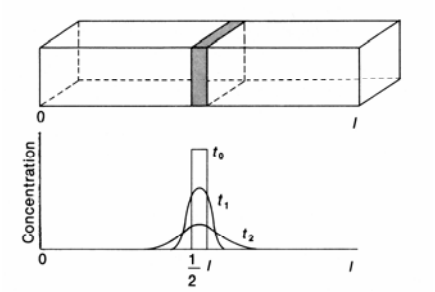
فصل نهم
نفوذ[1]

۹-۱ . تئوری نفوذ:

ماکرومولکول‌ها به واسطه انرژی حرارتی‌شان و نیز بمباران توسط مولکول‌های حلال در حرکت مداوم هستند. این حرکت دارای جهت تصادفی می‌باشد و اگر ابتدا تمامی ماکرومولکول‌ها در یک بخش محلول وجود داشته باشند، به تدریج در محلول حرکت خواهند کرد تا غلظت آنها در همه جای محلول یکسان گردد. این فرآیند نفوذ یا انتشار نامیده می‌شود. فرآیند نفوذ در سیستم‌های شیمیایی و بیولوژیک دارای اهمیت زیادی است. به عنوان مثال، رسیدن دی‌اکسید کربن به جایگاه‌های فوتوسنتز در کلروپلاست‌ها عمدتا توسط این مکانیزم صورت می‌گیرد. درک انتقال مولکول‌های حل‌شونده از غشاءهای سلولی نیازمند فهم تفصیلی فرآیند نفوذ است.

یک منشور راست گوشه را در نظر بگیرید که حاوی یک حلال است و در ابتدا، در مرکز این منشور مولکول‌های حل‌شونده در یک لایه نازک قرار گرفته‌اند (شکل ۹-۱):



شکل (۹-۱): نفوذ از یک لایه نازک مولکول‌های حل‌شونده که در ابتدا در مرکز یک منشور راست‌گوشه به طول l قرار گرفته است. شکل نشان‌دهنده توزیع اولیه غلظت در زمان صفر (t_0) و در دو زمان بعدی (t_1) و (t_2) است. با نفوذ، سطح زیر منحنی‌ها ثابت باقی می‌ماند.

نمودار فوق نشان دهنده توزیع غلظت حل شونده در درون منشور در زمان صفر (t_0) است. با گذشت زمان، مولکول‌های حل‌شونده در دو طرف لایه نازک اولیه‌شان شروع به نفوذ می‌کنند و در نتیجه،

---

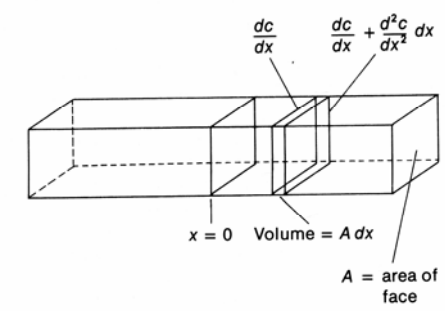
[1] Diffusion

غلظت آنها در زمان‌های t_1 و t_2 به صورت منحنی‌های فوق درخواهد آمد. فیک[۲] نشان داد که سرعت جاری‌شدن[۳] متناسب با شیب غلظت است. سرعت جاری‌شدن به صورت تعداد مولکول‌های حل‌شونده که از واحد سطح در واحد زمان نفوذ می‌کنند تعریف می‌شود. به بیان ریاضی برای نفوذ در یک بعد می‌توان نوشت:

$$J \propto -(\frac{dc}{dx}) \quad \text{یا} \quad J = -D(\frac{dc}{dx}) \qquad (۱-۹)$$

که در این رابطه، J سرعت جاری شدن، (dc/dx) شیب غلظت و D ثابت تناسب است که ضریب نفوذ نامیده می‌شود. علامت منفی نشان می‌دهد که نفوذ از غلظت بالاتر به غلظت پایین‌تر روی می‌دهد و در نتیجه شیب غلظت در جهت نفوذ منفی است و J یک کمیت مثبت خواهد بود. این معادله، قانون اول نفوذ فیک نامیده می‌شود. واحد نفوذ، $cm^2.s^{-1}$ است.

منشور راست‌گوشه زیر را در نظر بگیرید (شکل ۹-۲):



شکل (۹-۲): یک دیاگرام مفید برای آنالیز ریاضی نفوذ.

تغییر غلظت با زمان در یک نقطه معین در امتداد محور x چقدر است؟

عنصر حجم Adx را در نظر بگیرید. در فاصله x از مرز اولیه (محل اولیه لایه نازک حل شونده) می‌توان نوشت:

---

[۲] Fick
[۳] Flow Rate

سرعت ورود مولکول‌های حل شونده به عنصر حجم $= -DA(dc/dx)$ و سرعت خروج مولکول‌های حل‌شونده در فاصله $x+dx$ از مرز اولیه $= -DA(dc/dx) - DA(d^2c/dx^2)\,dx$

از تفاضل این دو مقدار از هم، سرعت روی هم انباشته شدن[۴] مولکول‌ها در عنصر حجم Adx بدست خواهد آمد که برابر خواهد بود با:

$$DA(\frac{d^2c}{dx^2})\,dx$$

با گذشت زمان، غلظت حل‌شونده در عنصر حجم در نتیجه عمل نفوذ به طور مداوم زیاد می‌شود. سرعت این افزایش غلظت در عنصر حجم برابر است با حاصل‌ضرب عنصر حجم و تغییر غلظت با گذشت زمان و به بیان ریاضی می‌توان نوشت:

سرعت افزایش غلظت در عنصر حجم برابر است با $(dc/dt)_x = Adx$

با معادل قرار دادن این دو سرعت انباشتگی خواهیم داشت:

$$(\frac{dc}{dt})_x = D(\frac{d^2c}{dx^2})_t \qquad (۲-۹)$$

این معادله به قانون دوم نفوذ فیک معروف است. بر اساس این قانون، در فاصله معین x از مرز شروع، تغییر غلظت با زمان برابر است با حاصل‌ضرب ضریب نفوذ در تغییر شیب غلظت در جهت x در زمان t.

مولکول‌های حلال در مقابل نفوذ مولکول‌های حل‌شونده مقاومت می‌کنند. انشتین پیشنهاد کرد که ضریب نفوذ با ضریب اصطکاک نسبت عکس دارد و به بیان ریاضی:

$$D = (\frac{kT}{f}) \qquad (۳-۹)$$

در این معادله، k ثابت بولتزمن، f ضریب اصطکاک و T دمای مطلق است. در سیستم CGS، واحد ضریب اصطکاک، $\mathrm{dyn.s.cm^{-1}}$ و در سیستم SI، $\mathrm{N.s.m^{-1}}$ است. حاصل‌ضرب ضریب اصطکاک در

[۴] Rate of Accumulation

سرعت مولکول‌های حل‌شونده برابراست با نیروی مقاومت اصطکاکی (بر حسب واحد N یا dyn) که به وسیله حلال بر مولکول‌های حل‌شونده اعمال می‌شود. ضریب اصطکاک بستگی به شکل مولکول‌های حل‌شونده دارد. از بین تمامی اشکال ممکن، شکل کروی مولکول‌های حل‌شونده با کمترین نیروی مقاومت اصطکاکی حلال مواجه خواهد بود. هر چه مولکول گستردگی بیشتری داشته باشد و یا به عبارت دیگر نسبت محوری[۵] آن بزرگتر باشد، ضریب اصطکاک بزرگتر خواهد بود. نسبت محور بزرگ به محور کوچک یک جسم سه بعدی را نسبت محوری آن می‌نامند. ضریب اصطکاک کره را با $f_{\circ}$ نشان می‌دهند.

استوکس[۶] نشان داد که برای یک جسم کروی می‌توان نوشت:

$$f_{\circ} = ۶\pi\eta r \qquad (۴-۹)$$

که در این معادله، η ضریب ویسکوزیته حلال، π عدد پی و r شعاع مولکول حل شونده است.

ضریب نفوذ یک جسم کروی را می‌توان به صورت زیر تعریف کرد:

$$D = (\frac{kT}{۶\pi\eta r}) \qquad (۵-۹)$$

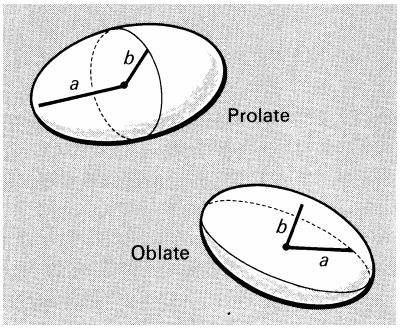
در این معادله، kT معیاری از انرژی جنبشی یا گرمایی مولکول‌های حل‌شونده است (با افزایش دما، ضریب نفوذ افزایش می‌یابد). f یا η نیز معیاری از مقاومت محیط در برابر نفوذ است.

اکثر ماکرومولکول‌های بیولوژیک نه به شکل کروی بلکه به شکل بیضوی[۷] می‌باشند. اجسام سه بعدی بیضوی (کره‌های انحراف یافته) به دو شکل پرولیت[۸] و یا آبلیت[۹] با نسبت‌های محوری مختلف می‌توانند وجود داشته باشند. شکل پرولیت در اثر چرخش یک بیضی[۱۰] حول محور بزرگش در فضا

---

[۵] Axial Ratio
[۶] Stokes
[۷] Ellipsoid
[۸] Prolate
[۹] Oblate
[۱۰] Ellipse

بوجود می‌آید در حالی که شکل آبلیت در اثر چرخش یک بیضی حول محور کوچکش در فضا بوجود می‌آید:



نسبت ضریب اصطکاکی یک شکل فضایی به ضریب اصطکاکی کره $(f / f_{\circ})$ را نسبت اصطکاکی می‌نامند. نسبت اصطکاکی را می‌توان برای تعیین مقدار انحراف شکل یک ماکرومولکول از شکل کروی بکار برد. در جدول (۹-۱) ارتباط بین نسبت محوری و $(f / f_{\circ})$ برای بیضوی‌های مختلف نشان داده شده است:

جدول (۹-۱): ارتباط بین نسبت محوری و نسبت اصطکاکی بیضوی‌های پرولیت و آبلیت.

نسبت محوری	نسبت اصطکاکی(پرولیت)	نسبت اصطکاکی(آبلیت)
۱	۱/۰۰	۱/۰۰
۲	۱/۰۴	۱/۰۴
۳	۱/۱۱	۱/۱۱
۴	۱/۱۸	۱/۱۷
۸	۱/۴۳	۱/۳۷
۵۰	۲/۹۵	۲/۳۸
۸۰	۳/۶۶	۲/۷۷
۱۰۰	۴/۰۷	۲/۹۳

مثال: ضریب نفوذ یک مولکول کروی با شعاع $۱/۵\ \text{A}^\circ$ را در آب $۲۷\ ^\circ\text{C}$ تخمین بزنید.

حل:

$$D = \frac{kT}{۶\pi\eta r}$$

در سیستم CGS:

$$k = ۱/۳۸\times۱۰^{-۱۶}\ \text{erg.K}^{-۱}$$
$$T = ۳۰۰\ \text{K}$$
$$\eta = ۰/۰۱۰۱\ \text{dyn.s.cm}^{-۲}$$
$$r = ۱/۵\times۱۰^{-۸}\ \text{cm}$$

با جاگذاری خواهیم داشت:

$$D = \frac{(۱/۳۸\times۱۰^{-۱۶}\ \text{erg.K}^{-۱})(۳۰۰\ \text{K})}{۶\pi(۰/۰۱۰۱\ \text{dyn.s.cm}^{-۲})(۱/۵\times۱۰^{-۸}\text{cm})} = ۱/۴۶\times۱۰^{-۵}\ \text{erg.dyn}^{-۱}.\text{s}^{-۱}.\text{cm}$$

$$۱\ \text{erg} = ۱\ \text{dyn.cm} \ \Rightarrow\ D = ۱/۴۶\times۱۰^{-۵}\text{cm}^{۲}.\text{s}^{-۱}$$

و در سیستم SI:

$$k = ۱/۳۸\times۱۰^{-۲۳}\ \text{J.K}^{-۱}$$
$$T = ۳۰۰\ \text{K}$$
$$\eta = ۰/۰۰۱۰۱\ \text{N.s.m}^{-۲}$$
$$r = ۱/۵\times۱۰^{-۱۰}\ \text{m}$$

و با جاگذاری خواهیم داشت:

$$D = \frac{(۱/۳۸\times۱۰^{-۲۳}\ \text{J.K}^{-۱})(۳۰۰\text{K})}{۶\pi(۰/۰۰۱۰۱\ \text{N.s.m}^{-۲})(۱/۵\times۱۰^{-۱۰}\text{m})} = ۱/۴۶\times۱۰^{-۹}\ \text{J.N}^{-۱}.\text{s}^{-۱}.\text{m}$$

$$۱\ \text{J} = ۱\ \text{N.m} \ \Rightarrow\ D = ۱/۴۶\times۱۰^{-۹}\ \text{m}^{۲}.\text{s}^{-۱}$$

معادله $D = (kT / 6\pi\eta r)$ را می‌توان برای اندازه‌گیری شعاع یک مولکول اگر ضریب نفوذ و ضریب اصطکاک آن معلوم باشد به کار برد. باید در نظر داشت که قانون استوکس یک عبارت ایده‌آلیزه است. به علاوه، حتی اگر یک مولکول به اندازه کافی متقارن باشد که بتوان شکل آنرا کروی در نظر گرفت، شعاع اندازه‌گیری شده ممکن است با شعاع واقعی مولکول متفاوت باشد زیرا مولکول‌های حلال، مولکول‌های حل‌شونده را حلال‌پوشی می‌کنند و از اینرو شعاع حلال‌پوشیده (هیدراته) مولکول‌ها از شعاع واقعی‌شان بزرگتر است.

۹-۲. مثال‌هایی از کاربرد ضریب نفوذ:

۹-۲-۱. تخمین زدن شکل پروتئین:

الف) پروتئین A دارای وزن مولکولی ۴۰۰۰۰ می‌باشد. ضریب نفوذ این پروتئین در آب $20^{\circ}C$، $9/3 \times 10^{-7}\ cm^2 s^{-1}$ تعیین شده و چگالی آن برابر با $1/33\ g.cm^{-3}$ می‌باشد. ضریب ویسکوزیته آب در این دما، برابر با (۰/۰۱ poise) $0/01\ g.cm^{-1}.s^{-1}$ می‌باشد. شکل این پروتئین را تخمین بزنید.

حل: وزن یک مولکول پروتئین را می‌توان به صورت زیر محاسبه کرد:

$$m = \frac{40000}{6/02 \times 10^{23}} = 6/67 \times 10^{-20}\ g$$

حجم و شعاع یک مولکول پروتئین و همچنین ضریب اصطکاک آنرا با فرض کروی بودن می‌توان با استفاده از اطلاعات داده شده محاسبه نمود:

$$d = \frac{m}{V} \ \Rightarrow\ V = \frac{m}{d} = \frac{(6/67 \times 10^{-20}\ g)}{(1/33\ g.cm^{-3})} = 5 \times 10^{-20}\ cm^3$$

$$V = \frac{4}{3}\pi r^3 \ \Rightarrow\ r = \left(\frac{3V}{4\pi}\right)^{\frac{1}{3}} = \left(\frac{3 \times (5 \times 10^{-20})}{4 \times 3/14}\right)^{\frac{1}{3}} = 2/285 \times 10^{-7}\ cm$$

$$f_0 = 6\pi\eta r = (6) \times (3/14) \times (0/01) \times (2/285 \times 10^{-7}) = 4/31 \times 10^{-8}\ erg.cm^{-2}.s$$

مقدار f را نیز می‌توان از ضریب نفوذ و با استفاده از رابطه انشتین بدست آورد:

$$D=\frac{kT}{f} \quad \Rightarrow \quad f=\frac{kT}{D}=\frac{۱/۳۸\times۱۰^{-۱۶}\text{erg.K}^{-۱}\times۲۹۳\text{K}}{۹/۳\times۱۰^{-۷}\text{cm}^{۲}.\text{s}^{-۱}}=۴/۳۵\times۱۰^{-۸}\text{erg.cm}^{-۲}.\text{s}$$

بنابراین:

$$\frac{f}{f_{\circ}}=\frac{۴/۳۵\times۱۰^{-۸}}{۴/۳۱\times۱۰^{-۸}}=۱/۰۱$$

با توجه به نسبت اصطکاکی می‌توان دید که شکل این پروتئین تفاوت زیادی با شکل کروی ندارد.

ب) مایوزین یک پروتئین عضلانی با وزن مولکولی ۴۹۳۰۰۰ است. چگالی این پروتئین، $۱/۳۷\ \text{g.cm}^{-۳}$ و ضریب نفوذ آن $۱/۱ \times ۱۰^{-۷}\ \text{cm}^{۲}.\text{s}^{-۱}$ می‌باشد. اندازه‌گیری ضریب نفوذ در آب ۲۰°C انجام شده است که در این دما، ضریب ویسکوزیته آب ($۰/۰۱\ \text{g.cm}^{-۱}.\text{s}^{-۱}$) $۰/۰۱$ poise است. این پروتئین چه شکلی دارد؟

حل- با روشی مانند مثال قبلی $f / f_{\circ} = ۳/۶۵$ بدست می‌آید که با مراجعه به جدول ارتباط بین نسبت محوری و نسبت اصطکاکی برای بیضوی‌های پرولیت و آبلیت خواهیم دید که مایوزین یک بیضوی پرولیت است که نسبت محوری آن حدودا ۸۰ می‌باشد.

۹-۲-۲. تعیین آرایش زیرواحدها در هموگلوبین:

هموگلوبین از چهار زیرواحد تشکیل شده است که هر زیرواحد دارای جرم مولکولی ۱۶۱۲۵ می‌باشد. مقدار ضریب نفوذ یک زیر واحد هموگلوبین $۱/۱۳ \times ۱۰^{-۶}\ \text{cm}^{۲}.\text{s}^{-۱}$ است. با محاسبات انجام شده در دو مثال قبلی $f / f_{\circ} = ۱/۱$ تعیین می‌شود و با مراجعه به جدول ارتباط بین نسبت محوری و نسبت اصطکاکی برای بیضوی های پرولیت و آبلیت می بینیم که نسبت محوری هر زیر واحد هموگلوبین حدود ۳ می‌باشد. از طرف دیگر مقدار ضریب نفوذ تترامرهموگلوبین $۶/۹ \times ۱۰^{-۷}\ \text{cm}^{۲}.\text{s}^{-۱}$ تعیین شده است. با محاسبه، نسبت اصطکاکی $(f / f_{\circ})$ برابر با ۱/۱۶ به دست می‌آید و با مراجعه به جدول، نسبت محوری تترامرهموگلوبین حدود ۳/۵ بدست می آید. این نتایج بدان معنی است که

زیرواحدهای هموگلوبین نمی‌توانند بطور خطی در کنار یکدیگر قرار گرفته باشند و آرایشی فشرده دارند. اگر زیرواحدهای هموگلوبین دارای آرایش خطی بودند، نسبت محوری هموگلوبین باید حدود ۱۲ و نسبت اصطکاکی آن حدود ۱/۶ می‌بود.