

Ewa ADAMEK<sup>1\*</sup>, Wojciech BARAN<sup>1</sup> i Roman ADAMCZYK<sup>1</sup>

## ABIOTYCZNA HYDROLIZA WYBRANYCH ANTYBIOTYKÓW STOSOWANYCH W WETERYNARII, TOKSYCZNOŚĆ PRZEWLEKŁA PRODUKTÓW

### AN ABIOTIC HYDROLYSIS OF THE SELECTED ANTIBIOTICS USED IN VETERINARY, A CHRONIC TOXICITY OF THE PRODUCTS

**Abstrakt:** Substancje chemiczne w hydrosferze ulegają transformacji na skutek udziału w wielu równoległych procesach chemicznych i biologicznych. Produkty takich procesów oraz ich oddziaływanie na środowisko mogą być różne. Jednym z takich procesów jest hydroliza abiotyczna. Celem badań było wyznaczenie kinetyki hydrolizy trzech wybranych, stosowanych w weterynarii antybiotyków (ampicyliny, doksycykliny i tylozyny), oraz ocena toksyczności chronicznej roztworów zawierających produkty hydrolizy tych antybiotyków. Reakcje hydrolizy prowadzono w warunkach aseptycznych w temperaturze 30 °C przez okres 144 dni przy naturalnym pH. W tym czasie oceniano zmiany stężeń badanych leków, zmiany stężeń węgla organicznego oraz zmiany sumarycznej toksyczności przewlekłej ich roztworów. W badanym przedziale czasowym wartości stałej szybkości hydrolizy dla ampicyliny, doksycykliny i tylozyny wynosiły, odpowiednio, 0,068; 0,0075 i 0,003 dni<sup>-1</sup>. W trakcie eksperymentu nie zaobserwowano obniżenia stężenia węgla organicznego w badanych próbkach, natomiast ulegała obniżeniu ich sumaryczna toksyczność przewlekła.

**Słowa kluczowe:** antybiotyki, hydroliza antybiotyków, kinetyka reakcji hydrolizy, toksyczność przewlekła

### Wprowadzenie

W ciągu ostatnich lat na całym świecie leki przeciwbakteryjne oraz ich metabolity uznano za nową klasę zanieczyszczeń wód [1-4]. Taka sytuacja wydawała się nieunikniona, biorąc pod uwagę tempo rozwoju cywilizacyjnego i szybkość wzrostu liczby ludności na Ziemi. Świadomość zagrożeń wynikających z nadmiernego stosowania antybiotyków wydaje się być dużo wyższa niż kilkanaście lat temu. Jednakże niewiele osób zdaje sobie sprawę z tego, jakie ilości antybiotyków są stosowane w celu zabezpieczenia hodowli zwierząt przed groźnymi chorobami.

Szacuje się, że obecnie na świecie każdego roku ok. 70 % wyprodukowanych leków przeciwbakteryjnych, czyli ok. 70-140 Gg, jest wykorzystywanych w hodowli zwierząt [4, 5]. Antybiotyki dodawane do pasz powodują - poza zwalczaniem chorób - zwiększenie przyrostu masy ciała oraz przyspieszenie wzrostu zwierząt. Zyskały przez to dużą popularność jako antybiotykowe stymulatory wzrostu (ASW).

W Polsce w latach 2014-2016 do najczęściej stosowanych przez lekarzy weterynarii leków przeciwbakteryjnych w leczeniu bydła, trzody chlewnej i koni należały tetracykliny (42-49 %), penicyliny (19-24 %) oraz makrolidy (12-13 %) [6]. Leki z tych grup sprzedawano głównie (70-85 %) w formie premiksów paszowych i doustnych preparatów stałych (w postaci proszków dodawanych do pasz) [5]. Podobny profil zużycia opisano również w innych krajach Europy [4].

<sup>1</sup> Zakład Chemii Ogólnej i Nieorganicznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Jagiellońska 4, 41-200 Sosnowiec, tel. 32 364 15 62

\* Autor do korespondencji: eadamek@sum.edu.pl

Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole' 17, Polanica-Zdrój, 4-7.10.2017

Okolo 75% wszystkich leków przeciwbakteryjnych podawanych zwierzętom opuszcza ich organizm w niezmienionej formie, trafiając - wraz z odchodami - do gleby i wody [3]. Jednak w praktyce, w przypadku stosowania antybiotyków w hodowli i weterynarii, niezwykle trudno jest kontrolować ilości, które przedostają się do środowiska naturalnego [2, 3]. Niemniej prowadzone wyrywkowo badania dotyczące zawartości antybiotyków w odchodach zwierząt wskazują, że ilości te mogą być bardzo duże. Wang i in. [7] w swojej pracy opisali przypadek, w którym w gnojowicy pochodzącej z przemysłowej tuczarni wykryto oksytetracyklinę w ilości  $> 173$  mg/kg suchej masy. Dla porównania, wrażliwość wielu mikroorganizmów na ten lek występuje już przy stężeniu  $\ll 1$  mg/dm<sup>3</sup> [8]. Kolejnym źródłem zanieczyszczeń środowiska antybiotykami są szpitale, jednak w tym przypadku możliwa jest kontrola i ocenianie zagrożeń.

Konsekwencje wprowadzania antropogenicznych antybiotyków do środowiska najlepiej ilustruje historia zmian występowania lekooporności u mikroorganizmów chorobotwórczych. W Danii w latach 2001-2016 ilość nowych metycylinoopornych przypadków zakażeń *Staphylococcus aureus* wzrosła ponad 43-krotnie [4]. Z kolei Rehman i in. [9] stwierdzili, że różnorodność genów lekooporności w glebie nawożonej gnojowicą wzrosła niemal 6-krotnie. Dzięki zjawisku horizontalnego transferu genów łatwo mogą one zostać przeniesione na mikroorganizmy chorobotwórcze.

Pod koniec ubiegłego wieku zaczęto działania zmniejszające stosowanie leków przeciwbakteryjnych w hodowli zwierząt. W 1996 roku w Danii wprowadzono zakaz stosowania antybiotyków jako promotorów wzrostu. W konsekwencji ich rejestrowane zużycie spadło o niemal połowę. Niestety, powolny, ale systematyczny wzrost ilości tych leków stosowanych zarówno w hodowli i weterynarii, jak i w lecznictwie ludzi zniwelował pozytywne skutki tego zakazu [4]. Od 1 stycznia 2006 roku na terytorium UE obowiązuje całkowity zakaz stosowania ASW w środkach żywienia zwierząt. Jednak, jak wskazują doświadczenia Danii, ograniczenie konsumpcji leków może być krótkotrwałe.

Negatywne skutki wywoływane przez antybiotyki wprowadzane do środowiska zależą przede wszystkim od ich stężenia oraz od czasu, w jakim leki te oddziałują na biocenozę. Czas ten z kolei jest zależny od podatności poszczególnych leków na przemiany w środowisku generowane przez czynniki biotyczne i abiotyczne. Ponieważ większość ww. procesów zachodzi w środowisku wodnym, zrozumiałe jest, że kluczowe znaczenie w przemianach antybiotyków będą miały procesy hydrolizy. W literaturze dostępna jest duża liczba prac na temat procesów hydrolizy tych leków [10-16]. Jednak opisywane procesy mogą być katalizowane enzymatycznie, a więc zachodzić w warunkach biotycznych [15, 16]. Wysokie stężenia antybiotyków powodują wyjałowienie mikrobiosfery. Zatem równie istotna staje się ocena ich podatności na hydrolizę abiotyczną. Kolejnym ważnym problemem jest potencjalna ekotosyczość produktów tego procesu. Istnieje zagrożenie, że związki chemiczne powstające w wyniku transformacji antybiotyków w środowisku wodnym mogą charakteryzować się znacznie większą toksycznością. To z kolei wskazywałoby na konieczność ich wycofania z użycia w przypadkach, gdy znaczące ilości tych leków trafiają do środowiska wodnego.

Celem badań było wyznaczenie kinetyki abiotycznej hydrolizy trzech wybranych, stosowanych w weterynarii antybiotyków (ampicyliny, doksykliny i tylozyny), wyznaczenie mikrobiologicznego stężenia toksycznego (Microbial Toxic Concentration, MTC) tych antybiotyków względem wytypowanych do badań mikroorganizmów oraz

ocena toksyczności chronicznej roztworów zawierających produkty hydrolizy tych antybiotyków.

### Materiały i metody

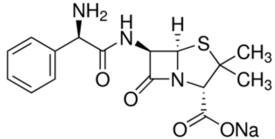
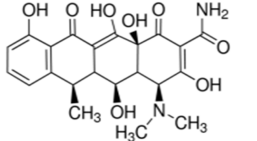
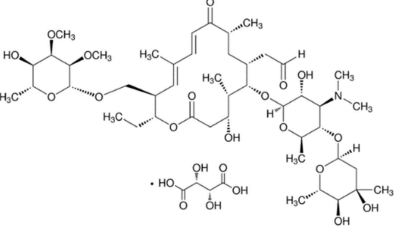
Do badań wybrano leki reprezentujące trzy główne grupy antybiotyków często stosowanych w weterynarii [4-6]. W tabeli 1 przedstawiono krótką charakterystykę wybranych związków.

Antybiotyki wybrane do badań

Tabela 1

Table 1

The antibiotics used in the experiment

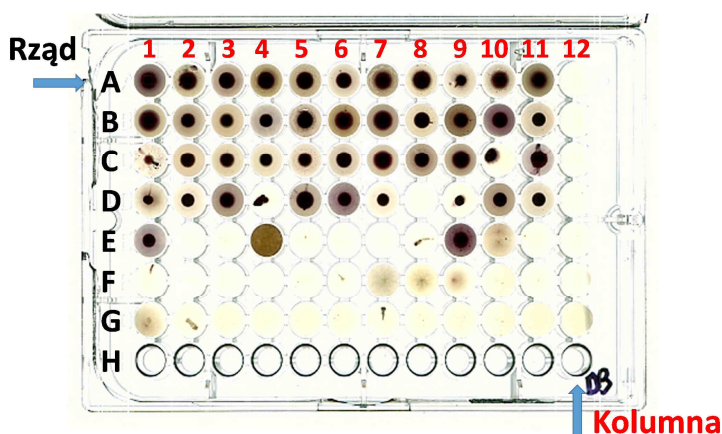
Nazwa (grupa)	Wzór chemiczny	Producent (czystość)	MTC [mg/dm <sup>3</sup> ] <sup>a</sup>		Stężenie początkowe (C <sub>0</sub> ) [mg/dm <sup>3</sup> ]
			Brynica	Efluent	
Ampicylina (penicyliny)		Sigma-Aldrich (91,0-100,5 %)	9,9	7,3	100
Doksycyklina (tetracykliny)	 <ul style="list-style-type: none"> <li>• HCl</li> <li>• 1/2 H<sub>2</sub>O</li> <li>• 1/2 CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH</li> </ul>	Sigma-Aldrich (> 98 %)	0,38	0,084	50
Tylozyna (makrolidy)		Sigma-Aldrich (aktywność: ≥ 800 jednostek /mg tylozyny)	54	50	200

<sup>a</sup> MTC wyznaczano wg procedury opisanej przez Wadhia i in. [18]

Bezpośrednio przed rozpoczęciem eksperymentu z badanych leków przygotowywano roztwory w wodzie redestylowanej, które następnie sterylizowano metodą sączenia przez jałowy filtr (Minisart NML Plus 0,2 μm, Sartorius) bezpośrednio do jałowego, hermetycznego naczynia wykonanego z polipropylenu. Hydrolizę prowadzono bez dostępu światła w inkubatorze (Marconi, PBI Brand), w temperaturze 30,0 ± 0,2 °C przez 144 dni. pH roztworów nie było korygowane. Próbkę do analizy pobierano w założonych odstępach czasu z zachowaniem sterylności badanych roztworów. Stopień hydrolizy (transformacji) leków oceniano na podstawie zmian ich stężenia wyznaczanego metodą HPLC (zastaw HPLC YOUNG LIN YL-9100 z detektorem UV-VIS) z wykorzystaniem kolumn SUPELCOSIL™ LC-18 i Hypersil C-18. Jako fazę ruchomą stosowano układ CH<sub>3</sub>CN

z 0,1 % HCOOH i H<sub>2</sub>O z 0,1 % HCOOH w gradiencie. Szczegóły zastosowanej procedury opisano w pracy Barana i in. [17]. Jako miarę mineralizacji przyjęto zmianę stężenia ogólnego węgla organicznego (OWO) oznaczaną w badanych roztworach za pomocą testów kuwetowych LCK380 (HACH LANGE). Wyniki odczytywano na spektrofotometrze DR 3900 (HACH LANGE).

Aby prawidłowo ocenić wpływ badanych antybiotyków i produktów ich rozkładu na mikroorganizmy testowe, należy wykorzystywać w eksperymentach roztwory leków o tak wysokim stężeniu, aby możliwa była obserwacja odpowiedzi tych mikroorganizmów w racjonalnym przedziale czasu. Z tego powodu konieczne było wyznaczenie wrażliwości mikroorganizmów wchodzących w skład inokulum na badane antybiotyki. Wykorzystano w tym celu procedurę stosowaną przy ocenie chronicznej ekotoksyczności opisaną przez Wadhia i in. [18]. Do świeżo przygotowanych roztworów ampicyliny, doksycykliny i tylozyny o stężeniach, odpowiednio, 100, 50 i 200 mg/dm<sup>3</sup> dodawano pożywkę zawierającą stały pepton sojowy (2 %) i 1 % roztwór chlorku tetrazoliowego (do stężenia 0,02 %, cz.d.a. POCH). Następnie sterylizowano je metodą sączenia przez filtr membranowy 0,20 µm. Do rzędu G na 96-dołkowej płytce titracyjnej (rys. 1) aplikowano po 0,200 cm<sup>3</sup> tak przygotowanych roztworów.



Rys. 1. Przykładowa płytka titracyjna szczepiona wodą z Brynicy uzyskana po inkubacji pożywki z doksycykliną  
Fig. 1. An exemplary titration plate inoculated of Brynica water obtained after incubation of medium with doxycycline

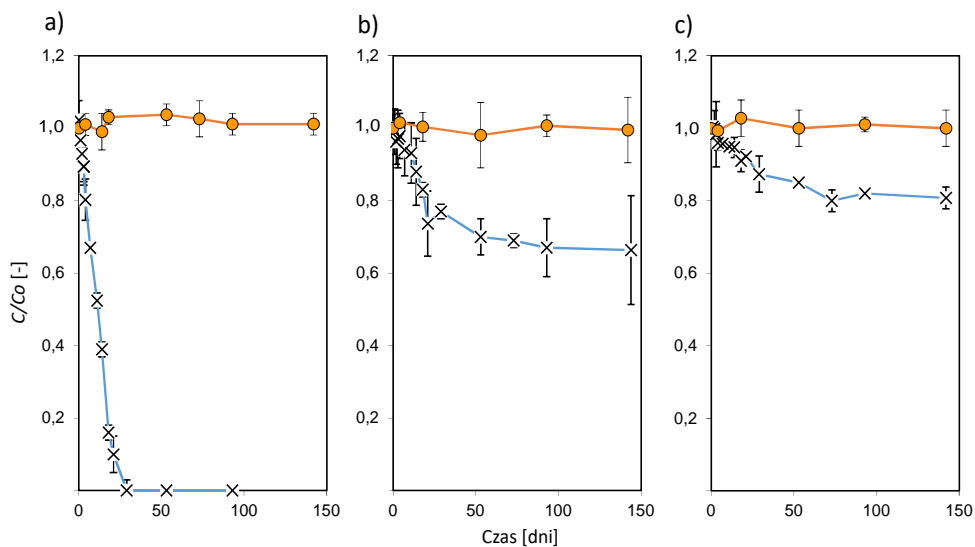
Do pozostałych rzędów (A-F) dodawano po 0,150 cm<sup>3</sup> sterylnej pożywki pozbawionej antybiotyku. Następnie przenoszono po 50 mm<sup>3</sup> roztworów z rzędu G do dołków w rzędzie F. Po wymieszaniu zawartości dołków z rzędu F przenoszono po 0,050 cm<sup>3</sup> do rzędu E. Takie postępowanie prowadzono dalej aż do rzędu B. Uzyskano gradient stężeń antybiotyku o kroku wynoszącym 4. Przygotowane płytki (kolumny 1-11) szczepiono za pomocą 0,015 cm<sup>3</sup> inokulum i umieszczano w inkubatorze. Ostatni rząd na płytce (A) stanowił kontrolę wzrostu mikroorganizmów. Zawierał on wyłącznie pożywkę i był traktowany identycznie jak roztwory antybiotyków, lecz nie zawierał tych leków. Kolumna 12 pozostała niezaszczepiona - stanowiła kontrolę sterylności próbki. W teście jako

inokulum stosowano wodę pobraną z silnie zanieczyszczonej rzeki (Brynicy) oraz efluent z oczyszczalni ścieków (Sosnowiec - Zagórze) [19]. Wyniki testu odczytywano po 48-godzinnej inkubacji w temperaturze  $30,0 \pm 0,2$  °C.

W celu oceny ekotoksyczności próbek po hydrolizie antybiotyków pobierano po  $5 \text{ cm}^3$  roztworu, następnie dodawano do niego po  $0,1 \text{ g}$  stałego peptonu sojowego i po  $0,100 \text{ cm}^3$  roztworu chlorku tetrazoliowego (1 %). Tak przygotowane próbki po wyjąłowaniu za pomocą mikrofiltracji nanoszono na płytki titracyjne w poziomych rzędach (B-G, po  $0,150 \text{ cm}^3$  każdej próbki do 12 dołków). Dołki w 11 pionowych kolumnach na płytce po nałożeniu wszystkich próbek szczepiono inokulum z wody rzecznej lub z efluentu. Skany płytek testowych w obu przypadkach analizowano, wykorzystując oprogramowanie do analizy testów płytkowych firmy NCIMB Ltd, Szkocja. Efektem aktywności mikroorganizmów była purpurowa (zredukowana) forma chlorku tetrazoliowego (rys. 1).

### Wyniki badań i ich dyskusja

W trakcie badań wstępnych wyznaczono wartości *MTC* badanych leków względem mikroorganizmów stosowanych jako inokulum (tab. 1). Jak już wspomniano, aby możliwa była obserwacja zmian toksyczności roztworów w trakcie hydrolizy, wyjściowe stężenia substratów muszą być znacznie wyższe niż odpowiadające im wartości *MTC*. Warunek ten został w każdym przypadku spełniony.



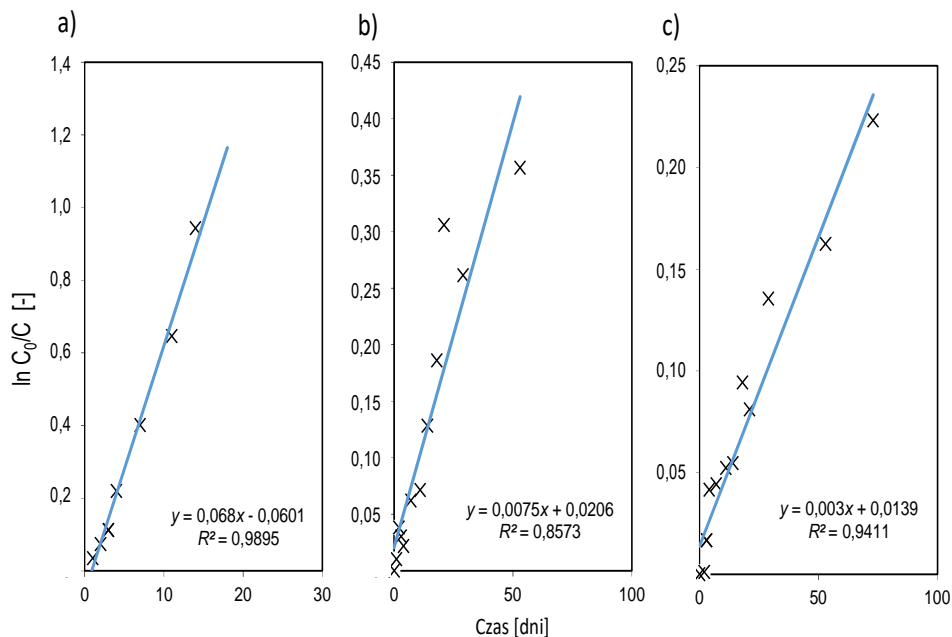
Rys. 2. Zmiany stężenia leku i OWO podczas hydrolizy: a) ampicyliny, b) doksyicykliny, c) tylozyny

Fig. 2. Changes in drug concentration and Total Organic Carbon (TOC) during hydrolysis of: a) ampicillin, b) doxycycline and c) tylosin

Dynamikę zmian stężeń badanych leków oraz OWO poddanych hydrolizie w warunkach abiotycznych w temperaturze  $30,0 \pm 0,2$  °C przez 146 dni ilustruje rysunek 2. W tych warunkach jedynie całkowita ilość ampicyliny ulegała reakcji (rys. 2a). Również

inni autorzy wskazywali na brak trwałości wodnych roztworów tego antybiotyku [10, 13, 14, 20]. W tych warunkach obserwowano także obniżenie stężenia doksycykliny i tylozyny, odpowiednio o 20 i 34 %. Jednak przebieg tych zmian miał charakter asymptotyczny. Oznacza to, że w roztworach wodnych tych dwóch leków ustala się stan równowagi. Zgodnie z oczekiwaniami, w żadnym z badanych przypadków nie obserwowano obniżenia stężenia OWO. Dowodzi to, że hydroliza nie powoduje mineralizacji badanych leków. Niewielki stopień zaawansowania procesów hydrolizy doksycykliny i tylozyny jest pewnym zaskoczeniem. Jak wskazują dane literaturowe, antybiotyki te mogą ulegać reakcji z wodą [11, 14, 15, 21]. Jednak w każdym z opisywanych przypadków są to procesy katalizowane przez enzymy lub substancje nieorganiczne. Efekt katalityczny mogą wywierać występujące w odpowiednim stężeniu jony  $H^+$  lub  $OH^-$ , śladowe ilości jonów metali, a nawet składniki roztworów buforowych [11].

Na rysunku 3 przedstawiono zależność  $\ln C_0/C$  badanych antybiotyków od czasu reakcji dla warunków nierównowagowych.



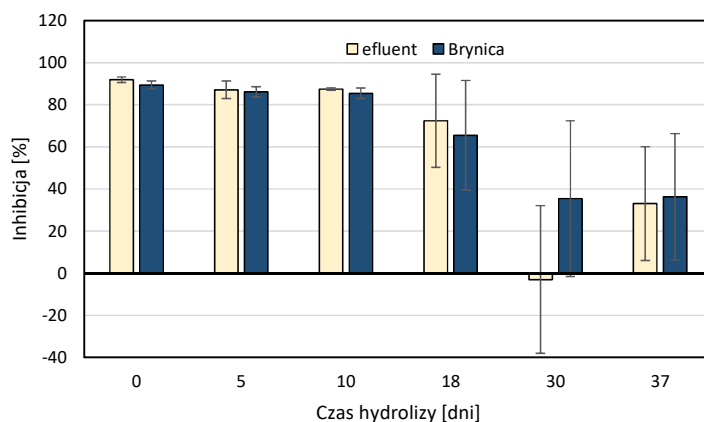
Rys. 3. Kinetyka hydrolizy: a) ampicyliny, b) doksycykliny, c) tylozyny

Fig. 3. Kinetics of hydrolysis: of a) ampicillin, b) doxycycline and c) tylosin

W każdym przypadku tę zależność można opisać linią prostą o wysokim współczynniku dopasowania ( $R^2$ ). Oznacza to, że w tych warunkach hydroliza badanych leków przebiega zgodnie z kinetyką pseudopierwszego rzędu (drugi z substratów - woda - jest w oczywistym nadmiarze). Wyznaczone z nachylenia krzywych (rys. 3) wartości

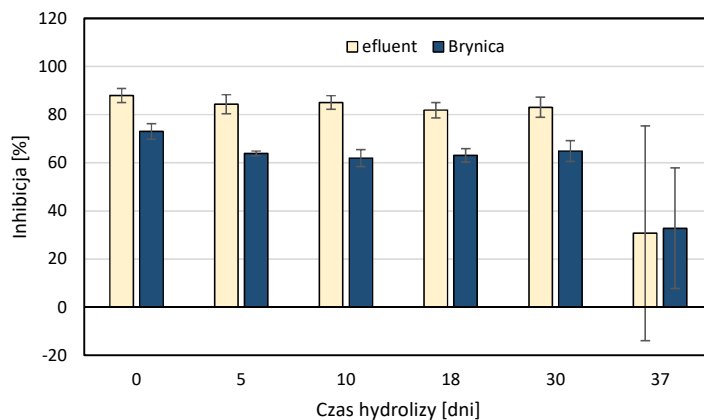
stałych szybkości hydrolizy ampicyliny, doksycykliny i tylozyny wynoszą odpowiednio 0,068; 0,0075 i 0,003  $\text{dni}^{-1}$ .

Na rysunkach 4-6 przedstawiono zmiany inhibicji powodowane przez roztwory antybiotyków podczas trwającej 37 dni hydrolizy w próbkach szczepionych wodą z rzeki Brynicy i efluentem.



Rys. 4. Zmiany inhibicji w roztworze ampicyliny podczas trwającej 37 dni hydrolizy

Fig. 4. Changes of inhibition in ampicillin solution during 37 days' hydrolysis

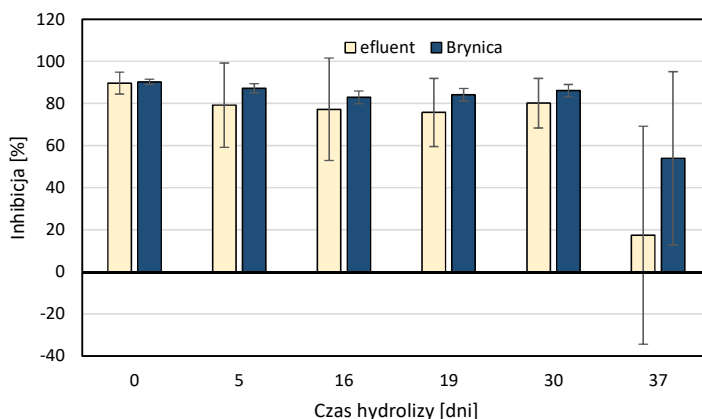


Rys. 5. Zmiany inhibicji w roztworze doksycykliny podczas trwającej 37 dni hydrolizy

Fig. 5. Changes of inhibition in doxycycline solution during 37 days' hydrolysis

Ponieważ ampicylina najszybciej ulegała hydrolizie, inhibicja powodowana przez jej roztwory ulegała najszybszemu obniżeniu (rys. 4). Niemniej jednak z wyjątkiem próbki szczepionej efluentem, uzyskanej po 30 dniach hydrolizy, nie zanikała ona całkowicie. Po tym czasie stężenie leku było dużo niższe niż odpowiadająca mu wartość *MTC*. Oznacza to, że w trakcie reakcji powstają produkty o niższej sumarycznej toksyczności względem

mikroorganizmów inokulum, ale nadal mają one niebezpieczną dla ekosystemów wodnych aktywność przeciwdrobnoustrojową. Aktywność przeciwbakteryjną ampicyliny determinuje obecność pierścienia tiozolidynowego sprzężonego z pierścieniem beta-laktamowym. Zatem obniżenie aktywności może być skutkiem zmian w budowie tego sprzężonego układu u części produktów hydrolizy. Mechanizm reakcji, który dopuszcza taką możliwość, opisali w swojej pracy Mitchell i in. [10].



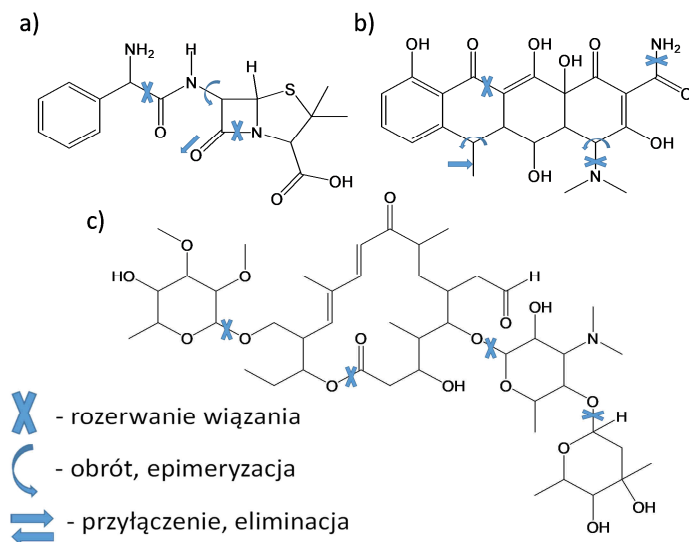
Rys. 6. Zmiany inhibicji w roztworze tylozyny podczas trwającej 37 dni hydrolizy

Fig. 6. Changes of inhibition in tylosin solution during 37 days' hydrolysis

Obniżenie sumarycznej inhibicji zaobserwowano również po 37 dniach w roztworach doksyicyliny i tylozyny (rys. 5 i 6), pomimo że w obu przypadkach wysokość stężenia leku pozostałego w badanych próbkach powinna być toksyczna dla mikroorganizmów pochodzących zarówno z rzeki, jak i z efluentu. Obserwowany efekt może być spowodowany postępującą hydrolizą biotyczną tych antybiotyków, zachodzącą podczas 48-godzinnej inkubacji płytek testowych. Jednak bardziej prawdopodobne jest, że w wodnych roztworach doksyicyliny i tylozyny powstają pochodne o obniżonej aktywności przeciwdrobnoustrojowej zarazem niestabilne lub nieulegające separacji w kwaśnym środowisku fazy ruchomej HPLC. Mogą to być np. hydratowane cząsteczki antybiotyków lub produkty ich epimeryzacji [14, 20]. Potencjalne miejsca w budowie badanych antybiotyków, w których dochodzi do zmian pod wpływem wody, przedstawiono na rysunku 7.

W przypadku tylozyny jej katalizowana hydroliza prowadzi głównie do eliminacji grup cukrowych [11, 22]. Powstałe produkty są aktywne przeciwbakteryjnie, chociaż w mniejszym stopniu. Z kolei hydroliza doksyicyliny prowadzi głównie do powstania jej epimerów [14, 20]. Niezależnie od przedstawionych interpretacji, oba powyższe antybiotyki ulegają hydrolizie w ograniczonym stopniu, a ich roztwory zachowują aktywność przeciwdrobnoustrojową przez długi czas. Również fakt obserwowanego obniżenia aktywności w roztworach tylozyny i doksyicyliny, z uwagi na równowagowy charakter procesu, nie jest prawdopodobnie trwały. Zatem nie można go uznać za prowadzący do obniżenia zagrożenia środowiskowego ze strony tych antybiotyków.





Rys. 7. Powodowane hydrolizą zmiany w budowie cząsteczek: a) ampicyliny, b) doksycykliny, c) tylozyny  
 Fig. 7. Kinetics of hydrolysis of: a) ampicillin, b) doxycycline and c) tylosin

## Wnioski

W badanym przedziale czasowym pełnej hydrolizie ulegała jedynie ampicylina. Proces ten zachodził zgodnie z kinetyką pseudopierwszego rzędu. Jej roztwory po hydrolizie zachowują obniżoną aktywność przeciwdrobnoustrojową. Może to wskazywać, że część produktów hydrolizy tego antybiotyku jest nadal aktywna.

Doksycyklina i tylozyna ulegały znacznie wolniejszej, wyłącznie częściowej hydrolizie. W ich wodnych roztworach ustalała się równowaga, a zarazem ich aktywność przeciwdrobnoustrojowa uległa obniżeniu. Była ona niższa niż wynikałoby to z równowagowego stężenia tych leków i prawdopodobnie nie jest efektem trwałym. W stanie nierównowagowym hydroliza tych leków przebiegała zgodnie z kinetyką pseudopierwszego rzędu.

W trakcie eksperymentu nie zaobserwowano obniżenia stężenia węgla organicznego w żadnej z badanych próbek.

## Literatura

- [1] Yang Y, Song W, Lin H, Wang W, Du L, Xing W. Environ Int. 2018;116:60-73. DOI:10.1016/j.envint.2018.04.011.
- [2] Frédéric O, Yves P. Chemosphere. 2014;115:31-39. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2014.01.016.
- [3] Bártíková H, Podlipná R, Skálová L. Chemosphere. 2016;144:2290-2301. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2015.10.137.
- [4] The Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme (DANMAP) 2017. [https://www.danmap.org/-/media/arkiv/projekt-sites/danmap/danmap-reports/danmap\\_2017\\_rapport\\_230519\\_low.pdf?la=en](https://www.danmap.org/-/media/arkiv/projekt-sites/danmap/danmap-reports/danmap_2017_rapport_230519_low.pdf?la=en).
- [5] Osek J, Wieczorek K. Życie Wet. 2016;91:119-121. <http://yadda.icm.edu.pl/yadda/element/bwmeta1.element.agro-ae1368fc-1f8c-485b-813d-f49a11057fbd/c/ZW-12-2016-06919.pdf>.

- [6] Krasucka D, Biernacki B, Szumiło J, Burmańczuk A. *Życie Wet.* 2017;92:578-581. <http://agro.icm.edu.pl/agro/element/bwmeta1.element.agro-7dc7f065-6d00-45bc-832a-e27bbd3258c1/c/ZW-08-2017-09Monitoring.pdf>.
- [7] Wang H, Chu Y, Fang C. *Bull Environ Contam Toxicol.* 2017;98:472-477. DOI: 10.1007/s00128-017-2052-3.
- [8] The Antimicrobial Index, KnowledgeBase. <http://antibiotics.toku-e.com/antimicrobial>.
- [9] Rehman MA, Yin X, Leep D, Laing C, Ziebell K, Talbot G, et al. *Vet Sci.* 2017;4:1-24. DOI:10.3390/vetsci4040057.
- [10] Mitchell SM, Ullman JL, Teel AL, Watts RJ. *Sci Total Environ.* 2014;466-467:547-555. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2013.06.027.
- [11] Mitchell SM, Ullman JL, Teel AL, Watts RJ. *Chemosphere.* 2015;134:504-511. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2014.08.050.
- [12] Yi Q, Gao Y, Zhang H, Zhang H, Zhang Y, Yang M. *Chem Eng J.* 2016;300:139-145. DOI: 10.1016/j.cej.2016.04.120.
- [13] Hirte K, Seiwert B, Schüürmann G, Reemtsma T. *Water Res.* 2016;88:880-888. DOI: 10.1016/j.watres.2015.11.028.
- [14] Zilker M, Sörgel F, Holzgrabe U. *J Pharm Biomed Anal.* 2019;166:222-235. DOI: 10.1016/j.jpba.2019.01.016.
- [15] Yi Q, Zhang Y, Gao Y, Tian Z, Yang M. *Water Res.* 2017;110:211-217. DOI: 10.1016/j.watres.2016.12.020.
- [16] Meliá C, Ferrer S, Moliner V, Bertran J. *Arch Biochem Biophys.* 2015;582:116-26. DOI: 10.1016/j.abb.2015.01.013.
- [17] Baran W, Adamek E, Szołtysek-Bołdys I, Sobczak A. *Proc ECOpole.* 2015;9:163-170. DOI: 10.2429/proc.2015.9(1)021.
- [18] Wadhia K, Dando T, Thompson KC. *J Environ Monit.* 2007;9:953-958. DOI: 10.1039/b704059h.
- [19] Baran W, Adamek E, Sobczak A. *Proc ECOpole.* 2015;9:533-540. DOI: 10.2429/proc.2015.9(2)062.
- [20] Kumar M, Jaiswal S, Sodhi KK, Shree P, Singh DK, Agrawal PK, et al. *Environ Int.* 2019;124:448-461. DOI: 10.1016/j.envint.2018.12.065.
- [21] Cai M, Ma S, Hu R, Tomberlin JK, Yu C, Huang Y, et al. *Environ Pollut.* 2018;242(Pt A):634-642. DOI: 10.1016/j.envpol.2018.06.105.
- [22] Baran W, Adamek E, Szymkiewicz A, Wilk J. *Proc ECOpole.* 2017;11:123-129. DOI: 10.2429/proc.2017.11(1)013.

## AN ABIOTIC HYDROLYSIS OF THE SELECTED ANTIBIOTICS USED IN VETERINARY, A CHRONIC TOXICITY OF THE PRODUCTS

Medical University of Silesia in Katowice, Sosnowiec, Poland

**Abstract:** In the hydrosphere, chemical substances are transformed by abiotic or biotic mechanisms in chemical and biological processes. The formed products and/or intermediates as well their effect on the environment may be different. One of these processes is an abiotic hydrolysis. The aim of the study was to determine the kinetics of hydrolysis of three selected antibiotics used in veterinary, i.e. ampicillin, doxycycline and tylosin. Additionally, the chronic toxicity of solutions containing the hydrolysis products of these antibiotics was assessed. Hydrolysis reactions were conducted under aseptic conditions at the natural pH (without correction) at temp. 30 °C for 144 days. At this time, the changes in drugs concentration, the changes in organic carbon content and the changes in cumulative chronic toxicity of antibiotics solutions were assessed. During the experiment, the hydrolysis rate constants for ampicillin, doxycycline and tylosin were 0.068; 0.0075 and 0.003 days<sup>-1</sup>, respectively. A decrease in the organic carbon content in the studied samples was not observed but the cumulative chronic toxicity decreased.

**Keywords:** antibiotics, environment, hydrolysis, chronic toxicity