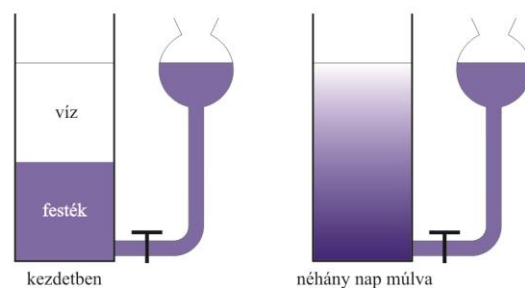
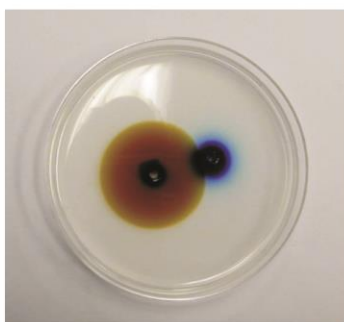
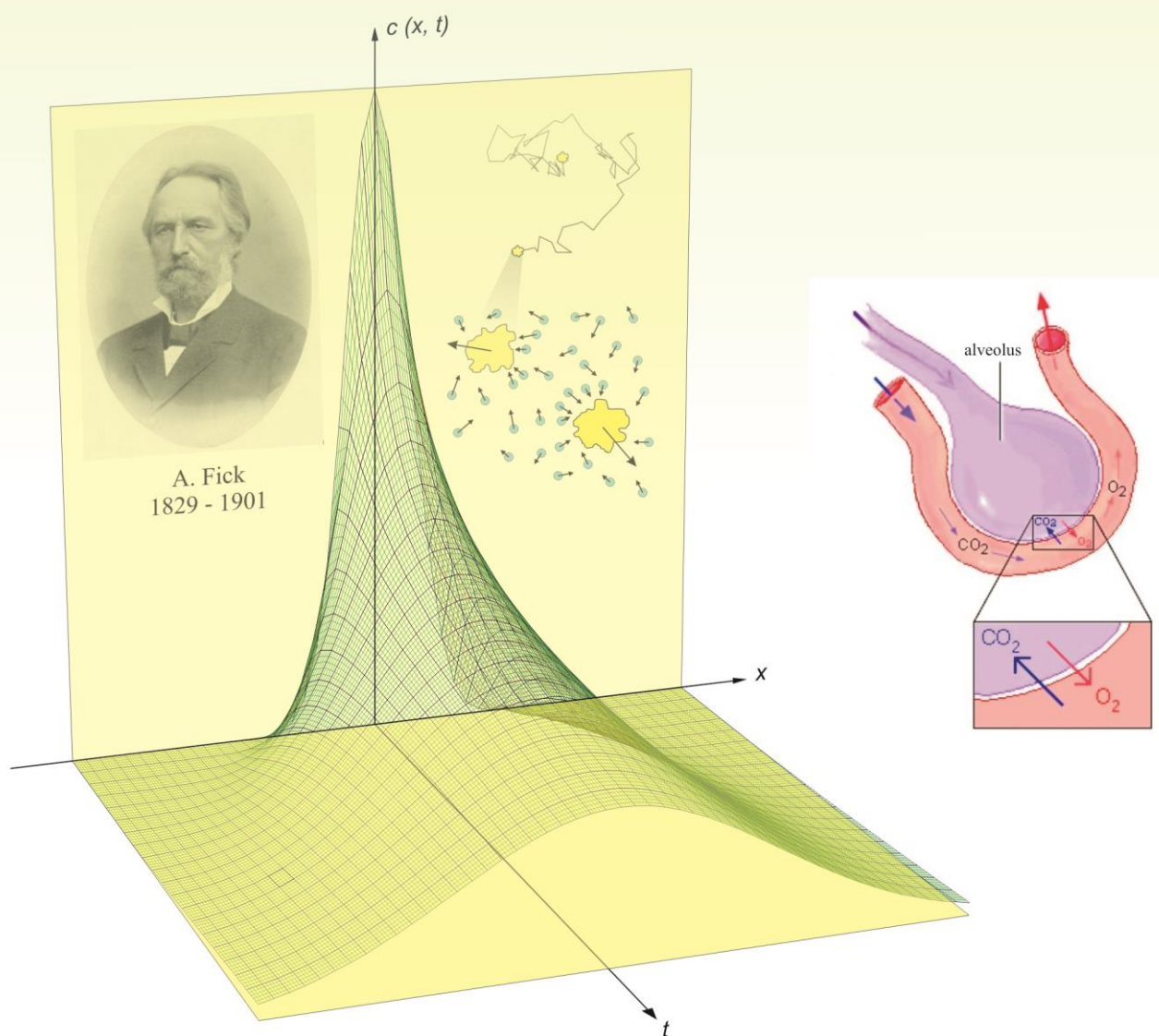


DIFFÚZIÓ

ANYAGTRANSZPORT, DIFFÚZIÓS EGYÜTTHATÓ MEGHATÁROZÁSA



ALAPFOGALMAK

DIFFÚZIÓ: A részecskék hőmozgás révén történő szétterjedése, anyagvándorlása.

FICK I. TÖRVÉNYE: Az anyagáramsűrűség a koncentrációeséssel arányos: $J_v = -D \cdot \frac{\Delta c}{\Delta x}$, ahol a D arányossági tényező a diffúziós együttható.

DIFFÚZIÓS EGYÜTTHATÓ (D): Arányossági tényező, amely megadja az egységnyi idő alatt, egységnyi felületen átdiffundált anyag mennyiségét, ha a koncentrációesés is egységnyi volt. Mértékegysége: m^2/s .

FICK II. TÖRVÉNYE: A diffúzió során a koncentráció térbeli-időbeli változását írja le:

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

Megadja a koncentráció *változását* térben és időben. (sajnos csak a változást, nem pedig a $c(x,t)$ összefüggést)

BROWN-MOZGÁS: a részecskék hőmozgásból és ütközésekből adódó véletlenszerű, korrelálatlan (a részecskék mozgása között nincs összefüggés) mozgása.

ÁTLAGOS NÉGYZETES ELMOZDULÁS (MSD): a részecskék kezdőponttól (x_0) való átlagos elmozdulásának mértéke:

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

PIXEL: egy képpont. A digitális képek rácspontokból épülnek fel, minden egyes ponthoz a kamera meghatározza a vörös, zöld és kék színek erősségét (intenzitását), és ezt számszerűen tárolja. A pixelek összessége adja ki a látott képet.

SZÜRKEÁRNYALATOS SKÁLA (GRAY SCALE): egy világosság skála, ahol minden pixelhez a fényességet (összintenzitást) egy számszerű skálán ábrázolunk. Például 1024 felel meg a legvilágosabb pontnak, míg 0 a teljesen sötétnek.

A részecskék szétterjedését, anyagvándorlását — a véletlenszerű hőmozgás révén — diffúciónak nevezzük. Diffúzió útján terjed szét például a cukor a kávéban (keverés nélkül is), vagy a rózsáillat a szobában. Ez a folyamat termikus egyensúly esetén mindaddig tart, amíg a részecskék eloszlása egyenletes nem lesz az egész térfogatban. A diffúzió rendkívüli jelentőséggel bír az élő szervezetekben. Diffúzióval történik például a légzési gázok (O_2 , CO_2) cseréje az alveolusok és a kapillárisok között, illetve a kapillárisok és a felhasználó sejtek között. A víz, mint igen kisméretű molekula ugyancsak diffúzióval jut át a sejtmembránon. A **gyakorlat célja** a diffúzióra vonatkozó törvényszerűségek megismerése és egy, a diffúziót jellemző paraméter (a diffúziós együttható) meghatározása képanalízis segítségével.

ELMÉLETI ÖSSZEFOGLALÁS

A FICK TÖRVÉNYEK

A diffúzióval kapcsolatosan az egyik alapvető kérdés az, hogy mitől függ a diffúzió „erőssége”. Az „erősség” jellemzésére használjuk az anyagáram-sűrűséget:

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

ami azt adja meg, hogy egységnyi idő (Δt) alatt egységnyi felületen (ΔA) hány mólnyi anyag (Δv) jut keresztül. Mértékegysége $\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$.

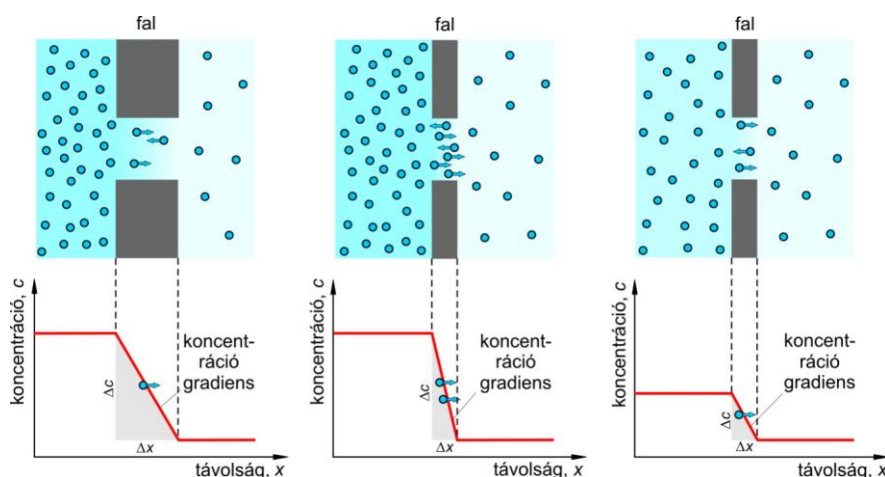
Kérdésünkre a választ Fick I. törvénye adja meg (stacionárius diffúzió esetén), ami a legegyszerűbb formában a következőképpen írható fel:

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

ahol $\Delta c/\Delta x$ az egységnyi távolságra eső koncentrációváltozás (az x -tengely mentén), más néven koncentrációesés vagy koncentrációgradiens. Tehát az anyagáram sűrűsége a koncentráció-eséssel arányos (lásd 1. ábra). A D arányossági tényező az ún. diffúziós együttható. D megadja az egységnyi idő alatt, egységnyi felületen átdiffundált anyag mennyiségét, ha a koncentrációesés is egységnyi. Mértékegysége: m^2/s . A diffúziós együttható függ a diffundáló részecske méretétől, alakjától, a közeg viszkozitásától, és hőmérsékletétől (lásd 1. táblázat). Gömb alakú részecskékre, szabad 3-dimenziós esetben igaz az Einstein-Stokes összefüggés:

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

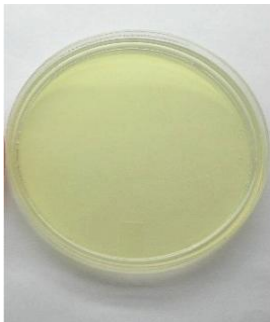
ahol r a részecske sugara, η a közeg viszkozitása, T a közeg abszolút hőmérséklete k pedig a Boltzmann állandó.



1. ábra. Fick I. törvényének szemléltetése: egy adott rendszerben a koncentrációesés ($\Delta c/\Delta x$) szabja meg a diffúzió „erősségét”. Az a) és b) ábrán ugyanakkora a koncentrációkülönbség, de különböző távolságon történik a változás; a b) és c) ábrán ugyanakkora távolságon különböző mértékű a koncentráció változás. Az a) és c) ábra összehasonlításából az látszik, hogy ugyanakkora koncentrációesés (azonos meredekség), ugyanolyan „erősségű” diffúziót eredményez.

diffundáló részecske (mol. tömeg)	közeg	D (m^2/s)
H_2 (2)	levegő	$6,4 \cdot 10^{-5}$
O_2 (32)	levegő	$2 \cdot 10^{-5}$
CO_2 (44)	levegő	$1,8 \cdot 10^{-5}$
H_2O (18)	víz	$2,2 \cdot 10^{-9}$
O_2 (32)	víz	$1,9 \cdot 10^{-9}$
glicin (75)	víz	$0,9 \cdot 10^{-9}$
szérum albumin (69 000)	víz	$6 \cdot 10^{-11}$
tropomiozin (93 000)	víz	$2,2 \cdot 10^{-11}$
dohánymozaik vírus (40 000 000)	víz	$4,6 \cdot 10^{-12}$

1. táblázat. Néhány anyag diffúziós együtthatója 20°C -on.



2. ábra. A mérésben használt agar-agar gél felszín

A diffúzióval kapcsolatos másik fontos kérdés az, hogy milyen gyorsan megy végbe a folyamat, pl. egy koncentráció kiegyenlítődés. Fick I. törvénye a koncentráció esetleges időbeli változását nem veszi figyelembe. Fick II. törvénye éppen ezt, nevezetesen a koncentráció térbeli-időbeli változását írja le:

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

Az egyenlet csupán a változást írja le: a koncentráció időbeli és térbeli megváltozása egymással szoros kapcsolatban van.

Ez a bonyolult egyenlet nem oldható meg általánosan, azaz a koncentráció időbeli és térbeli alakulását leíró $c(x,t)$ függvény nem mindig kapható meg képlet formájában. Általános esetben számítógépes módszerrel kis Δx és Δt lépésekben oldjuk meg az egyenletet.

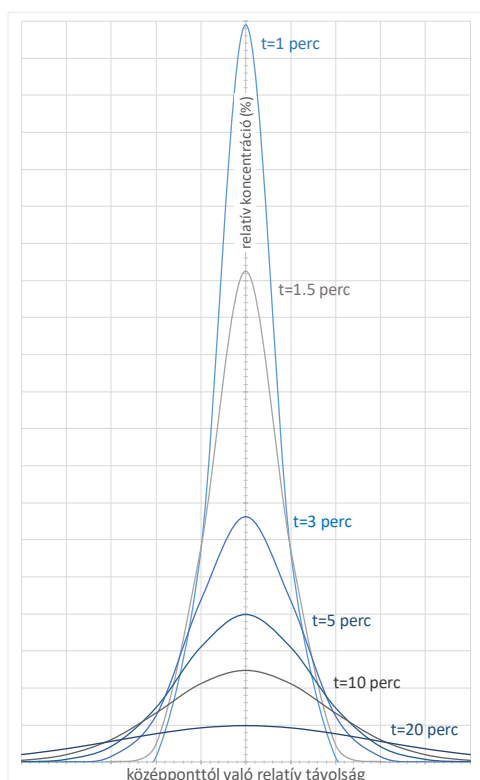
A DIFFÚZIÓS EGYÜTTHATÓ MEGHATÁROZÁSA

Kísérletünkben Fick II. törvényét használjuk fel K^+ és a színes (lila) MnO_4^- ionok diffúziójának egy kétdimenziós felszínén (agar-agar gél felszíne, 2. ábra) történő vizsgálatára. A 0,5 m/m%-os agaróz gél hidratált felszínén az ionok szabad diffúziója valósul meg, egy kezdeti pontból (a permanganát kristály) kiindulva. A (4) egyenlet ebben a speciális esetben zárt (képlettel megadható) alakban is megoldható. Ennek az a feltétele, hogy a kísérlet kezdetén a diffundáló anyag egy nagyon kicsi (elhanyagolható méretű) pontban legyen összegyűjtve. Ebben az esetben egy haranggörbe jellegű megoldást kapunk (3. ábra). A koncentráció eloszlás forgásszimmetrikus, így csak a középponttól mért távolság (r) a térbeli paraméter:

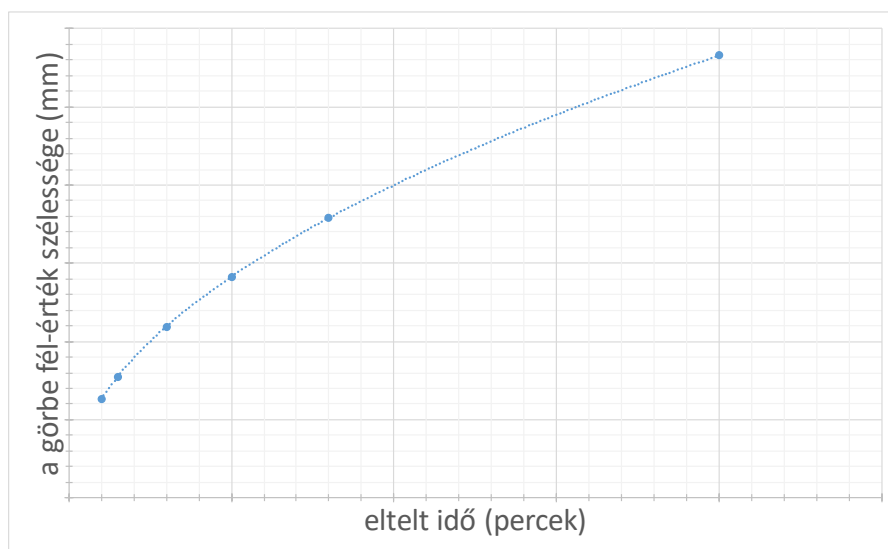
$$c(r,t) = \frac{e^{\left(\frac{-r^2}{4Dt} \right)}}{4\pi Dt} \quad (5)$$

Ez az egyenlet megadja a diffundáló ionok által elért átlagos távolságot is. A görbe a kísérlet elején nagyon gyorsan szélesedik, majd a szélesedés fokozatosan lelassul. A görbe szélességét jellemző σ paraméter kiszámítható:

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



3. ábra. egy minta-koncentráció eloszlás $c(x,t)$ alakulása



4. ábra. A haranggörbe szélességének alakulása az idő függvényében négyzetgyök függvényt követ a (6) egyenlet szerint.

A grafikonon látható hogy a haranggörbe fél-érték szélessége egy négyzetgyök függvényt követ. Ebből meghatározható a diffúziós állandó (D) értéke. Ahhoz hogy ezt egyszerűen meg tudjuk tenni, érdemes a haranggörbe szélességét (w) a fél-magasságnál megmérni. Ez az a távolság, ami a maximális koncentráció (görbe közepe) felénél behúzva a görbe két széle között mérhető.

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

Célszerű ezt a képletet átalakítani úgy, hogy a az idő helyett annak gyökét tekintjük független változónak (x):

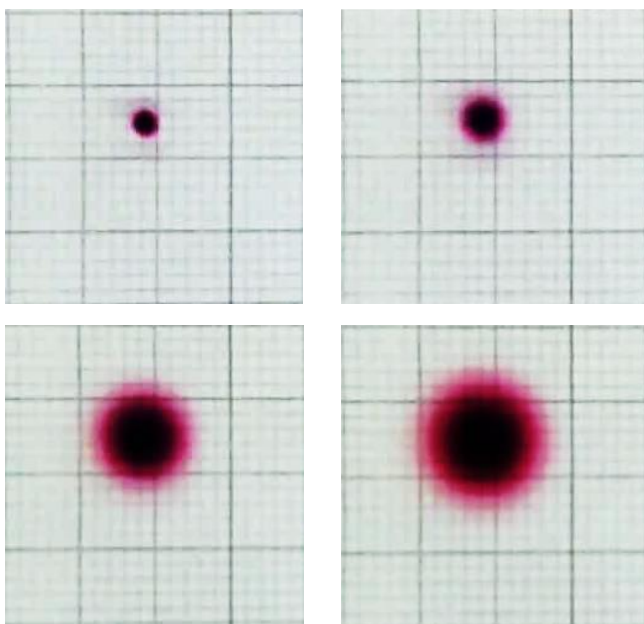
$$w = 2\sqrt{\ln(4) \cdot 2 \cdot D} \cdot x, \quad x = \sqrt{t} \quad (8)$$

Ez egy egyenes egyenlete amiből a w-x grafikon alapján a D diffúziós állandó meghatározható. Ahogy az egyenletből is látszik a diffúziós együttható mértékegysége távolság négyzete osztva az idővel (m²/s). Látható hogy a fél-érték szélesség (FWHM, w) a görbe σ paraméterével arányos (6).

A molekulák által átlagosan megtett távolság (R) – azaz átlagosan milyen messzire jutnak t idő alatt a kezdőponttól – a diffúziós állandó segítségével kiszámolható:

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

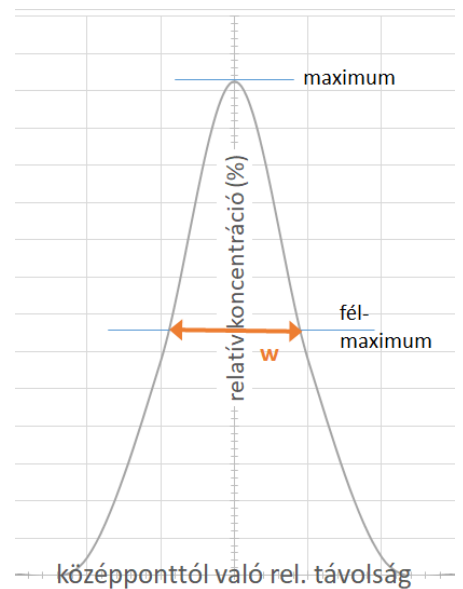
Néhány minta képet az 5. ábra mutat be, csak a lila foltra nagyítva:



5. ábra Néhány kép a foltról különböző időpontokban felvéve.

A képeket egy usb kamerával vettük fel, képanalízis segítségével meghatározható a koncentráció térbeli eloszlása. Ehhez a kamerát kalibrálni kell, amit a diffúziós edény alatt lévő mm-skála segítségével lehet megtenni.

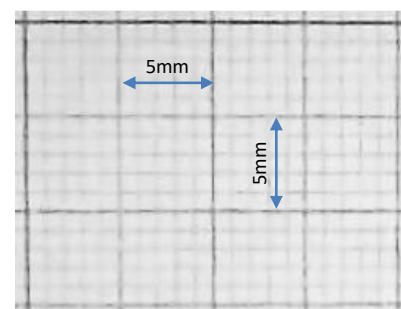
A laboratóriumi mérés során az ImageJ nyílt forráskódú tudományos képfeldolgozó programot fogjuk használni. Minden képet kalibrálni kell, a petri-csésze alatti mm-papír nagyobbik osztásköze 5mm-es mindkét irányban.



w: fél-érték-szélesség, angolul Full Width at Half Maximum (FWHM)

A kísérlet megkezdése előtt ellenőrizni kell a kamera-beállítást, és hogy a teljes agar-gél látható a képen. Ha szükséges kérjen segítséget az oktatótól. Ellenőrizze, hogy a megvilágítás egyenletes, és nincs sehol erős visszaverődés a képen.

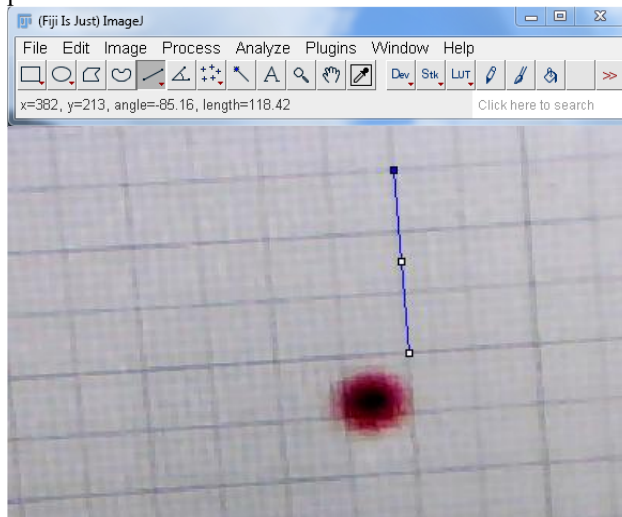
A kalibrációs rácshálózat mindkét irányban 5mm-es vastag rácsozatú.



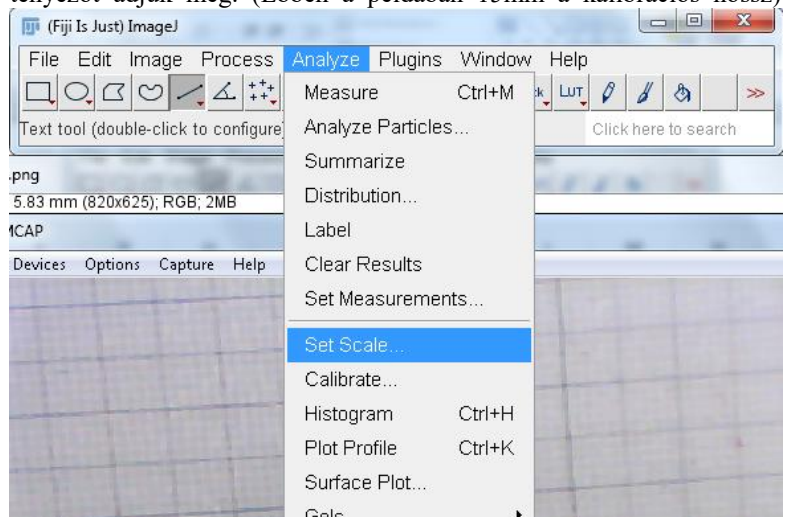
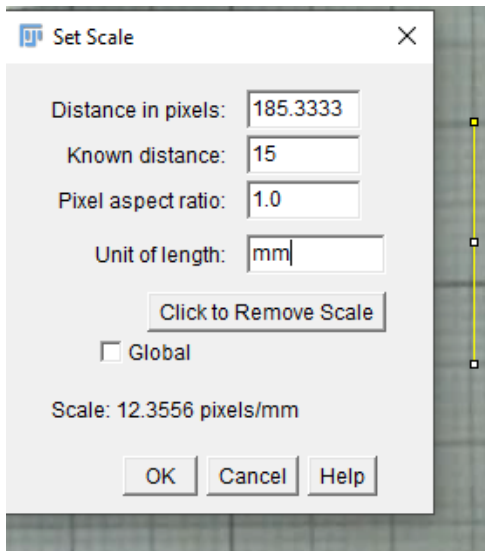
A kép-analízis menete a következő:

1. Nyissa meg a vizsgálandó képet, és húzzon egy vonalat a mm-rácscsal párhuzamosan.

A kalibrációs vonal ne legyen rövidebb mint 15-25 mm.

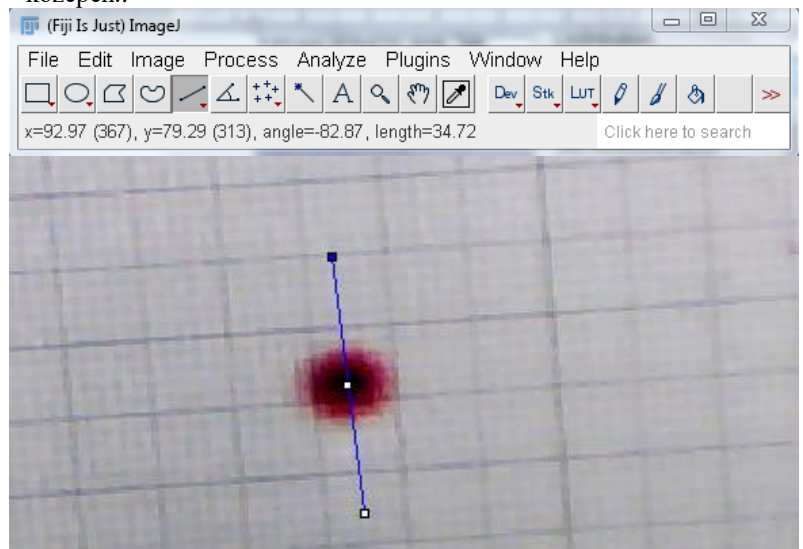


2. Használja az „Analyze” -> „Set Scale” funkciót, ezzel lehet a képet kalibrálni. A behúzott vonal hosszát megadva a mm/pixel kalibrációs tényezőt adjuk meg. (Ebben a példában 15mm a kalibrációs hossz)



Írja be a valódi, mm-skálán leolvasható hosszértéket (a példában 15mm) a “known distance” mezőbe, a mértékegységet (mm) pedig a “Unit of length” mezőbe. Ha a “Global” jelölőt aktiválja akkor ezt az értéket fogja a program az összes képhez használni.

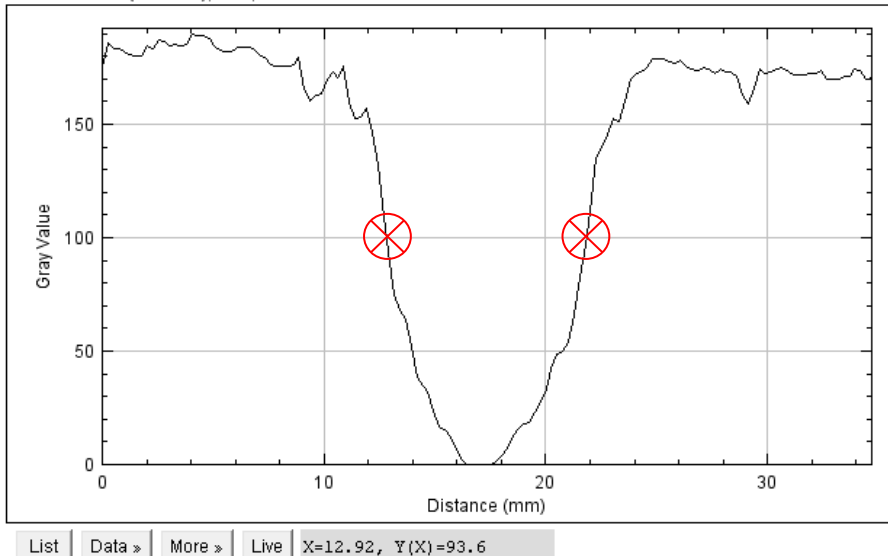
3. Húzzon keresztül egy vonalat a folton úgy, hogy az áthaladjon a folt közepén..



A kalibrált képen húzzon be egy vonalat, ami keresztül halad a folt közepén. A vonal iránya, és pontos nagysága nem lényeges, de **a vonalnak át kell haladnia a folt közepén.**

4. Válassza ki az “analyze” -> „plot profile” funkciót! A program nyit egy új ablakot, amiben a szürkeárnyaltos profilt mutatja meg. Itt lehet leolvasni a folt szélességét, majd beírni a táblázatba.

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



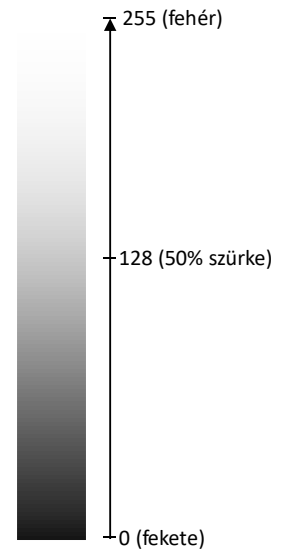
Az ablakban egy (fekete) célkereszt mozgatható, amivel pl. a 100-as vonal mentén kijelölhető a görbe bal és jobb széle. (a piros célkereszt azt a helyet mutatja a fenti ábrán amit pl. le lehetne olvasni).

Az ablak alján az “X” koordinátát kell leolvasni, és az excel táblázatba beírni.

A szürke árnyaltos skála színes kép esetében a piros, zöld és kék színek együttes intenzitását adja meg, tehát színes képből is elkészíthető. Esetünkben ott, ahol nagyobb a színes anyag koncentrációja a kép sötétebb lesz mint ott ahol a koncentráció kisebb, tehát a 3.ábrán látható koncentráció profilhoz hasonló képet kapunk, csak “fejjel lefele”.

5. Az „x” koordináták különbségeiből lehet kiszámolni a haranggörbe σ szélesség paraméterét, majd abból a diffúziós állandót.

A szürke-árnyaltos skála egy digitális kép pixeleit a rögzített fotonszámmal arányos számmal látja el. A világos pixelek nagyobb számot kapnak, míg a teljesen sötétek 0-t.



8 bites szürke-skála.

A KÍSÉRLET MENETE

A diffúzió azonnal megkezdődik amint a kicsiny KMnO_4 kristályt a gél felszínére ejtjük. Ezzel egyidőben indítjuk az időmérést is (stopperrel vagy mobiltelefonnal). Az előre megadott időközökben képeket készítünk a digitális kamerával, majd azokat feldolgozzuk.

A mérési adatok táblázatának egy lehetséges elrendezése:

a kristály gélre ejtése után eltelt idő (perc)	a kép készítéséig eltelt (valódi) idő (sec)	bal oldali szél koordinátája (mm)	jobb oldali szél koordinátája (mm)	folt szélessége (mm)
0,5				
1				
1,5				
2				
2,5				
3				
4				
...				
...				
...				

1. táblázat: a mérési adatok egy lehetséges elrendezése.

FELADATOK

1. Indítsa el a képrögzítéshez használt programot!.
2. Tegye a petri-csészét a kamera alá.
3. Állítsa be a kamerát úgy hogy az egész edény, és az alatta levő kalibrációs hálózat látható legyen a képen.
4. Készítsen egy próba-képet, ellenőrizze hogy minden jól látható rajta, nincsen zavaró tükröződés sehol.
5. Készítse elő a stoppert, vagy a mobiltelefont amit az időméréshez fog használni.
6. Nyissa fel az eppendorff-csövet, és csúsztassa a kicsiny lila KMnO_4 kristályt a gél közepére.
7. Amint a kristály a gélre kerül indítsa el az időmérést.
8. Az előírt időpontokban vegyen fel egy képet, és mentse le a számítógépen az asztalra.
9. A képek elkészülte után végezze el a szürkeárnyaltos profil kiértékelését, és a folt széleinek koordinátáit írja be a táblázatba, a képek készítésének pontos időpontjával együtt.
10. Készítse el a grafikus ábrázolást, határozza meg a meredekséget.
11. Számítsa ki a KMnO_4 gél felszínén megvalósuló diffúziós állandóját.