



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA E FÍSICO-QUÍMICA
CURSO DE QUÍMICA BACHARELADO

CARLA MANUELA SGANZERLA SABINO

**BIOCARVÃO-NANOTUBOS DE CARBONO: PREPARAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO
E EFEITO SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE TOMATE-CEREJA E MICRO-TOM**

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- S121b Sabino, Carla Manuela Sganzerla.
Biocarvão-nanotubos de carbono : preparação, caracterização e efeito sobre o desenvolvimento de tomate-cereja e Micro-Tom / Carla Manuela Sganzerla Sabino. – 2019.
68 f. : il. color.
- Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Curso de Química, Fortaleza, 2019.
Orientação: Prof. Dr. Diego Stéfani Teodoro Martinez.
Coorientação: Prof. Dr. Amauri Jardim de Paula.
1. Materiais carbonáceos. 2. germinação de sementes. 3. desenvolvimento de plantas. 4. mistura. 5. moagem. I. Título.

CDD 540

CARLA MANUELA SGANZERLA SABINO

BIOCARVÃO-NANOTUBOS DE CARBONO: PREPARAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E
EFEITO SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE TOMATE-CEREJA E MICRO-TOM

Monografia apresentada ao Curso de Química do Departamento de Química Analítica e Físico-Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Química.

Orientador pedagógico: Prof. Dr. Amauri Jardim de Paula

Orientador profissional: Dr. Diego Stéfani Teodoro Martinez

FORTALEZA

2019

CARLA MANUELA SGANZERLA SABINO

BIOCARVÃO-NANOTUBOS DE CARBONO: PREPARAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E
EFEITO SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE TOMATE-CEREJA E MICRO-TOM

Monografia apresentada ao Curso de Química
do Departamento de Química Analítica e
Físico-Química da Universidade Federal do
Ceará, como requisito parcial à obtenção do
título de Bacharel em Química.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Amauri Jardim de Paula (Orientador pedagógico)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr. Diego Stéfani Teodoro Martinez (Orientador profissional)
Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM)

Prof. Dr. Adonay Rodrigues Loiola (Examinador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Aos meus pais, familiares e amigos.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Ceará (UFC), pelos recursos disponibilizados e profissionais dedicados à formação profissional e pessoal.

Ao Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM), onde este Trabalho foi realizado, pela oportunidade de estágio e pela bolsa concedida.

Ao meu orientador profissional, Diego Stéfani Teodoro Martinez, pela oportunidade, orientação e aprendizado durante esta etapa.

Ao meu coorientador e amigo, Fabrício de Souza Delite, pelos ensinamentos, conselhos e companheirismo.

Ao professor Amauri Jardim de Paula pela disposição e contribuições na realização deste Trabalho.

Ao professor Mathias Strauss, pela ajuda na condução dos experimentos, interpretação de dados e apoio profissional.

Ao professor Antoninho Valentini, todo o apoio oferecido foi essencial para a tranquilidade deste ano.

Aos professores da banca examinadora, Diego Martinez, Amauri de Paula e Adonay Loiola, pela revisão e contribuições deste Trabalho.

Ao Grupo de Nanobiotecnologia e Nanotoxicologia (NBT) que tive o prazer de fazer parte. Agradeço aos colegas e amigos Aline Zigiotto, Gabriela da Silva, Fabrício Delite, Francine Côa, Leandro Bortolozzo, Lidiane Franqui, Romana Petry e Rubens Costa, por todo o apoio, ensinamentos, conversas e cafés juntos.

Ao Laboratório de Materiais Funcionais Avançados (LaMFA), especialmente à Laís Helena e à Maria Clara pelas medidas de BET e Raman realizadas.

A todos do Laboratório Nacional de Nanotecnologia (LNNano), especialmente o grupo do Laboratório de Materiais Nanoestruturados (LMN), pelos equipamentos e utensílios compartilhados e o grupo do Laboratório de Microscopia Eletrônica (LME), pelas imagens de microscopia.

Ao Laboratório Nacional de Biorrenováveis (LNBR), pelos equipamentos e utensílios disponibilizados.

À minha família, Mariluz, Carlos, Rodolfo e Penélope, pelo suporte e amor incondicional.

Ao querido Odair, pela cumplicidade e aprendizado profissional e pessoal.

Aos meus amigos do LNNano, Aline, Francine, Fabrício, Rubens, Marcos, Marcus, Ivanei e Luelc; do LNLS, Talita, Patrício, Victor e José Cláudio; e da UFC, Pablllo, Matheus, Monilson, Kevin e Bruno. Cada um tem um espaçozinho permanente no meu coração.

RESUMO

Biocarvão é um material carbonáceo sólido obtido por via pirolítica que tem sido aplicado em solos devido às suas propriedades recalcitrantes, boa capacidade de retenção de água e efeitos positivos no crescimento de culturas. Nanotubos de carbono, por sua vez, têm demonstrado potencial de aplicação no desenvolvimento vegetal e na produtividade de plantas, como o tomate-cereja, apresentando efeitos biológicos na ativação de genes de proteínas (aquaporinas), multiplicação celular, aumento das taxas de germinação e aumento do número de frutos. Desse modo, o desenvolvimento de uma mistura a partir destes dois materiais poderia proporcionar efeitos sinérgicos ou ainda o surgimento de novas propriedades. Este trabalho teve como objetivo preparar misturas de biocarvão de bagaço de cana-de-açúcar e nanotubos de carbono de paredes múltiplas (NTC) e avaliar o efeito destes materiais sobre a germinação de sementes de tomates-cereja e sobre o desenvolvimento de plantas de tomate Micro-Tom (*Lycopersicon esculentum*). O material biocarvão-NTC foi preparado a partir de misturas em diferentes proporções de biocarvão e nanotubos de carbono (25 %, 50 % e 75 % m/m) por meio de moagem em estado sólido (moinho vibratório). Análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) mostraram a interação entre os dois materiais, observando-se partículas de biocarvão totalmente recobertas e outras parcialmente por NTC, sugerindo uma mistura simples, mas sem a completa interação entre os dois materiais. Adicionalmente, a fim de elucidar as características físico-químicas dos materiais preparados e de seus precursores, os materiais foram caracterizados por meio das seguintes técnicas: análise termogravimétrica (TGA), espectroscopia Raman, difratometria de raios X (DRX) e análise de área superficial específica (S_{BET}) por adsorção de N_2 . Experimentos de adsorção de azul de metileno também foram realizados a fim de elucidar a capacidade de adsorção dos materiais produzidos. Os resultados indicaram a formação de uma mistura ao invés de um novo material, como um compósito ou um material híbrido. Os materiais não apresentaram efeitos tóxicos na germinação de sementes, assim como não foram observados efeitos positivos ou negativos no crescimento das plantas quando comparado ao controle. No entanto, no desenvolvimento das plantas, a adubação via radicular possibilitou um ganho de biomassa de 2 a 3 vezes maior em comparação ao grupo adubado via foliar.

Palavras-chave: Materiais carbonáceos, mistura, moagem, germinação de sementes, desenvolvimento de plantas.

ABSTRACT

Biochar is a carbonaceous material formed by pyrolysis, and it has been used as a soil amendment due to its recalcitrant nature, good water retention capacity and positive effects on crops development. Also, carbon nanotubes have been suggested as a promising tool in vegetal growth promotion and crops yields, e.g., grape tomato, displaying biological effects on protein gene activation (aquaporins), cell multiplication, increased germination rates and increased number of fruits. Therefore, a mixture of these materials may promote synergic effects or the development of new properties. In this study, a mixture of multi-walled carbon nanotube (CNT) and biochar (derived from sugarcane straw biomass) was produced and the potential effects on seeds germination (grape tomato) and plant development (Micro-Tom) (*Lycopersicon esculentum*) were evaluated. The biochar-CNT material was produced by biochar and carbon nanotubes mix in different ratios (25 %, 50 % e 75 % w/w) by milling in solid state (mill vibrator). Scanning electron microscopy was performed to analyze the materials interactions and the results exhibited biochar's particles totally and partially covered by CNT, suggesting a simple mixture, instead of a complete interaction between the two materials. Additionally, in order to elucidate the physicochemical characteristics of the prepared materials and their precursors, the following sample analyses were carried out: thermogravimetric analysis (TGA), Raman spectroscopy, X-ray diffraction (XRD) and surface area analysis (S_{BET}) by sorption of N_2 . The results suggest a mixture of the two materials, instead of a novel one, as a composite or a hybrid material would be. No toxic effect was observed in seeds germination and no effect was exhibited in plants growth compared to the control group. Nevertheless, in plants development experiment, radicular fertilization enable biomass enhancement 2 to 3 times compared to the group fertilized by foliar application.

Keywords: Carbonaceous materials, mixture, milling, seeds germination, plant development.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Visão frontal e posterior da sala de cultivo localizada no prédio do LNNano onde os experimentos de desenvolvimento foram realizados.....29
- Figura 2 – Imagens MEV das amostras biocarvão bruto, biocarvão moído, NTC 25 %, NTC 50 %, NTC 75 %, NTC moído e NTC bruto.31
- Figura 3 – Imagens MEV da amostra biocarvão moído a) obtida por elétrons retroespalhados e mapeamento elementar utilizando EDS e identificando b) carbono (C); c) oxigênio (O); d) magnésio (Mg); e) potássio (K); f) silício (Si) e f) alumínio (Al).34
- Figura 4 – Imagens MEV da amostra NTC moído a) obtida por elétrons retroespalhados e mapeamento elementar utilizando EDS e identificando b) carbono (C); c) oxigênio (O); d) alumínio (Al) e e) ferro (Fe).35
- Figura 5 – Curvas TGA medidas em fluxo de ar sintético e suas respectivas DTG para a) biocarvão bruto; b) biocarvão moído; c) NTC 25 %; d) NTC 50 %; e) NTC 75 %; f) NTC moído, g) NTC bruto. h) todas as amostras juntas.37
- Figura 6 – Espectros Raman para as amostras a) biocarvão bruto; b) biocarvão moído; c) NTC 25 %; d) NTC 50 %; e) NTC 75 %; f) NTC moído; g) NTC bruto.41
- Figura 7 – Deconvolução da banda “G” em G^+ e G^- dos espectros das amostras NTC bruto e NTC moído e razão entre a intensidade das bandas “D” e “G” (razão I_D/I_G) para os dois materiais.43
- Figura 8 – a) Difratogramas de raios X no intervalo de 5 a 65° (2θ) das amostras 1) bagaço de cana-de-açúcar, 2) biocarvão bruto, 3) biocarvão moído, 4) NTC 25 %, 5) NTC 50 %, 6) NTC 75 %, 7) NTC moído e 8) NTC bruto; e b) Difratogramas de raios X no intervalo de 10 a 35° (2θ) evidenciando o halo-amorfo.44
- Figura 9 – Área superficial específica (S_{BET}) calculada pelo método BET por adsorção de N_2 para as amostras biocarvão bruto, biocarvão moído, NTC 25 %, NTC 50 %, NTC 75 %, NTC moído e NTC bruto.46
- Figura 10 – Curva de calibração usada para as determinações das concentrações de azul de metileno. Curva obtida pelo método do padrão externo.48
- Figura 11 – (a) Quantidade de azul de metileno (AM) adsorvido por grama de material adsorvente e (b) porcentagem de remoção do corante. Os experimentos foram realizados a temperatura ambiente, concentração das soluções de 100 ppm e dosagem de 1 g L^{-1}51
- Figura 12 – Fotografia ilustrando a separação dos nanotubos de carbono da matriz (areia) logo

após a umidificação para os experimentos de germinação e desenvolvimento.....	53
Figura 13 - Imagens com estereomicroscópio a) e b) do substrato (areia), e c) e d) da amostra NTC 75 % misturada ao substrato na concentração de 200 $\mu\text{g g}^{-1}$ utilizada nos bioensaios.	54
Figura 14 – a) Índice de germinação; médias e desvios padrões dos dados de b) massa fresca e c) comprimento de raiz de tomates-cereja após 10 dias de crescimento em matriz contendo matéria orgânica (M.O.), biocarvão bruto, biocarvão moído, NTC 25 %, NTC 50 %, NTC 75 %, NTC moído e NTC bruto.	55
Figura 15 – Fotografias dos experimentos de desenvolvimento de tomates Micro-Tom organizados em semanas de desenvolvimento após o plantio das mudas nos substratos com matéria orgânica (MO), biocarvão bruto (B. BRT.), biocarvão moído (B. M.), NTC bruto (N. BRT.), NTC moído (N. M.), NTC 75 % (N. 75 %), NTC 50 % (N. 50 %), NTC 25 % (N. 25 %) e controle (CONT.).....	57
Figura 16 – Médias e desvios padrões da massa da parte aérea b) fresca e c) seca; da raiz d) fresca e e) seca e f) do comprimento de raiz de tomate Micro-Tom após 81 dias de crescimento em matriz contendo matéria orgânica (M.O.), biocarvão bruto, biocarvão moído, NTC bruto, NTC moído, NTC 25 %, NTC 50 % e NTC 75 %.	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Nomenclatura das amostras, proporção mássica de biocarvão e NTC e massas aliqotadas dos dois materiais para a moagem das amostras.	24
Tabela 2 – Perda de massa em porcentagem em intervalos distintos de temperatura para os materiais brutos, moídos e misturas de biocarvão e nanotubos de carbono.	38
Tabela 3 – Dados de adsorção de azul de metileno (AM) para cada material utilizado como adsorvente. Os experimentos foram realizados a temperatura ambiente, concentração das soluções de 100 ppm e dosagem de 1 g L ⁻¹	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CVD	Deposição química de vapor
DGGE	Eletroforese em gel com gradiente de desnaturação
DRX	Difratometria de raios X
EDS	Espectroscopia de energia dispersiva por raios X
ES	Elétrons secundários
FAO	Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação
FTIR	Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
NTC	Nanotubos de carbono de paredes múltiplas
NTCPS	Nanotubos de carbono de parede simples
ONU	Organização das Nações Unidas
PNUD	Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento
ppm	Concentração em parte por milhão
Q	Capacidade de remoção do adsorvente no equilíbrio (mg g^{-1})
R	Porcentagem de remoção do adsorvente no equilíbrio (%)
S_{BET}	Área superficial específica
TEM	Microscopia eletrônica de transmissão
TGA	Análise termogravimétrica
XPS	Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
2.1 Nanotubos de carbono	16
2.2 Biocarvão	17
2.3 Bioensaios envolvendo tomate como organismo modelo	19
3 OBJETIVO	21
3.1 Objetivos específicos	21
4 MATERIAIS E MÉTODOS	22
4.1 Preparação das misturas de biocarvão e nanotubos de carbono	22
4.2 Caracterização físico-química dos materiais	24
4.2.1 Microscopia eletrônica de varredura – imagens de elétrons secundários	24
4.2.2 Microscopia eletrônica de varredura – imagens de elétrons retroespalhados e espectroscopia de energia dispersiva por raios X (EDS)	25
4.2.3 Análise termogravimétrica (TGA)	25
4.2.4 Espectroscopia Raman	25
4.2.5 Difratometria de raios X (DRX)	25
4.2.6 Medidas de área superficial específica (S_{BET}) obtidas pela adsorção de N_2	26
4.2.7 Adsorção do corante catiônico azul de metileno	26
4.3 Bioensaios	27
4.3.1 Interação dos materiais com a matriz para os bioensaios	27
4.3.2 Efeito da mistura biocarvão-nanotubos de carbono sobre a germinação de sementes de tomate-cereja	27
4.3.1 Efeito da mistura biocarvão-nanotubos de carbono sobre o desenvolvimento de tomates Micro-Tom	28
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
5.1 Caracterização físico-química dos materiais	30
5.1.1 Microscopia eletrônica de varredura – imagens de elétrons secundários	30
5.1.2 Microscopia eletrônica de varredura – imagens de elétrons retroespalhados e espectroscopia de energia dispersiva por raios X (EDS)	33
5.1.3 Análise termogravimétrica (TGA)	35
5.1.4 Espectroscopia Raman	40
5.1.5 Difratometria de Raios X (DRX)	43
5.1.5 Medidas de área superficial específica (S_{BET}) obtidas pela adsorção de N_2	45
5.1.6 Adsorção do corante catiônico azul de metileno	48
5.2 Bioensaios	52

<i>5.2.1 Interação dos materiais com a matriz para os bioensaios</i>	53
<i>5.2.2 Efeito da mistura biocarvão-nanotubos de carbono sobre a germinação de sementes de tomate-cereja</i>	55
<i>5.2.3 Efeito da mistura biocarvão-nanotubos de carbono sobre o desenvolvimento de tomates Micro-Tom</i>	56
4 CONCLUSÃO	62
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	63

1 INTRODUÇÃO

Segurança alimentar é definida pela Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO, na sigla em inglês) como “a situação em que todas as pessoas, em todos os momentos, têm acesso físico, social e econômico à alimentação suficiente, segura e nutritiva que supre as suas necessidades e preferências alimentares para uma vida ativa e saudável” (FAO, 2003). Esta é uma das diretrizes do segundo objetivo global para ser alcançado até 2030 proposto pelo Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento (PNUD). Segundo dados da Organização das Nações Unidas (ONU), 821 milhões de pessoas estavam desnutridas em 2017 e em países em desenvolvimento esta parcela correspondia a 12,9 % do total da população (UN, 2018?). O aumento populacional, a manutenção das desigualdades sociais, o efeito das mudanças climáticas e o manejo impróprio de áreas agricultáveis são alguns dos desafios para que este objetivo seja alcançado.

Neste cenário, o desenvolvimento de novas tecnologias que otimizem a produção de alimentos, especialmente na agricultura, de modo que sejam integradas em um modelo de gestão que contemple viabilidade econômica, equilíbrio ambiental, desenvolvimento social e preservação das identidades culturais se faz necessário.

Um material carbonáceo, o biocarvão, tem se destacado em aplicações agrícolas no melhoramento de solos degradados ou pouco férteis, na recalcitrância de nutrientes e na retenção de água (WOOLF et al., 2010), podendo ser produzido a partir da pirólise de biomassa de plantas e animais (WANG; GAO; FANG, 2017). A produção e a estocagem de biocarvão em solos também têm sido considerada como uma alternativa para a diminuição das concentrações de CO₂ atmosférico e outros gases que contribuem para o efeito estufa. A sua produção pode ser realizada em um intervalo amplo de escalonamento, de forma que a utilização deste material é aplicável para uma variedade de condições socioeconômicas, desde o pequeno produtor rural à produção industrial.

Os nanomateriais (materiais com ao menos uma dimensão < 100 nm) tem se destacado por apresentarem propriedades que não podem ser alcançadas na forma macro (*bulk*) (MARKIEWICZ et al., 2018). Vários estudos tem demonstrado resultados positivos na aplicações de nanomateriais a base de carbono no desenvolvimento de plantas (LIN et al., 2009; ASHFAQ; VERMA; KHAN, 2017), especialmente os nanotubos de carbono (SERAG et al., 2010; ALIMOHAMMADI et al., 2011; KHODAKOVSKAYA et al., 2012; MIRALLES et al., 2012; LAHIANI et al., 2013). Foi observado que este material apresenta efeitos biológicos na

ativação de genes de proteínas (aquaporinas) (KHODAKOVSKAYA et al., 2011; VILLAGARCIA et al., 2012; LAHIANI et al., 2013), multiplicação celular (KHODAKOVSKAYA et al., 2012), diminuição do período de germinação (LAHIANI et al., 2013) e aumento do número de frutos (KHODAKOVSKAYA et al., 2013). Estes resultados são muito promissores quanto ao desenvolvimento de plantas e o aumento da produtividade das culturas.

A combinação destes dois materiais, biocarvão e nanotubos de carbono, poderia possibilitar efeitos sinérgicos ou ainda o surgimento de novas propriedades. A preparação de um novo material que atribua características diferenciadas ao emprego individual de seus precursores se alinha ao desenvolvimento de tecnologias para o melhoramento agrícola e, possivelmente, para a segurança alimentar.

Levando em consideração os aspectos apresentados, propôs-se neste Trabalho a preparação de uma mistura de biocarvão e nanotubos de carbono de paredes múltiplas por moagem no estado sólido a fim de obter um novo material para aplicações agrícolas. Os precursores e o novo material foram caracterizados e ensaios de germinação de sementes de tomates-cereja e de desenvolvimento de tomates Micro-Tom foram realizados para avaliar o seu efeito no desenvolvimento de plantas.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Biocarvão

O biocarvão é um material sólido carbonáceo poroso com alto grau de aromaticidade produzido a partir da conversão termoquímica de biomassas, como madeira, bagaço de cana-de-açúcar, cascas de plantas ou esterco de animais, em atmosferas com concentrações limitadas de oxigênio (AHMAD et al., 2014). A sua definição é variável conforme os trabalhos e a aplicação do material, mas de modo geral está relacionada a aplicações em solos. Segundo LEHMANN (2015), a diferença entre carvão e biocarvão reside no emprego do material produzido: o primeiro é utilizado para produção de combustíveis e energia, enquanto o segundo é utilizado para sequestro de carbono e em aplicações ambientais. A origem do biocarvão está relacionada aos solos férteis antropogênicos encontrados na região amazônica conhecidos como *Terra Preta de Índio*, produzidos a partir da combinação de carvão, ossos, cerâmicas e outros resíduos da população ameríndia residente no período pré-colombiano nessas regiões (LEHMANN, 2009; MCMICHAEL et al., 2014).

As aplicações ambientais mais importantes do biocarvão são: i) melhoria de solos, ii) gestão de resíduos, iii) mitigação das mudanças climáticas e iv) produção de energia (LEHMANN, 2009). Sua aplicação em solos tem demonstrado o aumento da capacidade de retenção de água (GLASER; LEHMANN; ZECH, 2002) em parte atribuído ao alto teor de carbono de sua estrutura e sua superfície hidrofóbica, e a melhoria da estrutura do solo (VERHEIJEN et al., 2010). Outras propriedades incluem a diminuição da lixiviação de nutrientes (SOHI et al., 2009), diminuição da concentração atmosférica de CO₂ e retenção de carbono no solo (WOOLF et al., 2010), o aumento das taxas de germinação de sementes, crescimento de plantas, aumento da produtividade de culturas (VERHEIJEN et al., 2010) e o desenvolvimento da comunidade microbiana (LEHMANN et al., 2011). Apesar do maior número de estudos relacionados ao melhoramento de solos decorrentes da adição de biocarvão, vários trabalhos também mostraram seu potencial de aplicação no crescimento e desenvolvimento de culturas (MEHMOOD et al., 2017).

Segundo o trabalho de XIAO et al. (2016), a aplicação de biocarvão produzido a partir da palha de milho pirolisada à 400 °C na superfície de um campo de cultura de milho (concentração de 0 a 30 t ha⁻¹, solo semi-arenoso) levou ao aumento do teor de carbono orgânico do solo, nitrogênio total, fósforo e potássio disponíveis. Ao fim do experimento, a aplicação do biocarvão resultou no aumento da biomassa da cultura e do comprimento e área superficial das

raízes. Como o desenvolvimento do sistema radicular está relacionado a absorção de nutrientes mais efetiva, estes resultados refletiram em taxas mais altas de crescimento, biomassa, produtividade de grãos e absorção de nitrogênio, fósforo e potássio com o aumento da concentração de biocarvão adicionado.

Outro estudo mostrou bons resultados no desenvolvimento de plantas de pimenta e tomate ao ser adicionado biocarvão produzido a partir da moagem de briquetes de madeira de citrus em um substrato de fibra de coco e tufo (7:3 v/v) sob condições ótimas de fertirrigação (GRABER et al., 2010). Foi observado o aumento da área das folhas, número de nós, flores e frutos assim como o desenvolvimento da microbiota na rizosfera das plantas de pimenta com a aplicação do material, enquanto nos tomates, observou-se aumento na altura das plantas e na área das folhas, mas nenhum efeito na floração e produção de frutos.

Estes resultados e outros encontrados na literatura sugerem efeitos benéficos na aplicação de biocarvão no melhoramento de solos e no desenvolvimento de culturas. A continuação destes estudos utilizando-se outros tipos de solo e interagindo com outros materiais com potencial no crescimento de plantas, é importante para a elucidação de questionamentos e o desenvolvimento de novas tecnologias.

2.2 Nanotubos de carbono

Os nanotubos de carbono foram descobertos por Endo (ENDO, 1988) e Iijima (SUMLO IJIMA, 1991), e são descritos como estruturas nanométricas cilíndricas formadas por folhas de grafeno enroladas (MASCANGIOLI; ZHANG, 2003), podendo apresentar duas formas estruturais: nanotubos de carbono de parede simples (NTCPS) e nanotubos de carbono de paredes múltiplas (NTC). Os NTCPS são formados por uma única folha de grafeno enrolada de diâmetro entre 1 e 10 nm, enquanto os NTC são formados por várias folhas cilíndricas de grafeno concêntricas com diâmetro de 15 ± 5 nm e apresentam comprimentos muito maiores que os NTCPS, variando de cinco a centenas de nanômetros (WEPASNICK et al., 2010). As folhas dos NTC são espaçadas entre 0,34 e 0,36 nm e são mantidas juntas por meio de forças de interação eletrostática fracas, do tipo força de Van der Waals.

Os três principais métodos de preparação de nanotubos de carbono são descarga por arco, ablação por laser e deposição química de vapor (CVD, da sigla em inglês “*chemical vapor deposition*”) (ZHANG et al., 2011). No terceiro processo, os nanotubos podem ser crescidos de forma alinhada em um substrato com uma camada de metal, normalmente níquel, cobalto ou ferro. Primeiramente o substrato é aquecido a aproximadamente 700 °C ou mais, em seguida, a

formação dos nanotubos é iniciada injetando-se dois tipos de gases no reator: um gás de processo ou purga, geralmente, nitrogênio, e um gás que contenha carbono, como, por exemplo, etileno ou metano. As ligações químicas do gás rico em carbono são quebradas nos sítios catalíticos e o carbono é depositado alinhando-se em formas tubulares, formando os nanotubos (JOSÉ-YACAMÁN et al., 1993; DELZEIT et al., 2002; INAMI et al., 2007).

Os nanotubos de carbono podem ser produzidos em laboratórios acadêmicos ou em larga escala em indústrias, para fins de pesquisa científica e comerciais. O custo de venda dos nanotubos de carbono tem diminuído rapidamente com o desenvolvimento tecnológico e o aumento da produção e comercialização do material (Research and Markets, 2018). No início dos anos 2000, o preço do material era tão alto quanto o preço do ouro, chegando a 45 dólares por grama, enquanto em 2013 os preços variavam entre 50 e 400 dólares por grama para os NTCPS e entre 0,1 e 25 dólares por grama para os NTC (ZHANG et al., 2013). É esperado que o mercado de nanotubos de carbono cresça de 4,55 bilhões em 2018 para 9,84 bilhões de dólares em 2023 (Research and Markets, 2018). Várias indústrias, especialmente na China, no Japão, nos Estados Unidos, na Alemanha e na Coreia, tem conseguido produzir o material em grandes quantidades (ZHANG et al., 2013). Foi reportada a capacidade de produção de 300 toneladas de NTCPS e de 7 toneladas de NTC ao ano em 2006 (ZHANG et al., 2013).

As aplicações dos nanotubos de carbono são diversas, estando presente em áreas como eletroquímica (TERRONES, 2003), armazenamento de energia (DAI et al., 2012), tratamento de água (FASANO; CHIAVAZZO; ASINARI, 2014), filmes e recobrimento (BEIGBEDER et al., 2008), dispositivos biosensores (WONG et al., 2016, 2017) e materiais de consumo como artigos esportivos (DE VOLDER et al., 2013) e vestuário (SHIM et al., 2008). Na agricultura, os nanotubos emergem como uma plataforma de pesquisa para interação com sistemas biológicos, como o desenvolvimento de plantas. Devido ao tamanho nanométrico, mesma dimensão de macromoléculas e células, e a alta reatividade bioquímica, este material consegue ser absorvido pelas raízes ou penetrar pela epiderme e estômato de folhas.

KHODAKOVSKAYA et al. (2012), interagiram NTC em diferentes concentrações (5-500 $\mu\text{g mL}^{-1}$) ao meio de crescimento (*callus culture*) de células indiferenciadas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) e observaram um aumento no crescimento celular de 55 a 64 % (quantidade de biomassa) e ausência de efeitos tóxicos mesmo na concentração mais elevada. Por espectroscopia Raman e microscopia eletrônica de transmissão (TEM), analisou-se a absorção do nanomaterial pelas células e constatou-se que novas células originadas da divisão celular receberam o NTC de suas antecessoras. Por análise de PCR em tempo real, genes ligados a montagem da parede celular e ao crescimento celular (como NtLRX1) e na regulação da

progressão do ciclo celular (como CycB) apresentaram os níveis mais altos de expressão para o tratamento com NTC. Os autores sugeriram que o nanomaterial pode promover respostas celulares similares ao observado em casos de danos físicos e estresse ambiental. A produção da proteína NtPIP1 (aquaporina), componente crucial na capacidade de absorção de água pelas raízes, germinação de sementes, alongamento celular, reprodução e fotossíntese, também foi maior para o tratamento com NTC.

O trabalho realizado por KHODAKOVSKAYA et al. (2013), mostrou que dispersões de NTC (concentrações de 50 e 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$) administrados semanalmente durante a rega de tomates crescidos em substrato orgânico comercial promoveram ligeiro aumento da altura das plantas e o dobro do número de flores e frutos. Por espectroscopia Raman, observou-se a presença de agregados do nanomaterial em estruturas das flores. A comunidade microbiana foi avaliada por eletroforese em gel com gradiente de desnaturação (DGGE) e não foi encontrado efeito tóxico advindo da exposição aos nanotubos, mas foi observada uma mudança significativa na abundância relativa dos grupos de bactérias.

Os estudos apresentados indicam o potencial de aplicação dos nanotubos de carbono no manejo e no desenvolvimento de culturas agrícolas. Desta forma, estudos com este material variando-se os meios de aplicação e os tipos de solo, em matrizes com concentração controlada de espécies reativas (e.g., O_2 , umidade, matéria orgânica, contaminantes) e interagindo com aditivos de aplicações agrícolas conhecidas (e.g., fertilizantes, biocarvão) tornam-se necessários.

2.3 Bioensaios envolvendo tomate como organismo modelo

Um modelo biológico é uma espécie não humana com dados biológicos bastante conhecidos que o torna atraente para estudar fenômenos biológicos, de forma que é esperado que as descobertas neste organismo forneçam informações sobre o funcionamento de outros organismos. Essa estratégia é possível devido à descendência comum de todos os organismos vivos e pela conservação de vias metabólicas e de desenvolvimento, bem como do material genético ao longo da evolução. Os organismos modelo fornecem esclarecimentos sobre aspectos da biologia celular, bioquímica e fisiologia como a replicação, transcrição, tradução, porque oferecem os métodos mais apurados de análise (FIELDS; JOHNSTON, 2005).

Geralmente, escolhe-se organismos que são passíveis de manipulação experimental para serem utilizados como modelo, apresentando características como tamanho pequeno, ciclo de vida curto, possibilidade de realização de técnicas de manipulação genética, facilidade no

sequenciamento do genoma (devido ao arranjo compacto do genoma ou por ter uma baixa proporção de DNA lixo, como no caso das leveduras e do baiacu), fácil acesso e de interesse econômico.

O tomate (nome científico: *Solanum lycopersicum*) é uma das mais importantes plantas vegetais do mundo, tendo sua origem na América do Sul e domesticação na América Central. É uma espécie de planta herbácea da família Solenaceae do grupo das dicotiledôneas e é um modelo biológico bastante utilizado, especialmente em estudos toxicológicos (OECD, 2003), e que possui importância econômica. Para fins de pesquisa, apresenta características importantes, do ponto de vista agrônomo, como produção de frutos carnosos, presença de crescimento simpodial e folhas compostas que não são presentes em outras plantas modelo como arroz e *Arabidopsis* (gênero de plantas que inclui indivíduos usados em biologia genética vegetal). A família Solenaceae apresenta outras plantas de valor comercial como batatas, berinjelas, pimentas, tabaco e petúnias, contribuindo para a sua importância científica, especialmente para plantas de frutos carnosos (KIMURA; SINHA, 2008).

Segundo a Lei de Proteção de Cultivares, Lei N° 9.456, cultivares são espécies de plantas que foram melhoradas devido à alteração ou introdução pelo homem de uma característica que antes não possuíam. Existem mais de 5000 cultivares diferentes do tomate, destacando-se a cultivar tomate-cereja e a cultivar anã Micro-Tom (KIMURA; SINHA, 2008). A última foi desenvolvida em 1989 por J. Scott e B. Harbaugh para fins ornamentais e utilizada como ferramenta genética em 1997 por Avrahan Levi (HCPD-LAB, 2010?). Devido ao tamanho pequeno e ciclo de vida curto (70-90 dias do plantio ao amadurecimento), esta cultivar tornou-se especialmente utilizada para experimentos mutagênicos (HCPD-LAB, 2010?) e estudos moleculares (KIMURA; SINHA, 2008).

Diante do exposto, o tomate, em suas cultivares tomate-cereja e Micro-Tom, se apresenta como uma plataforma para estudos envolvendo toxicidade e desenvolvimento de plantas, devido a sua semelhança agrônoma com outras espécies de importância econômica, e por isso sendo escolhido como organismo modelo para este Trabalho.

3 OBJETIVO

Avaliar os efeitos na germinação de sementes de tomate-cereja e no desenvolvimento de plantas de tomate Micro-Tom na aplicação da mistura biocarvão-nanotubos de carbono ao solo.

3.1 Objetivos específicos

- Preparar misturas de biocarvão e nanotubos de carbono de paredes múltiplas (NTC) em três proporções mássicas distintas (25, 50 e 75 % m/m) em moinho vibratório;
- Caracterizar as misturas resultantes utilizando técnicas clássicas (i.e. adsorção de corante catiônico) e técnicas avançadas (i.e. microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia de energia dispersiva por raios X (EDS), análise termogravimétrica (TGA), espectroscopia Raman, difratometria de raios X (DRX), análise de área superficial específica (S_{BET}));
- Avaliar os efeitos dos materiais resultantes na germinação de sementes de tomate-cereja (*Lycopersicon esculentum*) em matriz a base de areia;
- Avaliar os efeitos dos materiais resultantes sobre o desenvolvimento de plantas de tomate Micro-Tom em matriz a base de areia.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

O biocarvão utilizado neste Trabalho foi adquirido da empresa Bioware (Campinas, SP), tendo sido produzido a partir do bagaço de cana-de-açúcar moído e pirolisado em reator de leito fluidizado a 480 °C.

Os nanotubos de carbono de paredes múltiplas (NTC) foram adquiridos da empresa CNT Co. Ltd [Incheon, Coreia do Sul], da marca *Ctube 100*. O método utilizado para prepará-los foi a deposição química de vapor. Os NTC apresentam distribuição de diâmetro de 10 a 40 nm e comprimento de 1 a 25 µm.

A matriz escolhida para os experimentos de germinação de sementes de tomates-cereja e de desenvolvimento de tomates Micro-Tom foi areia composta de grãos de granulometria fina (0,053 – 0,25 mm) e de granulometria grossa (0,5 – 2,0 mm).

Os reagentes utilizados foram adquiridos das empresas Sigma-Aldrich, Merck e Synth, todos de padrão analítico e utilizados como recebidos, sem nenhum tratamento prévio. Todas as soluções foram preparadas em água destilada e as vidrarias foram devidamente aferidas antes de sua utilização.

4.1 Preparação das misturas de biocarvão e nanotubos de carbono

Para a moagem das misturas, primeiramente a densidade de empacotamento do biocarvão e dos nanotubos de carbono foi obtida. Em uma proveta de 100 mL de massa conhecida, aliquotou-se metade de seu volume com o material que se desejava obter a densidade e compactou-se o conteúdo batendo a proveta dez vezes sobre uma superfície emborrachada elevando a proveta a uma altura de aproximadamente 10 cm. Pesou-se o sistema novamente, subtraindo-se a massa inicial da proveta de modo a se obter apenas a massa do material (m) em gramas. Determinou-se o volume final (v) em centímetros cúbicos e calculou-se a densidade de empacotamento (d) em gramas por cm³ por meio da relação (Equação 1):

$$d = \frac{m}{v} \quad (1)$$

O procedimento foi realizado três vezes e as médias das densidades foram obtidas. Para o biocarvão a densidade foi de 0,328 g cm³ e para o NTC foi de 0,048 g cm⁻³.

O moinho vibratório (moinho micro pulverizador R-TE-350, TECNAL) utilizado para a moagem dos materiais individuais e na preparação das misturas possuía 162 cm³ de volume interno da câmara de moagem e uma esfera de 12 cm³, ambos feitos de aço inox AISI 304 (composição química elementar: carbono, nitrogênio, fósforo, enxofre, silício, manganês, níquel e cromo). A moagem era realizada por meio de batidas intermitentes da esfera dentro da câmara com frequência de 617 golpes por minuto.

O tempo de moagem para cada preparação foi de 15 min. Para fins comparativos do efeito da moagem, os materiais individuais também foram moídos seguindo o mesmo procedimento de preparo das misturas. As moagens foram realizadas de modo que o volume interno ocupado da câmara (V) fosse sempre dois terços do volume total, ou seja, 108 cm³. Este critério foi escolhido com o intuito de que o processo de moagem fosse o mesmo para todas as preparações. Preparou-se misturas de biocarvão e NTC nas concentrações de 25, 50 e 75 % m/m. Calculou-se a massa necessária para cada mistura com o auxílio das densidades de cada material, utilizando as seguintes relações (Equações 2, 3, 4 e 5):

$$V = V_{bioc} + V_{NTC} \quad (2)$$

$$V_{bioc} = \frac{m_{bioc}}{d_{bioc}} \quad (3)$$

$$V_{NTC} = \frac{m_{NTC}}{d_{NTC}} \quad (4)$$

$$m_{bioc} = a \times m_{NTC} \quad (5)$$

Onde “ V ” é o volume interno ocupado da câmara, sendo constante e igual a 108 cm³, “ V_{bioc} ” é o volume ocupado pela fração de biocarvão e “ V_{NTC} ” é o volume ocupado pela fração de NTC, ambos em centímetros cúbicos (cm³). “ m_{bioc} ” corresponde a massa de biocarvão e “ m_{NTC} ” corresponde a massa de NTC da mistura, ambos em gramas (g). A constante de proporcionalidade “ a ” é adimensional e corresponde a razão entre as massas de biocarvão e NTC, variando conforme as proporções das misturas. Para a mistura com 25 % de NTC, a é igual a 3; para a mistura com 50 % de NTC, a é igual a 1; e para a mistura com 75 % de NTC, a é igual a 0,333.

As alíquotas de cada material foram pesadas e transferidas para a câmara, revolvendo-se o conteúdo com auxílio de uma espátula antes e durante a moagem em intervalos de cinco minutos. O material final de cada preparo foi pesado e armazenado separadamente em frascos de plástico.

A nomenclatura das amostras e a massa de cada material utilizada para a moagem foram organizadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Nomenclatura das amostras, proporção mássica de biocarvão e NTC e massas aliqüotadas dos dois materiais para a moagem das amostras.

Nomenclatura da amostra	Moagem	Proporção mássica		Massas aliqüotadas para moagem	
		Biocarvão (%)	NTC (%)	Biocarvão (g)	NTC (g)
Biocarvão bruto	Não	100	0	-	-
Biocarvão moído	Sim	100	0	35,46	-
NTC 25 %	Sim	75	25	10,89	3,63
NTC 50 %	Sim	50	50	4,56	4,56
NTC 75 %	Sim	25	75	1,66	4,99
NTC moído	Sim	0	100	-	5,24
NTC bruto	Não	0	100	-	-

Fonte: Autoria própria.

4.2 Caracterização físico-química dos materiais

As caracterizações físico-químicas dos materiais biocarvão, biocarvão moído, nanotubos de carbono, nanotubos de carbono moído e misturas de biocarvão com NTC foram realizadas por meio de diversas técnicas de análise, de modo a se obter uma visão integrada das características morfológicas, composicionais, estruturais e texturais das amostras.

4.2.1 Microscopia eletrônica de varredura – imagens de elétrons secundários

As imagens por microscopia eletrônica de varredura foram obtidas utilizando-se um equipamento da marca Thermo Scientific modelo Helios Nanolab Dualbeam 660. Um detector de elétrons secundário (ES) foi utilizado para obtenção da análise morfológica. As amostras no estado sólido na forma de pó foram depositadas sobre uma fita de carbono e o excesso de material foi removido utilizando-se gás N₂.

4.2.2 Microscopia eletrônica de varredura – imagens de elétrons retroespalhados e espectroscopia de energia dispersiva por raios X (EDS)

Utilizou-se um detector X-Max de 80 mm² da Oxford acoplado ao microscópio eletrônico de varredura modelo Inspect F50 (FEI), sob tensão de aceleração de 20 kV para estimar a composição das amostras por mapeamento elementar. Para se observar o contraste em áreas de distribuição atômica diferentes, utilizou-se um detector de elétrons retroespalhados (BSE). O preparo das amostras foi o mesmo que o realizado para as análises de microscopia eletrônica de varredura.

4.2.3 Análise termogravimétrica (TGA)

As análises termogravimétricas foram realizadas utilizando-se um equipamento STA 449 F3 da marca Netzsch (Alemanha). Para minimizar os efeitos de transferência de calor e de massa, procurou-se utilizar 5 mg de amostra em todas as análises. As alíquotas foram acondicionadas em cadinho de alumina (Al₂O₃) e aquecidas sob um intervalo de temperatura de 35 a 900 °C, a uma taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹ sob fluxo de ar sintético de 20 mL min⁻¹.

4.2.4 Espectroscopia Raman

Os espectros Raman foram obtidos a partir de um espectrômetro Raman modelo LabRAM HR da marca HORIBA equipado com um microscópio ótico e um detector CCD resfriado com nitrogênio líquido. Foi utilizado laser de hélio-neônio (He-Ne) para excitação de 1,96 eV (633 nm).

4.2.5 Difratomia de raios X (DRX)

Os difratogramas dos materiais foram coletados em temperatura ambiente com varredura de 5° a 65° (2θ), velocidade angular de 0,02° s⁻¹ utilizando um difratômetro de raios X modelo D8 Advance da marca Bruker. Utilizou-se a radiação K_α do Cu (λ=0,15406 nm) gerada a 40 kV e 25 mA. A identificação das fases foi realizada utilizando o programa X'pert Highscore Plus.

4.2.6 Medidas de área superficial específica (S_{BET}) obtidas pela adsorção de N_2

As áreas superficiais específicas (S_{BET}) foram calculadas utilizando-se a equação de Braunauer-Emmett-Teller (BET) a partir da isoterma de adsorção de N_2 . A análise foi realizada a 77 K utilizando-se o equipamento BELsorp Mini II da marca BEL Japan sob uma cela de volume constante. Previamente as medidas, 100 mg das amostras foram tratadas a 120 °C por 14 h sob fluxo de N_2 .

4.2.7 Adsorção do corante catiônico azul de metileno

Previamente aos experimentos de adsorção, construiu-se uma curva de calibração pelo método do padrão externo utilizando-se soluções de 0,1; 0,5; 1,0 e 3,0 ppm de azul de metileno (AM) ($C_{16}H_{18}ClN_3S \cdot 3H_2O$, Sigma-Aldrich) diluídas a partir de uma solução estoque de 1000 ppm. As soluções foram analisadas por espectroscopia de absorção no UV-Visível (Espectrômetro UV-Vis Agilent 8453) no intervalo de comprimento de onda de 200 a 800 nm utilizando-se uma cubeta de quartzo de 4 mL de volume e 1 cm de comprimento ótico. Para a construção da curva, utilizou-se a absorbância máxima de cada espectro em 665. Por regressão linear, obteve-se a equação da reta a seguir (Equação 6):

$$y = 0,24581x - 0,00633 \quad (6)$$
$$R^2 = 0,9999$$

Os experimentos de adsorção foram conduzidos em duplicata com os materiais individuais, moídos e as misturas (NTC 25 %, NTC 50 % e NTC 75 %). Para minimizar os erros provenientes das diluições, teve-se o cuidado de utilizar a mesma solução estoque da curva de calibração para os experimentos de adsorção. Pesou-se 25 mg de cada material em erlenmeyers de 250 mL e em cada um transferiu-se 25 mL de uma solução de aproximadamente 100 ppm de azul de metileno. Os frascos foram postos em uma mesa agitadora orbital (TECNAL, TE-4200) a 25 °C e mantidos sob agitação a 200 rpm por 4 h. Em seguida, 1,5 mL da dispersão foram aliqotados em tubos de microcentrífuga de 2 mL e centrifugados a 20817 G por 10 min a 4 °C (Centrífuga Eppendorf 5810 R). O sobrenadante foi aliqotado e armazenado ao abrigo da luz e sob refrigeração até as análises. O mesmo procedimento foi realizado substituindo-se a solução de AM por água destilada e, para todos os materiais, a absorbância no comprimento de onda de interesse foi praticamente nula (dentro do erro do

equipamento). Alíquotas dos sobrenadantes foram diluídas cinquenta vezes e a solução resultante foi analisada por espectroscopia de absorção no UV-Vis no intervalo de 200 a 800 nm. As concentrações de azul de metileno inicial (C_o) e final (C_f) em ppm foram determinadas utilizando-se a curva de calibração. A quantidade adsorvida de azul de metileno em miligramas por grama de material (Q) foi calculada pela fórmula a seguir (Equação 7):

$$Q = \frac{C_o - C_f}{m} V \quad (7)$$

onde “ m ” é a massa do adsorvente em gramas e “ V ” é o volume da solução de azul de metileno em litros (L).

4.3 Bioensaios

4.3.1 Interação dos materiais com a matriz para os bioensaios

A matriz escolhida para os bioensaios, areia comercial, foi seca em estufa a 60 °C por 48 h em bandejas de aço e, após atingir temperatura ambiente, foi peneirada com peneira granulométrica (BERTEL) de malha de 2 mm (ASTM 10 mesh). Adicionou-se à matriz seca e peneirada cada material (biocarvão bruto, biocarvão moído, nanotubo bruto, nanotubo moído, NTC 25 %, NTC 50 % e NTC 75 %) e em seguida a mistura foi umidificada para o crescimento das plantas. Para a interação, utilizando sacola plástica com feche, agitou-se por 3 min alíquotas de cada material na matriz com concentração de 200 $\mu\text{g g}^{-1}$ de areia. O conteúdo foi transferido para cristalizadores de vidro e adicionou-se aos poucos 37 % do volume de água da capacidade de retenção da matriz, homogeneizando-se a mistura. Foi utilizado a matriz seca, peneirada e umidificada como controle. Para efeitos comparativos, em outro grupo misturou-se a areia com adubo orgânico comercial (fertilizante orgânico classe A, bokashi, da marca Biomix®) na mesma concentração e modo de interação que realizado com os materiais.

4.3.2 Efeito da mistura biocarvão-nanotubos de carbono sobre a germinação de sementes de tomate-cereja

Os experimentos de germinação com sementes de tomate-cereja foram realizados com o objetivo de avaliar os efeitos sobre a germinação das sementes. Para estes experimentos,

100 sementes foram escolhidas e umidificadas para iniciar o processo de embebição do embrião. Os substratos contendo a matriz e os materiais foram preparados como descrito na seção 4.3.1 na concentração de $200 \mu\text{g g}^{-1}$ de areia para cada material e para o adubo orgânico. O substrato foi homogeneizado e espalhado no cristalizador para que as sementes pudessem ser adicionadas. Com auxílio de uma pinça, dispôs-se as sementes uma a uma sobre a mistura respeitando-se uma distância mínima de 1 cm entre elas. Borrifou-se o sistema com água, vedou-se com plástico filme para a retenção de umidade e incubou-se em uma câmara de germinação (B.O.D. Eletrolab Mod. EL202/4G) com temperatura de $20 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ dia/noite e fotoperíodo de 16 h claro e 8 h escuro por 10 dias. A rega foi realizada com o auxílio de um borrifador quando necessário observando-se a umidade do solo.

Decorrido este tempo, mediu-se o índice de germinação, a massa fresca e o comprimento de raiz de 20 plântulas. Este último foi medido por meio de fotos das plântulas e com o auxílio do software ImageJ (versão 1.52r).

4.3.3 Efeito da mistura biocarvão-nanotubos de carbono sobre o desenvolvimento de tomates Micro-Tom

Com o intuito de separar as fases de germinação e de desenvolvimento das plantas, as sementes de Micro-Tom foram germinadas em um substrato diferente do utilizado para os experimentos de desenvolvimento. As sementes foram primeiramente semeadas em uma mistura de substrato orgânico (Soilfert®, terra vegetal) e vermiculita (mistura 1:1 em volume) com adição de 1 g de NPK 10:10:10 e 4 g de calcário dolomítico (formado principalmente por CaO e MgO) por litro de substrato e germinadas por um período de 20 dias. Em seguida, as plântulas foram desbastadas com auxílio de uma espátula e transferidas uma a uma para vasos de 50 mL de plástico com furos e papel de filtro no fundo contendo os substratos preparados como descrito na seção 4.3.1. Utilizou-se a concentração de $200 \mu\text{g g}^{-1}$ de cada material em areia e para o adubo orgânico e 10 plantas para cada substrato. Todo o experimento foi realizado em uma sala de cultivo localizada no prédio do LNNano/CNPEM com temperatura de $25 \pm 6 \text{ }^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 16 horas claro e 8 horas escuro. A sala e os experimentos de desenvolvimento são mostrados na Figura 1. As plantas eram regadas diariamente com 4 a 7 mL de água por vaso.

Figura 1 – Visão frontal e posterior da sala de cultivo localizada no prédio do LNNano onde os experimentos de desenvolvimento foram realizados.



Fonte: A autoria própria.

A partir da segunda semana após o replante, as plantas começaram a ser adubadas semanalmente (sempre às segundas-feiras) com solução para adubação Peters NPK 20:20:20 (concentração $1,4 \text{ g L}^{-1}$) de duas formas diferentes: cinco plantas eram adubadas via aplicação foliar (método do gotejamento e protegendo o solo de respingos provenientes da adubação) e as outras cinco aplicando-se 4 mL do fertilizante diretamente no substrato. Esta separação tinha como intuito avaliar o efeito da interação dos materiais com o adubo administrado. No restante deste trabalho, os dois grupos serão denominados *adubação foliar* e *adubação radicular*, respectivamente. A partir da segunda semana após o replante, passou-se a reaplicar semanalmente (sempre às quartas-feiras) os materiais que compunham o substrato administrando-se dispersões de concentração $2,5 \text{ mg mL}^{-1}$ em cada vaso. As dispersões eram preparadas com alíquotas de cada material dispersos em água e sob agitação a 250 rpm em uma mesa orbital (TECNAL, TE-4200) por 30 min. As dispersões foram preparadas de modo a se administrar o material sob a concentração de $200 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ de areia. É importante destacar que as dispersões não eram estáveis em água e que assim a quantidade aplicada de cada material era aproximada.

Após 81 dias desde o plantio (germinação das sementes), as plantas foram removidas dos vasos e foram feitas as medidas de massa da parte aérea e da parte radicular (frescas e secas) e do comprimento de raiz de três plantas de cada grupo. Este último foi medido por meio de fotos das plantas e com o auxílio do software ImageJ (versão 1.52r).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão apresentados e discutidos os resultados obtidos a partir das caracterizações dos materiais precursores brutos e moídos e das misturas de biocarvão e nanotubos de carbono. Em seguida, o mesmo será realizado para os resultados dos bioensaios de germinação de tomates-cereja e do desenvolvimento de tomates Micro-Tom conduzidos utilizando a matriz formada pela mistura dos materiais e areia comercial.

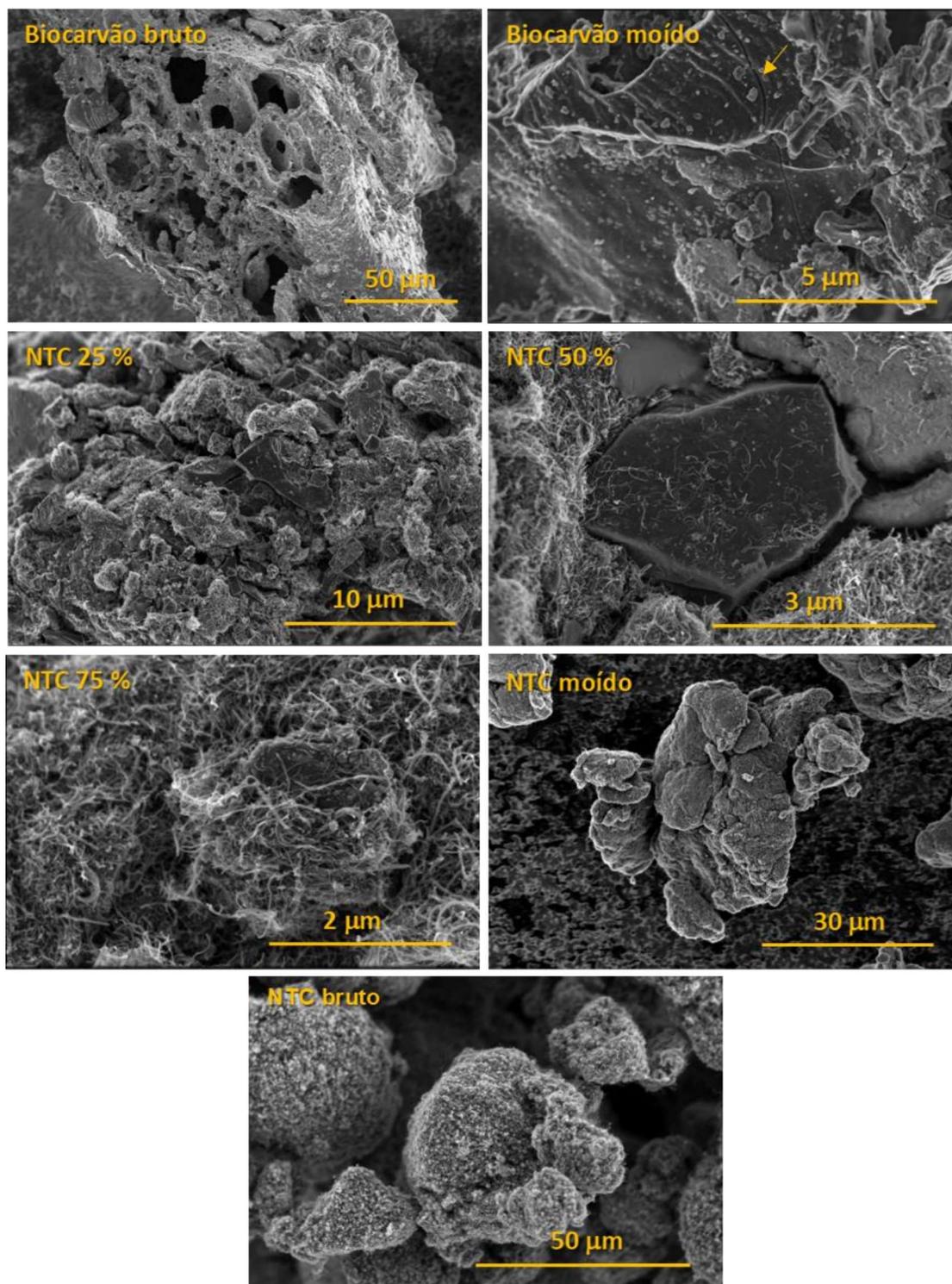
5.1 Caracterização físico-química dos materiais

5.1.1 Microscopia eletrônica de varredura – imagens de elétrons secundários

A microscopia eletrônica de varredura foi utilizada neste trabalho para observar o tamanho e a morfologia das partículas da mistura de biocarvão e NTC e comparar com os materiais precursores a fim de verificar o efeito da moagem sobre as partículas das amostras preparadas. Como estas duas características são distintas para os dois materiais (biocarvão e nanotubos), esta técnica permitiu obter uma visualização da interação existente na mistura, sendo por isso escolhida para dar início a discussão dos resultados.

A Figura 2 mostra as imagens MEV dos materiais precursores, dos materiais precursores moídos e das misturas. Pode ser observado que o biocarvão apresenta partículas grandes da ordem de centenas de micrômetros com superfícies irregulares, rugosas e com poros de diferentes tamanhos. É observado na literatura que biocarvões provenientes de tratamentos pirolíticos de biomassa apresentam partículas de morfologia similar ao material de origem (BREWER et al., 2009; LV et al., 2010; PENG et al., 2011). Pode ser observada na imagem MEV do biocarvão a retenção das morfologias fibrosa e medular tipicamente encontradas em imagens de microscopia eletrônica de bagaço de cana-de-açúcar. Além disso, durante a conversão térmica, grande quantidade de matéria volátil é desprendida do material em um intervalo curto de tempo, de modo que o material sólido sofre várias deformações que contribuem para o surgimento da sua superfície irregular (LV et al., 2010), fragmentação e a formação de macroporos (SCALA; CHIRONE; SALATINO, 2006; LV et al., 2010). Isso pode ser observado pelas diferenças morfológicas entre biocarvões de mesma matéria prima, mas produzidos em condições pirolíticas diferentes (e.g., rampa de aquecimento, temperatura, tempo de pirólise, fluxo de gás inerte).

Figura 2 – Imagens MEV das amostras biocarvão bruto, biocarvão moído, NTC 25 %, NTC 50 %, NTC 75 %, NTC moído e NTC bruto.



Fonte: autoria própria.

As imagens MEV do biocarvão moído indicaram a diminuição no tamanho de partículas. Adicionalmente, também pode ser observado nesta imagem a presença de fendas

(indicado pela seta amarela). Estas fendas não necessariamente poderiam ser atribuídas à moagem do material, já que podem ter sido originadas do processo de pirólise como observado em outros trabalhos (MUKOME et al., 2013; LISOWSKI et al., 2017). Por questões de amostragem, partículas com fendas podem não ter sido observadas no biocarvão bruto.

Na imagem MEV da amostra NTC bruto, pode ser observado que os nanotubos se encontram “emaranhados” e formando agregados de dezenas de micrômetros. Foram encontrados alguns nanotubos individualizados e não foram observadas formações de feixes (*bundles*) nesta análise. Após a moagem, observou-se um efeito de encurtamento dos nanotubos e o aparecimento de agregados menores, da ordem de poucos micrômetros. Os resultados sugerem que a moagem dos nanotubos proporcionou o surgimento de partículas menores em relação aos agregados iniciais do NTC bruto e alargamento na distribuição do tamanho de partículas. ZAPATA-MASSOT e LE BOLAY (2008) observaram efeitos semelhantes em um estudo da população de agregados em função do tempo de moagem de NTC em moinho de bolas horizontal. Nos primeiros 15 min de moagem, as populações maiores (com tamanho médio de 35 μm) eram quebradas em partículas menores. Após 75 min de moagem, as partículas maiores não eram mais encontradas e a amostra era formada predominantemente por partículas intermediárias (5 a 10 μm). Após 6 h, partículas com tamanhos inferiores a 7 μm formavam 90 % da amostra.

Assim como os materiais puros moídos, as misturas também apresentaram partículas menores que os materiais brutos. Os nanotubos ainda se encontraram emaranhados e na forma de agregados e o biocarvão apresentou as fendas observadas no biocarvão moído. É possível observar que parte das partículas do biocarvão se apresentaram cobertas pelos agregados de NTC, enquanto outras apresentaram apenas nanotubos isolados aderidos em sua superfície. Não foram encontrados na literatura outros trabalhos que tenham interagido nanotubos de carbono com biocarvão por métodos mecânicos. INYANG et al. (2014) e (2015) fizeram interação dos dois materiais impregnando nanotubos de carbono à biomassa e depois submetendo a mistura à pirólise, mas não descreveram as propriedades morfológicas do material produzido. Outros trabalhos fizeram a interação de grafeno com biocarvão (ROLDAN et al., 2012) e grafite com carvão hidrotérmico (ZHANG et al., 2012) incorporando o grafeno e o grafite, respectivamente, ao precursor de partida antes dos tratamentos térmicos. Pelas imagens MEV destes trabalhos, sugere-se que os materiais resultantes apresentavam os dois materiais bem ancorados um ao outro, indicando fazer parte de uma mesma matriz.

A análise das imagens MEV das amostras do presente Trabalho, sugere que os dois materiais mantiveram suas morfologias de origem, indicando a formação de uma mistura

simples em detrimento à formação de um novo material compósito ou híbrido.

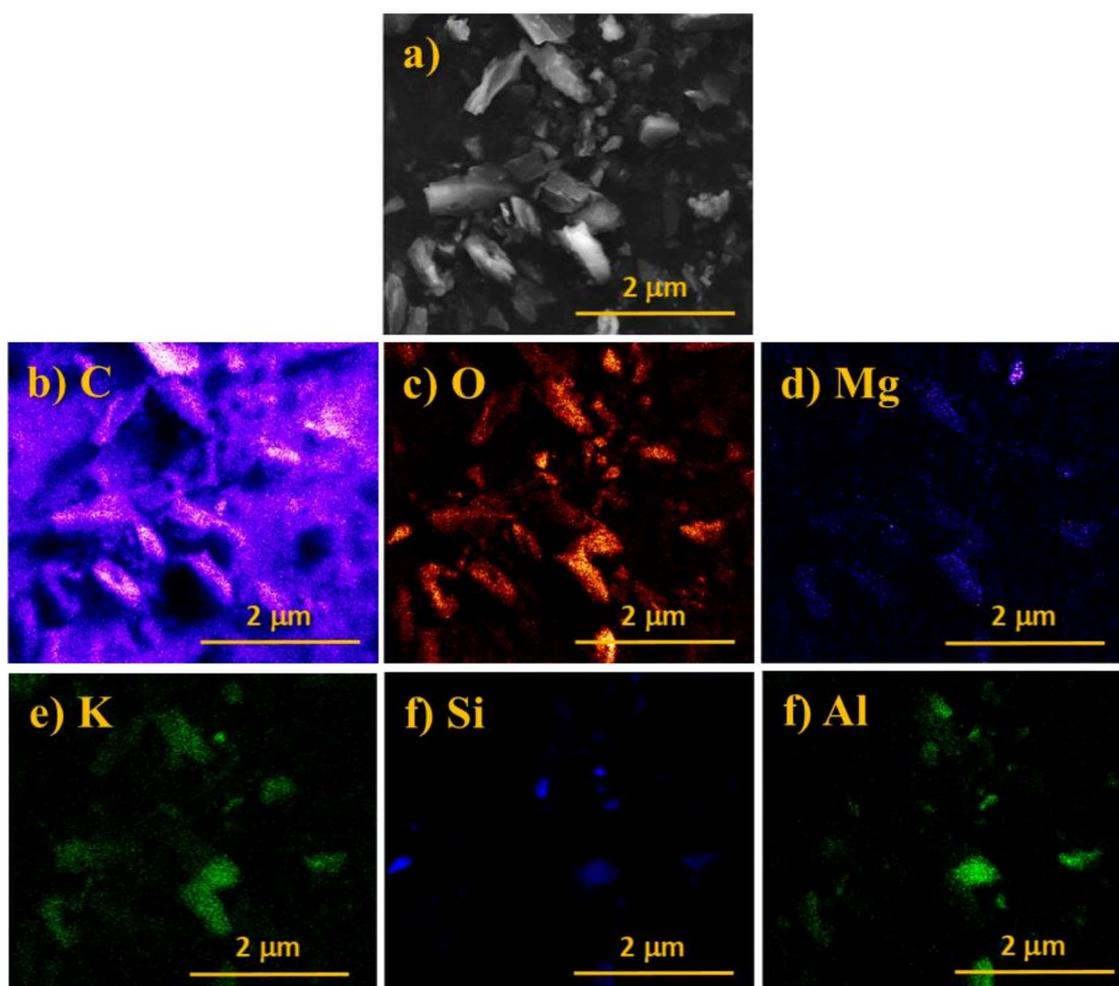
5.1.2 Microscopia eletrônica de varredura – imagens de elétrons retroespalhados e espectroscopia de energia dispersiva por raios X (EDS)

Com o intuito de identificar os elementos mais abundantes existentes na amostra e possivelmente relacionar aspectos morfológicos de uma determinada partícula a sua composição elementar, realizou-se medidas de mapeamento elementar utilizando um detector de energia dispersiva de raios X (EDS). Imagens de MEV também foram obtidas por elétrons retroespalhados (BSE) para se obter uma estimativa da distribuição de elementos diferentes na área analisada. Nestas imagens, a intensidade do sinal obtido pelo espalhamento dos elétrons refletidos na amostra depende do número atômico (Z) do elemento, respondendo pelo contraste na imagem. Escolheu-se por apresentar neste Trabalho as imagens das amostras de biocarvão moído e NTC moído por estas serem representativas dos dois materiais de estudo e dos elementos que possam ter sido acrescentados após a moagem (devido ao desgaste da câmara de moagem).

A Figura 3a foi obtida por elétrons retroespalhados da amostra de biocarvão moído. As partículas mais escuras possivelmente representam a fração do biocarvão formada predominantemente por materiais carbonáceos enquanto as partículas em tom mais claro podem ser impurezas inorgânicas presentes na amostra. A Figura 3b-f mostra imagens de mapeamento elementar da mesma amostra para os elementos C, O, Mg, K, Si e Al. Pode-se identificar o elemento carbono amplamente distribuído na região analisada e em menor proporção o oxigênio. Parte do carbono possivelmente pertence aos constituintes ricos em carbono do carvão pirolisado a partir do bagaço de cana-de-açúcar (principalmente hemicelulose, celulose e lignina). A amostra foi depositada em fita de carbono, deste modo, espera-se observar também contribuição da fita no mapa deste elemento. Por outro lado, o oxigênio observado poderia ser proveniente dos grupos funcionais oxigenados da superfície dos materiais, já que o poder de penetração dos elétrons na amostra para a voltagem de 20 kV é da ordem de 100 nm (ZHANG et al., 2012), e também devido à presença de óxidos inorgânicos na amostra. Adicionalmente, também foram encontrados os elementos Na, Mg, P, S, Cl, K, Ca, Si, Al, Ti, Cu e Fe. Alguns destes elementos são macro (Mg, P, S, K, Ca) e micronutrientes (Cl, Cu, Fe) essências para o desenvolvimento das plantas. O Al em altas concentrações pode causar toxicidade em plantas, mas este efeito normalmente é mais pronunciado em solos ácidos pelo aumento da solubilidade do seu cátion correspondente. A observação destes elementos no biocarvão pode ter sua origem

na composição da biomassa, assim como, em solo remanescente junto à biomassa quando realizada sua coleta. A partir da análise composicional, pode-se concluir que a contribuição de elementos vindos do desgaste do moinho é irrisória, já que o limite de detecção para a técnica de EDS é da ordem de ppm, e que a presença de metais que possam apresentar efeitos tóxicos ao desenvolvimento de plantas é pouco provável.

Figura 3 – Imagens MEV da amostra biocarvão moído a) obtida por elétrons retroespalhados e mapeamento elementar utilizando EDS e identificando b) carbono (C); c) oxigênio (O); d) magnésio (Mg); e) potássio (K); f) silício (Si) e f) alumínio (Al).



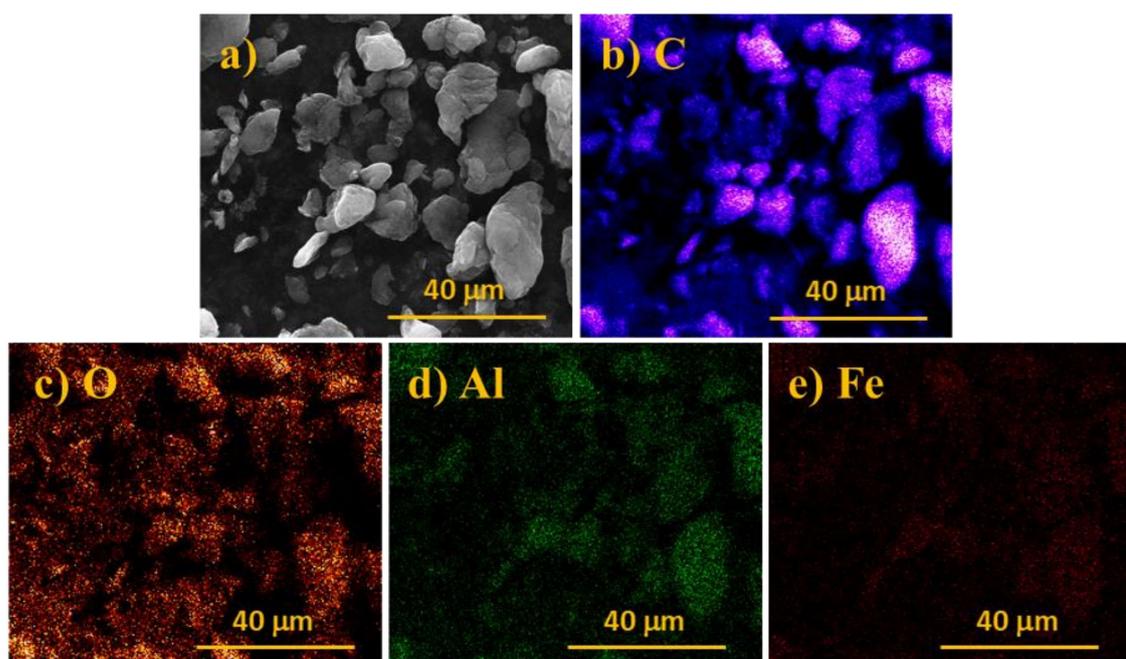
Fonte: autoria própria.

Destaca-se o alto percentual de Si encontrado, podendo ser proveniente de óxidos de silício presentes no solo e como fitólitos, partículas de sílica amorfas precipitadas nas células de plantas (CONLEY, 2002). Apesar do grande número de trabalhos que atestam os benefícios do Si na agricultura, este não é considerado um elemento essencial, estando presente na epiderme foliar, na endoderme de raízes e em membranas celulares, podendo auxiliar na

sustentação, defesa e desintoxicação (GUNTZER; KELLER; MEUNIER, 2012).

A Figura 4a mostra a imagem de microscopia por elétrons retroespalhados da amostra NTC moído. Observa-se que os aglomerados de nanotubos estão identificadas com um contraste mais claro. A Figura 4b-f mostra imagens de mapeamento elementar da mesma amostra para os elementos C, O, Al e Fe. Pode-se observar que os elementos carbono e oxigênio estão distribuídos por toda a amostra. Os elementos alumínio e ferro também se distribuem na superfície das partículas e em menor quantidade em outras regiões da área de análise. Possivelmente, estes elementos são resíduos catalíticos da produção do NTC. Nas misturas, foram identificados os mesmos elementos encontrados nas amostras de biocarvão e de NTC.

Figura 4 – Imagens MEV da amostra NTC moído a) obtida por elétrons retroespalhados e mapeamento elementar utilizando EDS e identificando b) carbono (C); c) oxigênio (O); d) alumínio (Al) e e) ferro (Fe).



Fonte: autoria própria.

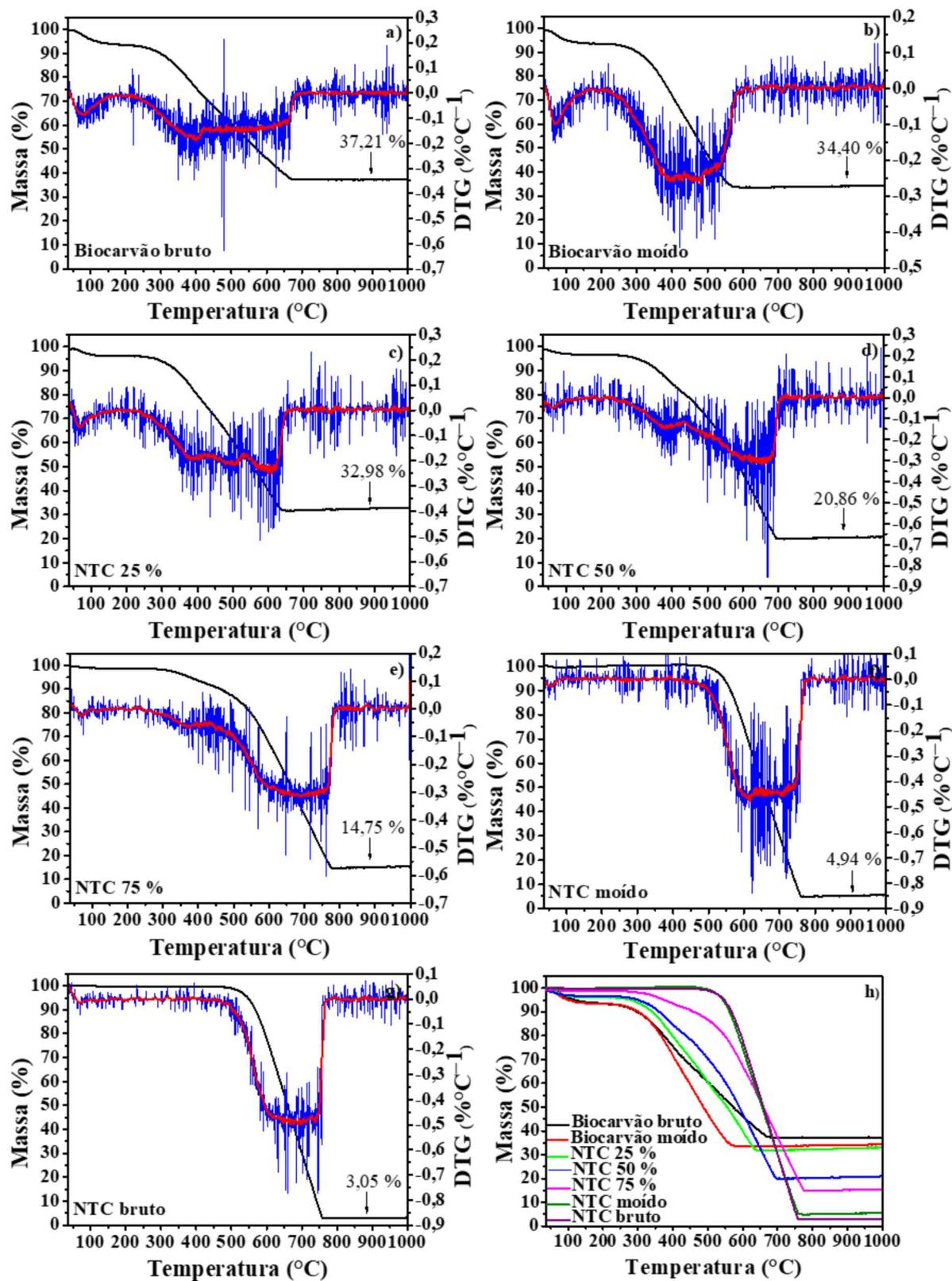
5.1.3 Análise termogravimétrica (TGA)

A técnica de análise termogravimétrica fornece informações acerca da estabilidade térmica de um material e de sua pureza. Neste Trabalho, entende-se pureza de duas maneiras distintas para o biocarvão e para os nanotubos de carbono: para o primeiro, está relacionada ao teor de inorgânicos que compõe a amostra, já para o segundo, refere-se à natureza dos nanotubos (espécies ligadas em sua superfície, presença de outros alótropos do carbono como fulerenos, grafite, nanotubos de parede única, carbono amorfo, resíduos catalíticos, entre outros)

(LEHMAN et al., 2011).

As curvas TGA e DTG (derivada da curva TGA) dos precursores brutos, moídos e das misturas estão apresentadas na Figura 5. Na Tabela 2 são apresentados os intervalos de temperatura dos eventos de perda de massa e as variações mássicas observadas para cada amostra.

Figura 5 – Curvas TGA medidas em fluxo de ar sintético e suas respectivas DTG para a) biocarvão bruto; b) biocarvão moído; c) NTC 25 %; d) NTC 50 %; e) NTC 75 %; f) NTC moído, g) NTC bruto. h) todas as amostras juntas.



Fonte: autoria própria.

Tabela 2 – Perda de massa em porcentagem em intervalos distintos de temperatura para os materiais brutos, moídos e misturas de biocarvão e nanotubos de carbono.

Material	Perda de massa (%) em intervalos distintos de temperatura			
	36 – 200 °C	200 – 430 °C	430 – 1000 °C	
Biocarvão bruto	36 – 200 °C	200 – 430 °C	430 – 1000 °C	
	6,51 %	22,73 %	33,55 %	
Biocarvão moído	36 – 200 °C	200 – 430 °C	430 – 1000 °C	
	6,42 %	29,15 %	30,03 %	
NTC 25 %	36 – 200 °C	200 – 430 °C	430 – 530 °C	530 – 1000 °C
	3,96 %	21,71 %	19,67 %	21,68 %
NTC 50 %	36 – 200 °C	200 – 430 °C	430 – 530 °C	530 – 1000 °C
	3,38 %	15,74 %	12,34 %	47,68 %
NTC 75 %	36 – 200 °C	200 – 430 °C	430 – 1000 °C	
	1,25 %	6,82 %	77,18 %	
NTC moído	36 – 200 °C		200 – 1000 °C	
	0,47 %		94,59 %	
NTC bruto	36 – 200 °C		200 – 1000 °C	
	0,37 %		96,58 %	

Fonte: autoria própria.

O primeiro evento de perda de massa observado para todas as amostras, na região entre 50 e 200 °C, se deve a perda de água adsorvida na superfície dos materiais. Para as amostras que contêm biocarvão, é possível observar um segundo evento entre 200 e 430 °C referente a decomposição dos grupos funcionais presentes na superfície (ZHANG et al., 2012), a degradação da matéria volátil ainda restante do processo de pirólise (ANTAL; GRØNLI, 2003) e a oxidação de componentes alifáticos do biocarvão (SHAFIZADEH; SEKIGUCHI, 1984). A presença de oxigênio na superfície das amostras foi confirmada por medidas de EDS podendo ser em parte atribuída a grupos oxigenados presentes na biomassa mesmo após o processo de pirólise. Neste intervalo de temperatura (200-430 °C), estes grupos seriam degradados ao reagirem com o oxigênio gasoso presente no ar sintético formando espécies de baixo peso molecular. Entretanto, medidas de caracterização de superfície, utilizando espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) ou espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (XPS), seriam necessárias para confirmação dessa hipótese. Comparando-se as curvas para as diferentes amostras, é possível observar que com a diminuição da concentração de biocarvão, a perda de massa para esse evento é menos pronunciada, estando ausente para as amostras formadas apenas por nanotubos de carbono. Isto atesta a atribuição do evento apenas a decomposição do biocarvão.

O terceiro evento de perda de massa pode ser observado em temperaturas maiores que 430 °C onde o esqueleto carbonáceo, predominantemente aromático e amorfo, começa a

ser degradado gerando CO, CO₂, CH₄, H₂ e vapor de água (perda de água estrutural) (VÁRHEGYI et al., 1998). Comparando-se as curvas do biocarvão bruto e do biocarvão moído, é possível observar uma diminuição na estabilidade térmica da amostra moída. Como foi visto pela imagens de MEV, a energia mecânica durante a moagem diminuiu o tamanho das partículas do biocarvão, aumentando a área exposta das partículas e favorecendo a transferência de calor para a decomposição da estrutura. A massa residual, correspondendo ao teor de inorgânicos, é aproximadamente 37 e 34 % (m/m) para o biocarvão bruto e moído, respectivamente. Estes valores de cinzas, comparados a de outros biocarvões estudados na literatura, por ser considerado elevado. A presença de material residual (cinzas) corroboram com as análises de EDS, onde foram identificados os elementos Na, Mg, P, S, Cl, K, Ca, Si, Al, Ti, Cu e Fe. Desta forma, quando o biocarvão for adicionado ao solo, alguns destes elementos terão participação importante como macro e micronutrientes para plantas. Como descrito anteriormente, estes elementos são comumente encontrados em biomassas e resíduos de solo que também acabam sendo processados juntos com a biomassa na produção do biocarvão.

Apesar da quantificação de inorgânicos totais realizada, não se pode inferir sobre sua biodisponibilidade. As espécies, ao entrarem em contato com o solo, podem sofrer diversos processos, alterando sua mobilidade, especiação e partição nas fases sólido-líquida da matriz, de modo que a quantidade acessível para um organismo não será igual ao total quantificado.

Para a amostra NTC bruto, o segundo evento de perda de massa é observado entre 200 e 760 °C, correspondendo à decomposição do nanotubo de carbono. A alta estabilidade térmica, comparada a outras estruturas carbonáceas como carbonos amorfos (200-300 °C) e NTCPS (350–500 °C), é atribuída as ligações π da estrutura aromática dos nanotubos (intraparedes) e as interações interparedes. Como não há perda significativa de massa nestes intervalos de temperatura, pode-se concluir que a amostra apresenta baixa quantidade dessas espécies (< 0,57 %). A amostra também apresenta um único pico relativamente estreito (DTG) com temperatura de oxidação (ponto de maior perda de massa) em aproximadamente 740 °C. O teor de inorgânicos totais também é baixo (aproximadamente 3,0 %) que, segundo os resultados obtidos por EDS, é formado basicamente por resíduos catalíticos do processo de síntese (Fe e Al). O resíduo encontrado ao final da análise térmica no cadinho de alumina para essa amostra apresentava coloração vermelho carmim, possivelmente formado por óxidos férricos, o que corrobora com os resultados de EDS.

Praticamente não houveram mudanças no perfil termogravimétrico da amostra NTC moído em comparação ao NTC bruto. Isso pode sugerir que não houveram danos na estrutura gráfica do nanotubo, de modo que não houve alteração na sua estabilidade térmica. O

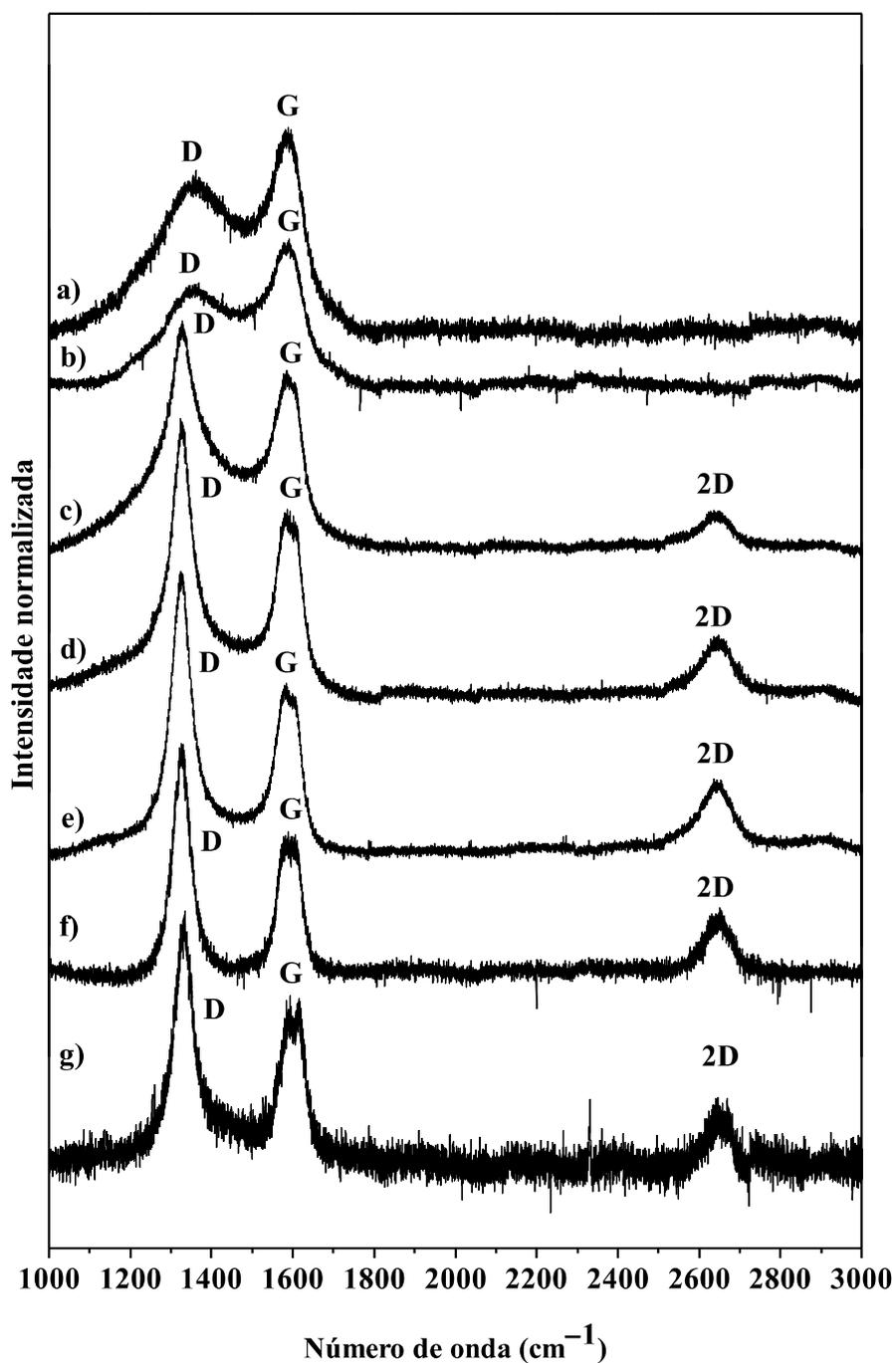
aparecimento de partículas de menor tamanho, observado pelas imagens de MEV, possivelmente não foi suficiente para ser observada uma diferença na transferência de calor nas amostras. A variação observada na massa residual está dentro do erro da técnica, corroborando com a hipótese discutida anteriormente nas análises de EDS de que não houve contaminação proveniente do desgaste do material do moinho.

Nas misturas biocarvão-nanotubos de carbono, é possível observar a junção do perfil de decomposição das duas amostras. Três eventos de decomposição após 200 °C podem ser identificados, correspondendo os dois primeiros a decomposição térmica das estruturas menos estáveis do biocarvão e de seu esqueleto carbonáceo, respectivamente. O terceiro evento corresponde a degradação dos nanotubos de carbono. Na amostra NTC 75 %, o segundo evento de decomposição (de 430 a 530 °C) possivelmente está sobreposto ao terceiro evento (de 530 a 1000 °C), de modo que não se pode identificá-lo. Uma possível alternativa para melhorar a resolução entre os eventos seria diminuir a taxa de aquecimento utilizada durante as análises. Pode-se observar que quanto maior a concentração de NTC, menor a perda de massa para os dois primeiros eventos e maior para o terceiro. Estes resultados sugerem que o perfil da decomposição térmica das misturas foi influenciada apenas pela composição dos materiais.

5.1.4 Espectroscopia Raman

A espectroscopia Raman é largamente utilizada para estudar materiais a base de carbono. A técnica oferece informações em relação à estrutura e as propriedades eletrônicas e fonônicas de nanotubos de carbono (DRESSELHAUS et al., 2005) e as interações moleculares no biocarvão. A Figura 6 mostra os espectros de Raman das amostras (precursores brutos, moídos e misturas).

Figura 6 – Espectros Raman para as amostras a) biocarvão bruto; b) biocarvão moído; c) NTC 25 %; d) NTC 50 %; e) NTC 75 %; f) NTC moído; g) NTC bruto.



Fonte: autoria própria.

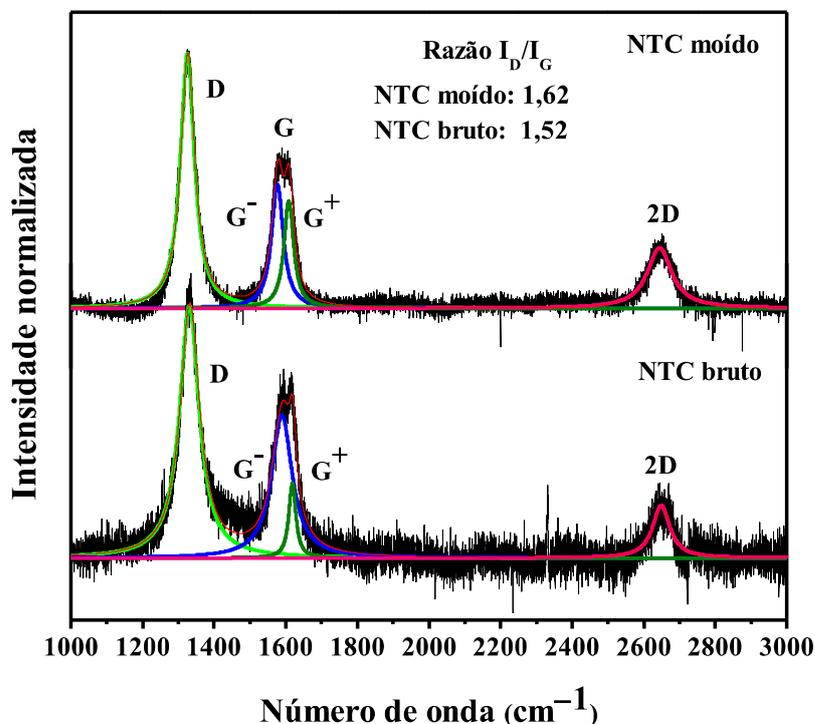
Analisando os espectros das amostras de biocarvão bruto e moído (Figuras 6a–b), verifica-se bandas largas em aproximadamente 1350 cm^{-1} (banda D) e 1580 cm^{-1} (banda G) típicas de hidrocarbonetos poli-aromáticos (KHANNA et al., 2017) e presentes em carvões pirolíticos. Essas bandas são atribuídas aos modos de respiração em anéis (banda D) e

estiramentos de ligação em carbonos sp^2 presentes em anéis e ramificações (banda G) (KHANNA et al., 2017). Três espectros foram obtidos em partes diferentes de cada amostra. Não foi observado reprodutibilidade no perfil das curvas, devido à heterogeneidade da amostra, de modo que uma comparação entre o perfil de Raman das duas amostras, bruta e moída, não pode ser realizada.

A partir dos espectros das amostras que contém NTC (Figuras 6c-g), é possível identificar a presença das bandas D, G e 2D características deste material. A banda D, centrada próximo a 1330 cm^{-1} , é atribuída a efeitos de ressonância dupla em carbonos sp^2 (SAITO et al., 2002) e é considerada uma medida de desordem em estruturas grafíticas. Este fenômeno pode ser originado a partir de defeitos nas paredes dos nanotubos ou a presença de carbono amorfo. A frequência onde a banda é observada aumenta com a energia de excitação do laser. Já a banda G é centrada próximo a 1590 cm^{-1} e é associada à vibração tangencial de carbonos sp^2 nas paredes grafíticas do tubo, sendo um indicativo do ordenamento do material (grau de grafitação). A banda G é composta por duas outras bandas G^+ , relacionada ao deslocamento atômico ao longo do eixo do tubo, e G^- que corresponde ao deslocamento atômico ao longo de sua circunferência (LEHMAN et al., 2011). A razão entre a intensidade das bandas D e G (I_D/I_G) é tipicamente utilizada como parâmetro para avaliar a organização estrutural de nanotubos de carbono após modificações químicas e funcionalizações, de modo que, quanto maior este valor, maior a quantidade de defeitos e menor o grau de grafitação da amostra.

As amostras com NTC em diferentes proporções também parecem apresentar o desdobramento da banda G, exibindo as bandas G^+ e G^- sobrepostas. A deconvolução das bandas dos espectros das amostras NTC bruto e moído é mostrada na Figura 7. Não há diferença significativa entre o perfil dos espectros das amostras NTC bruto e moído, de modo que se pode supor que os nanotubos foram quebrados sem danificar a sua estrutura. Para testar esta hipótese, a razão entre as bandas D e G foi calculada. As razões obtidas, 1,52 e 1,62 para o NTC bruto e o moído, respectivamente, podem ser consideradas próximas, sugerindo que a estrutura não foi modificada após a moagem, como também sugerido pelas análises de TGA.

Figura 7 – Deconvolução da banda “G” em G^+ e G^- dos espectros das amostras NTC bruto e NTC moído e razão entre a intensidade das bandas “D” e “G” (razão I_D/I_G) para os dois materiais.



Fonte: autoria própria.

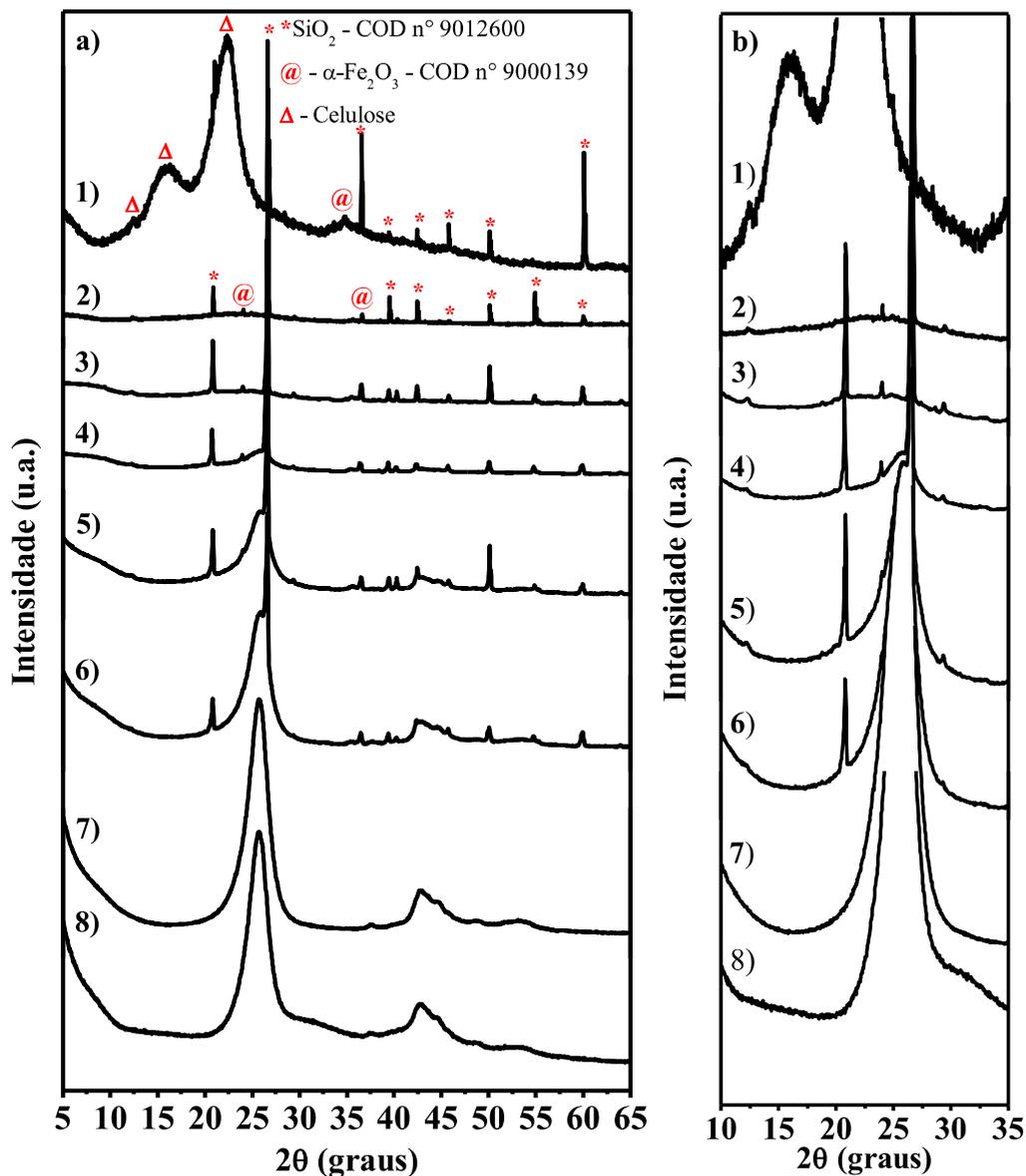
Pode-se observar nos espectros Raman das misturas que a linha base e o perfil das bandas D e G modificam-se com o aumento da concentração de biocarvão. Como o biocarvão é praticamente formado por uma estrutura amorfa, a análise da razão I_D/I_G não é eficiente para investigar o surgimento de defeitos na estrutura do nanotubo, já que aquele poderia estar adsorvido em sua superfície. Também é verificado um ligeiro alargamento destas duas bandas. Este efeito pode estar ocorrendo em virtude da sobreposição das bandas do biocarvão com as do NTC, aumentando a contribuição no perfil do espectro com o aumento da amostra correspondente. Estes resultados sugerem uma mistura física, sem a observação de novos fenômenos de vibração provenientes, por exemplo, de uma nova estrutura dos dois materiais.

5.1.5 Difractometria de Raios X (DRX)

As análises de difração de raios X foram realizadas com o propósito de identificar as fases cristalinas presentes nas amostras e fornecer informações sobre a estrutura dos

materiais. Os difratogramas de raios X são apresentados na Figura 8.

Figura 8 – a) Difratogramas de raios X no intervalo de 5 a 65° (2θ) das amostras 1) bagaço de cana-de-açúcar, 2) biocarvão bruto, 3) biocarvão moído, 4) NTC 25 %, 5) NTC 50 %, 6) NTC 75 %, 7) NTC moído e 8) NTC bruto; e b) Difratogramas de raios X no intervalo de 10 a 35° (2θ) evidenciando o halo-amorfo.



Fonte: autoria própria.

Para todas as amostras contendo biocarvão e para o bagaço de cana-de-açúcar, os difratogramas indicam a presença de fases cristalinas, caracterizadas por picos finos e intensos, e fases de baixo ordenamento estrutural, com picos largos e de baixa intensidade. Os picos finos de alta intensidade presentes nas amostras que contém biocarvão são provenientes de impurezas

presentes no bagaço de cana-de-açúcar, sendo identificados como óxido de silício (SiO_2) (COD n° 9012600) e hematita ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) (COD n° 9000139). Como discutido nos resultados das análises de TGA, o óxido de silício está presente em partes do tecido vegetal e no solo, assim como óxidos de ferro. Estes resultados corroboram com as medidas de EDS, onde foram encontrados silício, ferro e oxigênio. Nas amostras de NTC bruto e moído, por meio dos difratogramas, não foi possível identificar o ferro observado no mapeamento de EDS dessas amostras. De fato, ambas as amostras de nanotubos apresentaram menos que 5 % em massa de inorgânicos, segundo os resultados de TGA, sendo provavelmente abaixo do limite de detecção da técnica de DRX. Também é possível observar que os difratogramas apresentam alguns dos picos largos e de baixa intensidade comparados aos picos das estruturas cristalinas, indicando uma limitação do ordenamento a longas distâncias de algumas fases presentes (KHANNA et al., 2017).

Os picos largos de baixa intensidade, presentes nas amostras com biocarvão, são melhor visualizados na Figura 8b. Estes picos são centralizados entre 21 e 23 ° (2θ) e são associados à presença de carbono de baixo ordenamento estrutural (halo amorfo) (MANOJ; KUNJOMANA, 2012). Por outro lado, nos difratogramas das amostras contendo NTC, pode ser observado picos de maior intensidade centrados em 25,8 e 42,7° (2θ) correspondendo aos planos (002) e (100) de nanotubos de paredes múltiplas (SAINI et al., 2009). Não há mudanças significativas no perfil e na largura dos picos entre os difratogramas do NTC moído em comparação ao NTC bruto. Nas misturas, conforme a concentração de NTC aumenta, observa-se um aumento de intensidade nos picos correspondentes a estrutura do NTC, assim como os picos das fases inorgânicas e o halo amorfo diminuem com a diminuição da concentração do biocarvão. Nas amostras com maior teor de NTC, pode-se ainda identificar a presença de outros picos relativos aos planos grafíticos do NTC centrados nos valores 43,9 e 53,5° (2θ) relativos às difrações dos planos (101) e (110), respectivamente (SALEH; GUPTA, 2011).

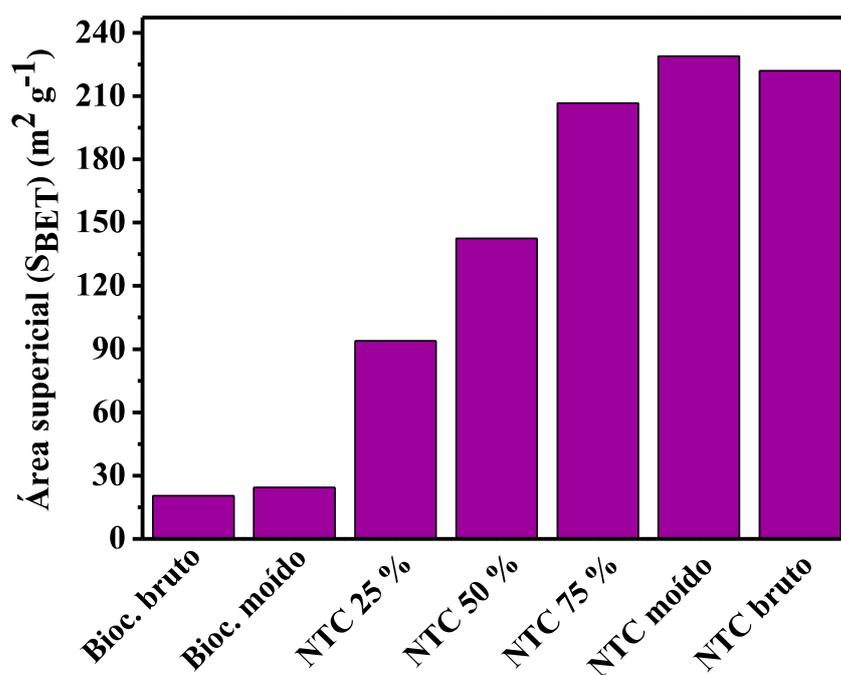
5.1.5 Medidas de área superficial específica (S_{BET}) obtidas pela adsorção de N_2

Várias das propriedades observadas nos biocarvões e nos nanotubos de carbono podem ser atribuídas a superfície desses materiais. A recalcitrância, a capacidade de retenção de água e a proliferação de microorganismos, por exemplo, sofrem forte influência das propriedades texturais do biocarvão. Os nanotubos de carbono, por sua vez, apresentam potencial de aplicação em diversas áreas como cromatografia (e.g., canais microfluídicos em

microchips) (MOGENSEN; KUTTER, 2012), eletroquímica (e.g., ânodo ou aditivos em baterias de lítio) (TERRONES, 2003), eletrônica (e.g., supercapacitores) (ENDO et al., 2019), materiais de consumo (e.g., quadro de bicicleta) (DE VOLDER et al., 2013) e tratamento de água (e.g., membranas de purificação) (FASANO; CHIAVAZZO; ASINARI, 2014) em parte devido a sua elevada área superficial. Desta forma, a determinação da área superficial se constitui como parte da caracterização das propriedades texturais e um parâmetro importante para elucidar interações com a superfície dos materiais.

As áreas superficiais específicas (S_{BET}) de cada material são mostradas na Figura 9.

Figura 9 – Área superficial específica (S_{BET}) calculada pelo método BET por adsorção de N_2 para as amostras biocarvão bruto, biocarvão moído, NTC 25 %, NTC 50 %, NTC 75 %, NTC moído e NTC bruto.



Fonte: autoria própria.

Pelas medidas realizadas, o biocarvão bruto apresentou baixa área superficial igual a $20,5 m^2 g^{-1}$. Outros trabalhos que utilizaram biocarvões provenientes de biomassa pirolisada a baixas temperaturas relataram áreas superficiais da mesma ordem de grandeza ((UCHIMIYA et al., 2011; JEONG; DODLA; WANG, 2016; KHANNA et al., 2017). O material moído apresentou área superficial de $24 m^2 g^{-1}$, sugerindo um ligeiro aumento em comparação ao material bruto. É possível que a moagem, ao diminuir o tamanho de algumas partículas, tenha promovido um aumento da área de contato com o adsorvato e exposto poros internos antes

inacessíveis. Entretanto, a variação se encontra dentro do erro da análise.

O NTC moído apresentou área superficial aproximadamente igual ao do NTC bruto: $229 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ e $222 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, respectivamente. A variação se encontra dentro do erro da técnica. Segundo LEHMAN et al. (2011), estes resultados estão de acordo com os dados experimentais usualmente observados em nanotubos de paredes múltiplas. ZAPATA-MASSOT e LE BOLAY (2008) observaram efeitos interessantes nas medidas de área superficial e distribuição de poros em nanotubos moídos por longos períodos (150, 200 e 300 min) em moinho de bolas horizontal. Observou-se o aumento da área superficial com o tempo de moagem, estando relacionado a uma mudança no perfil de distribuição dos poros: durante os primeiros 150 min, mesoporos e microporos eram formados a partir da fragmentação das partículas e da abertura dos tubos, diminuindo a quantidade de macroporos. Após 200 min, quando as partículas começam a aumentar em tamanho em virtude da compactação, os mesoporos começam a diminuir e os microporos a aumentar, sugerindo que a quebra e o encurtamento dos nanotubos continuava a acontecer. Neste trabalho, também foi sugerido que as pontas abertas do nanotubo entravam em contato com o oxigênio presente na câmara de moagem e promoveriam a funcionalização destas áreas. De fato, a alta energia das ligações erráticas (*dangling bonds*) em átomos cujas ligações venham a ser quebradas os torna bastante instáveis e reativos. Em trabalhos anteriores do grupo deste trabalho com o mesmo NTC e processo de moagem (CÔA et al., 2017), verificou-se o aumento do teor de oxigênio na superfície do material (aproximadamente 3 % em composição química elementar superficial) por análise de XPS. Há a possibilidade da mesma funcionalização ter ocorrido para os nanotubos moídos deste Trabalho. Entretanto, caracterizações químicas da superfície das amostras seriam necessárias.

Para as misturas, verificou-se que a área superficial tende a aumentar com o aumento da concentração de NTC. Este resultado é esperado, já que o nanotubo, por possuir a maior área superficial, traria maiores contribuições para essa propriedade.

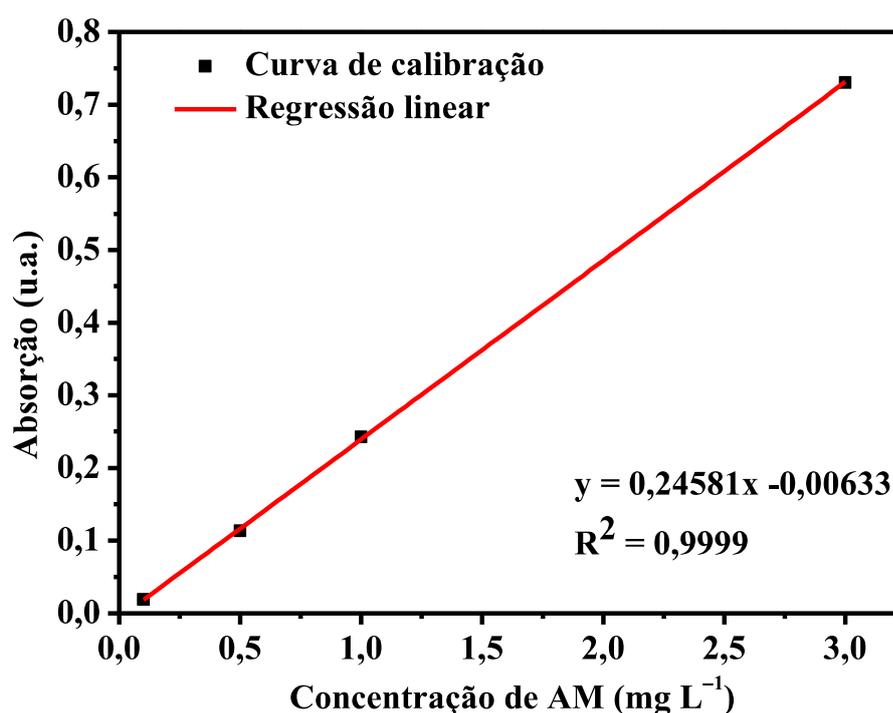
Um comentário adicional deve ser feito quanto a utilização do método de adsorção de N_2 na determinação de área superficial de nanotubos de carbono. A molécula de nitrogênio possui um momento de quadrupolo que depende da superfície química do adsorvente e impede a sua adsorção em alguns substratos, além de ser considerada relativamente grande (THOMMES et al., 2015). Supõem-se que esta característica possa vir a impedir o acesso a ultra-microporos da amostra (LEHMAN et al., 2011). Ainda, se o processo de degaseificação não for efetivo, os gases presentes podem impedir o acesso da molécula de N_2 em alguns sítios. Além disso, o método BET (utilizado para o cálculo das áreas) se fundamenta na adsorção homogênea na superfície do material. Entretanto, a adsorção em nanotubos de carbono não é

igual em todos os sítios devido à agregação e a presença de defeitos (LEHMAN et al., 2011). A medida foi realizada em duplicata para as amostras com maior teor de nanotubo e verificou-se uma variação de 10 %. Apesar do exposto, o método ainda é considerado padrão na determinação da área superficial de nanotubos de carbono, sendo portanto válido para efeitos comparativos.

5.1.6 Adsorção do corante catiônico azul de metileno

O biocarvão e o nanotubo de carbono são materiais cuja aplicação como substrato para interação com nutrientes e remoção de contaminantes é largamente estudada. A adsorção de corantes aromáticos como, por exemplo, o azul de metileno, é um dos modelos empregados para estudar essa aplicação. Essa técnica também oferece indiretamente informações da área superficial do material e da natureza dos sítios de adsorção. Com este intuito, realizou-se experimentos de adsorção com o corante azul de metileno (AM) na concentração de 100 ppm e razão massa de adsorvente (mg) por volume de adsorvato (mL) de 1:1. A concentração inicial e final do adsorvato foi obtida a partir da absorção do cromóforo a 665 nm por espectroscopia de absorção UV-Vis. Para tal, utilizou-se uma curva de calibração obtida pelo método do padrão externo mostrada na Figura 10.

Figura 10 – Curva de calibração usada para as determinações das concentrações de azul de metileno. Curva obtida pelo método do padrão externo.



Fonte: autoria própria.

Por regressão linear, obteve-se a equação da reta a seguir:

$$y = 0,24581x - 0,00633 \quad (6)$$
$$R^2 = 0,9999$$

O resultado dos ensaios de adsorção do corante pelos materiais foi organizado na Tabela 3, onde C_i é a concentração inicial e C_f é a concentração final do adsorvato (em mg L^{-1} ou ppm), Q é a quantidade em massa adsorvida de AM por massa de material, também chamado de capacidade de adsorção, (mg g^{-1}), $\overline{C_f}$ e \overline{Q} são as médias e $C_{f\sigma}$ e Q_σ são os desvios padrões das medidas anteriormente descritas. A remoção, expressa pela letra R , é a razão entre a diferença das concentrações inicial e final pela concentração inicial de AM, expressa em porcentagem. (1) e (2) são os resultados da duplicata.

Tabela 3 – Dados de adsorção de azul de metileno (AM) para cada material utilizado como adsorvente. Os experimentos foram realizados a temperatura ambiente, concentração das soluções de 100 ppm e dosagem de 1 g L⁻¹.

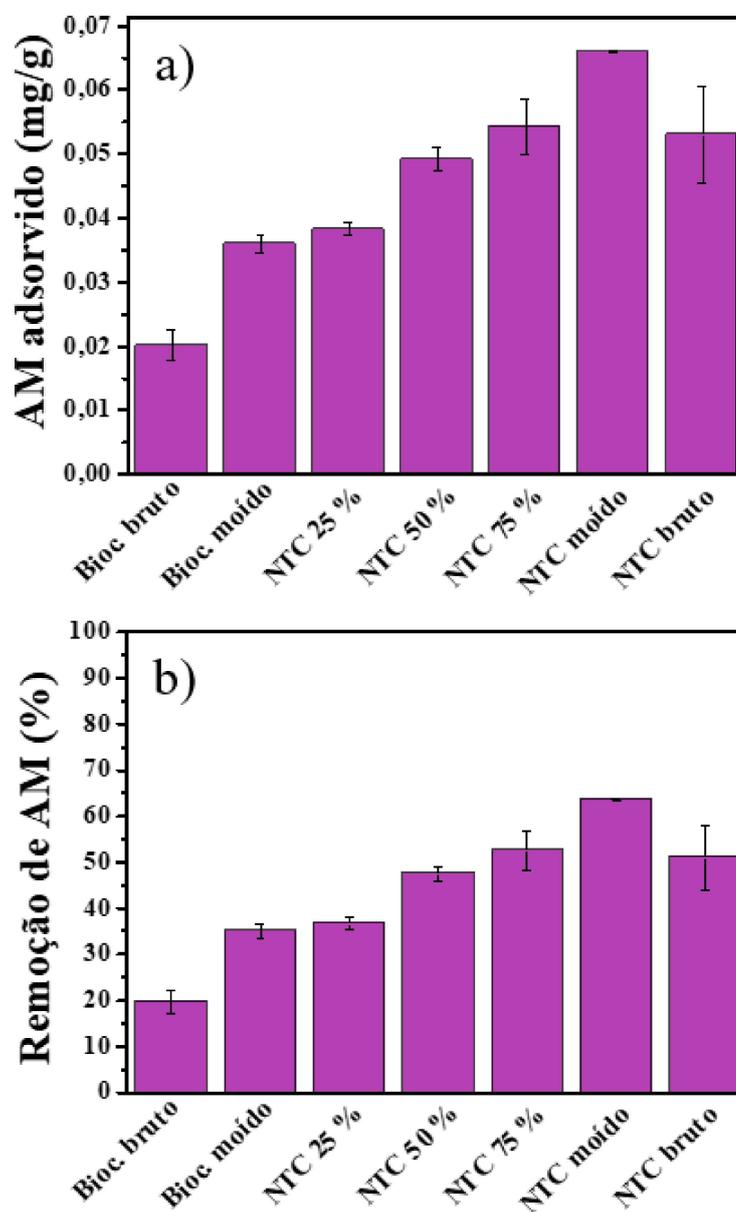
Parâmetros	Adsorvente						
	Biocarvão bruto	Biocarvão moído	NTC 25 %	NTC 50 %	NTC 75 %	NTC moído	NTC bruto
C_i (ppm)	105,44	104,64	105,44	104,64	105,44	104,64	105,44
(1) C_f (ppm)	82,99	66,85	65,8	53,74	46,97	38,32	56,79
(2) C_f (ppm)	86,55	69,24	67,67	56,02	53,16	37,97	46,43
(1) Q (mg/g)	0,0218	0,037	0,039	0,0504	0,0573	0,066	0,0476
(2) Q (mg/g)	0,0185	0,0349	0,0376	0,0478	0,0512	0,0658	0,0583
\overline{C}_f (ppm)	84,77	68,04	66,74	54,88	50,07	38,15	51,61
$C_{f\sigma}$ (ppm)	2,51	1,68	1,32	1,61	4,37	0,24	7,32
\overline{Q} (mg/g)	0,0201	0,036	0,0383	0,0491	0,0542	0,0659	0,053
Q_σ (mg/g)	0,0023	0,0014	0,0009	0,0018	0,00429	0,0001	0,0075
R (%)	19,59	34,97	36,7	47,55	52,51	63,54	51,04

Fonte: autoria própria.

^a C_i : concentração inicial de AM; ^b C_f : concentração final de AM; ^c Q : quantidade em massa adsorvida de AM por massa de material; ^d \overline{C}_f : concentração final de AM média; ^e $C_{f\sigma}$: desvio padrão da concentração final de AM; ^f \overline{Q} quantidade média em massa adsorvida de AM por massa de material; ^g Q_σ desvio padrão da quantidade em massa adsorvida de AM por massa de material; ^hR: remoção de AM (razão entre a diferença das concentrações inicial e final pela concentração inicial).

Para melhor visualização, os resultados da quantidade em massa do corante adsorvido por grama de material (Q) e a capacidade de remoção (R) foram organizados em gráfico de barras, sendo mostrados na Figura 11 a e b, respectivamente.

Figura 11 – (a) Quantidade de azul de metileno (AM) adsorvido por grama de material adsorvente e (b) porcentagem de remoção do corante. Os experimentos foram realizados em duplicata a temperatura ambiente, concentração das soluções de AM igual a 100 ppm e dosagem de 1 g L⁻¹.



Fonte: autoria própria.

Os dados de adsorção e remoção refletem aproximadamente os mesmos resultados, apenas o primeiro normaliza a quantidade adsorvida em função da massa de material utilizada no experimento, permitindo inferir sobre o potencial de remoção de um material em certa concentração de corante, enquanto o segundo fornece informação sobre a taxa de remoção em uma determinada concentração.

Pode ser observado que a capacidade de adsorção dos materiais foi proporcional as áreas superficiais obtidas anteriormente. O biocarvão bruto, com a menor área superficial, apresentou capacidade de remoção de $0,020 \text{ mg g}^{-1}$, enquanto o NTC moído, com maior área superficial, apresentou capacidade de remoção aproximadamente três vezes maior ($0,066 \text{ mg g}^{-1}$). YAO et al. (2010), reportaram valores significativamente maiores para a capacidade de adsorção de nanotubos de carbono (não especificaram o número de paredes do material). A $25 \text{ }^\circ\text{C}$, o valor observado foi de $35,0 \text{ mg g}^{-1}$. Como as propriedades apresentadas por um material podem diferir substancialmente a partir do processo de síntese utilizado e como a adsorção está relacionada as propriedades de superfície do material, valores comparados da literatura podem diferir significativamente.

O entendimento de possíveis mecanismos de adsorção requer experimentos de cinética e equilíbrio de adsorção (isotermas) que podem ser realizados em continuidade a este Trabalho. Outras técnicas complementares para o estudo deste fenômeno e direcionadas a caracterização da superfície do material seriam: XPS, FTIR e análise de potencial zeta.

5.2 Bioensaios

Considerando a aplicação de materiais para o desenvolvimento de propriedades específicas em sistemas biológicos, é importante salientar que não necessariamente serão observados efeitos adversos, ou tóxicos, em sua aplicação, assim como os efeitos observados dependerão de como o experimento foi conduzido. A resposta do organismo dependerá substancialmente de fatores como o modo de administração do material (e.g., via foliar, via radicular em solos ou por hidroponia); a concentração, ou dose, utilizada; a frequência de administração, a suscetibilidade do organismo e as transformações sofridas na matriz (e.g., especiação, agregação, sedimentação, oxidação, adsorção de espécies reativas na superfície do material) e o tipo de matriz escolhida.

A seguir serão apresentados e discutidos os resultados obtidos da interação entre os materiais brutos, moídos e misturas de biocarvão e nanotubos de carbono a partir dos efeitos observados na germinação de tomates-cereja e no desenvolvimento de tomates Micro-Tom. Outra importante discussão, mas que foge ao escopo deste trabalho, seria a avaliação das transformações destes materiais na matriz e após a interação com os sistemas biológicos.

5.2.1 Interação dos materiais com a matriz para os bioensaios

Escolheu-se areia como matriz para os experimentos de desenvolvimento e germinação por tratar-se de um substrato com pouca matéria orgânica. Além da matéria orgânica ser a principal fonte de nutrientes para organismos vivos em solos naturais, a alta reatividade das substâncias que a compõe somado a outras condições do ambiente (e.g. força iônica, radiação visível e ultra-violeta, pH, saturação de O₂, etc.) alteram as características dos materiais de estudo e, conseqüentemente, a sua interação com os seres vivos. A partir destas transformações, uma nova identidade para o material é criada, de modo que este precisaria ser novamente caracterizado e o efeito observado nos biosistemas não poderia ser atribuído ao material original. Como parte dos pressupostos deste estudo é a observação de efeitos benéficos no desenvolvimento de plantas causadas pela adição da mistura biocarvão-nanotubo de carbono, torna-se interessante, em um primeiro momento, diminuir estas interferências. Para se comparar os efeitos da matéria orgânica, optou-se por adicioná-la separadamente em um grupo na forma de fertilizante orgânico (bokashi) e na mesma concentração que os materiais.

A mistura sólido-sólido da matriz aos materiais permitiu a obtenção de uma mistura de aspecto homogêneo por observação visual, tanto para o biocarvão como para os nanotubos de carbono e misturas. Entretanto, ao ser umidificada, observava-se a migração dos materiais pelos grânulos de areia, formando regiões com “manchas” onde o material se acumulava. Um exemplo desta ocorrência é mostrada na Figura 12, ilustrando o caso para os nanotubos de carbono. Antes da montagem dos experimentos, a mistura era revolvida até tornar-se uniforme novamente.

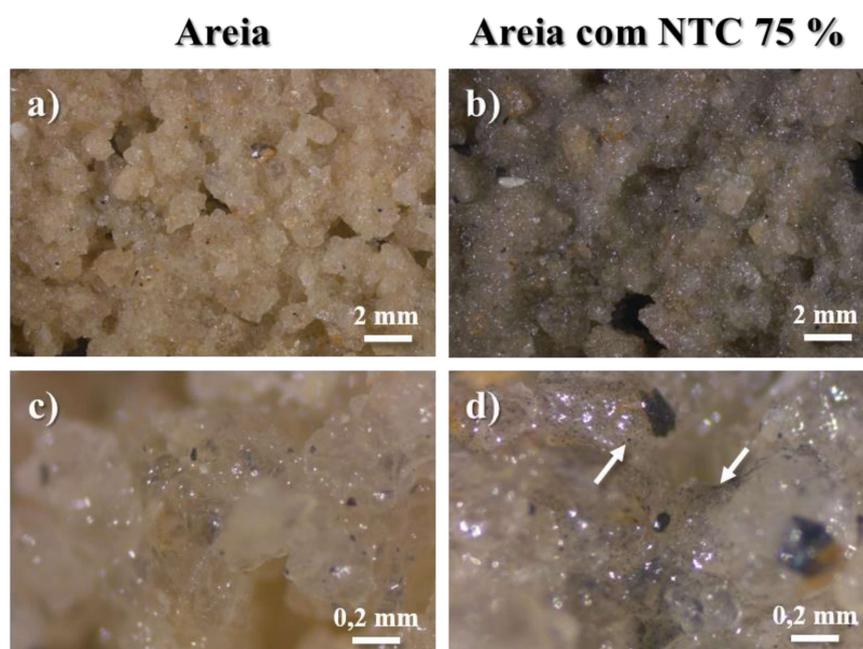
Figura 12 – Fotografia ilustrando a separação dos nanotubos de carbono da matriz (areia) logo após a umidificação para os experimentos de germinação e desenvolvimento.



Fonte: autoria própria.

Imagens com estereomicroscópio (ZEISS Stemi 508) do substrato umidificado e da amostra NTC 75 % misturada ao substrato umidificado na mesma concentração que a utilizada nos bioensaios ($200 \mu\text{g g}^{-1}$) também foram registradas e são mostradas na Figura 13. É possível observar que os materiais, identificados por flechas nas imagens, não se aderem bem a areia, encontrando-se predominantemente dispersos na fase líquida do substrato. Óxidos naturais, como o caso do dióxido de silício, geralmente apresentam grupos hidroxilas em sua superfície, fazendo ligações fortes com a água do tipo dipolo-dipolo. A água, além de estar adsorvida na superfície e nos poros das partículas, também se encontra nos interstícios formados pelos grãos de diferentes granulometrias da areia. Já os materiais de carbono em estudo apresentam predominantemente uma natureza hidrofóbica, formando com as partículas de quartzo e a água ligações do tipo dipolo induzido-dipolo permanente, que são de natureza fraca e não são suficientes para separar o material da sua forma “*bulk*”. Partes do material ainda secas aparecem flutuando devido a tensão superficial da fase aquosa. Como discutido anteriormente, o biocarvão em comparação aos nanotubos de carbono apresenta uma maior densidade de grupos funcionais em sua superfície, principalmente grupos oxigenados, podendo apresentar ligações do tipo dipolo-dipolo, que são mais fortes que as anteriores. Essa diferença foi observada pela maior dispersibilidade do biocarvão em água do que o nanotubo.

Figura 13 - Imagens com estereomicroscópio a) e b) do substrato (areia), e c) e d) da amostra NTC 75 % misturada ao substrato na concentração de $200 \mu\text{g g}^{-1}$ utilizada nos bioensaios.

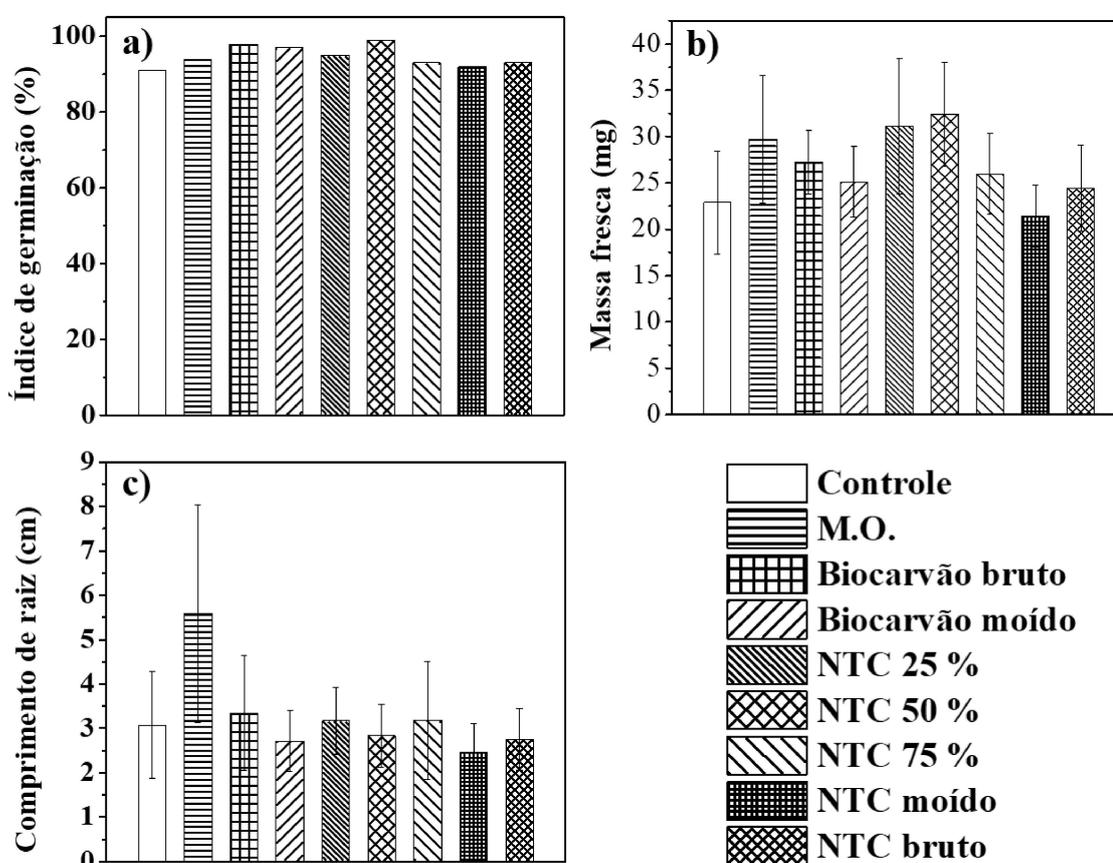


Fonte: autoria própria.

5.2.2 Efeito da mistura biocarvão-nanotubos de carbono sobre a germinação de sementes de tomate-cereja

A Figura 14 apresenta em gráfico de barras os dados de índice de germinação, das médias e dos desvios padrões dos dados de massa fresca e comprimento de raiz obtidos pelos experimentos de germinação. O índice de germinação das sementes descrito pelo fornecedor é de 97 % e uma variação de até 10 % deste valor é considerada aceitável. O controle teve 91 % das sementes germinadas, enquanto os tratamentos tiveram índices ligeiramente superiores, de modo que a oscilação pode ser atribuída a diferenças das sementes no lote ou na montagem do experimento e não aos materiais. Comparando-se as médias dos grupos e considerando o desvio padrão para cada um deles, pode-se afirmar que os tratamentos não se diferenciaram para nenhuma planta nos dados de massa fresca e tamanho de raiz.

Figura 14 – a) Índice de germinação; médias e desvios padrões dos dados de b) massa fresca e c) comprimento de raiz de tomates-cereja após 10 dias de crescimento em matriz contendo matéria orgânica (M.O.), biocarvão bruto, biocarvão moído, NTC 25 %, NTC 50 %, NTC 75 %, NTC moído e NTC bruto.

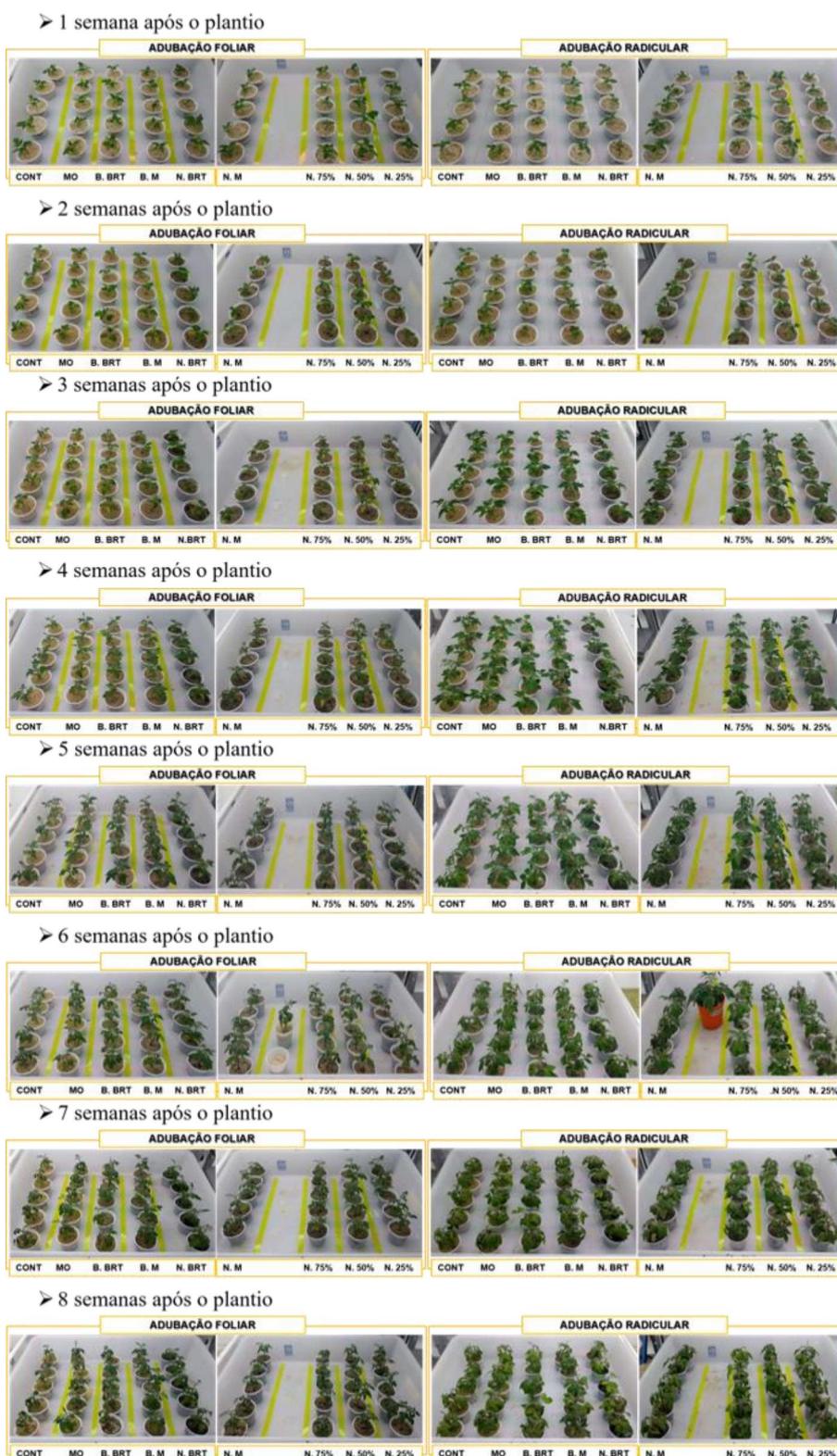


Fonte: autoria própria.

5.2.3 Efeito da mistura biocarvão-nanotubos de carbono sobre o desenvolvimento de tomates Micro-Tom

O crescimento e desenvolvimento de tomate Micro-Tom dos testes de desenvolvimento ocorreram por 81 dias e é mostrado na Figura 15.

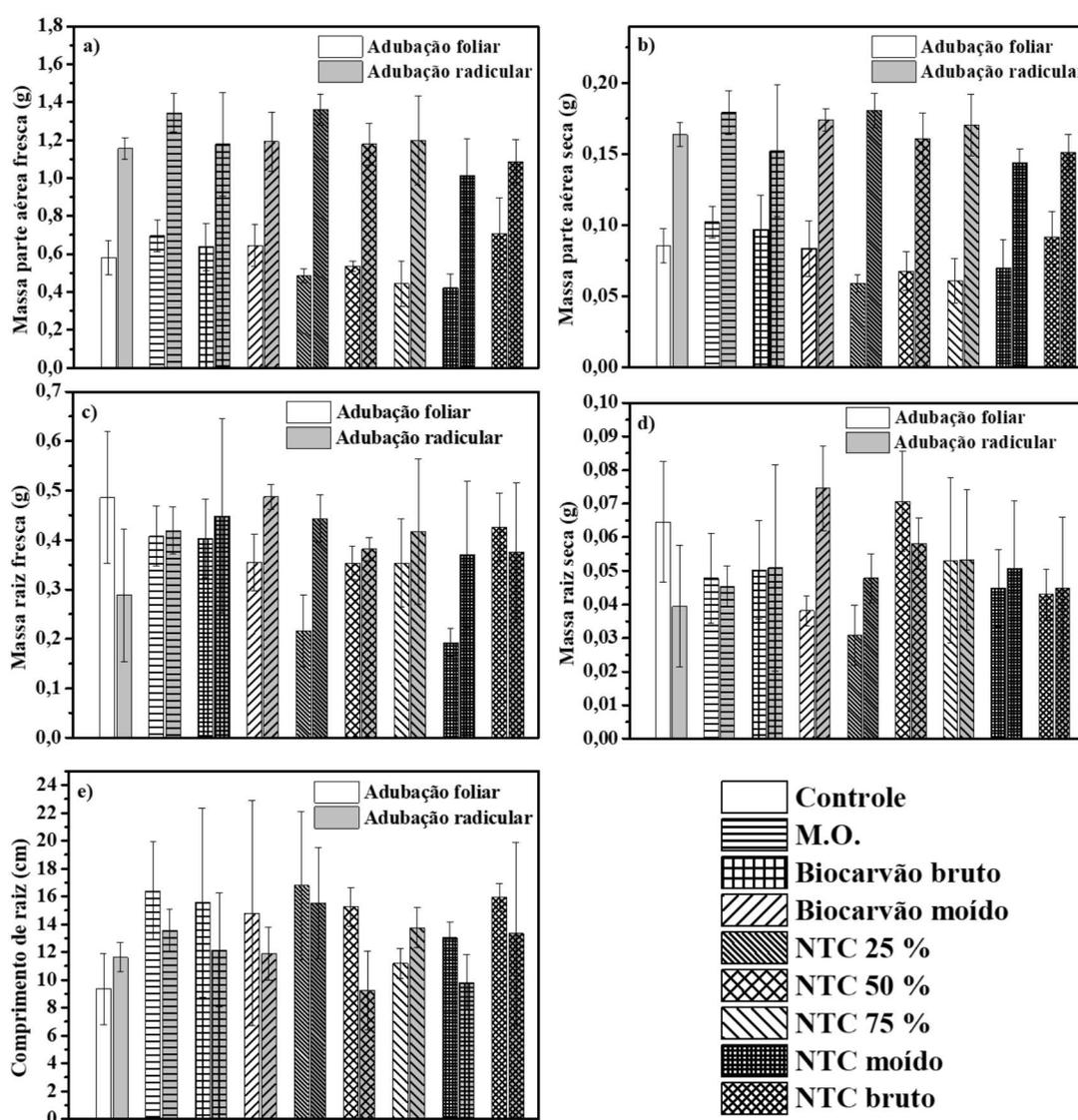
Figura 15 – Fotografias dos experimentos de desenvolvimento de tomates Micro-Tom organizados em semanas de desenvolvimento após o plantio das mudas nos substratos com matéria orgânica (MO), biocarvão bruto (B. BRT.), biocarvão moído (B. M.), NTC bruto (N. BRT.), NTC moído (N. M.), NTC 75 % (N. 75 %), NTC 50 % (N. 50 %), NTC 25 % (N. 25 %) e controle (CONT.).



Fonte: autoria própria.

A Figura 16 apresenta em gráfico de barras as médias e os desvios padrões da massa da parte aérea e da raiz frescas e secas e o comprimento de raiz obtidos pelos experimentos de desenvolvimento após a coleta no 81º dia de crescimento.

Figura 16 – Médias e desvios padrões da massa da parte aérea b) fresca e c) seca; da raiz d) fresca e e) seca e f) do comprimento de raiz de tomate Micro-Tom após 81 dias de crescimento em matriz contendo matéria orgânica (M.O.), biocarvão bruto, biocarvão moído, NTC bruto, NTC moído, NTC 25 %, NTC 50 % e NTC 75 %.



Fonte: autoria própria.

É possível observar pelos dados da Figura 16 e pelo aspecto visual das plantas na Figura 15 que não há diferença significativa entre os tratamentos com materiais e o controle dentro de um mesmo grupo tanto para o adubado via foliar quanto para o radicular. Entretanto,

o grupo adubado via radicular apresentou valores de massa de 2 a 3 vezes maiores da parte aérea fresca e seca para todos os tratamentos em relação ao grupo adubado via foliar. Os dados de massa fresca e seca da raiz e as medidas de comprimento foram semelhantes para os dois grupos.

Isto pode ter ocorrido em virtude da maior disponibilidade de nutrientes para o grupo adubado via radicular do que o grupo adubado via foliar. Enquanto o primeiro grupo recebia uma administração semanal de 4 mL da solução de adubação, o último recebia apenas o que entrava em contato com a área da superfície foliar. Como não foi observado diferença entre os tratamentos de um mesmo grupo, nada pode ser concluído a partir dos dados analisados em relação a interação dos materiais e o adubo adicionado ao solo.

Geralmente é observada uma relação proporcional entre a biomassa da planta e o desenvolvimento radicular. Uma maior quantidade de raízes secundárias possibilita uma área maior de absorção de água e nutrientes no solo. Entretanto, isso não foi observado comparando-se os grupos de adubação foliar e radicular. Uma possível explicação seria devido ao efeito de confinamento das raízes, já que foi observado que ambos os grupos ocuparam todo o volume dos vasos.

Durante o experimento, algumas observações foram feitas quanto aos estágios de desenvolvimento e estado nutricional das plantas. Logo após a primeira semana do plantio no substrato definitivo, observou-se que os cotilédones começaram a se tornar verde claro, passando a amarelo com o passar do tempo. Na terceira semana, os primeiros cotilédones de alguns indivíduos começaram a cair e essa ocorrência continuou até o fim dos experimentos. Na terceira semana, os primeiros botões florais começaram a surgir em alguns indivíduos, mas não passaram deste estágio inicial até o fim do experimento. Apenas um indivíduo do substrato com biocarvão moído do grupo adubado via radicular e outro do substrato com matéria orgânica e adubado via foliar obtiveram o desenvolvimento floral de uma flor cada um, chegando até a sua abertura. O experimento foi finalizado antes da possível formação dos frutos. A partir da sexta semana, não foi observado crescimento significativo das plantas e nem o desenvolvimento de novas folhas. As folhas mais antigas ficaram com tons de verde-pálido e algumas sofreram senescência precoce. Também foi observado clorose internerval ao fim dos 81 dias, com as nervuras principais apresentando uma coloração púrpura e em parte dos caules.

Esses sintomas são associados com deficiências nutricionais. O nitrogênio é um importante constituinte de elementos celulares (como aminoácidos, ácido nucleicos e clorofila) e está relacionado ao crescimento de plantas (LINCOLN; ZEIGER, 2013). Sua insuficiência pode ser observada pela estagnação na produção de gemas vegetativas e pelo amarelamento das

folhas (MALAVOLTA, 2006). A coloração púrpura nos caules e nas nervuras das folhas está relacionada ao acúmulo de antocianina, pigmento da família dos flavonoides com funções de proteção à radiação ultravioleta e a diferenças de temperatura. O magnésio, por sua vez, é responsável pela ativação de várias enzimas, faz parte da constituição da clorofila, ajuda na regulação do pH celular e no equilíbrio iônico. A clorose nas folhas e a abscisão prematura estão relacionadas a deficiência desse nutriente.

Em experimentos com tomates crescidos em solos com maior teor de matéria orgânica, como solos reconstituídos de substrato orgânico e vermiculita usualmente utilizados em estudos toxicológicos de crescimento de plantas, a administração da solução de Peters para adubação seria recomendada e suficiente. Entretanto, os resultados sugerem que para este tipo de substrato, areia comercial, essa administração não supre a demanda nutricional das plantas, de modo que elas não conseguiram desenvolver todas as estruturas do seu desenvolvimento completo.

4 CONCLUSÃO

Neste Trabalho, foram preparadas misturas de biocarvão e nanotubos de carbono (NTC) por meio de moagem em estado sólido, a fim de avaliar o potencial agrônomo destas misturas na germinação e no desenvolvimento de plantas do material produzido.

As caracterizações das misturas de biocarvão e nanotubos de carbono por moagem sugerem a formação de uma mistura simples, em detrimento de uma interação mais forte entre os dois materiais. A aplicação das misturas na areia como substrato para o crescimento de plantas (tomates-cereja e tomates Micro-Tom), na concentração de $200 \mu\text{g g}^{-1}$ de areia, não apresentou toxicidade na germinação das sementes assim como não apresentou efeitos no desenvolvimento das plantas. Entretanto, o método de administração da solução de adubação apresentou efeito não esperado no desenvolvimento dos tomates Micro-Tom. A administração via radicular se mostrou mais eficiente, com valores de massa fresca e seca de 2 a 3 vezes maiores comparados a adubação foliar.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- (HCPD-LAB), L. of hormonal control of plant development. **Micro-Tom Mutants**. Disponível em: <<http://www.esalq.usp.br/tomato/>>. [S.I.] [2001?]. Acesso em: 3 dez. 2019.
- (UN), U. N. **Goal 2: Zero Hunger**. [S.I.], [2018?]. Disponível em: <<https://www.un.org/sustainabledevelopment/hunger/>>. Acesso em: 22 nov. 2019.
- AHMAD, M.; RAJAPAKSHA, A. U.; LIM, J. E.; ZHANG, M.; BOLAN, N.; MOHAN, D.; VITHANAGE, M.; LEE, S. S.; OK, Y. S. Biochar as a sorbent for contaminant management in soil and water: A review. **Chemosphere**, v. 99, p. 19–33, 2014.
- ALIMOHAMMADI, M.; XU, Y.; WANG, D.; BIRIS, A. S.; KHODAKOVSKAYA, M. V. Physiological responses induced in tomato plants by a two-component nanostructural system composed of carbon nanotubes conjugated with quantum dots and its invivo multimodal detection. **Nanotechnology**, v. 22, n. 29, 2011.
- ANTAL, M. J.; GRØNLI, M. The art, science, and technology of charcoal production. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 42, n. 8, p. 1619–1640, 2003.
- ASHFAQ, M.; VERMA, N.; KHAN, S. Carbon nanofibers as a micronutrient carrier in plants: efficient translocation and controlled release of Cu nanoparticles. **Environmental Science: Nano**, v. 4, n. 1, p. 138–148, 2017.
- BEIGBEDER, A.; DEGEE, P.; CONLAN, S. L.; MUTTON, R. J.; CLARE, A. S.; PETTITT, M. E.; CALLOW, M. E.; CALLOW, J. A.; DUBOIS, P. Preparation and characterisation of silicone-based coatings filled with carbon nanotubes and natural sepiolite and their application as marine fouling-release coatings. **Biofouling**, v. 24, n. 4, p. 291–302, 2008.
- BREWER, C. E.; SCHMIDT-ROHR, K.; SATRIO, J. A.; BROWN, R. C. Characterization of Biochar from Fast Pyrolysis and Gasification Systems. **Environmental Progress & Sustainable Energy**, v. 28, n. 3, p. 386–396, 2009.
- Research and Markets. **Carbon Nanotubes (CNT) Market by Type, Method, Application - Global Forecast to 2023**. [S.I.], 2018. Disponível em: <https://www.researchandmarkets.com/research/jrjnq4/the_global_carbon?w=5>. Acesso em: 5 jan. 2020.
- CÔA, F.; STRAUSS, M.; CLEMENTE, Z.; RODRIGUES NETO, L. L.; LOPES, J. R.; ALENCAR, R. S.; SOUZA FILHO, A. G.; ALVES, O. L.; CASTRO, V. L. S. S.; BARBIERI, E.; MARTINEZ, D. S. T. Coating carbon nanotubes with humic acid using an eco-friendly mechanochemical method: Application for Cu(II) ions removal from water and aquatic ecotoxicity. **Science of the Total Environment**, v. 607–608, p. 1479–1486, 2017.
- CONLEY, D. J. Terrestrial ecosystems and the global biogeochemical silica cycle. **Global Biogeochemical Cycles**, v. 16, n. 4, p. 68-1-68–8, 2002.
- DAI, L.; CHANG, D. W.; BAEK, J. B.; LU, W. Carbon nanomaterials for advanced energy conversion and storage. **Small**, v. 8, n. 8, p. 1130–1166, 2012.

- DE VOLDER, M. F. L.; TAWFICK, S. H.; BAUGHMAN, R. H.; HART, A. J. Carbon nanotubes: Present and future commercial applications. **Science**, v. 339, n. 6119, p. 535–539, 2013.
- DELZEIT, L.; NGUYEN, C. V.; CHEN, B.; STEVENS, R.; CASSELL, A.; HAN, J.; MEYYAPPAN, M. Multiwalled carbon nanotubes by chemical vapor deposition using multilayered metal catalysts. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 106, n. 22, p. 5629–5635, 2002.
- DRESSELHAUS, M. S.; DRESSELHAUS, G.; SAITO, R.; JORIO, A. Raman spectroscopy of carbon nanotubes. **Physics Reports**, v. 409, n. 2, p. 47–99, 2005.
- ENDO, M. Grow carbon fibers in the vapor phase. **Chemical Technology**, v. 18, n. 9, p. 568–576, 1988.
- ENDO, M.; HAYASHI, T.; KIM, Y. A.; TERRONES, M.; DRESSELHAUS, M. S. Applications of Carbon Nanotubes in the Twenty-First Century. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series A-Mathematical Physical and Engineering Sciences**, v. 362, n. 1823, p. 2223–2238, 2019.
- FASANO, M.; CHIAVAZZO, E.; ASINARI, P. Water transport control in carbon nanotube arrays. **Nanoscale Research Letters**, v. 9, n. 1, p. 1–8, 2014.
- FIELDS, S.; JOHNSTON, M. Whither model organism research?. **Science**, v. 307, n. 5717, p. 1885–1886, 2005.
- Food and Agriculture Organization of The United Nations, (FAO). **Chapter 2. Food security: concepts and measurement**. [S.I.] [2001?]. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/y4671e/y4671e06.htm>>. Acesso em: 22 nov. 2019.
- GLASER, B.; LEHMANN, J.; ZECH, W. Ameliorating physical and chemical properties of highly weathered soils in the tropics with charcoal - A review. **Biology and Fertility of Soils**, v. 35, n. 4, p. 219–230, 2002.
- GRABER, E. R.; HAREL, Y. M.; KOLTON, M.; CYTRYN, E.; SILBER, A.; DAVID, D. R.; TSECHANSKY, L.; BORENSHTEIN, M.; ELAD, Y. Biochar impact on development and productivity of pepper and tomato grown in fertigated soilless media. **Plant and Soil**, v. 337, n. 1, p. 481–496, 2010.
- GUNTZER, F.; KELLER, C.; MEUNIER, J. D. Benefits of plant silicon for crops: A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 32, n. 1, p. 201–213, 2012.
- INAMI, N.; AMBRI MOHAMED, M.; SHIKOH, E.; FUJIWARA, A. Synthesis-condition dependence of carbon nanotube growth by alcohol catalytic chemical vapor deposition method. **Science and Technology of Advanced Materials**, v. 8, n. 4, p. 292–295, 2007.
- INYANG, M.; GAO, B.; ZIMMERMAN, A.; ZHANG, M.; CHEN, H. Synthesis, characterization, and dye sorption ability of carbon nanotube-biochar nanocomposites. **Chemical Engineering Journal**, v. 236, p. 39–46, jan. 2014.

INYANG, M.; GAO, B.; ZIMMERMAN, A.; ZHOU, Y.; CAO, X. Sorption and cosorption of lead and sulfapyridine on carbon nanotube-modified biochars. **Environmental and Pollution Research**, v. 22, n. 3, p. 1868–1876, 2015.

JEONG, C. Y.; DODLA, S. K.; WANG, J. J. Fundamental and molecular composition characteristics of biochars produced from sugarcane and rice crop residues and by-products. **Chemosphere**, v. 142, p. 4–13, 2016.

JOSÉ-YACAMÁN, M.; MIKI-YOSHIDA, M.; RENDÓN, L.; SANTIESTEBAN, J. G. Catalytic growth of carbon microtubules with fullerene structure. **Applied Physics Letters**, v. 62, n. 6, p. 657–659, 1993.

KHANNA, R.; IKRAM-UL-HAQ, M.; RAJARAO, R.; CAYUMIL, R.; RAWAL, A.; SAHAJWALLA, V.; MUKHERJEE, P. S. Novel multidimensional carbons from structural transformations of waste lignin: A low temperature pyrolysis investigation. **Fuel Processing Technology**, v. 166, p. 312–321, 2017.

KHODAKOVSKAYA, M. V.; DE SILVA, K.; BIRIS, A. S.; DERVISHI, E.; VILLAGARCIA, H. Carbon nanotubes induce growth enhancement of tobacco cells. **ACS Nano**, v. 6, n. 3, p. 2128–2135, 2012.

KHODAKOVSKAYA, M. V.; DE SILVA, K.; NEDOSEKIN, D. A.; DERVISHI, E.; BIRIS, A. S.; SHASHKOV, E. V.; GALANZHA, E. I.; ZHAROV, V. P. Complex genetic, photothermal, and photoacoustic analysis of nanoparticle-plant interactions. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108, n. 3, p. 1028–1033, 2011.

KHODAKOVSKAYA, M. V.; KIM, B. S.; KIM, J. N.; ALIMOHAMMADI, M.; DERVISHI, E.; MUSTAFA, T.; CERNIGLA, C. E. Carbon nanotubes as plant growth regulators: Effects on tomato growth, reproductive system, and soil microbial community. **Small**, v. 9, n. 1, p. 115–123, 2013.

KIMURA, S.; SINHA, N. Tomato (*Solanum lycopersicum*): A model fruit-bearing crop. **Cold Spring Harbor Protocols**, v. 3, n. 11, 2008.

LAHIANI, M. H.; DERVISHI, E.; CHEN, J.; NIMA, Z.; GAUME, A.; BIRIS, A. S.; KHODAKOVSKAYA, M. V. Impact of carbon nanotube exposure to seeds of valuable crops. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 5, n. 16, p. 7965–7973, 2013.

LEHMAN, J. H.; TERRONES, M.; MANSFIELD, E.; HURST, K. E.; MEUNIER, V. Evaluating the characteristics of multiwall carbon nanotubes. **Carbon**, v. 49, n. 8, p. 2581–2602, 2011.

LEHMANN, J. **Biochar for Environmental Management**. 1. ed. Sterling, VA: Earthscan, 2009.

LEHMANN, J.; RILLIG, M.; THIES, J.; MASIELLO, C.; HOCKADAY, W.; CROWLEY, D. Biochar effects on soil biota - A review. **Soil biology & biochemistry**, v. 43, p. 1812–1836, 2011.

LIN, S.; REPPERT, J.; HU, Q.; HUDSON, J. S.; REID, M. L.; RATNIKOVA, T. A.; RAO, A. M.; LUO, H.; KE, P. C. Uptake, translocation, and transmission of carbon nanomaterials in rice plants. **Small**, v. 5, n. 10, p. 1128–1132, 2009.

LINCOLN, T.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

LISOWSKI, P.; COLMENARES, J. C.; MAŠEK, O.; LISOWSKI, W.; LISOVYTSKIY, D.; KAMIŃSKA, A.; ŁOMOT, D. Dual Functionality of TiO₂/Biochar Hybrid Materials: Photocatalytic Phenol Degradation in the Liquid Phase and Selective Oxidation of Methanol in the Gas Phase. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 5, n. 7, p. 6274–6287, 2017.

LV, D.; XU, M.; LIU, X.; ZHAN, Z.; LI, Z.; YAO, H. Effect of cellulose, lignin, alkali and alkaline earth metallic species on biomass pyrolysis and gasification. **Fuel Processing Technology**, v. 91, n. 8, p. 903–909, 2010.

MALAVOLTA, E. **Manual de Nutrição de Plantas**. Agronômica ed. São Paulo: 2006, 2006.

MANOJ, B.; KUNJOMANA, A. G. Study of stacking structure of amorphous carbon by X-ray diffraction technique. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 7, n. 4, p. 3127–3134, 2012.

MARKIEWICZ, M.; KUMIRSKA, J.; LYNCH, I.; MATZKE, M.; KÖSER, J.; BEMOWSKY, S.; DOCTER, D.; STAUBER, R.; WESTMEIER, D.; STOLTE, S. Changing environments and biomolecule coronas: Consequences and challenges for the design of environmentally acceptable engineered nanoparticles. **Green Chemistry**, v. 20, n. 18, p. 4133–4168, 2018.

MASCIANGIOLI, T.; ZHANG, W. X. Environmental technologies at the nanoscale. **Environmental Science and Technology**, v. 37, n. 5, 2003.

MCMICHAEL, C. H.; PALACE, M. W.; BUSH, M. B.; BRASWELL, B.; HAGEN, S.; NEVES, E. G.; SILMAN, M. R.; TAMANAHA, E. K.; CZARNECKI, C. Predicting pre-Columbian anthropogenic soils in Amazonia. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 281, n. 1777, p. 23–28, 2014.

MEHMOOD, K.; CHÁVEZ GARCIA, E.; SCHIRRMANN, M.; LADD, B.; KAMMANN, C.; WRAGE-MÖNNIG, N.; SIEBE, C.; ESTAVILLO, J. M.; FUERTES-MENDIZABAL, T.; CAYUELA, M.; SIGUA, G.; SPOKAS, K.; COWIE, A. L.; NOVAK, J.; IPPOLITO, J. A.; BORCHARD, N. Biochar research activities and their relation to development and environmental quality. A meta-analysis. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 37, n. 3, 2017.

MIRALLES, P.; JOHNSON, E.; CHURCH, T. L.; HARRIS, A. T. Multiwalled carbon nanotubes in alfalfa and wheat: Toxicology and uptake. **Journal of the Royal Society Interface**, v. 9, n. 77, p. 3514–3527, 2012.

MOGENSEN, K. B.; KUTTER, J. P. Carbon nanotube based stationary phases for microchip chromatography. **Lab on a Chip**, v. 12, n. 11, p. 1951–1958, 2012.

MUKOME, F. N. D.; ZHANG, X.; SILVA, L. C. R.; SIX, J.; PARIKH, S. J. Use of Chemical

and Physical Characteristics To Investigate Trends in Biochar Feedstocks. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 61, n. 9, p. 2196–2204, mar. 2013.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). **OECD Guidelines for the testing of chemicals: proposals for updating guideline 208—Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test.**

PENG, X.; YE, L. L.; WANG, C. H.; ZHOU, H.; SUN, B. Temperature- and duration-dependent rice straw-derived biochar: Characteristics and its effects on soil properties of an Ultisol in southern China. **Soil and Tillage Research**, v. 112, n. 2, p. 159–166, 2011.

ROLDAN, L.; SANTOS, I.; ARMENISE, S.; MARIA FRAILE, J.; GARCIA-BORDEJE, E. The formation of a hydrothermal carbon coating on graphite microfiber felts for using as structured acid catalyst. **Carbon**, v. 50, n. 3, p. 1363–1372, mar. 2012.

SAINI, P.; CHOUDHARY, V.; SINGH, B. P.; MATHUR, R. B.; DHAWAN, S. K. Polyaniline-MWCNT nanocomposites for microwave absorption and EMI shielding. **Materials Chemistry and Physics**, v. 113, n. 2–3, p. 919–926, 2009.

SAITO, R.; JORIO, A.; SOUZA FILHO, A. G.; DRESSELHAUS, M. S.; DRESSELHAUS, G.; PIMENTA, M. A. Probing Phonon Dispersion Relations of Graphite by Double Resonance Raman Scattering. **Physical Review Letters**, v. 88, n. 2, p. 4, 2002.

SALEH, T. A.; GUPTA, V. K. Functionalization of tungsten oxide into MWCNT and its application for sunlight-induced degradation of rhodamine B. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 362, n. 2, p. 337–344, 2011.

SCALA, F.; CHIRONE, R.; SALATINO, P. Combustion and attrition of biomass chars in a fluidized bed. **Energy and Fuels**, v. 20, n. 1, p. 91–102, 2006.

SERAG, M. F.; KAJI, N.; GAILLARD, C.; OKAMOTO, Y.; TERASAKA, K.; JABASINI, M.; TOKESHI, M.; MIZUKAMI, H.; BIANCO, K. A.; BABA, Y. Trafficking and Subcellular Localization. **ACS Nano**, v. XXX, n. Xx, p. 493–499, 2010.

SHAFIZADEH, F.; SEKIGUCHI, Y. Oxidation of chars during smoldering combustion of cellulosic materials. **Combustion and Flame**, v. 55, n. 2, p. 171–179, 1984.

SHIM, B. S.; CHEN, W.; DOTY, C.; XU, C.; KOTOV, N. A. Smart electronic yarns and wearable fabrics for human biomonitoring made by carbon nanotube coating with polyelectrolytes. **Nano Letters**, v. 8, n. 12, p. 4151–4157, 2008.

SOHI, S.; LOPEZ-CAPEL, E.; KRULL, E.; BOL, R. Biochar's Roles in Soil and Climate Change: A Review of Research Needs. In: [s.l: s.n.]5p. 64.

SUMLO IJIMA. Helical microtubules of graphitic carbon. **Nature**, v. 354, n. 354, p. 56–58, 1991.

TERRONES, M. Science and Technology of the Twenty-First Century: Synthesis, Properties, and Applications of Carbon Nanotubes. **Annual Review of Materials Research**, v. 33, n. 1, p. 419–501, 2003.

THOMMES, M.; KANEKO, K.; NEIMARK, A. V.; OLIVIER, J. P.; RODRIGUEZ-REINOSO, F.; ROUQUEROL, J.; SING, K. S. W. Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 87, n. 9–10, p. 1051–1069, 2015.

UCHIMIYA, M.; WARTELLE, L. H.; KLASSON, K. T.; FORTIER, C. A.; LIMA, I. M. Influence of pyrolysis temperature on biochar property and function as a heavy metal sorbent in soil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 6, p. 2501–2510, 2011.

VÁRHEGYI, G.; SZABÓ, P.; TILL, F.; ZELEI, B.; ANTAL, M. J.; DAI, X. TG, TG-MS, and FTIR characterization of high-yield biomass charcoals. **Energy and Fuels**, v. 12, n. 5, p. 969–974, 1998.

VERHEIJEN, F.; JEFFERY, S.; BASTOS, A.; VELDE, M.; DIAFAS, I. **Biochar Application to Soils – A Critical Scientific Review of Effects on Soil Properties, Processes and Functions**. 1. e.d. Luxemburgo: European Communities, 2010.

VILLAGARCIA, H.; DERVISHI, E.; DE SILVA, K.; BIRIS, A. S.; KHODAKOVSKAYA, M. V. Surface chemistry of carbon nanotubes impacts the growth and expression of water channel protein in tomato plants. **Small**, v. 8, n. 15, p. 2328–2334, 2012.

WANG, B.; GAO, B.; FANG, J. Recent advances in engineered biochar productions and applications. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 47, n. 22, p. 2158–2207, 2017.

WEPASNICK, K. A.; SMITH, B. A.; BITTER, J. L.; HOWARD FAIRBROTHER, D. Chemical and structural characterization of carbon nanotube surfaces. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 396, n. 3, p. 1003–1014, 2010.

WONG, M. H.; GIRALDO, J. P.; KWAK, S. Y.; KOMAN, V. B.; SINCLAIR, R.; LEW, T. T. S.; BISKER, G.; LIU, P.; STRANO, M. S. Nitroaromatic detection and infrared communication from wild-type plants using plant nanobionics. **Nature Materials**, v. 16, n. 2, p. 264–272, 2017.

WONG, M. H.; MISRA, R. P.; GIRALDO, J. P.; KWAK, S. Y.; SON, Y.; LANDRY, M. P.; SWAN, J. W.; BLANKSCHTEIN, D.; STRANO, M. S. Lipid Exchange Envelope Penetration (LEEP) of Nanoparticles for Plant Engineering: A Universal Localization Mechanism. **Nano Letters**, v. 16, n. 2, p. 1161–1172, 2016.

WOOLF, D.; AMONETTE, J. E.; STREET-PERROTT, F. A.; LEHMANN, J.; JOSEPH, S. Sustainable biochar to mitigate global climate change. **Nature Communications**, v. 1, n. 5, 2010.

XIAO, Q.; ZHU, L. X.; ZHANG, H. P.; LI, X. Y.; SHEN, Y. F.; LI, S. Q. Soil amendment with biochar increases maize yields in a semi-arid region by improving soil quality and root growth. **Crop and Pasture Science**, v. 67, n. 5, p. 495–507, 2016.

YAO, Y.; XU, F.; CHEN, M.; XU, Z.; ZHU, Z. Adsorption behavior of methylene blue on carbon nanotubes. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 9, p. 3040–3046, 2010.

ZAPATA-MASSOT, C.; LE BOLAY, N. Effect of ball milling in a tumbling ball mill on the properties of multi-wall carbon nanotubes. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 47, n. 8, p. 1350–1356, 2008.

ZHANG, M.; GAO, B.; YAO, Y.; XUE, Y.; INYANG, M. Synthesis, characterization, and environmental implications of graphene-coated biochar. **Science of the Total Environment**, v. 435–436, p. 567–572, 2012.

ZHANG, Q.; HUANG, J. Q.; QIAN, W. Z.; ZHANG, Y. Y.; WEI, F. The road for nanomaterials industry: A review of carbon nanotube production, post-treatment, and bulk applications for composites and energy storage. **Small**, v. 9, n. 8, p. 1237–1265, 2013.

ZHANG, Q.; HUANG, J. Q.; ZHAO, M. Q.; QIAN, W. Z.; WEI, F. Carbon nanotube mass production: Principles and processes. **ChemSusChem**, v. 4, n. 7, p. 864–889, 2011.