

Ariel MARCHLEWICZ, Urszula GUZIK, Danuta WOJCIESZYŃSKA*

WPLYW DWUWARTOŚCIOWYCH JONÓW KADMU NA DYNAMIKĘ ROZKŁADU IBUPROFENU PRZEZ SZCZEP *BACILLUS* SP. B1(2015b)

Szczep *Bacillus* sp.B1(2015b), wyizolowany z gleby skażonej odpadami poprodukcyjnymi z zakładów chemicznych „Organika-Azot” w Jaworzni, charakteryzuje się zdolnością do degradacji ibuprofenu. Celem badań była ocena wpływu jonów kadmu na szybkość rozkładu ibuprofenu przez szczep B1, gdyż jednym z problemów bioremediacji, jest obecność innych zanieczyszczeń wraz z zanieczyszczeniami farmaceutycznymi, szczególnie metali ciężkich, które nie ulegają biodegradacji. Układy badawcze prowadzone były w pożywce mineralnej z glukozą w stężeniu 1 g/l oraz ibuprofenem w stężeniu 10 g/l. Szczep B1 w układzie kometabolicznym degradował ibuprofen w ciągu 36 godzin. Zastosowanie kadmu w stężeniach 0,15 i 0,32 mM nie wpłynęło na wzrost biomasy, niemniej czas degradacji leku został wydłużony, odpowiednio, do 60 i 69 godzin. Stężenia 0,5 i 1,0 mM kadmu zahamowało wzrost biomasy o 23,15% oraz 35,22% a degradacja leku wyniosła 102 i 174 godziny. Kadm powyżej 1,0 mM powodował flokulację bakterii.

1. WSTĘP

Szeroko pojęta ochrona zdrowia, oprócz hospitalizacji, interwencji lekarskich oraz prewencji chorób obejmuje także gigantyczny rynek farmaceutyczny. Obecnie jego ogromną część stanowią leki dostępne bez recepty (*ang. over-the-counter*), których spożycie nie jest w żaden sposób kontrolowane. Wśród tych leków szczególne miejsce zajmują niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) będące jednymi z najczęściej, a zarazem najchętniej spożywanymi lekami. Najpopularniejszymi NLPZ są ibuprofen, kwas acetylosalicylowy i jego pochodne czy wykazujący głównie działanie przeciwgorączkowe, jednak często zaliczany do NLPZ, paracetamol. Na tle tej zróżnicowanej grupy leków

* Uniwersytet Śląski w Katowicach, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biochemii, ul. Jagiellońska 28, 40-032 Katowice, amarchlewicz@us.edu.pl.

wyróżnia się ibuprofen. W 2000 roku spożycie ibuprofenu w Polsce wyniosło 58 ton co przekłada się na 290 mln tabletek. W Niemczech spożycie ibuprofenu sięgnęło 300 ton [27]. Jednocześnie lek ten nie jest metabolizowany w organizmie lecz ulega przemianom I i II fazy detoksykacji. Obejmują one oksydację alkilowej części leku do hydroksylowanych lub karboksylowanych pochodnych, takich jak 1-hydroksyibuprofen, 2-hydroksyibuprofen czy *p*-karboksy-2-propionian. Głównym czynnikiem uczestniczącym w tym etapie jest kompleks cytochromu P-450. II faza detoksykacji obejmuje sprzężanie z glukuronianami, tauryną, siarczanami, aminokwasami oraz glutationem. Głównym produktem w reakcjach sprzężania w organizmie człowieka jest glukuronian ibuprofenu stanowiący 87% wszystkich wydalanych form ibuprofenu. Produkty sprzężania metabolitów I fazy pod wpływem mikroorganizmów bytujących w środowisku ulegają stosunkowo łatwej hydrolizie, w wyniku której ibuprofen lub jego pochodna zostaje uwolniona do środowiska. Fakt ten w połączeniu z wyjątkowo dużym spożyciem powoduje, że lek ten jest coraz częściej wykrywany, farmaceutycznym zanieczyszczeniem [3, 8,–10, 16, 35]. Niemniej, mimo rosnącej ilości komunikatów dokumentujących występowanie ibuprofenu w środowisku nie tworzą one spójnej i ciągłej całości poprzez brak uwarunkowań prawnych określających konieczność monitorowania stężeń NLPZ w środowisku.

W wielu krajach lek ten jest także wykrywany w ściekach oczyszczonych oraz w wodach powierzchniowych takich jak jeziora czy rzeki [20, 23, 29, 31, 32, 34–36]. Również w Polsce wykryto obecność ibuprofenu, między innymi w Bałtyku, zlewniach Wisły i Odry, a także jeziorach województwa pomorskiego [6, 26]. Głównymi źródłami zanieczyszczenia ibuprofenem są ścieki komunalne i szpitalne. Obecnie stosowane metody biologicznego oczyszczania ścieków w wielu przypadkach okazują się niewystarczające do całkowitego usunięcia farmaceutyków ze ścieków. Zaobserwowano także wahania stężeń ibuprofenu w zależności od pory roku, w której pobierane były próbki. Zauważalny wzrost ilości farmaceutyków, w tym ibuprofenu, w wodach i ściekach odnotowano w miesiącach jesienno-zimowych. Może być to spowodowane zwiększoną zachorowalnością na grypę i przeziębienie, a przez to intensywniejszym spożyciem NLPZ. Ponadto, niższe temperatury dobowe wpływają na zmniejszenie aktywności metabolicznej mikroorganizmów zaangażowanych w degradację NLPZ [6, 30].

Pomimo dobrze opisanego szlaku jakim przebiega detoksykacja ibuprofenu w organizmie ludzkim, wciąż stosunkowo niewiele wiadomo na temat mikrobiologicznego rozkładu tego leku. Jedyne nieliczne mikroorganizmy wykazują potencjał biodegradacyjny lub biotransformacyjny w stosunku do ibuprofenu. Jedyne do tej pory zaproponowany szlak rozkładu tego leku opisano u bakterii *Sphingomonas* spp. Ibu-2, zdolnej do wykorzystania ibuprofenu jako źródła węgla i energii. Szlak przebiega poprzez tioestryfikację ibuprofenu z udziałem ligazy-CoA, poprzedzającej wprowadzenie tlenu do struktury pierścienia aromatycznego, dzięki enzymowi z klasy dioksygenaz. Wprowadzenie cząsteczki tlenu do pierścienia aromatycznego leku zachodzi z jednoczesnym

usunięciem łańcucha propionowego. W wyniku tych reakcji powstaje główny intermediat – izobutylokatechol, kierowany w dalszych etapach do ekstradiolowego rozczepienia pierścienia [14, 18]. Godnym uwagi jest fakt, iż w przedstawionym szlaku nie występują hydroksylowane czy karboksylowane pochodne, które wykrywano w środowisku wodnym. Stawia to zatem pod znakiem zapytania istotność opisanego szlaku w środowisku naturalnym. Podobnie jak szczep Ibu-2, szczep *Nocardia* sp. NRRL5646 charakteryzował się biotransformacją ibuprofenu do unikalnych metabolitów – ibuprofenolu i octanu ibuprofenolu [5]. W 2013 roku opisano także szczep *Patulibacter* sp. I11 [1] zdolny do biotransformacji ibuprofenu, jednak nie wykazujący wzrostu na leku jako źródle węgla. Drugą grupą mikroorganizmów wykazującą zdolność do biotransformacji ibuprofenu są lignolityczne gatunki grzybów, takie jak *Bjerkandera* sp. R1, *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor*, *Irpex lacteus* czy *Ganoderma lucidum* [17, 24]. Głównym metabolitem wykrytym w trakcie hodowli tych szczepów były hydroksylowane pochodne ibuprofenu – 1-hydroksyibuprofen, 2-hydroksyibuprofen oraz 1,2-dihydroksyibuprofen. Należą one do jednych z najczęściej wykrywanych metabolitów, zarówno w hodowlach, jak i w środowisku [21, 23, 38]. Produkty te odznaczają się większą toksycznością w stosunku do macierzystego związku [17]. Pojawienie się hydroksylowanych metabolitów w hodowlach grzybów sugerowało zaangażowanie lakaz, peroksydaz bądź systemu cytochromu P-450 w biotransformacji ibuprofenu, nie zostało to jednak udokumentowane doświadczalnie [17].

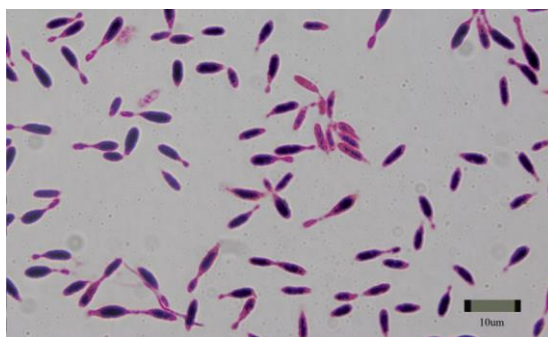
Na wydajność biodegradacji ibuprofenu wpływa wiele czynników środowiskowych. Na uwagę zasługują związki pochodzenia antropogenicznego, w tym metale ciężkie. Stanowią one poważne zagrożenie, wywierając wpływ na mikroorganizmy, rośliny, a także zwierzęta bytujące w zanieczyszczonym środowisku, szczególnie, że nie ulegają biodegradacji i mają zdolność do akumulowania się w tkankach. Część z nich spełnia pewne funkcje biologiczne np. żelazo, cynk czy miedź, stąd w niewielkich stężeniach są konieczne. Pozostałe, takie jak kadm, nie spełniają, żadnej funkcji biologicznej w organizmach i cechują się wysoką toksycznością [33]. Kadm jedynie u niektórych organizmów morskich jak np. okrzemka *Thalassiosira weissflogii* może pełnić funkcje fizjologiczne, prawdopodobnie zastępując cynk w jego niedoborach [28]. W większości przypadków jednak, stanowi poważne zagrożenie. Wykazano między innymi, że jony kadmu mogą wiązać się z enzymami łańcucha oddechowego, powodować stres oksydacyjny czy utrudniać naprawę DNA [2, 13, 19].

2. MATERIAŁY I METODY

Celem badań było określenie wpływu jonów Cd^{2+} na dynamikę rozkładu ibuprofenu przez szczep *Bacillus* sp. B1(2015b). Zanieczyszczenia farmaceutyczne często występują wraz z zanieczyszczeniami innego typu, stąd też istotne jest określenie wpływu innych związków na rozkład ibuprofenu.

2.1. WYKORZYSTANY SZCZEP

Szczep *Bacillus* sp. B1(2015b) (rys. 1) został wyizolowany z gleby skażonej odpadami poprodukcyjnymi pochodzącymi z zakładów chemicznych Organika-Azot w Jaworznie, w wyniku składowania odpadów z produkcji środków ochrony roślin. W 2012 roku na terenie składowania odpadów w dolinie rzeki Wąwolnicy zinventaryzowano ponad 200 tys. ton odpadów, wśród których zidentyfikowano takie jak: dichlorodifenylotrichloroetan (DDT) oraz produkty jego rozpadu – dichlorodifenylodichloroetan (DDE) oraz dichlorodifenylodichloroetylen (DDD), heksacykloheksan (HCH) czy dieldrynę. Występowanie wśród wykrytych zanieczyszczeń związków o budowie aromatycznej (np. DDT) stało się przesłanką do poszukiwań szczepów bakterii zdolnych do metabolizowania niesteroidowych leków przeciwzapalnych. Spośród uzyskanych szczepów, *Bacillus* sp. B1(2015b) charakteryzował się najkorzystniejszymi właściwościami podczas kometabolicznego rozkładu NLPZ, w szczególności ibuprofenu. Szczep był przechowywany na agarze odżywczym w 4°C oraz przesiewany w odstępach czterogodniowych.



Rys. 1. Szczep *Bacillus* sp. B1(2015b)

2.2. WARUNKI HODOWLI

Hodowle mikroorganizmów prowadzono w zmodyfikowanym podłożu mineralnym wg Kojima i in. o pH ustalonym na poziomie 7,2 [15]. Hodowle prowadzono

w kolbach szklanych z wytrząsaniem (130 rpm) w temperaturze 30°C. Ibuprofen podano w postaci soli sodowej (Sigma-Aldrich) w stężeniu 10 mg/l. Ibuprofen, zastosowany jako jedyne źródło węgla i energii nie indukował wzrostu mikroorganizmów, stąd w eksperymencie zastosowano glukozę w stężeniu 1 g/l jako substrat wzrostowy. Do inokulacji układów użyto 24-godzinnej hodowli mikroorganizmów w pożywce mineralnej z glukozą. Biomasa bakteryjna została odwirowana oraz dwukrotnie przepłukana sterylną pożywką mineralną w celu oczyszczenia z resztek poprzedniego medium hodowlanego. Następnie zainokulowano układy do uzyskania gęstości optycznej 0,1 przy $\lambda = 600$ nm, co stanowiło 0,053 mg/l mokrej masy komórek. Pożywkę suplementowano jonami Cd^{2+} w postaci CdSO_4 w stężeniach 0,15; 0,32; 0,50; 1,0; 1,5 oraz 2,0 mM. Układy założone zostały w trzech powtórzeniach.

2.3. ANALIZY CHEMICZNE I MIKROBIOLOGICZNE

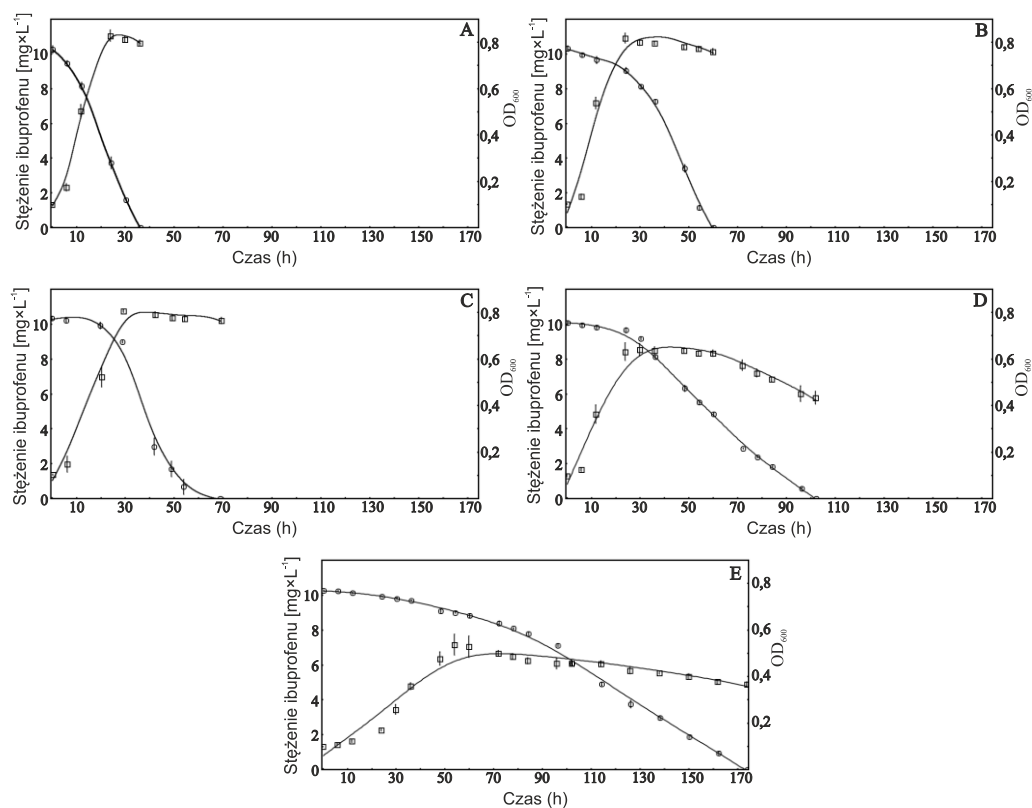
Kontrolę pH w pożywkach przeprowadzono z zastosowaniem pH-metru (Mettler Toledo EL20). Wzrost mikroorganizmów monitorowany był poprzez pomiar spektrofotometryczny gęstości optycznej hodowli przy długości fali 600nm. Stężenie glukozy oznaczono z wykorzystaniem metody antronowej [25], natomiast pomiary koncentracji ibuprofenu wykonywane były przy użyciu techniki wysokosprawnej chromatografii cieczowej w odwróconym układzie faz i detektorem DAD. Chromatograf zaopatrzony był w kolumnę Ascentis C18 (Sigma-Aldrich), o wymiarach 150mm x 4.6mm i średnicy ziarna równej 5 μm . Fazę ruchomą stanowiła mieszanina acetonitrylu (Sigma-Aldrich) i 1% kwasu octowego (Sigma-Aldrich) w stosunku objętościowym 50:50 i przepływie 1ml/min. Detekcji ibuprofenu dokonywano przy długości fali $\lambda = 230$ nm.

3. WYNIKI I WNIOSKI

3.1. PRZYROST BIOMASY

Układy, w których zastosowano stężenie kadmu wynoszące 1,5 oraz 2,0 mM zaobserwowano flokulację mikroorganizmów po inokulacji. Nie zaobserwowano wzrostu. Układy kontrolne oraz zawierające 0,15–1,0 mM kadmu wykazały zróżnicowany przyrost biomasy oraz szybkość degradacji leku (rys. 2). Średnia, maksymalna gęstość optyczna hodowli kontrolnych wyniosła $0,829 \pm 0,024$ w 24 godzinie (rys. 2A). Kadm w stężeniach 0,15 oraz 0,32 mM nie wpłynął na przyrost biomasy, w obu przypadkach najwyższa gęstość hodowli została osiągnięta po 24 godzinach i wynosiła odpowiednio $0,818 \pm 0,004$ i $0,806 \pm 0,006$ (ryc. 2B, C). Obecność wyższych stężeń kadmu natomiast znacząco wpłynęła na szybkość wzrostu biomasy bakteryjnej. 0,5 mM Cd^{2+} spowodowało zmniejszenie przyrostu biomasy o 23,15% względem kontroli, 1,0 mM natomiast

zahamował wzrost o 35,22% (rys. 2D, E). W stężeniu 1,0 mM zaobserwowano także wydłużenie fazy adaptacyjnej, intensywny wzrost nastąpił dopiero po około 24 godzinach hodowli. Castillo-Zacarias i in. [4] również odnotowali podobny efekt u bakterii *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* i *Pseudomonas aeruginosa*. Podczas fazy adaptacyjnej komórki bakteryjne wykazują wzmożony pobór jonów manganu. Jednocześnie jony kadmu mogą przedostawać się do komórki poprzez system transportu dla magnezu bądź manganu, wpływając negatywnie na kondycję komórki i wydłużając fazę adaptacyjną [12]. Zmniejszenie przyrostu biomasy bakterii pod wpływem jonów kadmu było obserwowane także przez innych autorów [7, 33].



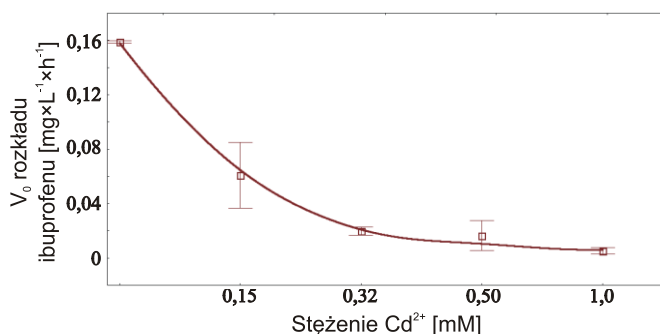
Rys. 2. Rozkład ibuprofenu i przyrost biomasy w układach kometabolicznych z glukozą jako źródłem węgla. (● – stężenie ibuprofenu, □ – gęstość optyczna)

A. Układ kontrolny, B. Cd^{2+} 0,15 mM, C. Cd^{2+} 0,32 mM,

D. Cd^{2+} 0,50 mM, E. Cd^{2+} 1,0 mM

3.2. SZYBKOŚĆ DEGRADACJI IBUPROFENU

W układach odniesienia, niezawierających kadmu, 10 mg/l ibuprofenu zostało zdegradowane w czasie 36 godzin. Początkowa szybkość rozkładu leku była największa i wynosiła $0,159 \pm 0,001$ mg/l·h. Wraz z wzrastającym stężeniem jonów Cd^{2+} szybkość początkowa degradacji oraz całkowity czas metabolizowania leku wydłużał się. Kolejno dla zastosowanych stężeń kadmu: 0,15; 0,32; 0,5 i 1,0 mM szybkość początkowa wynosiła $0,061 \pm 0,024$; $0,020 \pm 0,003$; $0,016 \pm 0,011$ oraz $0,005 \pm 0,002$ mg/l·h (rys. 3). Czas całkowitej degradacji w układach zawierających 0,15 i 0,32 mM kadmu nie różnił się znacząco i wynosił 60 oraz 69 godzin. Natomiast w hodowlach suplementowanych 0,5 i 1,0 mM kadmu znacząco wydłużył się czas całkowitej degradacji leku i wyniósł odpowiednio 102 oraz 174 godziny. Hoffman i in. zaobserwowali negatywny wpływ kadmu na rozkład naftalenu przez szczep *Comamonas testosteroni* [11]. Także Yeom i Yoo [37] przedstawili niekorzystny wpływ jonów metali ciężkich, w tym kadmu, na degradację benzenu i toluenu przez szczep *Alcaligenes xyloxydans* Y234. W trakcie prowadzenia eksperymentu jako intermediat pojawiała się hydroksylowana pochodna ibuprofenu- 2-hydroksyibuprofenu. Być może obserwowany spadek szybkości degradacji ibuprofenu w układach z kadmem wiązał się z jego inhibującym wpływem na monooksygenazę odpowiedzialną za hydroksylację pierścienia [22].



Rys. 3. Szybkość początkowa rozkładu ibuprofenu przez szczep *Bacillus* sp. B1 (2015b) w obecności wybranych stężeń Cd^{2+}

W układach zawierających 0,15; 0,32 mM Cd^{2+} zaobserwowano szybsze zanikanie 1-hydroksyibuprofenu w stosunku do układów kontrolnych, mimo niekorzystnego działania kadmu na szybkość degradacji samego ibuprofenu. Hupert-Kocurek i in. zidentyfikowali 2,3-dioksygenazę katecholową wyizolowaną ze szczepu *Variovorax* sp. 12S wykazującą większą aktywność w obecności jonów kadmu [12]. Zwiększenie aktywności enzymu z klasy dioksygenaz może być jedną z możliwych przyczyn szybszej transformacji powstających pochodnych ibuprofenu. Sytuacja ta nie była obserwowana w wyższych stężeniach jonów Cd^{2+} być może ze względu na występujący efekt toksyczny tego jonu.

4. PODSUMOWANIE

Podsumowując, obecność jonów kadmu znacząco wpływała na spadek szybkości degradacji ibuprofenu przez szczep *Bacillus* sp. B1(2015b), również w układach, w których nie odnotowano inhibicji wzrostu. Zauważalne zwiększenie czasu degradacji leku z jednoczesnym brakiem zamierania mikroorganizmów może być spowodowane oddziaływaniem jonów kadmu na system enzymatyczny zaangażowany w rozkład ibuprofenu. Ponadto szczep B1(2015b) odznacza się znaczną opornością na obecność kadmu. Daje to możliwość potencjalnego wykorzystania szczepu w tworzeniu szczepionek mikrobiologicznych dla oczyszczalni ścieków, również przydomowych, a także w środowiskach zanieczyszczonych metalami ciężkimi.

Praca została sfinansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki, przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2013/09/B/NZ9/00244.

LITERATURA

- [1] ALMEIDA B., KJELDAL H., LOLAS I., KNUDSEN A.D., CARVALHO G., NIELSEN K.L., BARRETO CRESPO M. T., STENSBALLE A., NIELSEN J. L., *Quantitative proteomic analysis of ibuprofen-degrading Patulibacter sp. strain III*, Biodegradation, 2013, Vol. 24, No. 5, 615–630.
- [2] BANJERDKIJ P., VATTANAVIBOON P., MONGKOLSUK S., *Exposure to cadmium elevates expression of genes in the OxyR and OhrR regulons and induces cross-resistance to peroxide killing treatment in Xanthomonas campestris*, Applied and Environmental Microbiology, 2005, Vol. 71, No. 4, 1843–1849.
- [3] BUSER H.R., POIGER T., MULLER M.D., *Occurrence and environmental behavior of the chiral pharmaceutical drug ibuprofen in surface waters and in wastewater*, Environmental Science and Technology, 1999, Vol. 33, No. 15, 2529–2535.
- [4] CASTILLO-ZACARIAS C.J., SUAREZ-HERRERA M.A., GARZA-GONZALEZ M.T., SANCHEZ-GONZALEZ M., LOPEZ-CHUKEN U.J., *Biosorption of metals by phenol-resistant bacteria isolated from contaminated industrial effluents*, African Journal of Microbiology Research 2011, Vol. 5, No. 18, 2627–2631.
- [5] CHEN Y., ROSAZZA J.P.N., *Microbial transformation of ibuprofen by a Nocardia species*, Applied and Environmental Microbiology, 1994, Vol. 60, No. 4, 1292–1296.
- [6] DEBSKA J., KOT-WASIK A., NAMIESNIK J., *Determination of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in water samples using liquid chromatography coupled with diode-array detector and mass spectrometry*, 2005, Journal of Separation Science, Vol. 28, No. 17, 2419–2426.
- [7] DOYLE J.J., MARSHALL R.T., PFANDER W.H., *Effects of cadmium on the growth and uptake of cadmium by microorganisms.*, Journal of Applied Microbiology, 1975, Vol. 29, No. 4, 562–564.
- [8] GUZIK U., HUPERT-KOCUREK K., MAZUR A., *Biotransformacja wybranych niesteroidowych leków przeciwzapalnych w środowisku*, Bromologia i Chemia Toksykologiczna, 2013, Vol. 46, No. 1, 105–112.
- [9] HALLING-SORENSEN B., NIELSEN S.N., LANZKY P.F., INGERSLEV F., HOLTEN LUTZHOFT H.C., *Occurrence, fate and effects of pharmaceuticals substance in the environment – A review*, Chemosphere, 1998, Vol. 36, No. 2, 357–393.

- [10] HEBERER T., *Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data*, Toxicology Letters, 2002, Vol. 131, 5–17.
- [11] HOFFMAN D.R., OKON J.L., SANDRIN T.R., *Medium composition affects the degree and pattern of cadmium inhibition of naphthalene biodegradation*, Chemosphere, 2005, Vol. 59, No. 7, 919–927.
- [12] HUPERT-KOCUREK K., SACZYŃSKA A., PIOTROWSKA-SEGET Z., *Cadmium increases catechol 2,3-dioxygenase activity in *Variovorax* sp. 12S, a metal-tolerant and phenol-degrading strain*, Antonie Van Leeuwenhoek, 2013, Vol. 104, No. 5, 845–853.
- [13] JIN Y.A., CLARK A.B., SLEBO R.J., AL-REFAI H., TAYLOR J.A., KUNKEL T.A., RESNIK M.A., GORDENIN D.A., *Cadmium is a mutagen that acts by inhibiting mismatch repair*, Nature Genetics, 2003, Vol. 34, No. 3, 239–241.
- [14] KAGLE J., PORTER A.W., MURDOCH R.W., RIVERA-CANCEL G., HAY A.G., *Biodegradation of Pharmaceutical and Personal Care Products*, Advances in Applied Microbiology, 2009, Vol. 67, No. 8, 65–108.
- [15] KOJIMA Y., ITADA N., HAYAISHI O., *Metapyrocatechase: a new catechol-cleaving enzyme*, The Journal of Biological Chemistry, 1961, Vol. 236, No. 8, 2223–2228.
- [16] MARCHLEWICZ A., GUZIK U., WOJCIESZYŃSKA D., *Over-the-Counter Monocyclic Non-Steroid Anti-Inflammatory Drugs in Environment—Sources, Risks, Biodegradation*, Water, Air, & Soil Pollution, 2015, Vol. 226, No. 10, 355.
- [17] MARCO-URREA E., PÉREZ-TRUJILLO M., VICENT T., CAMINAL G., *Ability of white-rot fungi to remove selected pharmaceuticals and identification of degradation products of ibuprofen by *Trametes versicolor**, Chemosphere, 2009, Vol. 74, No. 6, 765–772.
- [18] MURDOCH R. W., HAY A.G., *Formation of catechols via removal of acid side chains from ibuprofen and related aromatic acids*, Applied and Environmental Microbiology, 2005, Vol. 71, No. 10, 6121–6125.
- [19] NIES D.H., *Efflux-mediated heavy metal resistance in prokaryotes*, FEMS Microbiology Reviews, 2003, Vol. 27, No. 2–3, 313–339.
- [20] ÖLLERS S., SINGER H.P., FÄSSLER P., MÜLLER S.R., *Simultaneous quantification of neutral and acidic pharmaceuticals and pesticides at the low-ng/l level in surface and waste water*, Journal of Chromatography A, 2001, Vol. 911, No. 2, 225–234.
- [21] QUINTANA J., WEISS S., REEMTSMA T., *Pathways and metabolites of microbial degradation of selected acidic pharmaceutical and their occurrence in municipal wastewater treated by a membrane bioreactor*, Water Research, 2005, Vol. 39, No. 12, 2654–2664.
- [22] PLEWKA A., PLEWKA D., NOWACZYK G., BRZÓZKA M., KAMIŃSKI M., MONIUSZKO-JAKONIUK J., *Effects of chronic exposure to cadmium on renal cytochrome P450-dependent monooxygenase system in rats*, Archives of Toxicology, 2004, Vol. 79, 194–200.
- [23] ROBERTS P., THOMAS K., *The occurrence of selected pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters of the lower Tyne catchment*, Science of the Total Environment, 2006, Vol. 356, No. 1–3, 143–153.
- [24] RODARTE-MORALES A.I., FEJOO G., MOREIRA M.T., LEMA J.M., *Biotransformation of three pharmaceutical active compounds by the fungus *Phanerochaete chrysosporium* in a fed batch stirred reactor under air and oxygen supply*, Biodegradation, 2012, Vol. 23, No. 1, 145–156.
- [25] ROE J.R., *The determination of sugar in blood and spinal fluid with anthrone reagent*, The Journal of Biological Chemistry, 1955, Vol. 212, No. 1, 335–343.
- [26] RZEPA J., *Oznaczenie leków i pestycydów w wodach powierzchniowych*, [w:] Postępy Chromatografii, pod red. B. K. Głoda, Wydawnictwo UPH, Siedlce 2009, 67–77.
- [27] SOSNOWSKA K., STYSZKO-GROCHOWIAK K., GOŁAŚ J., *Leki w środowisku-źródła, przemiany, zagrożenia*, IV Krakowska Konferencja Młodych Uczonych, 2009, 395–404.
- [28] STRASDEIT H., *The First Cadmium-Specific Enzyme*, Angewandte Chemie International Edition in English, 2001, Vol. 40 No. 4, 707–709.

- [29] TERNES T.A., *Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and Rivers*, Water Research, 1998, Vol. 32, No. 11, 3245–3260.
- [30] TIXIER C., SINGER H.P., OELLERS S., MÜLLER S.R., *Occurrence and fate of carbamazepan, clofibric acid, diclofenac, ibuprofen, ketoprofen and naproxen in surface water*, Environmental Science & Technology, 2003, Vol. 37, No. 6, 1061–1068.
- [31] TOGOLA A., BUDZINSKI H., *Multi-residue analysis of pharmaceutical compounds in aqueous samples*, Journal of Chromatography A, 2008, Vol. 1177, No. 1, 150–158.
- [32] VIENO N.M., TUHKANEN T., KRONBERG L., *Seasonal variation in the occurrence of pharmaceuticals in effluents from a sewage treatment plant and in the recipient water*, Environmental Science & Technology, 2005, Vol. 39, No. 21, 8220–8226.
- [33] VIG K., *Bioavailability and toxicity of cadmium to microorganisms and their activities in soil: a review*, Advances in Environmental Research, 2003, Vol. 8, No. 1, 121–135.
- [34] WEIGEL S., KUHLMANN J., HÜHNERFUSS H., *Drugs and personal care products as ubiquitous pollutants: occurrence and distribution of clofibric acid, caffeine and DEET in the North Sea*, The Science of the Total Environment, 2002, Vol. 295, No. 1–3, 131–141.
- [35] WINKLER M., LAWRENCE J. R., NEU T.R., *Selective degradation of ibuprofen and clofibric acid in two model river biofilm systems*, Water Research, 2001, Vol. 35, No. 13, 3197–3205.
- [36] WINKLER M., LAWRENCE J.R., NEU T.R., *Selective degradation of ibuprofen and clofibric acid in two model river biofilm systems*, Water Research, 2001, Vol. 35, No. 13, 3197–3205.
- [37] YEOM S.H., YOO Y.J., *Overcoming the inhibition effects of metal ions in the degradation of benzene and toluene by *Alcaligenes xylosoxidans* Y234*, Korean Journal of Chemical Engineering, 1997, Vol. 14, No. 3, 204–208.
- [38] ZWIENER C., SEEGER S., GLAUNER T., FRIMMEL F., *Metabolites from the biodegradation of pharmaceutical residues of ibuprofen in biofilm reactors and batch experiments*, Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2002, Vol. 372, No. 4, 569–575.

INFLUENCE OF DIVALENT CADMIUM IONS ON THE IBUPROFEN DEGRADATION DYNAMICS BY STRAIN *BACILLUS* SP. B1 (2015B)

Progress in the field of medicine and health protection occurs that many light ailments could be cured with use of over-the-counter drugs. Pain, fever or inflammation can be controlled by non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). These drugs are relatively safe, easily available and low priced. Consumption of NSAIDs, such as ibuprofen, is tens or even hundreds of tons per annum. Simultaneously the drug is not metabolized, it is eliminated from the body as an almost unchanged form which makes it regularly detected as environmental pollution. Although, ibuprofen is detected in small amounts in the range of $\mu\text{g/l}$ – mg/l , as a medicine it is modifying the physiological processes. That makes it an extremely dangerous contamination. Unfortunately, little is known about the metabolism of ibuprofen in the environment. So far we have described only a few microorganisms capable of biodegradation or biotransformation of ibuprofen. The most of them are ligninolytic species of fungi. Isolated by researchers from the Department of Biochemistry, strain *Bacillus* sp. B1 (2015b) characterized by the very well ability to degrade ibuprofen. One of the problems of bioremediation is the presence of other contaminants, particularly heavy metals which are not biodegradable. Presented part of the study shows the effect of the presence of cadmium ions on the dynamics of degradation of ibuprofen.