

Avaliação da toxicidade crônica de nanotubos de carbono em *SelenastrumCapricornutum*

LAIS ROCHA CAMARGO

Faculdade de Tecnologia de Sorocaba – SP-Brasil
lala_myxy@hotmail.com

ELAINE CONCEIÇÃO DE OLIVEIRA

Faculdade de Tecnologia de Sorocaba – SP- Brasil
laine@unicamp.br

SILVIA PIERRE IRAZUSTA

Faculdade de Tecnologia de Sorocaba – SP- Brasil
silvia.pierre@hotmail.com

Resumo - Antes da proliferação no uso dos nanotubos de carbono é importante que a toxicidade deste material seja conhecida e apropriadas salvaguardas ambientais sejam implementadas. Os ensaios de toxicidade constituem uma forma de biomonitoramento ativo, pois neles são utilizados organismos-teste, definidos como indivíduos padronizados e cultivados em laboratório, que podem fornecer indicações sobre as condições de um ecossistema frente à presença de um impacto ambiental. Sua utilização fundamenta-se na exposição dos organismos-teste a várias concentrações de uma ou mais substâncias e aos fatores ambientais, durante um determinado período de tempo. A presente proposta pretende avaliar a toxicidade, de um novo MWNCT (multiwalled carbono nanotube) comercial, de origem norte-americana, por meio do bioensaio com *Selenastrumcapricornutum*. Esta espécie é recomendada como organismo teste em ensaio de toxicidade (USEPA, 2002). Quando as células são expostas à amostras que contêm tóxicos, sua reprodução é afetada, alterando o crescimento da população de algas. Os resultados mostraram que este nanomaterial, em concentrações a partir de 1ppm (1mg/L) é capaz de causar 50% de redução na taxa de reprodução destas algas, considerados excelentes indicadores de toxicidade aquática.

Palavras-chave: MWCNT, *Selenastrumcapricornutum*, ecotoxicologia, toxicidade aquática.

Abstract - Before the proliferation of the wide use of carbon nanotubes it is important to know the toxicity of this material and appropriate environmental safeguards are implemented. The toxicity tests are a form of active biomonitoring, since they use test organisms, defined as individuals standardized and grown in the laboratory, which can provide information on the conditions of an ecosystem forward to the presence of an environmental impact. Their use is based on the exposure of test organisms to various concentrations of one or more substances and environmental factors during a certain period of time. This study proposes to

*evaluate the toxicity of a new MWNT (multiwalled carbon nanotube) tube, North American origin, through bioassay with *Selenastrum capricornutum*. This species is recommended as a test organism in toxicity testing (USEPA, 2002). When cells are exposed to samples containing toxic, its reproduction is affected by changing the population growth of algae. Our results showed that this nanomaterial, from concentrations of 1ppm (1mg/L) is able to inhibit a 50% the reproduction of the population of this algae, considered an excellent aquatic toxicity indicator.*

Keywords: WCNT, *Selenastrum capricornutum*, ecotoxicity, aquatic toxicity.

1. Introdução

Durante a última década, a nanotecnologia e a nanociência desenvolveram-se tão rapidamente que levaram à descoberta e produção de nanomateriais, como os nanotubos de carbono (NTC), nano-Ag (prata), TiO₂ (Dióxido de Titânio) e nano-ZnO (Óxido de Zinco). Entre eles, os nanotubos de carbono são típicos nanomateriais muito importantes e amplamente utilizados em muitos campos, desde que foram descobertos nos anos de 1990 (IJIMA, 1991; IJIMA E ICHIHASHI, 1993). As estruturas espaciais de nanotubos de carbono são muito especiais, em comparação com os materiais de tamanho normal. A sua maior relação comprimento-diâmetro e suas características estruturais especiais, tornam-os semelhantes a folhas de grafite enroladas em várias camadas. Os NTC de parede simples (SWCNTs) são usados em áreas industriais e amplamente nas áreas biomédicas, em dispositivos eletrônicos, tratamento de águas residuais e "sistemas de drug delivery" (LACERDA et al., 2006). Os NTC de paredes múltiplas (MWCNTs) são amplamente utilizados em catálise, enchimentos em compostos para aplicações anti-estáticas, os componentes dentro de eletrodos de baterias recarregáveis e materiais compósitos com propriedades elétricas e estruturais melhoradas (GASS et al, 2006; MIAUDET et al., 2005)

A Poluição por NTC tornou-se um foco de atenção de muitos governos. Além disso, o público também aumentou as suas preocupações sobre se e como a exposição a nanomateriais pode, potencialmente, causar problemas de saúde (MAYNARD et al., 2011).

A presença de nanomateriais (NM) no ambiente é admitida, uma vez que "dado o aumento da produção de nanomateriais de todos os tipos, o potencial para a sua liberação no meio ambiente e subseqüente efeitos sobre a saúde do ecossistema, está se tornando uma preocupação crescente" (KLAINÉ et al., 2008). Esta suposição é baseada na experiência obtida com outros poluentes (KHOLER e SOM, 2008) e tem governado o campo dos efeitos ambientais das nanopartículas. Entretanto, são limitadas as informações sobre a real liberação destas nanopartículas no ambiente. Sabe-se que a avaliação de risco para uma substância é determinada pelo seu efeito, bem como pela exposição a ela e, para as nanopartículas, o conhecimento sobre este risco ambiental ainda é escasso (GOTTSCHALK e NOWACK, 2011). Além disso, os avanços no desenvolvimento nos processos de produção de nanotubos de carbono (NTC) por fase gasosa, tornou possível fabricar diferentes tipos de nanotubos de carbono em larga escala (ANDREWS et al, 1999; ENDO et al, 2005; FAN et al, 1999; HATA et al, 2004; NIKOLAEV et al, 1999; RESASCO et al., 2002), contribuindo ainda mais, para a sua disseminação ambiental e exposição ocupacional.

A tecnologia de funcionalização de NTC está atualmente, sendo usada para a criação de formas mais solúveis de nanotubos de carbono para vários produtos médicos e industriais (CHENGet al., 2002, 2005, 2006; RAMASUBRAMANIAM et al, 2003). Em comparação com a preparação pura, nanomateriais de carbono orgânico solúveis em água ou fulerenos solúveis em água, têm a maior probabilidade de entrar no corpo humano e no ambiente aquático. Para ambos os tipos de nanomateriais são esperadas aplicações em compósitos multifuncionais, químicos e sensores biológicos, eletrônica molecular, células de combustível, super capacitores, baterias de lítio, células solares, e sistemas de entrega da droga e do gene. (KLAPER et al., 2010).

Apesar das vantagens técnicas promissoras de NTC serem óbvias, as perguntas recorrentes são sobre quanto do NTC usado eventualmente acabará nos vários compartimentos do ambiente e qual será seu impacto sobre os organismos. Dois estudos pioneiros sobre meio ambiente usaram diferentes concentrações para NTC e não encontraram risco potencial, mas eles também previram concentrações exponencialmente crescentes de NTC no ambiente para a próxima década. (SCHWUAB et.al., 2011).

Desta forma, os ensaios de toxicidade constituem uma forma de biomonitoramento o ativo, pois neles são utilizados organismo-teste, definidos como indivíduos padronizados e cultivados em laboratório, que podem fornecer indicações sobre as condições de um ecossistema frente à presença de um impacto ambiental (RAYA-RODRIGUEZ, M. T., 2000). Sua utilização fundamenta-se na exposição dos organismos-teste a várias concentrações de uma ou mais substâncias e aos fatores ambientais, durante um determinado período de tempo (GHERARDI-GOLDSTEIN, E.; BERTOLETTI, E.; ZAGATTO, P. A.; ARAÚJO, R. P. A. & RAMOS, M. L. L. C., 1990).

Os nanomateriais apresentaram efeitos adversos em alguns mamíferos (Liu et al, 2009;. Oberdörster et al, 2009;. Schanen et al, 2009), o aumento da presença dessas partículas no sistema aquático também tem o potencial de influenciar os organismos neste ambiente. Vários estudos documentaram os efeitos tóxicos de nanomateriais manufaturados sobre os organismos aquáticos, como *Daphnia magna* (LOVERN e KLAPER, 2006), moluscos bivalves (GAGNEet al, 2008 e CANESI et al, 2010) ou peixes (FEDERICI et al., 2007). Geralmente, esses estudos revelaram toxicidade variável dependendo do tipo de partícula e de sua concentração. Outros trabalhos, utilizando algas verdes já foram publicados, onde a inibição do crescimento da população algal foi um achado em comum (BLAISE et.al, 2008).

Interfere ainda, nestas respostas, o fato destes estudos geralmente serem realizados em níveis elevados de exposição e, praticamente nada se sabe sobre as suas respostas fisiológicas com exposições a doses mais baixas, ou o mecanismo pelo qual eles produzem um efeito a estas concentrações mais baixas. (KLAPER et al., 2010).

O grau de toxicidade dos NTCs depende ainda, do tipo de célula analisado, podendo ser influenciado pelo teste de toxicidade empregado, pela estrutura, estado de agregação e grau de pureza dos NTCs e, principalmente, pela funcionalização aplicada. (RAYA-RODRIGUEZ, M. T., 2000). A toxicidade dos NTCs pode estar relacionada com a presença de resíduos do metal de transição utilizado como catalisador no processo de síntese, principalmente ferro e níquel. Esses metais são promotores efetivos do estresse oxidativo das células, tecidos e

biofluidos sugeriram que o estresse oxidativo gerado pelos NTCs em culturas celulares está associado às impurezas de catalisadores metálicos em sua superfície ratificaram essa teoria ao demonstrarem ausência de espécies reativas em culturas com NTCs purificados.

As microalgas são organismos unicelulares que são capazes de realizar fotossíntese mais rápida e eficientemente do que as plantas terrestres. Neste sentido, o estudo do cultivo de microalgas é importante para aumentar o conhecimento da biologia das várias espécies.

Entre o crescimento de microalgas de água doce, as algas unicelulares da classe *Selenastrum* têm sido amplamente utilizadas (SIPAÚBA-TAVARES et al. de 2009). Esta microalga é capaz de tolerar extremas condições de salinidade e meios pobres em nutrientes, é facilmente encontrada a partir de bibliotecas de culturas e pode ser mantida em condições de cultura de laboratório reprodutíveis (MOREIRA-SANTOS et al., 2004). Dentre as diversas espécies de algas unicelulares existentes, a *Selenastrum capricornutum* tem sido amplamente utilizada para testes de avaliação de toxicidade (DOMINGUES, 2008). Diante da relevância do estudo do impacto da destinação de nanotubos de carbono no ambiente aquático, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de toxicidade aquática do MWNTC- Helix por meio do teste de toxicidade crônica com algas verdes, *Selenastrum capricornutum*.

EC50

AEC50 representa a concentração de um composto em que 50% do seu máximo efeito é observado. A EC50 de uma curva dose-resposta representa a concentração de um composto em que 50% da população exibem uma resposta, depois de um tempo de exposição indicado.

Também está relacionada com a IC50, que é uma medida da inibição de um composto (50% de inibição). Para os ensaios de ligação de competição e ensaios funcionais antagonistas IC50 é a medida mais comum da curva de dose-resposta. Para agonistas / estimulador de ensaios a medida mais comum é a EC50.

Em sistemas biológicos, pequenas alterações na concentração do composto tipicamente resultam em mudanças rápidas na resposta. Isto pode ser determinado matematicamente por derivação da linha de melhor ajuste. Embora contando com um gráfico para a estimativa é mais conveniente, este método produz resultados menos precisos.

Os efeitos de um estressor ou drogas geralmente dependem do tempo de exposição. Portanto, a EC50 (e estatísticas semelhantes) será uma função do tempo de exposição. A forma exata desta função de tempo vai depender do estressor (por exemplo, o agente tóxico específico), o seu mecanismo de ação, o organismo exposto, etc. Esta dependência do tempo impede a comparação da potência ou toxicidade entre os compostos e entre diferentes organismos. (MOORE, 2006).

2. Metodologia

Preparação e Caracterização do MWCNT:

O MWCNT utilizado foi da marca HELIX Material Solutions, não funcionalizado, diâmetro de 10-30nm, comprimento de 0,5 - 40µm e pureza de 95%. O MWCNT foi diluído em tampão fosfato salina (PBS) + 0,01% plurônic F-

127(Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) e sonicados por 15 minutos (SonicadorUnique, modelo DES 500, Brasil). As concentrações testadas foram 0,01; 0,1; 1,0; 10 e 100ppm.

Teste de toxicidade:

O teste de toxicidade crônica foi realizado com *Selenastrum capricornutum*, segundo protocolo da Environmental Canadá EPS1/RM/25,1992. A partir de uma cultura de algas de 7 dias, como mostra a Figura 1, foi preparado um inóculo com $2,56 \times 10^5$ cels/mL. Cada amostra foi preparada com NT1a 0,01; 0,1; 1,0; 10 e 100ppm, em 2,5mL de água tamponada. Em cada uma destas amostras foram adicionados 100ul do inóculo de algas de concentração conhecida. Após 72 horas, foi realizada a contagem de células em Câmara de Neubauer. As amostras foram realizadas em triplicata, as médias das contagens foram comparadas pelo teste "t" de Student, assumindo 0,05 como intervalo de confiança. AEC50 foi calculada pela análise de regressão.

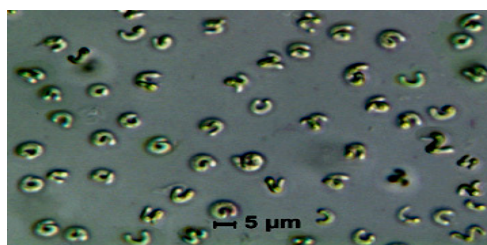


Figura 1 -Imagem da Alga verde *Selenastrumcapricornutum*ao microscópio óptico, aumento de 400X.

3. Resultados e Discussão

A partir da concentração inicial de $2,6 \times 10^5$ cel/mL de meio às quais foram acrescentados os NTCs, nas concentrações de 0,01; 0,1; 1,0; 10,0 e 100ppm, os valores das contagens das populações de algas foram respectivamente: 44×10^4 ; 48×10^4 ; 54×10^4 ; 84×10^4 cels/mL. A tabela 1 mostra estes resultados em porcentagem de inibição, O controle foi realizado com água tamponada, utilizada para as diluições.

Tabela 1 - Inibição da biomassa algal pelo MWCNT

MWCNT	
Concentração	% inibição
0,01ppm	1,23
0,1ppm	13,58
1,0ppm	-11,11
10ppm	-72,83
100ppm	-56,37

Na figura 2, está demonstrada a relação dose X resposta, e a determinação

da EC50, que foi de 1,295ppm. A EC10% foi de 0,025ppme a EC90%, foi de 0,0143ppm.

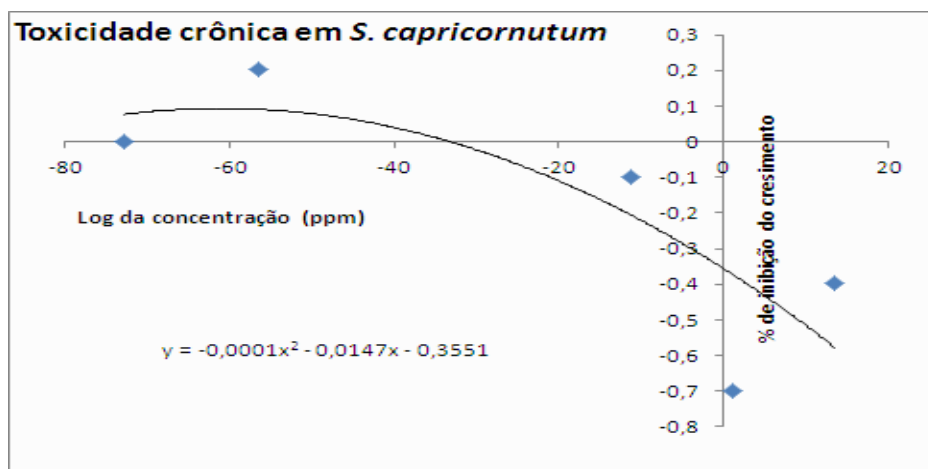


Figura 2 - Análise de regressão logarítmica para relação da dose versus efeito (inibição da reprodução)

4. Conclusão

O ensaio realizado neste trabalho, utilizando a *Selenastrum capricornutum* (*Pseudokirchneriella subcapitata*) como organismo teste, resultou numa EC50 de 1,295ppm, o que nos permitiu concluir que o nanotubo de carbono Helix, a partir de uma concentração de 1ppm (1mg/L) no ambiente aquático é capaz de causar 50% de redução da população destas algas, consideradas excelentes indicadores de toxicidade aquática. Este resultado indica ainda, a necessidade de um monitoramento, quanto à destinação destas e outras nanopartículas no ambiente aquático, uma vez que apesar de aparentemente a concentração da EC50 neste, como em outros trabalhos (SCHWUAB et al, 2011) ser inferior às concentrações sugeridas em modelos matemáticos, acredita-se que estas nanopartículas possam atuar como carreadoras de poluentes que podem não estar biodisponíveis (MUELLER e NOWACK, 2008; GOTTSCHALK et al., 2009).

Referências

ANDREWS, R., JACQUES, D., RAO, A.M., DERBYSHIRE, F., QIAN, D., FAN, X., DICKEY, E.C., CHEN, J., 1999. Continuous production of aligned carbon nanotubes: a step closer to commercial realization. Chem. Phys. Lett. 303, 467–474.

BLAISE, C., GAGNÉ, F., FÉRARD, J.F., EULLAFFROY, P. Ecotoxicity of selected nano-materials to aquatic organisms. Environ Toxicol. 2008, 23(5):591-8.

CANESI, L., FABBRI, R., GALLO, G., VALLOTTO, D., MARCOMINI, A., POJANA, G. Biomarkers in *Mytilus galloprovincialis* exposed to suspensions of selected

nanoparticles (Nano carbon black, C60 fullerene, Nano-TiO₂, Nano-SiO₂). *AquatToxicol.* 2010, 15;100(2):168-77.

CHENG-WU, Z., ZMORA, O., KOPEL, R. and RICHMOND, A., 2002. An industrial-size flat plate glass reactor for mass production of *Nannochloropsis* (Eustigmatophyceae). *Aquaculture*, vol. 195, no. 1-2, p. 35-49.

ENDO, M., MURAMATSU, H., HAYASHI, T., KIM, Y.A., TERRONES, M., DRESSELHAUS, M.S., 2005. Nanotechnology: 'Buckypaper' from Coaxial Nanotubes. *Nature* 433, 476.

FAN, S., CHAPLINE, M., FRANKLIN, N., TOMBLER, T., CASSELL, A., DAI, H., 1999. Self-oriented regular arrays of carbon nanotubes and their field emission properties. *Science* 283, 512–514.

FEDERICI, G., SHAW, B.J., HANDY, R.D., 2007. Toxicity of titanium dioxide nanoparticles to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): gill injury, oxidative stress, and other physiological effects. *Aquat.Toxicol.* 84, 415–430.

GAGNE, F., AUCLAIR, J., TURCOTTE, P., FOURNIER, M., GAGNON, C., SAUVE, S., BLAISE, C., 2008. Ecotoxicity of CdTe quantum dots to freshwater mussels: impacts on immune system, oxidative stress and genotoxicity. *Aquat.Toxicol.* 86, 333–340.

GASS, M.H., KOZIOL, K.K., WINDLE, A.H., MIDGLEY, P.A. Four-dimensional spectral tomography of carbonaceous nanocomposites. *Nano Lett.* 2006 Mar;6(3):376-9.

GHERARDI-GOLDSTEIN, E., BERTOLETTI, E., ZAGATTO, P. A., ARAÚJO, R. P. A. & RAMOS, M. L. L. C., 1990, *Procedimentos para Utilização de Testes de Toxicidade no Controle de Efluentes Líquidos*. CETESB, São Paulo.

GOTTSCHALK, F.; SONDERER, T.; SCHOLZ, R. W.; NOWACK, B. Modeled environmental concentrations of engineered nanomaterials (TiO₂, ZnO, Ag, CNT, Fullerenes) for different regions. *Environ. Sci. Technol.* 2009, 43, 9216–9222.

HANDY, R. D.; OWEN, R.; VALSAMI-JONES, E. The ecotoxicology of nanoparticles and nanomaterials: current status, knowledge gaps, challenges, and future needs. *Ecotoxicology* 2008, 17, 315–325.

HATA, K., FUTABA, D.N., MIZUNO, K., NAMAI, T., YUMURA, M., IIJIMA, S., 2004. Water-assisted highly efficient synthesis of impurity-free single-walled carbon nanotubes. *Science* 306, 1362–1364.

HUANG, W.; FERNANDO, S.; LIN, Y.; ZHOU, B.; ALLARD, L.F.; SUN, Y.A. Preferential solubilization of smaller single-walled carbon nanotubes in sequential functionalization reactions. *Langmuir.* 2003;19(17):7084-8.

IIJIMA, S. Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature.* 1991, 354, 56-58.

KAGAN, V.E.; BAYIR, H.B.; SHVEDOVA, A.A. Nanomedicine and nanotoxicology: two sides of the same coin. *Nanomedicine*. 2005;1(4):313.

KLAINÉ, S. J. ; ALVAREZ, P. J. J.; BATLEY, G. E.; FERNANDES, T. F. ; HANDY, R. D.; LYON, D. Y.; MAHENDRA, S.; MCLAUGHLIN, M. J.; AND LEAD, J. R. *Environ. Toxicol. Chem.*, 2008, 27, 1825–1851.

KLAPER, R., ARNDT, D., SETYOWATIB, K., CHEN, J., GOETZ, F. Functionalization impacts the effects of carbon nanotubes on the immune system of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquatox*.2010.07.023.

KLAPER, R., CRAGO, J., BARR, J., ARNDT, D., SETYOWATI, K., CHEN, J., 2006. Toxicity biomarker expression in daphnids exposed to manufactured nanoparticles: changes in toxicity with functionalization. *Environ. Pollut.* 157, 1152–1156.

KOHLER, A. R.; SOM, C. *Hum. Ecol. Risk Assess.*, 2008, 14, 512–531.

LACERDA, L., ALI-BOUCETTA, H., HERRERO, M.A., PASTORIN, G., BIANCO, A., PRATO, M. AND KOSTARETOS, K. Tissue histology and physiology following intravenous administration of different types of functionalized multiwalled carbon nanotubes. *Nanomedicine*. 2008, 3 (2), 149-161.

LOVERN, S., KLAPER, R. *Daphnia magna* mortality when exposed to titanium dioxide and fullerene nanoparticles. *Environ. Toxicol. Chem.* 2006, 25, 1132–1137.

MAYNARD, A.D. Don't define nanomaterials. 2011, 6;475(7354):31.

MIAUDET, P., BADAIRE, S., MAUGEY, M., DERRÉ, A., PICHOT, V., LAUNOIS, P., POULIN, P., ZAKRI, C. Hot-drawing of single and multiwall carbon nanotube fibers for high toughness and alignment. *Nano Lett.* 2005 Nov;5(11):2212-5.

MOORE MN. Do nanoparticles present ecotoxicological risks for the health of the aquatic environment? *Environ Int.* 2006;32(8):967-76.

MOREIRA-SANTOS, M., SOARES, A.M., RIBEIRO, R. An in situ bioassay for freshwater environments with the microalga *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2004;59(2):164-73.

MUELLER, N. C.; NOWACK, B. Exposure modeling of engineered nanoparticles in the environment. *Environ. Sci. Technol.* 2008, 42, 4447–4453.

NIKOLAEV, P., BRONIKOWSKI, M.J., BRADLEY, R.K., ROHMUND, F., COLBERT, D.T., SMITH, K.A., SMALLEY, R.E., 1999. Gas-phase catalytic growth of single-walled carbon nanotubes from carbon monoxide. *Chem. Phys. Lett.* 313, 91–97.

NOWACK, B.; BUCHELI, T. D. Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment. *Environ. Pollut.* 2007, 150, 5–22.

PANTAROTTO, D.; SINGH, R.; MCCARTHY, D.; ERHARDT, M.; BRIAND, JP.; PRATO, M.; et al. Functionalized carbon nanotubes for plasmid DNA gene delivery. *Angew Chem Int Ed.* 2004;43(39):5242-6.

RAMASUBRAMANIAM, R., CHEN, J., LIU, H., 2003. Homogeneous carbon nanotube/polymer composites for electrical applications. *Appl. Phys. Lett.* 83, 2928–2930.

RAYA-RODRIGUEZ, M. T., 2000, O uso de bioindicadores para avaliação da qualidade do ar em Porto Alegre. In: M. L. L. ZURITA & TOLFO, A.M. (Org.) *A Qualidade do Ar em Porto Alegre*. Secretaria Municipal do Meio Ambiente, Porto Alegre.

RESASCO, D.E., ALVAREZ, W.E., POMPEO, F., BALZANO, L., HERRERA, J.E., KITIYANAN, B., BORGNA, A., 2002. A scalable process for production of single-walled carbon nanotubes (SWNT) by catalytic disproportionation of CO on a solid catalyst. *J. Nanoparticle Res.* 4, 131–136.

SCOWN, T. M.; VAN AERLE, R.; TYLER, C. R. Review: Do engineered nanoparticles pose a significant threat to the aquatic environment? *Crit. Rev. Toxicol.* 2010, 40, 653–670.

SCHWAB, F.; BUCHELI, T. D.; LUKHELE, L. P.; MAGREZ, A.; NOWACK, B.; SIGG, L.; KNAUER, K. Are Carbon Nanotube Effects on Green Algae Caused by Shading and Agglomeration? *Environ. Sci. Technol.* 2011, 45, 6136–6144.

SIPAÚBA-TAVARES, L.H., PEREIRA, A.M.L. Large scale laboratory cultures of *Ankistrodesmus gracilis* (Reisch) Korsikov (Chlorophyta) and *Diaphanosoma birgei* Korinek, 1981 (Cladocera). *Braz. J. Biol.*, 68(4): 875-883, 2009.

YEHIA, H.N.; DRAPER, R.K.; MIKORYAK, C.; WALKER, E.K.; BAJ, A.P.; MUSSELMAN, I.H. et al. Single-walled carbon nanotube interactions with HeLa cells. *J Nanobiotechnology.* 2007;5(8):1-17.

WANG, Y.; IQBAL, Z.; MITRA, S. Rapidly functionalized, water dispersed carbon nanotubes at high concentration. *J Am Chem Soc.* 2006;128(1):95-9.