

# MODIFICATIONS DES PARTICULES DE VIRUS DE LA MOSAÏQUE DU TABAC EN SOLUTION. ÉTUDE PAR LA BIRÉFRINGENCE D'ÉCOULEMENT

## II. ACTION DE DIVERS AGENTS CHIMIQUES

par

MAURICE JOLY

*Service de Chimie-Physique, Institut Pasteur, Paris (France)*

### INTRODUCTION

Dans un précédent mémoire<sup>1</sup> nous avons montré que les mesures de biréfringence d'écoulement (détermination de l'angle d'extinction  $\chi$ ) constituent un moyen extrêmement sensible pour mettre en évidence les modifications que subissent en solution les particules de virus de la mosaïque du tabac et pour en suivre l'évolution avec une très grande précision.

Nous avons indiqué en particulier que nous disposons pour l'étude des suspensions de bâtonnets très allongés de deux relations empiriques permettant de calculer la taille  $l_t$  des particules de fréquence maxima et le degré de polydispersion  $P$  à partir des valeurs  $l_{400}$  et  $l_{1200}$  de la longueur moyenne apparente des particules (mesurée par biréfringence d'écoulement) pour les gradients de vitesse  $400 \text{ sec}^{-1}$  et  $1,200 \text{ sec}^{-1}$ .

Nous avons utilisé cette technique pour préciser l'action sur les particules du virus de la mosaïque du tabac en solution de la concentration et du vieillissement des solutions, des traitements mécaniques et thermiques ainsi que du pH. Dans le présent travail nous nous proposons d'étudier par la même méthode l'interaction entre le virus de la mosaïque du tabac et diverses substances organiques ou minérales. Nous verrons que l'action de substances aussi diverses que le chlorure de potassium, le dodecylsulfate de sodium, la gomme arabique, la gélatine ou la colchicine se manifeste de la même façon au point de vue de la morphologie des particules de virus. Il y a à la fois fractionnement des très longues particules en particules plus courtes et agrégation latérale de celles-ci. Les principaux facteurs qui interviennent dans ces processus sont les concentrations, le temps et le régime d'écoulement des solutions.

Toutes nos solutions ont été faites à partir de deux solutions mères de haut degré d'agrégation préparées par BAWDEN à qui nous tenons ici à exprimer nos remerciements: la solution A de 4% préparée par précipitation et conservée depuis trois ans à la température du laboratoire, et la solution B de 2% préparée par centrifugations et précipitations et conservée depuis six mois à la température du laboratoire.

INTERACTION ENTRE LE VIRUS DE LA MOSAÏQUE DU TABAC  
ET LE DODECYLSULFATE DE SODIUM

Dès 1938 SCHREENIVASAYA ET PIRIE<sup>2</sup> firent l'étude cinétique de la désintégration du virus de la mosaïque du tabac par le dodecylsulfate de sodium et précisèrent le rôle de la température, de la concentration et du pH. Ils indiquèrent que l'action était très lente pour pH 7. Par contre, pour pH 8, en tampon véronal *M*/20, une solution de 1% de virus de la mosaïque du tabac et de 1% de dodecylsulfate donne un précipité fibreux qui se redissout à 37°. La biréfringence d'écoulement de la solution obtenue décroît rapidement au cours du temps: au bout de 2 heures elle est équivalente à celle d'une solution de 0.04% et au bout de 10 h elle a complètement disparu.

Nous nous sommes proposé d'étudier l'interaction virus-dodecylsulfate dans des conditions beaucoup moins brutales<sup>3,4</sup>, à température ordinaire, pour de très faibles concentrations et à des pH acides (4.5-4.75). L'action du dodecylsulfate sur le virus de la mosaïque du tabac dans des états de forte agrégation (toute cette étude a été faite à partir de A comme solution mère) se manifeste par deux effets superposés: un fractionnement des particules entraînant une diminution de la longueur moyenne des agrégats, et une agglutination latérale pouvant évoluer jusqu'à la précipitation, ce second processus étant favorisé par l'écoulement<sup>4</sup>. Nous avons donné antérieurement<sup>3</sup> une description qualitative de l'évolution des solutions en fonction de la concentration en dodecylsulfate et du temps. Nous avons en particulier précisé la différence de comportement selon que la concentration en dodecylsulfate de sodium est en-deçà ou au-delà de la concentration critique d'apparition des micelles.

Nous allons donner quelques résultats quantitatifs caractéristiques obtenus avec une solution de virus de la mosaïque du tabac de 0.025% à pH 4.5 préparée à partir de A. Nous appelons longueur moyenne apparente  $l'_i$  des particules la longueur qu'il faudrait attribuer aux particules de fréquence maxima si leur diamètre était 150 Å (absence d'aggrégation latérale) pour que leur constante de diffusion de rotation soit égale à celle donnée par l'expérience. Le Tableau I résume l'effet de la concentration en DSS immédiatement après le mélange.

TABLEAU I  
ACTION DE LA CONCENTRATION EN DSS IMMÉDIATEMENT APRÈS CHAUFFAGE  
Concentration en virus 0.025%; pH 5

Concentration en DSS	$\chi$ pour		$l'_i$ ( $d = 150$ )	$P$	Remarque
	$g = 447$	$g = 1,190$			
0	13°5	9°	7,900 Å	5,000	Devient trouble par rotation
0.01%	13.25	10	7,550	15,600	
0.025%	15	11	6,950	12,000	
0.05%	16.25	10	8,050	1,000	
0.1%	11.25	8.25	8,850	18,300	
0.25%	19.25	15	5,050	11,400	

Dès qu'on ajoute une très petite quantité (0.01%) de dodecylsulfate de sodium la taille moyenne des particules (calculée en supposant que le diamètre  $d$  des bâtonnets

est demeuré égal à 150 Å) diminue tandis que la polydispersion croît considérablement (elle est triplée), ce qui ne peut s'expliquer que par un fractionnement des grandes particules, d'où un accroissement important du nombre de petites particules et l'apparition de nouveaux pics (un ou plusieurs) dans la région des petites tailles sur la courbe de répartition de taille. Pour 0.025% de DSS la taille moyenne apparente continue à décroître et la polydispersion diminue légèrement, ce qui indique que la dissociation progresse et que l'accroissement du nombre de particules de petite taille augmente l'homogénéité de la solution au point de vue de la grosseur des particules. Pour une concentration plus grande (0.05%) la taille moyenne apparente augmente tandis que la polydispersion devient très petite, ce qui correspond à des particules fortement dissociées de longueur à peu près uniforme mais fortement associées latéralement en des agrégats ayant, pour cette concentration, à peu près tous la même grosseur. Si la concentration continue à augmenter (0.1%) on observe encore un accroissement de la taille apparente et, à nouveau, la polydispersion augmente considérablement, ce qui signifie qu'outre une progression, probablement assez faible, de la dissociation, il y a formation par accollement latéral d'agrégats de plus en plus gros. Enfin, pour 0.25% de DSS on constate une diminution considérable de la taille apparente et une décroissance très notable de la polydispersion, ce qui indique une progression rapide de la dissociation et de l'agglutination latérale; mais pour cette concentration le système n'est plus stable et l'on a très rapidement précipitation.

Il est difficile en absence d'autres données expérimentales (viscosité ou diffusion de la lumière par exemple) de fournir une indication précise sur la taille exacte des particules. Toutefois on peut tenter une estimation grossière en s'en tenant aux hypothèses les plus simples possibles sur l'évolution des particules. On observe d'une façon générale que lorsque les solutions ne sont pas soumises à un laminage intense, la taille apparente des particules décroît d'autant plus vite durant les premières 24 heures que la concentration en DSS est plus grande, et que l'évolution vers la précipitation a lieu lorsque cette concentration augmente ainsi que l'ancienneté du mélange. On peut donc, à titre d'hypothèse simplificatrice, admettre que la dissociation des grosses particules et l'aggrégation latérale spontanée des petites particules sont des fonctions non décroissantes du temps et de la concentration en DSS. C'est-à-dire que pour une concentration donnée en DSS et une ancienneté donnée du mélange, les particules ne peuvent pas être plus longues ou moins larges que pour des concentrations et des anciennetés plus faibles.

A partir de ces hypothèses les valeurs de la longueur et du diamètre des particules supposées cylindriques sont évaluées à l'aide de l'expression de la constante de diffusion de rotation de particules cylindriques établie par BURGERS<sup>5</sup>. Cette expression permet de calculer la valeur du diamètre  $d$  d'une particule de longueur  $l$  dont la constante de diffusion de rotation est telle que la longueur moyenne apparente des particules serait  $l'$  si leur diamètre était 150 Å. On a en effet  $\log d = \log l - 0.047 - (l/l')^3 (\log l' - 2.23)$ ;  $l$ ,  $l'$  et  $d$  étant exprimés en Å. Rappelons que cette valeur de 150 Å correspond au diamètre "hydrodynamique" d'un bâtonnet isolé de virus de la mosaïque du tabac en solution, y compris les deux couches de molécules d'eau qui y seraient rigidement liées d'après LAUFFER<sup>6</sup>. En s'en tenant aux hypothèses simplificatrices précédentes on est conduit pour les tailles moyennes des particules aux ordres de grandeur du Tableau II.

Si nous considérons maintenant l'évolution au cours du temps nous constatons également une grande complexité des phénomènes, avec superposition de la dissociation

TABLEAU II  
VARIATION DE LA LONGUEUR ET DU DIAMÈTRE DES  
PARTICULES AVEC LA CONCENTRATION EN DSS  
Concentration en virus 0.025% ; pH 5

Concentration en DSS	$l_i$	$d$
0	7,900 A	150 A
0.01%	7,550	150
0.025%	6,950	150
0.05%	6,950	530
0.1%	6,950	940
0.25%	3,600	940

des particules et de leur aggrégation latérale. Le Tableau III donne quelques résultats bruts. On constate que l'évolution au cours du temps pour une concentration donnée en DSS est parallèle à la variation en fonction de la concentration immédiatement après mélange: fractionnement progressif des particules et aggrégation latérale des petites particules avec passage par un état d'homogénéité de la solution au point de vue de la grosseur des agrégats; les deux phénomènes se juxtaposent sans qu'il soit possible, du moins pour l'instant, de les séparer avec certitude. Au prix des mêmes hypothèses simplificatrices que précédemment on peut donner à titre d'indication grossière les valeurs du Tableau IV pour l'ordre de grandeur de la longueur moyenne et du diamètre moyen des agrégats.

TABLEAU III  
VARIATION DE LA TAILLE DES PARTICULES AU COURS DU TEMPS  
Concentration en virus 0.025% ; pH 5

Concentration en DSS	Age des mélanges	$\chi$ pour		$l_i$ pour $d = 150$	$P$	Remarque
		$g = 447$	$g = 1,190$			
0.01%	0	13°25	10°	7,550 A	15,600	Biréfringence faible
0.01%	1 j	12.5	9.5	7,900	17,900	
0.01%	2 j	16.25	11.75	6,750	8,800	
0.01%	3 j	15.75	10.25	7,700	2,400	Trouble jaunâtre et biréfringence faible
0.01%	6 j	16	10.5	8,100	1,000	Un peu trouble
0.01%	8 j	16.25	11.25	7,150	6,600	
0.025%	0	15	11	6,950	12,000	
0.025%	1 j	13.5	11.25	6,850	22,100	
0.05%	0	16.25	10	8,050	1,000	
0.05%	1 j	21.25	17	4,200	11,600	
0.1%	0	11.25	8.25	8,850	18,300	
0.1%	1 j	28	18.5	5,150	1,000	
0.1%	2 j	22.75	15.25	5,500	3,000	
0.1%	5 j	19.75	14.5	5,500	8,700	
0.1%	7 j	18.5	14.75	5,050	13,700	Trouble, biréfringence faible
0.25%	0	19.25	15	5,050	11,400	Trouble
0.25%	1 j	—	—	—	—	Précipité

TABLEAU IV

VARIATION DE LA LONGUEUR ET DU DIAMÈTRE DES PARTICULES AU COURS DU TEMPS

Concentration en virus 0.025% ; pH 5

<i>c</i> DSS	âge	$l_i$	$d$	<i>c</i> DSS	âge	$l_i$	$d$
0.01%	0	7,550 A	150 A	0.05%	0	6,950 A	530 A
0.01%	1 j	7,550	240	0.05%	1 j	3,400	530
0.01%	2 j	6,350	240	0.1%	0	6,950	940
0.01%	3 j	6,350	690	0.1%	1 j	3,400	1,140
0.01%	6 j	6,350	880	0.1%	2 j	3,400	1,330
0.01%	8 j	5,500	880	0.1%	5 j	3,400	1,330
0.025%	0	6,950	150	0.1%	7 j	3,100	1,330
0.025%	1 j	6,500	240				

Le cisaillement des mélanges au cours de l'écoulement agit sur l'évolution des particules d'une manière assez complexe. Selon les cas, on peut avoir augmentation du volume des agrégats par agglutination latérale (suivant un mécanisme que nous préciserons plus loin) ou dislocation de ces agrégats sous l'action du laminage (pour des gradients de vitesse inférieurs à ceux qui provoquent la rupture des bâtonnets de virus). Comme exemples du premier cas, signalons, pour un traitement mécanique de quelques minutes seulement, les quelques résultats du Tableau V. Remarquons que l'aggrégation latérale sous l'action de l'écoulement s'accompagne généralement d'une diminution de l'état de polydispersion du système. ( $l_i$  et  $d$  sont calculés dans les mêmes conditions que pour les tableaux précédents).

TABLEAU V

AGRÉGATION LATÉRALE PAR ÉCOULEMENT

Concentration en virus 0.025% ; pH 5

<i>c</i> DSS	âge du mélange	Traitement mécanique	$\chi$ pour		$l'_i$ ( $d=150$ )	$P$	$l_i$	$d$
			$g = 447$	$g = 1,190$				
0.01%	0	$g < 2,000 \text{ sec}^{-1}$	13°.25	10°	7,550 A	15,600	7,550 A	150 A
0.01%	0	$g = 9,900$	14.25	9.75	7,950	8,000	7,550	250
0.025%	0	$g < 2,000$	15	11	6,950	11,200	6,950	150
0.025%	0	$g = 9,900$	13.5	9	8,600	4,900	6,950	780
0.05%	1 j	$g < 2,000$	21.25	17	4,200	11,600	3,400	530
0.05%	1 j	$g = 3,570$	17.75	11.75	6,900	3,600	3,400	1,950

Pour le deuxième cas, indiquons à titre d'exemple, pour un traitement mécanique de quelques minutes seulement, les résultats du Tableau VI (les calculs sont effectués avec les mêmes hypothèses que précédemment). Remarquons que la dislocation mécanique des agrégats s'accompagne assez souvent d'un accroissement notable de la polydispersion. Si chacun de ces deux comportements (aggrégation latérale et dislocation) est relativement facile à interpréter (voir le paragraphe suivant), par contre, nous n'avons pas encore assez d'éléments pour prévoir avec précision l'évolution de nos mélanges à partir de leur composition.

TABLEAU VI  
DISLOCATION DES AGRÉGATS PAR ÉCOULEMENT  
Concentration en virus 0.025%; pH 5

c DSS	âge du mélange	Traitement mécanique	$\chi$ pour		$l'_f$ ( $d=150$ )	P	$l_f$	d
			$g=447$	$g=1,190$				
0.01%	1 j	$g < 2,000$	12°5	9°5	7,900 A	17,900	7,550 A	240 A
0.01%	1 j	$g = 9,900$	13.5	10.5	7,550	17,300	7,550	150
0.01%	3 j	$g < 2,000$	15.75	10.25	7,700	2,400	6,350	690
0.01%	3 j	$g = 9,900$	16	11.25	7,000	6,700	6,350	350
0.025%	1 j	$g < 2,000$	13.5	11.25	6,850	22,100	6,500	240
0.025%	1 j	$g = 9,900$	14.25	11.5	6,500	18,300	6,500	150
0.05%	o	$g < 2,000$	16.25	10	8,050	1,000	6,950	530
0.05%	o	$g = 9,900$	15.75	10.75	7,350	5,900	6,950	200

#### EXPLICATION DE L'AGRÉGATION LATÉRALE DES PARTICULES

Précisons le mécanisme de l'agglutination latérale. Nous avons vu dans un précédent mémoire<sup>1</sup> que pour deux bâtonnets chargés, l'énergie de répulsion  $W_r$ , lorsqu'ils sont parallèles et à la distance  $R$  l'un de l'autre, prend la forme  $W_r = A\kappa e^{-\frac{2R}{\kappa}}$ <sup>7,8,9</sup>,  $\kappa$  étant l'épaisseur de la couche double diffuse ( $\kappa = \frac{3}{\sqrt{s}}$  A,  $s$  étant la concentration saline molaire dans le cas d'électrolytes mono-monovalents).

Lorsque la concentration en électrolyte croît,  $\kappa$  devient très petit et par suite l'énergie de répulsion devient très faible. Par contre, l'énergie d'attraction  $W_a$ , due en particulier aux forces de LONDON prend la forme  $B \frac{d^4}{R^4}$ <sup>10</sup>,  $d$  étant le diamètre des bâtonnets, lorsque ceux-ci sont parallèles à la distance

$R$  l'un de l'autre. On conçoit que pour  $\kappa$  et  $R$  suffisamment petits on puisse avoir  $|W_a| > |W_r|$  et que par suite l'interaction globale entre les particules soit une attraction. En particulier, lorsque les électrolytes ajoutés seront des composés organiques amphipathiques susceptibles de s'adsorber sur la particule de virus avec leur partie paraffinique tournée vers l'extérieur (ce qui pourrait bien être le cas du dodecylsulfate de sodium<sup>3,4</sup>), non seulement  $|W_r|$  est diminué par la présence de l'électrolyte (dévroissance de  $\kappa$ ), mais  $|W_a|$  est accru (croissance de  $d$  et de  $B$ ), ce qui peut considérablement accroître le domaine de  $R$  pour lequel on a  $|W_a| > |W_r|$ . En particulier, si on a  $|W_a(d)| > |W_r(d)|$  ( $d$  étant le diamètre d'une particule), lorsque le mouvement brownien de translation amènera deux particules en contact, il y aura agglutination des particules, et si la valeur de l'énergie d'interaction résultante est nettement supérieure à l'énergie moyenne d'agitation thermique, l'agrégat formé sera stable.

Du fait de l'agitation thermique, lorsque l'énergie de répulsion est faible, la tendance au parallélisme des particules est très faible dans des solutions diluées. Il en résulte qu'à cause des empêchements stériques les fluctuations de  $R$  (distance des centre de gravité de deux particules voisines) dues au mouvement brownien de translation sont relativement de faible amplitude pour la quasi totalité des particules;  $R$  demeure en moyenne grand par rapport à  $d$ , et par suite, même si l'on a  $|W_a| > |W_r|$ , l'énergie d'interaction résultante moyenne est petite devant  $kT$ . La durée de vie moyenne des agrégats qui peuvent se former par la collision de particules à peu près parallèles est petite devant la durée qui sépare la formation de deux agrégats successifs, et la solution demeure indéfiniment stable. En étendant aux agrégats de grosses particules la théorie de la stabilité des phases condensées de FRENKEL<sup>11</sup> on trouve pour la durée moyenne de la présence d'une particule à la surface

d'un agrégat une expression de la forme  $t \approx d \sqrt{\frac{2\pi m}{KT}} e^{\frac{U}{KT}}$ <sup>12</sup>,  $m$  étant la masse d'une particule et  $U$

l'énergie d'interaction entre une particule et l'ensemble de ses voisines dans l'agrégat. Si l'énergie d'attraction augmente, la durée de vie moyenne des agrégats augmente et la solution peut devenir instable: il peut y avoir agglutination spontanée et même précipitation. D'autre part, si on accroît artificiellement le pourcentage de particules à peu près parallèles, par exemple en soumettant la solution à des gradients de vitesse de plus en plus élevés, on augmente le pourcentage des collisions entre particules quasi-parallèles dues au mouvement brownien de translation, et alors, c'est la fréquence de formation des agrégats qui augmente. C'est ainsi que nous avons vu que dans de nombreux cas le laminage des solutions accélèrait ou même provoquait l'agglutination des particules de virus de la mosaïque du tabac. L'effet est souvent extrêmement net: par exemple, pour un mélange, préparé depuis 24 h, de virus à 0.025% et de DSS à 0.05% à pH 4.5 on trouve à 22° C pour un

gradient de vitesse de  $447 \text{ sec}^{-1}$  un angle d'extinction  $\chi = 21^\circ 25'$ . Si on soumet la solution pendant 3 min à un gradient de  $3,570 \text{ sec}^{-1}$   $\chi_{447}$  devient égal à  $17^\circ 75'$  et après 6 min à  $3,570 \text{ sec}^{-1}$   $\chi_{447} = 14^\circ 75'$ , ce qui indique une diminution de la constante de diffusion de rotation apparente correspondant à l'accroissement de la largeur des particules. Nous avons mis en évidence des phénomènes analogues dans le cas de solutions de serumalbumine<sup>13</sup>.

Si, après formation des agrégats (spontanés ou non) on fait croître suffisamment le gradient de vitesse, les forces de cisaillement dans la solution peuvent devenir assez fortes pour provoquer la dislocation des agrégats (bien avant de provoquer la rupture des bâtonnets). Dans le cas limite où l'énergie de cohésion des agrégats formés est de l'ordre de grandeur de l'énergie d'agitation thermique, les agrégats sont éphémères; ils se dissocient au fur et à mesure de leur formation; il en résulte une turbidité "dynamique" de la solution qui disparaît dès que celle-ci n'est plus soumise à l'écoulement<sup>13</sup>.

#### ACTION DU CHLORURE DE POTASSIUM

Il était important de comparer l'action d'un électrolyte ordinaire à celle d'un électrolyte colloïdal comme le dodecylsulfate de sodium (indépendamment des particularités liées à la concentration critique d'apparition des micelles). Pour étudier l'effet des électrolytes minéraux sur les particules de virus de la mosaïque du tabac, nous avons choisi le chlorure de potassium. Le comportement est en gros comparable à celui du dodecylsulfate de sodium: il y a superposition du fractionnement des grosses particules et de l'agrégation latérale des petites; mais les effets de concentration sont beaucoup plus difficiles à interpréter. Toutes les mesures ont été faites avec des solutions préparées à partir de B. Le Tableau VII donne l'allure du phénomène. Pour presque tous ces mélanges, le système évolue sous l'effet du laminage au cours de la mesure: il en résulte que les valeurs trouvées n'ont pas une signification très précise, en particulier P prend des valeurs considérables liées à la formation de particules macroscopiques qui précipitent ou sont détruites par le mouvement. Les deux premières lignes du Tableau VII montrent la tendance à l'agrégation latérale spontanée des particules (et une polydispersion très élevée), même en absence de KCl. Signalons en outre l'extrême fragilité mécanique de l'échantillon étudié: alors que pour  $g < 2,000 \text{ sec}^{-1}$  on trouve  $l_t = 11,250 \text{ Å}$ ; il suffit de quelques minutes d'écoulement sous un gradient de  $4,300 \text{ sec}^{-1}$  pour que  $l_t$  (mesuré pour  $g < 2,000 \text{ sec}^{-1}$ ) soit réduit à  $4,300 \text{ Å}$ , la polydispersion tombant à 16,800. Pour 0.1% de KCl l'évolution au cours du temps est tout à fait semblable à celle que l'on a avec le dodecylsulfate: dissociation des grandes particules et agglutination latérale des petites avec passage de la polydispersion par un minimum au cours de l'évolution. En faisant les mêmes hypothèses simplificatrices que dans le cas du DSS on peut donner un ordre de grandeur approximatif pour  $l_t$  et  $d$  (Tableau VIII). Le fait qu'avec 1% de KCl pour 0.008% de virus de la mosaïque du tabac on n'observe aucune biréfringence d'écoulement et que le système ne se trouble et précipite que lorsqu'il est fraîchement préparé semble indiquer que pour ces proportions la dissociation des grandes particules est déjà très avancée lorsqu'intervient l'agrégation latérale provoquée par l'écoulement. Avec 10% de KCl les processus sont du même type qu'avec 0.1% mais sensiblement moins intenses. Toujours avec les mêmes hypothèses simplificatrices on peut trouver pour  $l_t$  et  $d$  les valeurs du Tableau VIII.

Des mesures ont été faites pour une concentration en virus de 0.024% à pH 5 et à pH 6. Le comportement des mélanges est en gros le même que pour 0.008%, mais nous n'avons pas trouvé pour ces systèmes un domaine de concentration en KCl pour lequel la biréfringence d'écoulement disparaisse complètement; on observe simplement que pour 2% de KCl la biréfringence est extrêmement faible. Le Tableau VII donne à titre d'exemple quelques valeurs expérimentales relatives à ces solutions.

TABLEAU VII  
ACTION DE KCl SUR LE VIRUS DE LA MOSAÏQUE DU TABAC

c KCl	âge du mélange	$\chi$ pour		$l'_t$ ( $d=150$ )	$P$	Remarque
		$g=447$	$g=1,190$			
(concentration en virus 0.008%; pH 5)						
o	3 h	7°25	4°75	11,250 A	33,900	Biréfringence très faible; précipitation par écoulement
o	2 j	4.5	2.75	14,800	45,000	Trouble par rotation
0.1%	2 h	10.5	10.25	6,600	40,600	Biréfringence très faible; se trouble par rotation puis précipite lentement
0.1%	1 j	11	8	8,850	16,500	Précipite par rotation
0.1%	2 j	6.75	11.75	5,200	120,000	
1%	2 h	—	—	—	—	Aucune biréfringence; se trouble par rotation et précipite
1%	1 j	—	—	—	—	Aucune biréfringence
1%	2 j	—	—	—	—	Aucune biréfringence; reste parfaitement limpide
10%	2 h	8	7.5	8,750	57,000	Se trouble par rotation puis précipite
10%	1 j	6.75	6.25	10,000	68,700	Biréfringence faible; se trouble par rotation
10%	2 j	4.75	4	13,800	86,600	Légèrement trouble
10%	4 j	8	5	11,500	26,000	Biréfringence intense; parfaitement limpide
(concentration en virus 0.024%; pH 5)						
0.1%	1 j	12.75	8.75	8,450	6,600	Se trouble gar écoulement
1%	1 j	20	15.25	4,950	9,200	Se trouble et précipite par rotation
10%	1 j	14	14	4,600	28,500	Trouble au repos; précipite par rotation
(concentration en virus 0.024%; pH 6)						
0.5%	1 j	19.75	14	5,650	6,600	Biréfringence faible; trouble par rotation
0.5%	3 j	17.5	13.25	5,800	11,800	Léger trouble par rotation
2%	1 j	17	12	7,650	7,600	Biréfringence très faible; trouble par rotation
2%	3 j	20	14.5	5,500	7,700	Trouble par rotation
5%	1 j	16	10	8,000	1,000	Trouble qui s'accroît par écoulement
5%	3 j	17	12	6,600	7,800	Se trouble par rotation

#### INTERACTION AVEC QUELQUES AUTRES COMPOSÉS

Nous avons examiné également<sup>3,4</sup> l'action de la colchicine et d'électrolytes colloïdaux tels que la gélatine et la gomme arabique. L'action de ces substances se manifeste également par une dissociation des grandes particules et la formation d'agrégats par accollement latéral, ce dernier processus étant favorisé par l'écoulement. Mais dans l'ensemble, l'action est nettement moins intense qu'avec le dodecylsulfate de sodium, sauf toutefois avec la gélatine. Notons que dans ce dernier cas le mélange est étudié à un pH 4.75 intermédiaire entre les points isoélectriques des deux constituants (3.92 et 6.8).



TABLEAU VIII  
EFFET DE KCl SUR LA LONGUEUR ET LE DIAMÈTRE DES PARTICLES  
Concentration en virus 0.008% ; pH 5

Concentration en KCl	âge du mélange	$l_t$	$d$
0.1%	2 h	6,600 A	150 A
0.1%	1 j	6,600	1,210
0.1%	2 j	3,300	1,210
10%	2 h	8,750	550
10%	1 j	8,750	510
10%	2 j	8,750	2,560
10%	4 j	6,800	2,560

Le Tableau IX est relatif à un système gélatine-virus, de pH 4.75, la solution de virus de 0.025% étant préparée à partir de A. La dissociation des grandes particules et l'association latérale des petites sont très notables et progressent rapidement. En appliquant arbitrairement au système virus de la mosaïque du tabac + gélatine les hypothèses simplificatrices faites sur l'évolution des mélanges dans le cas du DSS et du KCl, on peut proposer pour les dimensions des agrégats les ordres de grandeur du Tableau X.

TABLEAU IX  
ACTION DE LA GÉLATINE SUR LE VIRUS DE LA MOSAÏQUE DU TABAC  
Concentration en virus 0.025% ; pH 4.75

$c$ gélatine	âge du mélange	$\chi$ pour		$l'_t$ ( $d = 150$ )	$P$	Remarque
		$g = 447$	$g = 1,190$			
0.02%	0	12°.5	12° 5	5,450 A	36,000	Biréfringence faible
0.02%	1 j	12.25	10.5	6,850	25,700	
0.05%	0	12	8.5	8,800	13,000	
0.05%	1 j	14.75	11.5	6,500	14,700	
0.05%	4 j	12.75	9.25	8,150	13,800	
0.05%	6 j	13.5	11	6,850	21,000	
0.1%	0	12.5	8.75	8,500	12,000	
0.1%	1 j	14.25	10.25	7,450	10,000	

TABLEAU X  
EFFET DE LA GÉLATINE SUR LA LONGUEUR ET LE DIAMÈTRE DES PARTICULES  
Concentration en virus 0.025% ; pH 4.75

Concentration en gélatine	Age du mélange	$l'$	$d$
0	0	7,000 A	150 A
0.02%	0	5,450	150
0.02%	1 j	5,450	755
0.05%	0	5,450	1,910
0.05%	1 j	3,000	1,910
0.05%	4 j	3,000	2,220
0.05%	6 j	2,500	2,220
0.1%	0	5,200	1,910
0.1%	1 j	3,000	2,100

Dans le cas du virus de la mosaïque du tabac et de la gomme arabique étudiés à pH 4.5, c'est-à-dire du côté alcalin par rapport aux points isoélectriques des deux constituants, les interactions sont très faibles ainsi qu'on le voit sur le Tableau XI relatif à une solution de virus de 0.025% à pH 4.5 préparée à partir de A. La dissociation des particules est peu poussée et l'agglutination latérale spontanée demeure faible bien que l'accroissement de la polydispersion soit très notable. L'évaluation approchée des dimensions moyennes des particules conduit aux valeurs du Tableau XII (avec les mêmes hypothèses simplificatrices que précédemment).

Considérons enfin l'interaction d'un non électrolyte, la colchicine, avec le virus de la mosaïque du tabac. On observe une dissociation des grandes particules et une association latérale des petites assez notables quoique nettement moins marquées que pour la gélatine, ainsi que cela ressort du Tableau XIII relatif à une solution de virus de 0.025% préparée à partir de A à pH 4.5. La variation de la polydispersion est parallèle à celle que l'on observe dans le cas de l'action du dodecylsulfate de sodium. Un ordre de grandeur des dimensions des particules (évaluées comme précédemment) est donné par le Tableau XIV.

TABLEAU XI

ACTION DE LA GOMME ARABIQUE SUR LE VIRUS DE LA MOSAÏQUE DU TABAC

Concentration en virus 0.025%; pH 4.5

Concentration gomme arabique	âge du mélange	$\chi$ pour		$l'_f$ ( $d = 150$ )	$P$
		$g = 447$	$g = 1,190$		
0	0	13°5	9°	7,900 A	5,000
0.02%	0	14	10	7,800	10,900
0.02%	1 j	15	11.25	7,950	10,400
0.05%	0	12.5	10.25	7,350	23,600
0.05%	1 j	13.5	10.25	7,450	15,700
0.05%	2 j	14.75	10.25	7,700	7,000
0.1%	0	15.25	10.75	7,400	8,000
0.1%	1 j	14.5	11	7,000	11,500

TABLEAU XII

EFFET DE LA GOMME ARABIQUE SUR LA LONGUEUR ET LE DIAMÈTRE DES PARTICULES

Concentration en virus 0.025%; pH 4.5

c gomme arabique	Age du mélange	$l_f$	$d$
0	0	7,900 A	150 A
0.025%	0	7,800	150
0.025%	1 j	7,800	180
0.05%	0	7,350	150
0.05%	1 j	7,300	180
0.05%	2 j	7,300	260
0.1%	0	7,350	165
0.1%	1 j	6,850	180

TABLEAU XIII

ACTION DE LA COLCHICINE SUR LE VIRUS DE LA MOSAÏQUE DU TABAC

Concentration en virus 0.025%; pH 4.5

c colchicine	âge du mélange	$\chi$ pour		$l'_f$ ( $d = 150$ )	P	Remarque
		$g = 447$	$g = 1,190$			
0	0	13°5	9°	7,900 A	5,000	Biréfringence faible Biréfringence assez faible
0.02%	0	16.5	11.75	6,800	8,200	
0.02%	1 j	17.25	13.5	5,550	14,300	
0.035%	2 j	15.5	11.5	6,850	7,300	
0.035%	5 j	15.75	12.25	6,250	10,000	
0.05%	0	17	13.25	5,600	14,700	
0.05%	1 j	15.5	11.25	6,850	10,600	

TABLEAU XIV

EFFET DE LA COLCHICINE SUR LA LONGUEUR ET LE DIAMÈTRE DES PARTICULES

Concentration en virus 0.025%; pH 4.5

c colchicine	Age du mélange	$l_f$	d
0	0	7,900 A	150 A
0.02%	0	6,800	150
0.02%	1 j	5,550	150
0.035%	2 j	5,550	705
0.035%	5 j	5,000	705
0.05%	0	5,600	150
0.05%	1 j	5,550	705

## CONCLUSION

De tous les exemples précédents il ressort que, pour les solutions de virus de la mosaïque du tabac dans un état d'aggrégation élevé, l'action d'autres substances, électrolytes ou non, organiques ou minérales, se manifeste par une dissociation des grandes particules en fragments plus petits et par l'agglutination latérale des particules de petite taille, agglutination qui est favorisée par l'orientation de la solution provoquée par l'écoulement, et qui peut évoluer jusqu'à la précipitation. Il en résulte qu'assez souvent apparaissent dans la solution, à la place des longs bâtonnets initiaux, des particules de très grande taille mais relativement peu dissymétriques, ce qui explique que malgré les faibles valeurs de l'angle d'extinction on observe fréquemment une biréfringence très peu intense. L'étude quantitative précise du comportement de tels systèmes est rendue difficile par suite du nombre élevé de paramètres qui interviennent: concentrations des constituants, pH, température, âge des mélanges, traitements mécaniques et thermiques antérieurs et état de mouvement de la solution au moment de la mesure. De plus les résultats dépendent du mode de préparation et de l'ancienneté de la solution mère de virus. Toutefois nous avons vu dans tout ce qui précède qu'il était possible de systématiser les propriétés des solutions de virus de la mosaïque du tabac. En outre, les

perfectionnements que nous avons apporté à l'utilisation de la biréfringence d'écoulement pour l'étude des solutions colloïdales<sup>1,14,15</sup> nous ont permis de suivre avec une assez bonne précision les variations de la forme et des dimensions moyennes des particules ainsi que de leur état de polydispersion.

### RÉSUMÉ

La mesure de l'angle d'extinction des solutions de virus de la mosaïque du tabac permet de déterminer la taille moyenne des particules et d'évaluer leur degré de polydispersion. Cette technique permet d'étudier les interactions entre le virus de la mosaïque du tabac et d'autres substances telles que dodecylsulfate de sodium, chlorure de potassium, gélatine, gomme arabique ou colchicine. Le processus de l'agréation latérale des particules, spontané ou provoqué par l'écoulement, fait l'objet d'une interprétation qualitative.

### SUMMARY

The determination of the extinction angle of tobacco mosaic virus solutions gives the mean size of the particles and the polydispersity. This technique is used for the quantitative study of the interactions between TMV and substances like sodium dodecylsulphate, potassium chloride, gelatin, gum arabic, and colchicine. A qualitative interpretation for the side by side aggregation of the particles, spontaneously or due to flow, is proposed.

### ZUSAMMENFASSUNG

Die Messung des Auslöschwinkels der Tabakmosaikvirus-Lösungen ermöglicht die Bestimmung der mittleren Grösse der Partikeln und des Polydispersionsgrades. Diese Methode ermöglicht die quantitative Untersuchung der Wechselwirkungen des TMV mit verschiedenen Substanzen: Natriumdodecylsulfat, Kaliumchlorid, Gelatin, Gummi arabicum und Colchicin. Die spontane oder durch Strömung bewirkte seitliche Zusammenballung der Teilchen wird qualitativ erklärt.

### BIBLIOGRAPHIE

- <sup>1</sup> M. JOLY, *Biochim. Biophys. Acta*, 8 (1952) 134.
- <sup>2</sup> M. SREENIVASAYA ET N. W. PIRIE, *Biochem. J.*, 32 (1938) 1707.
- <sup>3</sup> M. JOLY, *Bull. soc. chim. biol.*, 30 (1948) 404.
- <sup>4</sup> M. JOLY, *Bull. soc. chim. biol.*, 31 (1949) 108.
- <sup>5</sup> J. M. BURGERS, *Second report on viscosity and plasticity*, North-Holland Publishing Company, Amsterdam 1938.
- <sup>6</sup> H. K. SCHACHMANN ET M. A. LAUFFER, *J. Am. Chem. Soc.*, 71 (1949) 536.
- <sup>7</sup> E. J. W. VERWEY, *Philips Res. Reports*, 1 (1945) 33.
- <sup>8</sup> E. J. W. VERWEY ET J. T. OVERBEEK, *Trans. Faraday Soc.*, 42 B (1946) 117 et 126.
- <sup>9</sup> E. J. W. VERWEY ET J. T. OVERBEEK, *Theory of the stability of lyophobic colloids*, Elsevier Publishing Co., Amsterdam 1948.
- <sup>10</sup> H. C. HANSAKER, *Physica*, 4 (1937) 1058.
- <sup>11</sup> J. FRENKEL, *Kinetic Theory of Liquids*, Univ. Press, Oxford 1946.
- <sup>12</sup> M. JOLY, *J. phys. radium*, 11 (1950) 171.
- <sup>13</sup> M. JOLY ET E. BARBU, *Bull. soc. chim. biol.*, 32 (1950) 908.
- <sup>14</sup> M. JOLY, *J. phys. radium*, sous presse.
- <sup>15</sup> M. JOLY, *Trans. Faraday Soc.*, sous presse.

Reçu le 23 avril 1951