



---

**BUDAPESTI MŰSZAKI ÉS GAZDASÁGTUDOMÁNYI EGYETEM  
VEGYÉSZMÉRNÖKI ÉS BIOMÉRNÖKI KAR  
OLÁH GYÖRGY DOKTORI ISKOLA**

**BIOLÓGIAILAG AKTÍV MIKRO-SZENNYEZŐANYAGOK  
HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA ÖKOTOXIKOLÓGIAI  
TESZTSZERVEZETEK ÉLETTANI JELLEMZŐIVEL**

Tézisfüzet

**Fekete-Kertész Ildikó**

**Témavezető: Dr. Molnár Mónika**  
Egyetemi adjunktus

Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék

2017

## 1. BEVEZETÉS

A környezetünkbe kerülő szennyezőanyagok közül az elmúlt húsz évben különösen az ún. újonnan felismert káros hatású mikro-szennyezőanyagokat övezi kiemelt érdeklődés. Mivel a konvencionális szennyvízkezelési eljárások nem képesek ezen vegyületek maradéktalan eltávolítására, folyamatos gyártásuknak és környezetbe való kibocsátásuknak köszönhetően megjelennek természetes és kezelt vizeinkben egyaránt.

Ezek a vizeinkben megjelenő xenobiotikumok különösen nagy veszélyt jelenthetnek másodlagos káros hatásait kifejtve a nem cél vízi szervezetekre. Tekintve, hogy ezeknek a kis koncentrációban jelenlevő vegyületeknek az ökoszisztémára, köztük az emberre gyakorolt káros hatása az utóbbi években vált nyilvánvalóvá, még sok esetben keveset tudunk a kiindulási anyagok, illetve bomlástermékeik és metabolitjaik másodlagos hatásairól.

Például egy ipari adalékanyag viselkedhet hormonanalógnaként, károsíthatja a hormonrendszert, az immunrendszert vagy más módon érzékenyíthet, így veszélyezteti az emberi szervezetet vagy az ökoszisztéma egyes tagjait. Ez a környezettokológus számára is fontos kihívást jelent, hiszen a több száz vagy ezer féle vegyület jelenléte szükségessé teszi, hogy ne csak kémiai úton keressünk bizonyos, előre meghatározott vegyületeket, hanem káros hatásokat is kutassunk. Fontos tehát összegyűjteni a leggyakoribb káros hatásokat, elemezni a hatás mechanizmusát, majd megtalálni azt a megfelelő végpontot, ami összefügg a káros hatással és mérhető is.

Az ökotoxikológia a vegyi anyagok élőlényekre gyakorolt káros hatását hivatott kimutatni. Az ökotoxicitás jellemzése összetett feladat, mivel a káros hatás számos tényezőtől függ, úgy mint például a koncentráció, az expozíciós idő, a vegyi anyag formája, a rendszerben előforduló egyéb vegyi anyagok jelenléte, az azokkal fellépő kölcsönhatások, valamint a környezeti paraméterek hatása, a környezettel fellépő kölcsönhatások.

A fenti problémákra többek között megoldást nyújthat egy kifinomultabb, - például élettani hatások vizsgálatával finomított - fejlettebb környezettokológiai eszköztár létrehozása, mely alkalmas ezeknek a kis koncentrációban jelen lévő mikro-szennyezőanyagok a vízi ökoszisztémára és az egészségre gyakorolt hatásainak felmérésére, illetve korai jelzésére.

## 2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

Környezetünk és vízi ökoszisztémáink világszerte növekvő mértékű szennyeződése ipari, mezőgazdasági és a háztartásokból származó vegyi anyagok ezreivel egyike a legnagyobb környezeti problémáknak, amelyekkel szembenéz az emberiség napjainkban. Ma már a környezetvédelmi kutatások kiemelt fontossággal kezelik a biológiailag aktív mikro-szennyezőanyagokat, kiterjedt kutatások folynak a felszíni, felszín alatti vizekben és a tisztított szennyvizekben kis koncentrációban jelenlevő kemikáliák környezetre gyakorolt hatásainak és hatékony eltávolítási eljárásainak felmérésére.

A mikro-szennyezőanyagok hosszú távú jelenléte a vízi ökoszisztémákban kis koncentrációkban (ng/L–µg/L), valamint a szabványosított környezettokológiai tesztekkel mért csekély hatásuk arra enged következtetni, hogy káros hatásukat nagy eséllyel alábecsüljük, így a megfelelő kockázatbecslés kihívást jelent a környezettokológia fundamentális koncepcióját és módszereit tekintve.

A mikro-szennyezőanyagok hatékonyabb környezetmenedzsmentjének érdekében sürgető igény merült fel egy kifinomultabb, fejlettebb környezettoxikológiai eszköztár létrehozására a mikro-szennyezőanyagok vízi ökoszisztémára és az egészségre gyakorolt hatásának felmérésére, így napjainkban nemcsak a humán toxikológia, hanem a környezettoxikológia területén is alternatív tesztek, érzékeny innovatív végpontok kifejlesztése a cél. Ezek az új, vagy továbbfejlesztett módszerek többlet információt szolgáltatnak a hagyományos végpontokhoz (például letalítás, szaporodásgátlás) képest, akár fiziológiai hatások jellemzésével, akár például bizonyos biomarkerek jelenlétének kimutatásával. A biomarker enzimek jelenléte például szoros kapcsolatban van az élőlények életfunkcióival, így érzékenyebbek lehetnek, gyorsabban adhatnak választ a különböző szennyezőanyagok hatásaira.

Ilyen szubletális innovatív végpontok lehetnek például a *Tetrahymena pyriformis* állati egysejtű stressz válaszána és hőtermelésének vizsgálata; az egysejtű makronukleuszának DNS-tartalma; fiziológiai válasz kutatás az egysejtű ATP-tartalmán és savas foszfatáz aktivitásán keresztül, illetve a fagocitotikus aktivitás megváltozása. *Daphnia* fajok esetén a konvencionális letalítás és immobilitás végpontoktól eltérően az ugráló mozgás gyakorisága, táplálkozás-aktivitás, hasi örvénylő mozgás és a szívritmus meghatározása alkalmazható innovatív szubletális végpontként. A *Lemna minor* apró békalencsével való tesztelés esetében a hagyományosan alkalmazott levélkeszám, száraz vagy nedves biomassza tömeg végpontokhoz képest ritkábban alkalmazott mérési végpontnak tekinthetjük a klorofill tartalom vagy a gyökérhossz meghatározását.

A mikro-szennyezőanyagok csoportján belül kiemelten kutatott terület az endokrin rendszert károsító ún. xenoösztrógen vegyületek és a nanoanyagok hatásfelmérése vízi ökoszisztémákban. Habár az endokrin rendszert károsító vegyületek problémaköre széles körben kutatott, az endokrin hatás bizonyítására és felmérésére szolgáló, kiforrott kritériumrendszer és módszeregyüttes jelenleg nem áll rendelkezésünkre.

Az ökotoxikológián belül a nanoökotoxikológia az utóbbi években kezdte térhódítását. Az ökotoxikológiai tesztekben a nanoanyagok heterogén tulajdonságai (pl. részecskeméret, koncentráció, felületkémia, alak, fajlagos felület, hidrofilitás) és az alkalmazott tesztközegek eltérő fizikai-kémiai tulajdonságai (pH, ionerősség, szerves anyag tartalom) miatt minden esetben szükséges volna a vizsgált nanoanyag jellemzésére, hiszen a kémiai és fizikai-kémiai tulajdonságok alapvetően meghatározzák a molekuláris szintű kölcsönhatásokat. Következésképpen a környezettoxikológiai eredményeket minden esetben a megfelelően részletes fizikai-kémiai eredményekkel volna szükséges közölni. Emellett erős ellentmondások találhatók különböző szerzők kutatási eredményei között, amely főként a nanorészecskék speciális tulajdonságainak köszönhető. A problémakörbe bele tartozik a nanoanyagok vízben való diszpergálása, ugyanis ez majdnem lehetetlen különböző adalékanyagok hozzáadása nélkül, mely befolyásolhatja az ökotoxikológiai tesztek eredményét. A fent említett tényekből arra következtethetünk, hogy a nanorészecskék természetes vizeinkben aggregálódnak, így ha ökológiailag reális hatásukat kívánjuk vizsgálni, természetesen aggregálódott formákat (is) célszerű bevonni a tesztelésbe.

A környezettoxikológia aktuális területei és kihívásai között szerepel a komplex (környezeti) minták, valamint a kezelt és kezeletlen szennyvizek tesztelése is, ahol az összetett

sokkomponensű minták káros hatásának mértéke nem egyezik meg a mért vegyi anyag koncentrációknak megfelelő káros hatások aggregált értékével.

A kémiai és toxikológiai eltérő vegyületek összetett keverékei biológiai hozzáférhetőségük és a környezet biotikus és abiotikus elemeivel való kölcsönhatásuk miatt is számottevő különbözőséget mutathatnak. Ezekben az esetekben a toxicitás közvetlen mérése, az úgynevezett *direkt toxicitás vizsgálat* módszere (*DTA – Direct Toxicity Assessment*) a célravezető.

A DTA a környezeti mintának a kockázatát méri az összes lehetséges expozíciós út figyelembe vételével anélkül, hogy azt kémiai „nyelvre”, koncentrációkra fordítaná le. Metodikája ismeretlen szennyezőanyagok aggregált hatásának jellemzésére is képes a különböző környezeti elemekben. A DTA által nyert eredmények közvetlenül a szárazföldi, vagy vízi élőhelyek vitalitását jellemzik. Módszere közvetlenül alkalmas környezeti technológiák hatékonyságának jellemzésére, mint például víztisztítási technológia hatékonyságának vagy a szennyezőanyag lebomlásának nyomon követésére. A DTA módszer amellet, hogy meghatározza a káros hatás mértékét, annak egy elfogadható szintre való csökkentésének mértékét is megállapítja, az elfogadható környezetminőség elérése érdekében. A DTA módszer eredményei közvetlen kapcsolatban állnak a kockázattal, ezáltal a döntéshozatal és kockázatmenedzsment folyamataiban is támaszkodni lehet rájuk. DTA alkalmazása esetén nem szükséges a környezeti mintában található szennyezőanyagok minőségi és mennyiségi ismerete, továbbá a mért válasz arányos a szennyezőanyagok biológiailag hozzáférhető hányadával. Habár a szabályozási és technikai háttér már kidolgozott, a DTA módszer még nem ért el áttörést a széles körben való elterjedés területén.

### 3. CÉLKITŰZÉSEK

I. Doktori munkám során a környezettoxikológia különböző területeihez, új irányvonalaihoz kapcsolódva elsősorban ökotoxikológiai módszerek alkalmazhatóságának tesztelését, problémáspecifikus továbbfejlesztését tűztem ki célul, kis koncentrációban jelenlévő, biológiailag aktív mikro-szennyezőanyagok, mint környezeti stressztényezők hatásának vizsgálatára, illetve korai jelzésére.

A vízi ökoszisztéma különböző trofikus szintjeiről származó tesztorganizmusokat alkalmaztam felszíni vizeinkben kis koncentrációban megjelenő gyógyszerek, kozmetikumok, ipari segédanyagok, peszticidek hatóanyagainak, továbbá a nano titán-dioxid hatásának tanulmányozására, különböző szabványosított rutinszerűen alkalmazott végpontokkal, valamint kifinomultabb, nem konvencionális szubletális végpontokkal, az alábbi tesztrendszerekkel:

- *Daphnia magna* vízibolha – immobilitás, letalitás és szívritmus tesztelése,
- *Tetrahymena pyriformis* állati egysejtű – proliferáció és fagocitotikus aktivitás tesztelése,
- *Lemna minor* apró békalencse – szaporodás és klorofill tartalom tesztelése.

Arra kerestem a választ, hogy az alkalmazott végpontok érzékenysége megfelelő-e a vizsgált mikro-szennyezőanyagok környezeti szempontból releváns koncentrációjában való hatás felméréséhez, illetve a hatásuk korai figyelmeztető jelzésére.

- II. A *Daphnia magna* szívritmus teszt esetében további célom volt a mérés eredményét befolyásoló vizsgálati paraméterek hatásainak feltárása, az optimális kísérleti beállítás meghatározása kifejezetten kis koncentrációban előforduló biológiailag aktív mikro-szennyezőanyagok hatásának előrejelzésére.
- III. Kutatási munkám során a tesztelt mikro-szennyezőanyagok közül kiemelten kezeltem a nanoanyagok egyik legjelentősebb képviselőjét a nano titán-dioxidot. Mivel az irodalomban szereplő ökotoxikológiai tesztek eredményei mellett sok esetben nem tárgyalják sem a nanoanyag, sem a rendszer egyéb fizikai-kémiai jellemzőit, a nanoanyag aggregálódásának hatását, sem az időfüggést, melyek jelentősen befolyásolhatják a megnyilvánuló hatást, ezért célom volt a nano titán-dioxid részecsekemérettől és expozíciós időtől függő hatásának tanulmányozása a vizsgált nanoszuszpenziók alkalmazott tesztközegekben történő fizikai-kémiai jellemzésével együtt. A nano titán-dioxid szuszpenziók hatásainak komplex felméréséhez a nem konvencionális szubletális végpontokon kívül (*Daphnia magna* szívritmus, *Tetrahymena pyriformis* fagocitotikus aktivitás és *Lemna minor* klorofill tartalom) olyan szabványosított környezetoxikológiai módszereket is alkalmaztam, mint pl. az édesvízi egysejtű zöldalgákkal (*Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus subspicatus* és *Pseudokirchneriella subcapitata*) végzett szaporodásgátlási teszt és az *Aliivibrio fischeri* tengeri baktériummal végzett biolumineszcencia intenzitás teszt.
- IV. A környezetoxikológia aktuális kutatási területei és kihívásai között szerepel a komplex (környezeti) minták, kezelt és kezeletlen szennyvizek ökotoxikológiai tesztelése, ahol a komplex minták káros hatásának mértéke nem egyezik meg a mért vegyi anyag koncentrációknak megfelelő káros hatások aggregált értékével. Ilyenkor a toxicitás közvetlen mérése, az úgynevezett direkt toxicitás vizsgálat módszere (DTA – *Direct Toxicity Assessment*) a célravezető, mely a mintának a kockázatát méri az összes lehetséges expozíciós út figyelembe vételével. DTA protokollok kidolgozására és harmonizálására folyamatosak a törekvések, a szabályozási és technikai háttér már kidolgozott, de még kevés az elfogadott módszer. Ezért célom volt a DTA elfogadott protokollok között nem szereplő a *Lemna minor* tesztrendszer alkalmazhatóságának tanulmányozása erre a gyakorlati problémára. Kísérleteim annak a megválaszolására irányultak, hogy alkalmas-e az össz-klorofilltartalom mérése kezelt/elfolyó szennyvíz kockázatának megbízható előre jelzésére, a megfelelő hígítási fok meghatározására a kockázat csökkentéséhez.

A fenti kutatási területeket a környezetoxikológia egyes aktuális problémái és a megoldási lehetőségként általam tanulmányozott ökotoxikológiai tesztrendszerek kapcsolják össze.

## 4. ALKALMAZOTT KÍSÉRLETI METODIKA

### 4.1 Egyedi mikro-szennyezőanyagok ökotoxikológiai vizsgálata

#### 4.1.1 Szerves mikro-szennyezőanyagok ökotoxikológiai vizsgálata

Szubletális, fiziológia végpontokkal rendelkező ökotoxikológiai módszerek alkalmazhatóságát tanulmányoztam kis koncentrációban jelenlévő, biológiailag aktív mikro-szennyezőanyagok, hatásának vizsgálatára, illetve korai jelzésére.

Kísérleteim során a következő modellvegyületeket teszteltem: Na-diklofenák, paracetamol, metamizol-Na, 17 $\beta$ -ösztadiol, nikotin, triklozán, biszfenol A, dibutil-ftalát, 3,4-diklór-fenol, acetoklór, atrazin, diuron, metazaklór, metolaklór széles koncentráció-tartományban (0,005  $\mu$ g/L-100 mg/L).

Az alkalmazott teszt-együttes elemei:

- *Tetrahymena pyriformis* fagocitotikus aktivitási teszt kezelésenként 80 db sejt vakuólumképzése alapján
- *Daphnia magna* szívritmus teszt (kezelésenként 10 egyed szívritmusának mérése 3x10 másodpercig)
- *Lemna minor* szaporodásgátlási teszt (össz-klorofilltartalom meghatározása)

#### 4.1.2 Módszerfejlesztés - a *Daphnia magna* szívritmus teszt eredményét befolyásoló mérési paraméterek vizsgálata

A *D. magna* szívritmus teszt módszerfejlesztése során egy kiemelt szennyezőanyaggal, a triklozán nevű antimikrobiális szerrel végeztünk méréseket 0,2; 2; 20; 200 és 2000  $\mu$ g/L koncentrációban, azzal a céllal, hogy a tesztorganizmus kora, a fenntartóközeg minősége és az expozíciós idő esetleges befolyásoló hatásait feltárjuk a *D. magna* szívritmus, mint mérési végpont esetében. Kísérleteink során minden vizsgált teszt paraméter (diszkrét változó) esetében 2 szintet alkalmaztunk, a kísérletsorozat összesen nyolc beállítását két párhuzamosban végeztük.

Az optimális mérési paramétercsomagot a következő kritériumrendszer alapján választottuk ki:

- Minél több kísérleti adat rendelkezésre áll, ennek következtében alacsony a kiegyensúlyozatlanság.
- A tesztorganizmusok érzékenyen reagálnak a vizsgált vegyület koncentrációjára, vagyis annak növelésével a szívritmus szignifikánsan csökken.
- A különböző koncentrációk esetén a variancia állandó és minimális.

#### 4.1.3 Nano titán-dioxid hatásának komplex ökotoxikológiai jellemzése és a részecskemérettől függő hatás vizsgálata

A nano titán-dioxid káros hatásának komplex felmérése során az ökotoxikológiai módszeregyüttes alkalmazása mellett - a vízi ökoszisztémák meghatározó modellorganizmusaival -, külön hangsúlyt kapott a nano titán-dioxid szuszpenziók fizikai-kémiai jellemzése az adott vizsgálati körülmények között.

Kísérleteink során Degussa VP P90 nTiO<sub>2</sub> szuszpenzióval, AERODISP® W 740 X és W 2370 X nTiO<sub>2</sub> szuszpenziókkal (Evonik Resource Efficiency Kft.) és AFDC200 titán-dioxid szuszpenzióval (Kemira Kft.) dolgoztunk.

A nTiO<sub>2</sub> szuszpenziók fizikai-kémia jellemzéséhez a következő paramétereket mértük: pH, vezetőképesség, Zéta-potenciál és hidrodinamikai átmérő.

A Zéta-potenciál és részecskeméret eloszlás meghatározását egy a dinamikus fényszórás elvén működő készülékkel (Malvern Zetasizer ZS, Malvern Instruments, UK) határoztuk meg. Direkt toxicitás felmérése szennyvízmintákon

#### Az alkalmazott teszt-együttes elemei:

- *Aliivibrio fischeri* biolumineszcencia gátlási teszt megnövelt expozíciós idővel
- Egysejtű édesvízi algákkal végzett szaporodásgátlási teszt (*Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus subspicatus*, *Pseudokirchneriella subcapitata*)
- *Tetrahymena pyriformis* fagocitotikus aktivitási teszt
- *Daphnia magna* szívritmus teszt
- *Lemna minor* szaporodásgátlási teszt.

## **4.2 Direkt toxicitás felmérése szennyvízmintákon**

A direkt toxicitás felméréséhez egy harmadlagos kezelési technológiát is alkalmazó biológiai szennyvíztisztító telep befolyó és kezelt elfolyó szennyvizét vizsgáltuk kémiai analitikai és ökotoxikológiai módszerekkel. A toxicitás felmérése során két különböző mintavételi időpontból (2010. július és szeptember) származó szennyvízminta direkt toxicitását határoztuk meg.

#### Az alkalmazott teszt-együttes elemei:

- *Aliivibrio fischeri* biolumineszcencia gátlási teszt,
- Egysejtű édesvízi algákkal végzett szaporodásgátlási teszt (*Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus subspicatus*, *Pseudokirchneriella subcapitata*),
- *Daphnia magna* immobilizáció teszt,
- *Lemna minor* szaporodásgátlási teszt (levélkeszám és klorofilltartalom meghatározása).

A befolyó és elfolyó tisztított szennyvízben található mikro-szennyezőanyagok kimutatására egy érzékeny kémiai-analitikai elemzési technikát alkalmaztunk; az ELTE kutatócsoportja által fejlesztett eljárással határoztuk meg a szennyezőanyagok koncentrációját trimetilszilil (TMS) (oxim) észter/éter származékképzéssel, gázkromatográfia-(tandem) tömegspektrometria Varian 4000-GC-MS/MS rendszerrel (Walnut Creek, CA, USA).

## 5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

### 5.1 *Tetrahymena pyriformis* fagocitotikus aktivitás teszt

Doktori munkám során a fagocitotikus aktivitás változásának érzékeny környezettotoxicológiai végpontként való alkalmazhatóságát tanulmányoztam a vizeinkben ng–µg/L koncentrációban megjelenő mikro-szennyezőanyagok (diklofenák, 17β-ösztadiol, 3,4-diklór-fenol, atrazin, biszfenol A, és dibutil-ftalát) expozíciójára. Eredményeink alapján a *T. pyriformis* fagocitotikus aktivitás teszt alkalmas ezen vegyületek hatásának korai jelzésére az alkalmazott környezetileg releváns koncentráció tartományban (0,1–0,005 µg/L). Eredményeink alapján bizonyítottunk, hogy a *T. pyriformis* fagocitózis aktivitási tesztrendszer rövid expozíciós idővel (30 perc) is kiemelten érzékeny xenoösztrogén vegyületekre szintén környezetileg releváns koncentrációban (1. táblázat). A feltételezett hatásmechanizmus a xenoösztrogén vegyületek szteroid receptor-szerű konstrukciókhoz való kötődése, ez által a sejt homeosztázisának hormonális megzavarása.

**1. táblázat:** A vizsgált modell vegyületek hatása a *T. pyriformis* fagocitotikus aktivitására

Atrazin		Biszfenol A		Dibutil-ftalát		17β-ösztadiol		3,4-diklór-fenol		Na-diklofenák	
Konc. [µg/L]	Gátlás [%]	Konc. [µg/L]	Gátlás [%]	Konc. [µg/L]	Gátlás [%]	Konc. [µg/L]	Gátlás [%]	Konc. [µg/L]	Gátlás [%]	Konc. [µg/L]	Gátlás [%]
0,05*	16	0,1*	58	0,05*	19	0,01*	14	0,005*	23	0,01*	–36
0,5	35	1	88	0,5	22	0,1	51	0,05	26	0,1	–42
5	80	10	–67	5	38	1	64	0,5	59	1	–21
50	86	100	–33	50	48	10	57	5	100	10	–29
500	81	1000	81	500	74	100	79	50	100	100	–30

\*Legkisebb szignifikáns hatást okozó koncentráció

Mivel a protozoák – a táplálkozási láncban elfoglalt helyzetükből adódóan – fontos szerepet töltenek be a vízi ökoszisztémákban, táplálkozási aktivitásuk megváltozása, hatással lehet a vizek ökológiai állapotára.

### 5.2 *Daphnia magna* szívritmus teszt

Kutatás-fejlesztési munkám keretében kiemelten foglalkoztam a széleskörben alkalmazott vízi tesztorganizmussal, a közönséges vízibolhával (*Daphnia magna*). Kísérleteink során kiemelt jelentőséget kapott a *D. magna* szívritmus tesztrendszer alkalmazhatóságának és érzékenységének vizsgálata mikro-szennyezőanyagok széles skálájával szemben. Eredményeink alapján megállapítottuk, hogy a diklofenák, a 17β-ösztadiol, a triklozán és a metazaklór (µg/L szinten) szignifikánsan befolyásolta az ágascsapú rák szív működését (2. táblázat). Bár a szívritmusra gyakorolt hatás mechanizmusa még pontosan nem tisztázott az egyes vegyi anyagok esetén, szennyezőanyagtól függően történhet a COX-2 enzimrendszer gátlásán, vagy oxidatív stresszen keresztül, az organizmus szintjén mért szívritmus és annak változása (csökkenése vagy akár növekedése) korai bioindikációja lehet ezen mikro-szennyezőanyagok jelenlétének, másodlagos hatásának.



**2. táblázat:** A *D. magna* szívritmus és immobilizáció végpont érzékenységének összehasonlítása

Vizsgált vegyület	LSE [ $\mu\text{g/L}$ ] – 48 h	
	Szívritmus	Immobilizáció
Metazaklór	0,05	> 5000
Na-diklofenák	0,1	> 10.000
17 $\beta$ -ösztradiol	0,1	> 1000
Triklozán	0,5	50
Paracetamol	500	>5000
Nikotin	1000	1000

\*LSE: Legkisebb szignifikáns hatást okozó koncentráció (*Lowest Significant Effect*)

### 5.3 A *Daphnia magna* szívritmus teszt eredményét befolyásoló tesztparaméterek vizsgálata

Miután a *D. magna* szívritmus tesztrendszer érzékenysége bizonyítást nyert, az eredményeket befolyásoló tesztparaméterek természetét kívántuk feltárni. Célunk volt az optimális kísérleti körülmények meghatározása, ennek érdekében vizsgáltuk a tesztorganizmus korának, az expozíciós időnek, illetve a tesztközeg összetételének hatását a kapott eredményekre. A *Daphnia magna* szívritmus tesztrendszer optimális beállításainak meghatározására egy rangösszegeken alapuló statisztikai értékelő rendszert dolgoztunk ki, mely kiküszöböli az egyes egyedek elpusztulásából adódó kiegyensúlyozatlanság, a kísérlet sorozatok időbeli szegregációja, valamint bizonyos randomizációs korlátok és az adatok nem minden esetben teljesülő függetlenségéből származó értékelési hibákat. Ezzel párhuzamosan figyelembe veszi a vizsgált mérési végpont intenzív válaszána mértékét a szennyezőanyag koncentráció minden egyes növekedésére az egész vizsgált tartományban, valamint a válasz szórását. A relatív inhibíció rangösszegek alapján megállapítottuk, hogy a szignifikánsan kiemelkedően teljesítő kísérleti beállítás 10 napos egyedek, 48 órás expozíciós idő és csapvíz, mint tesztközeg alkalmazása (3. táblázat).

**3. táblázat:** Rangösszegek (SOR: Sum of Ranks) és EC<sub>50</sub> értékek [ $\mu\text{g/L}$ ] a különböző kísérleti beállítások esetén

Fenntartó közeg	Tesztorganizmus kora	Expozíciós idő	SOR	EC <sub>50</sub>	LCI <sup>a</sup>	UCI <sup>b</sup>
Csapvíz	10 nap	48 h	53	35,2	6,55	276
Csapvíz	3 nap	24 h	75	303	207	466
Csapvíz	10 nap	24 h	81	327	200	587
M7	3 nap	48 h	86	334	243	480
M7	3 nap	24 h	91	329	247	450
M7	10 nap	24 h	92	340	259	453
M7	10 nap	48 h	96	379	310	469
Csapvíz	3 nap	48 h	106	369	315	437

<sup>a</sup>LCI: A konfidencia intervallum alsó határa (Lower Confidence Interval)

<sup>b</sup>UCI: A konfidencia intervallum felső határa (Upper Confidence Interval)

<sup>c</sup>az EC<sub>50</sub> értékeket OriginLab 8.0 szoftverrel logisztikus dózis-válasz függvény alkalmazásával határoztuk meg, melynek egyenlete:  $y = A1 + (A2 - A1) / (1 + 10^{((\text{LOG}x0 - x) * p)})$ .

#### 5.4 Nano titán-dioxid vízi ökoszisztémára gyakorolt hatásának felmérése a részecskeméret és koncentráció függvényében

Eredményeinkkel igazoltuk, hogy az aggregátum képződés – amely nem csak az ökotoxikológiai médiumokban jelentkezhet, hanem a környezetben is – befolyásolja a toxicitást.

A nanorészecskék aggregálódása nem jár együtt feltétlenül a gátló hatás csökkenésével a csökkenő hozzáférhetőség miatt, ugyanis a mikrorészecskék kifejthetik toxikus hatásukat akár közvetlenül aggregátum formájában történő felvétellel, akár például tápanyagkomponensek megkötése útján. A részecskemérettől függő hatás vizsgálata során bizonyítást nyert, hogy az alkalmazott nTiO<sub>2</sub> elsődleges és másodlagos részecskemérete meghatározza a tesztorganizmus és nTiO<sub>2</sub> közti kölcsönhatást, azonban a toxikus hatást nagymértékben befolyásolja az adott expozíciós útvonal is (4. táblázat). Például a *D. magna* tesztorganizmus esetében az aggregálódott mikroméretű részecskék is kifejthetnek káros hatást a táplálkozás során történő felvétel következtében, ezzel eltömítve a tápcsatornát. Az *Aliivibrio fischeri* biolumineszcencia tesztrendszerrel történő vizsgálatok során bizonyítást nyert, hogy minden esetben szükséges a megnyújtott expozíciós idő alkalmazása a késleltetett káros hatás kimutatására nanoszuszpenziók vizsgálata terén. Bár a *Lemna minor* tesztrendszer esetében szintén mikroméretű aggregátumok képződtek szinte azonnal a nTiO<sub>2</sub> szuszpenziók tesztközeghez való hozzáadását követően, így is kimutatható volt jelentős szaporodásgátló hatás, melyet egyrészt okozhat a felszíni akkumulációval a levélkék felületéhez kötődő nTiO<sub>2</sub> részecskék kölcsönhatása a növényi sejt felszíni receptoraival, illetve a tápközegben jelenlévő – a növény növekedéséhez elengedhetetlen – tápelemek nTiO<sub>2</sub> részecskékkal való heteroaggregációja, majd kiülepedése a tesztedény aljára. Eredményeink alapján megalapozottnak látjuk a nanoszuszpenziók alkalmazott tesztközgekben való fizikai-kémiai paramétereinek és aggregálódási viselkedésének meghatározását minden esetben, hiszen ezen információk meghatározó fontosságúak az expozíció okozta hatás értékeléséhez.

**4. táblázat:** A vizsgált nTiO<sub>2</sub> szuszpenziók legkisebb szignifikáns hatást okozó koncentráció (LSE) értékei

Tesztorganizmus	Ökotoxikológiai végpont	Legkisebb szignifikáns hatás [µg/L]			
		W 2730X 16 nm	W 740X 36 nm	P90 <sup>M</sup> 89 nm	AFDC200 3264 nm
<i>Aliivibrio fischeri</i>	biolumineszcencia (120 min)	1	0,1	10.000	10
<i>Tetrahymena pyriformis</i>	fagocitotikus aktivitás (30 min)	0,1	1000	0,1	0,1
<i>Daphnia magna</i>	szívritmus (48 h)	100	10.000	10.000	1
<i>Lemna minor</i>	össz-klorofilltartalom (7 nap)	1	1	1	0,1

#### 5.5 *Lemna minor* szaporodásgátlási teszt az össz-klorofilltartalom meghatározásával

A *L. minor* tesztorganizmussal végzett kísérletsorozataink eredményei alapján a növényvédőszeres és 3,4-diklór-fenol esetében kiemelkedő érzékenységet tapasztaltunk környezeti szempontból releváns koncentrációban (ng/L– µg/L szinten) (5. táblázat). A növényvédőszeres klorofilltartalom csökkentő hatása egyértelműen elsődleges hatásmechanizmusuknak tulajdonítható, ezzel együtt a 3,4-diklór-fenol szerkezetéből adódóan hasonló mechanizmuson keresztül fejtheti ki gátló hatását.

**5. táblázat:** A vizsgált mikro-szennyezőanyagok LOEC (legkisebb szignifikáns hatást okozó koncentráció) értékei

Vizsgált vegyület	LOEC [mg/L]
Acetoklór	0,00005
Metolaklór	0,0005
Diuron	0,0005
3,4-diklór-fenol	0,0025
Metazaklór	0,005
Metamizol-Na	0,01
Atrazin	0,1
Na-diklofenák	3,125
Biszfenol A	6,25

### 5.6 Direkt toxicitás felmérés a *Lemna minor* tesztrendszerrel

A tesztrendszer alkalmazhatóságát gyakorlati problémákon keresztül is vizsgáltam technológia hatékonyság és szennyvizek kockázatának jellemzésére. A kezeletlen és a kezelt szennyvíz hatásának felmérésében az elfogadott DTA (*Direct Toxicity Assessment*) protokollok között nem szereplő *Lemna minor* tesztrendszer kimagasló érzékenységet mutatott, összevetve az *Aliivibrio fischeri* biolumineszcencia gátlási teszttel, és az egysejtű algafajokkal kivitelezett szabványmódszerrel.

Eredményeink alapján bizonyítottunk látjuk és javasoljuk a *Lemna minor* tesztrendszert a klorofilltartalom meghatározásával környezeti és szennyvízminták direkt toxicitás felmérésére (DTA). A DTA protokollok kidolgozására és harmonizálására folyamatosak a törekvések, a szabályozási és technikai háttér már kidolgozott, de még kevés az elfogadott módszer.

Annak érdekében, hogy jellemezni tudjuk a szennyvízkezelési technológia hatékonyságát, az esetleges környezeti kockázatot, illetve a szükséges mértékét a további toxicitás-csökkentésnek, az alábbi praktikus indikátorokat határoztuk meg és számítottuk ki, mint pl. az ESP, RCR és RRR (6. táblázat):

- Hatásos minta hányad (ESP: Effective Sample Proportion): azon mintahányad, mely a referencia mintával egyenértékű gátló hatást okoz. Amennyiben ez a % érték kisebb, mint 100, a minta toxikusabb, mint a referencia. Az ESP fordítottan arányos a toxicitással;
- A kockázatot jellemző arány (RCR: Risk Characterization Ratio): megadja a minta relatív kockázatát a nem toxikus referencia mintához viszonyítva. Az RCR egyenlő a szükséges kockázatcsökkentés mértékével ( $RCR=RRR_0$ );
- A toxicitás csökkentésének szükséges mértéke ( $RRR_{20}$ : Risk Reduction Rate): az a kockázat csökkentési arány mellyel elérjük a kívánt toxicitási szintet ( $H\%<20\%$ ):  $ESP_{minta}/ESP_{cél}$ ,  $RRR_{20} = ESP_{minta}/80\%$ ;  $RRR \leq RCR_{eredeti\ minta}$ .

**6. táblázat:** A kezelt szennyvíz toxicitását jellemző indikátorok

<i>Mintavételi időpont</i>	<sup>a</sup> ESP (%)		<sup>b</sup> RCR		<sup>c</sup> RRR <sub>20</sub>	
	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>1</i>	<i>2</i>
Levélkeszám	84	67	1,2	1,5	1,0x	1,2x
Klorofilltartalom	53	40	1,9	2,5	1,5x	2,0x

## 6. TÉZISEK

1. Igazoltam a vízi ökoszisztéma különböző trofikus szintjeit képviselő hagyományos ökotoxikológiai tesztszervezetek (*Tetrahymena pyriformis* és *Daphnia magna*) – egyes élettani változóinak vizsgálatával finomított – alkalmazhatóságát mikro-szennyezőanyagok biológiai hatásának kimutatására környezeti szempontból releváns koncentrációkban.

a. Megállapítottam, hogy a *Tetrahymena pyriformis* fagocitotikus aktivitási teszt jól mérhető szignifikáns választ mutat a 17 $\beta$ -ösztradiol, valamint a tesztelt xenoösztrógen vegyületek - 3,4-diklór-fenol, atrazin, biszfenol A, és dibutil-ftalát – expozíciójára (ng/L– $\mu$ g/L szinten). A módszer alkalmas lehet a xenoösztrógenek káros hatásának korai jelzésére kvalitatív módszerként. (VIII)

b. A 17 $\beta$ -ösztradiol, a diklofenák, a triklozán, és a metazaklór vizsgálata esetén *Daphnia magna* szívritmus teszttel kimutattam, hogy ezek a hatóanyagok másodlagos hatásuként képesek kis koncentrációban (17 $\beta$ -ösztradiol: 0,1  $\mu$ g/L; diklofenák: 0,1  $\mu$ g/L; triklozán: 0,5  $\mu$ g/L; metazaklór: 0,05  $\mu$ g/L) befolyásolni a planktonikus rák szív működését. A szívritmus, mint szubletális végpont nagyságrendekkel érzékenyebbnek bizonyult, mint a hagyományos mortalitás és immobilizáció; további előnye, hogy a modellvegyületek hatásmechanizmusáról is többletinformációt kaphatunk alkalmazásával. (III)

2. Kidolgoztam egy rangösszegeken alapuló statisztikai értékelő rendszert a *Daphnia magna* szívritmus tesztrendszer optimális beállításainak meghatározására. A kidolgozott módszer számos előnye mellett figyelembe veszi a vizsgált mérési végpont intenzív válaszanak mértékét a szennyezőanyag koncentráció minden egyes növekedésére a tesztelt tartományban, valamint a válasz szórását.

A relatív inhibíció rangösszegek alapján megállapítottam, hogy a szignifikánsan kiemelkedően teljesítő, optimális kísérleti beállítás a következő: 10 napos tesztorganizmusok, 48 órás expozíciós idő és csapvíz, mint tesztközeg alkalmazása. (VII)

3. A nano titán-dioxid szuszpenziók hatásának komplex felmérésével több ökotoxikológiai modellszervezeten - szubletális mérési végpontokkal - igazoltam a nanoanyag szignifikáns gátló hatását környezeti szempontból releváns koncentrációban. (I, VI)

a. Kimutattam, hogy az expozíciós idő jelentősen befolyásolja a nano titán-dioxid hatását.

- b. Eredményeink alapján megalapozottnak látom a nanoanyagok hatásának ökotoxikológiai felmérésénél az alkalmazott tesztközegekben való fizikai-kémiai paramétereinek (pH, vezetőképesség, részecskeméret) és az aggregálódási viselkedés meghatározását minden esetben, hiszen ezen információk meghatározó fontosságúak az expozíció okozta hatás értékeléséhez.
  - c. Igazoltam, hogy a vízi ökoszisztéma különböző trofikus szintjeit reprezentáló általunk alkalmazott módszeregyüttes elemei: a megnövelt expozíciós idejű *A. fischeri* biolumineszcencia gátlás, a *T. pyriformis* fagocitózis aktivitás, a *D. magna* szívritmus és a *L. minor* össz-klorofilltartalom meghatározásán alapuló tesztrendszerek eltérő mechanizmusokon alapulva, de érzékenyen jelzik a nTiO<sub>2</sub> hatását aggregált formában is. Javasolt a nTiO<sub>2</sub> hatásának felmérése során komplex ökotoxikológiai tesztegységek alkalmazása.
4. Igazoltam a *Lemna minor* tesztrendszer alkalmazhatóságát szennyvízminták direkt toxicitás felmérésére (DTA: *Direct Toxicity Assessment* módszerként), a sok-komponensű komplex minta aggregált hatásának, aktuális toxicitásának érzékeny jelzésére; ezáltal a biológiai válaszon alapuló környezetmenedzsment hatékony szűrővizsgálata lehet. (II, IV, V).
- a. Kimutattam, hogy a *Lemna minor* szaporodásgátlási teszt a klorofilltartalom meghatározásával lényegesen érzékenyebb módszer - mikro-szennyezőanyagok keverékét tartalmazó - szennyvíz toxicitásának jellemzésére, mint a DTA protokollokban már szereplő *Pseudokirchneriella subcapitata* szaporodásgátlási teszt és a *Daphnia magna* immobilitás teszt.
  - b. A direkt toxicitás felmérésének eredményei alapján képzett praktikus indikátorok – *ESP%*: *hatásos mintahányad* és *RCR*: *a kockázatot jellemző arányszám* - közvetlen információt szolgáltattak a kezelt szennyvíz minőségéről.
  - c. Eredményeim alapján - az *RRR*: *a toxicitás csökkentésének szükséges mértékét jelző arányszámból* - meghatározható a kockázatcsökkentéshez szükséges hígítás mértéke.

## 7. KÖVETKEZTETÉSEK, ALKALMAZÁSI LEHETŐSÉGEK

A *Tetrahymena pyriformis* fagocitotikus aktivitási teszt és a *Daphnia magna* szívritmus teszt a finomabb élettani változások vizsgálatával alkalmas lehet mikro-szennyezőanyagok vízi ökoszisztémára gyakorolt káros hatásainak korai jelzésére környezetileg releváns koncentrációban.

A klorofill tartalom meghatározásán alapuló *Lemna minor* tesztrendszer alkalmazható kezelt és kezeletlen szennyvízminták direkt toxicitás felmérésére, illetve a származtatott praktikus indikátorok - mint pl. az *RRR*: *a toxicitás csökkentésének szükséges mértékét jelző arányszám* – alkalmasak a vizsgált szennyvízminta kockázatcsökkentéshez szükséges hígítás mértékének meghatározására.

A fenti tesztrendszereknek jelentős szerepük lehet a mikro-szennyezőanyagok kockázatának előrejelzésében, így a vízminőség vizsgálatát és jellemzését célzó monitoring rendszerekben,

illetve korai figyelmeztető rendszerekben. Emellett az eredmények alapot adhatnak az ilyen szempontból kockázatos szennyvizek elkülönített kezelésére, speciális tisztítására valamint ösztönző törvények megalkotására.

## 6 PUBLIKÁCIÓK

### A PhD értekezés témájához kapcsolódó publikációk:

- I. **Fekete-Kertész, I.**, Maros, G., Gruiz, K., Molnár, M., 2016. The effect of TiO<sub>2</sub> nanoparticles on the aquatic ecosystem: a comparative ecotoxicity study with test organisms of different trophic levels. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering* 60(4),231–243. IF: 0,46
- II. Gruiz, K., **Fekete-Kertész, I.**, Kunglné-Nagy, Zs., Hajdu, Cs., Feigl, V., Vaszita, E., Molnár, M., 2016. Direct toxicity assessment – Methods, evaluation, interpretation. *Science of the Total Environment* 563–564, 803–12. IF: 3,976
- III. **Fekete-Kertész, I.**, Kunglné-Nagy, Zs., Molnár, M., 2016. Ecological impact of micropollutants on aquatic life determined by an innovative sublethal endpoint *Daphnia magna* heartbeat rate. *Carpathian Journal of Earth and Environmental Sciences* 11(2), 345–354. IF: 0,73
- IV. **Fekete-Kertész, I.**, Kunglné-Nagy, Zs., Gruiz, K., Magyar, Á., Farkas, É., Molnár, M., 2015. Assessing toxicity of organic aquatic micropollutants based on the total chlorophyll content of *Lemna minor* as a sensitive endpoint. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering* 59(4), 262–271. IF: 0,46
- V. Nagy, Zs.M., Molnár, M., **Fekete-Kertész, I.**, Molnár-Perl, I., Fenyvesi, É., Gruiz, K., 2014. Removal of emerging micropollutants from water using cyclodextrin. *Science of the Total Environment* 485–486, 711–719. IF: 3,163

### Bírálat alatt lévő kéziratok:

- VI. **Fekete-Kertész, I.**, Pismán, D., Molnár, M., 2017. Particle size and concentration dependent ecotoxicity of nano- and microscale TiO<sub>2</sub> – comparative study by different aquatic test organisms of different trophic levels. *Water, Air & Soil Pollution*.
- VII. **Fekete-Kertész, I.**, Stirling, T., Ullmann, O., Farkas, É., Kirchkeszner, Cs., Feigl, V., Molnár, M., 2017. How does experimental design modify the result of *Daphnia magna* heartbeat rate test? – Analyses of factors affecting the sensitivity of the test system. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*
- VIII. **Fekete-Kertész, I.**, Ullmann, O., Csizmár, P., Molnár, M., 2017. The ecotoxicity assessment of organic micropollutants with an unconventional physiological endpoint, the *Tetrahymena pyriformis* phagocytosis. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*

### Egyéb tudományos közlemények:

#### Angol nyelvű lektorált folyóiratokban megjelent közlemények:

- Molnár, M., Vaszita, E., Farkas, É., Ujaczki, É., **Fekete-Kertész, I.**, Tolner, M., Klebercz, O., Kirchkeszner, Cs., Gruiz, K., Uzinger, N., Feigl, V. 2016. Soil improvement with biochar – Microcosms for characterization of the effects of biochar on acidic sandy soil. *Science of the Total Environment* 563–564, 855–865. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.01.091. IF: 3,976
- Fekete-Kertész, I.**, Molnár, M., Atkári, Á., Gruiz, K., Fenyvesi, É., 2013. Hydrogen peroxide oxidation for in situ remediation of trichloroethylene - From the laboratory to the field. *Periodica Polytechnica-Chemical Engineering* 57(1–2), 41–51. IF: 0,130
- Fekete-Kertész, I.**, Molnár, M., 2011. Cyclodextrins improve the removal efficiency of emerging contaminants from water. *Cyclodextrin News* 25(12), 1–11.

### Könyv részletek:

Gruiz, K., Molnár, M., Feigl, V., Hajdu, Cs., Nagy, Zs.M., Klebercz, O., **Fekete-Kertész, I.**, Ujaczki, É., Tolner, M., 2015. Terrestrial toxicity. In Engineering Tools for Environmental Risk Management - Environmental Toxicology edited by Katalin Gruiz, Tamás Meggyes, Éva Fenyvesi; Taylor & Francis Group, London, UK, 2015. pp: 229-311.

### Angol nyelvű konferencia kiadványban megjelent publikációk:

Feigl, V., Molnár, M., Ujaczki, É., Klebercz, O., **Fekete-Kertész, I.**, Tolner, M., Vaszita, E., Gruiz, K. 2015. Ecotoxicity of biochars from organic wastes focusing on their use as soil ameliorant. In: Proceedings of AQUACONSOIL 2015: 13th International UFZ-Deltares Conference on Groundwater-Soil-Systems and Water Resources Management. Copenhagen, Denmark, 2015.06.09.-2015.06.12.

**Fekete-Kertész, I.**, Molnár, M., Nagy, Zs.M., Eller, N., Fenyvesi, É., Gruiz, K., 2013. Ecotoxicological methods for monitoring the effects of micropollutants in waters. In: Proceedings of AQUACONSOIL 2013: 12th International UFZ-Deltares Conference on Groundwater-Soil-Systems and Water Resources Management. Barcelona, Spain, 2013.04.16-2013.04.19. PAPER 2352.

Nagy, Zs.M., Gruiz, K., Molnár, M., **Fekete-Kertész, I.**, Fenyvesi, É., Perlné Molnár, I., 2013. Removal of emerging micropollutants from water using cyclodextrin. In: Proceedings of AQUACONSOIL 2013: 12th International UFZ-Deltares Conference on Groundwater-Soil-Systems and Water Resources Management. Barcelona, Spain, 2013.04.16-2013.04.19. PAPER 2323.

Vaszita, E., Gruiz, K., Siki, Z., Feigl, V., Klebercz, O., Ujaczki, É., **Fekete-Kertész, I.**, 2013. The ENFO knowledge base to support efficient management of waste utilization on soil. In: Proceedings of AQUACONSOIL 2013: 12th International UFZ-Deltares Conference on Groundwater-Soil-Systems and Water Resources Management. Barcelona, Spain, 2013.04.16-2013.04.19. PAPER 2246.

### **Szóbeli előadások:**

Fekete-Kertész, I., Molnár, M., Környezettoxikológiai módszerek biológiailag aktív mikro-szennyezőanyagok környezeti kockázatának előrejelzésére vízi ökoszisztémákban. Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem – PhD Konferencia 2016. 2016.02.09. Budapest.

Fekete-Kertész, I., Molnár, M., Nagy, Zs. M., Gruiz, K. Ecotoxicological assessment of micropollutants with *Daphnia magna* heartbeat rate test. Oláh György Doctoral School XI. Conference. 2014.02.06. Budapest (In Hungarian)

Fekete-Kertész, I., Molnár, M., Nagy, Zs. M., Eller, N., Gruiz, K. Ecotoxicological assessment of micropollutants with *Daphnia magna* heartbeat rate test. Environmental Sciences Conference of PhD Students. 2013.06.06. Budapest (In Hungarian)

Fekete-Kertész, I., Molnár, M., Nagy, Zs. M., Eller, N., Fenyvesi, É., Gruiz, K. Ecotoxicological assessment of micropollutants with innovative environmental toxicity tests. Műszaki Kémiai Napok '12. 2012.04.25. Veszprém (In Hungarian)



## Poszter előadások:

Fekete-Kertész, I., Stirling, T., Ullmann, O., Farkas, É., Kirchkeszner, Cs., Feigl, V., Molnár, M. How does experimental design modify the result of *Daphnia magna* heartbeat rate test? – Analyses of factors affecting the sensitivity of the test system. 10th ISEB Conference 2016. Barcelona, Spain, 2016.06.01.-2016.06.03.

Fekete-Kertész, I., Gruiz, K., Molnár, M. Toxicity of nano-titanium and inorganic micropollutants to aquatic life. Poster presentation at AQUACONSOIL 2015: 13th International UFZ-Deltares Conference on Groundwater-Soil-Systems and Water Resources Management. Copenhagen, Denmark, 2015.06.09.-2015.06.12.

Fekete-Kertész, I., Molnár, M., Nagy, Zs.M., Eller, N., Fenyvesi, É., Gruiz, K., 2013. Ecotoxicological methods for monitoring the effects of micropollutants in waters. Poster presentation at AQUACONSOIL 2013: 12th International UFZ-Deltares Conference on Groundwater-Soil-Systems and Water Resources Management. Barcelona, Spain, 2013.04.16-2013.04.19.