



Instituto de Química

Programa de Pós-Graduação em Química

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**DESENVOLVIMENTO DE NOVOS ATIVOS AGRÍCOLAS A
PARTIR DE NANOPARTÍCULAS DE CARBONO**

Arthur Guedes Leitão

Orientador:

Prof. Dr. Brenno Amaro da Silveira Neto

Coorientadora:

Dra. Carime Vitória da Silveira Rodrigues

Brasília, DF

2024



Instituto de Química

Programa de Pós-Graduação em Química

Arthur Guedes Leitão

**DESENVOLVIMENTO DE NOVOS ATIVOS AGRÍCOLAS A
PARTIR DE NANOPARTÍCULAS DE CARBONO**

Dissertação de Mestrado em química
apresentado ao Instituto de Química da
Universidade de Brasília como requisito
parcial para obtenção de título de Mestre
em Química.

Orientador:

Prof. Dr. Brenno Amaro da Silveira Neto

Coorientadora:

Dra. Carime Vitória da Silveira Rodrigues

Brasília, DF

2024

Agradecimentos

Agradeço primeiramente aos meus pais, José e Darlene, por todo o apoio durante minha formação acadêmica e pessoal, pelo incentivo e suporte necessários para que eu pudesse focar no meu projeto.

Agradeço ao Instituto de Química da UnB por proporcionar toda a estrutura necessária para minha pós-graduação, bem como todos os professores que contribuíram para minha formação na universidade. Agradeço aos meus orientadores, Brenno e Carime, pela oportunidade de realizar esse projeto, por me orientarem neste trabalho, dedicarem seu tempo para corrigir e me apoiar. Agradeço também às agências de fomento CAPES, FAPDF, Finep e CNPq por possibilitar a realização deste trabalho.

Agradeço à Krilltech pela oportunidade de trabalhar com seus produtos e poder acompanhar o desenvolvimento de suas tecnologias, recebendo todo o apoio e direcionamento no que começou apenas como um projeto de mestrado e hoje se tornou meu emprego. Agradeço a meus colegas de trabalho, Dra. Hélida, Dr. Rogério, Dra. Lidiane, Dr. Atailson e Me. Pedro pelo auxílio necessário em experimentos realizados, pelas discussões acerca de resultados e por expandir esse trabalho para outras áreas de conhecimento.

Agradeço aos meus companheiros de laboratório por me ajudarem e darem suporte em todas as técnicas laboratoriais necessárias, pelo auxílio no manejo dos experimentos com plantas, na escrita e pesquisa deste trabalho. Agradeço também aos meus amigos que me acompanharam por toda a jornada desde a graduação e que estiveram ao meu lado desde o primeiro semestre até agora.

Resumo

Nanopartículas de carbono foram descobertas em 1985 e ao longo dos anos diversas classes delas foram sintetizadas, como é o caso dos *carbon dots* (Cdots), que são nanopartículas esféricas ou quase esféricas com notáveis características físicas e químicas, como alta luminescência, biocompatibilidade, hidrofiliabilidade e baixa toxicidade. Todas essas características tornaram possível a aplicação de Cdots em diversas áreas, como de bioimageamento, *drug delivery* e bioestimulantes. Este trabalho teve como objetivo sintetizar um Cdot a partir de uma síntese simples e de baixo custo, utilizando matérias-primas renováveis, com potencial para desenvolvimento de ativos agrícolas que gerem efeitos positivos em plantas. Dentre os Cdots sintetizados, o **A50** se destacou devido ao seu desempenho superior quando aplicada em plantas de milho, promovendo aumentos significativos no teor de macro e micronutrientes das folhas. A caracterização da nanopartícula foi realizada através de análises de UV-Vis, fluorescência, FTIR, TOC, TN, além de análises de luminescência ao longo de sua síntese. Para facilitar a determinação de sua concentração, pensando em um futuro escalonamento e controle de qualidade de um produto comercial, foi desenvolvida uma curva que correlaciona a concentração com a densidade. Foram conduzidos estudos de interação com cátions de nutrientes cruciais para as plantas, utilizando o efeito de *quenching* (atenuação) de sua luminescência. Adicionalmente, análises de XPS e TPD foram realizadas para compreender a composição da superfície do **A50**. Testes com microalgas demonstraram resultados positivos de sua aplicação, incluindo aumento na taxa de crescimento, concentração de biomassa, aminoácidos e proteínas, apesar da redução de pigmentos e concentração de amido. Os resultados indicam que o **A50** é promissora para testes em campo, visando o desenvolvimento de um novo produto agrícola a partir de nanopartículas de carbono.

Palavras-chave: Nanotecnologia; Nanopartícula de carbono; *Carbon Dot* (Cdot); Nanobioestimulante; Arbolina®.

Abstract

Carbon nanoparticles were discovered in 1985, and over the years, various classes of them have been synthesized, such as carbon dots (Cdots), which are spherical or quasi spherical nanoparticles with remarkable physical and chemical characteristics, such as high luminescence, biocompatibility, hydrophilicity, and low toxicity. All these characteristics have made it possible to apply Cdots in various fields, such as bioimaging, drug delivery and biostimulants. This work aimed to synthesize a Cdot, through a simple and low-cost synthesis, using renewable raw materials, with the potential to develop agricultural products that generate positive effects in plants. Among the synthesized Cdots, **A50** stood out due to its superior performance when applied to corn plants, promoting significant increases in the content of macro and micronutrients in the leaves. The nanoparticle characterization was performed through UV-Vis, fluorescence, FTIR, TOC, TN analyses, as well as luminescence analyses throughout its synthesis. To facilitate the determination of its concentration, thinking about future scaling and quality control of a commercial product, a curve correlating concentration with density was developed. Studies of interaction with cations of crucial nutrients for plants were conducted, using the quenching effect on their luminescence. Additionally, XPS and TPD analyses were performed to understand the surface composition of **A50**. Tests with microalgae showed positive results from its application, including increased growth rate, biomass concentration, amino acids and proteins, despite the reduction in pigments and starch concentration. The results indicate that **A50** is promising for field testing aiming at the development of a new agricultural product based on carbon nanoparticles.

Keywords: Nanotechnology; Carbon nanoparticles; Carbon Dot (Cdot); Nanobiostimulant; Arbolina®.

Sumário

Resumo	ii
Abstract.....	iii
Lista de Figuras	vi
Lista de Esquemas	viii
Lista de Tabelas	ix
Lista de Anexos	x
Lista de Abreviações	xi
1. Introdução.....	1
1.1. Nanopartículas de Carbono	1
1.2. <i>Carbon Dots</i> (Cdots)	3
1.3. Bioestimulantes vegetais	8
1.4. Ativo agrícola brasileiro produzido a partir de Cdots	10
2. Objetivos.....	12
2.1. Objetivos gerais:	12
2.2. Objetivos específicos:.....	12
3. Materiais e métodos.....	13
3.1. Síntese dos protótipos.....	13
3.2. Espectroscopia de absorção no Ultravioleta-Visível (UV-Vis).....	13
3.3. Cálculo de estimativa de <i>Band Gap</i> a partir do espectro de UV-Vis	13
3.4. Cultivo e aplicação de protótipos em milho	14
3.5. Análise de nutrientes nas folhas	15
3.6. Curva de Densidade.....	15
3.7. Espectroscopia de fluorescência.....	16
3.8. Espectroscopia de absorção no infravermelho (FTIR)	16
3.8. Carbono orgânico total (TOC) e nitrogênio total (TN)	16
3.9. Avaliação de <i>quenching</i> por efeito de concentração	16

3.10. Fotoestabilidade.....	17
3.11. Avaliação de capacidade quelante com potássio.....	17
3.12. Espectroscopia de Fotoelétrons de Raios X (XPS)	17
3.13. Análise de Dessorção com Temperatura Programada (TPD).....	17
3.14. Acompanhamento da Reação	18
3.15. Capacidade quelante com diferentes cátions	18
3.16. Experimento Biológico com Microalgas	18
4. Resultados e discussões	19
4.1. Síntese das Cdots A50 e A30	19
4.2. Espectroscopia de absorção no Ultravioleta-Visível (UV-Vis).....	21
4.3. Teste de aplicação da A30 e A50 em milho	23
4.4. Curva de Densidade.....	25
4.5. Caracterizações da A50	26
4.6. <i>Quenching</i> por concentração	30
4.7. Fotoestabilidade.....	31
4.8. Capacidade quelante com potássio	32
4.9. Capacidade quelante com diferentes cátions	35
4.10. Caracterização da superfície da A50	38
4.11. Acompanhamento da Reação	41
4.12. Experimento Biológico com Microalgas	43
5. Conclusões e perspectivas	47
6. Referências	49
7. Anexos.....	54

Lista de Figuras

Figura 1. Modelo 2D do fulereno [C ₆₀]. Autoria própria.	1
Figura 2. Modelo 3D e 2D de um nanotubo de carbono de parede única. Retirado com permissão da referência 6 (Anexo 1).....	2
Figura 3. Estrutura dos grafenos. Autoria própria.....	2
Figura 4. Estruturas dos GDCs, CQDs e CNDs. Retirado com permissão da referência 12 (Anexo 2).....	3
Figura 5. Fluorescência gerada por Cdots dispersos em água a partir da incidência de luz UV de 366 nm Autoria própria.....	6
Figura 6. Produto comercial Arbolina [®] envasado e rotulado, comercializado pelas empresas Krilltech Nanotecnologia Agro e Casa Bugre. Retirado com permissão da referência 47.	10
Figura 7. Alface crespa cultivada por hidroponia em casa de vegetação. Retirado com permissão da referência 46	11
Figura 8. Produto da síntese da A50 (béquer da direita) e A30 (béquer da esquerda)..	20
Figura 9. Fluorescência da A50 a partir da incidência de luz UV de 366 nm.....	21
Figura 10. Espectros de absorção no UV-Vis da A30 , A50 e Arbolina [®]	22
Figura 11. <i>Band gap</i> estimado da (a) Arbolina [®] , (b) A30 e (c) A50 utilizando o método de Tauc.	22
Figura 12. Teor de macronutrientes nas folhas de cada grupo de comparação entre A30 e A50	24
Figura 13. Teor de micronutrientes nas folhas de cada grupo de comparação entre A30 e A50	24
Figura 14. Curva de densidade da A50	25
Figura 15. Varredura do espectro de fluorescência de emissão da A50	26
Figura 16. Espectro de infravermelho da A50	27
Figura 17. Imageamento HRTEM da A50	28
Figura 18. Histograma de tamanho de partícula da A50	28
Figura 19. Imageamento HRTEM da A50 evidenciando as camadas de grafeno no seu núcleo de carbono.....	29
Figura 20. Representação da estrutura de uma CQD. Autoria própria, baseado na referência 9.	30
Figura 21. Espectros de emissão de fluorescência variando a concentração de A50	31

Figura 22. Intensidade máxima de emissão de fluorescência da A50 em função de sua concentração.	31
Figura 23. Intensidade de emissão com 400 nm da A50 em função do tempo em segundos, de incidência de luz com 320 nm. $[A50] = 300 \text{ mg L}^{-1}$	32
Figura 24. Espectros de emissão de fluorescência variando a concentração de KH_2PO_4 em A50 . *solução saturada com precipitado visível.	33
Figura 25. Gráfico de intensidade de emissão <i>versus</i> concentração de K, com equação exponencial aproximada.	33
Figura 26. Espectros de absorção no UV-Vis da A50 , A50 + KH_2PO_4 e KH_2PO_4	34
Figura 27. Espectro de emissão de fluorescência da A50 variando a temperatura.	35
Figura 28. (a) Espectros de emissão da A50 com diferentes cátions e (b) suas respectivas intensidades de emissão em 400 nm normalizadas.	36
Figura 29. Espectros de absorção no UV-Vis da A50 , (a) A50 + MgSO_4 e MgSO_4 , (b) A50 + ZnSO_4 e ZnSO_4 , (c) A50 + MnSO_4 e MnSO_4 , (d) A50 + $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ e $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, (e) A50 + FeSO_4 e FeSO_4 , (f) A50 + CuSO_4 e CuSO_4	37
Figura 30. Deconvolução dos espectros de XPS de (a) C 1s, (b) O 1s e (c) N 1s da A50	39
Figura 31. Espectros de TPD/MS para m/z 16, 17, 18, 28, 32 e 44.	40
Figura 32. Deconvolução dos espectros de TPD/MS de (a) CO_2 e (b) CO.	41
Figura 33. Espectros de absorção no UV-Vis da A50 ao longo do tempo em sua reação de síntese.	42
Figura 34. Espectros de emissão de fluorescência da A50 ao longo do tempo em sua reação de síntese.	43
Figura 35. Curva de crescimento das microalgas com diferentes doses de A50 , referente a absorbância em função do tempo.	44
Figura 36. Concentração de biomassa de microalgas para cada tratamento com A50	44
Figura 37. Teor de (a) aminoácidos e (b) proteínas por massa seca de microalga para cada tratamento com A50	45
Figura 38. Teor dos pigmentos (a) Clorofila a, (b) Clorofila b e (c) Carotenoides por massa seca de microalga para cada tratamento com A50	46
Figura 39. Teor de amido por massa seca de microalga para cada tratamento com A50	46

Lista de Esquemas

Esquema 1. Exemplificação da síntese de Cdots pelo mecanismo <i>top-down</i> e <i>bottom-up</i> . Esquema de autoria própria, baseado na referência 25.	5
Esquema 2. Mecanismos de emissão das Cdots. Esquema de autoria própria, baseado na referência 11.	7
Esquema 3. Mecanismo de hidrólise da sacarose com catálise ácida. Esquema de autoria própria, baseado na referência 50.	19
Esquema 4. Mecanismo de abertura do anel da glicose sob catálise ácida. Esquema de autoria própria, baseado na referência 51.	20

Lista de Tabelas

Tabela 1. Médias e desvios padrões das massas de cada grupo de plantas.	23
Tabela 2. Análise de carbono e nitrogênio totais da A50	28
Tabela 3. Composição da superfície da A50 e Arbolina [®] , determinada por XPS.....	38

Lista de Anexos

Anexo 1. Permissão para uso de imagem do artigo da revista <i>Composites Part B: Engineering</i> , de título “ <i>On the modeling of carbon nanotubes: A critical review</i> ” concedido pelo <i>Copyright Clearance Center’s RightsLink®</i>	54
Anexo 2. Permissão para uso de imagem do artigo da revista <i>Carbon Trends</i> , de título “ <i>Properties, synthesis, and applications of carbon dots: A review</i> ” concedido pelo <i>Copyright Clearance Center’s RightsLink®</i>	54

Lista de Abreviações

BOD	Demanda bioquímica de oxigênio (<i>biochemical oxygen demand</i>)
Cdot	<i>Carbon-Dot</i>
eV	Elétron-volt
FTIR	Espectrometria de absorção na faixa do infravermelho com transformada de Fourier.
ha	Hectare
HOMO	Orbital ocupado de mais alta energia (<i>Highest Occupied Molecular Orbital</i>)
LUMO	Orbital desocupado de mais baixa energia (<i>Lowest Unoccupied Molecular Orbital</i>)
MP-AES	Espectrômetro de Emissão Atômica com Plasma induzido por Micro-ondas (<i>Microwave Plasma Atomic Emission Spectrometer</i>)
nm	Nanômetro
UV-Vis	Espectrometria de absorção na faixa do ultravioleta-visível
XPS	Espectroscopia de Fotoelétron de Raios X (<i>X-Ray Photoelectron Spectroscopy</i>)
FRET	Transferência de Energia por Ressonância de Förster (<i>Förster Resonance Energy Transfer</i>)
SET	Transferência de Energia da Superfície (<i>Surface Energy Transfer</i>)
IFE	Efeito de Filtro Interno (<i>Inner Filter Effect</i>)

1. Introdução

1.1. Nanopartículas de Carbono

Nanopartículas são materiais cujo tamanho está na escala de 1 a 100 nm em pelo menos uma das dimensões.¹ Em 1985, Smalley e seu grupo fizeram a descoberta do *buckminsterfulereno*, ou fulereno [C_{60}], a primeira nanopartícula de carbono reportada na literatura. O fulereno C_{60} é uma nanomolécula extremamente estável com 1 nm de diâmetro composta por 60 carbonos, com estrutura de um icosaedro truncado não regular de 32 faces, sendo elas 20 hexágonos e 12 pentágonos, com 30 ligações C-C em seus vértices (**Figura 1**). Ele foi formado em sua descoberta a partir da vaporização de grafite com irradiação de laser.^{2,3} A partir do fulereno outras nanopartículas de carbono similares foram descobertas, gerando a classe dos fulerenos, que são nanomoléculas esféricas estáveis constituídas unicamente por átomos de carbono.³ Os fulerenos possuem propriedades físicas, químicas e biológicas notáveis, os tornando objeto de grande interesse e ampla aplicação na eletrônica, energia renovável, em biossensores e na medicina.⁴

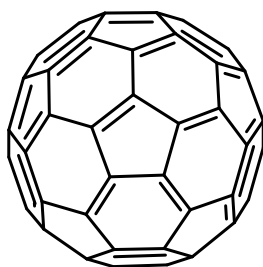


Figura 1. Modelo 2D do fulereno [C_{60}]. Autoria própria.

Logo depois dos fulereno, foram descobertas outras duas classes de nanomateriais de carbono, os nanotubos de carbono e os grafenos.⁴ Os nanotubos de carbono foram descobertos em 1991, sendo formados a partir do método de descarga por arco com eletrodos de grafite.⁵ São tubos de diâmetro nanométrico formados por uma ou múltiplas paredes (ou camadas) de carbonos sp^2 , que se classificam como nanomateriais de carbono unidimensionais, já que se estendem além do nano em apenas uma dimensão (**Figura 2**).⁴

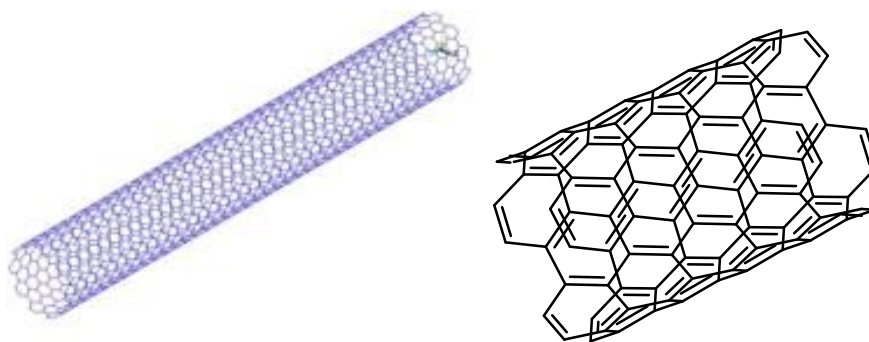


Figura 2. Modelo 3D e 2D de um nanotubo de carbono de parede única. Retirado com permissão da referência 6 (**Anexo 1**).

Já os grafenos foram descobertos em 2004 na tentativa de criar transistores metálicos em escala nanométrica. Foram produzidos a partir da esfoliação mecânica de grafite pirolítico, e se tratam de um nanomaterial de carbono bidimensional, uma única camada de átomos de carbono agrupada em uma estrutura de anel benzeno (**Figura 3**),⁷ com propriedades mecânicas, químicas, elétricas e ópticas únicas.⁴

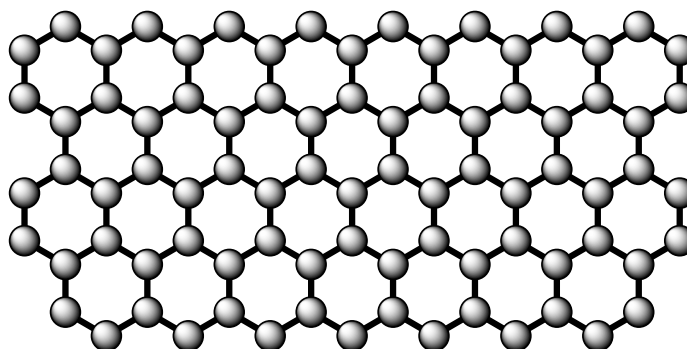


Figura 3. Estrutura dos grafenos. Autoria própria.

Essas nanopartículas se destacam por serem altamente estáveis, possuírem boa condutividade elétrica e térmica, excelentes propriedades mecânicas e alta compatibilidade biológica de baixa toxicidade. Ao longo dos anos, suas respectivas sínteses foram aprimoradas e devido a suas similaridades essas nanopartículas podem ser sintetizadas uma a partir da outra, como no caso do grafeno que pode ser gerado a partir da “abertura” de nanotubos e nanotubos podem ser formados enrolando folhas de grafeno.⁸

1.2. Carbon Dots (Cdots)

O método de síntese de nanotubos de carbono por descarga por arco produz um produto extremamente impuro e seu processo de purificação é complexo. Em 2004, ao tentar purificá-los através de eletroforese, dois outros nanomateriais foram descobertos, sendo um deles um material tubular curto e irregular, e o outro um material extremamente fluorescente que viria a ser conhecido como *Carbon Dot* (Cdot).^{9,10} De acordo com suas características estruturais, os Cdots são classificados como *carbon nanodots* (CNDs), *carbon quantum dots* (CQDs) e *graphene quantum dots* (GQDs) (**Figura 4**).¹¹

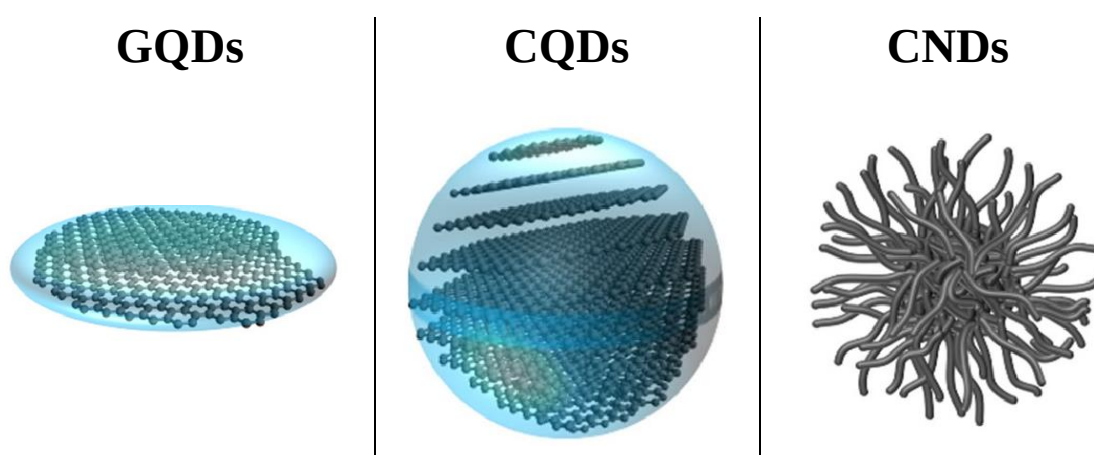


Figura 4. Estruturas dos GDCs, CQDs e CNDs. Retirado com permissão da referência 12 (**Anexo 2**)

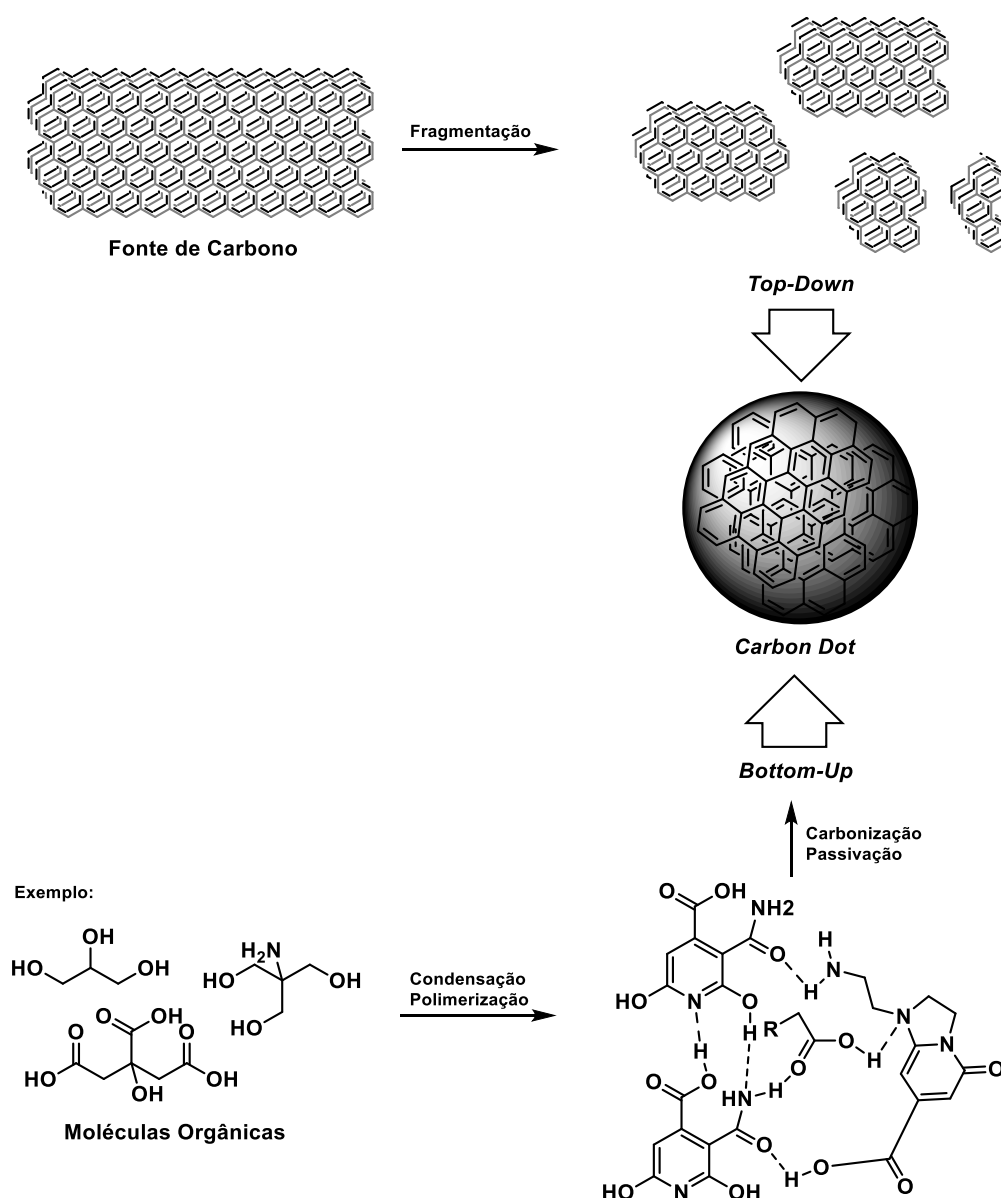
Os CNDs são amorfos, quase esféricos e não possuem confinamento quântico¹³ (fenômeno físico que ocorre partículas confinadas em espaços com dimensões na ordem de nanômetros, alterando suas propriedades físicas e eletrônicas)¹⁴, que também são chamados de *carbon nanoclusters* ou *polymer dots*. Os CQDs são esféricos, com estrutura cristalina e possuem confinamento quântico. Já os GQDs também possuem estrutura cristalina e confinamento quântico, mas não são esféricos, e sim formados por uma única camada π -conjugada.¹¹

A síntese de Cdots pode ser realizada a partir de diferentes metodologias, como hidrotermal, solvotérmica, eletroquímica, descarga por arco, ablação por laser, feixe de elétrons e pirólise. A maioria dos métodos requer diversas etapas, reagentes de alto custo e tratamentos pós síntese. Por isso, métodos como o hidrotermal se sobressaem

por serem realizados em menos etapas e utilizarem reagentes de baixo custo e de baixa ou nenhuma toxicidade, apesar de necessitarem de aquecimento e um grande tempo de reação.⁹ Por conta disso, métodos de síntese sustentáveis e de acordo com os princípios da química verde se mostram importantes para aprimorar a produção desses nanomateriais. Utilizando materiais de partida renováveis e atóxicos combinados a técnicas com baixo custo que geram produtos com alto rendimento quântico e solubilidade em água, a síntese de “Cdots verdes” se torna um excelente objeto de estudo no ramo dos nanomateriais.¹⁵

A síntese de Cdots é dividida em duas categorias de mecanismos, que são *top-down* e *bottom-up* (**Esquema 1**). O método *top-down* consiste em quebrar e fragmentar materiais de carbono maiores ou de formato laminar, como grafite, carboidratos, carbonos amorfos, fibras de carbono, nanotubos ou fulerenos. Essa fragmentação pode ocorrer por métodos químicos (eletroquímica, ácidos fortes ou agentes oxidantes) ou físicos (hidrotermal ou solvotérmico) para quebrar as ligações entre os átomos de carbono da matéria-prima.^{13,16,17} Sínteses *top-down* costumam ser mais complexas e longas, apesar da alta pureza de seu produto,¹⁷ e não é comum serem utilizadas em metodologias sustentáveis e “verdes” por conta de sua limitação de matéria-prima.¹⁸

O método *bottom-up* possui o mecanismo contrário, que consiste na carbonização ou pirólise de moléculas pequenas de matéria-prima, que passam por estágios de condensação, polimerização, carbonização e passivação^{13,16,17} (isolamento do Cdot de impurezas através da formação de uma fina camada protetora).¹⁹ A matéria-prima mais comum nessa síntese é a mistura de ácido cítrico e uma molécula nitrogenada, que ao sofrerem pirólise por micro-ondas ou autoclave geram Cdots altamente solúveis em água e fluorescentes.¹⁶ A síntese *bottom-up*, diferente da *top-down*, possui uma variedade de matérias-primas extremamente vasta, utilizando derivados de frutas como suco de laranja²⁰ e de banana²¹, vegetais como repolho²², derivados de animais como o leite²³, derivados humanos como fibras de cabelo²⁴ e muitos outros.⁹



Esquema 1. Exemplificação da síntese de Cdots pelo mecanismo *top-down* e *bottom-up*. Esquema de autoria própria, baseado na referência 25.

Uma característica importante dos Cdots é sua fotoluminescência (**Figura 5**), cujo mecanismo ainda é amplamente debatido. No entanto, há teorias consistentes que propõem três possíveis mecanismos para explicá-la (**Esquema 2**). O principal deles se trata da emissão por transição HOMO-LUMO,¹¹ na qual, ao absorver energia, um elétron do HOMO seria excitado para o LUMO e, ao retornar ao HOMO, emitiria fótons de energia equivalente à energia absorvida.²⁶ No caso de Cdots, como as CQDs, por serem partículas com tamanhos menores do que o raio de Bohr, apresentam

características relacionadas ao efeito de confinamento quântico. Então, ao absorverem um fóton com energia superior à energia de seu *bandgap* (diferença energética entre a banda de condução e a banda de valência), um elétron da banda de valência se desloca para a banda de condução e, ao se recombinar com a banda de valência, emite um fóton.²⁷ Essa emissão depende do tamanho da partícula, o que resulta em espectros heterogêneos por conta da distribuição de tamanhos da partícula. Outra característica é a independência da excitação, já que independentemente do comprimento de onda de excitação, seu comprimento de onda de máxima emissão se mantém inalterado.¹¹

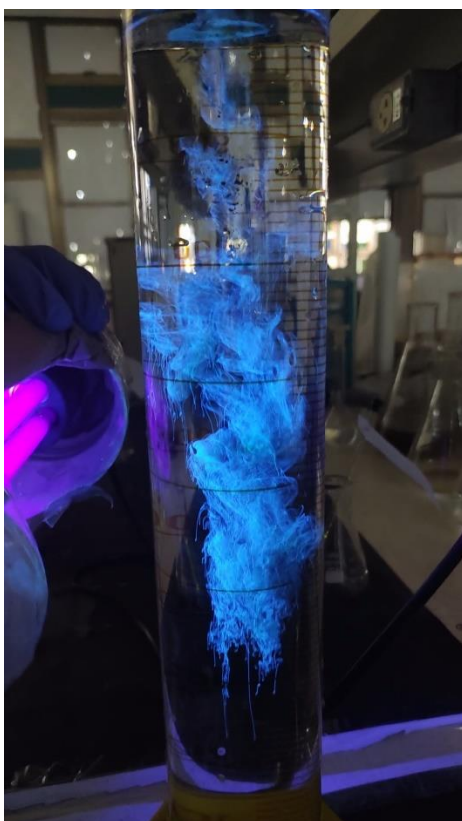
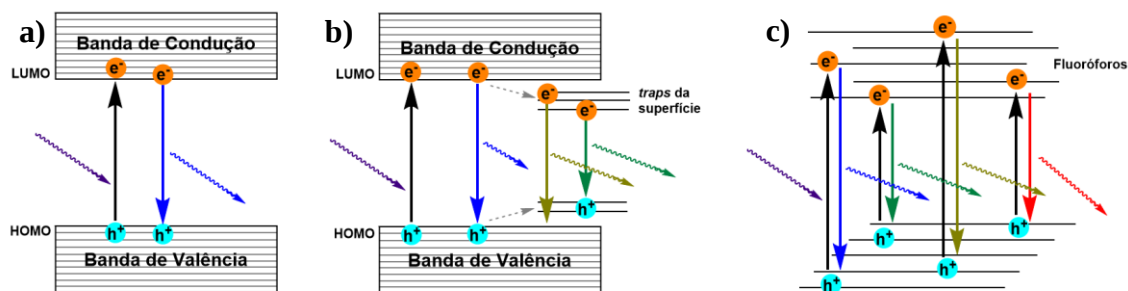


Figura 5. Fluorescência gerada por Cdots dispersos em água a partir da incidência de luz UV de 366 nm
Autoria própria.

Outro mecanismo de luminescência aceito acontece a partir da presença de *traps* (armadilhas) no *bandgap*, por conta da presença de grupos funcionais na superfície do Cdot, impurezas ou até moléculas adsorvidas. Esses *traps* fariam com que os elétrons excitados para a banda de condução se recombinassem com eles antes de retornarem à banda de valência e emitirem o fóton, fazendo com que sua energia de emissão seja menor. Por conta desse efeito, Cdots poderiam ter sua emissão dependente da excitação, fazendo com que diferentes comprimentos de onda de excitação variem o comprimento

de onda de emissão, além da emissão não só depender do tamanho da partícula, mas também dos grupos funcionais de sua superfície.¹¹

O terceiro principal mecanismo de luminescência se trata da emissão originada de fluoróforos presentes nos grupos funcionais da superfície do Cdot, presentes tanto em Cdots com confinamento quântico, quanto nos que não o possuem.¹¹



Esquema 2. Mecanismos de emissão dos Cdots. Esquema de autoria própria, baseado na referência 11.

A maioria dos Cdots possui ótima dispersão em água, por conta da presença de grupos funcionais com oxigênio em sua superfície, o que facilita o preparo de suspensões e a aplicação de Cdots em meios aquosos. Apesar disso é possível produzir Cdots hidrofóbicos utilizando matérias-primas com propriedades hidrofóbicas. Possuem sinais de absorção na região do UV, com uma cauda que se estende até a região do visível.²⁸

Dentro da área de biossensores e bioimageamento, os Cdots com alta luminescência e biocompatibilidade passaram a ser alvo de estudos e possuem crescentes aplicações.²⁸ Se destacam por possuírem longa vida útil, alta estabilidade e baixa toxicidade, diferente de muitos materiais fluorescentes tradicionais.²⁹ Uma de suas aplicações é na detecção de Hg^{2+} e tióis biológicos, já que o Hg^{2+} se coordena com Cdots, reestruturando seus elétrons e vacâncias, produzindo assim um efeito de *quenching* (atenuação da intensidade de emissão de fluorescência) de sua luminescência, enquanto os tióis se coordenam muito fortemente com o Hg^{2+} , “desconectando-o” do Cdot, que passa a fluorescer novamente. Por conta de seu tamanho e propriedades, Cdots são capazes de atravessar a membrana plasmática de células e então podem ser utilizadas para imageamento, inclusive para reconhecimento

de células de câncer.³⁰ Outro uso interessante de Cdots é para rastrear Cu^{2+} no cérebro de ratos, a partir de uma engenharia de superfície focada para a criação de um Cdot que fosse seletivo para interação com Cu^{2+} , demonstrando a versatilidade dos Cdots ao se modificar sua superfície para diferentes aplicações.³¹

A interação de Cdots de forma seletiva também demonstra grande potencial no campo de *drug delivery*, sendo capaz de aumentar a capacidade de fármacos penetrarem em células alvo. Existem, na literatura, estudos de aplicação com antibióticos contra fungos, bactérias e vírus,³² e até em tratamentos de câncer cerebral, aprimorando o tratamento com certos medicamentos.³³

Além de penetrarem em células humanas ou de animais, os Cdots também podem desenvolver esse papel em células vegetais, abrindo ainda mais o espectro de suas aplicações. A engenharia de superfície de Cdots torna promissora também a sua aplicação como bioestimulantes dentro da agricultura.

1.3. Bioestimulantes vegetais

De acordo com o *European Biostimulant Industry Council*, um bioestimulante vegetal é um produto com substâncias e/ou micro-organismos que, quando aplicados em plantas ou na rizosfera (região de contato entre as raízes da planta e o solo), estimula processos naturais, melhorando a absorção e a eficiência de nutrientes, aumentando a tolerância ao estresse e, dessa forma, a qualidade da colheita.³⁴ O termo bioestimulante não é contemplado pela legislação brasileira, então produtos que se encaixam na categoria são classificados como biofertilizantes, de acordo com o Decreto nº. 4.954/2004, contanto que tenha um princípio ativo ou agente orgânico isento de substâncias agrotóxicas.³⁵

A antiga abordagem utilizada na pesquisa e na agricultura era simplesmente de aumentar a produtividade da colheita, sem dar atenção para a qualidade da produção ou para qualquer tipo de impacto ambiental, utilizando quantidades excessivas de fertilizantes e pesticidas. Esse tipo de prática pode não só impactar negativamente no cultivo, mas também no ambiente, contaminando o solo e suas redondezas.³⁶ Nos últimos anos, isso tem mudado, com pesquisas dando atenção para a qualidade da produção e para um sistema de cultivo mais sustentável, diminuindo o uso e/ou encontrando soluções alternativas para ativos agrícolas que possam trazer impactos

negativos para o campo, fazendo com que bioestimulantes vegetais se tornem um importante alvo de estudos dentro do mercado agrícola.³⁶

Dentre os principais bioestimulantes vegetais desenvolvidos, estão os hidrolisados de proteínas, extratos de algas, substâncias húmicas, materiais pirogênicos (composto de carbono orgânico criado a partir do aquecimento de biomassa a altas temperaturas com nenhuma ou baixa concentração de oxigênio, também conhecido como *biochar*),³⁷ rizobactérias e micorriza.³⁸ Hidrolisados de proteínas são misturas contendo polipeptídios, oligopeptídeos e aminoácidos, sintetizados a partir da hidrólise parcial de proteínas utilizando ácidos, bases ou enzimas.³⁹ Eles atuam aumentando atividade hormonal, absorção de nutrientes e metabolismo de carbono e nitrogênio. São capazes de melhorar a adaptação de estresse das plantas, regulando a expressão de genes responsáveis pelo transporte de nutrientes na planta, por sinalizar e metabolizar espécies oxigenadas, sinalizar patógenos para ativar defesas, além de ações antioxidantes e reguladoras de crescimento.³⁸

Os extratos de alga são utilizados, por exemplo, em viticultura (produção de uva), para estimular o crescimento vegetativo e radicular, e aumentar a vitalidade das plantas através da modulação de processos químicos importantes para o crescimento e reprodução, assim aumentando a produtividade e qualidade do fruto em situações com ou sem estresse.^{38,40} As substâncias húmicas, que podem ser utilizadas na forma de ácidos húmicos ou ácidos fúlvicos, são capazes de ativar a membrana plasmática H⁺-ATPase e alterar o metabolismo primário e secundário, promovendo o aumento da absorção de nutrientes, crescimento de raízes e taxa de fotossíntese, além da diminuição de estresse oriundo de salinidade, seca e/ou intoxicação metálica.³⁸

Apesar de seus inúmeros benefícios, os bioestimulantes comuns possuem limitações, como seu curto período de atuação, a possibilidade de poluição do solo e ambientes próximos a depender de sua composição e forma de uso, e o fato de que é verdadeiramente efetivo apenas em condições de estresse da planta, sendo pouco impactantes em condições ideais.^{41,42}

Neste cenário, a utilização de nanomateriais no desenvolvimento de novos bioestimulantes é capaz de ampliar a contribuição para solucionar os problemas da agricultura sustentável com produtos mais eficientes e com menor impacto ambiental.⁴¹

1.4. Ativo agrícola brasileiro produzido a partir de Cdots

Desde 2011, pesquisadores da Universidade de Brasília (UnB) realizam estudos na engenharia de superfície de Cdots. Nanopartículas sintetizadas a partir de esterco de vaca foram aplicadas no imageamento de células de câncer de mama, na detecção de glicose e como potencial agente de imunoterapia para melanoma.^{43,44} Cdots também foram sintetizados a partir de resíduos da indústria cervejeira, onde diferentes metodologias de síntese foram estudadas, além da influência do pH e da temperatura em suas propriedades ópticas, culminando na aplicação no imageamento de células de câncer de mama, com marcação do citoplasma e núcleo.⁴⁵

Ao realizar experimentos com Cdots aplicadas na agricultura, com o objetivo de aumentar a performance de plantas, em 2019, uma das Cdots desenvolvidas pelo grupo foi comercializada a partir da fundação da empresa Krilltech Nanotecnologia Agro. A empresa em parceria com a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) e a UnB, lançou no mercado o seu primeiro produto, o nanofertilizante Arbolina® (Figura 6).⁴⁶



Figura 6. Produto comercial Arbolina® envasado e rotulado, comercializado pelas empresas Krilltech Nanotecnologia Agro e Casa Bugre. Retirado com permissão da referência 47.

A Arbolina®, de acordo com a legislação brasileira, é um biofertilizante composto por Cdots dispersos em água, que ao ser aplicado de maneira foliar nas plantas resulta em melhorias fisiológicas que geram diversos efeitos positivos para a agricultura, como aumento de teor de clorofila, aumento de tolerância a estresse climático e hídrico, aumento de absorção de macro e micronutrientes, ativação de ciclos enzimáticos e rotas metabólicas. Todos esses efeitos resultam no aumento de produtividade e na melhora da qualidade da produção em diversas culturas já testadas,

como soja, tomate, feijão, trigo, morango e hortaliças. Além dos benefícios à planta, a Arbolina® se destaca por ser atóxica, biodegradável e não bioacumulativa.

Em um estudo de 2023, realizado na Universidade de Brasília, testando diferentes concentrações de Arbolina® no cultivo de alface (**Figura 7**) pela técnica de hidroponia (cultivo de plantas direto em uma solução nutritiva ao invés do solo),^{46,48} os resultados da aplicação da Arbolina® em relação ao controle demonstraram melhorias em diversos parâmetros. Entre eles estão: aumento de 43% de massa foliar seca, aumento de 30% na massa radicular seca e aumento de 21% no número de folhas, com uma concentração de apenas 71,93 mg L⁻¹ da nanopartícula.⁴⁶



Figura 7. Alface crespa cultivada por hidroponia em casa de vegetação. Retirado com permissão da referência 46

Em 2024, um artigo foi publicado na revista *Caatinga* testando diferentes doses de Arbolina® com diferentes aplicações e tipos de irrigação em meloeiro amarelo. O método de aplicação por pulverização foliar foi o que apresentou os melhores resultados junto a irrigação de 100% da evapotranspiração da cultura. A aplicação de Arbolina® resultou no aumento de concentração de clorofila A e B, uma diminuição na concentração de amido (devido a produção de novos açúcares para melhor desenvolvimento do fruto) e um aumento de mais de 70% na produtividade com uma dose de 0,446 L ha⁻¹.⁴⁹

Dentro desse cenário, produtos agrícolas baseados em nanotecnologia de carbono, como a Arbolina®, representam uma excelente alternativa para evolução da agricultura. No entanto, a aplicação comercial de Cdots na agricultura ainda está em

seus primeiros passos. Para que a indústria evolua, devem surgir novos produtos baseados nessa tecnologia, os quais não apenas melhorarão os resultados, mas também reduzirão os custos e facilitarão a produção em larga escala, que tem sido um dos grandes gargalos da nanotecnologia de carbono.

2. Objetivos

2.1. Objetivos gerais:

Desenvolver uma nanopartícula de carbono para uso agrícola utilizando uma síntese eficiente, que tenha baixa toxicidade e alto rendimento, com capacidade de produção em escala industrial.

2.2. Objetivos específicos:

- Sintetizar um Cdot com reagentes renováveis;
- Caracterizar o Cdot através de análises espectroscópicas e de imageamento. (UV-Vis, FTIR, fluorescência, XPS e HRTEM);
- Quantificar o Cdot por densidade;
- Avaliar o efeito do Cdot no cultivo de plantas;
- Comparar características e resultados com o produto Arbolina[®].

3. Materiais e métodos

3.1. Síntese dos protótipos

A síntese das nanopartículas foi realizada em béqueres de 250 mL, aos quais foram adicionados água destilada, ureia, ácido cítrico e sacarose em diferentes proporções. As reações foram conduzidas por meio de aquecimento em chapa aquecedora, sob diferentes temperaturas. Ao término das reações, a densidade dos produtos foi medida utilizando um picnômetro, e então adicionou-se água destilada para ajustar a densidade para 1,19 g mL⁻¹. Para avaliar a formação do Cd²⁺, uma pequena alíquota dos produtos foi diluída em água destilada e submetida a luz UV de 366 nm para detectar a presença de fluorescência. Dois protótipos foram selecionados e denominados **A30** e **A50**.

3.2. Espectroscopia de absorção no Ultravioleta-Visível (UV-Vis)

Os espectros de absorção no UV-Vis foram obtidos utilizando um espectrômetro de absorção da marca Varian, modelo Cary 5000. As medidas de absorção foram realizadas na faixa de 200 a 800 nm, com amostras diluídas 10.000 vezes.

3.3. Cálculo de estimativa de *Band Gap* a partir do espectro de UV-Vis

O cálculo estimativo do *band gap* foi realizado a partir do espectro de absorção no UV-Vis, utilizando o método de Tauc. Inicialmente, procedeu-se conversão do comprimento de onda para energia do fóton utilizando a equação 1.

$$E = \frac{hc}{\lambda} \quad (1)$$

Onde:

E = energia do fóton (eV)

h = constante de Plank (J s)

c = velocidade da luz (m s⁻¹)

λ = comprimento de onda (nm)

Depois disso, foi preciso calcular o coeficiente de absorção α através da equação 2.

$$\alpha = 2,302 * A \quad (2)$$

Onde:

α = coeficiente de absorção (cm^{-1})

A = absorbância

Depois de calcular E e α , é necessário plotar um gráfico de $(\alpha h\nu)^n$ versus $h\nu$, onde:

$$h\nu = E$$

$n = 2$ (transição direta permitida)

$n = \frac{2}{3}$ (transição direta não permitida)

$n = \frac{1}{2}$ (transição indireta permitida)

$n = \frac{1}{3}$ (transição indireta não permitida)

Quando a transição da absorção é desconhecida, é necessário plotar todos os gráficos e identificar aquele que apresenta maior linearidade. Durante a plotagem, deve-se realizar a extrapolação das regiões da cauda exponencial e determinar a energia E no ponto de intersecção.

3.4. Cultivo e aplicação de protótipos em milho

Sementes de milho híbrido BM3051 foram colocadas para germinar em caixas gerbox, em papel filtro umedecido com água destilada e mantidas no escuro por três dias. Após a germinação, 30 sementes que apresentavam germinação avançada e uniformidade foram selecionadas. Estas sementes foram plantadas em vasos de 500 mL contendo areia, que havia sido previamente lavada com HCl. Para fornecer nutrientes, 30 mL da solução nutritiva de Hoagland foram aplicados em cada vaso. Durante o experimento,

que teve duração de três semanas, as plantas foram mantidas em uma incubadora BOD configurada para 26 °C durante o dia e 22 °C à noite, com um fotoperíodo de 12 horas. A aplicação diária de 30 mL da solução de Hoagland foi realizada, e os vasos de plantas tiveram sua disposição dentro da BOD variada para equalizar as condições durante o crescimento.

Após uma semana de experimento, as plantas foram divididas em três grupos de 10, sendo um para aplicação de **A30**, outro para **A50** e um grupo controle. A aplicação foliar das nanopartículas foi realizada utilizando um spray. Para ambas as nanopartículas, a dose aplicada foi de 2 mg por planta. Uma segunda aplicação foi realizada na segunda semana. O experimento foi concluído após três semanas, quando todas as plantas foram coletadas e pesadas, separadamente avaliando a massa da planta inteira, da parte radicular e foliar. Posteriormente, as plantas foram colocadas em uma estufa a 50 °C por 24 horas para determinação das massas secas.

3.5. Análise de nutrientes nas folhas

As folhas saudáveis de cada grupo foram extraídas, trituradas e maceradas. Aproximadamente 50 mg de folhas de cada grupo foram pesadas e digeridas utilizando 1,2 mL de solução piranha (solução composta por três partes de ácido sulfúrico e uma parte de peróxido de hidrogênio) para eliminar toda a matéria orgânica. As soluções resultantes foram diluídas em água destilada e analisadas utilizando um espectrômetro de emissão atômica de plasma acoplado com micro-ondas (MP-AES) modelo Agilent 4200. Essa análise possibilitou a determinação das concentrações de fósforo, potássio, cálcio, magnésio, ferro, manganês, zinco e boro, permitindo a comparação dos nutrientes entre os grupos.

3.6. Curva de Densidade

Para a curva de densidade, a nanopartícula foi seca em estufa e sob ultravácuo. Posteriormente, foram preparadas soluções de 300, 350, 400, 450 e 500 g mL⁻¹ de nanopartícula, as quais foram submetidas a medição em um densímetro de bancada da marca Anton Paar, modelo DMA 4500 M. Os resultados de densidade foram plotados

em um gráfico de concentração *versus* densidade utilizando o software OriginPro 8.5, para determinar a equação da reta correspondente.

3.7. Espectroscopia de fluorescência

Os espectros de fluorescência foram obtidos utilizando um espectrofluorímetro da marca Horiba, modelo Fluorolog, equipado com uma lâmpada de Xenônio-450W, modelo UXL-450SO. A amostra foi preparada com uma diluição de 10.000 vezes em água destilada. Os espectros de emissão foram adquiridos sob excitações de comprimentos de onda entre 250 e 400 nm. Para os espectros de excitação, o comprimento de onda de emissão foi fixado em 400 nm. Em todas as medições, as fendas (*slits*) da fonte e do detector foram fixadas em 2,5 nm.

3.8. Espectroscopia de absorção no infravermelho (FTIR)

Os espectros de absorção no infravermelho foram adquiridos utilizando um Espectrômetro de Infravermelho com transformada de Fourier da marca Varian, modelo 640. As amostras foram preparadas em pastilhas de KBr, e a faixa de número de onda analisada variou de 4000 a 400 cm^{-1} .

3.8. Carbono orgânico total (TOC) e nitrogênio total (TN)

O carbono orgânico e nitrogênio totais foram determinados utilizando um analisador de carbono total da marca AnalytkJena, modelo Multi N/C 3100. As amostras foram diluídas para se adequar ao limite de detecção do equipamento, com o cálculo baseado na quantidade de carbono e nitrogênio presentes nos reagentes.

3.9. Avaliação de *quenching* por efeito de concentração

Para avaliar o *quenching* por efeito de concentração, foram preparadas amostras com concentrações variando de 20 e 500 mg L^{-1} . Essas amostras foram submetidas ao espectrofluorímetro para obtenção do espectro de emissão de cada concentração e para comparar as respectivas intensidades de emissão.

3.10. Fotoestabilidade

A fotoestabilidade foi determinada utilizando um espectrofluorímetro. Uma amostra com concentração de 300 mg L^{-1} foi submetida a um acompanhamento de emissão por 24 horas. A excitação foi realizada com uma lâmpada de xenônio de 450 W e comprimento de onda de 320 nm, enquanto a emissão medida em 400 nm.

3.11. Avaliação de capacidade quelante com potássio

Para determinar a capacidade quelante com o potássio foram preparadas amostras com concentração fixa da nanopartícula (50 mg L^{-1}) e concentrações variadas de fosfato de potássio (KH_2PO_4), de 25 a 250 g L^{-1} . As soluções foram submetidas ao espectrofluorímetro para obter o espectro de emissão de cada concentração e comparar suas respectivas intensidades de emissão.

3.12. Espectroscopia de Fotoelétrons de Raios X (XPS)

Para determinar a composição da superfície da nanopartícula **A50**, utilizou-se o espectrômetro SPECS Sage HR 100 sob alto vácuo, excitação por Mg K ($1253,6 \text{ eV}$) operando a 250 W. A deconvolução dos espectros foi realizada utilizando o software CasaXPS.

3.13. Análise de Dessorção com Temperatura Programada (TPD)

A composição da superfície da nanopartícula **A50** também foi analisada por dessorção com temperatura programada acoplada à espectrometria de massas (TPD/MS). O processo foi conduzido em um sistema automatizado modelo AMI-90R da marca Altamira Instruments. Cerca de 50 mg da amostra foi colocada em um tubo em U de quartzo sob fluxo de argônio de $10 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$ à pressão atmosférica e aquecida até 110°C , mantida por 1 hora para evaporação da água residual. Posteriormente, foi aquecida a uma taxa de $10^\circ\text{C min}^{-1}$ até 950°C . Os gases liberados foram continuamente detectados por um espectrômetro de massas (quadrupolo) modelo Dymaxion da marca Ametek, analisando razões massa/carga (m/z) previamente selecionadas.

3.14. Acompanhamento da Reação

Para entender melhor a reação de síntese da **A50**, foi realizado seu acompanhamento ao longo do tempo, retirando alíquotas de 5 em 5 minutos e, a partir dessas alíquotas, foram geradas amostras para análise de seus espectros de absorção e emissão.

3.15. Capacidade quelante com diferentes cátions

Para determinar a interação da **A50** com diferentes nutrientes, foram preparadas amostras com uma concentração fixa da nanopartícula e diferentes cátions de nutrientes com concentração de 1 mol L^{-1} . Os sais utilizados para obter esses cátions foram sulfato de magnésio (MgSO_4), fosfato de potássio (KH_2PO_4), nitrato de cálcio ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$), sulfato de manganês (MnSO_4), sulfato férrico (FeSO_4), sulfato de cobre (CuSO_4) e sulfato de zinco (ZnSO_4). Essas soluções foram analisadas em um espectrofluorímetro para obter os espectros de emissão e comparar as intensidades de emissão e o efeito de *quenching* de cada uma.

.

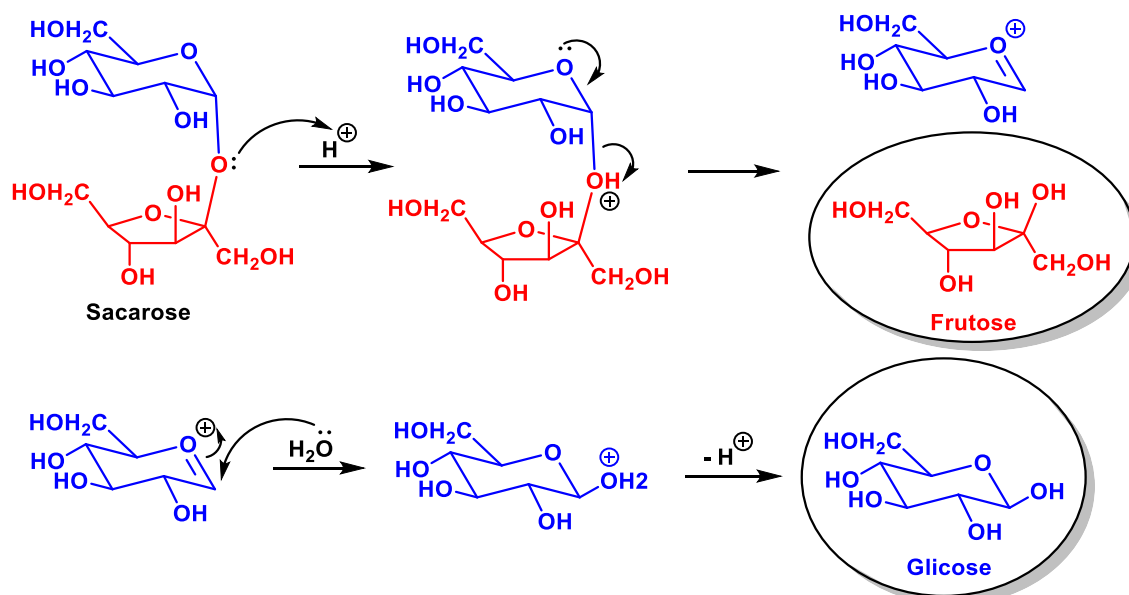
3.16. Experimento Biológico com Microalgas

Para determinar os efeitos da **A50** em plantas, realizou-se um experimento com a cultura de microalgas *Chlamydomonas reinhardtii* CC503. A cultura foi mantida a uma concentração de 1 mL L^{-1} , em temperatura de 24°C , com um fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas no escuro, com irradiância de $100 \mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, sob agitação contínua de 110 rpm. A concentração inicial do inóculo foi de $1,0 \times 10^{-6} \text{ células mL}^{-1}$, com o pH ajustado para 7,0 usando soluções de HCl ou NaOH. Foram avaliadas três doses da nanopartícula (0,1, 0,2 e $0,4 \mu\text{L mL}^{-1}$). Os parâmetros avaliados incluíram a curva de crescimento, biomassa, pigmentos (clorofila a e b e carotenóides), aminoácidos, proteínas e amido. As amostras foram coletadas na fase logarítmica e estacionária para avaliação.

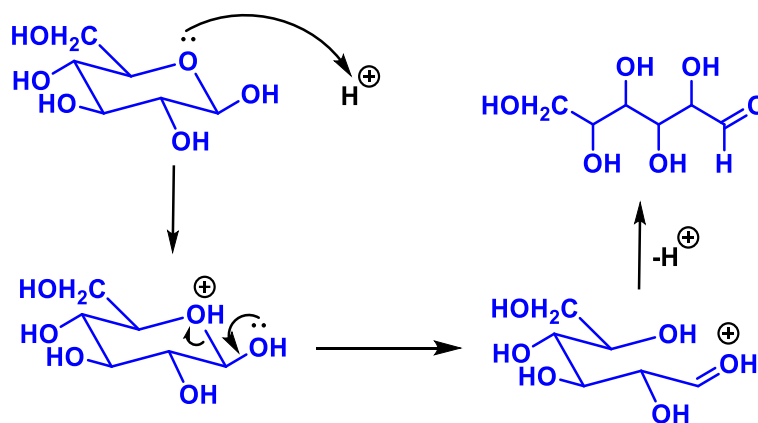
4. Resultados e discussões

4.1. Síntese das Cdots A50 e A30

A metodologia de síntese utilizada foi do tipo *bottom-up*, utilizando água como solvente e aplicando uma temperatura moderadamente alta para que a reação ocorra. Dentre os reagentes utilizados, o ácido cítrico é uma das matérias-primas mais utilizadas como fonte de carbono na síntese *bottom-up* de Cdots, junto com uma fonte de nitrogênio.¹⁶ O nitrogênio é utilizado por intensificar as propriedades fotoluminescentes do Cdot, por ter tamanho atômico próximo ao do carbono, ser eletronegativo e possuir um par de elétrons disponível para transferência entre os orbitais π da estrutura de carbonos sp^2 .⁵⁰ A fonte de nitrogênio escolhida foi a ureia, selecionada por ser renovável, de baixo custo e fácil obtenção. A sacarose foi usada com o objetivo de facilitar a síntese do Cdot de forma econômica, já que em meio ácido é hidrolisada em glicose e frutose (**Esquema 3**).⁵¹ A glicose, em meio ácido, sofre uma reação de abertura de ciclo (**Esquema 4**),⁵² transformando-a em um aldeído, que é mais suscetível a ataques nucleofílicos do que um ácido carboxílico, como o ácido cítrico, facilitando as reações de condensação e polimerização da síntese do Cdot.



Esquema 3. Mecanismo de hidrólise da sacarose com catálise ácida. Esquema de autoria própria, baseado na referência ⁵¹.



Esquema 4. Mecanismo de abertura do anel da glicose sob catálise ácida. Esquema de autoria própria, baseado na referência ⁵².

As reações de síntese da **A30** e **A50** duraram aproximadamente 4 horas, e os produtos formados apresentaram uma coloração preta com tons de vermelho e marrom (**Figura 8**). Ao diluir uma pequena alíquota em água e expô-la a uma lâmpada UV de 366 nm, os produtos exibiram fluorescência (**Figura 9**), indicando a formação da nanopartícula.

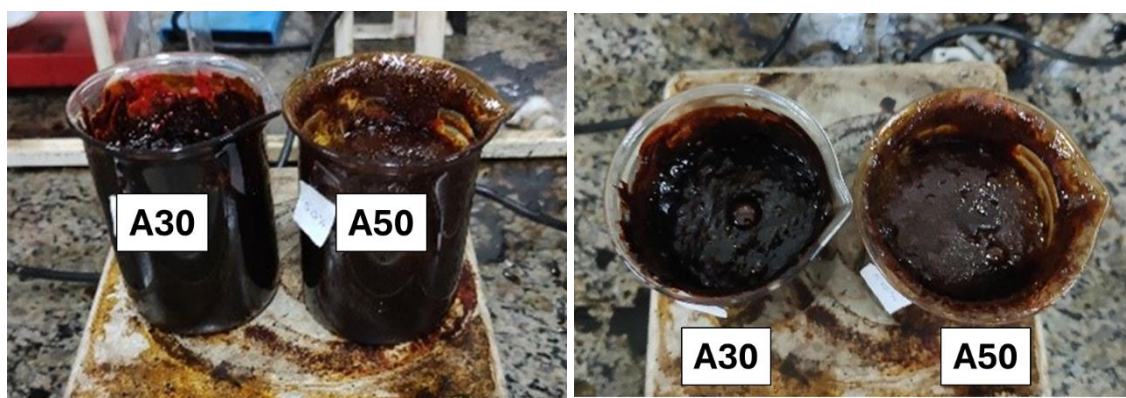


Figura 8. Produto da síntese da **A50** (béquer da direita) e **A30** (béquer da esquerda).

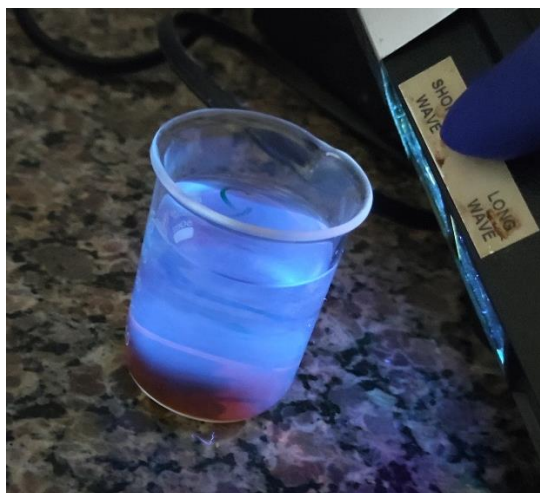


Figura 9. Fluorescência da **A50** a partir da incidência de luz UV de 366 nm.

4.2. Espectroscopia de absorção no Ultravioleta-Visível (UV-Vis)

Após a síntese das nanopartículas, foram obtidos os espectros de UV-Vis da **A30** e **A50**. Para efeitos comparativos, também foi determinado o espectro da Arbolina[®], utilizando uma amostra cedida pela Krilltech, os espectros estão presentes na **Figura 9**. Observa-se que tanto a **A30** quanto a **A50** possuem picos máximos de absorção em torno de 280 nm, um comprimento de onda menor do que o pico de máxima absorção da Arbolina[®], que está em 330 nm. Isso permite concluir que o Cdot sintetizado difere da Arbolina[®], indicando que a transição de energia entre a banda de valência e a banda de condução, ou seja, o *band gap* da **A30** e **A50** é maior que o da Arbolina[®], o que pode indicar uma partícula mais estável. Um *band gap* maior pode indicar um material com ligações mais fortes e consequentemente necessita de mais energia para quebrá-las.⁵³

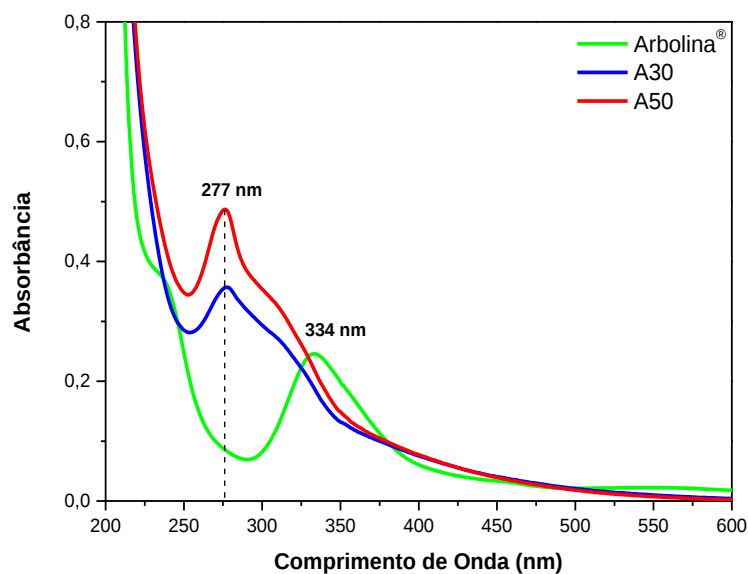


Figura 10. Espectros de absorção no UV-Vis da **A30**, **A50** e **Arbolina®**.

Utilizando os espectros de UV-Vis, foi possível estimar os valores de *band-gap* das nanopartículas a partir do método de Tauc, com resultados apresentados na **Figura 11**.

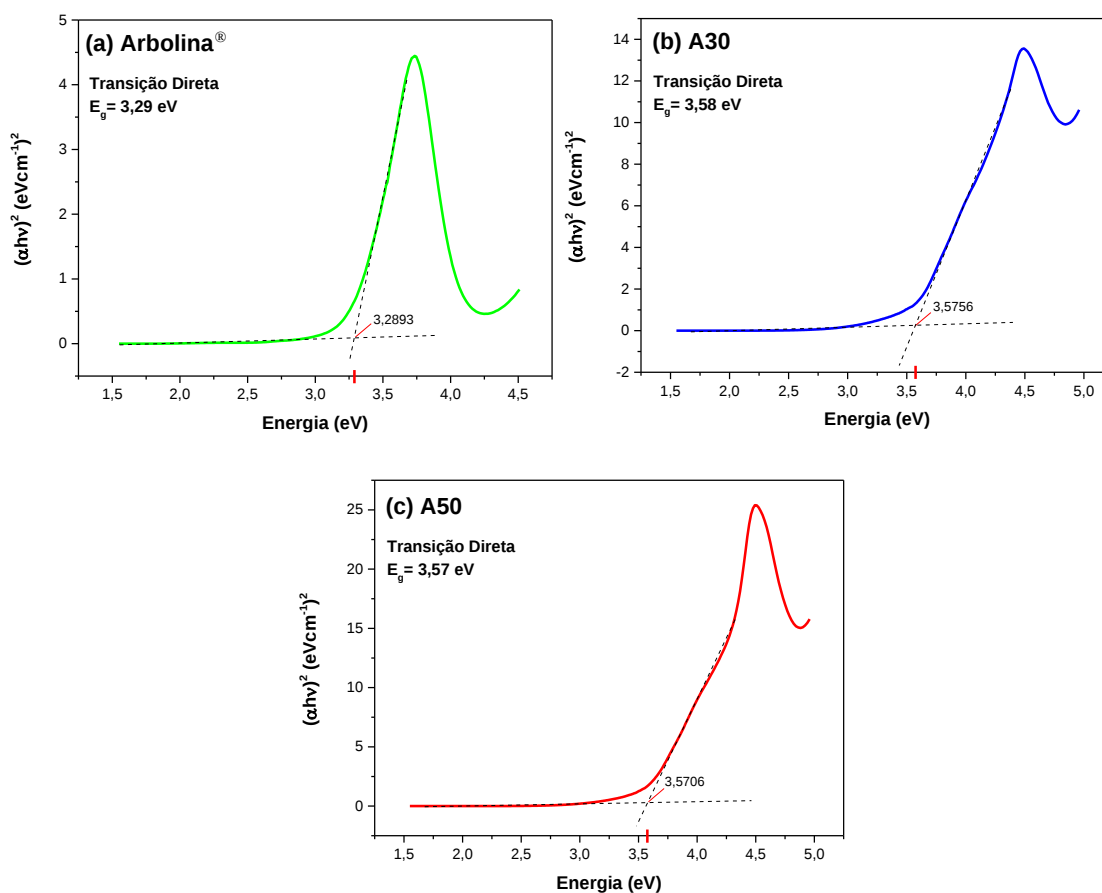


Figura 11. *Band gap* estimado da (a) **Arbolina®**, (b) **A30** e (c) **A50** utilizando o método de Tauc.

Esses resultados confirmam que os *band gaps* da **A30** e **A50** são superiores ao da Arbolina®. As altas energias de transição observadas podem ser justificadas pelo uso de sacarose como matéria prima, resultando em uma superfície rica em grupos hidroxilas, que requerem mais energia para a excitação de seus elétrons do que os grupos ácido carboxílicos presentes no ácido cítrico.

4.3. Teste de aplicação da A30 e A50 em milho

Para determinar o protótipo mais promissor para seguir com os testes e caracterizações subsequentes, foi realizado um teste aplicando as nanopartículas em milho, a fim de analisar os efeitos de cada uma no crescimento vegetativo e na absorção de nutrientes pelas plantas.

As análises de massa úmida e seca das plantas não demonstraram diferenças significativas entre os grupos **A30**, **A50** e controle, uma vez que os desvios padrões foram maiores do que a diferença entre a média dos grupos, conforme ilustrado na **Tabela 1**. No entanto, a análise dos nutrientes presentes nas folhas de cada grupo revelou diferenças significativas, conforme mostrado na **Figura 12** e **Figura 13**.

Tabela 1. Médias e desvios padrões das massas de cada grupo de plantas.

Parâmetros	Controle		A30		A50	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
Massa total úmida	1,437	0,334	1,201	0,357	1,380	0,403
Massa total seca	0,242	0,064	0,230	0,012	0,254	0,071
Massa aérea (seca)	0,118	0,034	0,125	0,040	0,140	0,047
Massa radicular (seca)	0,115	0,030	0,107	0,018	0,105	0,032

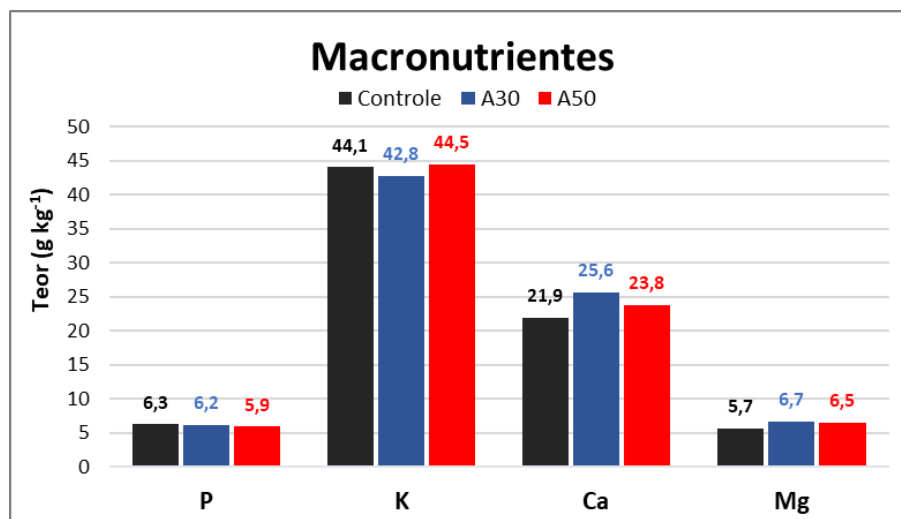


Figura 12. Teor de macronutrientes nas folhas de cada grupo de comparação entre A30 e A50.

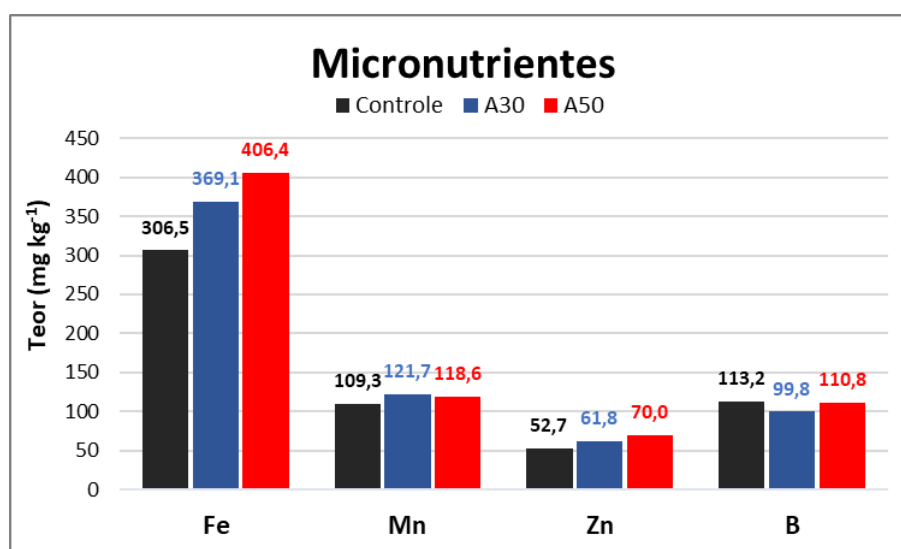


Figura 13. Teor de micronutrientes nas folhas de cada grupo de comparação entre A30 e A50.

Foi observado um aumento significativo nas concentrações de cálcio, magnésio, ferro, manganês e zinco nos dois grupos tratados com os protótipos, particularmente nos níveis de ferro e zinco no grupo que recebeu a A50. O ferro é essencial para processos como fotossíntese, respiração e fixação de nitrogênio, além de estar envolvido na formação de clorofila e enzimas essenciais. O zinco é necessário para a atividade de mais de 300 enzimas, síntese de proteínas e regulação do crescimento hormonal. Estratégias para o aumento do teor desses nutrientes incluem não apenas a suplementação, mas também o melhoramento genético de plantas.⁵⁴ Devido aos resultados mais expressivos observados, o foco deste trabalho passou a ser o protótipo A50.

4.4. Curva de Densidade

Para avançar com os testes e análises da **A50**, era necessário estabelecer um parâmetro para determinar a concentração de nanopartículas em solução, um aspecto crucial também para a produção de um produto destinado ao mercado agrícola. A caracterização e, principalmente, a quantificação de Cdots podem apresentar desafios significativos, pois sua síntese frequentemente resulta em partículas de tamanhos e propriedades ópticas variáveis, além da presença de compostos que interferem em sua detecção e quantificação.⁵⁵ Para realizar a quantificação de uma maneira simples, que possa ser implementada em um produto agrícola futuro, foi desenvolvida uma curva de densidade. Isso permite correlacionar densidade em g mL^{-1} com a concentração de nanopartículas em g L^{-1} (**Figura 14**). Um dos desafios enfrentados para a realização dessa curva foi a manipulação da nanopartícula depois de seca, já que demonstrou ser extremamente higroscópica, dificultando a determinação precisa de sua massa seca. Em questão de minutos, a partícula seca é capaz de absorver água o suficiente para se transformar em uma solução líquida. Isso se tornou evidente no valor de R^2 da equação gerada.

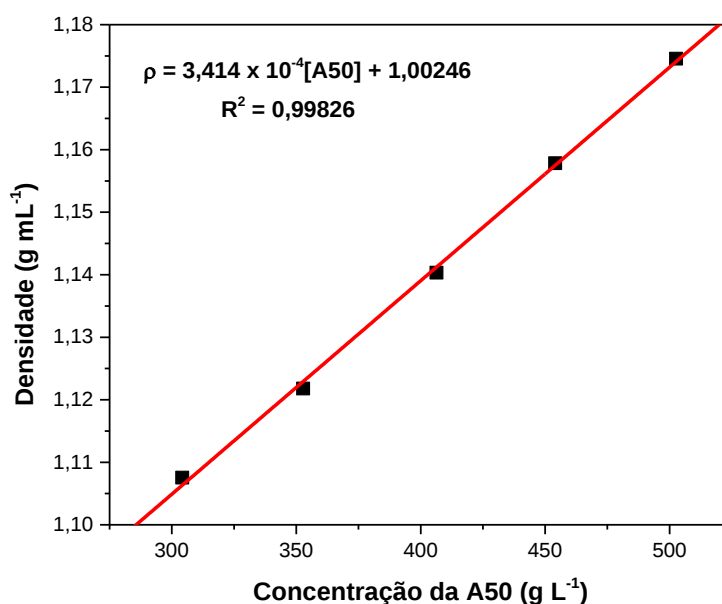


Figura 14. Curva de densidade da A50.

4.5. Caracterizações da A50

Após selecionar o protótipo **A50**, foram realizadas análises de fluorescência, FTIR, HRTEM e carbono e nitrogênio totais. Primeiramente, foi feita uma varredura do espectro de emissão para determinar o comprimento de onda (λ) de excitação que resulta na maior intensidade de emissão, além do seu λ de máxima de emissão. Os espectros, apresentados na **Figura 15**, mostram que o λ de máxima emissão varia de acordo com o λ de excitação.

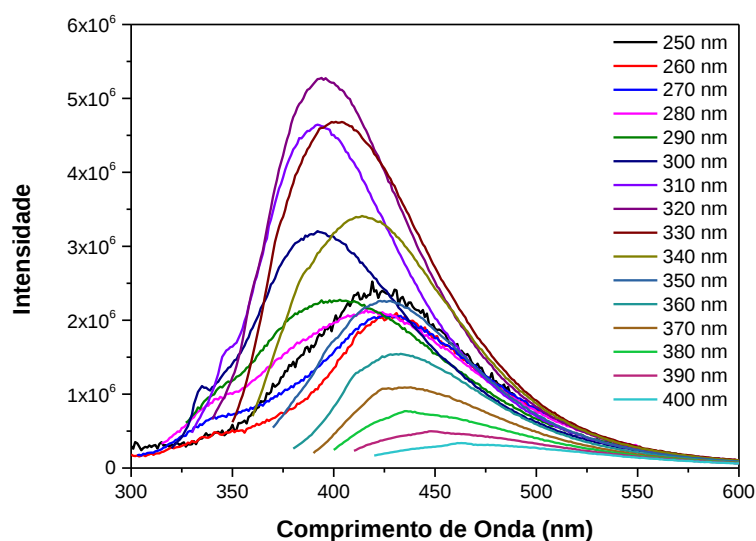


Figura 15. Varredura do espectro de fluorescência de emissão da **A50**.

Um espectro que varia seu λ_{max} de emissão de acordo com o λ de excitação pode ser explicado pela variação no tamanho de partículas, já que partículas de diferentes tamanhos podem ter sido formadas na síntese da **A50**, com diferentes propriedades ópticas. Além disso, a presença de *traps* seria outro bom motivo para a presença de uma emissão dependente da excitação, já que a interação com certos *traps* pode ocorrer apenas com a incidência de certos comprimentos de onda. Também é esperada a presença de diversos fluoróforos na superfície da partícula, com seus respectivos λ de excitação e emissão únicos, fazendo com que seja gerada uma variação no seu espectro.

A partir da varredura de seu espectro de emissão, determinamos que a excitação em 320 nm resulta na emissão com maior intensidade, com máximo em 400 nm, dados importantes para futuras sínteses e experimentos de fotoluminescência. Comparativamente, a Arbolina[®] exibe excitação em 350 nm e emissão em 440 nm, indicando que a **A50** absorve e emite em comprimentos de onda mais energéticos.

Curiosamente, ao comparar esses resultados com os do espectro de UV-Vis, identificamos que o λ de excitação que gera a emissão mais intensa não coincide com o λ de maior absorbância, sugerindo, de acordo com a literatura, que o núcleo de carbono com confinamento quântico não teria sido formado. Portanto, a luminescência da **A50** origina-se apenas dos grupos funcionais em sua superfície, com emissões resultantes da combinação de vários emissores individuais.¹¹ Essa característica contribui para uma conclusão de que a **A50** se trataria de um CND (*carbon nanodot*).

A análise do espectro de infravermelho (**Figura 16**) revelou sinais importantes para a caracterização de certos grupos funcionais. É possível observar os sinais de estiramento de hidroxilas de álcoois e ácidos carboxílicos em 3421 e 3236 cm^{-1} , estiramento de carbonilas de ácidos carboxílicos e amidas em 1718 e 1663 cm^{-1} , o estiramento de ligações C=C aromáticas em 1606 cm^{-1} e o dobramento de ligações O-H em 1400 cm^{-1} .

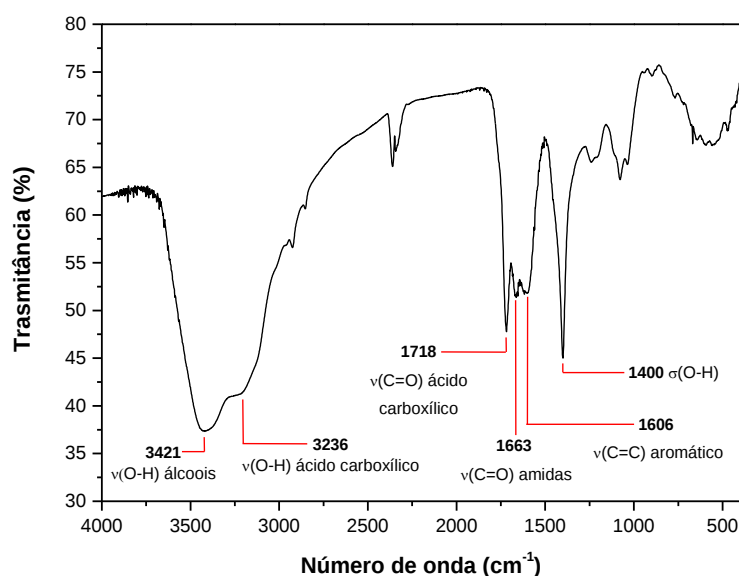


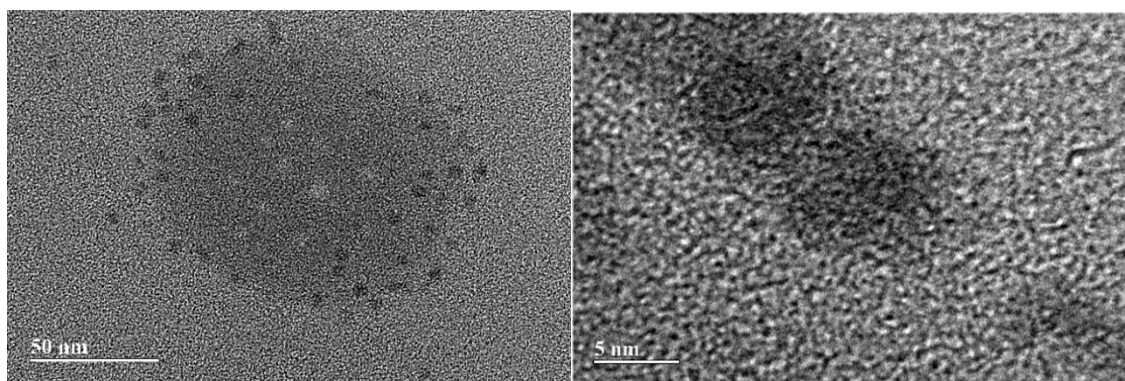
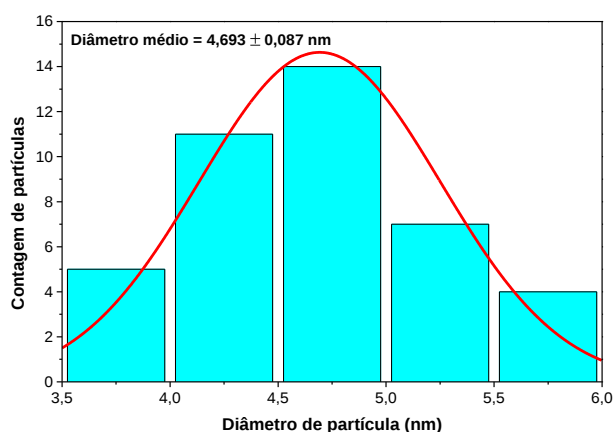
Figura 16. Espectro de infravermelho da **A50**.

Os teores de carbono e nitrogênio da nanopartícula foram determinados, seus resultados estão presentes na **Tabela 2**. Seus teores totalizam 49,17% da massa da **A50**, então os outros 50,83% são referentes ao oxigênio e hidrogênio.

Tabela 2. Análise de carbono e nitrogênio totais da **A50**.

Elemento	Teor (m/m)	Erro
Carbono	31,69%	0,05
Nitrogênio	17,47%	2,58

Utilizando a técnica de Microscopia Eletrônica de Transmissão de Alta Resolução (HRTEM), obtivemos imagens (**Figura 17**), tornando possível determinar o tamanho médio das partículas de 4,7 nm (calculado utilizando uma imagem com 41 partículas) e gerar um histograma de distribuição de tamanhos (**Figura 18**). A partir do histograma podemos comprovar uma hipótese já mencionada, de que existe uma variedade de partículas com diferentes tamanhos, e consequentemente diferentes energias associadas a suas transições eletrônicas.

**Figura 17.** Imageamento HRTEM da **A50**.**Figura 18.** Histograma de tamanho de partícula da **A50**.

As imagens também mostram, de forma sutil, linhas paralelas ao longo da partícula, que podem ser interpretadas como camadas de grafeno presentes no núcleo de carbono, como evidenciado na **Figura 19**. Essa é uma característica da estrutura dos CQDs (*carbon quantum dots*) representada na **Figura 20**, essa evidência entra em conflito com a análise de seus espectros de UV-Vis e de fluorescência, e contribui para a conclusão de que a **A50** se trata de um CQD. A explicação do porquê o λ de mais alta absorbância não resulta na maior intensidade de emissão, pode ser a presença de partículas grandes e com muitas imperfeições em sua superfície, com diversos grupos funcionais e provavelmente um rendimento quântico baixo, resultando em um grande sinal de absorbância de grupos funcionais da superfície, que não são fluorescentes. O sinal de absorção que resulta na emissão não seria visível, por conta de um outro sinal de absorção tão grande. Os estudos de Cdots ainda são muito recentes e suas descobertas ainda estão sendo feitas, na literatura é dito por exemplo, que o *core* de carbono não seria formado em temperaturas menores do que 230 °C,¹¹ temperatura muito superior à utilizada na síntese da **A50**, mas como é visível em seu imageamento, o *core* de carbono aparenta ter sido formado.

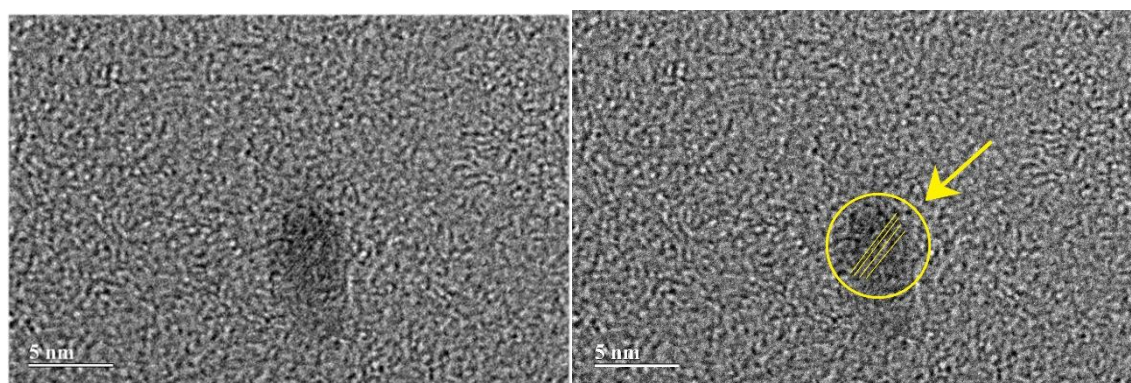


Figura 19. Imageamento HRTEM da **A50** evidenciando as camadas de grafeno no seu núcleo de carbono.

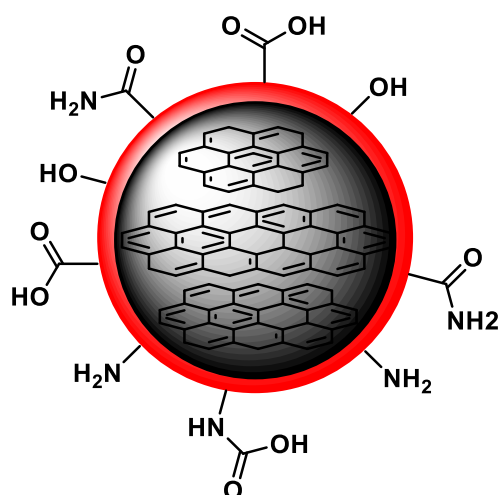


Figura 20. Representação da estrutura de uma CQD. Autoria própria, baseado na referência 9.

O tamanho das nanopartículas também possibilita uma discussão sobre o tipo de interação que elas têm com a água, questionando se formam uma solução ou uma suspensão. A **A50** forma em água uma mistura homogênea, sem apresentar precipitação ou turbidez, mesmo em altas concentrações. Se tratam de partículas extremamente higroscópicas, já que mesmo após serem secas, ao entrar em contato com o ar, absorvem água até formarem um líquido homogêneo. Essas características sugerem que a mistura se comporta como uma solução. No entanto, o tamanho das partículas de **A50**, cerca de 4,7 nm, as posiciona na categoria de coloides, que variam de 1 a 1000 nm, sendo maiores do que as partículas de uma solução (< 1 nm) e menores que as de uma suspensão comum (> 1000 nm). Dado seu nível de interação com a água, a **A50** pode ser classificada como um coloide liofílico, se tratando de macromoléculas solúveis similares a proteínas e diferentes polímeros, que forma uma solução coloidal.⁵⁶

4.6. Quenching por concentração

Após definir os comprimentos de onda de máxima excitação e emissão, foi realizado um experimento para determinar o *quenching* (atenuação da intensidade de emissão de fluorescência) da **A50** por efeito de concentração. Variando a concentração da **A50** de 20 a 500 mg L⁻¹ e analisando os respectivos espectros (**Figura 21**), observou-se o efeito de *quenching*, já que sua intensidade de emissão inicialmente aumenta com o aumento da concentração, mas ao atingir um máximo na concentração de 300 mg L⁻¹, sua intensidade de emissão passa a diminuir à medida que a concentração aumenta.

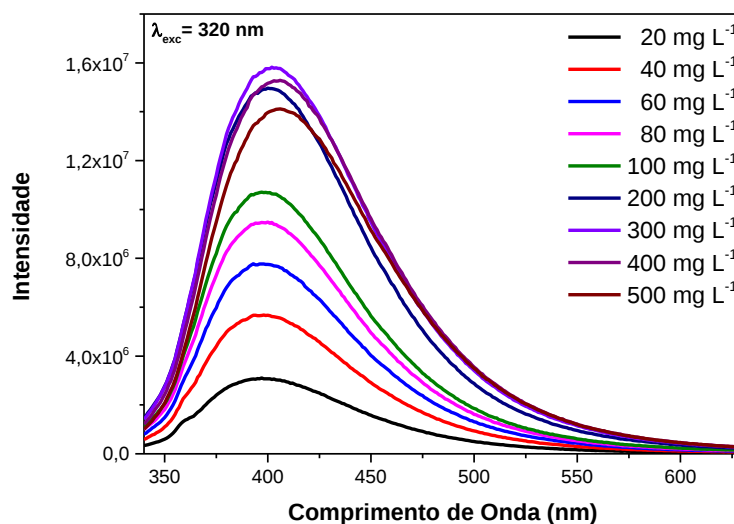


Figura 21. Espectros de emissão de fluorescência variando a concentração de **A50**.

Esse fenômeno pode ser melhor visualizado na **Figura 22** e pode ser explicado pelo efeito de colisão de partículas excitadas com partículas não excitadas. Durante essas colisões, as partículas excitadas transferem energia para partículas similares não excitadas por meio de um processo não luminescente. Consequentemente, quanto maior a concentração de partículas, maior é a probabilidade desse tipo de interação ocorrer, intensificando o defeito de *quenching*.⁵⁷

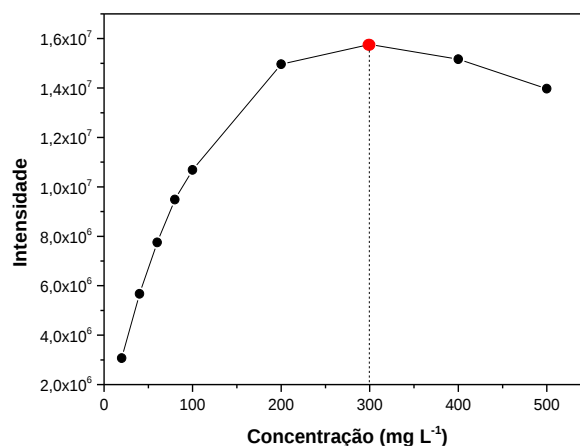


Figura 22. Intensidade máxima de emissão de fluorescência da **A50** em função de sua concentração.

4.7. Fotoestabilidade

Após submeter a nanopartícula **A50** a um experimento de fotoestabilidade por 24 horas, foi obtido o gráfico da **Figura 23**, que mostra a intensidade de emissão em 400 nm em

função do tempo, junto com sua respectiva equação estimada. Observou-se uma perda de cerca de 20% na intensidade de emissão, indicando a degradação da partícula em função da irradiação de radiação de 320 nm. O resultado indica uma boa estabilidade, levando em consideração a alta energia associada à radiação incidida por um longo tempo de exposição.

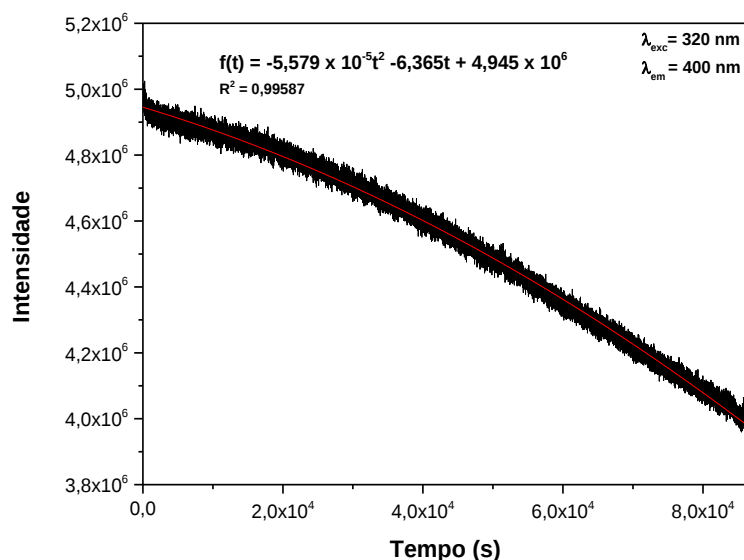


Figura 23. Intensidade de emissão com 400 nm da A50 em função do tempo em segundos, de incidência de luz com 320 nm. [A50] = 300 mg L⁻¹.

4.8. Capacidade quelante com potássio

A partir da análise de potencial Zeta da A50, cujo resultado foi de -6,36 mV, determinamos sua carga superficial negativa, que torna promissora a capacidade quelante da nanopartícula com nutrientes em forma de cátions. Utilizando o efeito de *quenching* como ferramenta, foi realizada outra análise, desta vez para avaliar o efeito quelante da A50 com potássio. O potássio é um nutriente crucial para o equilíbrio hídrico de células vegetais, síntese de proteínas, metabolismo de carboidratos, tolerância a estresse e qualidade dos frutos.⁵⁸ A interação de Cdots com cátions de nutrientes facilita a entrada deles dentro das células da planta, por conta do tamanho nanométrico da partícula, tornando sua interação com eles muito importante para sua ação como nanofertilizante.⁵⁹

A fonte de potássio utilizada foi o KH₂PO₄, cuja concentração variou de 0 até sua saturação, com espectros de emissão registrados para cada concentração. Conforme apresentado na **Figura 24**, observou-se uma atenuação da fluorescência da A50

proporcional ao aumento da concentração de KH_2PO_4 . Esse resultado pode ser atribuído a vários mecanismos de *quenching*, como a formação de um complexo não fluorescente, a transferência de energia do Cd^{2+} para o potássio por colisão, a absorção da energia emitida pelo Cd^{2+} pelo potássio, ou a troca de elétrons entre as duas espécies.⁶⁰

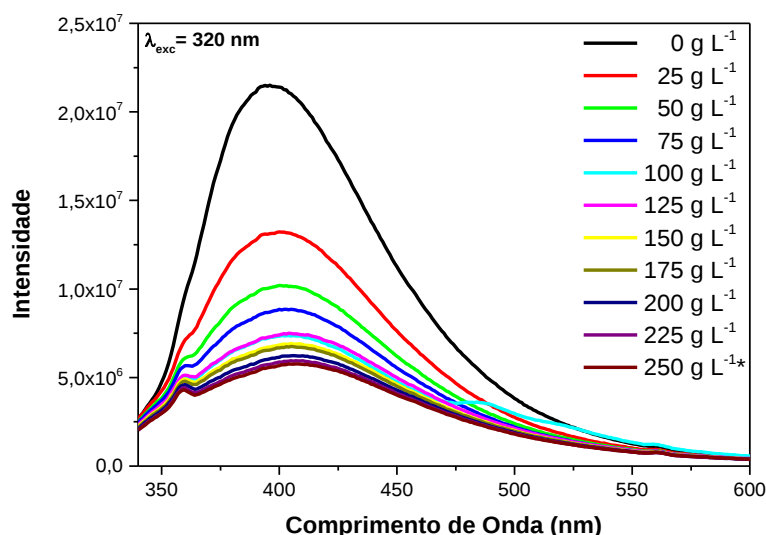


Figura 24. Espectros de emissão de fluorescência variando a concentração de KH_2PO_4 em A50. *solução saturada com precipitado visível.

Utilizando os valores máximos de intensidade de emissão em função da concentração de K, foi possível gerar uma aproximação da equação exponencial que descreve o *quenching* por potássio, como apresentado na **Figura 25**.

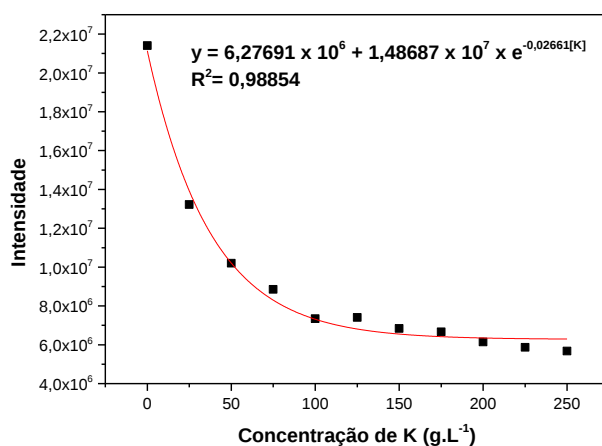


Figura 25. Gráfico de intensidade de emissão *versus* concentração de K, com equação exponencial aproximada.

O espectro de absorção no UV-Vis do potássio, com e sem a presença da **A50**, também foi analisado (**Figura 26**) para elucidar o possível efeito quelante envolvido. Nota-se que o espectro da **A50** permanece inalterado na presença do potássio, e que o potássio não exibe sinais de absorbância que se sobreponham aos comprimentos de onda de excitação (320 nm) ou de emissão (400 nm) da nanopartícula. Essas observações permitem descartar o mecanismo de Efeito de Filtro Interno (IFE), que envolve a atenuação da emissão devido à absorção da mesma pelo *quencher* ou pela absorção de parte da energia de excitação da fonte. É possível também excluir o mecanismo de Transferência de Energia por Ressonância de Föster (FRET), que ocorre através da interação dipolo-dipolo a longa distância (10-100 Å) entre o Cdot no estado excitado e o *quencher* no estado fundamental. Para que ocorra a FRET, é necessário que o espectro de absorção do *quencher* sobreponha o espectro de emissão do Cdot, permitindo a transferência de energia entre eles sem a emissão de fótons. Essa condição não ocorre, invalidando a FRET para esse caso.⁶⁰

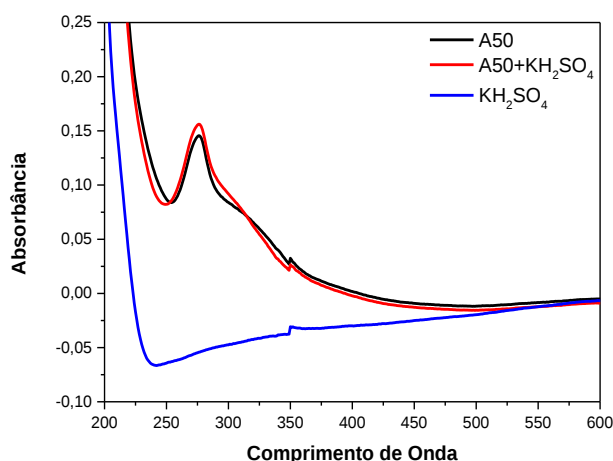


Figura 26. Espectros de absorção no UV-Vis da **A50**, **A50+KH₂PO₄** e **KH₂PO₄**.

Dentre os mecanismos de *quenching* mais prováveis restantes, incluem-se o *quenching* estático, dinâmico e de Transferência de Elétrons Fotoinduzida (PET). O *quenching* estático ocorre através da formação de um complexo não luminescente entre o Cdot e o *quencher*. Já o *quenching* dinâmico envolve colisões entre o Cdot no estado excitado e o *quencher*, resultando no retorno do Cdot estado fundamental sem a emissão de fótons. O mecanismo de PET caracteriza-se pela transferência de elétrons entre o Cdot e o *quencher*, gerando radicais que formam um complexo não luminescente.⁶⁰

Sabendo que no mecanismo de *quenching* estático, um aumento da temperatura pode diminuir a estabilidade do complexo, tendo como consequência a redução do efeito de *quenching*, e que no *quenching* dinâmico, o aumento da temperatura pode intensificar o efeito de *quenching*, foram analisados os espectros de emissão da A50 com potássio em diferentes temperaturas (5 e 25 °C). O aumento da temperatura fez com que a intensidade de emissão diminuísse, o que poderia significar que se trata do efeito de *quenching* dinâmico aumentando. Entretanto, o mesmo efeito foi observado no espectro de emissão da A50 pura (**Figura 27**), indicando que esse efeito não está relacionado ao efeito de *quenching* com potássio, e sim ao favorecimento de processos de liberação de energia não radiativos promovidos pelo aumento de temperatura, que afetam a luminescência do Cd²⁺ com ou sem interações com *quenchers*.⁶¹ Portanto, os mecanismos estático e dinâmico não podem ser excluídos, já que essa interferência com a temperatura é apenas uma possibilidade, e não algo constante para esses mecanismos.

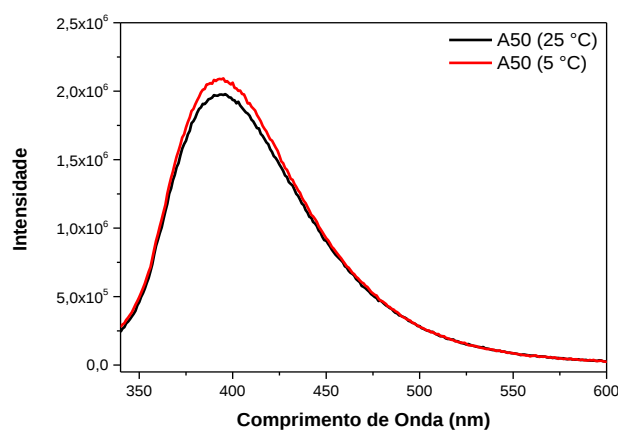


Figura 27. Espectro de emissão de fluorescência da A50 variando a temperatura.

4.9. Capacidade quelante com diferentes cátions

Após investigar a interação da A50 com potássio através do efeito de *quenching*, realizou-se um experimento adicional para avaliar a presença deste efeito com diferentes cátions. Os espectros de emissão da A50 em resposta a cada cátion utilizado estão presentes na **Figura 28**, com a normalização dos valores máximos de emissão em 400 nm. Observou-se uma variação significativa no efeito de *quenching* entre os cátions, enquanto houve uma interação mínima no caso do Mg²⁺, para o Ca²⁺, Fe²⁺ e Cu²⁺ a atenuação da intensidade de emissão da A50 aproximou-se de 100%.

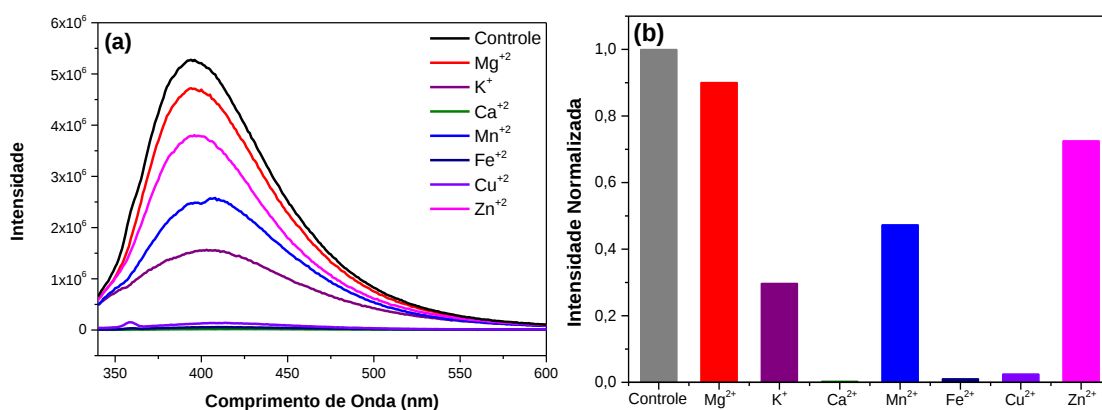


Figura 28. (a) Espectros de emissão da **A50** com diferentes cátions e (b) suas respectivas intensidades de emissão em 400 nm normalizadas.

A partir das análises dos espectros de absorção no UV-Vis (**Figura 29**), podemos tirar algumas conclusões e fazer suposições sobre os mecanismos de *quenching* envolvidos. Para o $MgSO_4$ e $ZnSO_4$, suas propriedades são as mesmas do KH_2SO_4 , cujo espectro de absorção é do sulfato, então suas conclusões são as mesmas mencionadas antes, descartando o mecanismo de IFE e FRET. No entanto, para os cátions $MnSO_4$, $Ca(NO_3)_2$, $FeSO_4$ e $CuSO_4$, observa-se que sua absorção sobrepõe o comprimento de onda de excitação da **A50**, apesar da absorção vista no espectro de $Ca(NO_3)_2$ ser referente ao nitrato. Esta sobreposição torna plausível a ocorrência do mecanismo de IFE, onde a luz necessária para excitar o Cd^{2+} pode ser absorvida pelo *quencher*, atenuando a intensidade de emissão observada.

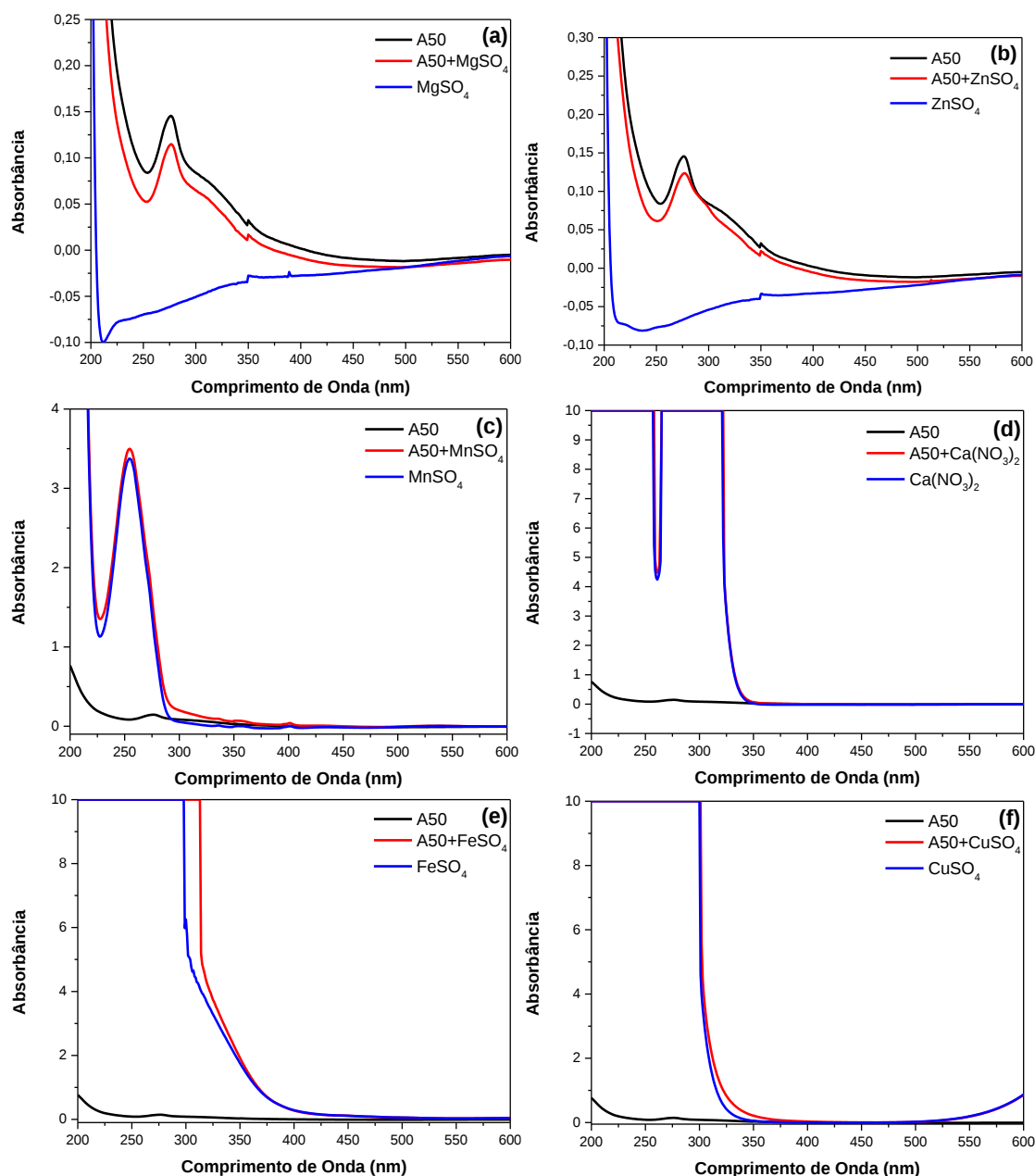


Figura 29. Espectros de absorção no UV-Vis da A50, (a) A50+MgSO₄ e MgSO₄, (b) A50+ZnSO₄ e ZnSO₄, (c) A50+MnSO₄ e MnSO₄, (d) A50+Ca(NO₃)₂ e Ca(NO₃)₂, (e) A50+FeSO₄ e FeSO₄, (f) A50+CuSO₄ e CuSO₄.

O entendimento dessas características é fundamental para o desenvolvimento e posicionamento de um produto agrícola baseado na A50. A interação desta nanopartícula com cátions específicos pode facilitar a translocação deles quando esta nanopartícula for aplicada. Então momentos e culturas com alta necessidade de potássio, cálcio, ferro, cobre e manganês seriam um excelente alvo de estudo para aplicação desta nanopartícula.

4.10. Caracterização da superfície da A50

Considerando que a funcionalidade dos Cdots é determinada pela engenharia de sua superfície, é crucial entender a composição da superfície da **A50** para compreender as possíveis interações da nanopartícula com células de plantas e nutrientes. Para isso, a superfície da **A50** foi analisada utilizando a técnica de XPS, cujos resultados estão apresentados na **Tabela 3** e **Figura 30**. Adicionalmente, uma amostra de Arbolina[®], fornecida pela Krilltech, também foi submetida à mesma análise.

Tabela 3. Composição da superfície da **A50** e Arbolina[®], determinada por XPS.

	A50	Arbolina[®]
Carbono	63,09%	73,80%
Oxigênio	28,67%	18,60%
Nitrogênio	08,24%	07,60%

É notável que, embora a superfície da **A50** seja predominantemente composta por carbono, ela contém uma quantidade significativa de oxigênio (28,67%), superior à encontrada na superfície da Arbolina[®] (18,60%). Quanto ao nitrogênio, a concentração na **A50** (8,24%) também excede a da Arbolina[®] (7,60%). A maior presença de oxigênio pode sugerir a existência de grupos fenólicos e carboxílicos, que oferecem mais sítios para complexação com metais, facilitando o transporte de nutrientes para as plantas.

A deconvolução do espectro de XPS de C 1s (**Figura 30a**) revela que as maiores intensidades são atribuídas às ligações de C-N e C-O em 285,9 eV, e ligações simples e duplas entre carbonos em 284,6 eV. As ligações C-N podem estar associadas a grupos amida e piridina na superfície, enquanto as ligações C-O poderiam pertencer a ésteres, éteres e álcoois. Outro sinal significativo, em 288,8 eV, o mais energético, indica a presença de ligações duplas carbono-oxigênio, típicas de carbonilas, que podem incluir ésteres, ácidos carboxílicos ou cetonas.⁶²

Na deconvolução do espectro de O 1s (**Figura 30b**), observam-se sinais de ligações simples e duplas carbono-oxigênio, localizados em 532,7 eV e 532,2 eV, respectivamente, com a intensidade das ligações duplas sendo maior.⁶³ Na análise do espectro de N 1s (**Figura 30c**), identificam-se também dois sinais, o mais intenso, em 399,8 eV, é associado a piridinas e/ou amidas, enquanto o menos intenso, em 401,4 eV, pode ser atribuído a imidas e/ou carbamatos.⁶⁴

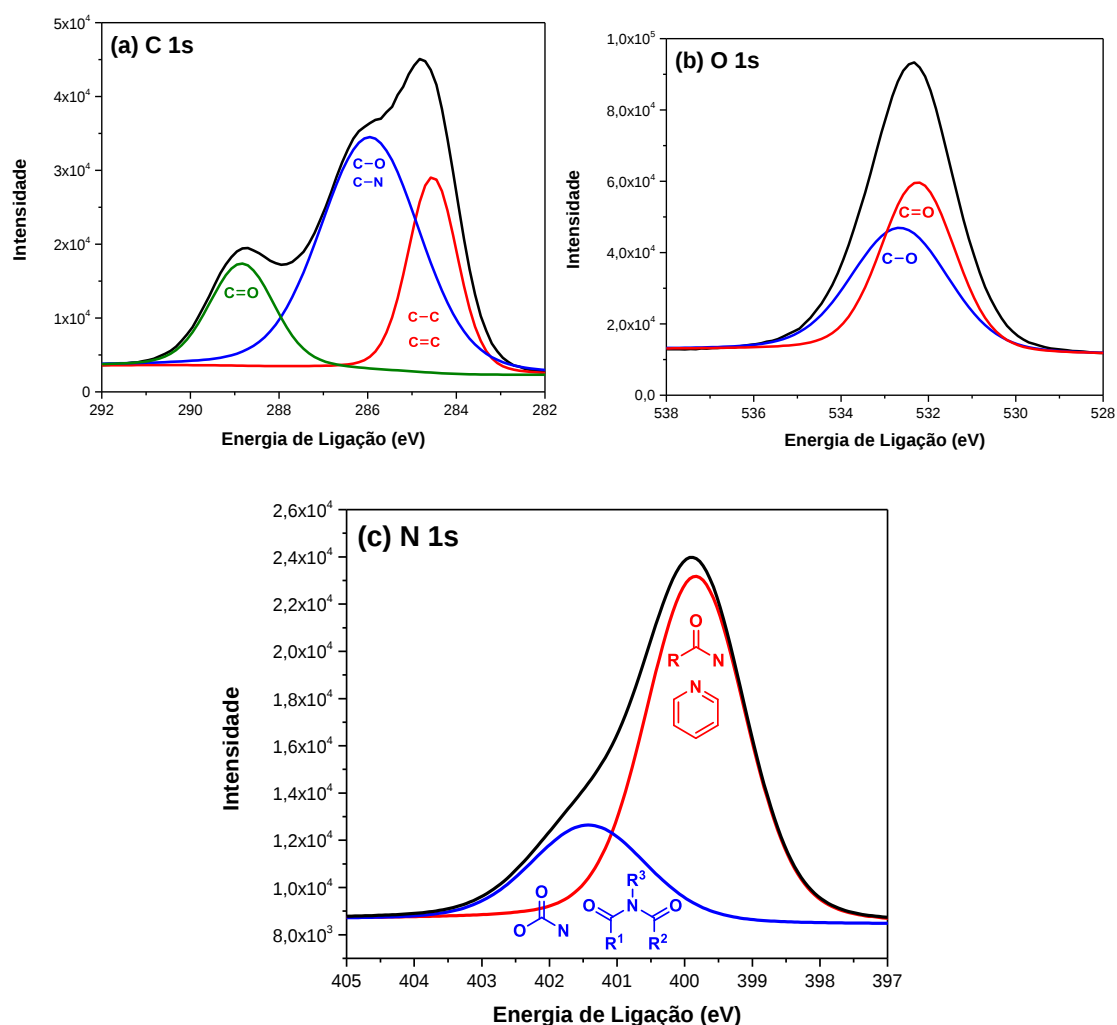


Figura 30. Deconvolução dos espectros de XPS de (a) C 1s, (b) O 1s e (c) N 1s da A50.

Outra análise realizada para caracterizar a superfície da nanopartícula foi a técnica de TPD. Neste procedimento, uma amostra da nanopartícula foi aquecida para que seus grupos de superfície se degradassem em CO e CO₂, que foram quantificados utilizando um espectrômetro de massas acoplado. Os espectros das massas monitoradas são apresentados na **Figura 31**. A deconvolução dos espectros de CO e CO₂ (**Figura 32**) permitiu analisar os máximos de intensidade em relação às respectivas temperaturas para identificar os grupos funcionais de origem.

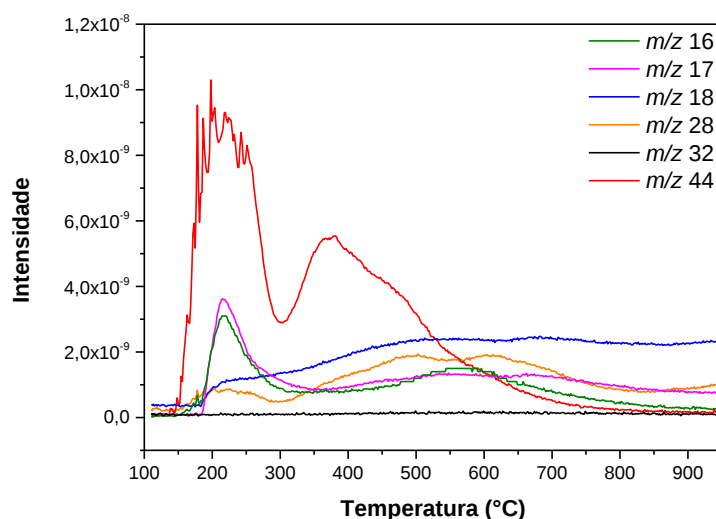


Figura 31. Espectros de TPD/MS para m/z 16, 17, 18, 28, 32 e 44.

O espectro de CO_2 (**Figura 32a**) apresenta três picos definidos, com o maior em 219 °C e outros dois menores em 373 °C e 460 °C. Os picos em temperaturas mais baixas podem ser atribuídos à decomposição de grupos carboxílicos, dividindo-se em dois picos provavelmente devido à presença de uma alta concentração desses grupos, que podem ser atribuídos a ácidos carboxílicos fortes em 219 °C e ácidos carboxílicos fracos em 373 °C.⁶⁵ O pico em 460 °C seria referente a anidridos.⁶⁶

O espectro de CO (**Figura 32b**) mostra quatro picos definidos e o início de um possível quinto pico, cujo máximo correria em temperatura acima de 950 °C. O primeiro pico, em 221 °C, se mostrou mais difícil de se caracterizar. Essa temperatura é muito baixa para a decomposição de cetonas, e ocorre simultaneamente à decomposição de ácidos carboxílicos fortes, sugerindo uma possível fragmentação do CO_2 liberado pela decomposição dos grupos carboxila.⁶⁵ O segundo pico em 399 °C, não está na temperatura esperada para nenhum grupo funcional de CO, mas está próximo ao sinal de ácidos carboxílicos fracos, indicando que o mesmo fenômeno de fragmentação do CO_2 em CO poderia ter ocorrido.⁶⁷ O pico em 487 °C provavelmente se refere a anidridos, estando em uma temperatura próxima, mas ligeiramente superior à do pico de anidrido no espectro de CO_2 .⁶⁸ O maior pico, em 603 °C, é atribuído à decomposição de grupos álcoois aromáticos.⁶⁹ Por fim, o pico sem máximo definido poderia ser referente a grupos pirona, com máximo em torno de 1200 °C.⁶⁹ Podemos então confirmar a alta concentração de grupos hidroxila na superfície da **A50**.

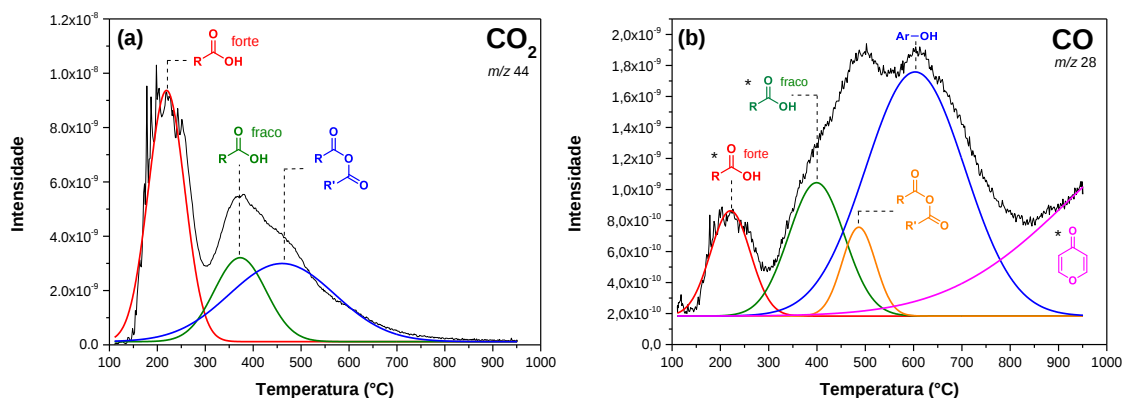


Figura 32. Deconvolução dos espectros de TPD/MS de (a) CO_2 e (b) CO .

4.11. Acompanhamento da Reação

Ao realizar o acompanhamento da reação de síntese da **A50**, analisando sua absorção e emissão podemos discutir acerca da formação de seus fluoróforos e grupos absorvedores no UV-Vis. Observando o espectro de absorção no UV-Vis (**Figura 33**), notamos que um sinal em torno de 320 nm começa a se formar já nos primeiros 15 minutos da reação, com um aumento lento e quase estável na absorbância até os 50 minutos. Neste ponto, um segundo pico, de maior energia, começa a emergir em 277 nm, e a taxa de crescimento da absorbância neste comprimento de onda se intensifica. Aos 55 minutos, a absorbância do pico em 277 nm ultrapassa o sinal em 320 nm, tornando-se o comprimento de onda de maior absorbância. Este pico em 277 nm continua a crescer a uma taxa mais rápida que o pico em 320 nm, alterando perfil do espectro até alcançar o máximo de absorbância ao fim da reação em 65 minutos.

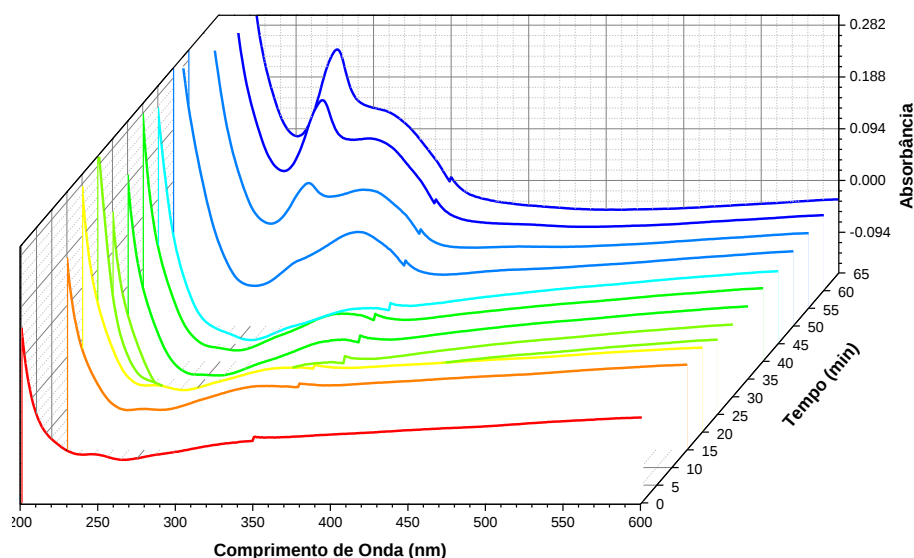


Figura 33. Espectros de absorção no UV-Vis da **A50** ao longo do tempo em sua reação de síntese.

A análise do espectro de emissão (**Figura 34**) revela que o sinal de fluorescência começa a surgir aos 50 minutos, que seria o momento em que o *core* de carbono e/ou os fluoróforos da nanopartícula são formados, a depender de qual seria seu real mecanismo de luminescência, coincidindo com o aparecimento do sinal de absorção em 277 nm, isso sugere que este comprimento de onda pode estar relacionado à maior intensidade de emissão da **A50**. Contudo, o comprimento de onda de excitação que resulta na maior intensidade de emissão, determinado anteriormente pela varredura do espectro de emissão, é de 320 nm. Esse surgimento do sinal de absorção em 277 nm nos momentos finais da reação, podem condizer com a passivação do Cd²⁺, a formação de uma superfície de grupos funcionais que estabiliza a nanopartícula contra reações em sua superfície. Os grupos funcionais formados em sua superfície seriam os responsáveis por essa absorção em 277 nm. Já a falta de emissão, mesmo absorvendo em 320 nm antes dos 50 minutos de reação, poderia significar que antes da formação do core de carbono, a partícula era capaz de liberar a energia absorvida por mecanismos não luminescentes.

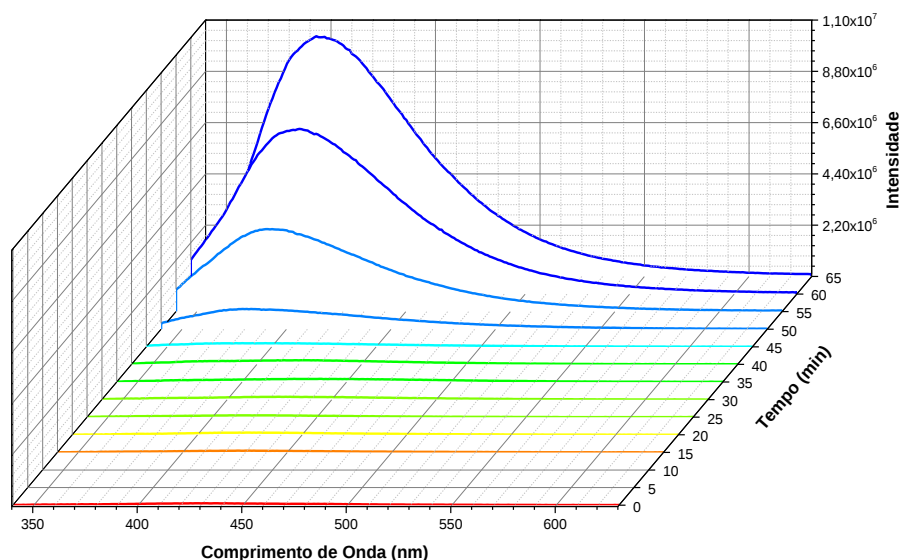


Figura 34. Espectros de emissão de fluorescência da A50 ao longo do tempo em sua reação de síntese.

4.12. Experimento Biológico com Microalgas

Após os testes em milho, um experimento adicional foi conduzido para investigar os efeitos da nanopartícula A50 em plantas, utilizando microalgas da linhagem *Chlamydomonas reinhardtii* CC503. Microalgas compartilham muitos traços metabólicos e fisiológicos com plantas superiores e apresentam vantagens significativas para testes biológicos, como tempo e custo de cultivo reduzidos. Além disso, podem ser cultivadas em pequenos espaços com condições controladas. Devido à sua sensibilidade a variações químicas, microalgas rapidamente manifestam respostas de estresse ao ambiente, o que as torna uma excelente ferramenta para avaliar a eficácia e segurança de produtos destinados a plantas.⁷⁰ Foram aplicadas doses de 0,1, 0,2 e 0,4 $\mu\text{L mL}^{-1}$ da nanopartícula para avaliar sua influência no crescimento das microalgas. A curva de crescimento, apresentada na **Figura 35**, foi plotada a partir dos dados de absorbância, ou densidade ótica (OD), em 680 nm em função do tempo em horas. Observou-se que a A50 teve um impacto positivo no crescimento das microalgas, sendo o efeito mais significativo observado com a dose mais alta, de 0,4 $\mu\text{L mL}^{-1}$.

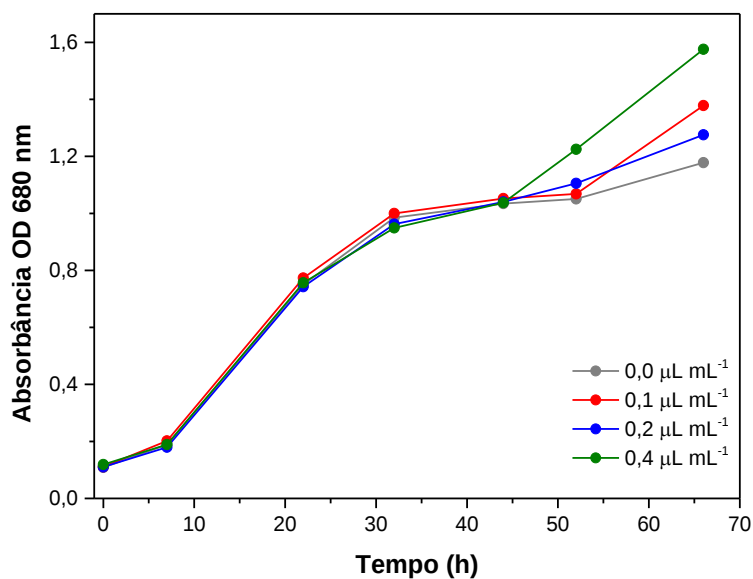


Figura 35. Curva de crescimento das microalgas com diferentes doses de **A50**, referente a absorância em função do tempo.

Ao atingir a fase estacionária, em que o crescimento desacelera e a população de microalgas se estabiliza devido à limitação de recursos, foi determinada a quantidade de biomassa para cada dose aplicada da nanopartícula **A50**, como mostrado na **Figura 36**. Observou-se um aumento na biomassa com as aplicações da **A50**. Conforme ilustrado na **Figura 37**, houve também um aumento nas concentrações de aminoácidos e proteínas, evidenciando os efeitos benéficos da nanopartícula no desenvolvimento das microalgas.

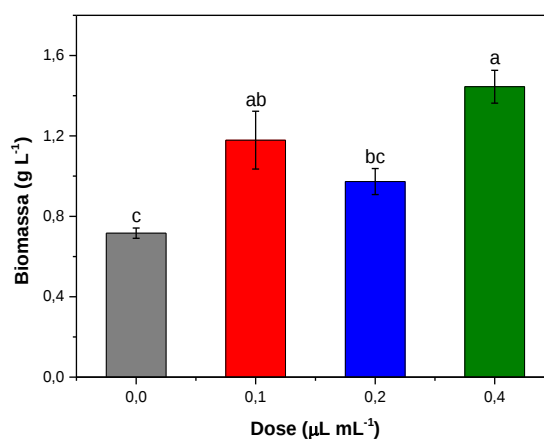


Figura 36. Concentração de biomassa de microalgas para cada tratamento com **A50**.

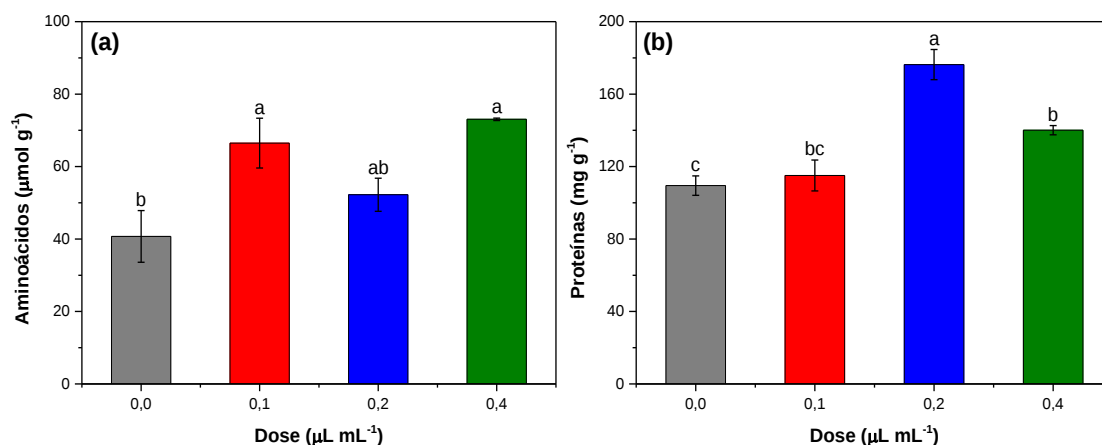


Figura 37. Teor de (a) aminoácidos e (b) proteínas por massa seca de microalga para cada tratamento com A50.

Por outro lado, detectou-se uma redução na concentração de pigmentos (**Figura 38**) e de amido (**Figura 39**). Normalmente, a principal causa da diminuição na concentração de pigmentos em microalgas é o estresse por luz e temperatura, no entanto, essas condições foram rigorosamente controladas durante o experimento. Outros fatores como pH, salinidade, pesticidas, metais pesados e limitação nutricional também podem influenciar, mas pH, salinidade e metais pesados podem ser descartados devido ao ambiente controlado do experimento, restando pesticidas e limitação nutricional como possíveis causas.⁷¹ Se a nanopartícula estivesse provocando algum tipo de fitotoxicidade, isso seria evidente em outros parâmetros de avaliação, como um impacto negativo no crescimento das microalgas, o que não foi observado. Considerando o aumento do crescimento e das concentrações de biomassa, aminoácidos e proteínas, é plausível que haja um estresse por falta de nutrientes, uma vez que teriam sido consumidos em maior quantidade devido ao aumento de biomassa. Já que não foi realizada a contagem de células no experimento, não é possível determinar se o aumento observado na biomassa resultou de um aumento no número de células ou no tamanho das células. Se o aumento do tamanho das células for o fator predominante, isso poderia explicar a maior quantidade de biomassa observada com uma menor concentração de pigmentos. Quanto à redução na concentração de amido, que em microalgas atua como reserva de carbono e energia, esta pode ter sido mobilizada e consumida na produção de aminoácidos e proteínas, processos cujas rotas de síntese foram favorecidas pela aplicação da nanopartícula. Além disso, o amido também é consumido em condições de estresse, incluindo estresse nutricional.⁷²

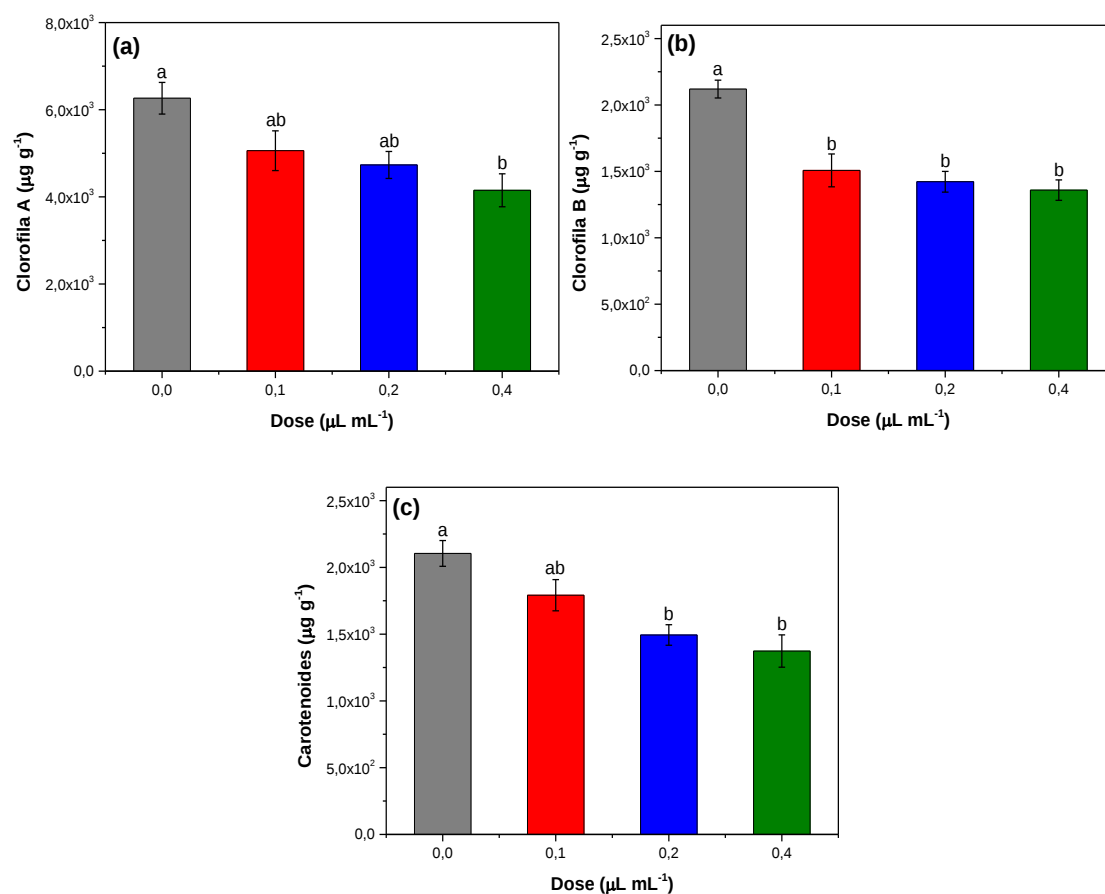


Figura 38. Teor dos pigmentos (a) Clorofila a, (b) Clorofila b e (c) Carotenoides por massa seca de microalga para cada tratamento com A50.

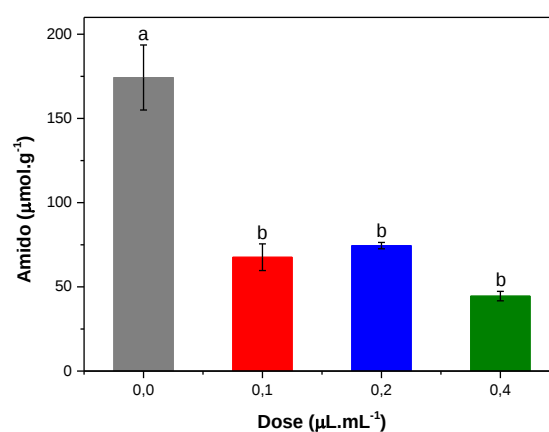


Figura 39. Teor de amido por massa seca de microalga para cada tratamento com A50.

5. Conclusões e perspectivas

Os Cdots **A30** e **A50** foram sintetizados com sucesso utilizando ácido cítrico, ureia e sacarose em água, por meio da técnica de síntese *bottom-up*. Ambas as nanopartículas sintetizadas exibiram características luminescentes com diferenças significativas nos seus comprimentos de onda de absorção, excitação e emissão quando comparadas à Arbolina[®], possuindo transições muito mais energéticas.

As nanopartículas **A30** e **A50** demonstraram aumento na absorção de nutrientes nas plantas em que foram aplicadas de maneira foliar, sendo a **A50** a mais promissora por gerar um aumento significativo na concentração de ferro, tornando-a o foco deste trabalho. Ao analisar as características fotoluminescentes da **A50**, foi determinado que seu comprimento de onda de máxima absorção está em 277 nm, o comprimento de onda de 320 nm de excitação resulta na maior emissão em 400 nm. O imageamento por HRTEM tornou possível a determinação de seu tamanho médio de partícula, além de expor evidências que indicam que a **A50** é um CQD. Análises de *quenching* de luminescência puderam evidenciar sua concentração de máxima emissão, e interações com cátions de importantes nutrientes, junto a seus possíveis mecanismos de *quenching*.

Análises de XPS e TPD tornaram possível a caracterização de sua superfície, evidenciando a maior quantidade de oxigênio e nitrogênio na **A50** em comparação com a Arbolina. Notou-se que o oxigênio de sua superfície está compondo principalmente álcoois aromáticos e grupos carboxila.

O acompanhamento da reação de síntese da **A50** demonstrou que seus grupos absorvedores no UV-Vis começam a se formar já nos primeiros 15 minutos de reação, enquanto o *core* de carbono e/ou os fluoróforos se formam já ao fim da reação, com 50 minutos até atingir o máximo de intensidade de emissão em 65 minutos.

O experimento biológico de aplicação de diferentes doses da **A50** em microalgas resultou em aumento na taxa de crescimento, biomassa, produção de proteínas e aminoácidos junto ao aumento da dose de nanopartícula, com seus máximos na maior dose (0,4 $\mu\text{L mL}^{-1}$). Apesar de ter resultado na diminuição de pigmentos, devido a déficit nutricional ou por conta de um possível aumento do tamanho das células. Notou-se também uma diminuição na concentração de amido, cuja causa mais provável seria a

sua utilização como fonte de energia para a síntese de proteínas e aminoácidos, cujas rotas foram favorecidas, ou até mesmo por conta de estresse nutricional.

Um acompanhamento da sua reação de síntese por espectrometria de massas pode tornar possível um melhor entendimento de sua reação e mecanismo. Embora com seu foco sendo o desenvolvimento de um produto agrícola, o próximo passo é o teste de sua atividade em casa de vegetação, para avaliar seu comportamento em estágios mais avançados de crescimento vegetativo. Para entender melhor suas interações com as plantas, uma análise de metabolômica será muito útil, tornando possível o estudo do impacto nos metabólitos dentro da planta. Esse tipo de análise, facilitaria a determinação das culturas e momentos de aplicação ideais para **A50**.

6. Referências

- (1) Rahim, M.; Rizvi, S. M.; Iram, S.; Khan, S.; Bagga, P. S.; Khan, M. S.: Interaction of green nanoparticles with cells and organs. In *Inorganic Frameworks as Smart Nanomedicines*; Elsevier, 2018; pp 185-237.
- (2) Kroto, H. W.; Heath, J. R.; O'Brien, S. C.; Curl, R. F.; Smalley, R. E. C60: Buckminsterfullerene. *Nature* **1985**, *318*, 162-163.
- (3) Santos, L. J. d.; Rocha, G. P.; Alves, R. B.; Freitas, R. P. d. Fulereo [C60]: química e aplicações. *Quím. Nova* **2010**, *33*, 680-693.
- (4) Hong, G.; Diao, S.; Antaris, A. L.; Dai, H. Carbon nanomaterials for biological imaging and nanomedicinal therapy. *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 10816-10906.
- (5) Iijima, S. Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature* **1991**, *354*, 56-58.
- (6) Rafiee, R.; Moghadam, R. M. On the modeling of carbon nanotubes: a critical review. *Compos. B Eng.* **2014**, *56*, 435-449.
- (7) Novoselov, K. S.; Geim, A. K.; Morozov, S. V.; Jiang, D.-e.; Zhang, Y.; Dubonos, S. V.; Grigorieva, I. V.; Firsov, A. A. Electric field effect in atomically thin carbon films. *Science* **2004**, *306*, 666-669.
- (8) Holmannova, D.; Borsky, P.; Svadlakova, T.; Borska, L.; Fiala, Z. Carbon nanoparticles and their biomedical applications. *Appl. Sci.* **2022**, *12*, 7865.
- (9) Mukherjee, P.; Chakraborty, A.; Chakraborty, M.; Mukhopadhyay, G. Carbon Dot-An Updated Review. *Int. J. Pharm. Investig.* **2022**, *12*.
- (10) Xu, X.; Ray, R.; Gu, Y.; Ploehn, H. J.; Gearheart, L.; Raker, K.; Scrivens, W. A. Electrophoretic analysis and purification of fluorescent single-walled carbon nanotube fragments. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 12736-12737.
- (11) Cayuela, A.; Soriano, M.; Carrillo-Carrión, C.; Valcárcel, M. Semiconductor and carbon-based fluorescent nanodots: the need for consistency. *Chem. Commun.* **2016**, *52*, 1311-1326.
- (12) Ozyurt, D.; Al Kobaisi, M.; Hocking, R. K.; Fox, B. Properties, synthesis, and applications of carbon dots: A review. *Carbon Trends* **2023**, *12*, 100276.
- (13) Liu, M. L.; Chen, B. B.; Li, C. M.; Huang, C. Z. Carbon dots: synthesis, formation mechanism, fluorescence origin and sensing applications. *Green Chem.* **2019**, *21*, 449-471.
- (14) Takagahara, T.; Takeda, K. Theory of the quantum confinement effect on excitons in quantum dots of indirect-gap materials. *Phys. Rev. B* **1992**, *46*, 15578.
- (15) Jing, H. H.; Bardakci, F.; Akgöl, S.; Kusat, K.; Adnan, M.; Alam, M. J.; Gupta, R.; Sahreen, S.; Chen, Y.; Gopinath, S. C. Green carbon dots: Synthesis, characterization, properties and biomedical applications. *J. Funct. Biomater.* **2023**, *14*, 27.
- (16) Bruno, F.; Sciortino, A.; Buscarino, G.; Soriano, M. L.; Ríos, Á.; Cannas, M.; Gelardi, F.; Messina, F.; Agnello, S. A comparative study of top-down and bottom-up carbon nanodots and their interaction with mercury ions. *Nanomaterials* **2021**, *11*, 1265.
- (17) Du, Y.; Guo, S. Chemically doped fluorescent carbon and graphene quantum dots for bioimaging, sensor, catalytic and photoelectronic applications. *Nanoscale* **2016**, *8*, 2532-2543.

- (18) Mansuriya, B. D.; Altintas, Z. Carbon Dots: Classification, properties, synthesis, characterization, and applications in health care—An updated review (2018–2021). *Nanomaterials* **2021**, *11*, 2525.
- (19) Radhakrishnan, K.; Panneerselvam, P.; Marieeswaran, M. A green synthetic route for the surface-passivation of carbon dots as an effective multifunctional fluorescent sensor for the recognition and detection of toxic metal ions from aqueous solution. *Anal. Methods* **2019**, *11*, 490-506.
- (20) Sahu, S.; Behera, B.; Maiti, T. K.; Mohapatra, S. Simple one-step synthesis of highly luminescent carbon dots from orange juice: application as excellent bio-imaging agents. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 8835-8837.
- (21) De, B.; Karak, N. A green and facile approach for the synthesis of water soluble fluorescent carbon dots from banana juice. *RSC Adv.* **2013**, *3*, 8286-8290.
- (22) Sharma, N.; Das, G. S.; Yun, K. Green synthesis of multipurpose carbon quantum dots from red cabbage and estimation of their antioxidant potential and bio-labeling activity. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2020**, *104*, 7187-7200.
- (23) Wang, L.; Zhou, H. S. Green synthesis of luminescent nitrogen-doped carbon dots from milk and its imaging application. *Anal. Chem.* **2014**, *86*, 8902-8905.
- (24) Sun, D.; Ban, R.; Zhang, P.-H.; Wu, G.-H.; Zhang, J.-R.; Zhu, J.-J. Hair fiber as a precursor for synthesizing of sulfur-and nitrogen-co-doped carbon dots with tunable luminescence properties. *Carbon* **2013**, *64*, 424-434.
- (25) Qu, D.; Sun, Z. The formation mechanism and fluorophores of carbon dots synthesized via a bottom-up route. *Mater. Chem. Front.* **2020**, *4*, 400-420.
- (26) Lakowicz, J. R.; Lakowicz, J. R. Introduction to fluorescence. *Principles of fluorescence spectroscopy* **1999**, 1-23.
- (27) Baker, S. N.; Baker, G. A. Luminescent carbon nanodots: emergent nanolights. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 6726-6744.
- (28) Kang, Z.; Lee, S.-T. Carbon dots: advances in nanocarbon applications. *Nanoscale* **2019**, *11*, 19214-19224.
- (29) Wang, B.; Lu, S. The light of carbon dots: From mechanism to applications. *Matter* **2022**, *5*, 110-149.
- (30) Tuerhong, M.; Yang, X.; Xue-Bo, Y. Review on carbon dots and their applications. *Chinese J. Anal. Chem.* **2017**, *45*, 139-150.
- (31) Shao, X.; Gu, H.; Wang, Z.; Chai, X.; Tian, Y.; Shi, G. Highly selective electrochemical strategy for monitoring of cerebral Cu²⁺ based on a carbon dot-TPEA hybridized surface. *Anal. Chem.* **2013**, *85*, 418-425.
- (32) Wang, Z. X.; Wang, Z.; Wu, F. G. Carbon dots as drug delivery vehicles for antimicrobial applications: a minireview. *ChemMedChem* **2022**, *17*, e202200003.
- (33) Calabrese, G.; De Luca, G.; Nocito, G.; Rizzo, M. G.; Lombardo, S. P.; Chisari, G.; Forte, S.; Sciuto, E. L.; Conoci, S. Carbon dots: an innovative tool for drug delivery in brain tumors. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 11783.
- (34) Ricci, M.; Tilbury, L.; Daridon, B.; Sukalac, K. General principles to justify plant biostimulant claims. *Front. Plant. Sci.* **2019**, *10*, 444124.
- (35) Bioestimulantes na agricultura. <https://www.codevasf.gov.br/linhas-de-negocios/agricultura-irrigada/projetos-de-irrigacao/bip/24a-edicao/bioestimulantes-na-agricultura> (accessed 18 de junho 2024).
- (36) Bulgari, R.; Cocetta, G.; Trivellini, A.; Vernieri, P.; Ferrante, A. Biostimulants and crop responses: a review. *Biol. Agric. Hortic.* **2015**, *31*, 1-17.
- (37) Jeffery, S.; Verheijen, F. G.; van der Velde, M.; Bastos, A. C. A quantitative review of the effects of biochar application to soils on crop productivity using meta-analysis. *Agric. Ecosyst. Environ.* **2011**, *144*, 175-187.

- (38) Jindo, K.; Goron, T. L.; Pizarro-Tobías, P.; Sánchez-Monedero, M. Á.; Audette, Y.; Deolu-Ajayi, A. O.; van der Werf, A.; Goitom Teklu, M.; Shenker, M.; Pombo Sudré, C. Application of biostimulant products and biological control agents in sustainable viticulture: A review. *Front. Plant. Sci.* **2022**, *13*, 932311.
- (39) Schaafsma, G. Safety of protein hydrolysates, fractions thereof and bioactive peptides in human nutrition. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2009**, *63*, 1161-1168.
- (40) Mancuso, S.; Azzarello, E.; Mugnai, S.; Briand, X. Marine bioactive substances (IPA extract) improve foliar ion uptake and water stress tolerance in potted *Vitis vinifera* plants. *Adv. Hortic. Sci* **2006**, *20*, 156-161.
- (41) Magnabosco, P.; Masi, A.; Shukla, R.; Bansal, V.; Carletti, P. Advancing the impact of plant biostimulants to sustainable agriculture through nanotechnologies. *Chem. Biol. Technol. Agric.* **2023**, *10*, 117.
- (42) Zulfiqar, F.; Moosa, A.; Ali, H. M.; Bermejo, N. F.; Munné-Bosch, S. Biostimulants: A Sufficiently Effective Tool for Sustainable Agriculture in the Era of Climate Change? *Plant Physiol. Biochem.* **2024**, 108699.
- (43) D'Angelis do ES Barbosa, C.; Corrêa, J. R.; Medeiros, G. A.; Barreto, G.; Magalhães, K. G.; de Oliveira, A. L.; Spencer, J.; Rodrigues, M. O.; Neto, B. A. Carbon dots (C-dots) from cow manure with impressive subcellular selectivity tuned by simple chemical modification. *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 5055-5060.
- (44) Horst, F. H.; da Silva Rodrigues, C. V.; Carvalho, P. H. P. R.; Leite, A. M.; Azevedo, R. B.; Neto, B. A.; Corrêa, J. R.; Garcia, M. P.; Alotaibi, S.; Henini, M. From cow manure to bioactive carbon dots: a light-up probe for bioimaging investigations, glucose detection and potential immunotherapy agent for melanoma skin cancer. *RSC Adv.* **2021**, *11*, 6346-6352.
- (45) Rodrigues, C. V.; Correa, J. R.; Aiube, C. M.; Andrade, L. P.; Galvão, P. M.; Costa, P. A.; Campos, A. L.; Pereira, A. J.; Ghesti, G. F.; Felix, J. F. Down-and up-conversion photoluminescence of carbon-dots from brewing industry waste: application in live cell-imaging experiments. *J. Braz. Chem. Soc.* **2015**, *26*, 2623-2628.
- (46) Rodrigues, J. d. S. Influência da arbolina (Carbon dots) no crescimento de alface (*Lactuca sativa* L.) cultivado em sistema hidropônico. **2023**.
- (47) Arbolina. <https://www.casabugre.com.br/marcas/krilltech/arbolina/> (accessed 13 de junho 2024).
- (48) Carrijo, O. A.; Makishima, N.; CARRIJO, O. A.; MAKISHIMA, N. Principios de hidroponia. **2000**.
- (49) Vieira, N. Q. B.; Simões, W. L.; da Silva, J. A. B.; Salviano, A. M.; da Silva, J. S.; Braga, M. B.; Guimarães, M. J. M.; Martins, M. d. S. Cultivation of yellow melon subjected to different irrigation levels and application of arbolina biostimulant. *Rev. Caatinga* **2024**, *37*.
- (50) Park, Y.; Kim, Y.; Chang, H.; Won, S.; Kim, H.; Kwon, W. Biocompatible nitrogen-doped carbon dots: synthesis, characterization, and application. *J. Mater. Chem. B* **2020**, *8*, 8935-8951.
- (51) Dawber, J.; Brown, D.; Reed, R. Acid-catalyzed hydrolysis of sucrose: a student study of a reaction mechanism. *J. Chem. Educ.* **1966**, *43*, 34.
- (52) Qian, X. Free energy surface for Brønsted acid-catalyzed glucose ring-opening in aqueous solution. *J. Phys. Chem. B* **2013**, *117*, 11460-11465.
- (53) Khoury, J. F.; Schoop, L. M. Chemical bonds in topological materials. *Trends Chem.* **2021**, *3*, 700-715.
- (54) Zargar, S. M.; Mahajan, R.; Farhat, S.; Nazir, M.; Mir, R. A.; Nazir, M.; Salgotra, R.; Mallick, S. Understanding the role of iron and zinc in animals and crop plants from genomics perspective. *Curr. Trends Biotechnol. Pharm.* **2015**, *9*, 182-196.

- (55) Wang, Z.; Xie, Y.; Lei, Z.; Lu, Y.; Wei, G.; Liu, S.; Xu, C.; Zhang, Z.; Wang, X.; Rao, L. Quantitative analysis of surface sites on carbon dots and their interaction with metal ions by a potentiometric titration method. *Anal. Chem.* **2019**, *91*, 9690-9697.
- (56) Chen, S.-H.; Lin, T.-L.: 16. Colloidal solutions. In *Methods in Experimental Physics*; Elsevier, 1987; Vol. 23; pp 489-543.
- (57) Chaudhuri, K. Concentration quenching of fluorescence in solutions. *Z. Phys.* **1959**, *154*, 34-42.
- (58) Sinha, K.; Khare, V. Role of Potassium in Plants. *Indian Farmer* **2018**, *5*, 181-186.
- (59) Wang, X.; Xie, H.; Wang, P.; Yin, H. Nanoparticles in plants: uptake, transport and physiological activity in leaf and root. *Materials* **2023**, *16*, 3097.
- (60) Zu, F.; Yan, F.; Bai, Z.; Xu, J.; Wang, Y.; Huang, Y.; Zhou, X. The quenching of the fluorescence of carbon dots: a review on mechanisms and applications. *Microchim. Acta* **2017**, *184*, 1899-1914.
- (61) Yu, P.; Wen, X.; Toh, Y.-R.; Tang, J. Temperature-dependent fluorescence in carbon dots. *J. Phys. Chem. C* **2012**, *116*, 25552-25557.
- (62) Shchukarev, A.; Korolkov, D. XPS study of group IA carbonates. *Cent. Eur. J. Chem.* **2004**, *2*, 347-362.
- (63) Nohira, H.; Tsai, W.; Besling, W.; Young, E.; Pétry, J.; Conard, T.; Vandervorst, W.; De Gendt, S.; Heyns, M.; Maes, J. Characterization of ALCVD-Al₂O₃ and ZrO₂ layer using X-ray photoelectron spectroscopy. *J. Non-Cryst. Solids* **2002**, *303*, 83-87.
- (64) N 1s for Organic Nitrogen Species. <https://www.xpsfitting.com/2015/05/n-1s-for-organic-nitrogen-species.html> (accessed 08 de dezembro 2024).
- (65) Rocha, R. P.; Pereira, M. F. R.; Figueiredo, J. L. Characterisation of the surface chemistry of carbon materials by temperature-programmed desorption: An assessment. *Catalysis Today* **2023**, *418*, 114136.
- (66) Kundu, S.; Wang, Y.; Xia, W.; Muhler, M. Thermal stability and reducibility of oxygen-containing functional groups on multiwalled carbon nanotube surfaces: a quantitative high-resolution XPS and TPD/TPR study. *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112*, 16869-16878.
- (67) Oliveira, S. d. C.; Dutra, R. C.; León, J. J.; Martins, G. A.; Silva, A. M.; Azevedo, D. C. d.; Santiago, R. G.; Ballesteros-Plata, D.; Rodríguez-Castellón, E.; Prauchner, M. J. Activated Carbon Ammonization: Effects of the Chemical Composition of the Starting Material and the Treatment Temperature. *C* **2025**, *11*, 15.
- (68) Chernyak, S.; Ivanov, A.; Strokova, N.; Maslakov, K.; Savilov, S.; Lunin, V. Mechanism of thermal defunctionalization of oxidized carbon nanotubes. *J. Phys. Chem. C* **2016**, *120*, 17465-17474.
- (69) Friedel Ortega, K.; Arrigo, R.; Frank, B.; Schlögl, R.; Trunschke, A. Acid-base properties of N-doped carbon nanotubes: a combined temperature-programmed desorption, X-ray photoelectron spectroscopy, and 2-propanol reaction investigation. *Chem. Mat.* **2016**, *28*, 6826-6839.
- (70) Chung, M.; Hu, R.; Wong, M. H.; Cheung, K. Comparative toxicity of hydrophobic contaminants to microalgae and higher plants. *Ecotoxicology* **2007**, *16*, 393-402.
- (71) Begum, H.; Yusoff, F. M.; Banerjee, S.; Khatoon, H.; Shariff, M. Availability and utilization of pigments from microalgae. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2016**, *56*, 2209-2222.

- (72) Li, T.; Gargouri, M.; Feng, J.; Park, J.-J.; Gao, D.; Miao, C.; Dong, T.; Gang, D. R.; Chen, S. Regulation of starch and lipid accumulation in a microalga *Chlorella sorokiniana*. *Bioresour. Technol.* **2015**, *180*, 250-257.

7. Anexos



Thank you for your order!

Dear Mr. Arthur Leitão,

Thank you for placing your order through Copyright Clearance Center's RightsLink® service.

Order Summary

Licensee:	Mr. Arthur Leitão
Order Date:	Jan 12, 2025
Order Number:	594666061597
Publication:	Composites Part B: Engineering
Title:	On the modeling of carbon nanotubes: A critical review
Type of Use:	reuse in a thesis/dissertation
Order Total:	0.00 USD

[View or print complete details](#) of your order and the publisher's terms and conditions.

Sincerely,

Copyright Clearance Center

Anexo 1. Permissão para uso de imagem do artigo da revista *Composites Part B: Engineering*, de título “*On the modeling of carbon nanotubes: A critical review*” concedido pelo *Copyright Clearance Center's RightsLink®*.



Thank you for your order!

Dear Mr. Arthur Leitão,

Thank you for placing your order through Copyright Clearance Center's RightsLink® service.

Order Summary

Licensee:	Mr. Arthur Leitão
Order Date:	Jan 12, 2025
Order Number:	5946660504466
Publication:	Carbon Trends
Title:	Properties, synthesis, and applications of carbon dots: A review
Type of Use:	reuse in a thesis/dissertation
Order Total:	0.00 USD

[View or print complete details](#) of your order and the publisher's terms and conditions.

Sincerely,

Copyright Clearance Center

Anexo 2. Permissão para uso de imagem do artigo da revista *Carbon Trends*, de título “*Properties, synthesis, and applications of carbon dots: A review*” concedido pelo *Copyright Clearance Center's RightsLink®*.

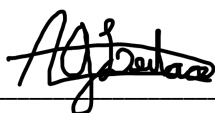
**DECLARAÇÃO DE ORIGINALIDADE DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO OU TESE DE
DOUTORADO**

Declaro que a presente dissertação/tese é original, elaborada especialmente para este fim, não tendo sido apresentada para obtenção de qualquer título e que identifico e cito devidamente todas as autoras e todos os autores que contribuíram para o trabalho, bem como as contribuições oriundas de outras publicações de minha autoria.

Declaro estar ciente de que a cópia ou o plágio podem gerar responsabilidade civil, criminal e disciplinar, consistindo em grave violação à ética acadêmica.

Brasília, 16 de junho de 2025

Assinatura do/a discente: _____



Programa: Pós-Graduação em Química

Nome completo: Arthur Guedes Leitão

Título do Trabalho: Desenvolvimento de Novos Ativos Agrícolas
a partir de Nanopartículas de Carbono

Nível: ☒ Mestrado () Doutorado

Orientador/a: Brenno Amaro da Silveira Neto