

Brown, Boltzmann et Avogadro

Analyse du mouvement Brownien

Travaux pratiques en biophotonique

Protocole à l'intention des étudiants au baccalauréat et aux études graduées

Prof. Daniel Côté
Prof. Simon Rainville

Version : dernière modification le 9 novembre 2022

Table des matières

1	Introduction	3
2	But	4
3	Objectifs	4
4	Montage et équipement	4
5	Théorie	6
5.1	Mouvement Brownien	6
5.2	Incertitude théorique sur la mesure du $\langle r^2 \rangle$	7
5.3	Mesure avec l'écart type du déplacement (pas au carré!!)	7
6	Expérimentation	9
7	Expérimentation : Première séance	9
7.1	Préparation des "lames tunnels"	9
7.2	Observation des microbilles	10
7.3	Calibration	12
8	Analyse	12
8.1	Analyse des images	12
8.2	Traitement des données avec Excel	13
9	Expérimentation : deuxième séance	14
9.1	Traitement des données avec Matlab	14
10	Annexe	16

Dans ce laboratoire, vous observerez le mouvement aléatoire de microbilles immergées dans l'eau sous un microscope. À l'aide d'une caméra digitale, vous pourrez enregistrer et mesurer le déplacement des microbilles dans le temps, ce qui permettra de calculer leur constante de diffusion. En utilisant la relation d'Einstein $D = kT/\gamma$, vous obtiendrez alors une valeur empirique de la constante de Boltzmann k .

1 Introduction

L'agitation incessante et spontanée de particules microscopiques en suspension dans un liquide (ou un gaz), appelée mouvement Brownien, fut décrite pour la première fois en 1828 par le botaniste écossais Robert Brown. Dans le fluide situé à l'intérieur de grains de pollen, Brown observa de très petites particules continuellement agitées de mouvements dans tous les sens. Ces mouvements ne pouvant s'expliquer par des courants dans le liquide ou d'autres artefacts expérimentaux, il conclut dans un premier temps à la présence d'un "fluide vital". Mais en observant par la suite les mêmes mouvements avec des particules inorganiques, il prouva que ceux-ci n'étaient pas liés à la vie. Il s'accrocha toutefois à la notion que ces mouvements étaient dus à des "molécules actives" et publia ses résultats dans un manuscrit intitulé "*A brief account of microscopical observations made in the months of June, July and August, 1827, on the particles contained in the pollen of plants; and on the general existence of active molecules in organic and inorganic bodies.*"

L'étude de ce phénomène a par la suite joué un rôle déterminant dans le développement de la physique statistique et de la théorie atomiste. Dans un des articles de son année "miraculeuse" de 1905, Albert Einstein présente l'explication correcte du mouvement Brownien. Fait remarquable : Einstein n'avait alors jamais lui-même observé le phénomène ! Le mouvement Brownien est dû aux innombrables collisions entre les particules et les molécules du fluide environnant. Chaque collision applique une force aléatoire à la particule, changeant sa vitesse. La viscosité du milieu amortit le mouvement de la particule et chacune de ces impulsions se traduit donc par un changement de position. La particule effectue alors une marche au hasard, ou promenade aléatoire. Selon la théorie d'Einstein, le déplacement moyen est nul $\langle x \rangle = 0$ et le déplacement carré moyen augmente linéairement avec le temps $\langle x^2 \rangle = 2Dt$ pour un mouvement en une dimension. Le coefficient de diffusion D est égal au rapport de l'énergie thermique et du coefficient de traînée de la particule $D = kT/\gamma$, où k est la constante de Boltzmann.

En 1908, le physicien français Jean-Baptiste Perrin confirma expérimentalement la théorie d'Einstein en grossissant l'image de corpuscules microscopiques avec une chambre claire (camera lucida). Avec beaucoup d'effort, Perrin obtint une valeur de la constante de Boltzmann à 20% près de la valeur actuellement acceptée. Pouvez-vous faire mieux ?

2 But

Obtenir une valeur expérimentale de la constante de Boltzmann en observant le mouvement Brownien de microbilles sous un microscope et obtenir une bonne estimation de l'incertitude sur cette valeur.

3 Objectifs

- Observer le mouvement Brownien de microbilles sous un microscope à champ sombre.
- Enregistrer une série d'images à l'aide d'une caméra numérique.
- Analyser les images obtenues à l'aide d'ImageJ pour mesurer la position des microbilles en fonction du temps.
- Extraire de ces mesures une valeur de la constante de Boltzmann par 2 méthodes différentes et les comparer.
- Calculer l'incertitude sur des valeurs expérimentales extraites ou obtenues à partir des données.
- Estimer l'erreur sur la pente obtenue par régression linéaire.
- Obtenir l'erreur combinée d'une fonction de plusieurs paramètres.
- Suggérer des pistes d'améliorations pour réduire l'incertitude sur la valeur mesurée.

4 Montage et équipement

Un microscope en champ sombre (Nikon Labophot) est utilisé pour visualiser le déplacement de microbilles. Nous pouvons voir à la figure 1 un schéma simplifié du microscope en champ sombre mis à votre disposition pour vos expériences. Dans ce type de microscopie, la lumière de la source est d'abord collectée par une première lentille, puis la partie centrale de l'illumination est bloquée pour créer un cône de lumière après que le front d'onde lumineux soit passé dans une seconde lentille. Ce cône d'illumination a un angle et une épaisseur déterminée de telle façon que la lumière provenant de la source ne puisse pas être collectée par l'objectif. Ainsi, seule la lumière diffusée par l'échantillon pourra être collectée par l'objectif. Cela a pour effet de donner des objets clairs sur fond noir (d'où le nom de microscopie en champ sombre).

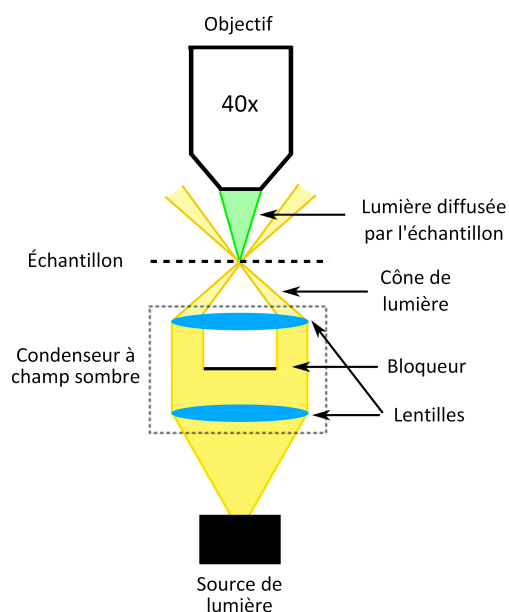


FIGURE 1 – Schéma simplifié d'un microscope en champ sombre.

Plusieurs microbilles de polystyrène (PolySciences) de différentes grosseurs ($0,5\ \mu\text{m}$ à $3\ \mu\text{m}$) sont mises à votre disposition. Pour chaque grosseur, leurs caractéristiques et la concentration à laquelle il vous est suggéré de travailler sont montrés dans le tableau 1.

Tableau 1 Caractéristiques des microbilles disponibles

Billes	Diamètre (μm)	Dév. standard (μm)	No de catalogue ^a	Con. suggérée
0,5	0,465	0,011	07307	$10^{-3}/4$
0,75	0,771	0,025	07309	10^{-3}
1	0,989	0,020	07310	$10^{-2}/4$
2	1,826	0,046	19814	$10^{-2}/2$
3	2,979	0,139	17134	10^{-2}

^a. Polysciences Inc., Warrington, PA, É.-U.

Une caméra numérique de Thorlabs reliée à un ordinateur permet d'enregistrer des séquences d'images qui seront par la suite analysées avec le logiciel ImageJ. Les données sont ensuite traitées avec Microsoft Excel et les interfaces *Analyse Brownien* et *Pondération* dans Matlab pour la partie automatisée.

5 Théorie

5.1 Mouvement Brownien

Le mouvement Brownien est l'agitation continue d'un objet microscopique due à l'énergie thermique. Il s'agit d'un mouvement aléatoire dont la moyenne des déplacements d'une population de particules est nulle ($\langle x \rangle = 0$). Par contre, la moyenne des déplacements élevés au carré d'une population de particules n'est pas nulle ; elle augmente de manière proportionnelle avec le temps. En une dimension,

$$\langle x^2 \rangle = 2Dt, \quad (1)$$

où D est le coefficient de diffusion. Puisque les mouvements en x et y sont indépendants, la moyenne du déplacement carré en deux dimensions est donnée par

$$\langle r^2 \rangle = \langle x^2 \rangle + \langle y^2 \rangle = 4Dt, \quad (2)$$

Le coefficient de diffusion est égal au rapport de l'énergie thermique et du coefficient de traînée de la particule

$$D = kT/\gamma, \quad (3)$$

où k est la constante de Boltzmann et T est la température (en K). Pour une sphère de rayon r le coefficient de traînée est donné par

$$\gamma = 6\pi\eta r, \quad (4)$$

où η est la viscosité du milieu (ici de l'eau) et r le rayon des billes utilisées.

Le tableau suivant donne la valeur de quelques constantes qui seront utiles à votre expérimentation.

Tableau 2 Constantes

Constante	Symbole	Valeur
Viscosité de l'eau ^a	η	0,01 g cm ⁻¹ s ⁻¹
Boltzmann	k	$1,38 \times 10^{-23}$ J/K

^a. Cette valeur est pour $T = 293$ K (20°C), mais diminue de 2% lorsque la température augmente de 1K. La température sous l'objectif devrait tourner autour de 297K.

5.2 Incertitude théorique sur la mesure du $\langle r^2 \rangle$

Maintenant, considérons directement le déplacement au carré en 2D $r^2 \equiv S$. La distance au carré parcourue pendant un intervalle de temps fixe t est donnée par une densité de probabilité exponentielle

$$P(S, t) = \lambda e^{-\lambda S}, \quad (5)$$

avec $\frac{1}{\lambda} = 4Dt$ et $S \geq 0$. Explicitement on obtient

$$P(S, t) = \frac{1}{4Dt} e^{-\frac{S}{4Dt}}. \quad (6)$$

L'écart type de cette fonction est donné par $\frac{1}{\lambda} = 4Dt$. L'incertitude sur la moyenne d'un phénomène aléatoire est généralement donnée par ce que l'on appelle l'erreur standard sur la moyenne :

$$SEM = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}, \quad (7)$$

où SEM est l'erreur type sur la moyenne et n est le nombre de données au temps t . Nous pouvons observer que cette erreur diminue lorsque le nombre de données augmente mais croît lorsque le temps augmente. Vous pouvez déterminer l'erreur théorique que vous obtiendrez grâce à

$$SEM = \frac{4Dt}{\sqrt{n}} \quad (8)$$

En utilisant l'équation 2, on peut obtenir l'incertitude relative que vous devriez obtenir

$$SEM_{rel} = \frac{1}{\sqrt{n}}. \quad (9)$$

Combien de données devriez vous prendre pour réussir à atteindre une précision de 20% ?

5.3 Mesure avec l'écart type du déplacement (pas au carré!!)

Une autre prédiction de la théorie du mouvement Brownien est que la distance x parcourue par une particule pendant un intervalle de temps fixe Δt a une distribution de probabilité qui a la forme d'une fonction gaussienne

$$P(x, \Delta t) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}}, \quad (10)$$

avec $\sigma^2 = 2D\Delta t$ et $\mu = 0$. Explicitement, cette fonction de probabilité est donnée par

$$P(x, \Delta t) = \frac{1}{\sqrt{4\pi D\Delta t}} e^{-\frac{x^2}{4D\Delta t}}. \quad (11)$$

Puisque l'écart type d'une fonction gaussienne est donné par σ , il serait également possible d'obtenir le coefficient de diffusion D en mesurant l'écart type du déplacement en x ou en y pour toutes vos séries prises avec un délai Δt fixe (dans votre cas, Δt correspondra au temps d'acquisition de vos films) :

$$\sigma = \sqrt{2D\Delta t} \quad (12)$$

Il est intéressant d'observer que plus l'intervalle de temps Δt est grand, plus l'écart type augmente (voir Fig. 2). Autrement dit, la distribution s'élargit lorsqu'on utilise un temps d'acquisition plus long pour prendre nos mesures.

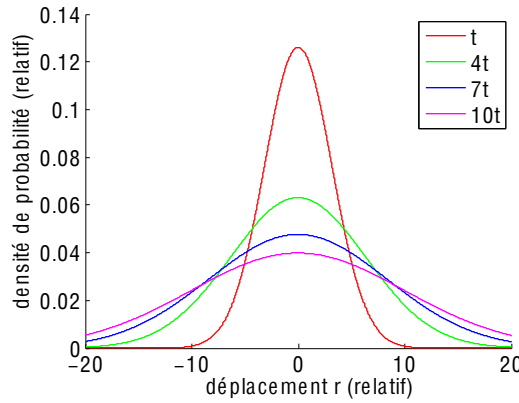


FIGURE 2 – Élargissement de la fonction de probabilité en fonction du temps.

On peut également calculer l'incertitude théorique sur la mesure de l'écart type du déplacement d'une population de billes. Nous savons que la variance d'une distribution est donnée par σ^2 avec comme incertitude l'erreur type ([Lien vers la variance](#))

$$Erreur\ type = \sigma^2 \sqrt{\frac{2}{n-1}}, \quad (13)$$

où n est le nombre de déplacements enregistrés. Puisque l'écart type est la racine carrée de la variance, par propagation de l'incertitude on trouve l'incertitude sur l'écart type :

$$\Delta\sigma = \sigma \sqrt{\frac{1}{2(n-1)}} \quad (14)$$

Pour minimiser l'incertitude, il est donc important de prendre un intervalle de temps Δt court puisque l'écart type σ augmente lorsqu'on augmente l'intervalle Δt et que son incertitude augmente comme σ .

6 Expérimentation

Vous aurez deux séances de laboratoire pour compléter cette expérience. La première semaine, vous préparerez vos échantillons de microbilles de 1 μm , les observerez sous le microscope, vous enregistrez des séquences d'images, vous débuterez l'analyse des images avec une routine complètement manuelle et vous calibrerez la taille des pixels de la caméra. La deuxième semaine, vous prendrez d'autres mesures (avec des billes 0.5 μm et 2 μm (et 0.75 μm si vous avez le temps)) et vous complétez l'analyse de vos résultats avec une routine partiellement automatisée.

Afin de faciliter votre analyse durant le laboratoire, **avant votre premier laboratoire** pratiquez-vous à faire le calcul de k à partir d'une pente donnée. Pour ce faire, calculez, pour chaque grosseur de bille, la pente de $\langle r^2 \rangle$ en fonction de t que vous devriez obtenir afin d'avoir une valeur exacte de k . **Faites attention aux unités.** Quel type de courbe de $\langle r^2 \rangle$ en fonction de t obtiendrez vous si le mouvement de diffusion des billes est important et constant dans le temps ($\langle r \rangle \neq 0$) ?

7 Expérimentation : Première séance

7.1 Préparation des "lames tunnels"

1. Vous travaillerez avec les microbilles de 1 μm de diamètre durant la première séance.
2. Pour commencer, fabriquez une lame tunnel comme illustrée sur le diagramme suivant :
 - Une lame de verre
 - 1 épaisseur de ruban adhésif à double face (séparé par environ un centimètre).
 - Au besoin, coupez le surplus de ruban de chaque côtés de la lame.
 - Assurez-vous que la partie du ruban qui fait face à l'intérieur du tunnel est bien collé sur la lame afin d'éviter un trop grand mouvement de diffusion des billes (Appuyez dessus avec un objet de plastique propre).



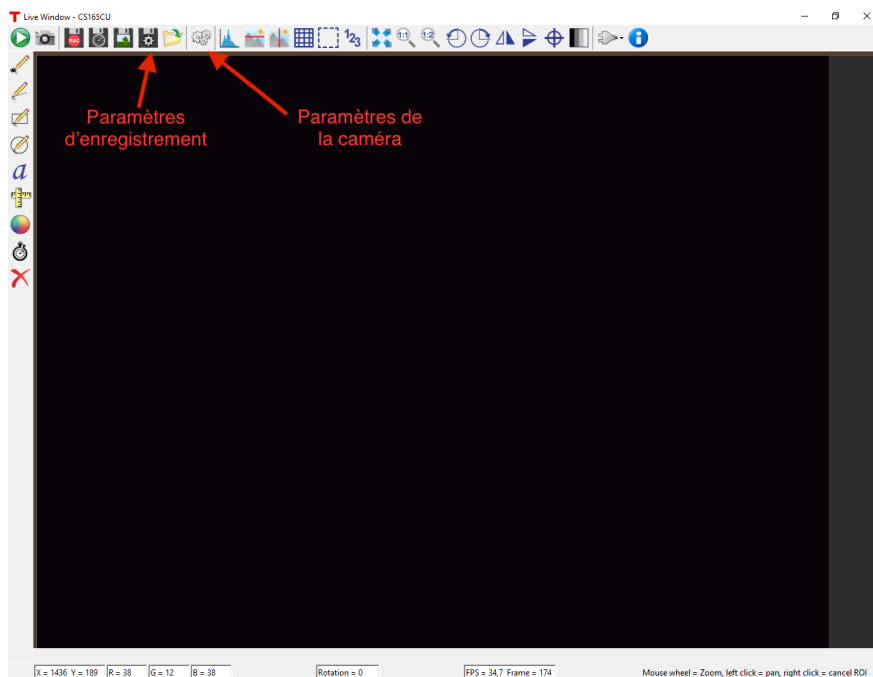
3. Déposez une lamelle de verre 18x18 mm de manière à couvrir le dessus du tunnel. Assurez-vous que la lamelle est bien collée sur le ruban adhésif en appuyant de chaque côté avec une lame de rasoir.
4. Consultez le tableau 1 afin de déterminer quelle concentration de billes utiliser. Idéalement, il faut avoir entre 5 et 15 billes au focus par champ de caméra.

Attention : Il est important de très bien mélanger les solutions de billes avant d'en pipetter un certain volume.

5. Prenez de 20 à 40 microlitres de votre solution de billes à l'aide de la pipette 20-200 μl et déposez-les à l'une des entrées ouvertes de la lame tunnel, le liquide entrera par capillarité. La présence de bulles ne devrait pas nuire aux expériences.
6. S'il y a un surplus de liquide aux extrémités de votre lame tunnel, absorbez-le avec un bout de tissu.
7. Afin d'éviter l'évaporation et les courants dans le liquide, scellez les deux bouts avec du vernis à ongles. Il est parfois nécessaire d'apposer une seconde couche de vernis lorsque la première est séchée afin d'assurer une fermeture hermétique.

7.2 Observation des microbilles

1. Placez l'anneau du condenseur du microscope en mode df (darkfield) pour avoir une illumination en champ sombre. Utilisez l'objectif à 40x avec une ouverture numérique (NA) de 0.65.
2. Ouvrez le programme *ThorCam* pour acquérir vos images (figure 3). Dans les paramètres de la caméra, assurez-vous d'avoir une fréquence d'acquisition de 30 Hz. Dans les paramètres d'enregistrement, sélectionnez l'enregistrement des vidéos dans le format .avi. Choisissez ensuite un dossier dans lequel les images et vidéos seront enregistrés, puis inscrivez un nom de base pour nommer vos fichiers.
3. Si le mode "live" de la caméra n'est pas activé, activez le pour observer vos échantillons en temps réel. Placez la lame sur le microscope et ajustez la mise au point environ au milieu du tunnel (en z). Pour ce faire, notez la position de la vis micrométrique (à droite du microscope) lorsque la mise au point est sur le "plafond" (les billes les plus hautes) du tunnel, puis sur le "plancher" (les billes les plus basses). Réglez la position de la vis au milieu. **Ne perdez pas de temps à noter précisément la position des deux extrémités de la lame, une position approximative est tout à fait suffisante.**
4. Trouvez un champ qui contient un nombre convenable de billes et optimisez l'intensité des billes pour obtenir une forme ronde et un signal beaucoup plus élevée que le fond de l'image sur toute l'aire de la bille. À cette fin, ajustez la position du condenseur, l'intensité de la lampe et la mise au point du microscope. **Le microscope devrait être assez bien ajusté.**

FIGURE 3 – Fenêtre *ThorCam*.

Demander à un auxiliaire de vous aidez à optimiser l'image si vous avez de la difficulté.

5. Choisir des champs où l'on retrouve plusieurs billes (5 à 15) bien focalisées et enregistrez plusieurs séquences d'images pour différents champs. Vous devez avoir entre 20 et 25 billes avec de bons résultats (aucune collision et une trajectoire d'au moins 30 points (10 secondes)) pour les billes de $1\mu\text{m}$ et 30 à 40 billes pour les autres tailles. Normalement 2 à 5 vidéos suffisent à atteindre cet objectif.
 - Pour choisir un bon champ, il faut avoir suffisamment de billes qui sont au focus. Il ne doit pas y avoir trop de billes puisque toutes les billes qui se touchent durant l'acquisition devront être écartées car elles fausseront les données.
6. Si les billes se déplacent toutes ensemble (dérive), la température de votre échantillon n'est peut-être pas équilibrée. Pour l'aider à s'équilibrer vous pouvez brasser la lame vigoureusement (faites attention pour ne pas l'échapper) afin de bien mélanger l'échantillon.
7. Si les billes se déposent au fond et bougent toujours, vous pouvez enlever la lame de sous l'objectif et la laisser à l'envers sur la table pendant quelques minutes pour que les billes se déplacent vers la lamelle du haut (l'effet de la gravité a un effet plus important sur les billes de grandes tailles). Vous pouvez ensuite reprendre vos manipulations.

8. Dans le cas où les billes se déposeraient au fond et cesseraient de bouger, vous devrez refaire une autre lame tunnel.

7.3 Calibration



1. Placez l’anneau du condenseur du microscope en mode 0 pour avoir une illumination en champ clair. Placez maintenant une lame micrométrique sous l’objectif (sans déplacer la caméra) pour déterminer le nombre de micromètre par pixels sur vos images. Tournez la caméra pour avoir les lignes de la règle à la verticale sur l’image. Enregistrer une image de l’échelle au milieu de la lamelle micrométrique. Il y a 10 μm entre chaque petite division.

Comme nous avons affaire à un phénomène aléatoire, la qualité des résultats sera déterminée par le nombre de billes que vous aurez réussi à suivre. Il est donc important de bien utiliser votre temps afin d’être en mesure de prendre le plus de données possible. Il est inutile de prendre 5 minutes pour améliorer votre champ d’observation pour avoir seulement une bille supplémentaire. Il est beaucoup plus rentable d’utiliser ce 5 minutes pour faire l’acquisition de 2 champs supplémentaires.

8 Analyse

8.1 Analyse des images

Le but est de déterminer la position des billes (coordonnées x et y) en fonction du temps. On pourrait noter à la main la position de chaque bille sur chaque image, mais ce travail serait plutôt fastidieux. Pour pouvoir obtenir beaucoup de données sur plusieurs billes, et donc de meilleurs résultats (on espère!), cette partie sera automatisée.

1. Lancez le programme *ImageJ*.
2. Ouvrez le film à analyser en vous assurant de ne pas utiliser un “virtual stack”. On peut naviguer dans le film à l’aide de la barre horizontale ou avec les touches  et .
3. Pour pouvoir identifier les billes, le programme doit recevoir une image en noir et blanc (billes noires sur fond blanc). Sélectionnez *Image/Adjust/Threshold*. Ajustez les deux barres horizontales pour isoler les billes du bruit de fond puis sélectionner “Apply”. Dans la fenêtre qui s’ouvre, assurez-vous qu’aucune option n’est cochée puis appuyez sur “Ok”. **Les billes doivent être noires sur fond blanc** (voir Fig. 5 en annexe). Au besoin, utilisez les

fonctions *Image/Lookup Tables/Invert LUT* (si vos billes sont blanches sur fond noir) et *Process/Binary/Fill holes* (pour remplir les billes).

Encore une fois, ne perdez pas votre temps à ajuster le *Threshold* pour faire ressortir seulement une bille de plus. Il est beaucoup plus simple et rapide d'effectuer plus d'acquisitions.

4. Utilisez *Plugins/Tracking/MTrack2* pour générer un tableau de la position des billes pour chaque image (voir Fig. 6 en annexe). Dans la fenêtre qui apparaît, ajustez la valeur de *Minimum Object Size (pixels)* pour inclure la bille que vous voulez analyser qui apparaît la plus petite dans l'image. Cette taille est représentée par le nombre total de pixels noirs inclus dans l'image de la bille. Pour trouver ce nombre, tracez un rectangle autour d'une bille et utilisez la fonction *Analyze/Histogram*. Dans la petite fenêtre qui s'ouvre, déplacez le curseur au-dessus de la ligne inscrite à 0. Vous aurez le nombre de pixels noirs inclus dans la bille en regardant le *count* en bas à droite de la fenêtre (voir Fig. 5 en annexe). Faites de même avec la valeur de *Maximum Object Size (pixels)* afin d'être en mesure de suivre la plus grande bille dans l'image. Estimez la distance (en pixel) qu'une bille peut parcourir entre chaque image et assurez vous que ce déplacement soit toujours plus petit que la valeur que l'on retrouve dans *Maximum Velocity*, ajustez-là au besoin. Pour terminer, ajustez la valeur de *Minimum track length (frames)* à 30 pour garder seulement les billes qui ont été suivies pendant 30 images consécutives ou plus. Cochez toutes les options au bas de la fenêtre puis démarrer l'analyse. Sauvegardez le tableau "Results" dans un fichier .txt (par exemple "1um_Serie1_resultats.txt"). **Notez dans votre cahier, pour chaque série, le numéro des billes qui ont un parcours normal (pas de collision).**
5. Ouvrez l'image de l'échelle de calibration dans ImageJ *File/Open....* Avec l'outil rectangle, tracez une ligne perpendiculaire aux barres de l'échelle, puis sélectionner *Analyze/Plot Profile*. Sauvegardez les données en appuyant sur le bouton *Save....* Nommer le fichier "calibration_40x.txt" par exemple. Trouvez la distance entre le premier minimum et le dernier minimum d'intensité du "plot profile" puis divisez cette distance par le nombre de μm entre ces deux bars pour obtenir votre facteur de conversion de pixel en μm . Estimez votre incertitude sur cette mesure.

8.2 Traitement des données avec Excel

1. Importez les fichiers "Serien_resultats.txt" dans Excel.
2. Ouvrez une nouvelle page Excel où vous mettrez toutes vos bonnes séries. Si certaines de vos séries ne commencent pas au premier "frame" placez la série pour qu'elle commence au premier (le premier "frame" étant la position initiale de la bille).
3. Calculez le déplacement au carré pour chaque bille. Notez que vous pouvez transformer un indice relatif en indice absolu en utilisant "\$" dans vos formules. Par exemple, si vous

utilisez la notation “=A1-A2” et que vous copiez la formule dans les rangées inférieures, vous obtiendrez : “=A2-A3”, “=A3-A4”, “=A4-A5”... En utilisant la notation “=A\$1-A2” vous obtiendrez plutôt : “=A1-A3”, “=A1-A4”, “=A1-A5”... L’indice de la rangée a maintenant une valeur absolue.

4. Calculez $\langle r^2 \rangle$ pour toutes les bonnes séries de données (utilisez la fonction “average”). Si la taille de vos séries n’est pas toujours la même, cela fonctionnera quand même, vous aurez simplement une meilleure statistique dans la première partie de la droite.
5. Convertissez les coordonnées de $\langle r^2 \rangle$ en μm^2 (N’oubliez pas, cette valeur est au carré!) et le “frame number” en secondes.
6. Obtenez la pente de $\langle r^2 \rangle$ vs t . **Notez que si la dérive est trop importante il est plus intéressant d’utiliser une régression quadratique plutôt que linéaire. Dans ce cas, le coefficient d’intérêt est celui devant l’élément de degré 1 (linéaire). Cette méthode permet de filtrer une dérive constante.**
7. Calculez une valeur de la constante de Boltzmann k à partir de cette pente.

9 Expérimentation : deuxième séance

1. Refaites les manipulations 1 à 7 de la section *Observation des microbilles* pour les billes de taille de $2\ \mu\text{m}$ et $0,5\ \mu\text{m}$ (**Terminez d’abord l’analyse complète de vos données pour une taille de billes avant de passer à une taille différente**). Si le temps vous le permet, refaites les manipulations pour les autres tailles de billes également.
2. Refaites les manipulations 1 à 4 de la section *Analyse des images*.

9.1 Traitement des données avec Matlab

1. Une interface sur Matlab a été créée pour automatiser le calcul de $\langle r^2 \rangle$ et l’écart type de la distance parcourue pour toute votre population de billes après un temps t (voir section “Mesure avec l’écart type du déplacement”). Vous devez mettre tous vos fichiers .txt dans un même dossier pour chaque grosseur de billes. Il faudra également vous assurer que vous savez toujours quelles séries sont bonnes.
2. Ouvrez le programme *Analyse Brownien* (voir Fig. 7 en annexe). Cliquez d’abord sur le bouton “Choisir fichiers” puis sélectionnez le ou les fichiers que vous désirez analyser. Pour chaque fichier (film), vous devez indiquer chaque indice des billes que vous désirez analyser dans l’onglet *Indices des billes[...]*. Finalement, ajustez l’onglet *Échelle (pixel/um)* avec la valeur de calibration que vous avez trouvé durant la première séance. Vous pouvez également

ajuster le délai pour le calcul par écart type. Cependant, vous pouvez le laisser vide et la fonction prendra le temps entre deux images consécutives comme délai par défaut (ce qui est optimum pour avoir le plus de données possible). Lorsque vous êtes prêt, appuyez sur le bouton *Start* et choisissez le nom de base de vos fichiers d'enregistrement.

3. Trois fichiers .xls seront alors créés dans le même dossier.
 - *nomdebaseBilles.xls* : Dans ce fichier vous trouverez tous les r^2 calculés pour chaque bille sous forme de colonne. La dernière colonne correspond au $\langle r^2 \rangle$ (tous les résultats sont en μm^2). Dans la première rangée, on trouve l'indice du fichier .txt correspondant et dans la seconde, l'indice de la série analysée.
 - *nomdebaseTous.xls* : Ce fichier contient dans la première colonne les indices des séries de mesures que la fonction a analysées, dans la seconde colonne le temps en seconde et dans la troisième la valeur de $\langle r^2 \rangle$ en μm^2 .
 - *nomdebaseSTD.xls* : Ce fichier contient dans la première colonne le délai t en secondes, dans la seconde colonne le déplacement effectué en x (en μm) pendant un temps t pour chacune des billes après chaque déplacement enregistré, dans la troisième la même chose, mais en y et dans la quatrième, en 2D.
4. Utilisez le fichier *nomdebaseTous.xls* pour obtenir la pente (avec une régression linéaire ou quadratique) de $\langle r^2 \rangle$ vs t et trouver la constante de Boltzmann. Calculez l'erreur sur la pente et l'incertitude correspondante pour les différentes constantes. Quelles sont les principales sources d'incertitudes ?
5. Calculez l'écart type du déplacement en x et en y à l'aide du fichier *nomdebaseSTD.xls* et déduisez en la valeur de la constante de Boltzmann. Calculez l'incertitude sur cette mesure. L'écart entre votre valeur et la valeur théorique est-elle plus grande ou plus faible qu'avec la méthode par régression ? Pourquoi ? Si vous avez une dérive constante, quel avantage procure cette technique ?
6. Si le temps vous le permet, ou dans un rapport de laboratoire, vous pouvez faire une régression pondérée grâce à l'interface *pondération* (voir en annexe pour plus de détails). Si vous utilisez cette fonction lors d'un rapport, il serait bien d'inclure un exemple de calculs montrant comment la fonction calcule l'incertitude et la pondération sur vos mesures.

10 Annexe

Régression pondérée sur l'incertitude de vos données

Une interface Matlab vous ait fourni pour calculer l'incertitude statistique sur vos mesures ainsi que générer un graphique qui inclue une régression de degré 1 ou 2 et qui est pondérée sur l'inverse de votre incertitude au carré. Cette interface génère un fichier xls, qui aura le nom suivant : nomdebaseponderation.xls. La première colonne de ce fichier correspond au temps (s), la seconde colonne au déplacement moyen au carré ($\langle r^2 \rangle$ en μm^2), la troisième à l'incertitude sur votre mesure (en μm^2) et la quatrième, à la pondération utilisée (en μm^{-4}). Un graphique sera aussi enregistré en format pdf et fig (format matlab) sous le nom de : nomdebasegraphique_dn.pdf, où n est le degré du polynôme choisi (1 ou 2).

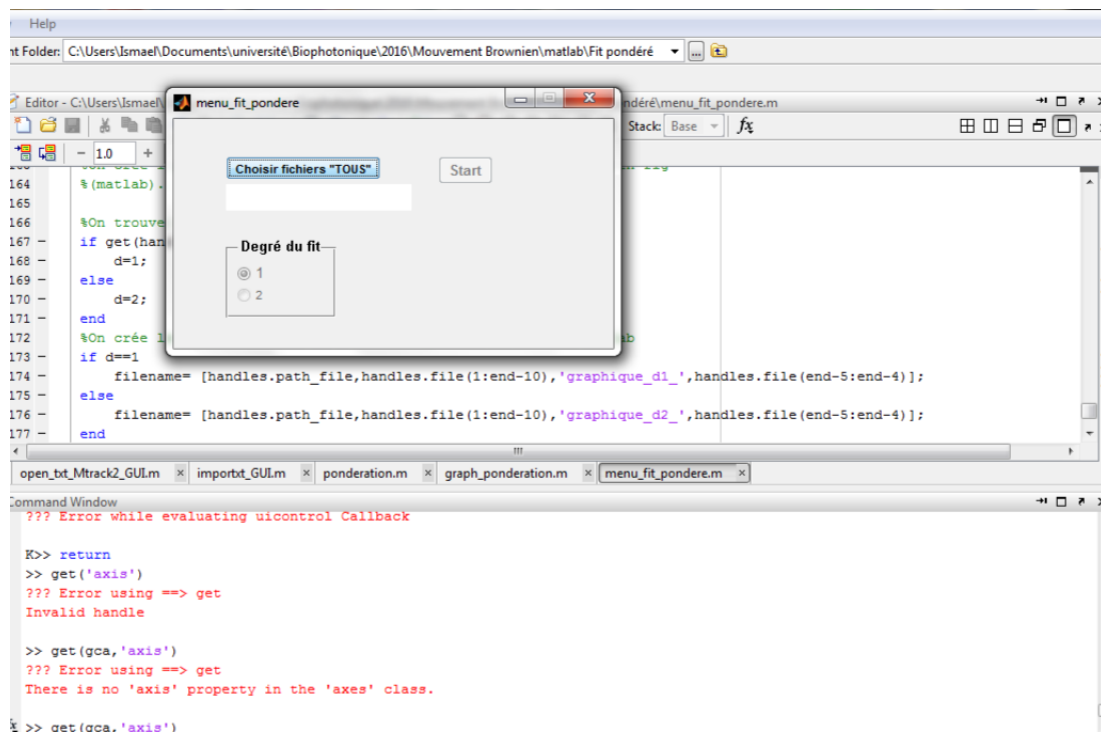
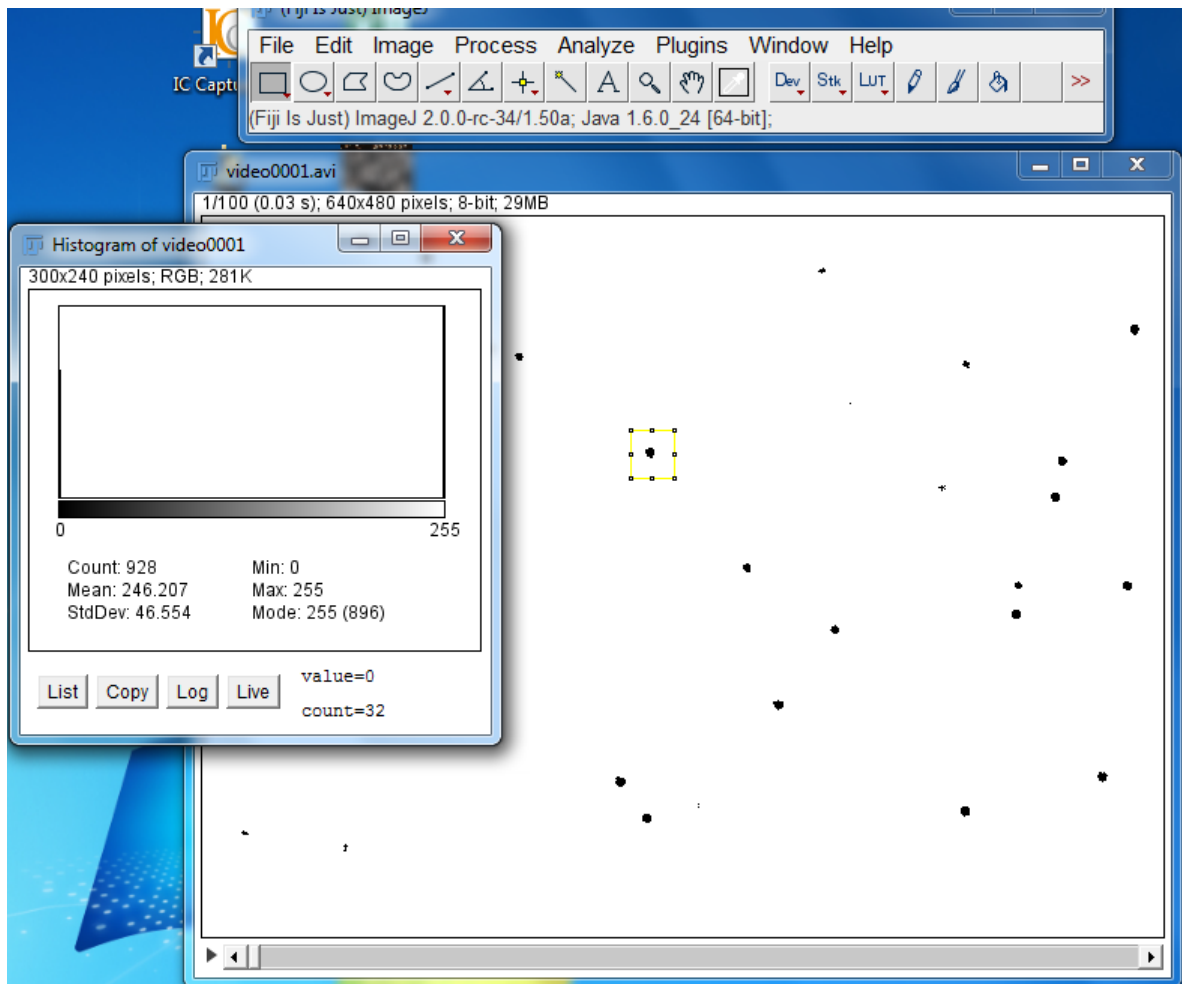


FIGURE 4 – Interface *Pondération* sur Matlab.

Image supplémentaires

FIGURE 5 – Histogramme des pixels contenus dans une bille de 1 μm .

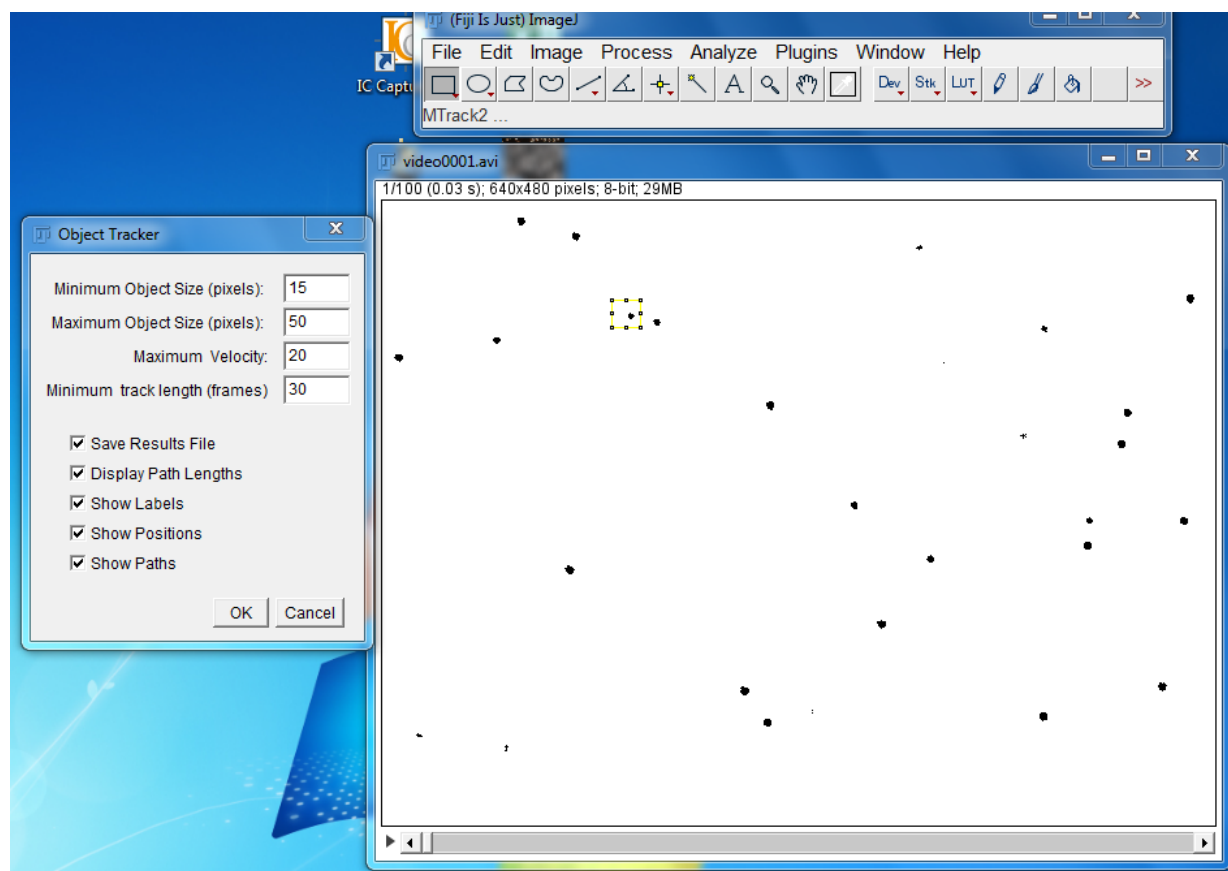
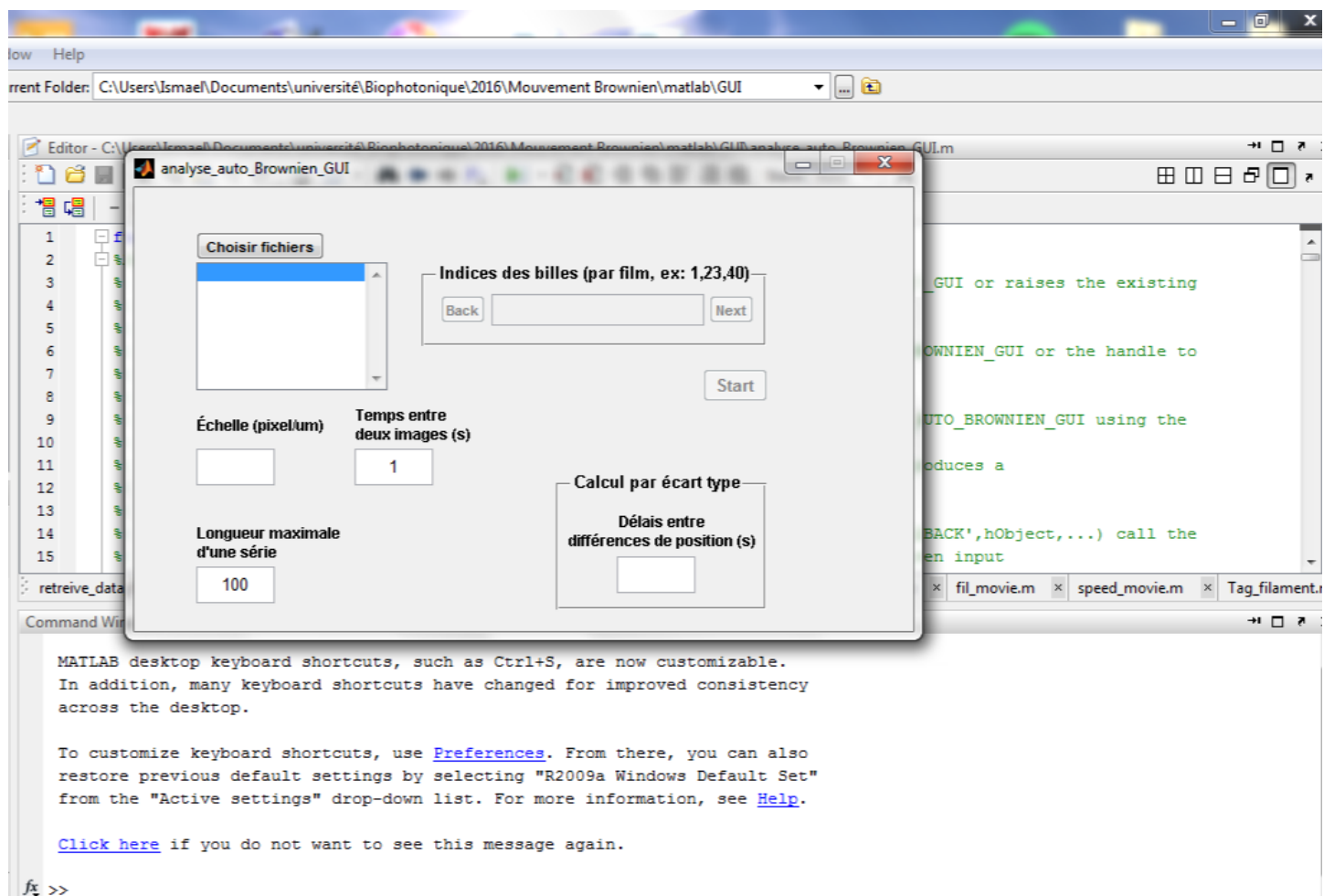


FIGURE 6 – Exemple des paramètres utilisés pour le “tracking” des billes.

FIGURE 7 – Interface dans Matlab pour le calcul des $\langle r^2 \rangle$.

Références

Schmitt, S. “De Brown au mouvement brownien” Pour la Science, janvier 2006 : 10-13.

Elena F. Koslover et al. “Disentangling Random Motion and Flow in a Complex Medium” Biophysical Journal, Février 2016 : 700-709.