

Análise *ab initio* do Desenvolvimento de um Gradiente de pH Trans-membrana por Separação Iônica em Eletrólise Aquosa

Nicole Vieira Pires¹ & Vinicius de Alcântara Névoa²
(orientador: Prof. Cristiano Grigório Barbosa³)

Resumo: Em uma eletrólise, há a formação de agentes ácidos (ou básicos) devido à recombinação de espécies iônicas, a qual altera o pH da solução. Contudo, a inserção de uma membrana semipermeável entre o catodo e o anodo frustra essa recombinação e cria um gradiente de pH entre seus lados. Esse fenômeno é de crucial importância em bombas iônicas que frequentemente operam através de membranas celulares (e.g. sinapses neurais), já que elas envolvem a transmissão de íons por um potencial de barreira pelos canais da membrana plasmática, o que afeta o ambiente químico nos arredores de forma noticiável. Propusemos uma análise físico-estatística dos custos energéticos, fenômenos de transporte e potenciais termodinâmicos na barreira para descrever o observado. O experimento consiste numa cuba eletrolítica com eletrodos inertes de grafite e uma solução salina que sofra hidrólise. A cuba é separada com uma membrana de papel e selada para não vazar. O potencial elétrico é acompanhado com um multímetro e o pH com um pHmetro. Vale nota que seringas são utilizadas para não perturbar os frágeis equilíbrios difusivos existentes. Esperamos diferenças de pH da ordem de 3 a 7 após tempos característicos de 20 minutos. A maior porosidade da membrana deve correlacionar com um menor gradiente, ao passo que a dimensão das espécies iônicas deve aumentar junto ao gradiente. Por conclusão, foi modelado, teórica e experimentalmente, o desenvolvimento de um potencial químico transmembrana cujas aplicações em bombas iônicas podem ser experimentalmente simuladas e atestadas.

Palavras Chave: Gradiente de pH. Transporte em membrana. Potenciais químicos. Célula artificial.

Abstract: In electrolysis, acid (or alkaline) agents form due to the recombination of ionic species, which alters the pH of the solution. However, the insertion of a semipermeable membrane between the cathode and the anode frustrates this recombination and creates a pH gradient between its sides. This phenomenon is of crucial importance in ion pumps that often operate through cell membranes (e.g. neural synapses) since they involve the transmission of ions through a barrier potential through the channels of the membrane, which affects the chemical environment noticeably. We proposed statistical physics analysis of energy costs, transport phenomena, and thermodynamic potentials at the barrier to describe the observed phenomena. The experiment consists of an electrolytic vat with inert graphite electrodes and a saline solution that can undergo hydrolysis. The vat is separated in two with a paper membrane, and properly sealed to avoid leaking. The electrical potential is monitored with a multimeter and the pH with a pH meter. It is worth noting that syringes are used not to disturb the fragile diffusive balances that exist. We expect pH differences in the order from 3 to 7 after characteristic times of 20 minutes. The greater porosity of the membrane must correlate with a smaller gradient, while the dimension of the ionic species must increase along with the gradient. In conclusion, it was modeled, theoretically and experimentally, the development of a transmembrane chemical potential whose applications in ion bombs can be experimentally simulated and attested.

Keywords: pH gradient. Membrane transport. Chemical potentials. Artificial cell.

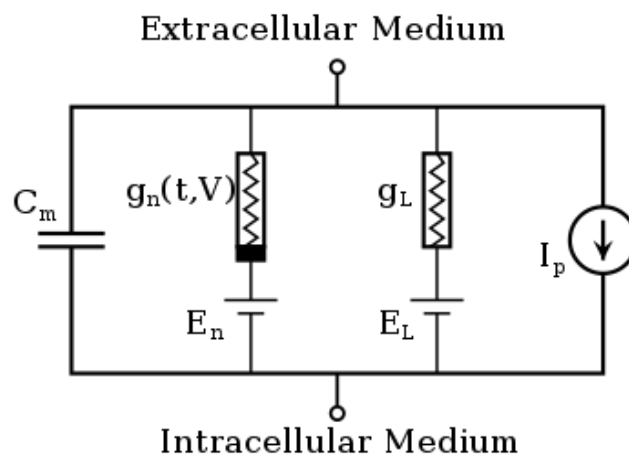
¹. Aluna do 3º. ano do Ensino Médio do Colégio Arena (Goiânia).

². Atualmente em *gap year*, foi aluno do Colégio Arena (Goiânia).

³. Professor do Colégio Arena (Goiânia).

1. Introdução

Ao se estabelecer uma diferença de potencial elétrico em uma solução iônica, essa fonte externa fornece a energia necessária para as reações anteriormente não-espontâneas, de oxidação e redução, desses íons presentes. Naturalmente, em cada polo causador dessa diferença de potencial, haverá uma certa semirreação preferida, aquela da espécie iônica com maior potencial de oxidação/redução. Em um processo eletrolítico regular, o par de semirreações se combina em uma *reação global*, que tem por resultado a formação de uma solução final que é homogênea em suas características físicas, visto que há a livre recombinação e interação dos agentes produzidos no cátodo e no ânodo ao longo de todo o espaço. Surge então uma questão relevante: são muitos os casos em que a região do cátodo é completamente separada da região do ânodo por uma membrana de permeabilidade seletiva, que consequentemente impede a livre recombinação do par de semirreações citadas acima, o que acaba por tornar o meio resultante não homogêneo em suas características físicas, entre elas o pH. Como consequência direta dessa perda de homogeneidade, quaisquer eventos químicos ocorrendo nesse ambiente terão seus equilíbrios deslocados (seja em maior medida devido a eventual participação de espécies comuns à da solução iônica eletrolisada, seja em menor medida devido à mudança do potencial químico do solvente). O exemplo clássico disso são as sinapses neurais elétricas, em que canais iônicos entre o citoplasma de dois neurônios abrem e um pulso elétrico gera um fluxo de íons pelo canal. Em consequência desses sinais elétricos, como no nosso experimento, pode haver acúmulo de H^+ (ou seja, uma mudança de pH), o que exige o fechamento do canal sob perigo de danos às funções celulares. Como a permeabilidade desses canais e a intensidade do pulso elétrico alteram a taxa de aumento do pH? Até que ponto isso limita a velocidade da atividade sináptica elétrica? Para responder a perguntas como essas em um sistema análogo, o escopo dessa pesquisa é no limite de soluções fracas (no nosso caso, número de moléculas de soluto da ordem de 1% a 0,1% do número de moléculas de solvente), sais simples da forma AB (cátion A e ânion B), e tensões da ordem de 5V. A maior restrição dessa pesquisa é sua limitação a membranas homogêneas (sem variados tipos de canais) e passivas (sem mecanismos de ativação que aumentem a permeabilidade mediante transformações da estrutura da membrana). Fazendo referência ao modelo de Hodgkin-Huxley (Hodgkin AL, Huxley AF, 1952) para o potencial transmembrana:



Componentes básicos de modelos do tipo Hodgkin-Huxley, representando as características biofísicas das membranas celulares. Fonte: Wikipédia, Modelo de Hodgkin-Huxley.

Portanto, este estudo visa averiguar a natureza física dos canais passivos (*leak channels*, gl na figura) sob ação de gradiente de potenciais eletroquímicos (El na figura). Ainda é possível identificar no nosso setup a formação de uma camada de Debye, que produz uma capacitância transmembrana (cm na figura), mas ela é desprezível devido às dimensões lineares do nosso sistema. Por fim, nossa membrana passiva não possui uma bomba iônica (Ip na figura), sob penalidade de desenvolver a diferença de pH medida. Conhecendo os sais, os parâmetros físicos do sistema, e a diferença de pH final, podemos extrair informações preciosas sobre a física dos **canais passivos** e a evolução de sua ação ao longo do **tempo**. Vale notar que esses canais passivos são mais complexos que os figurantes nas células, devido à maior espessura do papel permitir uma grande interconectividade entre esses canais.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Simular experimentalmente o desenvolvimento de um potencial químico trans-membrana através de uma análise físico-estatística de seus custos energéticos, fenômenos de transporte e potenciais termodinâmicos.

2.2. Objetivos específicos

- a. Inserir uma membrana semipermeável entre o catodo e anodo da eletrólise
- b. Criar um gradiente de pH entre seus lados
- c. Analisar os saltos na tensão do circuito

3. Metodologia

3.1. Parte teórica

a. Potencial químico

A pedra fundamental em toda teoria de transporte microscópico é o potencial químico. Um grande *ensemble* canônico (aquele que troca energia e partículas com um reservatório de calor) está em equilíbrio quando se iguala à pressão, à temperatura (trivialmente satisfeitas) e ao potencial químico de todos os seus componentes.

Como os eletrodos são inertes, isso de certa forma força os íons da autoionização da água a participarem da reação. Sobre os gases gerados no nosso experimento (normalmente gás hidrogênio e gás cloro), fizemos aberturas na parte superior do recipiente para eles escaparem. Como eles são inertes na reação, vamos também desprezar a parcela dissolvida na solução (formalmente, eles alteram um pouco o potencial químico do solvente apenas, e nos interessa mais o dos solutos).

Ainda assim, encontrar de forma exata o potencial químico de um soluto em uma solução exige, por sinal, conhecer de forma precisa suas interações com o líquido, algo um tanto quanto intratável. Contudo, aqui estamos mais interessados em diferenças de potencial químico, de forma que podemos invocar o caráter multiplicativo da função de partição do sistema da seguinte forma:

$$Z = Z_T \sum e^{-\beta\alpha(P,T,n,N)}$$

Por fim, sabendo que as quantidades termodinâmicas extensivas devem ser lineares em todas as potências de n (mols de soluto) e N (mols de solvente), expandimos em primeira ordem para soluções fracas (a demonstração completa se encontra em *Landau*, 2011):

$$\mu = \mu_0 + KT \ln \frac{C}{C_0}$$

Nota-se que nem todas as igualdades de potencial químico serão satisfeitas através da membrana, visto que algumas espécies não são capazes de atravessá-la. Não há problema: uma energia de natureza elástica tomará conta dessa igualdade termodinâmica, e podemos abandonar esses casos.

b. O movimento em um líquido

Já que estamos armados de expressões para os potenciais químicos em função das concentrações das espécies, nos resta determinar como é o movimento de uma molécula em um líquido, movimento esse que eventualmente a levará a cruzar a membrana.

O movimento em líquidos é de natureza browniana, devido ao teorema flutuação-dissipação: grosseiramente, toda dissipação que gera calor ocorre junto a uma excitação térmica que a mantém quando o sistema estiver próximo de um estado de equilíbrio. Assim, flutuações térmicas nas moléculas são balanceadas por dissipações viscosas (esse mecanismo que gera a correlação local entre moléculas em um líquido que o torna distinto do gás). Mais ainda, as escalas de tempo em que esse balanço de forças atinge o equilíbrio é da ordem de $t = 5$ microssegundos, portanto todas as moléculas estão localmente em equilíbrio nas nossas escalas de tempo. Assim:

$$F_{drift} = -\nabla\mu$$

Essa força de origem termodinâmica tem o potencial químico como energia potencial efetiva, e é balanceada por uma força de arraste da forma:

$$F_{drag} = 6\pi\eta r v$$

Esse par de equações relacionam as concentrações com a velocidade de uma certa partícula. Juntando a isso a equação da continuidade, é possível determinar a concentração ao longo do tempo em função das reações químicas presentes (desde que as constantes de equilíbrio destas sejam conhecidas, claro)

Conhecendo essa constante de difusividade e corrigindo para as diferentes viscosidades percebidas por cada íon — uma vez que eles interagem de forma diferente com seus arredores, chegamos na densidade de fluxo próximo à membrana considerando a velocidade média do *drift* browniano constante e isotrópica (o que rende o fluxo igual a um quarto da densidade vezes a velocidade média, como na teoria cinética de um gás ideal).

c. O efeito do acúmulo de portadores de carga

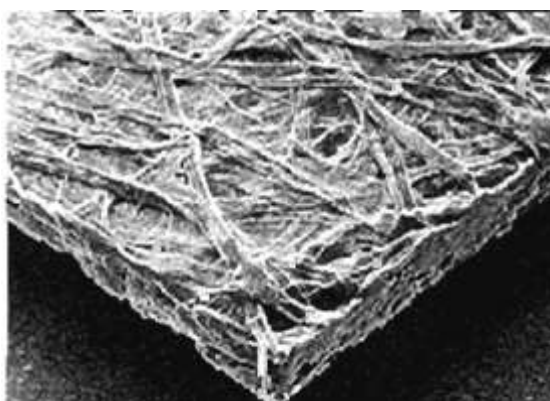
Além desse movimento através da membrana, a continuidade de corrente no circuito leva a outro vínculo entre as concentrações dos dois lados, dessa vez uma relação entre a variação da concentração do elemento oxidado e do reduzido, já que são eles os portadores de carga que fazem a corrente elétrica atravessar a célula eletrolítica. É importante ressaltar o que ocorre caso a membrana impeça o fluxo de espécies para satisfazer esse vínculo em um estado estacionário (eletrolise sem membrana). No caso, haverá um desequilíbrio de cargas entre as duas metades (a solução vai “gastar” íons para satisfazer a continuidade de corrente, já que a membrana não deixa os íons do outro lado virem), que vai gerar um certo campo elétrico interno contrário ao campo da fonte de tensão, algo como uma camada de Debye (DEBYE, 1923).

Essa camada de Debye é um *screening* do campo externo gerado pelo acúmulo de íons nas imediações dos eletrodos (Como o comprimento da câmara é muito maior que o comprimento de Debye, o volume do líquido é sim neutro e não há efeito eletrohidrodinâmico). Ainda que esse acúmulo ocorra apenas nas imediações do eletrodo, ele pode explicar um resultado experimental obtido (tabela 2, autoria própria). Experimentalmente, esse *screening* reduz a tensão medida no eletrodo para cerca de ~3,5V, e quando diminuimos a resistência do potenciômetro para recuperar a tensão padrão de 5V, a tensão medida salta imediatamente para ~8V (um comportamento muito parecido com a curva de um diodo em *forward current*). Hipotetizamos que o aumento da corrente faz com que as bolhas de gás presas ao eletrodo se soltem de uma vez, desfazendo a camada de Debye e retomando a corrente elétrica de uma vez, causando o salto de tensão.

Fizemos essa digressão para tentar explicar um fenômeno experimental recorrente, mas também porque o comportamento desse potencial elétrico é formidavelmente parecido com aquele dos potenciais de ativação das sinapses neurais (*action potentials*), sugerindo que investigações nessa direção podem ser promissoras. Experimentalmente, identificamos a presença de um elemento capacitivo no circuito relacionado a cuba, como detalhado na Tabela 3.

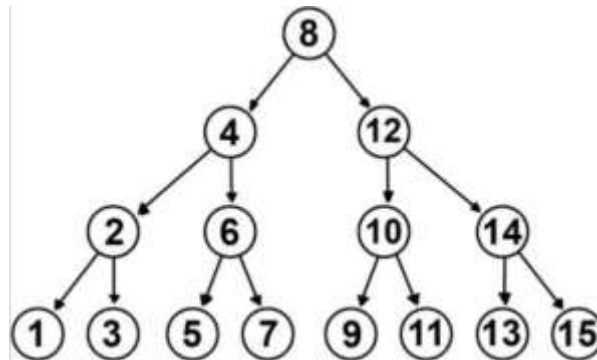
d. O fluxo pela membrana

Embora a estrutura do papel usado como membrana não seja regular, ela é bastante uniforme. Veja como são as fibras sob inspeção de um microscópio:



Uma vez que a membrana estiver encharcada, conjecturamos que não haverá como moléculas se acumularem nessa estrutura fibrosa, visto que não podem ser

absorvidas pela fibra e ao mesmo tempo são constantemente empurradas por outras moléculas. Assim, as fibras se tornam uma grande rede de microcanais. Quando um grupo de moléculas atinge um microcanal na superfície do papel, ele percorre uma rede da forma:



Assumindo que cada canal se bifurca em **b** canais, que a espessura da membrana vale **e**, sua área de superfície vale **A** e sua porosidade (definida como volume vacante/volume total) vale **p**, então sua resistência hidráulica equivalente é, com base em argumentos dimensionais:

$$R_{eq} \sim \frac{\eta_x e^2}{\rho A p b}$$

Identificando a resistência como a razão do potencial motriz pelo fluxo, conseguimos conectar as grandezas na região do anodo com as do cátodo, em uma espécie de condição de contorno na membrana:

$$R_{eq} = \frac{\Delta\mu_x}{Q_x}$$

Então, essa parcela é transmitida e o resto colide e volta para a solução original (essa colisão pode ser com a estrutura do papel ou com moléculas de água que “empacaram” na rede de percolação, uma vez que a água é incompressível).

Dessa forma, podemos obter a evolução temporal das concentrações de cada espécie química em função do tempo à medida que o equilíbrio da reação chega aos seus estágios finais. Experimentalmente, vimos que deixar o circuito ligado por mais de 25 minutos não causava nenhuma diferença mensurável, então tomamos esse tempo como fixo.

Caso esse modelo para a membrana não funcione, é uma opção considerar toda a área da membrana uma fonte de difusão 2D de concentração variável (dada por alguma função simples da concentração real do outro lado da membrana e da porosidade acima) e achar o fluxo de partículas em na posição da membrana. Nossa limitação experimental não nos permite checar essa finura de detalhes, então ficaremos com a primeira hipótese.

3.2. Parte Experimental

Os materiais utilizados foram:

1. Canos PVC 40mm
2. 4 tipos de membrana semipermeável
 - Papel seda
 - Papel A4
 - Membrana de ovo
 - Papel de tabaco
3. Potenciômetro, resistores e fonte de tensão 12V
4. Eletrodos de grafite
5. Multímetro, termômetro e pHmetro.
6. Fita veda-rosca, anéis de borracha
7. Proveta e 2 seringas de 20 mL
8. Amostras dos seguintes sais com Pureza Analítica:
 - Cloreto de bário dihidratado
 - Sulfato de cobre pentahidratado
 - Cloreto de magnésio hexahidratado
 - Cloreto de cálcio dihidratado

Com isso montamos duas unidades: um circuito divisor de tensão com fonte de 12V para controlar a tensão na câmara de eletrólise e a câmara com a membrana propriamente dita. O divisor de tensão consiste na cuba eletrolítica em paralelo com uma resistência de 3000 ohms, que está em série com o potenciômetro e a fonte de 12V.



Fonte: autoria própria, 2020

O procedimento experimental consiste em, primeiramente, preparar 140 mL de uma solução água+sal. Devido à escassez de recursos, usamos uma quantidade fixa em massa de um dado sal de cerca de 15g. Quase todos os sais que usamos são hidratados, mas isso não afeta nada no limite de soluções fracas.

Então, para controle, calibramos o pHmetro com água potável e medimos o pH dessa solução inicial (Tabela 1). Então, colocamos a membrana na junção dos

tubos e vedamos as laterais com fita veda rosca, sempre aplicando uma pressão para manter o recipiente selado. Em sequência, despejamos 70 mL dessa solução em cada câmara através das seringas, para não causar perturbações iniciais grandes (que poderiam fragilizar a membrana ou mesmo causar um descompasso inicial entre a quantidade de líquido em cada lado). Retornamos o êmbolo das seringas e ligamos o circuito divisor de tensão.

A partir desse ponto, cronometramos a duração do processo em 25 minutos corridos e monitoramos a tensão *de facto* entre os eletrodos usando um multímetro na função voltímetro, algo que se provou muito importante na hora de ajustar o potenciômetro durante o procedimento para manter a tensão constante (devido a esse fenômeno, hipotetizamos sobre camada de Debye algumas seções atrás). Após cerca de 25 minutos, desligamos a fonte de tensão e separamos as câmaras, coletando os líquidos de cada metade.

Observação: neste momento, não há problema em perturbar o sistema, já que queremos medir o pH da solução toda, e não somente da parcela próxima à membrana. Por isso, o uso da seringa para coleta não é mais necessário.

Então, transferimos esses dois líquidos para recipientes separados, marcados como *líquido anódico* e *líquido catódico*. Por fim, medimos suas temperaturas e volumes finais (sim, resta mais líquido de um lado do que de outro) para controle, bem como o tão desejado pH. Em todos os experimentos, não foi registrado vazamentos, que seriam bem perceptíveis, e as medidas de pH renderam valores estáveis. O erro da medida do pHmetro é de apenas 0,1.

Para fazer outro experimento, retiramos a membrana e lavamos com água corrente a célula eletrolítica. Para checar se não houve resíduos, colocamos água limpa, agitamos e medimos o pH, até que medimos algo bem próximo de 7.

Sobre a disponibilidade de recursos experimentais de forma geral, a pandemia não nos permitiu usar os laboratórios da escola, tivemos que fazer ciência em casa. Conseguimos pequenas amostras de alguns sais bastante tarde (coisas que limitaram o número de experimentos realizados) e improvisamos o resto, como a cuba eletrolítica e a fonte de tensão, o que diminuiu nosso leque experimental consideravelmente.

4. Resultados Experimentais

Como citado no final da seção anterior, a investigação experimental não pôde contemplar todas as variáveis do sistema (não tivemos condição de fazer um *ceteris paribus* para mais de uma membrana). Por esse mesmo motivo, não faz sentido empregar uma análise estatística nos dados coletados: são muitas variáveis e poucos experimentos. Os resultados, então, serão uma análise dos resultados experimentais à luz dos modelos teóricos propostos.

4.1. Diferença de pH

As diferenças de pH para cada experimento estão tabeladas na Tabela 1 dos anexos. Pode-se perceber que os números seguem o que se esperaria com a semirreação catódica e anódica, mas no caso do cloreto de bário, por exemplo, o papel A4 rende soluções finais mais diferentes, visto que ele tem uma espessura maior.

4.2. Flutuação de tensão

Na Tabela 2, estão explicitados os saltos de tensão observados, que se assemelham a um circuito RC não linear.

De acordo com os dados dessa tabela, usamos o método dos mínimos quadrados para encontrar um valor para a constante de tempo de cerca de 700 segundos.

5. Conclusões

O modelo de dinâmica transmembrana citado na introdução rendeu o Nobel de fisiologia e medicina de 1963 para Alan Hodgkin e Andrew Huxley. Ainda assim, esse modelo é um tanto quanto fenomenológico, e foi notado por FORREST, 2014 que o modelo H-H não admite *fitting* para temperatura. Assim, os métodos físicos aqui expostos, e o tratamento experimental de medir tensão e corrente em um circuito que tem uma célula eletrolítica como elemento visa expandir esse modelo para um viés menos empírico e mais físico. No presente estudo, chegamos a conclusões primariamente qualitativas, por falta de maior estofamento experimental para testar nossas conclusões. Contudo, a observação experimental dos saltos de tensão (vide Tabela 2 nos anexos) foi bem marcante, visto que sugere, em conjunto com a natureza capacitiva exposta na Tabela 3, a presença de um circuito RC não linear. Mais ainda, percebemos pela tabela 2 dos anexos que o salto de tensão e corrente se deu aproximadamente no mesmo intervalo para os três sais testados, mesmo com diferentes papéis, o que sugere um comportamento da natureza iônica da solução, e não da natureza exata de seus componentes.

6. Referências Bibliográficas

Bruus, Henrik. Theoretical microfluidics: **Time-dependent phenomena**. In: Bruus, Henrik. 3. ed. 2006.

Debye, P. & Hückel, E. (1923) The theory of electrolytes. I. Freezing point depression and related phenomenon (Zur Theorie der Elektrolyte. I. Gefrierpunktserniedrigung und verwandte Erscheinungen). Physikalische Zeitschrift. Translated by Michael J. Braus (2019). Archived at MINDS@UW.

Forrest, M. D. (May 2014). "Can the Thermodynamic Hodgkin–Huxley Model of Voltage-Dependent Conductance Extrapolate for Temperature?" (PDF). *Computation*. 2 (2): 47–60. doi:10.3390/computation2020047.

Landau, L. D; Lifshitz, E. M. *Statistical Physics: Solutions*. In: Landau, L. D. v. 5, 2011.

7. Anexos

Tabela 1 - Registros do pH inicial e final para tensão de ~ 5V

Sal e membrana:	pH inicial	pH final anódico	pH final catódico
Cloreto de bário/ Papel seda	8,1	2,5	10,1
Sulfato de cobre/ Papel seda	4,1	3,2	4,1
Cloreto de bário/ Papel A4	8,0	1,5	11,9
Cloreto de cálcio/ Papel de tabaco	6,2	2,1	10,9

Tabela 2- Flutuações de tensão elétrica na célula eletrolítica

Sal e membrana:	Tensão/corrente mínima	Tensão/corrente máxima	Largura da faixa instável
Cloreto de bário/ Papel A4	1,66 V e 0,17 mA	10,10 V e 280 mA	(2,8 a 8,7) V (12 a 150) mA
Sulfato de cobre/ Papel seda	1,41 V e 0,15 mA	11,25 V e 310mA	(2,6 a 8,7) V (12 a 150) mA
Cloreto de bário/ Papel seda	sem dados	sem dados	sem dados
Cloreto de cálcio/ Papel de tabaco	1,61 V e 0,27 mA	10,6 V e 234 mA	(2,8 a 8,7) V (12 a 150) mA

Fonte: autoria própria

Tabela 3 - Característica capacitiva da cuba eletrolítica com Cloreto de Bário e membrana de papel A4 (decaimento da tensão da cuba sem fonte, ao final da eletrólise)

Tempo (segundos)	Tensão elétrica na cuba (volts)
0 s	1,96 V
5 s	1,95 V
20 s	1,91 V
40 s	1,86 V
60 s	1,81 V
80 s	1,75 V
100 s	1,70 V
120 s	1,65 V
180 s	1,54 V

Fonte: autoria própria

Recebido para publicação em 27-10-20; aceito em 08-11-20