

Étude expérimentale du mouvement brownien d'une particule colloïdale

par Paco MAURER, Jérémy FERRAND, Mathieu LEOCMACH, Thomas GIBAUD*
Laboratoire de Physique, CNRS/UMR 5672,
Ecole Normale Supérieure de Lyon,
46 allée d'Italie, 69007 Lyon, France
*<http://perso.ens-lyon.fr/thomas.gibaud/>
*thomas.gibaud@ens-lyon.fr

LE MOUVEMENT BROWNIEN, c'est le mouvement désordonné et incessant de petites particules en suspension dans un fluide. Cet article présente des expériences de microscopie : l'enregistrement de la dynamique de particules browniennes, l'extraction et l'analyse de leurs trajectoires. Cette analyse permet non seulement de mettre en évidence les caractéristiques du mouvement brownien mais aussi de mesurer les propriétés propres au fluide telles que sa viscosité. A cet article est joint un film de la dynamique d'une particule brownienne et un fichier contenant les coordonnées au cours du temps de la particule brownienne permettant ainsi aux lecteurs de reproduire l'analyse des données discutées dans l'article.

Introduction

Le mouvement brownien, c'est le mouvement désordonné et incessant de petites particules en suspension dans un liquide au repos. L'histoire du mouvement brownien est riche [1]. Le mouvement brownien a été observé dès le XVIII^e siècle, et peut-être même avant. Richard Brown, un botaniste écossais du début du XIX^e siècle, qui s'intéressait à l'action du pollen dans la reproduction des plantes, a observé le mouvement irrégulier et incessant de particules micrométriques dans le fluide interne des grains de pollen [2]. A l'époque, il s'agissait à priori d'un phénomène vital. R. Brown a cependant montré que le phénomène persiste avec des particules inorganiques, émancipant ainsi le mouvement brownien du concept faux fondé sur des particules vivantes. Ce n'est qu'au début du XX^e siècle que les physiciens ont su interpréter et analyser le mouvement brownien. Ce qui est particulier dans le mouvement brownien, et qui a tenu en échec les tentatives d'interprétation du XIX^e siècle, est que ce mouvement est perpétuel, à la différence des expériences usuelles où les phénomènes de frottement amortissent et finissent par arrêter le mouvement. Albert Einstein [3], William Sutherland [4], Marian von Smoluchowski [5] et Paul Langevin [6] s'appuient sur l'hypothèse moléculaire, le liquide thermostaté contenant les particules browniennes est composé de molécules de taille bien plus petites que les particules browniennes, et démontrent que ce sont les chocs entre la particule brownienne et les molécules du liquide qui sont à l'origine du mouvement brownien. Cette hypothèse sera enfin validée par les expériences menées par Jean Perrin en 1928. A l'aide d'un microscope et de photographies, l'équipe de Jean Perrin reconstruit « à la main » les trajectoires des particules browniennes et en dérive une mesure correcte du nombre d'Avogadro, validant ainsi la théorie du mouvement brownien [7-9].

Ici, tout comme l'équipe de Jean Perrin mais avec les moyens techniques actuels nous avons étudié le mouvement brownien. Nous avons dispersé des particules browniennes dans un fluide simple, un mélange eau/glycérol. Lors d'expériences de microscopie, nous avons enregistré la dynamique de particules browniennes, extrait et analysé leurs trajectoires. Cette analyse nous a permis non seulement de mettre en évidence les caractéristiques du mouvement brownien mais aussi de mesurer les propriétés propres au fluide telles que sa viscosité.

Les expériences présentées dans cet article ont été réalisées au Laboratoire de Physique de l'Ecole Normale Supérieure de Lyon par des étudiants de Master dans le cadre de travaux

pratiques dans un laboratoire de recherche. Telles qu'elles ont été réalisées, ces expériences sont coûteuses et ne sont donc pas réalisable au lycée. Un montage réalisable en lycée est proposé dans [10]. Toutefois, nous avons joint à cet article un film de la dynamique d'une particule brownienne unique et un fichier contenant les coordonnées au cours du temps de cette même particule. Ainsi il est possible, à partir de ces données expérimentales, de refaire toute l'analyse des données présentées dans cet article. Ce genre d'analyse, quasiment impossible à réaliser à la main, nous semble intéressante à enseigner, en particulier, dans le cadre des nouveaux programmes de classe préparatoire aux grandes écoles (2013) et de l'enseignement des langages de programmation libres tel que Python et SciLab. L'analyse peut porter sur le suivi de particules et/ou des trajectoires browniennes.

1. Dispositif expérimental

L'expérience consiste à suivre au microscope des particules colloïdales en régime dilué dans un fluide newtonien au repos.

1.1. Cellule pour la microscopie

Dans un premier temps, une enceinte hermétique est fabriquée sur une lame de microscope. Deux languettes de parafilm (Bemis) sont découpées et posées sur la lame de verre (Menzel Glasser). Sur ces deux languettes est déposée une lamelle de microscopie. Après 5 minutes de chauffage sur une plaque chauffante, le parafilm est fondu et colle les deux lames ensemble en assurant un espacement entre elles d'environ 125 μm . Le fluide à étudier, un mélange d'eau et de glycérol (68 %) auquel il aura été ajouté une faible quantité de billes colloïdales de polystyrène fluorescentes, est alors inséré par capillarité. Les billes colloïdales sont ajoutées en très faible quantité (un colloïde tous les 100 μm) car elles sont utilisées en tant que traceurs et on veut éviter qu'elles interagissent entre elles. Ces billes colloïdales (FluoSpheres, Invitrogen), se présentent sous forme d'une suspension aqueuse. Elles absorbent la lumière à $\lambda=540\text{nm}$ et la réémette à $\lambda=560\text{nm}$. Les billes colloïdales ont un rayon $a=0,5 \mu\text{m}$ et une densité de 1,06. Pour finir, on ferme hermétiquement l'échantillon grâce à une colle durcissant aux UV (Norland Optical Adhesive 60). Un schéma du dispositif est présenté en figure 1.

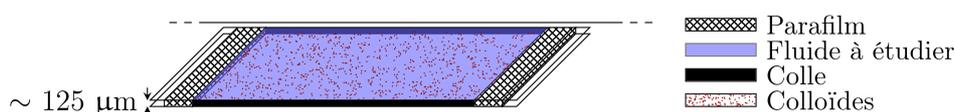


Figure 1 - Schéma de la cellule permettant l'étude du mouvement brownien

1.2. Particule colloïdale

Pour observer le mouvement brownien d'une particule dans un fluide simple plusieurs conditions sont requises [11]. La particule doit être colloïdale c'est à dire que sa taille doit être bien supérieure à la taille des molécules du solvant (tableau 1). Il faut aussi s'assurer que l'agitation thermique est le processus physique qui domine la dynamique de la particule colloïdale. Principalement deux phénomènes peuvent venir masquer ou perturber le mouvement brownien d'une particule en solution dilué : un écoulement et la sédimentation de la particule. La cellule optique étant scellée et immobile, il n'y a pas a priori d'écoulement dans la cellule optique. Par ailleurs, la gravité joue un rôle négligeable. En effet le nombre de Péclet (Pe_g), nombre sans dimension qui caractérise le rapport entre l'énergie thermique (E_{th}) responsable du mouvement brownien et la variation d'énergie potentiel de pesanteur relatif à une altitude égale au diamètre de la particule responsable de la sédimentation (E_g), est grand (tableau 1). Ici,

$$\left\{ \begin{array}{l} E_{th} = k_B \cdot T \approx 4,1 \cdot 10^{-21} \text{ J} \\ E_g = \Delta m \cdot g \cdot 2a = \frac{4\pi(\rho_{colloïde} - \rho_{eau})a^3}{3} \cdot g \cdot 2a \approx 3,1 \cdot 10^{-22} \text{ J} \end{array} \right. \rightarrow Pe_g = \frac{E_{th}}{E_g} \gg 1$$

avec $\rho_{colloïde}$ la masse volumique du colloïde, ρ_{eau} la masse volumique de l'eau, g la constante de gravité, k_B la constante de Boltzmann et T la température. Ces deux phénomènes parasites seront vérifiés a posteriori. En présence d'un écoulement la trajectoire, normalement aléatoire du colloïde, est biaisée dans le sens de l'écoulement. En présence d'effets de la gravitation, le colloïde sédimente dans la direction Z et donc on perd la mise au point effectuée avec le microscope sur le colloïde. Finalement les particules colloïdales doivent être en régime dilué pour qu'elles n'interagissent pas entre elles. Ceci est vérifié une fois l'échantillon fabriqué. Comme les particules fluorescentes ne possèdent pas d'interaction à longue distance, on estime sous microscope que l'échantillon est dilué dès que la distance moyenne entre colloïdes est supérieure à au moins une dizaine de fois le diamètre du colloïde.

Diamètre moléculaire de l'eau (H ₂ O) [12]	0,34 nm
Diamètre moléculaire du glycérol (C ₃ H ₈ O ₃)[12]	0,55 nm
Viscosité tabulée du mélange eau (32%)/glycérol(68%) à T=20°, η [13]	19,4 mPa.s
Diamètre du colloïde, $2a$	1,0 μ m
$Pe_g = k_B T / (\Delta mg(2a))$ avec $T = 20^\circ\text{C}$, $\rho_{eau} = 1000 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$, $\rho_{colloïde} = 1060 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$	~ 13

Tableau 1 - Propriété des particules colloïdales utilisées pour mettre en évidence le mouvement brownien.

1.3. Microscopie à fluorescence

Le suivi de la position d'une particule est effectué par microscopie à fluorescence (Nikon Eclipse Ti). La figure 2 présente un schéma de principe : la lumière provenant de la lampe He-Ne (Nikon Intense Light C-HGFI) est filtrée à 525 +/- 25 nm (représentée par un faisceau vert sur le schéma) et est dirigée sur l'échantillon via un objectif x100 à immersion dans l'huile. Cette longueur d'onde correspond à la longueur d'onde d'absorption des colloïdes fluorescents. La lumière réémise par les colloïdes fluorescents (représentée par un faisceau rouge sur le schéma) est ensuite captée par ce même objectif et est filtrée pour ne garder que les longueurs d'ondes supérieures à 560 nm ce qui permet d'isoler le signal de la fluorescence et de couper la lumière provenant de la lampe He-Ne. L'image est ensuite formée sur le capteur d'une caméra (Hamamatsu ORCA-Flash4). L'expérience consiste à se placer en microscopie à fluorescence, à faire la mise au point sur un colloïde fluorescent isolé et à enregistrer un film.

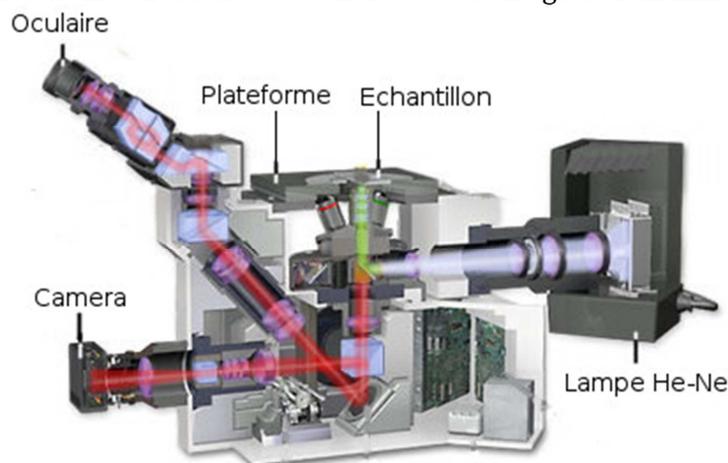


Figure 2 - Schéma du microscope.

1.4. Paramètres d'acquisition

Il faut alors optimiser les paramètres d'acquisition du film qui dépendent en particulier des propriétés de la caméra. Ces paramètres sont interconnectés et leurs optimisations résultent souvent d'un compromis entre la résolution spatiale et la résolution temporelle.

Il est ainsi nécessaire de déterminer un temps d'exposition tel que le rapport signal sur bruit soit suffisant pour analyser par la suite l'image. L'intensité d'un pixel est codée en 16 bits et varie donc entre 0 en l'absence de signal et sature à $2^{16}-1$ soit 65535. En pratique, en l'absence de signal, on ne mesure jamais une intensité de 0 mais une intensité autour de 1000 à cause du bruit qui provient de la caméra et de l'expérience (lumière parasite, fluorescence parasite de particule en dehors du plan de mise au point, etc.). Le temps minimum d'exposition que l'on prend tout en gardant un rapport signal sur bruit suffisamment grand pour traiter les images par la suite est de d'environ 4 ms.

Il est nécessaire d'optimiser le nombre d'images enregistrées par seconde. Ici, on veut maximiser cette vitesse. La résolution temporelle est limitée par le temps d'écriture de l'intensité capté par les pixels du capteur sur la mémoire de la caméra. La caméra possède un capteur CMOS de $2024 \times 2024 \text{ px}^2$ ($\text{px}=\text{pixel}$). Chaque pixel du capteur couvre une surface de $6,45 \mu\text{m} \times 6,45 \mu\text{m}$. Un objectif de grossissement $\times 100$ permet donc une image dont chaque pixel représente $64,5 \text{ nm} \times 64,5 \text{ nm}$. En pleine résolution $2024 \times 2024 \text{ px}^2$ la caméra acquière au maximum 50 ips (ips=images par seconde). Cependant en réduisant le nombre de pixels sur lequel on effectue l'enregistrement on peut augmenter la fréquence d'acquisition, par exemple en $512 \times 512 \text{ px}^2$ on peut acquérir 200 ips.

Le dernier paramètre important est la sensibilité de la caméra, qui est liée au rendement quantique c'est à dire la mesure du pourcentage de photons de lumière convertis en électrons et captés par un pixel dans une longueur d'onde. Pour notre caméra le rendement quantique à 555 nm est de 60%. En pratique si le temps d'exposition est trop faible, le rapport signal sur bruit devient trop faible. On peut augmenter la sensibilité de la caméra en effectuant du binning, c'est à dire regrouper plusieurs pixels de la caméra entre eux pour donner un seul pixel sur l'image. Par exemple un binning de 2 signifie que l'on réalise la somme de 2 pixels de la caméra en ligne et en colonne (soit 4 pixels en tout) pour donner un seul pixel sur l'image. L'image en binning 2 possède donc une résolution spatiale deux fois plus petite mais une sensibilité 4 fois plus grande que l'image sans binning.

Au final, en utilisant un binning de 2 et un temps d'exposition de 2 ms on obtient un rapport signal sur bruit suffisant pour traiter les images. La vitesse maximale d'acquisition pour notre expérience est donc de 500 Hz avec un 1 pixel qui représente 129 nm et une dimension d'image de $200 \times 200 \text{ px}^2$. Ce temps caractéristique d'acquisition est très faible par rapport au temps caractéristique de sédimentation du colloïde sur son propre rayon, $\tau_{\text{séd}}=9\eta/(2\Delta\rho a^2)\sim 300 \text{ s}$ et très grand par rapport au temps caractéristique de la dynamique du solvant, $\tau_{\text{eau}}=a^2_{\text{eau}}/D_{\text{eau}}\sim 10^{-10}\text{s}$ avec a_{eau} le rayon moléculaire de l'eau et D_{eau} le coefficient d'autodiffusion de l'eau ($D_{\text{eau}} = 3.10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$). On est donc dans les bonnes conditions pour observer le mouvement brownien du colloïde.

2. Suivre d'une particule colloïdale

2.1. Méthode

Une fois récupérées sur l'ordinateur, les images sont traitées pour pouvoir suivre la position des particules en fonction du temps. Le traitement des données a été effectué sous Matlab mais peut très bien s'effectuer avec des langages libres comme Python. La Figure 3 montre l'effet du traitement utilisé pour déterminer le centre de chacune des particules. Le suivi de plusieurs particules complique la tâche mais permet d'obtenir une statistique élevée. On se contente ici de ne suivre qu'une seule particule.

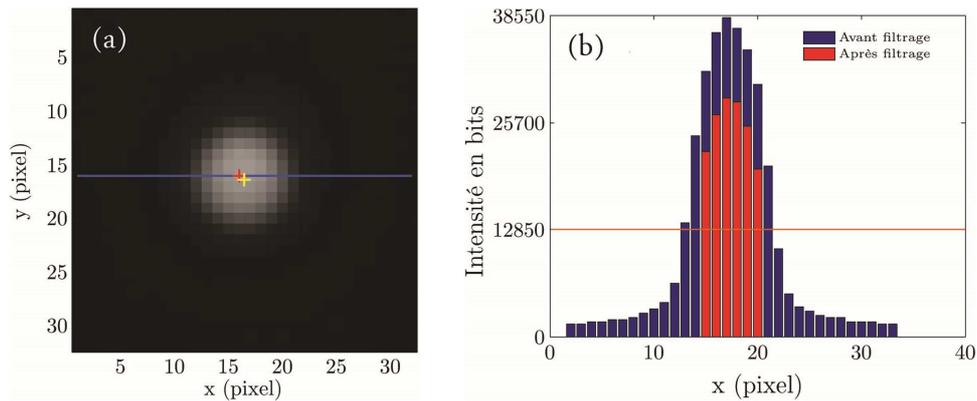


Figure 3 - (a) Image d'une particule fluorescente par microscopie. La croix rouge indique le pixel le plus lumineux, la croix jaune indique la position du centre déterminée par le traitement d'image. (b) Intensité des pixels le long de la ligne bleue avant et après le traitement d'image. Le seuil utilisé est représenté par la droite orange. 1 pixel représente 129 nm. Le film du mouvement d'un colloïde est joint à cet article (documents complémentaires).

La détermination du centre de la particule se fait en plusieurs étapes [14-16]:

- L'image est tout d'abord filtrée spatialement par un filtre passe-bande dont les longueurs d'ondes de coupures sont de 1 pixel (permettant ainsi de couper le bruit haute fréquence) et de la taille caractéristique de la particule (dans la figure 2a, cela correspond à 13 pixels),
- Ensuite le bruit est atténué en supprimant tous les pixels moins lumineux qu'une valeur seuil prise, en fonction des images, autour de 20% de la valeur du pixel le plus lumineux. Ainsi on ne garde que la particule et on élimine le bruit dans les zones où on ne détecte pas de fluorescence.
- Le milieu de la particule est ensuite déterminé par une modélisation gaussienne en deux dimensions : la précision avec laquelle on détermine le centre de la particule devient alors inférieure au pixel.

Ainsi comme le montre la figure 4, on peut suivre le mouvement de la particule au cours du temps, ou simplement l'évolution au cours du temps de sa position selon l'axe X ou l'axe Y. Les trajectoires du colloïde exposées sur la figure 4 exhibent certaines propriétés du mouvement brownien. Il semble que la direction à chaque pas de temps est aléatoire et le mouvement total de la particule forme un enchevêtrement contenu dans un cercle de plus en plus grand au fur et à mesure du temps. Le suivi de la position selon l'axe X montre une évolution vers les X croissants ou vers les X décroissants de façon statistiquement équivalente. L'expérience ne semble donc ni biaisée par un écoulement, ni par une dérive mécanique de la cellule optique ou la gravité.

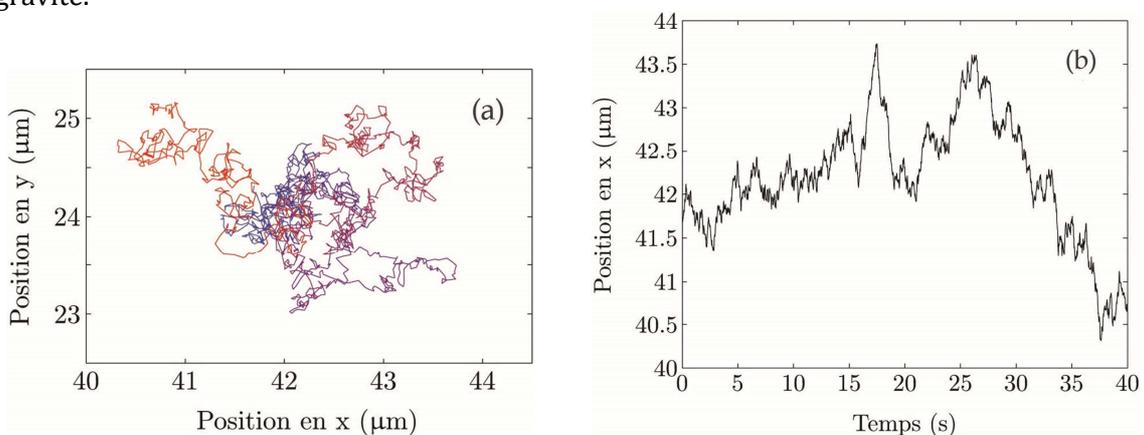


Figure 4 - (a) Position d'une particule à différents instants séparés de 0.02 s, s'étalant du rouge ($t=0$ s) au bleu ($t=40$ s). (b) Position en X en fonction du temps, t , du colloïde de l'image (a). 1 pixel représente 64.5 nm. Une trajectoire analogue ce trouve dans le fichier joint à cet article (documents complémentaires).

2.2. Biais de la méthode

Afin de s'assurer que l'algorithme de suivi de la particule colloïdale ne présente aucun biais, on peut s'intéresser à la partie décimale de la position X en pixel : $E(X)-X$, ou $E(X)$ est la partie entière de X . En effet, si l'algorithme de détection fonctionne correctement, la partie décimale de la position devrait être aléatoirement distribuée. La figure 5 montre la distribution de la partie décimale de la position pour deux ensembles de paramètres de l'algorithme de détection différents. Dans un cas, l'histogramme est plat et permet de conclure que l'algorithme de détection n'est pas biaisée et dans l'autre, l'histogramme présente de fortes variations laissant présager un biais dans la méthode de détection. Par exemple, si lors du filtrage on ne laisse "passer" que le pixel le plus lumineux, alors la position aura pour partie décimale systématiquement zéro puisque le centre de la particule sera alors la position du pixel le plus lumineux. On s'assure ainsi que la méthode utilisée n'impose aucun biais statistique sur la position des particules ; on détecte alors la particule avec une résolution sub-pixel, typiquement entre 1/10 et 2/10 de pixel.

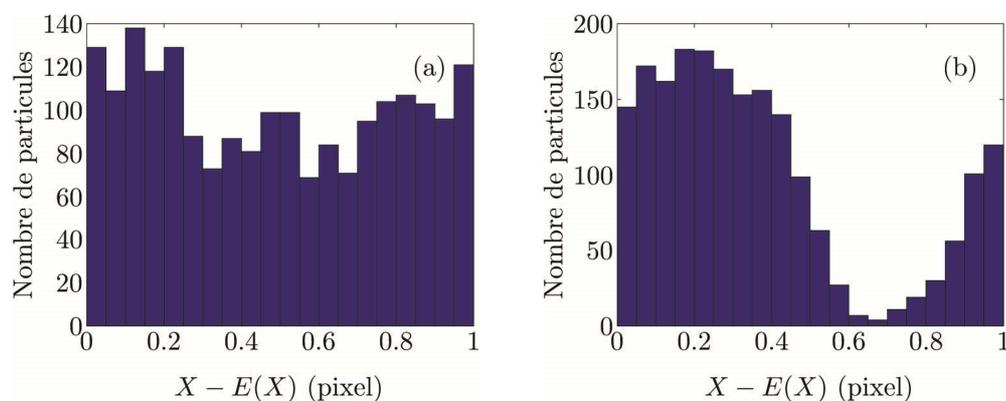


Figure 5 - Distribution de la partie décimale de la position en X pour deux jeux de paramètres de détection. (a) La distribution est plate, les paramètres utilisés (coupure spatiale à 13 px et seuil à 25% de l'intensité maximale) sont alors corrects. (b) La distribution est biaisée par les paramètres utilisés pour la détection (coupure spatiale à 13 px et seuil à 50% de l'intensité maximale). 1 pixel représente 64.5 nm.

3. Analyse de la trajectoire d'un colloïde brownien

3.1. Déplacement caractéristique

Comme le montre la figure 4, le mouvement est irrégulier, imprévisible et ne s'arrête jamais. Contrairement à un mouvement balistique, il est impossible d'assigner une tangente en un point sur la trajectoire d'une particule, elle change trop rapidement de direction de façon erratique, et ce, quelque soit l'échelle d'observation. Pour caractériser ce phénomène, on définit $\Delta X(t, \tau) = X(t+\tau) - X(t)$, où X est la position de la particule selon l'axe X , t le temps et τ l'écart entre deux instants. Le système étant invariant sous l'échange $X = -X$, on s'attend naturellement à obtenir la moyenne temporelle (sur t) de ΔX , $\langle \Delta X(t, \tau) \rangle = 0$ pour peu que l'on ait mesuré suffisamment longtemps. Cependant l'écart quadratique moyen $\langle (\Delta X(t, \tau))^2 \rangle$ n'a aucune raison d'être nul et va caractériser le mouvement brownien. En effet, dans la figure 6 plus τ augmente plus l'amplitude des variations autour de zéro augmente, la valeur de l'écart quadratique moyen semble donc augmenter avec τ .

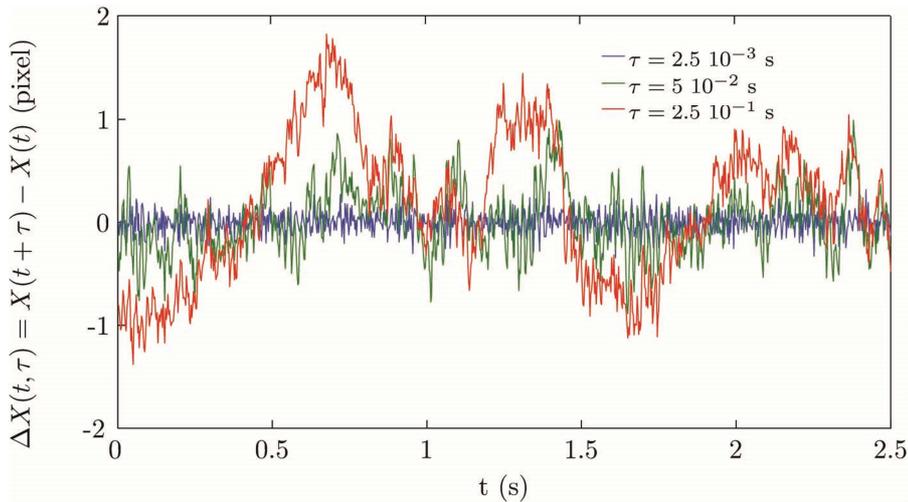


Figure 6 – Evolution de $\Delta X(t, \tau)$ en fonction de t pour 3 valeurs différentes de τ . Plus τ augmente, plus l'amplitude des variations centrées autour de 0 augmente. 1 pixel représente 64,5 nm.

Il est important d'utiliser $\Delta X(t, \tau)$ et non $X(t)$ pour étudier la dynamique du colloïde. En effet, lorsque le temps total d'acquisition est suffisamment long, les propriétés statistiques de $\Delta X(t, \tau)$ restent inchangées alors que celles de $X(t)$ dépendent du temps d'acquisition. Par exemple la variance de $X(t)$ augmente avec le temps total d'acquisition alors que la variance à τ constant de $\Delta X(t, \tau)$ est constante.

À présent que l'on dispose d'outils permettant de suivre les particules et de vérifier que les paramètres de suivi n'introduisent aucun biais, nous allons analyser $\Delta X(t, \tau)$ afin d'en déduire le coefficient de diffusion du colloïde.

3.2. Statistique relative au déplacement

Lorsque l'on suit une particule on a vu que celle-ci tend à s'éloigner de sa position de départ. Pour caractériser cette tendance, nous allons analyser les propriétés statistiques de $\Delta X(t, \tau)$ à τ constant. La moyenne de $\Delta X(t, \tau)$ est nulle. La variance par contre ne l'est pas et semble varier avec τ (figure 7c). Nous proposons deux méthodes pour mesurer la variance de $\Delta X(t, \tau)$:

- Méthode de l'histogramme. Dans cette méthode on trace l'histogramme de $\Delta X(t, \tau)$ à τ fixé, c'est-à-dire le nombre de fois que le colloïde passe au cours du temps t à la position ΔX . La figure 7a-b montre une distribution $\Delta X(t, \tau)$ à $\tau=0,4s$ en échelle linéaire et en échelle semi-logarithmique. Pour pouvoir plus facilement interpréter l'évolution de la distribution, cette dernière a été normalisée par le nombre total de points (figure 7c). L'histogramme représente donc la probabilité du colloïde de se déplacer de ΔX pour un tau donnée. On observe que cette distribution est en forme de cloche, qu'elle est centrée en $\Delta X = 0$ et qu'elle est symétrique par rapport à $\Delta X=0$. Ces propriétés sont caractéristiques du mouvement brownien: il est plus probable de faire de petits déplacements ΔX que de grands déplacements, la particule a autant de chance de se déplacer vers les X positifs que les X négatifs et au final ces déplacements sont centrés autour de $\Delta X = 0$. La distribution suit une loi gaussienne ($f(x) = \exp(-0.5x^2/\sigma^2)/(\sigma\sqrt{2\pi})$, σ^2 est la variance ou l'écart quadratique moyen) propre aux phénomènes aléatoires indépendants (la position du colloïde à instant t est indépendant de son histoire). La représentation semi-logarithmique selon l'axe Y (figure 7b), permet de montrer que l'expérience suit une distribution gaussienne, aussi bien proche du centre que loin du centre pour les événements rares. Pour la distribution de la figure 7a-b, on trouve $\sigma_{\Delta x}(\tau=0,4s) = 0,49$ px. A noter, la méthode de Scott [16] a été utilisée pour déterminer le nombre de classes de l'histogramme. Cette méthode a l'avantage de minimiser l'intégrale de l'erreur quadratique moyenne entre la densité estimée par l'histogramme et les valeurs réelles en supposant que les données sont distribuées selon une distribution gaussienne centrée en zéro, ce qui est le cas ici.

- Méthode de la distance quadratique moyenne. Il est aussi possible d'évaluer directement la variance de $\Delta X(t, \tau) : \langle \Delta X(\tau)^2 \rangle = [\sum_{t=1}^{N-\tau} X^2(t, \tau)] / (N - \tau)$, avec t allant de 1 à N images et τ allant de 1 à $N-1$ images. Avec cette méthode on trouve $\sigma_{\Delta X} (\tau=0,4 \text{ s}) = 0,45 \text{ px}$.

On constate que les deux méthodes donnent des résultats similaires. La figure 7c présente l'évolution de cette distribution en fonction de ΔX , en utilisant la méthode de l'histogramme. On retrouve le comportement décrit qualitativement dans le paragraphe 3.1. Plus τ augmente, plus la distribution tend à s'étaler. Chaque méthode a son avantage, la première utilise un modèle gaussien permettant de gommer les erreurs de statistique mais est plus gourmande en calcul, la seconde est une mesure directe. Par exemple sur la figure 7, le modèle gaussien tend à filtrer la densité de probabilité de présence. Ainsi, les valeurs trop élevées de la densité de probabilité de présence en $\Delta X = 0$ pixel lié à la limite de résolution, qui sous-estime l'écart quadratique moyen, et celle en $\Delta X = 1,1 \text{ px}$ et $\Delta X = 1,2 \text{ px}$, qui le surestimeraient sont gommées par le modèle gaussien.

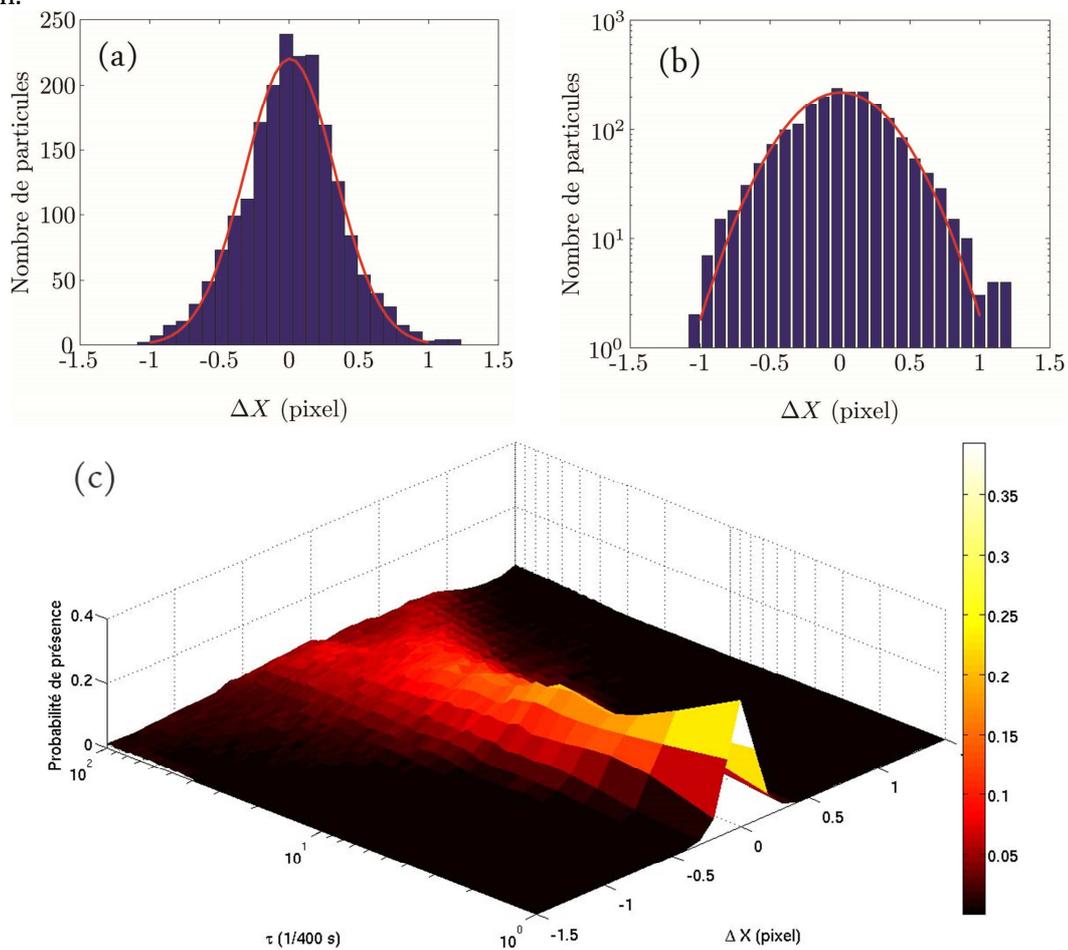


Figure 7 – Distribution représentant le nombre de fois que le colloïde passe à ΔX au cours du temps t pour $\tau = 0,4 \text{ s}$ dans une représentation linéaire (a) et semi-logarithmique (b). La courbe rouge représente une modélisation par une gaussienne. (c) Evolution de la distribution de probabilité présence du colloïde relative à la grandeur ΔX en fonction de τ . 1 pixel représente 129 nm.

La figure 8 représente l'évolution du carré de la variance en fonction de τ . On distingue trois régimes :

- Région (a) – Aux temps courts, le déplacement de la particule est souvent inférieur à la résolution de l'algorithme de suivi de particules. Cela se traduit par une statistique beaucoup trop piquée en 0. C'est pourquoi la courbe de $\sigma_{\Delta X}^2$ semble tendre vers une constante lorsque le pas de temps tend vers 0. Cette constante $\sigma_{\Delta X}^2$ peut être interprétée

comme la résolution de détection que l'on a sur notre système. Ici on voit que $\sigma_{\Delta X}^2$ tend vers $5 \cdot 10^{-2}$ px². Ainsi on s'attend à avoir une résolution d'environ 0.2 px ce qui est inférieur à la résolution du pixel de la caméra. La méthode de détection de particules multiplie donc par 5 la précision, par rapport à un suivi du pixel du colloïde fluorescent ayant le maximum d'intensité.

- Région (b) – Lorsque le mouvement est détectable, la variance est une fonction linéaire de τ . L'échelle logarithmique met en évidence une loi linéaire: on obtient alors une droite de pente 1. Une telle évolution de la dynamique est propre à un phénomène diffusif. En une dimension $\sigma_{\Delta X}^2 = 2D\tau$, où D est le coefficient de diffusion de la particule colloïdale. Sur cette expérience, on trouve $D = 0,02 \cdot 10^{-12}$ m²/s. C'est cette région qui nous intéressera par la suite.
- Région (c) – Lorsque τ devient grand, le carré de la variance ne suit plus d'évolution linéaire et le signal est très bruité. Cela provient d'un problème statistique. En effet, au fur et à mesure que l'on augmente τ , on raccourcit la fenêtre temporelle sur laquelle la statistique est faite, car $\Delta X(t, \tau) = X(t+\tau) - X(t)$ et $t+\tau$ ne peut pas être supérieure à la durée totale d'acquisition. Supposons maintenant que nous sommes de ce fait limités à étudier une fenêtre temporelle de 2.5 s. La figure 6 permet alors d'illustrer le problème. Pour une valeur de τ faible (courbe bleue, $\tau = 2.5$ ms), la statistique de $\Delta X(t, \tau)$ semble bien représentée sur un intervalle de 2.5 s. En effet on a une statistique qui semble bien centrée sur zéro. Par contre pour les grandes valeurs de τ (courbe rouge, $\tau = 25$ ms) cela devient un problème, les variations de $\Delta X(t, \tau)$ sont beaucoup plus lentes et sur l'intervalle de 2.5 s $\Delta X(t, \tau) \neq 0$. Il n'est alors pas étonnant de trouver une valeur de $\sigma_{\Delta X}^2$ aberrante. Il y a donc deux conséquences quand τ devient grand. Tout d'abord le nombre d'images exploitables devient faible car $t+\tau$ ne peut pas être supérieur à la durée totale d'acquisition. Ensuite, comme $\sigma_{\Delta X}^2$ varie linéairement avec τ , pour obtenir une statistique représentative de $\Delta X(t, \tau)$ à τ constant il faut attendre beaucoup plus longtemps.

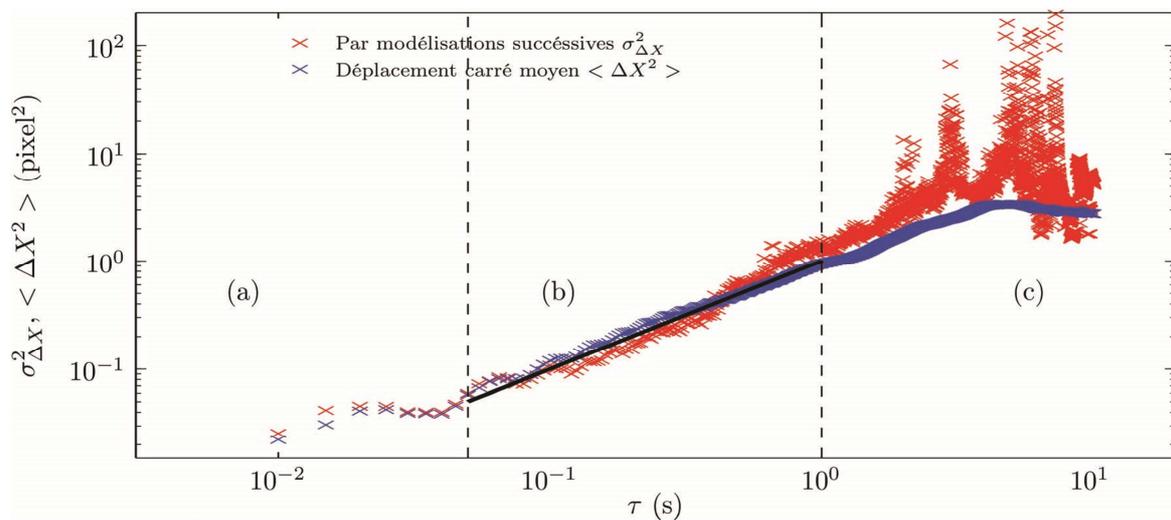


Figure 8 - Évolution du carré de la variance de la distribution de ΔX estimé par une modélisation gaussienne et par un calcul direct de la moyenne du carré du déplacement. On distingue 3 régimes : (a) la variance est constante et indique la limite de résolution de l'expérience : ~ 0.2 px ; (b) le carré de la variance varie linéairement avec τ ; (c) le nombre de point sur laquelle la variance est mesurée est trop faible et la variance n'est donc pas fiable. 1 pixel représente 129 nm.

La figure 8 permet aussi de valider à posteriori les paramètres d'acquisition. Nous avons choisi une fréquence d'acquisition suffisamment rapide pour mettre en évidence la résolution de l'algorithme de suivi de particule –région (a)– et pour mesurer le coefficient de diffusion –région (b).

4. Mesure de la viscosité du fluide

4.1. Relation de Stokes-Einstein

Sous l'effet de l'agitation thermique les molécules du solvant viennent percuter la particule, lui conférant ainsi un mouvement aléatoire au sein du fluide. Lorsque la particule est en mouvement celle-ci subit de la part du fluide une force de frottement. L'équilibre entre ces deux phénomènes donne à la particule un mouvement moyen diffusif isotrope. La relation de Stokes-Einstein [1, 2, 11] permet de relier le coefficient de diffusion de la particule à la viscosité du fluide:

$$D = k_B T / (6\pi\eta a)$$

En effet dans cette relation, on voit apparaître le rapport entre l'énergie thermique (motrice du mouvement) et une expression proche de la traînée de Stokes pour une sphère: $F = -6\pi\eta v$. Comme on aurait pu s'y attendre, la diffusion est d'autant plus rapide (D grand) que l'énergie thermique ($k_B T$) du solvant est grande, que la viscosité du solvant (η) est faible et que le rayon du colloïde (a) est petit. Il est intéressant de constater que le coefficient de diffusion dépend des propriétés du colloïde, alors que la viscosité est propre au fluide.

Il est possible d'intuiter la formule de Stokes-Einstein par analyse dimensionnelle. En supposant que D dépend de $k_B T$, η et a , on obtient: $[D] = [k_B T]^\alpha \cdot [\eta]^\beta \cdot [a]^\gamma$. En utilisant les dimensions de chaque grandeur (tableau 2) on obtient un système d'équations garant de l'homogénéité dimensionnelle, et on trouve :

$$\begin{cases} \text{mètre : } 2 = 2\alpha - \beta + \gamma \\ \text{seconde : } -1 = -2\alpha - \beta \\ \text{kilogramme : } 0 = \alpha + \beta \end{cases} \quad \text{soit} \quad \begin{cases} \alpha = 1 \\ \beta = -1 \\ \gamma = -1 \end{cases} \quad \text{soit} \quad D \sim k_B T / (\eta a)$$

$[D]$	$[k_B T]$	$[\eta]$	$[a]$
$\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$	$\text{J} = \text{N} \cdot \text{m} = \text{kg} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-2}$	$\text{Pa} \cdot \text{s} = \text{N} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s} = \text{kg} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	m

Tableau 2 : analyse dimensionnelle de la formule de Stokes-Einstein

4.2. Résultats

À présent que l'on a montré qu'on avait le bon comportement pour $\sigma^2_{\Delta X}$ sur une plage de pas de temps bien choisi, on peut s'en servir pour déterminer la viscosité du mélange eau-glycérol. Plusieurs séries de mesures ont été effectuées entre 10 et 523 images par seconde avec un nombre d'images allant de 2000 à 20000. Ceci permet ainsi d'avoir un maximum de pas de temps disponibles. Toutes les données ont été regroupées sur la figure 9. Cette figure représente $\sigma^2 = \sigma^2_{\Delta X} + \sigma^2_{\Delta Y}$ en fonction du pas de temps pour les différentes acquisitions. Seules les parties de courbes droites (figure 8b) ont été retenues pour chaque courbe. On remarque que tous les points s'alignent sur une même droite en échelle logarithmique. L'utilisation de l'échelle logarithmique permet de mieux visualiser la courbe à toutes les échelles de temps. Cependant, la régression linéaire a été effectuée en échelle linéaire par un algorithme donnant autant de poids à chaque point. L'estimation des incertitudes se fait alors à l'œil. On ajuste une droite au-dessus et en-dessous de la régression linéaire jusqu'à estimer que ces deux droites constituent les limites acceptables de la pente. On trouve alors une pente $p = (0,076 \pm 0,01) 10^{-12} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ et un coefficient de diffusion (en 2 dimension, $\sigma^2 = 4D\tau$) : $D = (0,019 \pm 0,002) 10^{-12} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1} = (19 \pm 2) 10^{-3} \mu\text{m}^2 \text{ s}^{-1}$.

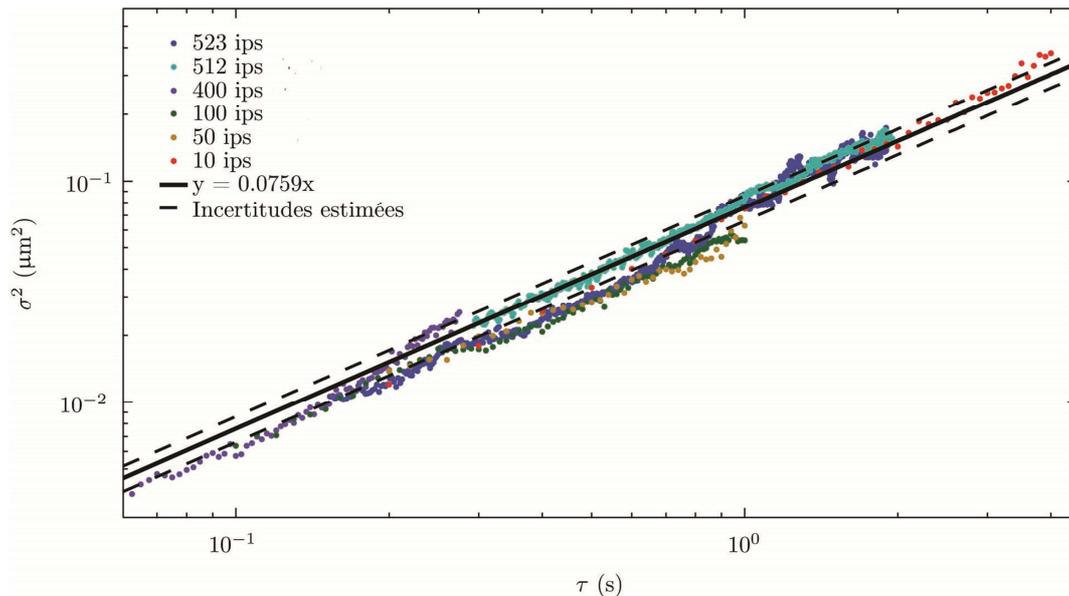


Figure 9 – Évolution de la variance $\sigma^2 = \sigma_{\Delta X}^2 + \sigma_{\Delta Y}^2$ estimée par une modélisation gaussienne. Les points de toutes les acquisitions s'alignent sur une même droite de pente 1 en échelle logarithmique. Cela permet ainsi de déterminer le coefficient de diffusion et la viscosité du fluide.

En appliquant la relation de Stokes-Einstein, on trouve, pour un colloïde de rayon $a = 0.5 \mu\text{m}$ et à la température $T = 291 \text{ K}$, une viscosité de : $\eta = 22,4 \pm 3,0 \text{ mPa.s}$. La viscosité de la solution a été également mesurée grâce à un rhéomètre cône-plan. La viscosité mesurée est : $\eta = 24,4 \pm 0,3 \text{ mPa.s}$. Aux incertitudes près on constate que les deux méthodes donnent des résultats de viscosité identiques.

Conclusion

Dans un premier temps nous avons décrit le système expérimental : la cellule optique, la particule brownienne, la microscopie par fluorescence et les paramètres d'acquisition de la caméra. Dans un second temps nous avons illustré l'algorithme de suivi des particules. Dans un troisième temps nous avons traité les trajectoires des particules browniennes et mesuré leur coefficient de diffusion. Finalement nous avons déduit de ces mesures la viscosité du solvant dans lequel les particules browniennes sont dispersées. Cette dernière étape illustre le principe de la micro-rhéologie [17] : la dynamique du traceur colloïdal dans un fluide permet de remonter aux propriétés mécaniques du fluide. La micro-rhéologie est actuellement couramment utilisée en recherche. Elle a l'avantage de ne nécessiter qu'un très petit volume d'échantillon et d'être une méthode locale permettant de caractériser les propriétés mécaniques avec une grande résolution spatio-temporelle. Par exemple, cet avantage a été mis à profit pour caractériser des échantillons avec une structure hétérogène telle que des cellules [18].

Remerciements : TG remercie l'agence nationale de la recherche pour le financement ANR-11-PDOC-027 qui a supporté ce travail.

Documents complémentaires

- [film_suivi400Hz.tif](#) : séquence de 2000 images prises à 400Hz en format tif codées sur 16bit du mouvement brownien d'une particule colloïdale de diamètre $1 \mu\text{m}$ dans un mélange eau/glycérol de viscosité $22 \pm 3 \text{ mPa.s}$. 1 pixel représente 129 nm.
- [coordonnees_suivi400Hz.txt](#) : fichier texte contenant la trajectoire XY du colloïde du film 'film_suivi400Hz.tif'. La position de la particule colloïdale a été déterminée en utilisant l'algorithme de suivi de particule décrit dans le texte de l'article. 1^{ère} colonne : position en X (px), 2^{ème} colonne : position en Y (px), 3^{ème} colonne : temps t (s).

Références

- [1] Le mouvement brownien, "divers et ondoyant". B. Duplantier. *Séminaire Poincaré* **1**, 155 (2005)
- [2] 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. Robert Brown, *Philosophical Magazine* **4**, 161 (1828).
- [3] Investigations on the Theory of the Brownian Movement. A. Einstein, Dover Publications, Inc. (1985). Über die von der molekularkinetischen Theorie der Wärme geforderte Bewegung von in ruhenden Flüssigkeiten suspendierten Teilchen. A. Einstein, *Ann. d. Physik* **17**, 549 (1905).
- [4] Dynamical theory of diffusion for non-electrolytes and the molecular mass of albumin. W. Sutherland, *Phil. Mag.* **9**, 781 (1905).
- [5] Zur kinetischen Theorie der Brownschen Molekularbewegung und der Suspensionen. M. Smoluchowski, *Ann. Phys.* **21**, 756 (1906)
- [6] On the theory of Brownian motion. P. Langevin, *C. R. Ac. Sci. Paris* **146**, 530 (1908)
- [7] Mouvement brownien et réalité moléculaire. J. Perrin, *Annales de Chimie et de Physique* **19**, 5 (1909)
- [8] J. Perrin, Les Atomes, Felix Alcan, Paris (1913) ; réédition Champs Flammarion (1991).
- [9] Jean Perrin et le mouvement Brownien (2001). Auteur/Réalisateur du film: Gérard Rumebe. Producteurs: Université Pierre et Marie Curie/Palais de la découverte Distributeur: S.F.R.S.
http://www.canal-u.tv/video/science_en_cours/jean_perrin_et_le_mouvement_brownien_2001.8
- [10] Sur les traces de Jean Perrin avec une webcam. A. Deiber, V. Steinmetz, J. Aflalo et S. Lavaux. *BUP* **897**, 1039 (2007)
- [11] W. C. K. Poon. Colloidal suspensions (2012)
- [12], The Properties of Solvents, Y. Marcus, vol. 4, England, John Wiley & Sons Ltd, (1999)
- [13] W. M. Haynes, Handbook of Chemistry and of physics, 92nd Edition 2011-2012
- [14]. Methods of digital video microscopy for colloidal studies. John C. Crocker and David G. Grier *Journal of Colloid and Interface Science* **179**, 298 (1996)
- [15] Ce site offre un tutoriel ainsi que des programmes à télécharger pour effectuer le suivi de particules : <http://www.physics.emory.edu/faculty/weeks/idl/>
- [16] Static and Dynamic Errors in Particle Tracking Microrheology. T. Savin, P. S. Doyle. *Biophysical Journal* **88**, 623 (2005)
- [17] Microrheology of complex fluids. T. A. Waigh. *Rep. Prog. Phys.* **68**, 685 (2005)
- [18] Particle-Tracking Microrheology of Living Cells: Principles and Applications. D. Wirtz, *Annu. Rev. Biophys.* **38**, 301 (2009)



Paco MAURER,
Étudiant de Master à
l'ENS de Lyon



Jérémy FERRAND,
Étudiant de Master à
l'ENS de Lyon



Mathieu LEOCMACH,
Post-doctorant à
l'ENS de Lyon



Thomas GIBAUD,
Chargé de recherche au
CNRS – ENS de Lyon