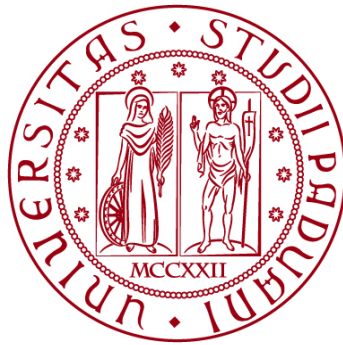


UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA

Corso di Laurea in Biotecnologie



ELABORATO DI LAUREA

**Nanomateriali a base di grafene: innovazioni nei sistemi
di distribuzione e di somministrazione di principi attivi
in agricoltura**

Tutor: Prof. Paolo Carletti

**Dipartimento di Agronomia, Animali, Alimenti, Risorse naturali e Ambiente
(DAFNAE)**

Laureanda: Alessia Favia

ANNO ACCADEMICO 2025/2026

Abstract

Negli ultimi anni, le proprietà del grafene hanno suscitato diverso interesse in molteplici aree scientifiche e tecnologiche. In particolare, nell'ambito medico e farmaceutico il grafene ha dimostrato un ottimo potenziale come nano-sistema per il rilascio controllato di biomolecole e farmaci. Il grafene possiede delle caratteristiche (quali ampia area di superficie, stabilità chimica e meccanica, chimica superficiale modificabile e bassa tossicità) che lo rendono un materiale promettente su cui basare sistemi di distribuzione agricoli. Nonostante ciò, l'applicazione del grafene come nano-vettore in agricoltura è ancora ad una fase iniziale.

I fertilizzanti e pesticidi convenzionali hanno parecchi svantaggi che portano ad un loro sovra-utilizzo in campo con conseguente inquinamento ambientale. I nanofertilizzanti di nuova generazione, con alta efficienza di distribuzione e un rilascio lento e controllato, sono considerati il *gold standard* per un'agricoltura sostenibile e la salvaguardia dell'ambiente.

Molti studi recenti dimostrano che l'utilizzo del grafene come nanovettore di nutrienti, prodotti chimici e principi attivi in agricoltura abbia un significativo successo nello sviluppo delle piante.

Indice

Introduzione.....	pag.2
Nanomateriali a base di grafene – Ossido di grafene.....	pag.5
Sintesi del grafene mediante agenti biologici.....	pag.8
Interazione fra i nanomateriali a base di grafene (GBNs) e i prodotti per uso agricolo.....	pag.9
Caratteristiche che regolano l'assorbimento dei nanovettori a base di grafene nelle piante.....	pag.12
Grafene come sistema di distribuzione e somministrazione in agricoltura: studi fatti.....	pag.14
Impatto del grafene sul suolo e sull'ambiente.....	pag.16
Conclusioni.....	pag.17
Bibliografia.....	pag.19

Introduzione

L'agricoltura è un pilastro dell'economia globale e gioca un ruolo fondamentale nella salute umana e ambientale. Dal 2015 al 2025 il tasso medio di crescita della popolazione globale era del 1.0% annuo. OECD/FAO prevede che la crescita della popolazione globale rallenti ad un tasso medio dello 0.8% annuo nel prossimo decennio, stimando di raggiungere gli 8,9 miliardi di persone entro il 2034. Nonostante il tasso di crescita globale stia rallentando (rispetto agli ultimi 10 anni), la domanda di cibo e prodotti agricoli continua ad aumentare, insieme alla popolazione globale. Sfortunatamente, per soddisfare la crescente domanda di cibo, l'uso indiscriminato ed eccessivo di prodotti chimici è diventato una pratica comune. Infatti, molte pratiche agricole si basano sull'uso di dosi elevate di prodotti agrochimici, portando ad un pericoloso aumento dell'inquinamento ambientale e una grave perdita di biodiversità [1,2].

Molti dei fertilizzanti esistenti hanno scarsa stabilità e subiscono degradazione termica, fotolitica, idrolitica e microbica nel suolo. Tutto ciò comporta una perdita dei principi attivi del prodotto chimico utilizzato. Inoltre, i nutrienti disponibili nei fertilizzanti sono nelle loro forme chimiche non processate, che spesso non sono completamente accessibili alle piante. Tutto ciò rende i principi attivi dell'agrochimico indisponibili per le piante e riduce l'efficienza d'uso dei nutrienti. Contemporaneamente, un'ampia porzione dei pesticidi in uso non è in grado di raggiungere il loro target o è soggetto a perdite nell'ambiente. Infine, l'uso di quantità eccessive di agrochimici comporta la loro perdita per lisciviazione dal suolo e all'inquinamento a valle dei corpi idrici, l'eutrofizzazione, la loro dispersione in atmosfera, l'acidificazione o alcalinizzazione del suolo, la riduzione/eliminazione di microrganismi utili alle colture, la riduzione della fertilità del suolo, l'aumento e lo sviluppo della resistenza a pesticidi, con conseguente aumento della vulnerabilità/predisposizione delle colture alle malattie [3].

Attualmente i sistemi di rilascio adoperati in agricoltura vengono classificati in: incapsulati/rivestiti, sistemi a base di idrogel, superassorbenti e sistemi a base di emulsioni. Questi sistemi sono principalmente costituiti da polimeri, cere, argille e composti inorganici. Tuttavia, questi materiali presentano diversi svantaggi, quali bassa efficienza di trasporto, bassa capacità di controllo della loro tossicodinamica, limitata

capacità di modulare il rilascio e la biodisponibilità dei principi attivi, ridotta capacità di carico e bassa efficienza d'uso dei nutrienti [4].

A causa delle limitazioni dei sistemi di distribuzione per l'agricoltura esistenti, è prioritario sviluppare nuovi sistemi di rilascio avanzato che siano in grado di soddisfare la domanda di prodotti agricoli mondiale e riducano o eliminino gli effetti indesiderati. Ciò significa sviluppare sistemi che possano ridurre il sovra-utilizzo di prodotti chimici; ridurre le perdite di nutrienti; migliorare la biodisponibilità dei nutrienti e risolvere il problema della bassa efficienza dei sistemi di distribuzione e somministrazione per l'agricoltura esistenti.

I nanomateriali presentano almeno una dimensione nel range di 1-100 nm e possiedono un'ampia superficie specifica ricca di siti attivi. Queste caratteristiche permettono ai nanomateriali di superare la parete cellulare e altre barriere biologiche e di agire su tessuti o strutture cellulari specifici delle piante in maniera precisa. Tutto ciò dona una serie di vantaggi ai nanomateriali rispetto ai sistemi di rilascio tradizionali, come: elevata capacità di carico e di adsorbimento, capacità di rilascio lento e prolungato che comporta ad un aumento dell'efficienza d'uso dei nutrienti, con conseguente riduzione dell'uso di prodotti chimici agricoli. Inoltre, i nanomateriali in carbonio presentano una superficie chimica su cui è possibile effettuare diverse modificazioni, dette funzionalizzazioni superficiali, con scopo di migliorarne le qualità. In questo modo possono agire anche come nanobiostimolanti che regolano il metabolismo e i sistemi di difesa, ad esempio, contro i danni ossidativi causati dalle specie reattive dell'ossigeno (ROS). Questi effetti biologici dipendono strettamente dalla composizione chimica, dimensione, morfologia e superficie chimica dei nanomateriali utilizzati. Per questi motivi, negli ultimi decenni, si è studiata l'applicazione dei nanomateriali come sistemi di distribuzione avanzati in agricoltura per migliorare la produzione agricola. Il grafene è un nanomateriale in carbonio che, oltre alle proprietà esplicate in precedenza, può essere utilizzato per il rilascio mirato del carico (nutriente, principio attivo, ecc.) in risposta a diversi stimoli, come polarità, pH o luce.

Ad oggi il grafene è riconosciuto come sistema nanovettore per il rilascio di farmaci sia in animali modello che in cellule di mammiferi. In particolare, diversi studi hanno dimostrato che l'utilizzo del grafene come nanovettore nel rilascio di farmaci antitumorali ha un successo significativo. Grazie a queste ricerche anche nel settore dell'agricoltura si

è iniziato ad esplorare l'applicazione dei nanomateriali a base di grafene come sistemi nanovettore, con lo scopo di utilizzarli nel rilascio di nutrienti e principi attivi sulle coltivazioni [4,5].

Nanomateriali a base di grafene – Ossido di grafene

Il grafene è un allotropo bidimensionale del carbonio costituito da un singolo strato di atomi di carbonio ibridati sp^2 , disposti a formare un reticolo esagonale, che si presenta sotto forma di fogli. Ogni atomo di carbonio forma 3 legami σ con gli atomi di carbonio adiacenti, lasciando un orbitale p_z non ibridato orientato perpendicolarmente al piano del foglio di grafene. La sovrapposizione degli orbitali p_z non ibridati dà origine a un sistema di elettroni π delocalizzati esteso sull'intero reticolo carbonioso. Questo sistema elettronico delocalizzato è definito “struttura π -coniugata” ed è responsabile delle principali proprietà elettroniche, chimiche e di trasporto e rilascio di molecole bioattive del grafene [4].

L'isolazione del grafene fu eseguita nel 2004 da Andre Geim e Konstantine Novoselov, per la quale ottennero il Premio Nobel per la Fisica nel 2010. I nanomateriali a base di grafene (GBNs, graphene based nanomaterials) vengono categorizzati in diversi gruppi: grafene con pochi strati (FLG, few-layer graphene), ossido di grafene (GO, graphene oxide), ossido di grafene ridotto (rGO, reduced graphene oxide), ossido di grafene solfonato (SGO, sulfonated graphene oxide), ossido di grafene con ammine (G-NH₂, amine-functionlized graphene oxide) e nastri di grafene idratato (HGR, hydrated graphene ribbon). I componenti di ogni gruppo presentano proprietà e funzione uniche, ma esistono caratteristiche comuni a tutti i gruppi, quali: la presenza di un'ampia area di superficie ($\sim 2620 \text{ m}^2/\text{g}$), eccellenti proprietà meccaniche (resistenza a trazione $\sim 15\text{-}520 \text{ MPa}$; modulo di Young compreso tra ~ 20 e 40 GPa) ed elevata conduttività elettrica (mobilità dei portatori di carica $\sim 2 \cdot 10^4 \text{ cm}^2 \text{V}^{-1} \text{s}^{-1}$; densità dei portatori di carica $\sim 10^{13} \text{ cm}^{-2}$) [6,7]. In agricoltura, i nanomateriali a base di grafene vengono applicati per modulare e/o potenziare le funzioni fisiologiche delle piante, come sensori di pesticidi e dell'idratazione del suolo e anche per la bonifica del suolo e delle acque. In particolare, l'ossido di grafene (GO) è un nanomateriale derivato dal grafene arricchito di gruppi funzionali contenenti ossigeno. La presenza di questi gruppi idrofili superficiali, insieme ai canali capillari nanometrici formati dai domini di carbonio sp^2 , consentono al GO di disperdersi facilmente nei mezzi acquosi e nei pori del suolo, conferendogli un'elevata capacità di adsorbimento e di trasporto dell'acqua [5]. Questa proprietà ha avviato diversi studi sulle applicazioni del grafene e dell'ossido di grafene come sensori per il monitoraggio del trasporto idrico nelle piante, per la variazione dell'umidità relativa e la

perdita d'acqua dalle foglie e anche per il rilevamento delle carenze nutrizionali delle piante [4]. Quando l'ossido di grafene è ben distribuito nei diversi strati del terreno può attaccarsi a particelle del suolo e al microambiente della rizosfera, aumentando il contenuto d'acqua e rallentandone la perdita in quella regione. All'interfaccia suolo-seme, GO è in grado di adsorbire e trattenere molecole d'acqua all'interno dei pori del terreno e sulla superficie del tegumento seminale, nonché di favorirne il trasporto direzionale lungo la struttura bidimensionale nanometrica del grafene verso la superficie del seme e i micropori del tegumento. Questo pattern di regolazione duale (combinazione della ritenzione locale dell'acqua e del suo trasporto direzionale) fornisce una spiegazione fisico-chimica degli effetti da promotore della crescita nelle fasi iniziali della germinazione, osservati in diversi studi. Gli stessi studi evidenziano anche come gli effetti siano altamente dipendenti dalla dose e specie-specifici, con potenziale fitotossicità e rischi ambientali a dosi elevate [5,8].

Per questo motivo l'ossido di grafene dovrebbe essere visto come una famiglia di nanomateriali piuttosto che una sostanza unica. Infatti, è importante specificare: il grado di ossidazione (rapporto C/O), l'abbondanza e la distribuzione spaziale dei gruppi funzionali contenenti ossigeno, la carica superficiale e dimensioni e spessore del foglietto di grafene. Una tale descrizione fisico-chimica permette la determinazione dell'acidità, della capacità di adsorbimento di ioni, del comportamento colloidale nei diversi mezzi, consentendo così di svolgere studi sulla variabilità degli effetti anche quando vengono somministrate dosi simili. Analisi di questo tipo sui nanomateriali a base di grafene suggeriscono che GO possa esercitare effetti più marcati di promozione della crescita radicale, in alcune specie, rispetto a grafene meno ossidato. Grazie alle analisi struttura-funzione si è attribuito questo effetto a una maggiore densità di difetti, una elevata presenza di gruppi funzionali superficiali e una più intensa carica superficiale negativa. In conclusione, l'insieme di gruppi funzionali contenenti ossigeno, canali capillari nanometrici, difetti di superficie e carica contribuiscono alle proprietà di ritenzione e trasporto dell'acqua e alla crescita specifica di organi a livello dell'interfaccia suolo-piante [5].

Nello specifico, la struttura π -coniugata dell'ossido di grafene agisce come una superficie aromatica planare idonea all'adsorbimento di molecole organiche e composti ciclici. Ciò permette l'immobilizzazione diretta di tali specie senza ulteriori modificazioni

chimiche della superficie, attraverso l'interazione di tipo π - π . Oltretutto, numerosi studi dimostrano che l'ossido di grafene ha un'elevata capacità di adsorbimento di ioni metallici ed elementi inorganici; ciò significa che GO può distribuire efficacemente micronutrienti delle piante. Alcune ricerche hanno osservato l'adsorbimento di pesticidi sulle superfici di GO e di rGO, evidenziando una notevole capacità di adsorbimento dei pesticidi in presenza di acqua. Per di più, la struttura bidimensionale monostratificata (o pluristratificata in FLG) fornisce un'ampia area di superficie su entrambi i lati del foglietto di grafene, permettendo di caricare una maggior quantità di principi attivi rispetto ad altri nanovettori. L'alta stabilità meccanica, la resistenza alla trazione, l'elevata stabilità chimica e termica dei nanomateriali a base di grafene li rende adatti per la protezione del principio attivo che si vuole distribuire in diversi ambienti. Infine, la superficie chimica modulabile dei nanomateriali a base di grafene (GBNs) consente una funzionalizzazione efficace e relativamente semplice del grafene, mediante modificazioni covalenti e non covalenti (permettendo così il caricamento di diverse classi di composti destinati al rilascio).

La capacità del grafene di effettuare un rilascio lento e controllato è stata dimostrata dalle sue applicazioni biomediche come nanovettore di farmaci; mentre l'uso del grafene come nanovettore in agricoltura è ancora ad una fase iniziale. Ad esempio, l'idrofobicità del grafene e del rGO non permette un facile rilascio delle molecole assorbite se contenenti idrocarburi a lunga catena [4,6].

Sintesi del grafene mediante agenti biologici

Le attuali metodologie di produzione industriale del grafene includono l'esfoliazione diretta della grafite oppure la sua ossidazione chimica, seguita dalla riduzione dell'ossido di grafite mediante approcci di sintesi chimica. La quantità di grafene richiesta per le applicazioni agricole può essere ottenuta esclusivamente mediante questi processi industriali, questi però comportano un significativo inquinamento ambientale a causa dell'uso di sostanze chimiche pericolose e del rilascio di sottoprodotti tossici. Oltretutto, i materiali a base di grafene prodotti industrialmente presentano proprietà non uniformi, compromettendo la qualità complessiva del materiale. Nell'ultimo decennio sono state esplorati metodi per la sintesi biologica del grafene, essendo ecologiche, semplici e economiche; il grafene sintetizzato con tali approcci presenta un minor numero di difetti strutturali e maggiore biocompatibilità. Le entità biologiche agiscono come agenti naturali di rivestimento e stabilizzazione, fornendo ingombro sterico che consente di stabilizzare le lamelle di grafene mediante interazioni π - π o legami a idrogeno. La biomassa microbica, come colture batteriche di *Escherichia coli* o del lievito di birra, costituisce un ulteriore esempio di biocatalizzatori riduttivi efficaci, utilizzabili per la produzione su larga scala di grafene stabile e disperdibile in ambiente acquoso. Agenti biologici, come estratti vegetali e metaboliti, sono stati impiegati per la riduzione del GO, ottenendo rGO con superficie funzionalizzata. Nello specifico la catena di trasporto degli elettroni, coinvolta nella respirazione batterica e fissazione dell'azoto, costituisce una possibile via metabolica in grado di catalizzare il processo di riduzione. Tra le proteine e gli enzimi batterici, coinvolti in tali reazioni, il citocromo c e gli enzimi di fissazione dell'azoto e nitrogenasi svolgono un duplice ruolo sia come agenti riducenti per GO sia come agenti di biofunzionalizzazione per rGO prodotto. Infine, recentemente si stanno sviluppando sistemi che sfruttino i rifiuti agricoli come precursori per la produzione su larga scala del grafene, GO e rGO. Complessivamente la sintesi biologica di materiali in grafene comporta numerosi vantaggi, tra cui semplicità operativa, ridotto impatto ambientale e completo sfruttamento dei rifiuti agricoli, con conseguenti benefici economici per gli agricoltori. D'altro canto, la quantità di grafene necessaria per il suo utilizzo in agricoltura può essere soddisfatta solo da produzioni di livello industriale, che per i metodi di sintesi biologica significa lo sviluppo di metodi impieganti bioreattori [4].

Interazione fra i nanomateriali a base di grafene (GBNs) e i prodotti per uso agricolo

Tra gli aspetti più significativi della chimica superficiale del grafene vi è la presenza di un sistema di elettroni delocalizzati (la struttura π -coniugata), responsabile delle interazioni deboli tra i diversi strati del grafene. Tali interazioni sono determinate dal marcato stacking π - π interstrato che si instaura tra gli strati del grafene oppure tra grafene e substrato. A seconda della tipologia di principio attivo (substrato che si vuole distribuire e/o somministrare alla pianta), l'interazione con la superficie del grafene varia. È stato osservato che i pesticidi contenenti gruppi aromatici interagiscono col sistema π - π della superficie del grafene, mentre pesticidi contenenti gruppi alifatici possono interagire sia con il sistema π - π , sia con i gruppi funzionali polari sulla superficie dell'ossido di grafene (GO), tramite interazioni dipolo-dipolo e formazione di legami a idrogeno. Prodotti per uso agricolo (agri-inputs) contenenti ioni metallici, come i micronutrienti, possono interagire con l'ossido di grafene (GO) in vari modi: tramite la formazione di legami a idrogeno o legami ionici con i gruppi ossigenati e tramite l'interazione degli elettroni π con le porzioni aromatiche [4,7].

Una possibile spiegazione al rilascio controllato è il meccanismo di complessazione degli ioni metallici con i gruppi funzionali ossigenati in GO, che determina la formazione di legami fra le lamine GO e l'intrappolamento degli ioni metallici ad esse (inserendosi negli spazi interlamellari). Tale fenomeno limita il rilascio rapido degli ioni, favorendone un rilascio graduale nel tempo. Inoltre, le porzioni aromatiche della superficie di GO sono in grado di formare associazioni non-polari con i composti idrofobici. La stabilità di tali interazioni deriva dalle forti interazioni di stacking π - π , sostenute da deboli forze di van der Waals.

A seconda dell'interazione che avviene fra il GBN e l'agri-input, si sono sviluppate diverse strategie per il caricamento dell'agri-input sui GBNs. Esse si dividono in:

- Adsorbimento diretto su nanoparticelle di grafene
- Ancoraggio per via covalente su lamine di grafene
- Incapsulamento del principio attivo su ossido di grafene (GO) o ossido di grafene ridotto (rGO)
- Intrappolamento del principio attivo tra strati di grafene

Nel 2022 è stata fatta una ricerca sul meccanismo molecolare alla base dell'adsorbimento di pesticidi da parte di GBNs, in particolare GO e rGO. Lo studio ha concluso che l'adsorbimento è un processo spontaneo (ΔG dai -1 ai -5 kJ/mol) [9]. Il meccanismo di adsorbimento viene interpretato come una sinergia di diversi fattori, ossia la coniugazione π - π tra le regioni sp^2 del nanomateriale e gli anelli aromatici delle molecole di pesticida, i legami a idrogeno e le interazioni elettrostatiche tra gli eteroatomi presenti nelle molecole di pesticida e i gruppi funzionali contenenti ossigeno del materiale assorbente (GO, rGO), nonché i legami a idrogeno e le interazioni di coniugazione π - π tra le stesse molecole di pesticida [7]. Ciò significa che l'adsorbimento diretto su nanoparticelle di grafene può essere effettuato solo rispettando certe caratteristiche del GBN e dell'agri-input usati. In primo luogo, bisogna ottimizzare la tipologia dei gruppi ossigenati sulla superficie del nanomateriale, così da aumentare l'efficienza di legame fra esso e l'agri-input (ad esempio, i gruppi carbossili di GO hanno maggiore forza legame). In aggiunta, l'idrofobicità del nanomateriale e del agri-input deve essere determinata con precisione, siccome le interazioni idrofobiche sono una porzione importante delle interazioni non-covalenti. Infine, il rapporto di combinazione fra il GBN e l'agri-input deve essere opportunamente ottimizzato.

La strategia di ancoraggio per via covalente su lamine di grafene viene utilizzata quando gli agri-input non contengono i gruppi funzionali per il caricamento diretto (tramite adsorbimento). Questo metodo si basa quindi sulla funzionalizzazione covalente dei GBNs, spiegata nel capitolo precedente. Tramite funzionalizzazione covalente si ottiene maggiore biocompatibilità e disperdibilità, ma in particolare i gruppi funzionali aggiunti fungono da ligandi per l'ancoraggio dell'agri-input. Di conseguenza è necessario scegliere il ligando idoneo per l'efficacia del sistema di delivery, in modo da ottenere un rilascio lento [4,7].

La strategia di incapsulamento di sostanze in grafene ha avuto successo per il rilascio di farmaci, dovuta alle eccellenti proprietà meccaniche e alla stabilità termica del grafene. Inoltre, è stata dimostrata la capacità di rilascio lento e controllato dei farmaci incapsulati in grafene. Recentemente sono stati fatti degli studi dove si utilizza questa strategia con GO e rGO per l'incapsulamento di nutrienti della pianta. Tuttavia, la carica superficiale del materiale incapsulato è stata identificata come un parametro chiave nel

determinare la permeabilità della microcapsula attraverso le membrane delle cellule viventi.

L'intrappolamento di sostanze fra gli strati di grafene si basa sui risultati delle sperimentazioni di Kabiri e collaboratori [10] che dimostrano che matrici di GO ridotto termicamente sono una trappola efficace per stabilizzare nanoparticelle estremamente piccole. Micronutrienti, zinco e rame caricati su GO si posizionano a colmare gli spazi interlamellari tra i fogli di GO. Così facendo avviene un rilascio lento e controllato del micronutriente. In maniera simile, si è osservato che ioni di ferro $\text{Fe}^{(\text{III})}$ si intrappolavano fra gli strati di GO e, in contemporanea, formavano legami deboli con i gruppi epossidici e ossidrilici di GO. I micronutrienti intrappolati possono aderire alle particelle del suolo tramite legami a idrogeno, tensione superficiale, interazioni molecolari e forza viscosa. Successivamente, tali particelle vengono trattenute per effetto dei processi di filtrazione, impedendone l'ulteriore migrazione nel suolo; esse rimangono così concentrate nell'area della rizosfera. In questo modo viene garantita una disponibilità prolungata dei nutrienti in prossimità delle radici [4].

Caratteristiche che regolano l'assorbimento dei nanovettori a base di grafene nelle piante

Le nanoparticelle sono in grado di penetrare nei tessuti vegetali attraverso pori o aperture microscopiche presenti sul rizoderma. A livello degli apici radicali in accrescimento i tessuti sono metabolicamente attivi e risultano maggiormente permeabili; rappresentano pertanto i principali siti d'ingresso delle nanoparticelle [11]. Bisogna però sottolineare che l'assunzione di nanoparticelle da parte della pianta può avvenire anche in altri organi vegetali, non solo a livello delle radici. Alcuni studi evidenziano come le nanoparticelle cariche positivamente presentino una maggiore efficienza di assorbimento a livello del tessuto fogliare. Tale comportamento è attribuito alla maggiore affinità elettrostatica con le pareti cellulari, generalmente cariche negativamente, e al potenziale elettrico transmembrana negativo della membrana plasmatica [4]. L'assorbimento delle nanoparticelle da parte delle cellule vegetali è condizionato da molteplici proprietà fisico-chimiche, quali la dimensione, la morfologia, la carica superficiale e la composizione chimica. In generale nanoparticelle di ridotte dimensioni, elevata area di superficie e idrofiliche vengono internalizzate più facilmente dalle cellule vegetali. Oltre alle caratteristiche del nanomateriale altrettanto importanti sono le caratteristiche della specie vegetale. Ad esempio, conoscere la topografia superficiale del tessuto vegetale che si vuole esporre al nanomateriale è fondamentale, in quanto una superficie più irregolare e rugosa offre un numero maggiore di punti di contatto, favorendo l'adesione e la ritenzione delle nanoparticelle sulla superficie vegetale. Tuttavia, una volta che le nanoparticelle entrano nel suolo, il loro trasporto verso la pianta dipende da diversi fattori, tra cui il microbiota del suolo, la mucillagine radicale, le secrezioni chimiche e le reti miceliali, che possono contribuire al rallentamento o alla ritenzione delle particelle [11]. Nello specifico, l'assorbimento delle nanoparticelle a base di grafene da parte delle cellule vegetali sottostà agli stessi principi di tutte le nanoparticelle elencati precedentemente. A queste caratteristiche si aggiungono la funzionalizzazione, il numero di strati e il metodo di sintesi, tutti fattori che alterano le proprietà del nanomateriale svolgendo un ruolo cruciale per il loro assorbimento e accumulo nelle piante. Ad esempio, uno studio [12] ha osservato come il sistema GO-polidopamina (GO-PDA) non è in grado di ridurre la tensione superficiale con la stessa efficacia dei tensioattivi convenzionali, comportando ad una minore capacità di diffusione e riduzione dell'area di contatto tra la soluzione e la

superficie fogliare. Se il nanovettore non aderisce perfettamente alla superficie fogliare, la formulazione viene dispersa eccessivamente nell'ambiente, causando impatti fuori bersaglio. Ciò dimostra che è fondamentale conoscere le caratteristiche che influenzano l'assorbimento dei diversi GBNs da parte delle cellule vegetali, in modo da poter scegliere il metodo di applicazione più adeguato alla tipologia di GBN stesso.

Grafene come sistema di distribuzione e somministrazione in agricoltura: studi fatti

Nell'ultimo decennio numerosi studi hanno investigato l'impiego di nanomateriali a base di grafene come sistemi di veicolazione e rilascio di principi attivi in agricoltura. Queste ricerche si concentrano principalmente su tre aree: nutrizione delle piante, protezione delle colture e gestione post-raccolto.

Tra questi studi uno ha esplorato l'impiego agronomico dell'ossido di grafene (GO) come fertilizzante a rilascio controllato di micronutrienti, per la veicolazione di zinco (Zn) e rame (Cu) [10]. La spiccata proprietà adsorbente di GO è stata impiegata in questo studio per la realizzazione di nano-fertilizzanti Zn-GO e Cu-GO. Questi hanno evidenziato tassi di adsorbimento dei micronutrienti superiori rispetto ad altri sistemi di nanocarrier, come le sfere di carbonio. Lo studio ha dimostrato un'efficace e selettiva somministrazione di Zn e Cu, con un significativo incremento dell'assorbimento dei micronutrienti da parte del frumento rispetto alle corrispondenti forme saline. Le cinetiche di rilascio osservate seguivano una fase iniziale a rilascio rapido seguita da una fase di rilascio lento e sostenuto. Gli autori propongono due possibili meccanismi responsabili del rilascio lento: la complessazione di Zn e Cu con i gruppi ossigenati di GO e l'intrappolamento degli ioni Zn e Cu tra le lamelle di GO, limitandone il rilascio immediato. Questo studio ha evidenziato come il GO incrementi la resistenza meccanica alla frantumazione dei granuli di fertilizzante, migliorando così le proprietà di trasporto e la capacità di distribuzione dei micronutrienti.

Un altro studio ha affrontato la problematica della carenza di fosfato nei suoli attraverso la funzionalizzazione di GO con ferro (Fe) [13]. È stato dimostrato che gli ioni ferrici aumentano l'affinità del fosfato per GO. Il composito GO-Fe è stato quindi impiegato come supporto per il caricamento del fosfato (P). L'efficienza del rilascio lento del composito GO-Fe è stata dimostrata tramite il confronto della cinetica di rilascio del fosfato con quella di un fertilizzante commerciale a base di fosfato monoammidico (MAP). Inoltre, lo studio ha valutato la diffusione dei fosfati in diversi tipi di suolo, mediante valutazione *in situ*. Il profilo di rilascio è risultato conforme a una cinetica del primo ordine. Oltre a questi studi iniziali, numerose sono le ricerche che hanno indagato sull'applicazione dei nanomateriali a base di grafene, in particolar modo sull'impiego di GO, per la distribuzione dei micronutrienti nelle cellule vegetali. Tutti questi studi

evidenziano l'assenza di citotossicità e l'assenza di accumulo di GO nei tessuti vegetali, fenomeno attribuito alle forti e stabili interazioni fra GO e le particelle del suolo.

Mentre un filone di ricerca si è focalizzato sull'applicazione del grafene per un'efficace nutrizione delle piante, un altro riguarda l'utilizzo di sistemi di distribuzione a base di grafene per il controllo dei parassiti e la protezione delle piante. Un esempio è lo studio svolto da Song e collaboratori [14]. Questo studio ha osservato la veicolazione del pesticida idrofobo Emamectina benzoato (EB) tramite il suo caricamento su GO funzionalizzato con PEG. EB è stato caricato su PEG-GO tramite fisisorbimento; il nanocomposito ha mostrato un'elevatissima percentuale di carico (164,72%) e un rilascio lento e prolungato dell'EB nel tempo, a differenza del rilascio rapido iniziale (*burst release*) osservato per l'EB da solo. Inoltre, il composito EB-PEG-GO è risultato idrosolubile, con stabilità di conservazione a lungo termine in condizioni variabili e con maggiore attività inibitoria nei confronti del parassita *Mythimna separata*. Questi nanocompositi hanno mostrato anche una forte capacità di adesione e di diffusione sulla superficie, evidenziata da bassi angoli di contatto. Inoltre, i nanocomposti GO-pesticida hanno evidenziato una buona stabilità di conservazione in condizioni variabili per diversi anni.

Numerosi studi hanno esaminato il caricamento di pesticidi diversi sull'ossido di grafene, al fine di valutarne l'efficacia su differenti colture. Complessivamente queste ricerche hanno dimostrato che i nanocompositi GO-pesticida hanno un'elevata efficienza di carico, un rilascio lento e controllato, una buona disperdibilità in soluzione e maggiore bioattiva contro i parassiti rispetto all'utilizzo del pesticida nella sua forma grezza. Inoltre, gli studi evidenziano che questi effetti sono strettamente associati con il dosaggio applicato e la specie vegetale.

Impatto del grafene sul suolo e sull'ambiente

La letteratura scientifica sugli studi della tossicità del grafene suggeriscono che gli effetti di questo nanomateriale sulle piante siano influenzati da molteplici fattori, tra cui le proprietà fisico-chimiche, la concentrazione, la durata dell'esposizione e la specie vegetale esaminata. Le proprietà fisico-chimiche che maggiormente influenzano la biocompatibilità del grafene con le piante sono la dimensione, il numero di strati, funzionalizzazione superficiale e grado di ossidazione del GBN. Tuttavia, il fattore più importante da considerare è la concentrazione e il dosaggio del grafene applicato. A basse concentrazioni il grafene può agire come biostimolante, promuovendo la germinazione del seme e la crescita della pianta. Però, ad alte concentrazioni ha l'effetto opposto con esiti tossici per la pianta. Bisogna specificare che la concentrazione soglia dipende dal genotipo della specie vegetale [4, 6]. Il dosaggio di GBN ha un impatto cruciale anche sui microrganismi del suolo. Molti studi evidenziano come piccole dosi di grafene (<100 mg/kg) aumentino il numero di microrganismi del suolo, mentre concentrazioni maggiori le riducono. Oltre alla concentrazione un altro fattore importante dei GBN che influenza la loro tossicità sul microbiota del suolo è il tempo di esposizione. Inoltre, si è osservato che la diversità del microbiota del suolo muta dopo l'aggiunta di nanomateriali in grafene nel suolo, in particolare aumentano di popolazione specie di batteri azoto-fissatori e ferro-riduttrici [4].

Un aspetto di particolare rilevanza è rappresentato dal fatto che i GBNs possono andare incontro a trasformazioni negli ambienti terrestri e acquatici, che possono determinare un'attenuazione o un incremento della loro tossicità in relazione alle condizioni del microambiente. Nel suolo, i materiali a base di grafene sono soggetti a degradazione mediata dagli enzimi dei microrganismi, favorendone così la degradazione e progressiva eliminazione dall'ambiente. I GBNs sono ampiamente riconosciuti come eccellenti adsorbenti di contaminanti presenti nel suolo e nelle acque; di conseguenza essi rivestono un ruolo di rilievo nei processi di rimozione degli inquinanti ambientali [4, 11]. Tuttavia, è essenziale garantire un adeguato riciclo, trattamento e smaltimento dei GBNs al termine del loro ciclo di vita, poiché l'assenza di tali procedure potrebbe favorire il rilascio nell'ambiente di inquinanti organici e ioni di metalli pesanti precedentemente adsorbiti sulla superficie del GBN.

Conclusione

Riassumendo è stato dimostrato da numerosi studi che i nanomateriali a base di grafene presentano numerose caratteristiche vantaggiose per il loro utilizzo come sistemi di trasporto di principi attivi in agricoltura, fra cui elevata capacità di carico, efficiente veicolazione dei principi attivi, possibilità di funzionalizzazione superficiale e rilascio lento e controllato dei nutrienti. La struttura del grafene può essere ulteriormente modificata, rendendola porosa, così da aumentare la superficie di contatto e simultaneamente garantire una maggiore capacità di carico del sistema, in quanto la presenza di pori sulla superficie del grafene permette l'intrappolamento delle molecole veicolate. Nel complesso, tali fattori consentono un utilizzo più efficiente dei nutrienti e la prevenzione delle loro perdite, contribuendo così all'aumento della produzione agricola con un ridotto impatto ambientale. Tuttavia, per l'effettiva applicazione dei nanomateriali a base di grafene come sistemi di distribuzione e somministrazione di principi attivi in agricoltura, è necessario considerare prima diversi fattori. In primis la progettazione di un sistema capace di rilasciare input agricoli in modo controllato in diverse condizioni del suolo e del clima, con dosaggi ottimizzati e mirati al sito specifico della pianta. L'ottimizzazione del dosaggio dei sistemi di nano-delivery a base di grafene rappresenta un aspetto fondamentale per le applicazioni in agricoltura. L'impiego di concentrazioni superiori a quelle ottimali può indurre effetti fitotossici sulle piante, con conseguente riduzione della resa e del vigore delle colture. A questo si aggiunge la necessità di ottimizzare gli effetti variabili dei sistemi di trasporto a base di grafene in funzione delle colture, dei genotipi vegetali e dello stadio di applicazione, in modo da individuare un dosaggio standard per ogni coltura. La riproducibilità degli effetti dei sistemi nanovettori a base di grafene su una specifica coltura e sul microbiota del suolo in condizioni agricole reali è cruciale ai fini della validazione del loro impatto. In aggiunta è necessario comprendere il metodo di applicazione sulla pianta più adeguato al GBN stesso, in quanto l'applicazione fogliare non è la più adatta per alcune nanoparticelle a base di grafene (es. GO-PDA). Al contrario, l'impiego di tecniche quali il *seed coating* o *seed priming* consente di ottenere maggiore efficienza ed efficacia del sistema. Il numero di studi dedicati alla valutazione della tossicità dei nanomateriali a base di grafene sulle piante, i processi di assorbimento, trasporto, distribuzione e degradazione all'interno dei tessuti vegetali è in aumento. È comunque necessario approfondire le vie di

trasformazione e il destino di tali materiali nei sistemi acquatici, nel suolo e nelle piante, al fine di prevenire potenziali rischi ambientali. Se attuati tutti questi accorgimenti i nanomateriali a base di grafene sono un promettente sistema di *nano-delivery* innovativo col potenziale di affiancarsi ai sistemi di distribuzione attuali, diminuendo così l'inquinamento causato dal sovra utilizzo dei prodotti chimici agricoli.

Bibliografia

- [1] OECD/FAO (2025), OECD-FAO Agricultural Outlook 2025-2034, OECD Publishing, Paris/FAO, Rome, <https://doi.org/10.1787/601276cd-en>.
- [2] Steensland, A., Zeigler, M. (2021). Productivity in Agriculture for a Sustainable Future. In: Campos, H. (eds) *The Innovation Revolution in Agriculture*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-50991-0_2
- [3] Ye, L., Zhao, X., Bao, E. et al. Bio-organic fertilizer with reduced rates of chemical fertilization improves soil fertility and enhances tomato yield and quality. *Sci Rep* 10, 177 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56954-2>
- [4] Bhattacharya, N., Cahill, D. M., Yang, W., & Kochar, M. (2023). Graphene as a nano-delivery vehicle in agriculture – current knowledge and future prospects. *Critical Reviews in Biotechnology*, 43(6), 851–869. <https://doi.org/10.1080/07388551.2022.2090315>
- [5] Niu, Y.-X.; Yao, X.-Y.; Won, J.H.; Shen, Z.-K.; Liu, C.; Yin, W.; Xia, X.; Wang, H.-L. Application of Graphene Oxide Nanomaterials in Crop Plants and Forest Plants. *Forests* 2026, 17, 94. <https://doi.org/10.3390/f17010094>
- [6] Zhang, X.; Cao, H.; Wang, H.; Zhao, J.; Gao, K.; Qiao, J.; Li, J.; Ge, S. The Effects of Graphene-Family Nanomaterials on Plant Growth: A Review. *Nanomaterials* 2022, 12, 936. <https://doi.org/10.3390/nano12060936>
- [7] Sandeep Sharma, Priya Kundu, Deepak Tyagi, Vijayakumar Shanmugam, Graphene-based nanomaterials applications for agricultural and food sector, *Advances in Colloid and Interface Science*, Volume 336, 2025, 103377, ISSN 0001-8686, <https://doi.org/10.1016/j.cis.2024.103377>.
(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001868624003002>)
- [8] He, Y., Hu, R., Zhong, Y. et al. Graphene oxide as a water transporter promoting germination of plants in soil. *Nano Res.* 11, 1928–1937 (2018). <https://doi.org/10.1007/s12274-017-1810-1>
- [9] Xuejuan Shi, Caihong Cheng, Fei Peng, Wenlong Hou, Xiaohu Lin, Xiuping Wang, Adsorption properties of graphene materials for pesticides: Structure effect, *Journal of Molecular Liquids*, Volume 364, 2022, 119967, ISSN 0167-7322, <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.119967>.
(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167732222015057>)
- [10] Kabiri S, Degryse F, Tran DNH, da Silva RC, McLaughlin MJ, Losic D. Graphene Oxide: A New Carrier for Slow Release of Plant Micronutrients. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2017 Dec 13;9(49):43325-43335. doi: 10.1021/acsami.7b07890. Epub 2017 Dec 1. PMID: 29160685. <https://doi.org/10.1021/acsami.7b07890>
- [11] Dey, Archita, Das, Debadrita, Majumder, Sharmistha, Ghosh, Swetanjana, Lama, Urvashi, Labrousse, Pascal; Chapter 13 - Nano-based toxicity in vegetables and strategies for its mitigation; *Nanoscience and Nano-Formulations for Sustainable Vegetable Crop Production*; Academic Press, 337, 362 (2026), *Plant Biology, Sustainability, and Climate Change*, 978-0-443-33216-6; <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780443332166000024>
- [12] Tong Y, Shao L, Li X, Lu J, Sun H, Xiang S, Zhang Z, Wu Y, Wu X. Adhesive and Stimulus-Responsive Polydopamine-Coated Graphene Oxide System for Pesticide-Loss Control. *J Agric Food Chem*. 2018 Mar 21;66(11):2616-2622. doi: 10.1021/acs.jafc.7b05500. Epub 2018 Mar 2. PMID: 29485869.
- [13] Andelkovic IB, Kabiri S, Tavakkoli E, et al. Graphene oxide-Fe (III) composite containing phosphate—a novel slow release fertilizer for improved agriculture

- management. J Clean Prod. 2018;185:97–104,
<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.03.050>
- [14] Song S, Wan M, Feng W, et al. Graphene oxide as the potential vector of hydrophobic pesticides: ultra high pesticide loading capacity and improved antip est activity. ACS Agric Sci Technol. 2021;1(3):182–191