

IL MOTO BROWNIANO

Scopo dell'esperimento

1. Osservare al microscopio ottico il moto browniano di particelle lipidiche del latte sospese in acqua.
2. Acquisire un video digitale del moto browniano.
3. Seguire il moto di una particella mediante il software gratuito di video-analisi *Tracker*.
4. Rappresentare graficamente la traiettoria della particella, analizzarla per verificare la relazione di Einstein tra il valore medio dello spostamento quadratico $\langle x^2 \rangle$ e l'intervallo di tempo Δt :

$$\langle x^2 \rangle = 2D \cdot \Delta t \quad (\text{equazione di Einstein})$$

e determinare il valore del coefficiente di diffusione (D).

5. Stimare il numero di Avogadro (N_A) mediante la relazione di Einstein- Stokes:

$$D = \frac{R T}{6\pi \eta r N_A} \quad (\text{equazione di Einstein-Stokes})$$

dove $R = 8,315 \text{ J}/(\text{mol}\cdot\text{K})$ è la costante universale dei gas, T è la temperatura in Kelvin, η è la viscosità dell'acqua e r è il raggio della particella.

Materiali e strumenti utilizzati

- Microscopio ottico (per il video utilizzare l'obiettivo 40X, l'oculare presenta un ulteriore ingrandimento 10X)
- Vetrino porta-oggetto e copri-oggetto della camera di Bürker
- Latte crudo (non omogeneizzato)
- Acqua distillata
- Pipetta
- Cilindro graduato da 20 ml
- Adattatore per telefono cellulare (ingrandimento 16X)
- PC con i seguenti software: *Tracker* ed *Excel* per la videoanalisi della traiettoria.

Procedimento

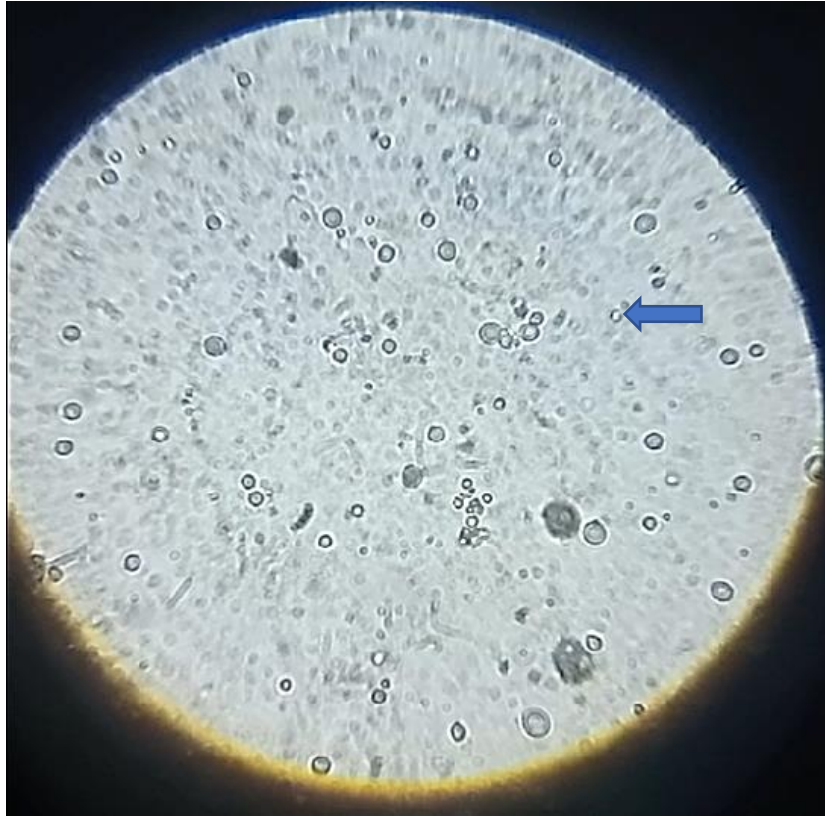
Osservazione del moto browniano e acquisizione di un video digitale

1. Mettere in un cilindro 10 ml di acqua a temperatura ambiente e aggiungervi mediante una pipetta due gocce di latte crudo; mescolare la soluzione di acqua e latte (vedi figure seguenti).

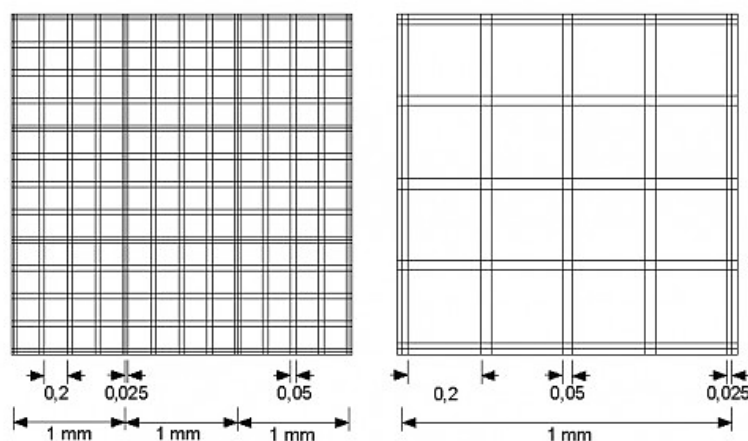


2. Posizionare sul vetrino porta-oggetto due gocce di soluzione depositandole sulle scanalature del vetrino, una per lato e metterci sopra il vetrino copri-oggetto.

3. Posizionare il vetrino con il preparato sul tavolo del microscopio e iniziare ad effettuare l'osservazione delle particelle lipidiche partendo dall'ingrandimento minore (4X). Mettere a fuoco utilizzando la vite macrometrica, passare successivamente agli ingrandimenti maggiori 10X e 40X regolando la messa a fuoco con la vite micrometrica.
4. Mediante le manopole poste a lato del tavolo d'appoggio del microscopio, spostare il vetrino fino ad ottenere un buon campo di osservazione, in cui è ben visibile il moto di alcune particelle lipidiche isolate, evitando zone con grossi ammassi di grasso o impurezze che possono ostacolare il libero moto delle particelle.



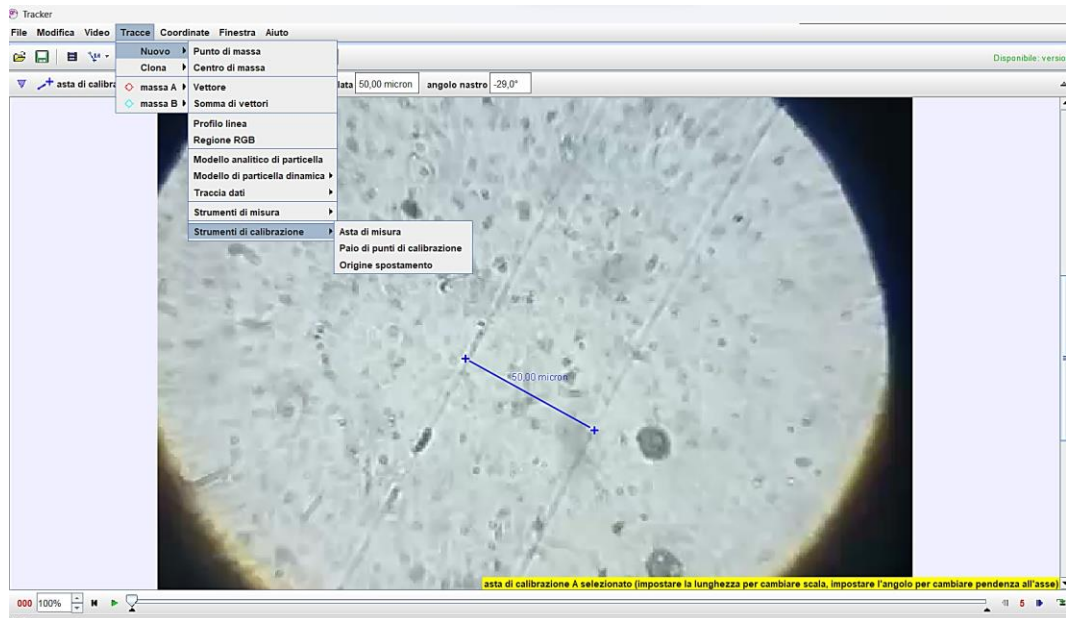
5. Visualizzare la griglia della camera di Bürker (figure seguenti) e fochettare le particelle lipidiche.



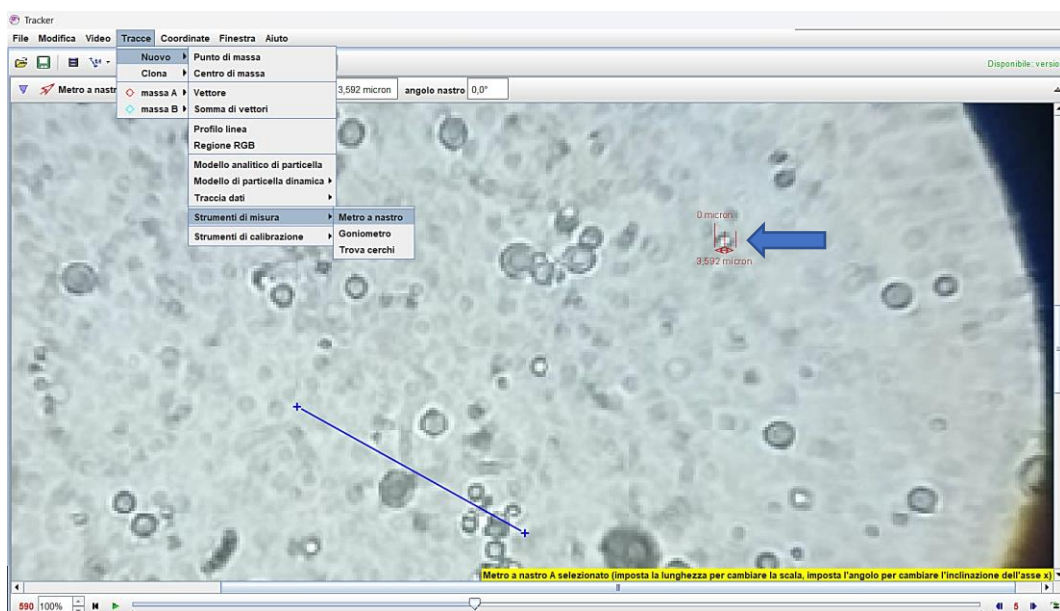
6. Posizionare il telefono cellulare sull'adattatore, in modo che la videocamera coincida con la lente.
7. Sostituire l'adattatore ad uno dei due oculari e controllare la messa a fuoco, eventualmente correggerla utilizzando la vite micrometrica.
8. Avviare un video della durata di almeno un minuto in cui riprendere inizialmente la griglia di misurazione, quindi, fochettando, riprendere le particelle lipidiche.
9. Aprire il file video acquisito e controllare che l'immagine sia di buona qualità per almeno un minuto, altrimenti ripetere le operazioni precedenti per acquisire un nuovo video (per sicurezza è sempre meglio acquisire due video con campi di osservazione diversi).

Video-analisi del moto di una particella mediante il software Tracker

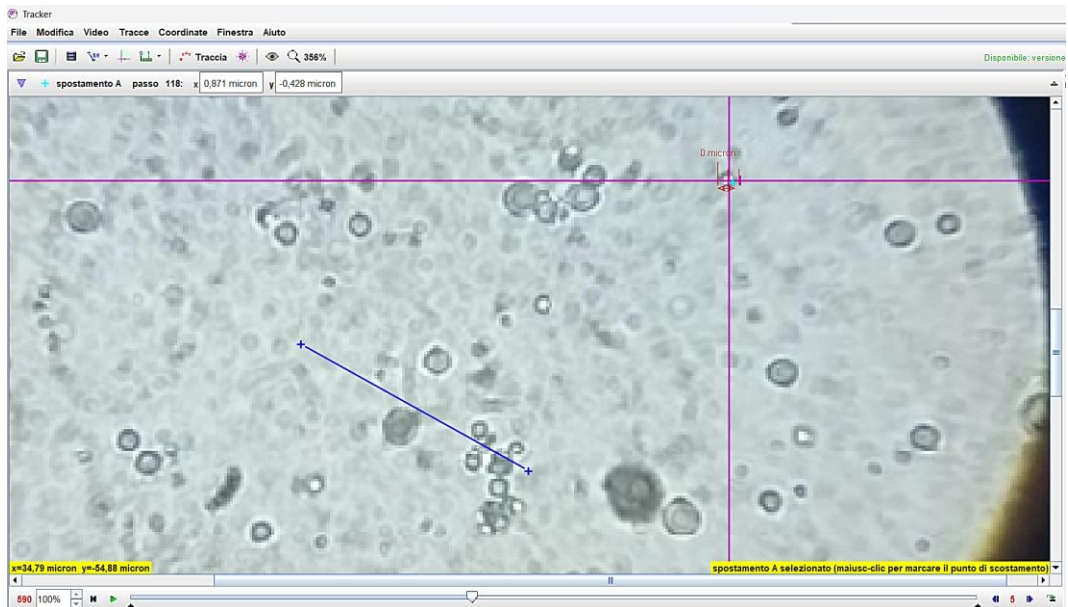
1. Avviare il programma Tracker e importare il filmato appena acquisito
2. Individuare la griglia di riferimento e scegliere uno zoom per ingrandire l'immagine.
3. Cliccare sul menù *Tracce* -> *Nuovo*-> *Strumenti di calibrazione* e selezionare *Asta di misura*. Trascinare l'asta di misura e regolarla alla lunghezza della griglia di riferimento, impostare da tastiera nel campo *lunghezza scalata* il valore 50 micron così anche gli spostamenti poi tracciati avranno la stessa unità di misura di quella da voi inserita, cioè il micron in questo caso (vedi figura seguente).



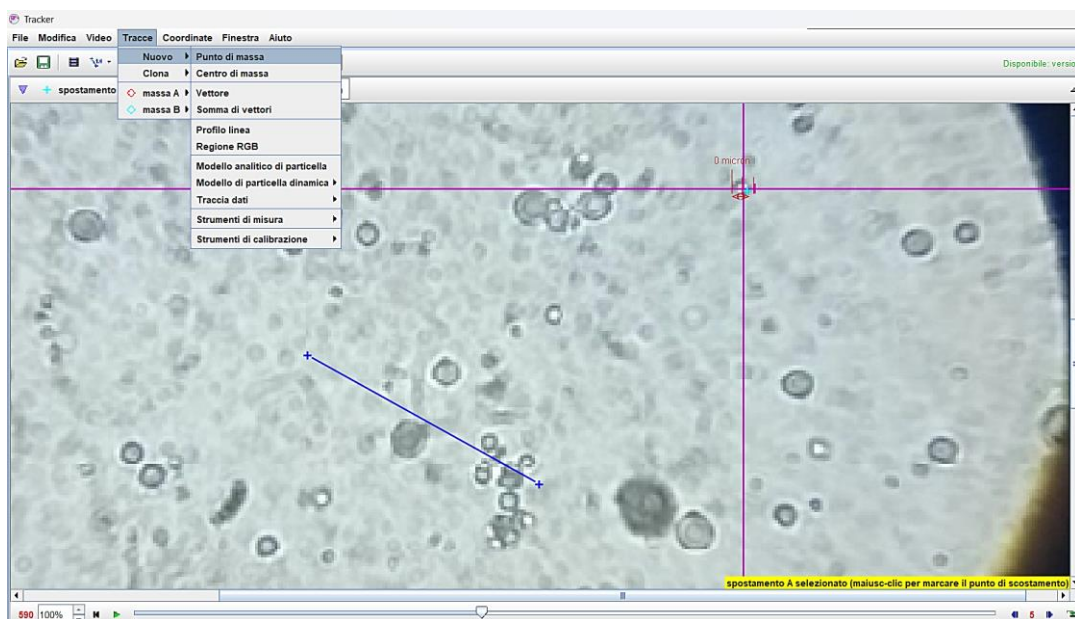
4. Guardare il video per scegliere una particella da tracciare, cercando di seguire una particella che si sposti visibilmente nel campo di osservazione (non quelle troppo grosse) e che sia visibile per almeno 2 minuti all'interno dell'inquadratura del filmato.
5. Ora cliccare sul menù *Tracce* -> *Nuovo*-> *Strumenti di misura* e selezionare "Metro a nastro". Trascinare il metro a nastro sulla particella scelta, regolarlo per misurare il suo diametro e annotare il valore (nell'esempio della figura seguente, il diametro misurato è 3,592 micron).



6. Avanzare col filmato fino al punto in cui si vuole iniziare a seguire il moto della particella, cliccare sul pulsante (sotto il menù *Tracce*) che mostra gli assi delle coordinate e spostare l'origine nel punto in cui si trova la particella scelta (vedi figura seguente)

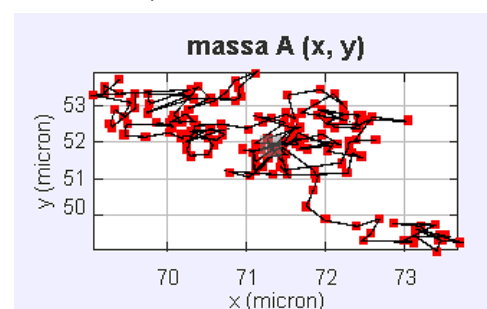


7. Cliccare sul menù *Nuovo/Punto di Massa*, impostare lo *step size* al valore 5 (vedi figura seguente nell'angolo in basso a destra): in questo modo il programma acquisirà la posizione ogni 5 fotogrammi (cioè ogni intervallo di tempo $\Delta t = 5 \cdot 1/24 = 0,208$ secondi, dove 24 fps è la frequenza con cui sono acquisiti i fotogrammi dallo smartphone nel nostro caso).



8. Cliccare col tasto destro per scegliere uno zoom adatto che consenta di poter seguire il moto della particella, poi tenendo premuto il tasto *Shift* (il puntatore diventerà un mirino) cliccare sul centro della particella: si vedrà che la particella si sposta, cliccare di nuovo sul centro (sempre tenendo punto il tasto *Shift*), e così via prendendo dati per circa un minuto. Sulla destra comparirà una tabella con le coordinate *t*, *x*, *y* di ogni punto e il relativo grafico: ad ogni click, infatti, il programma manda in avanti il filmato di 5 step, in questo caso di 0,2 secondi.

9. Sopra la tabella compariranno anche due grafici, che normalmente riportano le coordinate *x* e *y* in funzione del tempo *t* (basta cliccare sulla lettera "t" per impostare il grafico in modo che visualizzi la coordinata *y* in funzione di quella *x*, cioè la traiettoria browniana (vedi figura a fianco).

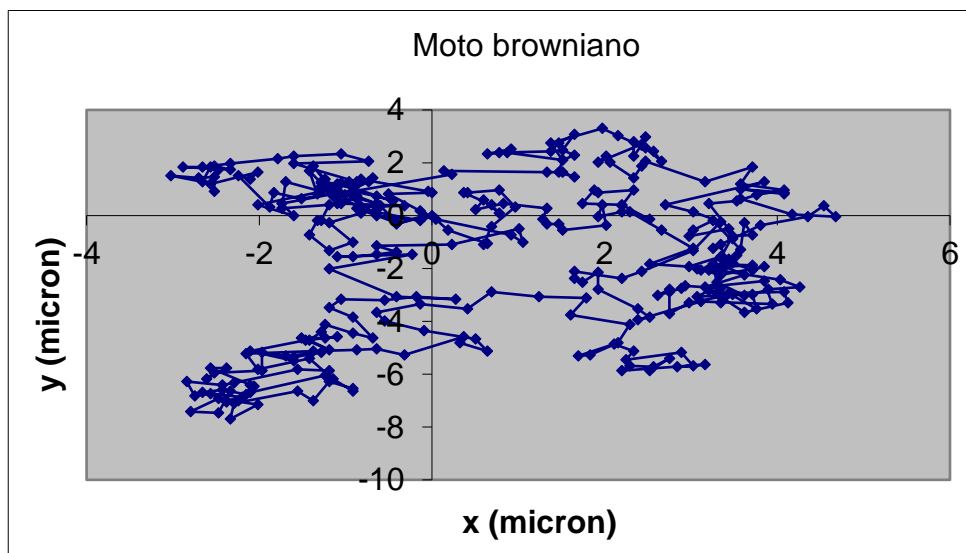


10. Salvare il file tracker (menù *File*→*Salva come*), quindi esportare le coordinate della traiettoria (menù *File*→*Esporta*→*File Dati*) in un file di testo a cui assegnare l'estensione .txt (per esempio "traiettoria.txt").

Rappresentazione grafica e analisi della traiettoria browniana della particella

ELABORAZIONE DATI – parte 1 → Grafico della traiettoria

1. Aprire il foglio elettronico *Microsoft Excel*
2. Aprire il file di testo .txt con i dati della traiettoria, selezionarli tutti, copiarli e incollarli nel foglio elettronico.
3. Selezionare le colonne e formattare i dati (menù *Formato*→*Celle*→*Numero*) e impostare 2 posizioni decimali per il tempo) e 6 posizioni decimali per le coordinate x e y.
4. Se le coordinate x e y al tempo zero non sono nulle, creare due nuove colonne per x e y, dove sottrarre a tutti i valori, rispettivamente, la x e la y al tempo zero (in modo che l'origine della traiettoria coincida con l'origine degli assi cartesiani).
5. Selezionare le due colonne x e y, e rappresentare graficamente la traiettoria y in funzione di x (menù *Inserisci*→*Grafico*→*Dispersione XY*).



ELABORAZIONE DATI - parte 2

Verifica dell'equazione di Einstein e stima del numero di Avogadro (mediante Excel)

- In teoria si dovrebbe calcolare lo spostamento quadratico mediato su molte particelle $\langle x^2 \rangle$, ma ci vorrebbe tanto tempo perché bisognerebbe tracciare le traiettorie di molte particelle diverse. Si può ovviare a questo mediante il seguente procedimento: invece di determinare gli spostamenti di molte particelle diverse dopo un certo intervallo di tempo Δt (per esempio $\Delta t = 1$ secondo), si possono estrapolare tanti spostamenti diversi su un'unica traiettoria facendo la differenza tra tutte le coordinate x successive distanti un secondo di tempo. Questo metodo è giustificato dal fatto che gli spostamenti successivi di una particella sono casuali e indipendenti da quelli precedenti, perché causati dagli urti casuali con le molecole dell'acqua.

I valori degli spostamenti quadratici (le colonne s_x^2 e s_y^2 mostrate nella figura seguente) si ottengono calcolando il quadrato della differenza tra le coordinate x e y distanti un tempo ΔT uguale al prodotto INCREMENTO*PASSO, dove INCREMENTO = 5, 10, 15, 20, 25 e PASSO è il tempo (nel nostro caso 0,21 secondi) tra le posizioni successive tracciate con Tracker (in genere si prende un valore ogni 5 frame sul video analizzato).

Quindi i valori di s_x^2 e s_y^2 si ottengono scrivendo nelle colonne da D a M le seguenti formule:

per $(s_x_5)^2$: $(C10-C5)^2$; $(C11-C6)^2$; $(C12-C7)^2$,... → colonna degli spostamenti quadratici lungo l'asse x dopo un tempo $\Delta T = 5 * 0,21 = 1,05$ s

per $(s_y_5)^2$: $(D10-D5)^2$; $(D11-D6)^2$; $(D12-C7)^2$,... → colonna degli spostamenti quadratici lungo l'asse y dopo un tempo $\Delta T = 5 * 0,21 = 1,05$ s

per $(s_{x_{10}})^2$: $(C15-C5)^2$; $(C16-C6)^2$; $(C17-C7)^2$,... → colonna degli spostamenti quadratici lungo l'asse x dopo un tempo $\Delta T = 10 * 0,21 = 2,1$ s e così via..

Per scrivere nella cella D5 l'espressione $(C10-C5)^2$ e poterla poi copiare e incollare nelle righe sottostanti in modo che venga aggiornata automaticamente si usa la seguente espressione:

$(\text{INDIRETTO}("B"&\text{CELLA}("riga";B5)+\text{CELLA}("contenuto";D\$2))-\text{INDIRETTO}("B"&\text{CELLA}("riga";B5)))^2$

Per scrivere nella cella E5 l'espressione $(D10-D5)^2$ e poterla poi copiare e incollare nelle righe sottostanti in modo che venga aggiornata automaticamente si usa la seguente espressione:

$(\text{INDIRETTO}("C"&\text{CELLA}("riga";C5)+\text{CELLA}("contenuto";E\$2))-\text{INDIRETTO}("C"&\text{CELLA}("riga";C5)))^2$

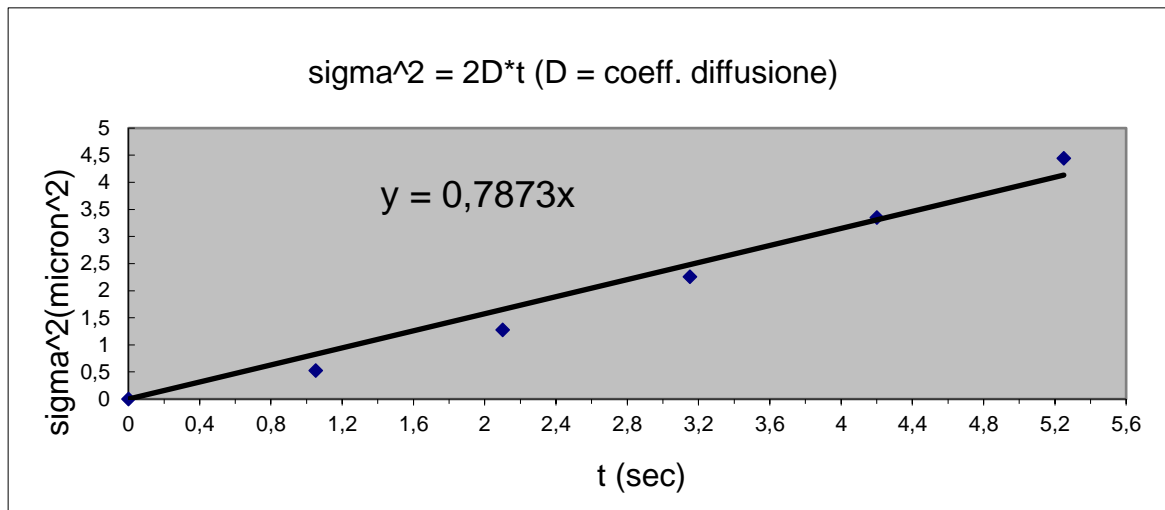
La funzione $\text{CELLA}("riga";B5)$ restituisce il numero della riga della cella B5, cioè 5, che poi viene aggiornato per le righe sottostanti a 6, 7, 8,

La funzione $\text{CELLA}("contenuto";D\$2)$ restituisce il contenuto della cella D2, cioè il passo 5, che poi viene aggiornato a 10, 15, 20, 25 per le colonne adiacenti

La funzione $\text{INDIRETTO}("B"&\text{CELLA}("riga";B5)+\text{CELLA}("contenuto";D\$2))$ dà come risultato il contenuto della cella B10, dove il numero 10 è ottenuto dal numero della riga della cella B5 (cioè 5)+ il contenuto della cella D2 (cioè l'incremento 5)

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1	Passo (sec)	0,21		Δt (sec)	1,05	Δt (sec)	2,1	Δt (sec)	3,15	Δt (sec)	4,2	Δt (sec)	5,25
2			incremento ->	5	5	10	10	15	15	20	20	25	25
3													
4	t (sec)	x (micron)	y (micron)	$(s_{x_5})^2$	$(s_{y_5})^2$	$(s_{x_{10}})^2$	$(s_{y_{10}})^2$	$(s_{x_{15}})^2$	$(s_{y_{15}})^2$	$(s_{x_{20}})^2$	$(s_{y_{20}})^2$	$(s_{x_{25}})^2$	$(s_{y_{25}})^2$
5	0,00	0,000	0,000	0,871	0,018	0,071	0,284	0,071	0,444	2,558	0,018	5,135	0,018
6	0,21	0,000	0,133	0,444	0,071	0,160	0,444	0,284	0,284	3,003	0,160	4,548	0,018
7	0,42	0,533	0,533	0,000	0,018	0,640	0,160	2,150	0,160	6,414	0,071	7,107	0,640
8	0,62	0,533	0,400	0,284	0,000	0,444	0,284	3,482	0,071	5,757	0,071	6,414	0,018
9	0,83	0,533	0,133	0,871	0,018	0,640	0,000	3,482	0,284	5,135	0,871	3,482	0,000
10	1,04	0,933	-0,133	1,439	0,444	1,439	0,640	6,414	0,071	10,234	0,071	5,757	0,444
11	1,25	0,666	-0,133	1,137	0,871	1,439	0,640	5,757	0,444	7,835	0,160	6,414	0,444
12	1,46	0,533	0,666	0,640	0,284	2,150	0,284	6,414	0,018	7,107	0,871	4,548	0,000
13	1,67	0,000	0,400	0,018	0,284	1,777	0,071	3,482	0,071	3,998	0,018	2,558	0,160
14	1,87	-0,400	0,267	0,018	0,018	0,871	0,160	1,777	0,640	0,871	0,018	0,640	0,160
15	2,08	-0,267	0,533	0,000	0,018	1,777	0,160	3,998	0,160	1,439	0,000	1,439	0,444
16	2,29	-0,400	0,800	0,018	0,018	1,777	0,071	3,003	0,284	2,150	0,071	1,777	1,137
17	2,50	-0,267	0,133	0,444	0,000	3,003	0,444	3,482	0,160	1,777	0,284	2,558	3,482
18	2,71	-0,133	-0,133	1,439	0,071	3,003	0,640	3,482	0,160	2,150	0,871	3,998	7,107
19	2,92	-0,267	0,133	1,137	0,284	2,150	0,871	1,137	0,000	0,871	0,284	1,777	4,548
20	3,12	-0,267	0,666	1,777	0,284	3,998	0,284	1,439	0,018	1,439	0,284	3,482	2,558
21	3,33	-0,533	0,666	1,439	0,018	2,558	0,160	1,777	0,018	1,439	1,439	2,558	3,998
22	3,54	-0,933	0,133	1,137	0,444	1,439	0,160	0,444	0,284	0,871	3,482	1,439	5,135
23	3,75	-1,333	0,133	0,284	0,284	0,444	0,018	0,071	0,444	0,640	5,757	0,640	5,757
24	3,96	-1,333	0,666	0,160	0,160	0,000	0,284	0,018	0,000	0,071	2,558	0,444	4,548
25	4,17	-1,600	0,133	0,444	0,000	0,018	0,160	0,018	1,137	0,284	4,548	0,284	5,757
26	4,37	-1,733	0,533	0,160	0,071	0,018	0,000	0,000	1,777	0,160	4,548	0,018	5,135
27	4,58	-1,999	0,800	0,018	1,137	0,160	0,018	0,018	1,439	0,018	2,558	0,018	6,414
28	4,79	-1,866	0,666	0,018	0,160	0,071	0,018	0,071	3,482	0,071	3,482	0,071	7,835
29	5,00	-1,733	1,066	0,160	0,871	0,284	0,160	0,018	1,439	0,071	3,003	0,071	5,135
30	5,21	-2,266	0,133	0,640	0,160	0,640	1,137	0,018	4,548	0,018	5,757	0,018	10,234
31	5,42	-2,133	0,267	0,071	0,071	0,160	2,558	0,000	5,757	0,284	6,414	0,284	9,399

- Per ottenere il valore medio dello spostamento quadratico $\langle x^2 \rangle$ all'istante di tempo $\Delta T = 5 * 0,21 = 1,05$ s calcolare la media aritmetica di tutti i valori contenuti nelle colonne $(s_{x_5})^2$ e $(s_{y_5})^2$ mediante la funzione $\text{MEDIA}(D5:E165)$, supponendo che D5 sia la cella dove c'è primo valore della colonna $(s_{x_5})^2$ e E165 sia la cella dove c'è l'ultimo valore della colonna $(s_{y_5})^2$.
- Ripetere il procedimento suddetto per determinare i valori medi dello spostamento quadratico $\langle x^2 \rangle$ per gli istanti di tempo.
- Costruire due colonne con i valori di Δt e con i corrispondenti valori di $\langle x^2 \rangle$, rappresentarli graficamente e fare un fit aggiungendo una *linea di tendenza lineare con intercetta uguale a 0*, visualizzando l'equazione sul grafico (vedi figura seguente), per verificare l'equazione di Einstein.



1. Dal valore del coefficiente angolare ottenuto dal fit, determinare il coefficiente di diffusione: nel nostro esempio riportato nella figura sopra $D = \frac{0,7873 (\mu m)^2}{2} \frac{1}{s} = 3,94 \cdot 10^{-13} \frac{m^2}{s}$.
2. Usare la relazione di Einstein-Stokes per determinare il numero di Avogadro (N_A):

$$N_A = \frac{R T}{6\pi \eta r D}$$

conoscendo i valori delle altre grandezze:

- $R = 8,315 \text{ J}/(\text{mol} \cdot \text{K})$ è la costante universale dei gas;
- $T \approx 300 \text{ K}$ (tenendo conto che la soluzione è stata preparata temperatura ambiente e che raggiunge qualche grado in più per il riscaldamento della lampada del microscopio);
- $\eta \approx 8,9 \cdot 10^{-4} \text{ Pa} \cdot \text{s}$ è la viscosità dell'acqua a $T = 300 \text{ K}$;
- r è il raggio della particella misurato con Tracker, prima di tracciarne il moto;
- D è il coefficiente di diffusione determinato al punto precedente.

Conclusioni

Confrontare il valore del numero di Avogadro ottenuto con quello teorico $N_A = 6,02 \cdot 10^{23}$