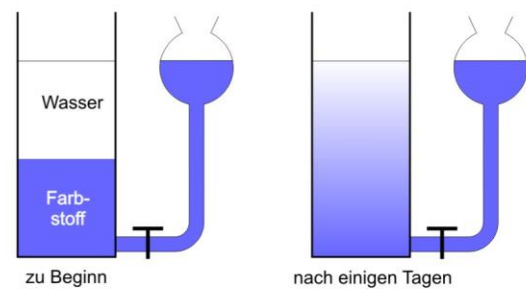
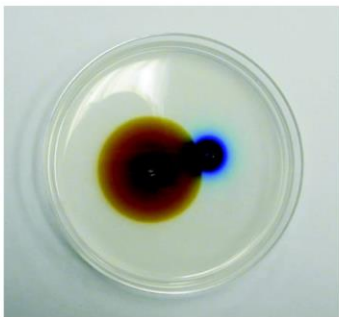
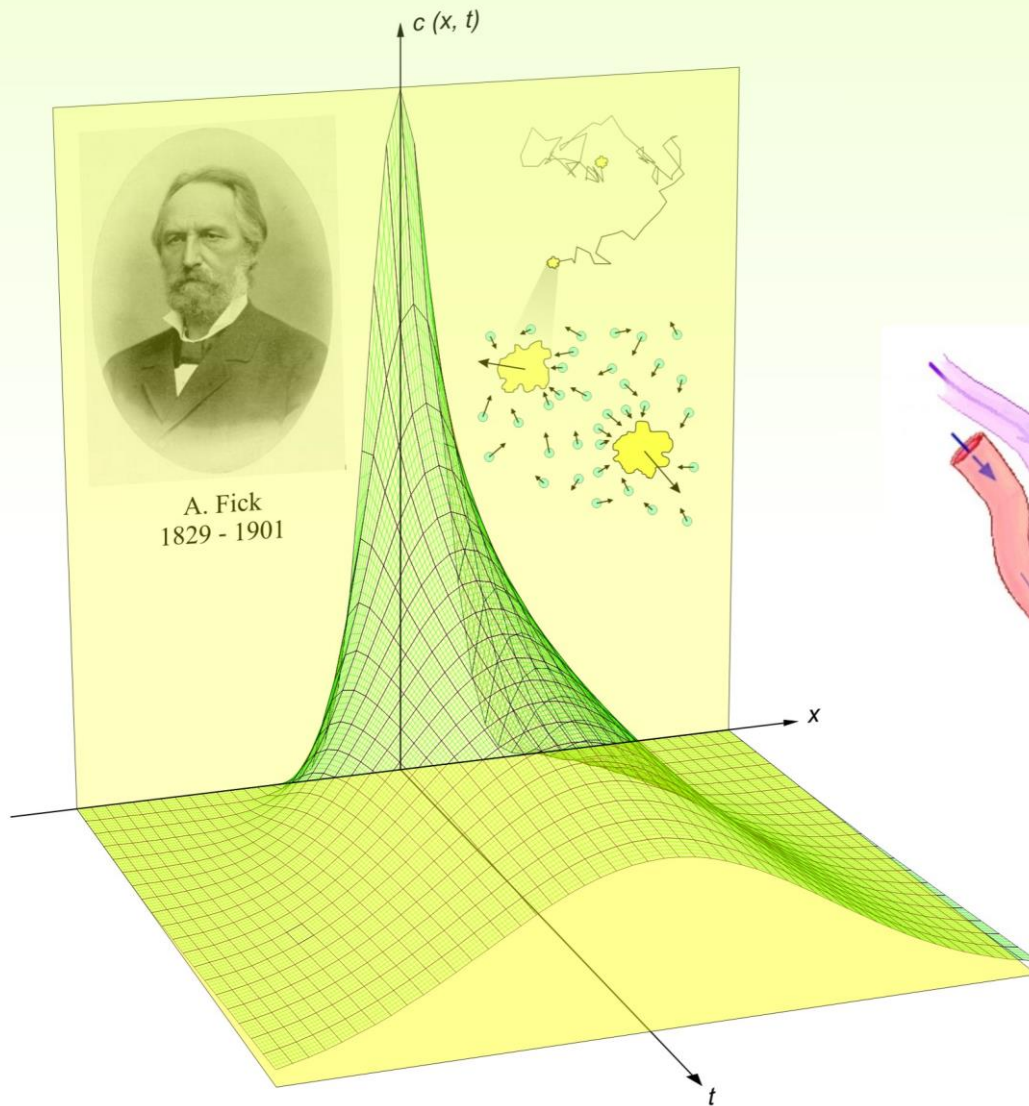


DIFFUSION

TRANSPORTPROZESSE, BESTIMMUNG DES DIFFUSIONSKOEFFIZIENTEN



GRUNDBEGRIFFE

DIFFUSION: Ausbreitung der Teilchen durch Wärmebewegung.

1. FICKSCHES GESETZ: Die Diffusionsstromdichte ist proportional zum Konzentrationsgradienten, $J_v = -D \cdot \frac{\Delta c}{\Delta x}$, wobei der Proportionalitätsfaktor D der Diffusionskoeffizient ist.

DIFFUSIONSKOEFFIZIENT (D): Proportionalitätsfaktor, der die in der Zeiteinheit durch eine Flächeneinheit diffundierte Stoffmenge angibt, wenn auch der Konzentrationsgradient eine Einheit war. Maßeinheit ist: m^2/s .

2. FICKSCHES GESETZ: Beschreibt die räumlichen und zeitlichen Veränderungen der Konzentration während der Diffusion:

$$D \cdot \frac{\Delta \left(\frac{\Delta c}{\Delta x} \right)}{\Delta x} = \frac{\Delta c}{\Delta t}.$$

Ist also nur die *Veränderung* der räumlichen und zeitlichen Verteilung einer Konzentration gegeben. Es ist leider nicht immer möglich $c(x,t)$ mit einer Formel anzugeben.

BROWNSCHE BEWEGUNG: Eine zufällige Bewegung der Teilchen wegen der Wärmebewegung und zufällige Zusammenstöße.

MITTLERE QUADRATISCHE ABWEICHUNG (MQA, ODER MSD AUF ENGLISCH): Die mittlere Abweichung der Teilchen von dem Ausgangspunkt (x_0):

$$MSD = \frac{1}{N} \cdot \sum_{i=1}^N (x_0 - x_i)^2$$

PIXEL: ein Bildpunkt. Digitale Bilder sind aus vielen kleinen Bildpunkten zusammengesetzt, welche die Intensität des roten, grünen und blauen Lichtes numerisch speichern.

GRAUSKALE (GRAY SCALE): Eine Helligkeitsskala, in dem es zu jedem Pixel eine Helligkeit zugeordnet wird, welche die Intensitäten der drei Farben reflektiert. z.B. es könnte die größte Helligkeit mit 1024, und vollkommene Dunkelheit mit dem Wert 0 angegeben.

Die Ausbreitung der Teilchen, die Wanderung des Stoffes — durch zufällige Wärmebewegung — wird als Diffusion bezeichnet. Durch Diffusion verteilt sich z.B. der Zucker im Kaffee (auch ohne Umrühren) oder der Rosenduft im Zimmer. Dieser Prozess ist im thermischen Gleichgewicht solange wahrnehmbar, bis die Teilchenverteilung im Gesamtvolumen gleichmäßig ist. In den lebenden Organismen spielt die Diffusion eine tragende Rolle. Mittels Diffusion erfolgt z.B. der Gasaustausch (O_2 , CO_2) zwischen Alveolen und Kapillaren bzw. zwischen Kapillaren und Zellen. Das Wasser gelangt als sehr kleines Molekül gleichfalls mittels Diffusion durch die Zellmembran. In diesem **Praktikum** wollen wir die Gesetzmäßigkeiten der Diffusion diskutieren und einen Beispiel mit Bildbearbeitung auswerten.

THEORETISCHE ZUSAMMENFASSUNG

FICKSCHE GESETZE

Eine grundlegende Frage der Diffusion ist, wovon die „Stärke“ der Diffusion abhängt. Diese wird durch die Diffusionsstromdichte gekennzeichnet:

$$J_v = \frac{\Delta v}{\Delta t \cdot \Delta A} \quad (1)$$

Diese gibt an, wie viel Mol eines Stoffes (Δv) in der Zeiteinheit (Δt) durch eine Flächeneinheit (ΔA) diffundiert. Maßeinheit ist $\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$.

Unsere Frage beantwortet das 1. Ficksche Gesetz (bei stationärer Diffusion). Es lässt sich in der einfachsten Form folgendermaßen aufschreiben:

$$J_v = -D \cdot \frac{\Delta c}{\Delta x} \quad (2)$$

wobei $\Delta c/\Delta x$ die Konzentrationsänderung (entlang der x -Achse) je Streckeneinheit, d.h. das Konzentrationsgefälle oder der Konzentrationsgradient ist. Die Diffusionsstromdichte ist also proportional zum Konzentrationsgradienten (Abb. 1). Der Proportionalitätsfaktor D ist der sog. Diffusionskoeffizient. D gibt die in der Zeiteinheit durch eine Flächeneinheit diffundierte Stoffmenge an, wenn auch der Konzentrationsgradient eine Einheit war. Maßeinheit ist m^2/s . Der Diffusionskoeffizient hängt von der Größe und Form der Teilchen, der Viskosität des Mediums und der Temperatur ab (Tab. 1). Für kugelförmige Teilchen gilt die Einstein-Stokes-Gleichung:

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta r} \quad (3)$$

wobei r der Teilchenradius, η die Viskosität des Mediums, T die Temperatur des Mediums und k die Boltzmann-Konstante sind.

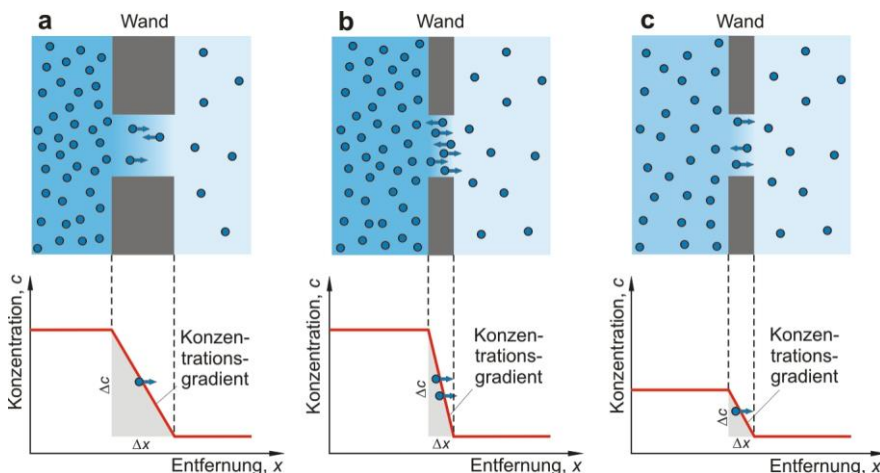


Abb. 1. Veranschaulichung des 1. Fickschen Gesetzes: In einem gegebenen System ist die „Stärke“ der Diffusion vom Konzentrationsgradienten ($\Delta c/\Delta x$) bestimmt.

In den Abb. a. und b. ist der Konzentrationsunterschied gleich, die Änderung erfolgt aber über unterschiedliche Distanzen; in den Abb. b. und c. ist bei gleichen Distanzen der Konzentrationsunterschied verschieden. Aus dem Vergleich von Abb. a. und c. ist ersichtlich, dass der gleiche Konzentrationsgradient (gleiche Steigung) eine gleich „starke“ Diffusion ergibt.

Diffusion
diffusion
diffúzió

Diffusionskoeffizient
diffusion coefficient
diffúziós együttható

diffundierendes Teilchen (Molmasse)	Medium	D (m^2/s)
H_2 (2)	Luft	$6,4 \cdot 10^{-5}$
O_2 (32)	Luft	$2 \cdot 10^{-5}$
CO_2 (44)	Luft	$1,8 \cdot 10^{-5}$
H_2O (18)	Wasser	$2,2 \cdot 10^{-9}$
O_2 (32)	Wasser	$1,9 \cdot 10^{-9}$
Glyzin (75)	Wasser	$0,9 \cdot 10^{-9}$
Plasmaalbumin (69 000)	Wasser	$6 \cdot 10^{-11}$
Tropomyosin (93 000)	Wasser	$2,2 \cdot 10^{-11}$
Tabakmosaikvirus (40 000 000)	Wasser	$4,6 \cdot 10^{-12}$

Tabelle 1. Diffusionskoeffizienten einiger Stoffe bei 20°C

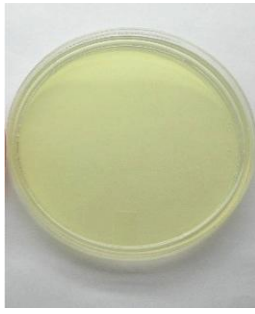


Abb. 2. Der bei den Messungen benutzte KCl-haltige Gelzylinder

Die zweite wichtige Frage ist die Diffusionsgeschwindigkeit, z.B. die Geschwindigkeit des Konzentrationsausgleichs. Im 1. Fickschen Gesetz wird die eventuelle zeitliche Konzentrationsänderung nicht berücksichtigt. Das 2. Ficksche Gesetz beschreibt gerade diese Tatsache und zwar die Konzentrationsänderung in Raum und Zeit:

$$D \cdot \frac{\Delta \left(\frac{\Delta c}{\Delta x} \right)}{\Delta x} = \frac{\Delta c}{\Delta t} \quad (4)$$

Das Gesetz beschreibt leider nur die Konzentrationsänderungen, und ein Formel $c(x,t)$ ist nicht immer rekonstruierbar. In diesem Fall ist es möglich eine numerische (computerstützte) Lösung zu finden, in dem sowohl die Zeit als die x-Koordinate um sehr kleine Werte geändert wird, und (4) schrittweise gelöst wird.

BESTIMMUNG DES DIFFUSIONSKOEFFIZIENTEN

In dem Versuch werden wir die Diffusion von K^+ und farbige (lila) MnO_4^- Ionen auf einer Geloberfläche (Abb. 2.) beobachten. Die 0,5 m/m% konzentrierte hydrogel bietet eine Wasseroberfläche worin die Ionen aus einem Ausgangspunkt (das kleine $KMnO_4$ -Kristall was auf die Oberfläche gelegt wird) diffundieren können. In diesem Fall bekommen wir eine Glockenkurve als $c(x,t)$, siehe Abb. 3. Die Konzentrationsverteilung ist zentralsymmetrisch, also nur der Radius (r) wird als Ortsparameter benutzt. Damit ist die Lösung der Gleichung (4):

$$c(r, t) = \frac{e^{\left(\frac{-r^2}{4Dt} \right)}}{4\pi Dt} \quad (5)$$

Diese Kurve gibt die räumliche und zeitliche Ausbreitung der Ionen an, und der mittelwertige Abstand der Ionen vom Ausgangspunkt kann auch berechnet werden. Die Breiteparameter der Kurve σ kann auch bestimmt werden:

$$\sigma = \sqrt{2D \cdot t} \quad (6)$$

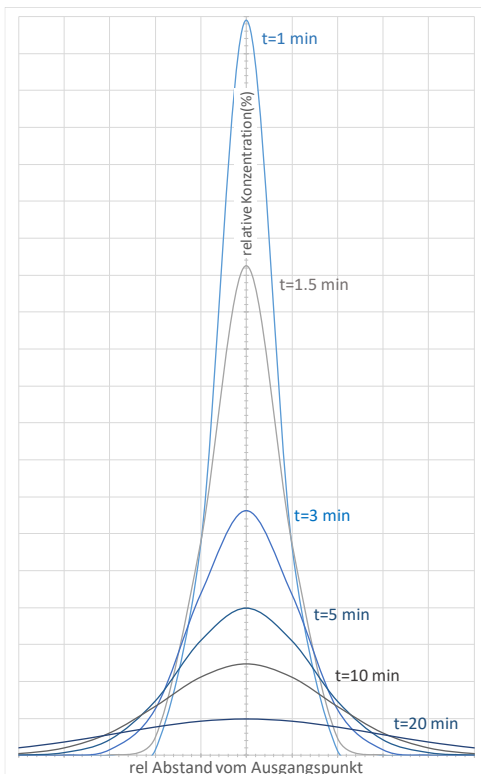


Abb. 3. ein muster-Konzentrationsprofil, $c(x,t)$ in unterschiedlichen Zeitpunkten.

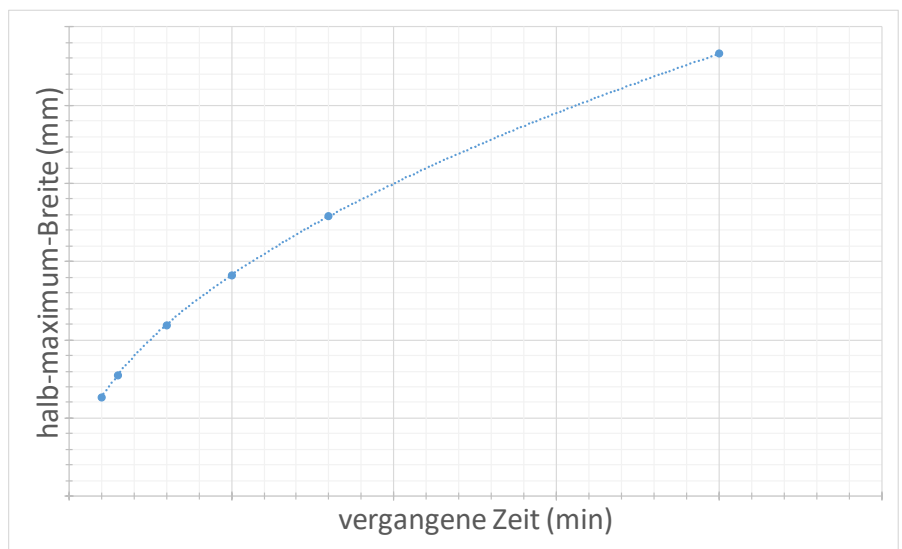


Abb. 4. Die im Gel verbleibende Stoffmenge in halblogarithmischer Darstellung. Die extrapolierte, unterbrochene Gerade entspricht Gl. (5).

Die halb-maximum Breite der Kurve (der Abstand zwischen der Punkte wo die $c(x,t)$ Funktion die Hälfte des Maximums erreicht: $c=c_{\max}/2$) folgt ein Wurzelfunktion. Der Breiteparameter σ kann auch aus der halb-maximum Breite (w) errechnet werden. Für w gilt:

$$w = 2\sqrt{\ln(4) \cdot 2 \cdot D \cdot t} \quad (7)$$

Es ist bequemer wenn diese Gleichung umgesetzt wird, damit Wurzel der Zeit als unabhängiger Parameter (x) benutzt werden kann:

$$w = 2\sqrt{\ln(4) \cdot 2 \cdot D \cdot x}, \quad x = \sqrt{t} \quad (8)$$

Dies ist die Gleichung einer Gerade, wessen Steigung das Diffusionskoeffizienten enthält. Die Einheit des Diffusionskoeffizienten ist also Abstand Quadrat durch Zeiteinheit, also m^2/s . Es ist auch sichtbar das die halb-maximum Breite w und der Breiteparameter σ direkt proportional zu einander sind (siehe Gleichungen 7 und 6).

Der mittlere hinter gelegte Abstand vom Ausgangspunkt (R) kann berechnet werden:

$$R_{\text{mittel}} = \sqrt{6 \cdot D \cdot t} \quad (9)$$

Einige Beispielsbilder sind an der Abb. 5. zu sehen, nur das lila Fleck ist gezeigt:

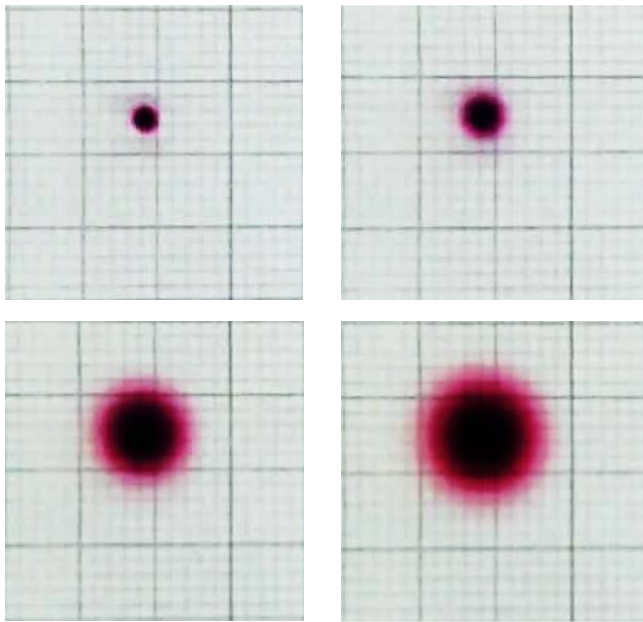
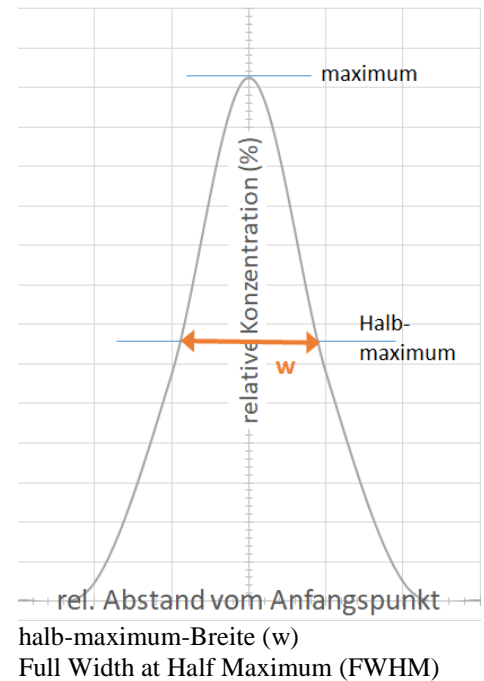


Abb. 5. : einige Beispielsbilder bei unterschiedlichen Zeitpunkten nach dem Anfang aufgenommen aus dem Diffusionsexperiment.

Die Bilder sind mit einem usb-Kamera aufgenommen, das $c(x,t)$ Funktion kann mit Hilfe von Bildanalyse bestimmt werden. Zu diesem Zweck muss das Bild **kalibriert** sein, wozu ein mm-Skala unter dem Behälter dient.

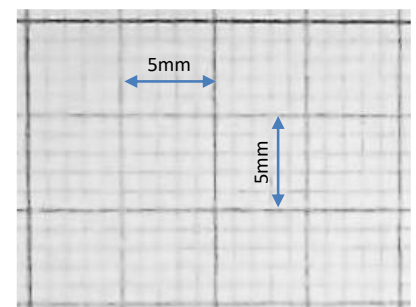
Während des Experiments wird ein Open-Source (Offenes Code) Analyseprogramm, Fiji-ImageJ für die Bildanalyse Benutzt. Das Programm kann die Helligkeitsprofile berechnen, wovon die Konzentrationsprofile bestimmt werden können.

Es ist wichtig die Bilder zuerst zu kalibrieren, also die wirklichen Abstände zu den Pixelmengen zuzuordnen.



vor dem Anfang muss es überprüft werden ob das Kamera richtig eingestellt sei, und ob die ganze Geloberfläche auf dem Kamerabild sichtbar sei, ohne wesentliche Reflexionen. Falls nötig, bitten Sie um Hilfe um die korrekte Einstellung zu finden.

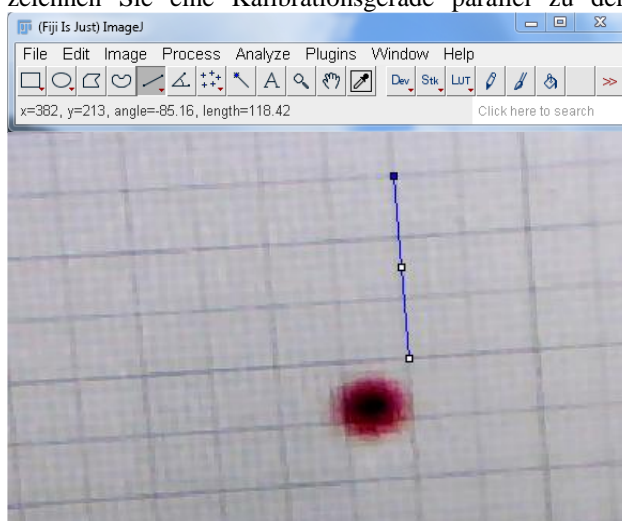
Der Kalibrationsgitter besitzt eine (dicke) Kästchenbreite von 5mm entlang der Achsen.



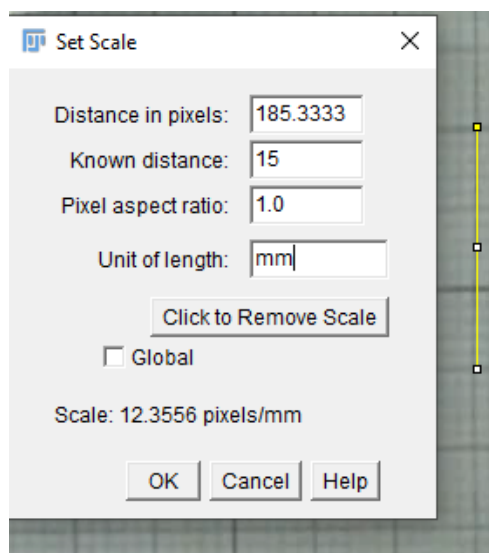
Die Bildanalyse besteht aus der folgenden Schritten:

1. Öffnen Sie das zu Analyse ausgewählte Bild mit Fiji-ImageJ, und zeichnen Sie eine Kalibrationsgerade parallel zu der Gitternetzlinie.

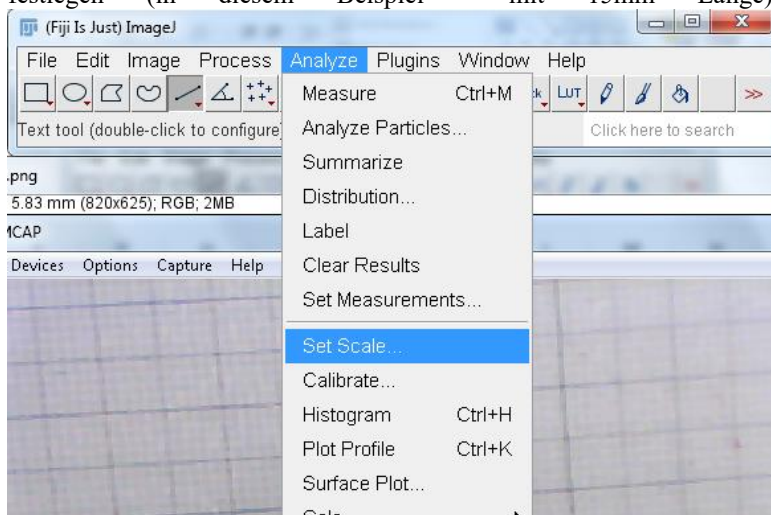
Die Kalibrationsgerade sollte nicht kürzer sein als 15-25mm.



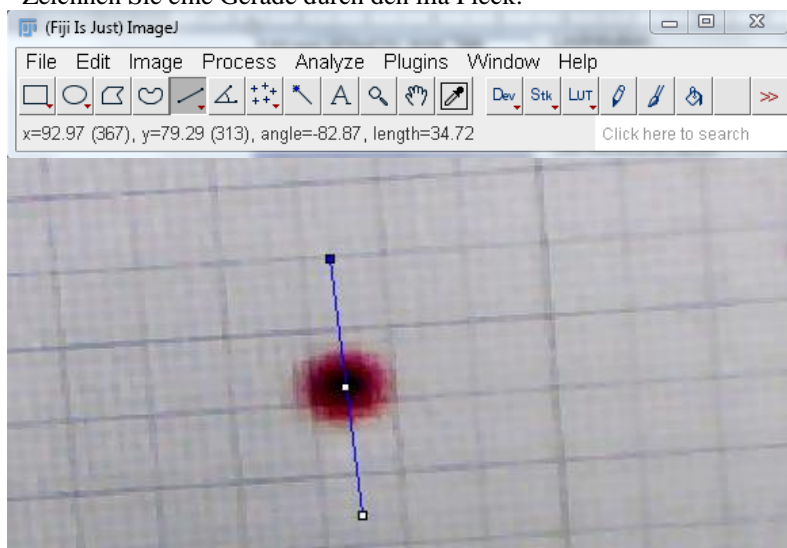
2. Benutzen Sie die „Analyze“ -> „Set Scale“ Funktion um das Kalibration durchzuführen. In dem zunächst sich öffnenden Fenster können Sie die aktuelle Länge angeben, und so den Pixels/Länge Kalibrationswert festlegen (in diesem Beispiel mit 15mm Länge).



Schreiben sie die wirkliche Länge in des Feld “known distance” ein, die Einheit (mm) in das Feld “Unit of length” ein. Falls Sie das “Global” aktivieren, dann wird das Programm diese Kalibration für alle nächste Bilder benutzen.



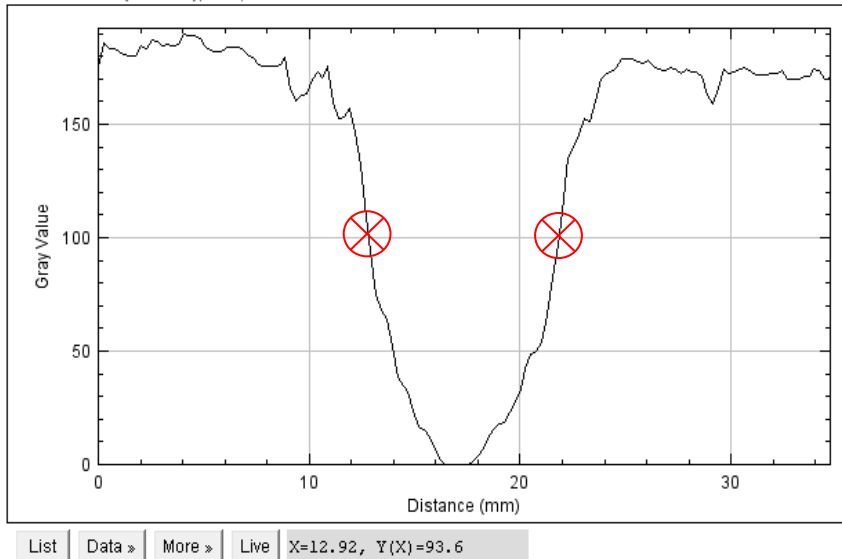
3. Zeichnen Sie eine Gerade durch den lila Fleck.



Die Gerade kann in irgendeine Richtung durch den Fleck durchgezogen werden, es ist aber äußerst wichtig, das die Gerade **durch den Mittelpunkt des Fleckes** gezogen wird.

- Wählen Sie die “analyze” -> „plot profile” Funktion! Das Programm wird ein neues Fenster öffnen, in dem Sie das Helligkeitsprofil finden können. Es gibt ein bewegbares Fadenkreuz womit die Kurve abgelesen werden kann.

40.14x227.51 (613x355); 8-bit; 213K

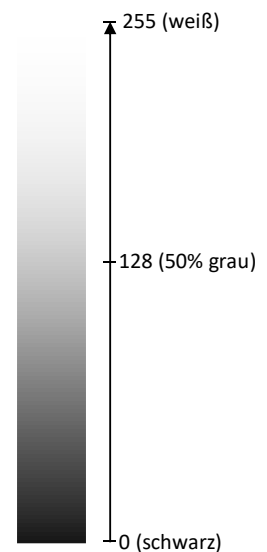


Mit dem Fadenkreuz kann z.B. die „gray value“-Linie von 100 benutzt werden um die Breite (w) des Fleckes abzulesen. (Auf der Abbildung sind diese zwei Punkte jeweils mit einem roten Zielkreuz gezeigt.) Auf der untersten Linie kann der „X“-Wert abgelesen werden. Tragen Sie den Wert in die Excel-Tabelle ein.

Das Konzentrationsprofil ist ähnlich zu dem auf Abb.3., aber da die höhere Konzentrationswerte mehr Stoff, und so mehr Absorbanz bedeuten, das grau-Skalenwert ist da groß wo es wenig absorbierender Stoff ist. Daher sieht das Helligkeitsprofil wie Abb.3. „auf dem Kopf gestellt“ aus.

- Aus der X-Werte wird das Breiteparameter σ gerechnet, und dann mit Hilfe der grafischen Darstellung das Diffusionskoeffizient berechnet.

Die grauton-Skala besteht aus Werte, die zu Lichtintensitäten gehören. Von jedem Pixel des Bildes speichert das Kamera die zu rot, grün und blau Farben gehörenden Intensitäten. Die größte Intensitäten bekommen den maximalen Wert, die dunklen Pixels bekommen den Wert 0.



8bit grau-Skala.

ABLAUF DER MESSUNG

Die Diffusion beginnt sofort, wenn Sie das kleine Permanganat-Kristall auf die Geloberfläche legen. In dem gleichen Zeitpunkt muss das Stoppuhr gestartet werden. In den vorgegebenen Zeitpunkten nehmen Sie Bilder auf. Diese Bilder werden später ausgewertet. Eine Mustertabelle der Messung kann so aussehen:

Zeit nach dem Anfang (min)	genaue Zeitpunkt der Bildaufnahme (sec)	Rechte Seitenkoordinate des Fleckes (mm)	Linke Seitenkoordinate des Fleckes (mm)	Breite (mm)
0,5				
1				
1,5				
2				
2,5				
3				
4				
...				
...				
...				

1. *Tabelle : eine mögliche Datenanordnung*

AUFGABEN

1. Starten Sie das Kamera-Programm.
2. Legen Sie das Petri-Gefäß unter die Kamera!
3. Stellen Sie die Kamera so ein, dass das ganze Gefäß auf dem Bild sichtbar ist.
4. Machen Sie eine Probeaufnahme, und machen Sie sicher, dass es keine wesentlichen Reflexionen oder Verzerrungen auf dem Bild sichtbar sind.
5. Bereiten Sie das Stoppuhr vor!
6. Öffnen Sie das Eppendorff-Behälter, und lassen Sie das kleine lila KMnO_4 Kristall auf die Mitte des Gels fallen.
7. Sobald das Kristall auf der Oberfläche gelangt starten Sie das Stoppuhr.
8. In den vorgegebenen Zeitpunkten speichern Sie ein Kamerabild auf dem Desktop.
9. Nach den Aufnahmen werten sie die Bilder aus, und trgen Sie die Seitenkoordinaten und Zeitpunkten in die Excel-Tabelle ein.
10. Stellen Sie die gewonnenen Daten zweckmäßig dar.
11. Berechnen Sie das Diffusionskonstante der MnO_4 Ionen auf der Geloberfläche.