les figures 23 et 42, les énergies libres de mélange en excès des trois premiers systèmes sont du même ordre de grandeur, le détail et l'allure des courbes variant selon la structure moléculaire des quinones, notamment la présence d'un autre groupement fonctionnel dans la tête polaire de la molécule (groupement hydroxyle dans le cas de l' α -TQ).

Nous avons jusqu'à présent bâti notre discussion des résultats en nous appuyant uniquement sur les propriétés mécaniques (pression de surface) de nos films. Tournons-nous maintenant vers les isothermes de potentiel de surface.

Comme il a été mentionné auparavant, le comportement des isothermes de potentiel de surface du système chl a/PQ 9 reflète celui des isothermes de pression de surface. En effet, la pente des isothermes de potentiel de surface de ce système ne varie pas régulièrement, certaines cassures (en anglais "kink point") étant observées à des aires moléculaires autres que celle du collapse. De telles cassures sont également observées dans les isothermes de pression de surface aux aires moléculaires

correspondantes. Nous nous sommes appuyés sur de tels comportements pour conclure à un changement de phase du système et en ce sens, l'allure des isothermes de potentiel de surface vient appuyer les conclusions précédemment tirées. Les isothermes de potentiel de surface du système chl a/PQ 9 présentent également d'autres cassures ("kink point") à des aires moléculaires où l'isotherme de pression de surface varie régulièrement. Dans l'état actuel de nos connaissances, nous ne pouvons fournir d'explications pour ce phénomène.

Nous avons déjà discuté des valeurs de potentiel de surface du système chl a/PQ 3. Les mesures expérimentales sont dispersées et cette dispersion de peut être expliquée par un mauvais fonctionnement de l'électrode ou du système de mesure (voir la section 4.4). Il est toujours permis de remettre en cause l'homogénéité du film monomoléculaire. Nos données expérimentales ne nous permettent cependant pas de fournir de réponse satisfaisante à cette question.

Finalement, nous avons présenté les mesures de potentiel de surface du système chl a/ α -TQ. Ces dernières sont différentes de celles attendues selon les termes de la loi d'additivité. En ce sens, les mesures de potentiel de surface viennent appuyer les conclusions précédemment tirées, selon lesquelles la chl a et l' α -TQ sont miscibles dans les films monomoléculaires et ce à toutes les fractions molaires et à toutes les pressions de surface. Nous avons également effectué un autre calcul

théorique et montré qu'on pouvait approcher les valeurs expérimentales en tenant compte de la réduction d'aire moléculaire observée dans le film mixte.

Un autre fait ressort des figures 25 à 28. On s'aperçoit en effet que les valeurs théoriques obtenues par l'équation 4 sont plus près des valeurs expérimentales de potentiel de surface à $\pi = 20$ mN/m qu'elles ne le sont à $\pi = 5$ mN/m. Bien que cet effet ne soit pas particulièrement marqué, il est cependant significatif. Le potentiel de surface est influencé par une foule de facteurs dont la partie hydrophobe de la molécule formant le film, sa tête polaire, l'eau hydratant cette dernière et celle comprise entre les molécules du film. En plus de dépendre de la nature des molécules, de leur structure moléculaire, le potentiel de surface varie selon l'orientation prise par ces diverses entités. Dans le cas qui nous préoccupe, il est important de se rappeler que l'équation 4 calcule le potentiel de surface attendu dans le film mixte en se basant sur l'arrangement moléculaire des films purs. Les moments dipolaires apparaissant dans l'équation 4 sont obtenus à partir des isothermes de potentiel de surface des produits purs et donc sur la base de l'arrangement moléculaire qui prévaut lorsque les molécules sont entourées de molécules identiques. C'est donc dire que l'équation 4 tient compte de la réduction d'aire moléculaire du film mixte sans toutefois pouvoir incorporer les modifications (à l'échelle moléculaire) qui peuvent survenir suite à la présence des deux molécules dans le même

film monomoléculaire. Compte tenu des facteurs déterminant le potentiel de surface, cette omission peut expliquer les différences observées entre les valeurs prédites par l'équation 4 et les mesures expérimentales. Gaines (1965) a observé un comportement similaire dans le cas du système chl a/vitamine K₁. Cependant, d'une manière plus globale, les mesures de potentiel de surface du système chl a/α-TQ viennent appuyer les conclusions précédemment tirées.

CHAPITRE VI

CONCLUSION

Nous avons effectué une étude thermodynamique des films monomoléculaires mixtes chl a/ α -TQ, chl a/PQ 3 et chl a/PQ 9 à l'interface air-eau. Nous avons montré, sur la base des isothermes de pression et de potentiel de surface, que les systèmes étaient miscibles. Nous avons également calculé les énergies libres de mélange en excès des systèmes chl a/ α -TQ et chl a/PQ 3 et comparé les valeurs obtenues avec celles déjà disponibles des systèmes chl-a/vitamine K₁ et chl a/phytol. Sur la base d'une analyse s'inspirant grandement des travaux de Gaines et de Muller-Landeau et Cadenhead, nous avons conclu à l'importance de la structure moléculaire des espèces en présence pour expliquer les énergies libre de mélange en excès des divers systèmes. Une explication ne s'appuyant que sur des différences de taille devant être exclue, nous avons finalement proposé d'expliquer nos résultats et ceux obtenus pour des systèmes similaires en invoquant une interaction entre les groupements cétones des quinones et l'atome de magnésium de la chl a.

Peut-on étendre la portée des précédentes conclusions aux systèmes biologiques dans lesquels la chl a et les quinones se retrouvent effectivement? Pour répondre à cette question, il importe de se remémorer le contexte général dans lequel le présent travail a vu le jour. Etant

donné l'importance des chl a et des quinones dans le processus photosynthétique, nous avons décidé d'étudier les interactions entre ces deux molécules. Comme l'organisation spatiale de ces molécules est un facteur important de la fonction qu'elles remplissent, nous avons voulu fournir une organisation particulière à nos molécules en les déposant à la surface de l'eau (les films monomoléculaires sont reconnus aptes à orienter les molécules amphiphiles en vertu des caractères polaires et non-polaires de celles-ci). C'est sur ce point précis que la difficulté d'étendre nos conclusions aux systèmes biologiques voit le jour. La chl a et les quinones des membranes des thylakoides sont orientées, mais nous ne connaissons pas encore le caractère des forces causant cette orientation. Si la cause de l'orientation des molécules dans la membrane des thylakoides n'est pas la même que celle qui prévaut à l'interface air-eau, les conclusions tirées de la présente étude pourraient s'avérer inapplicables aux membranes biologiques. Il n'empêche que les conclusions de ce travail sont vraies dans le contexte de la chimie des surfaces, mais leur extension à la membrane des thylakoïdes devra attendre qu'une image tri-dimensionnelle de celle-ci, et plus particulièrement des protéines retenant chl a et quinones, soit disponible.

REFERENCES

Adamson, A., W. Physical chemistry of surfaces (3rd ed.). New York: Interscience, 1976.

Bitman, J., & Wood, D.L. Detection methods for lipids on TLC. In J.C. Touchstone (Ed.), Advances in thin-layer chromatography. New York: John Wiley & Sons, 1982, pp. 187-209.

Boardman, N.K., Anderson, J. M., & Goodchild, D.L. Chlorophyll-Protein complexes and structure of mature and developing chloroplasts. In D.R. Sanadi & L.P. Vernon (Eds.), Current Topics in bioenergetics (Vol. 8). New York: Academic Press, 1978, pp. 35-109.

Bolliger, H.R., & Konig, A. Vitamins, including carotenoids, chlorophylls and biologically active quinones. In E. Stahl (Ed.), Thin-layer chromatography (2nd ed.). New York: Springer-Verlag, 1969, pp. 259-310.

Boska, M., Sauer, K., Buttner, W., & Babcock, G.T. Similarity of EPR signal II rise and P680(+) decay kinetics in tris-washed chloroplast photosystem II preparations as a function of pH. Biochim. Biophys. Acta, 1983, 722, 327-330.

Cadenhead, D. A., & Phillips, M. C. Molecular interactions in mixed monolayers. In R. F. Gould (Ed.), *Molecular association in biological and related systems*. Washington D. C.: American Chemical Society, 1968, pp. 131-148.

Clarke, R. H., Hotchandani, S., Jagannathan, S.P., & Leblanc R. M. The effect of coordinating ligands on the triplet state of chlorophyll. *Photochem. Photobiol.*, 1982, 36, 575-579.

Codgell, R. J. Photosynthetic reaction centers. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 1983, 34, 21-45.

Crane, F. L., Henninger, M. D., Wood, P. M., & Barr, R. Quinones in chloroplasts. In T. W. Goodwin (Ed.), *Biochemistry of chloroplasts* (Vol 1). New York: Academic Press, 1966, pp. 133-151.

De Costa, S. M. de B., Froines, J. R., Harris, J. M., Leblanc, R. M., Orger, B. H., & Porter, G. Model systems for Photosynthesis III. Primary photoprocesses of chloroplast pigments in monomolecular arrays on solid surfaces. *Proc. R. Soc. London, Ser. A*, 1972, 326, 503-519.

Dekker, J. P., Brok, M., & Van Gorkom, H. J. Absorbance changes of Z(+), the component responsible for EPR signal II in tris-treated photosystem II Particles. *Abstr. 6th Int. Congr. Photosynth., Brussels*, 1983, 1, 189.

Dilley, R. A. Thin-layer chromatography of naturally occurring quinones and hydroquinones. *Anal. Biochem.*, 1964, 7, 240-246.

Dilley, R. A., & Crane, F. L. A Specific assay for tocopherols in plant tissue. *Anal. Biochem.*, 1963, 5, 531-541.

Diner, B., & de Vitry, C. Secondary electron transfer on the donor side of photosystem II. *Abstr. 6th Int. Congr. Photosynth.*, Brussels, 1983, 2, 340.

Dismukes, G. C., Frank, H. A., Friesner, R., & Sauer, K. Magnetic properties of electron transport cofactors in photosynthetic membranes of *Rhodospseudomonas viridis*. *Biophys. J.*, 1979, 25, 54a.

Dodelet, J.-P., Lawrence M. F., Ringuet, M., & Leblanc, R. M. Electron transfer from chlorophyll a to quinone in mono- and multilayer arrays. *Photochem. Photobiol.*, 1981, 33, 713-720.

Fendler, J. H. *Membrane mimetic chemistry*. John Wiley & Sons, 1982.

Gaines, G. L., Tweet, A. G., & Bellamy, W. D. Interaction between chlorophyll a and vitamine K₁ in monomolecular films. *J. Chem. Phys.*, 1965, 42, 2193--2199.

Gaines, G. L. Jr. Insoluble monolayers at liquid-gas interfaces. New York: Interscience Publishers, 1966.

Gaines, G. L. Jr. Thermodynamic relationships for mixed insoluble monolayers. *J. Colloid Interface Sci.*, 1966a, 21, 315-319.

Gaines, G. L. Jr. Monolayers of some biologically important quinones. *J. Colloid Interface Sci.*, 1968, 28, 334-336.

Gaines, G. L. Jr. The thermodynamic equation of state for insoluble monolayers. 1. Uncharged films. *J. Chem. Phys.*, 1978, 69, 924-930.

Gaines, G. L. Jr. The thermodynamic equation of state for insoluble monolayers II. Ionized films. *J. Chem. Phys.*, 1978a, 69, 2627-2630.

Gaines, G. L. Jr. The thermodynamic equation of state for insoluble monolayers III. Mixed monolayers. *J. Colloid Interface Sci.*, 1982, 85, 16-18.

Ganesh, K. N. Chemical modelling of photosynthesis: Intramolecular quinone-porphyrin complexes. *Proc. Indian Acad. Sci. (Chem. Sci.)*, 1984, 93, 647-659.

Goodenough, U. W., & Levine, R. P. Genetic Activity of mitochondria and chloroplasts. *Sci. Am.*, 1970, 223(5), 22-29.

Goodrich, F. C. Molecular interactions in mixed monolayers. Proc. Intern. Congr. Surface Activity, 2nd London, 1957, I, 85-91.

Govindjee, & Govindjee, R. The primary events of photosynthesis. Sci. Am., 1974, 231, 68-82.

Hales, B. J., & Das Gupta, A. Investigation of signal II in green plant systems. Biophys. J., 1979, 25, 51a.

Hales, B. J., & Das Gupta, A. Orientation of the bacteriochlorophyll triplet and the primary ubiquinone acceptor of *Rhodospirillum rubrum* in membrane multilayers determined by ESR spectroscopy. Biochim. Biophys. Acta, 1979a, 548, 276-286.

Iriyama, K., & Yoshiura, M. Separation of chlorophyll a and chlorophyll b by column chromatography. J. Chromatogr., 1979, 177, 154-156.

Katz, J. J. Charge separation in synthetic photo-reaction centers. In Heinz Gerischer & J. J. Katz (Eds.), Light-induced charge separation in biology and chemistry. New York: Verlag Chemie, 1979, pp. 331-359.

Kirchner, J. G. Thin-Layer chromatography. In E. S. Perry & A. Weissberger (Eds.), Technique of organic chemistry (vol XII). New York: Interscience Publishers, 1967, pp. 1-788.

Lawrence, M. F., Dodelet, J.-P., & Ringuet, M. Photovoltaic effect of chlorophyll a-quinone systems in multilayer arrays. *Photochem. Photobiol.*, 1981, 34, 393-401.

Lichtenthaler, H. K. Regulation of prenylquinone synthesis in higher plants. In M. Tevini & H. K. Lichtenthaler (Eds.), *Lipids and lipid polymers in higher plants*. New York: Springer-Verlag, 1977, p.p. 231-258.

Liljenberg, C., Wachtmeister, G., & 'O' Quist, G. Interactions of plastoquinone and α -tocopherol with chloroplast acyl lipids in monomolecular Photosynthesis 1. *Photophysical Processes- Membrane energization*. Philadelphia, Balaban Int. Sc. Services, 1981, pp. 235-242.

Lucassen-Reynders, E. M. Interactions in mixed monolayers. 1. Assessment of interaction between surfactants. *J. Colloid Interface Sci.*, 1973, 42, 554-562.

Luccassen-Reynders, E. H. Adsorption of surfactant monolayers at Gas/Liquid and Liquid/Liquid interfaces. In D. A. Cadenhead & J. F. Danielli (Eds.), *Progress in surface and membrane science* (vol. 10). New York: Academic Press, 1976, pp. 253-360.

Mathis, P., Breton, J., Vermeglio, A., & Yates, M. Orientation of the primary donor chlorophyll of photosystem II in chloroplast membranes. *FEBS Lett.*, 1976, 63, 171-173.

Morin, M. Etude des isothermes de pression de surface du système chlorophylle/quinone à l'interface air-eau. Thèse de Maîtrise (M. Sc. Sciences de l'environnement), U.Q.T.R., 1978.

Motomura, K. Thermodynamics of multicomponent monolayers 1. General formulation. *J. Colloid Interface Sci.*, 1974, 48, 307-318.

Muller-Landau, F., & Cadenhead, D. A. Molecular accommodation and molecular interactions in mixed insoluble monomolecular films. *J. Colloid Interface Sci.*, 1980, 78, 269-270.

Munger, G. Détermination des poids moléculaires de protéine à l'interface air-eau par un nouveau système à faible pression de surface. Thèse de Maîtrise (M. Sc. Sciences de l'Environnement), U.Q.T.R., 1978.

Nugent, J. H. A., Diner, B. A., & Evans, M. C. W. Direct detection of the electron acceptor of photosystem II. Evidence that Q is an iron-quinone complex. *FEBS Lett.*, 1981, 124, 241-244.

Okamura, M. Y., Feher, G., & Nelson, N. Reaction centers. In Govindjee (Ed.), *Photosynthesis* (Vol. 1). New York: Academic Press, 1982, pp. 195-272.

Omata, T., & Murata, N. A rapid and efficient method to prepare chlorophyll a and b from leaves. *Photochem. Photobiol.*, 1980, 31, 183-185.

O'Malley, P. J., & Babcock, G. T. Origin of signal II in spinach chloroplasts and its role in the water splitting process. *Biophys. J.*, 1983, 41, 315.

Parent, L. Etude des propriétés d'absorption, de fluorescence et de photoconductivité d'assemblage de films monomoléculaires constitués de chlorophyll a et de phéophytine a. Thèse de maîtrise (M. Sc. Sciences de l'Energie), INRS-Energie, 1983.

Perkins, H. J., & Roberts, D. W. A. Purification of chlorophylls, pheophytins and pheophorbides for specific activity determinations. *Biochim. Biophys. Acta*, 1962, 58, 486-498.

Renger, G. Photobiophysics. In W. Hoppe, W. Lohmann, H. Markl & H. Ziegler (Eds.), *Biophysics*. New York: Springer-Verlag, 1983, pp. 515-565.

Satoh, K., & Mathis, P. Photosystem II chlorophyll(a)-protein complex: A study by flash absorption spectroscopy. *Photobiochem. Photobiophys.*, 1981, 2, 189-198.

Sekita, K., Nakamura, M., Motomura, K., & Matuura, R. Thermodynamic study on mixed monolayers of fatty acids. *Mem. Fac. Sci., Kyushu Univ., Ser. C*, 1976, 10, 51.

Shiraki, M., Yoshiura, M., & Iriyama, K. Rapid and easy separation of chlorophylls, their derivatives, and yellow pigments by thin-layer chromatography. *Chem. Lett.*, 1978, 1, 103-104.

Stahl, E., Kohlschutter, H. W., Unger, K., Rossler, H., Endres, H., Dorfner, K., Hannig, K., Pascher, G., Kaiser, R., Ganshirt, H., & Mangold, H., K. General section. In E. Stahl (Ed.), *Thin-layer chromatography* (2nd ed.). New York: Springer-Verlag, 1969, pp. 1-200.

Stiehl, H. H. & Witt, H. T. Quantitative treatment of the function of plastoquinone in photosynthesis. *Z. Naturforsch. Teil B*, 1969, 24, 1588-1599.

Tancrède, P., Chauvette, G., & Leblanc, R. M. General method for the purification of lipids for surface pressure studies. *J. Chromatogr.*, 1981, 207, 387-393.

Tancrède, P., Munger, G., & Leblanc, R. M. Excess free energies of interaction of chlorophyll a with monogalactosyldiacylglycerol and phytol. A mixed monolayer study. *Biochim. Biophys. Acta*, 1982, 689, 45-54.

Wasielowski, M. R., Norris, J. R., Shipman, L. L., Lin, C.-P., & Svec, W. A. Monomeric chlorophyll a enol: Evidence for its possible role as the primary electron donor in photosystem I of plant photosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1981, 78, 2957-2961.

ANNEXE

Il nous a semblé opportun de résumer dans un seul tableau les valeurs d'énergie libre de mélange en excès présentées dans le présent mémoire, conjointement avec celles obtenues pour d'autres systèmes. Cette comparaison revêt cependant un caractère limité. D'abord parce que plusieurs systèmes mixtes furent étudiés du strict point de vue des transitions de phase. C'est notamment le cas des mélanges d'acides gras (Sekita et coll. (1976)) présentés par un groupe de chercheurs japonais.

L'autre difficulté tient au fait que l'énergie libre de mélange en excès dépend de la pression de surface et la comparaison entre deux systèmes ne peut donc se faire qu'à pression de surface identique. On peut néanmoins dresser le tableau suivant pour résumer les principales observations.

Tableau 6

Tableau récapitulatif

Système	π (mN/m)	ΔG_{XS}^{π} J/mole	Référence
Chl <u>a</u> / α -TQ	7.0	- 200	présent travail
Chl <u>a</u> /PQ3	7.0	- 300	présent travail
Chl <u>a</u> / α -TQ	10.6	- 300	présent travail
Chl <u>a</u> /vitamine K ₁	10.6	- 420	Gaines (1965)
Chl <u>a</u> /phytol	10.0	0	Tancredi (1982)
Chl <u>a</u> /MGDG	10.0	- 250	Tancredi (1982)
n-C ₁₆ H ₃₃ SO ₃ Na/cetyl alcool	32.0	-1260	Gaines (1966)
Octadecanol/docosyl sulfate	10.0	- 100	Adamson (1976)