Biofizika gyakorlat Diffúzió jegyzőkönyv:

A gyakorlat célja

A gyakorlat célja a diffúzió és a Brown mozgás alapvető fogalmainak megértése.

Gyakorlaton elvégzett feladatok

1. A diffúziós együttható kísérleti meghatározása
2. A hidrodinamikai átmérő meghatározása
3. Diffúziós idő meghatározása adott távolságoknál

Használt anyagok és eszközök, fontos körülmények

Az előre megadott képi mérési adatok és az ezek feldolgozásához használt Fiji program.

Rövid elméleti összefoglalás

Diffúzió

Bizonyos anyagok a rendelkezésükre álló gáz- vagy folyadéktérben előbb-utóbb szétoszlanak(pl. a kávéba tett cukor az oldódást követően eloszlik a teljes térfogatban, a vázába tett rózsa illata előbb-utóbb érezhető az egész helyiségben).Ezt a szétterjedési folyamatot nevezzük diffúziónak.

A diffúzió biológiai jelentősége:

biológiai rendszerek mikroszkopikus anyagtranszport folyamatai

az anyagok sejtmembránon keresztül történő áthaladása

alapvető anyagcsere-folyamatok

vér és a tüdő közötti gázcsere:

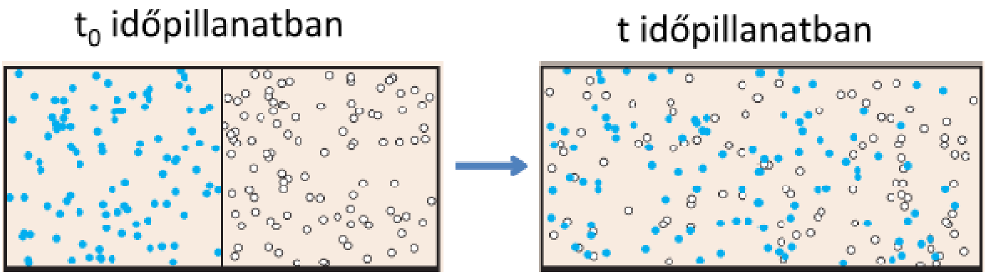
- ingerületi folyamatok
- felszívódás (pl.gyógyszerek)
- kémiai reakciók
- (sejtek közötti és sejtekben megvalósuló molekulamozgások)

A részecskék mozgása:

- A biológiai rendszerekben a részecskék többsége állandó mozgásban van,
- folyadék fázisban(emberi szervezet tömegének 55 –60 %-a víz)
- lipid fázisban–víznél nagyobb rendezettségű sejtmembránokban zajlanak.

A Brown mozgás

Robert Brown(skót botanikus): 1827. pollenszuszpenzió mikroszkópos vizsgálata során figyelte meg a virágporszemcsék szabálytalan, zegzugosmozgását (gázrészecskékhez hasonlóan). A részecskék ez a rendezetlen hőmozgása, a Brown-mozgás képezi a diffúzió alapját. A részecskék egyenetlen(inhomogén) eloszlásának következtében a Brown mozgásnak köszönhetően a részecskék transzportjával valósul meg a magasabb koncentrációjú régiók felől az alacsonyabb koncentrációjú régiók felé. A folyamat termikus egyensúly esetén mindaddig tart, amíg a részecskék eloszlása többé-kevésbé egyenletes nem lesz az egész térfogatban, amíg a részecskék homogén eloszlást nem mutatnak.



A FICK TÖRVÉNYEK

A diffúzióval kapcsolatosan az egyik alapvető kérdés az, hogy mitől függ a diffúzió „erőssége". Ennek jellemzésére használjuk az anyagáram sűrűséget:

$$J_\nu = \frac{\Delta \nu}{\Delta t \cdot \Delta A}$$

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

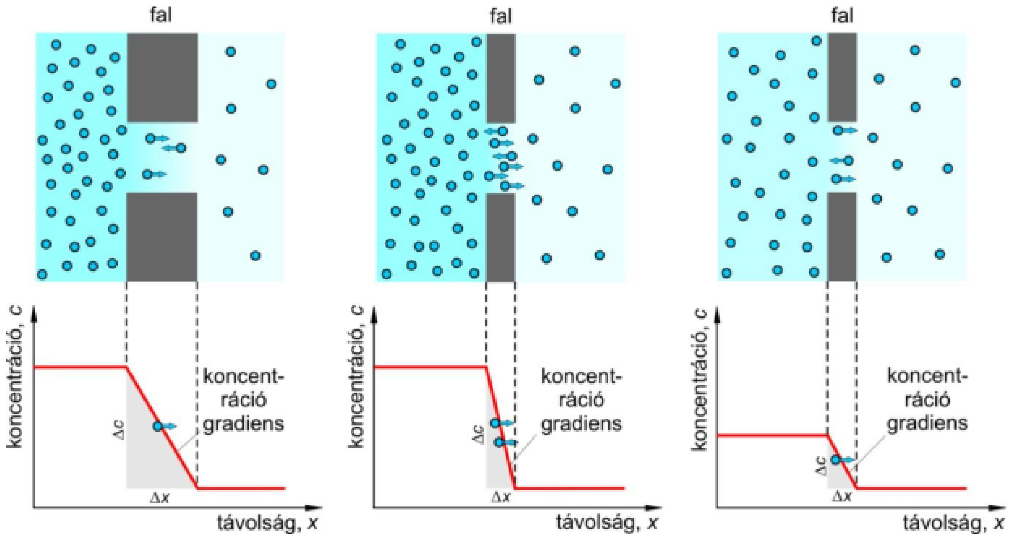
Kérdésünkre a választ Fick I. törvénye adja meg (stacionárius diffúzió esetén), ami a legegyszerűbb formában a következőképpen írható fel:

$$J_\nu = -D \frac{\Delta c}{\Delta x}$$

ahol $\Delta c/\Delta x$ jelentése az egységnyi távolságra eső koncentrációváltozás (az x-tengely mentén), vagy koncentrációesés. Tehát az anyagáram sűrűség a koncentrációeséssel arányos (lásd az 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. Gömb alakú részecskékre igaz az Einstein-Stokes összefüggés:

$$D = \frac{\mathrm{kT}}{6\pi \cdot \eta \cdot r}$$

ahol r a részecske sugara, η a közeg viszkozitása, T a közeg hőmérséklete.



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:

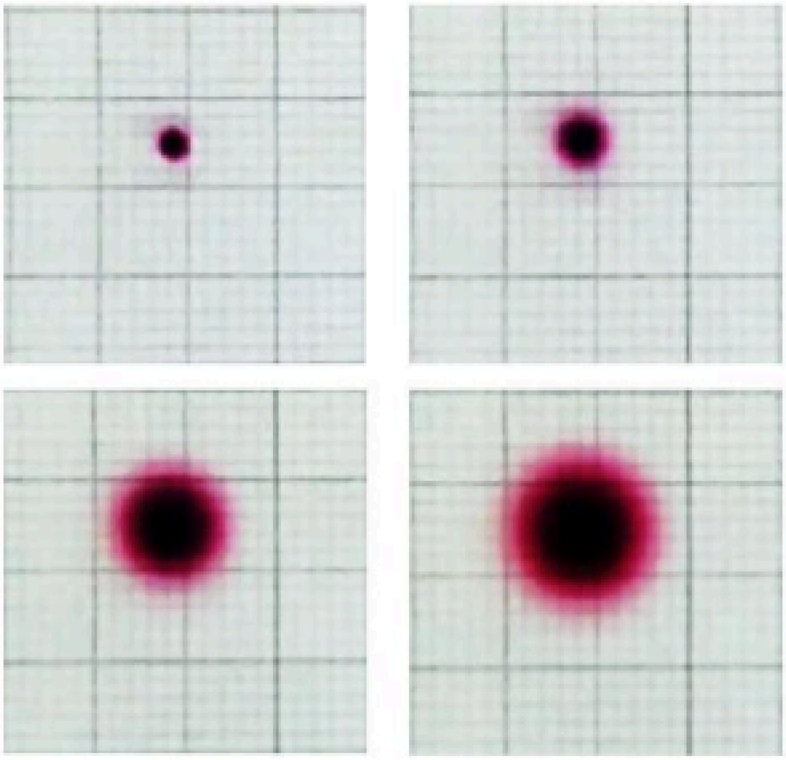
$$D \cdot \Delta t \frac{\Delta\left(\frac{\Delta c}{\Delta x}\right)}{\Delta x} + c(t) = c(t + \Delta t)$$

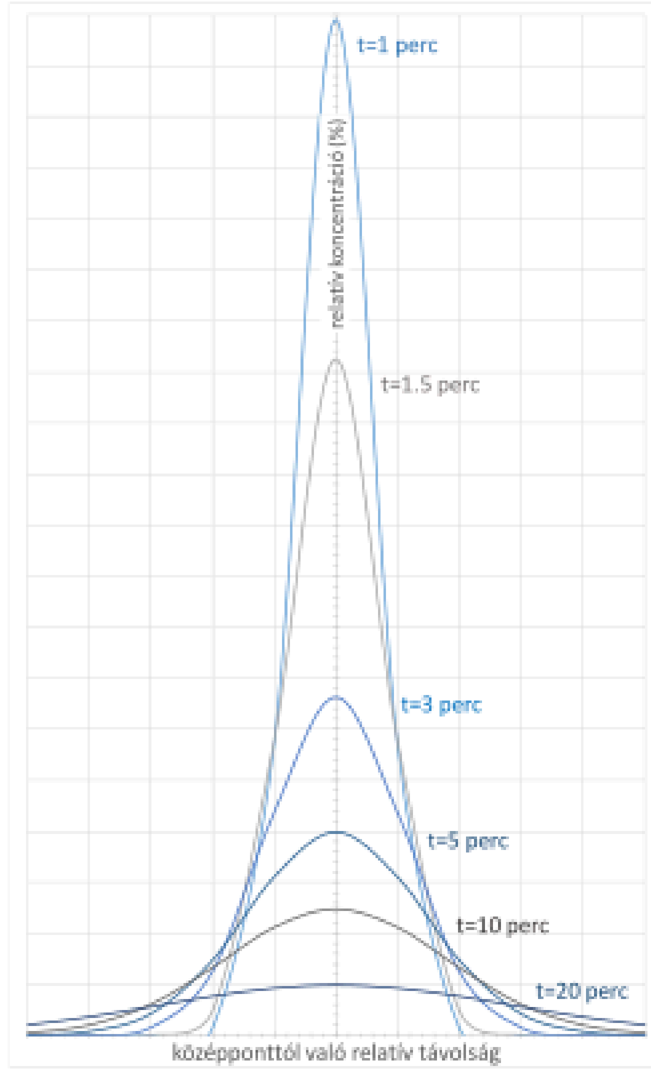
Ez az összefüggés azt adja meg, hogy amennyiben a koncentráció (térbeli) eloszlását ismerjük egy adott t időpontban [c(x, t)], akkor egy kicsit későbbi $t + \Delta t$ időpontban milyen lesz az új eloszlás.

Ez a bonyolult egyenlet nem oldható meg általánosan. Bizonyos speciális esetekben közelítő megoldások adhatók, de a leggyakrabban numerikus (számítógépes) módszereket alkalmaznak.

A diffúziós együttható kísérleti meghatározása

Kísérletünkben Fick II. törvényét használjuk fel K^+ ionokés MnO_4^-MnO4- ionok diffúziójának egy kétdimenziós felszínen (agag-agar gél felszíne) történő vizsgálatára. Feltétel, hogy a kísérlet kezdetén a diffundáló anyag egy nagyon kicsi(elhanyagolható méretű) pontban legyen összegyűjtve. Ebben az esetben egy haranggörbe jellegű megoldást kapunk:





Fick II törvénye felírható

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

az alábbi képlettel:

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

középponttól mért távolság (r)

A görbe félérték szélességét jellemző σ parameter kiszámítható:

$$\sigma = \sqrt{2D \cdot t}$$

```
eltelt_ido = [31;61;90;129;181;4*60+8;5*60+15;...
    6*60+7;8*60+7;10*60+11;12*60+0;14*60+58;20*60+20;...
    25*60+0;30*60+11;35*60+22;40*60+15];
eltelt_ido_gyoke = sqrt(eltelt_ido);
```

```
mert_ertek = [0.7492;0.91604;1.01848;1.17422;1.34539;...
    1.52665;1.63533;1.75405;1.96967;2.19459;2.33502;2.5811;...
    3.00883;3.2319;3.59233;3.86696;4.1854];
meresi_adatok = table(eltelt_ido,eltelt_ido_gyoke,mert_ertek);
```

Ebből a félérték:

```
meresi_adatok.FWHM = 2 * sqrt(2*log(2)) * meresi_adatok.mert_ertek * 1e-3;
disp(meresi_adatok)
```

eltelt_ido	eltelt_ido_gyoke	mert_ertek	FWHM
31	5.5678	0.7492	0.0017642
61	7.8102	0.91604	0.0021571
90	9.4868	1.0185	0.0023983
129	11.358	1.1742	0.0027651
181	13.454	1.3454	0.0031682
248	15.748	1.5267	0.003595
315	17.748	1.6353	0.0038509
367	19.157	1.7541	0.0041305
487	22.068	1.9697	0.0046382
611	24.718	2.1946	0.0051679
720	26.833	2.335	0.0054986
898	29.967	2.5811	0.006078
1220	34.928	3.0088	0.0070853
1500	38.73	3.2319	0.0076105
1811	42.556	3.5923	0.0084593
2122	46.065	3.867	0.009106
2415	49.143	4.1854	0.0098559

Az illesztett modell:

```
model = fittype('sqrt(2*D*t)', 'dependent',{'FWHM'},'independent',{'t'},'coefficients',{'D'});
opt = fitoptions('Method','NonlinearLeastSquares','Lower',[0,0], ...
'Upper',[max(meresi_adatok.eltelt_ido),max(meresi_adatok.FWHM)],'Startpoint',[meresi_adatok.elt
[illesztes, gof] = fit(meresi_adatok.eltelt_ido, meresi_adatok.FWHM, model,opt);
```

```
Warning: Too many bounds. Length of upper and lower bounds is greater than the number of coefficients.
 Ignoring extra bounds.
```

```
disp(illesztes)
```

```
General model:
illesztes(t) = sqrt(2*D*t)
Coefficients (with 95% confidence bounds):
  D =   2.069e-08  (1.922e-08, 2.216e-08)
```

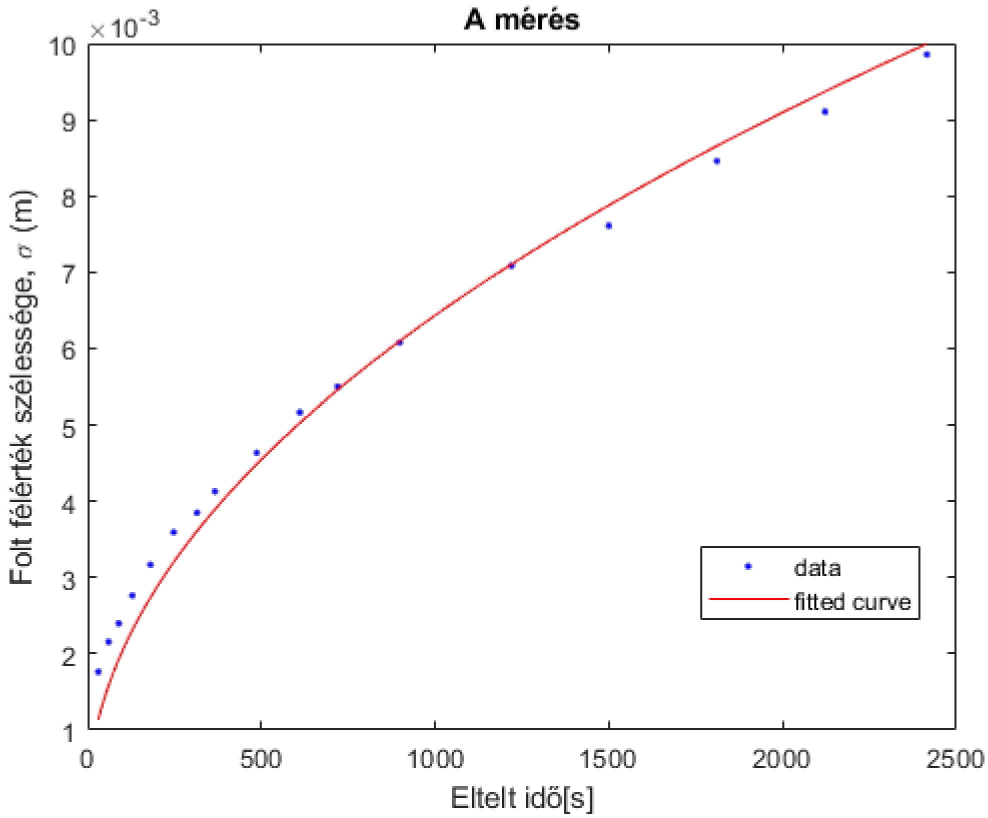
```
disp(gof)
```

```
       sse: 1.8448e-06
   rsquare: 0.9820
       dfe: 16
adjrsquare: 0.9820
      rmse: 3.3956e-04
```

Grafikusan:

```
figure
plot(illesztes,meresi_adatok.eltelt_ido, meresi_adatok.FWHM)
```

```
title('A mérés')
xlabel('Eltelt idő[s]')
ylabel('Folt félérték szélessége, \sigma (m)')
legend('Location',"best")
```



Ebből pedig:

```
D_ertek = illesztes.D * 1e6; % mm^2/s
disp(D_ertek)
```

```
0.0207
```

A hidrodinamikai átmérő meghatározása

Most pedig a Stokes Einsten egyenletből:

$$D = \frac{k \cdot T}{6\pi \cdot \eta \cdot r}$$

```
u = symunit;
homerseglet = 298.15 * u.kelvin;
disp(homerseglet)
```

$$\frac{5963}{20}\ \mathrm{K}$$

```
viszkozitas = 1e-3 * u.pascal * u.second;
disp(viszkozitas)
```

$\frac{1}{1000}$ Pa s

```
D_ertek_mertek = D_ertek * u.mm^2/u.second;
disp(D_ertek_mertek)
```

$\frac{1490718623111917}{72057594037927936}$ $\frac{\mathrm{mm}^2}{\mathrm{s}}$

```
r_ertek = simplify((u.k_B * homerseglet)/(6*pi*viszkozitas*D_ertek_mertek));
r_ertek = unitConvert(r_ertek,u.nm);
disp(r_ertek)
```

$\frac{36208281239907517595648}{1091834929037048583984375\,\pi}$ nm

```
r_erteke_mertekNelkul = double(separateUnits(r_ertek)); % nm
disp(r_erteke_mertekNelkul)
```

```
0.0106
```

Diffúziós idő meghatározása adott távolságoknál

Az ismert egyenlet alapján

$$R = \sqrt{2 \cdot D \cdot t} \Rightarrow t = \frac{R^2}{2 \cdot D}$$

Ebből pedig

```
eredmeny = table();
eredmeny.R = [1*u.micrometre;1*u.centimeter;1*u.meter];
D_ertek_alternativ_mertek = 231 * u.mm^2/u.second;
eredmeny.idok = simplify((eredmeny.R .^ 2)/(2*D_ertek_mertek));
eredmeny.idok_alternativ = simplify((eredmeny.R .^ 2)/(2*D_ertek_alternativ_mertek));
disp(eredmeny)
```

R	idok	idok_alternativ
[1×1 sym]	[1×1 sym]	[1×1 sym]
[1×1 sym]	[1×1 sym]	[1×1 sym]
[1×1 sym]	[1×1 sym]	[1×1 sym]

Az egy microméterhez tartozó idő:

```
disp(unitConvert(eredmeny.idok(1),u.microsecond))
```

$\frac{36028797018963968}{1490718623111917}$ µs

Vagyis microsecundumban:

```
disp(double(separateUnits(unitConvert(eredmeny.idok(1),u.microsecond))))
```

```
24.1687
```

Az egy centiméterhez tartozó idő:

```
disp(unitConvert(eredmeny.idok(2),u.min))
```

$$\frac{180143985094819840}{4472155869335751}\ \mathrm{min}$$

vagyis percben:

```
disp(double(separateUnits(unitConvert(eredmeny.idok(2),u.min))))
```

```
40.2812
```

Az egy méterhez tartozó idő:

```
disp(unitConvert(eredmeny.idok(3),u.day))
```

$$\frac{1125899906842624000}{40249402824021759}\ \mathrm{d}$$

vagyis napban:

```
disp(double(separateUnits(unitConvert(eredmeny.idok(3),u.day))))
```

```
279.7308
```

Ez csak érdekes:

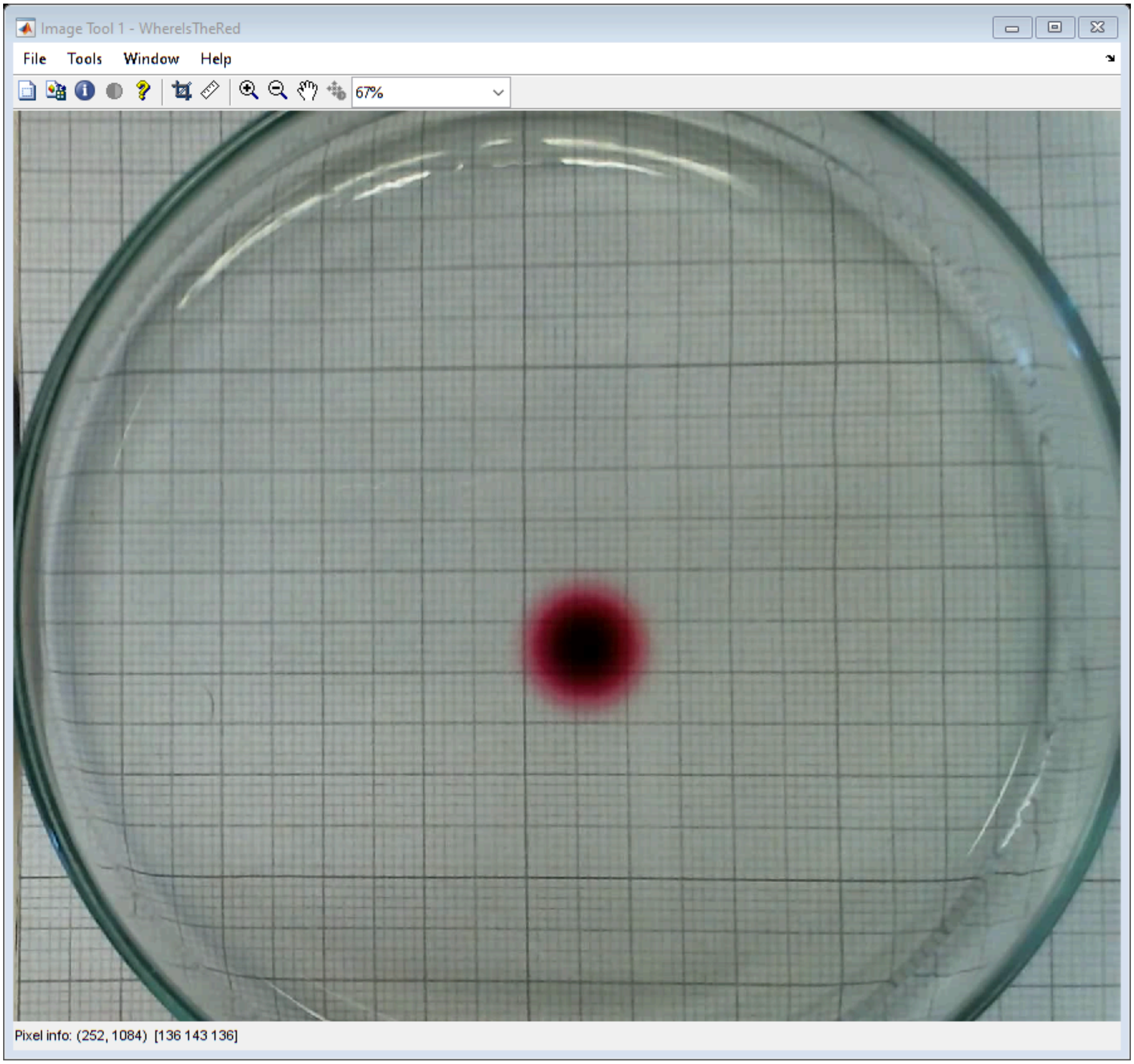
Kép beolvasása

```
WhereIsTheRed = imread('diffuzio_35min_22sec.png',"png");
```

Kép megjelenítése

imtool segítségével alapvető elemzéseket hajthatunk végre

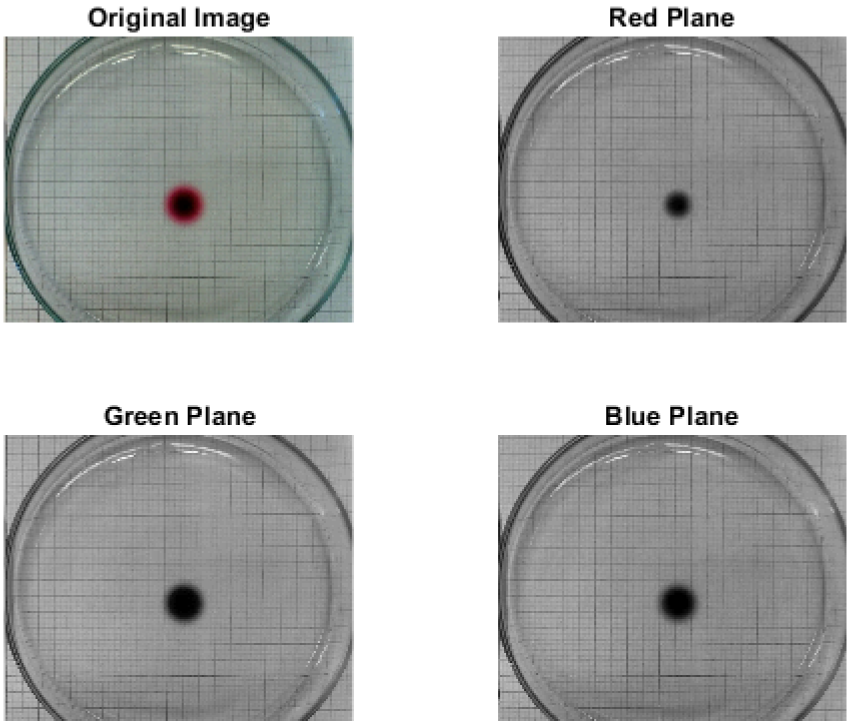
```
imtool(WhereIsTheRed);
```



Színsíkok elkülönítése és megjelenítése

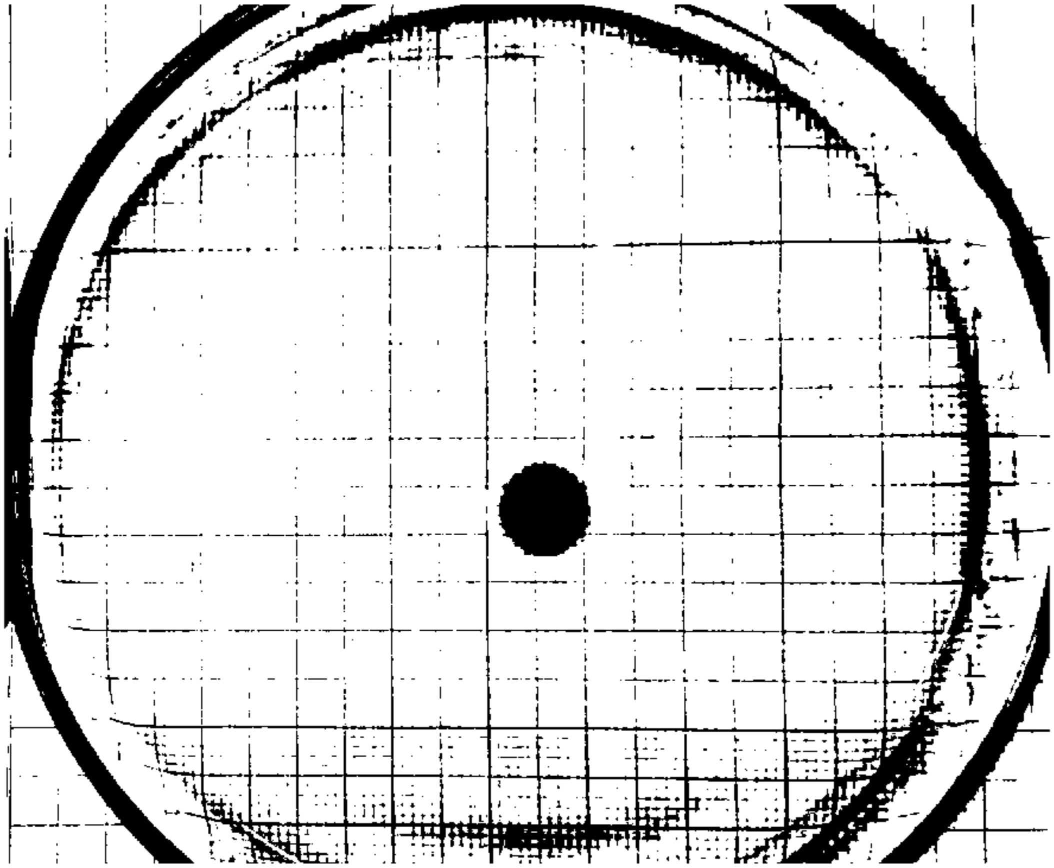
```
figure
red_WhereIsTheRed=WhereIsTheRed(:,:,1);
green_WhereIsTheRed=WhereIsTheRed(:,:,2);
blue_WhereIsTheRed=WhereIsTheRed(:,:,3);

subplot(2,2,1)
imshow(WhereIsTheRed);
title('Original Image')

subplot(2,2,2)
imshow(red_WhereIsTheRed);
title('Red Plane')

subplot(2,2,3)
imshow(green_WhereIsTheRed)
```

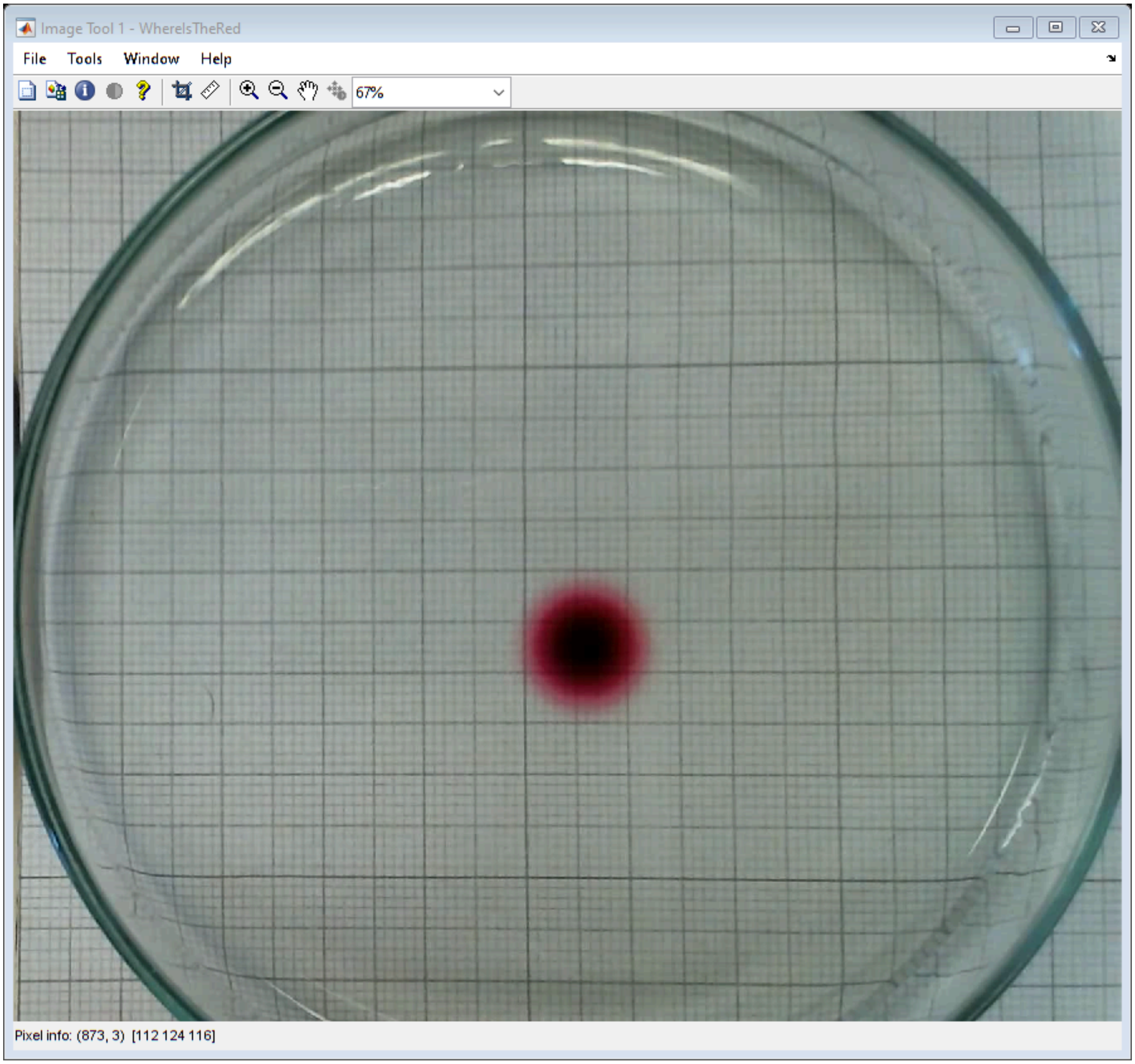
```
title('Green Plane');

subplot(2,2,4)
imshow(blue_WhereIsTheRed)
title('Blue Plane')
```



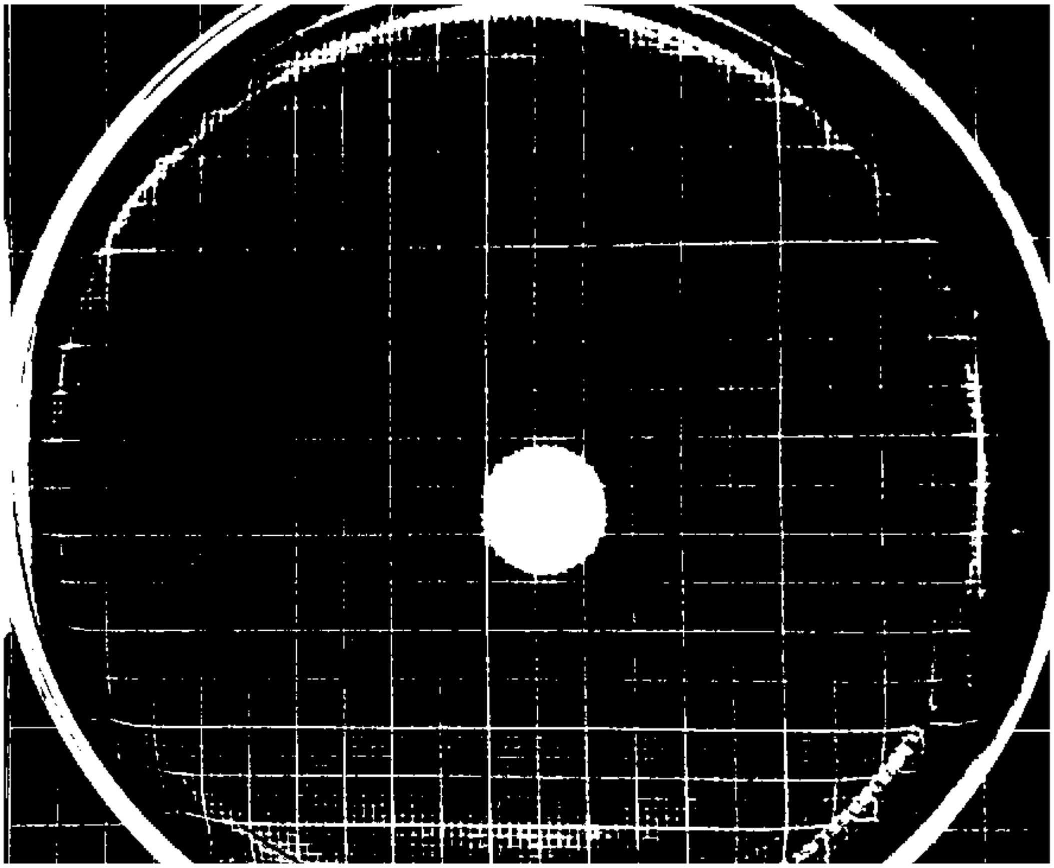
Képek szegmentálása

```
figure
%piros színsík felhasználása
mask_red_WhereIsTheRed = imbinarize(red_WhereIsTheRed,"global");
imshow(mask_red_WhereIsTheRed)
```



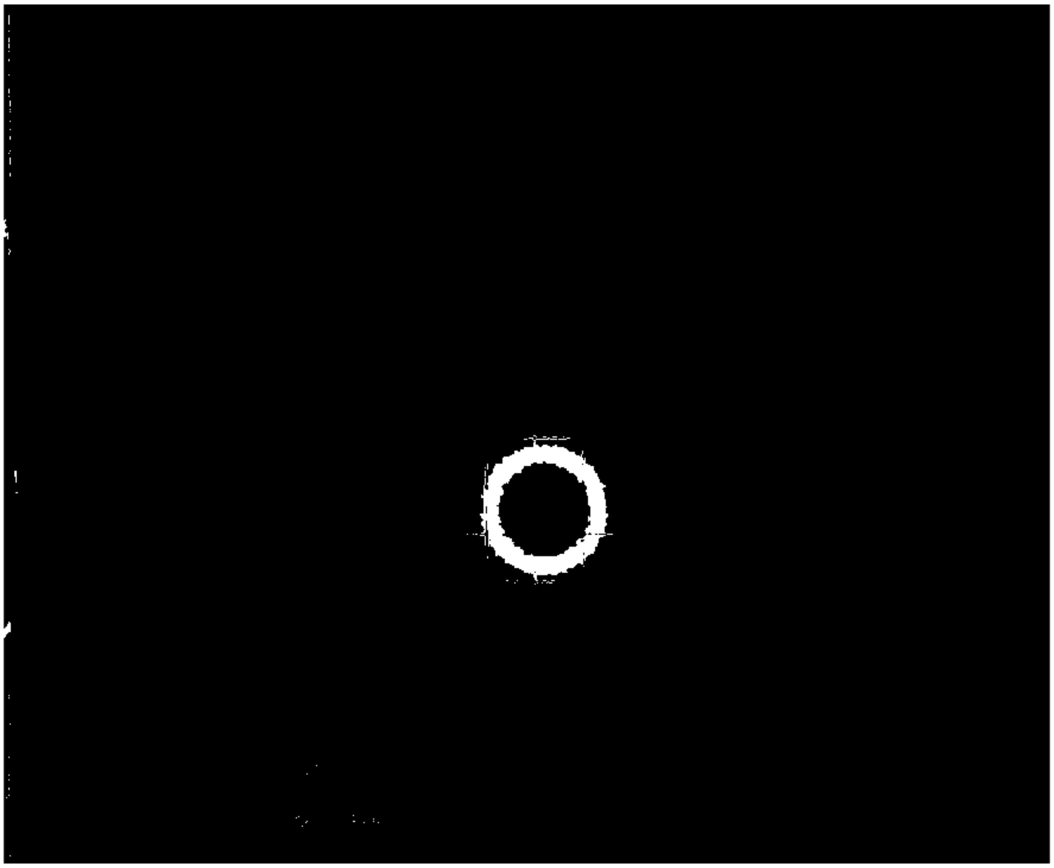



```
%Zöld színsík felhasználása
mask_green_WhereIsTheRed = ~imbinarize(green_WhereIsTheRed,"global");
imshow(mask_green_WhereIsTheRed);
```



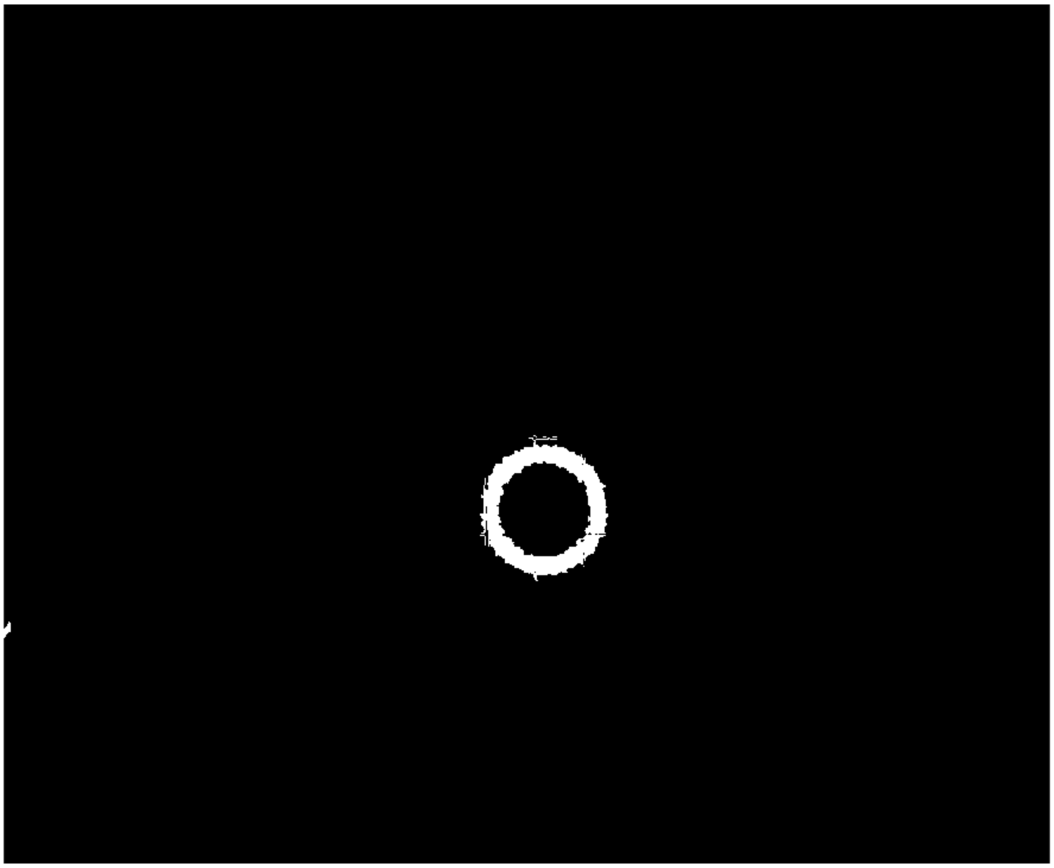
Két színsík felhasználása

```
figure
mask_WhereIsTheRed = mask_red_WhereIsTheRed & mask_green_WhereIsTheRed;
imshow(mask_WhereIsTheRed)
```



Apró szemcsék eltüntetése - morfológiai operátorral

```
mask2_WhereIsTheRed = bwareaopen(mask_WhereIsTheRed,100);
figure
imshow(mask2_WhereIsTheRed)
```



Objektumok tulajdonságának megállapítása

```
stats = regionprops('table',mask2_WhereIsTheRed,'Centroid',...
    'MajorAxisLength', 'MinorAxisLength', "Circularity", "Perimeter");
disp(stats)
```

Centroid		MajorAxisLength	MinorAxisLength	Circularity	Perimeter
4.9905	790.68	18.81	7.8422	0.63267	45.668
682.48	638.98	206.89	194.73	0.14243	938.93

```
centers = stats.Centroid;
diameters = mean([stats.MajorAxisLength stats.MinorAxisLength],2);
radii = diameters/2;
figure
imshow(WhereIsTheRed);
hold on
viscircles(centers,radii,'Color','b');
hold off
```