



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE CHIMICHE

DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA

CORSO DI LAUREA IN SCIENZE E TECNOLOGIE PER L'AMBIENTE

Antibiotici negli ambienti acquatici: fonti, distribuzione e tossicità

Relatore: Prof.ssa Maria Gabriella Marin

Laureanda: Chiara Marcato

Matricola: 2018069

Anno Accademico 2022/2023



A te, che vedevi arte in tutto ciò che  
facevo.

A te, che avresti contato i giorni per  
essere qui a gioire con la tua  
bambina.

A mio nonno Gigi.

# SOMMARIO

1. <b>Riassunto</b> .....	1
2. <b>Introduzione</b> .....	2
3. <b>Tipi di antibiotici</b> .....	2
4. <b>Consumo di antibiotici</b> .....	3
4.1 Consumo umano.....	4
4.2 Consumo veterinario.....	4
5. <b>Fonti di inquinamento</b> .....	5
6. <b>Concentrazioni</b> .....	6
6.1 Acque superficiali.....	7
6.2 Acque marine.....	7
7. <b>Ecotossicità per gli organismi acquatici</b> .....	8
7.1 Cianobatteri e alghe verdi.....	8
7.2 Pesci.....	10
7.3 Crostacei.....	11
7.4 Molluschi.....	12
8. <b>Rimozione degli antibiotici dalle acque reflue</b> .....	13
8.1 Sistema ibrido con bioreattori a membrana e filtrazioni a membrana.....	13
8.2 Utilizzo di microalghe.....	14
9. <b>Conclusioni e prospettive future</b> .....	15
10. <b>Letteratura citata</b> .....	17

## **1. RIASSUNTO**

Gli antibiotici, i farmaci più frequentemente prescritti dalla medicina moderna, sono ampiamente utilizzati sia per applicazioni umane che veterinarie. Negli ultimi anni, il loro consumo è aumentato sempre di più e, contestualmente, si è registrato anche un aumento della loro presenza nelle escrezioni. Così, gli antibiotici, si sono diffusi nell'ambiente e ad oggi sono considerati a tutti gli effetti dei contaminanti emergenti. Le principali fonti di emissione sono effluenti domestici, acque reflue ospedaliere, effluenti di allevamenti e installazioni dedicate all'acquacoltura, ma i serbatoi più grandi, sono gli impianti di trattamento delle acque reflue. Qui, possono essere applicati diversi trattamenti per rimuovere gli inquinanti, tuttavia non risultano sufficientemente efficaci nell'eliminare gli antibiotici, che alla fine si distribuiscono in acque superficiali, marine e sotterranee minacciando gli ecosistemi acquatici e organismi non bersaglio come cianobatteri, alghe verdi, pesci, crostacei e molluschi. I più sensibili risultano essere cianobatteri e alghe verdi, dove gli effetti tossici sono correlati all'inibizione del metabolismo dei cloroplasti come la sintesi proteica e la fotosintesi, che influenzano la crescita cellulare. Nei pesci si manifestano danni a livello di processi di sviluppo, cardiovascolari e metabolici, nonché alterazione delle risposte antiossidanti e immunitarie. Per limitare la diffusione degli antibiotici negli ambienti acquatici, devono essere migliorati i sistemi di trattamento negli impianti di depurazione, adottando, ad esempio, un sistema ibrido che combini più modalità di abbattimento del carico inquinante rendendo così più efficace la rimozione di questi contaminanti. Recentemente, anche la tecnologia basata sulle microalghe è stata esplorata come potenziale alternativa per il trattamento delle acque reflue, mediante adsorbimento, accumulo, biodegradazione, idrolisi e fotodegradazione.

## 2. INTRODUZIONE

Negli ultimi anni, si è sentito molto parlare di contaminanti emergenti e dei loro potenziali impatti negativi sull'ambiente, ma facciamo un po' di chiarezza per capire di cosa si tratta: sono stati definiti "emergenti" poiché, nonostante siano presenti nell'ambiente già da molti anni, l'interesse di scienziati e legislatori si è acceso solo recentemente con lo sviluppo di nuove tecnologie, con il miglioramento della sensibilità analitica degli strumenti e il loro conseguente rilevamento. Questi contaminanti non sono attualmente regolamentati ma esistono preoccupazioni in merito al loro impatto sulla salute umana e sull'ambiente e comprendono composti perfluorurati, nanomateriali, droghe illecite, ormoni, ritardanti di fiamma, sottoprodotti di disinfezione, dolcificanti artificiali, benzotriazoli e prodotti farmaceutici e per la cura della persona (PPCP) (Richardson et al., 2017).

Questi ultimi in particolare hanno ricevuto una crescente attenzione come contaminanti acquatici emergenti a causa delle loro possibili minacce per la popolazione umana e per gli ecosistemi acquatici (Kovalakova et al., 2020). I PPCP contengono composti potenzialmente pericolosi, persistenti e ubiquitari nell'ambiente (Aydin et al., 2019) e comprendono numerose classi chimiche, tra cui prodotti farmaceutici come antibiotici, farmaci antinfiammatori, beta-bloccanti, regolatori dei lipidi, antiepilettici, mezzi di contrasto radiografici, nonché sostanze contenute nei prodotti per la cura personale come antimicrobici, muschi sintetici, repellenti per insetti, conservanti o filtri solari, insieme ai loro metaboliti o prodotti di trasformazione (Kovalakova et al., 2020).

Gli antibiotici sono una delle classi farmaceutiche più antiche, di maggior successo e più comunemente utilizzate, basti pensare che il loro consumo globale è aumentato del 65% tra il 2000 e il 2015, (Klein et al. 2018) e tutt'ora è in continuo aumento per due motivi principali: il primo è la crescita mondiale della popolazione umana che ne ha aumentato il consumo, il secondo motivo è l'aumento della domanda di proteine animali, che intensifica la produzione alimentare richiedendo un maggiore impiego di antibiotici da somministrare nell'allevamento di bestiame, pollame e pesce per ridurre le malattie e per promuovere la crescita (Kovalakova et al., 2020).

Il problema sorge nel momento in cui con il miglioramento delle tecniche analitiche ci si accorge della presenza di queste molecole nelle acque superficiali e marine, nei sedimenti e addirittura nell'acqua potabile, suscitando la preoccupazione di scienziati e ambientalisti. Queste sostanze, infatti, dopo il loro utilizzo, non venendo completamente rimosse nel trattamento delle acque reflue, si diffondono nell'ambiente, dove possono avere un impatto negativo sugli organismi non bersaglio negli ecosistemi acquatici e inoltre portare ad una serie di conseguenze a cascata che si ripercuotono direttamente o indirettamente anche sull'uomo.

Eritromicina (un macrolide), amoxicillina (un beta-lattamico), tetraciclina e ossitetraciclina (entrambe tetracicline), ofloxacina e ciprofloxacina (entrambi fluorochinoloni), sulfametossazolo (un sulfamidico) e trimetoprim (una diaminopirimidina), sono gli antibiotici chiave che destano maggiore preoccupazione, in base al loro uso comune nella medicina umana o veterinaria, al rilevamento nelle acque superficiali di tutto il mondo e all'ecotossicità (Kovalakova et al., 2020).

## 3. Tipi di antibiotici

Ci sono tre modi per classificare gli antibiotici: in base alla loro struttura chimica, come beta- lattamici (BL), macrolidi (MA), fluorochinoloni (FQ), tetracicline (TC) e sulfamidici (SA); in base al loro spettro di attività, cioè antibiotici a spettro ristretto, antibiotici ad ampio spettro e antibiotici a spettro esteso e infine, in base ai loro meccanismi d'azione, che comportano un'azione battericida (uccisione dei batteri) e un'azione batteriostatica (inibizione della crescita delle cellule batteriche). Ad esempio, gli antibiotici

BL (comprese le penicilline e le cefalosporine) possono uccidere i batteri inibendo la sintesi delle pareti cellulari batteriche; MA e TC possiedono attività ad ampio spettro e riescono ad inibire la crescita batterica attraverso l'inibizione della sintesi proteica batterica; i FQ sono antibiotici sintetici ad ampio spettro e uccidono i batteri attraverso l'interferenza con la sintesi del DNA batterico; i SA sono antibiotici batteriostatici sintetici ad ampio spettro e producono i loro effetti inibendo la produzione di acido tetraidrofolico necessario per la sintesi dell'acido nucleico.

Comunemente, nei medicinali per uso umano e veterinario vengono utilizzati gli antibiotici appartenenti alle classi chimiche sopra elencate ma, nel complesso, finora sono stati registrati e utilizzati più di 250 diversi farmaci antibiotici (Richardson et al., 2017).

#### 4. Consumo di antibiotici

L'aumento della domanda di antibiotici sia per uso umano che veterinario, si è tradotto in un incremento del tasso di produzione da parte delle industrie farmaceutiche (Wilkinson et al., 2017).

Ci sono stati pochi tentativi di valutare il consumo di antibiotici a livello globale, gli unici dati risalgono a prima del 2010. Tuttavia, Klein et al. (2018), hanno stimato il consumo di antibiotici, per 76 paesi dal 2000 al 2015. Dallo studio è emerso che, in questi anni, il tasso di consumo di antibiotici è aumentato del 39% da 11,3 a 15,7 dosi giornaliere definite (DDD) per 1.000 abitanti al giorno, fino a raggiungere 42,3 miliardi di DDD nel 2015.

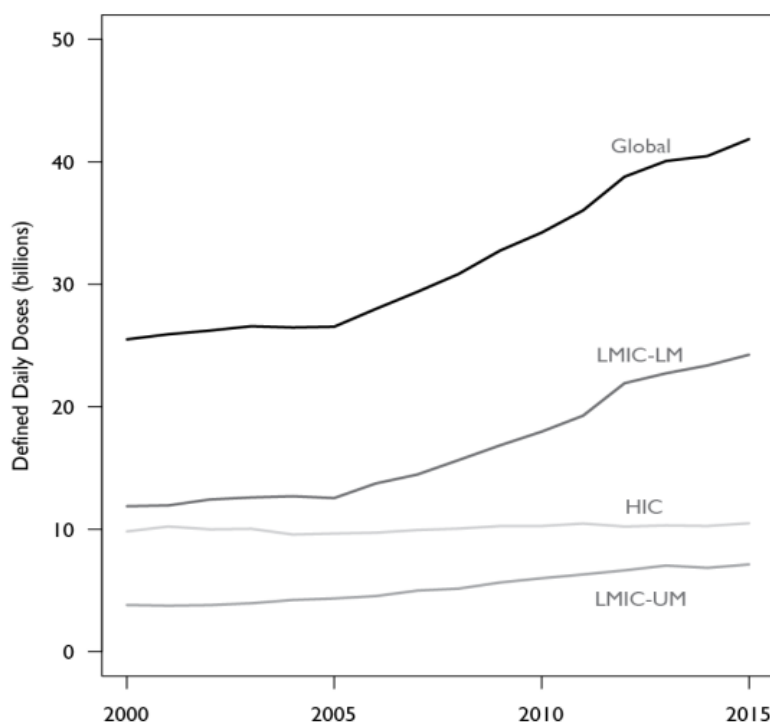


Figura 1:

Consumo globale stimato di antibiotici dal 2000 al 2015, per fasce di reddito: paesi ad alto reddito (HIC), paesi a reddito medio-alto (LMIC-UM) e paesi a reddito medio-basso (LMIC-LM) (da Klein et al., 2018).

Un ulteriore studio è stato quello di Browne et al. (2021) che hanno analizzato 209 indagini condotte tra il 2000 e 2018, stimando un tasso di consumo di antibiotici negli esseri umani pari a 14,3 DDD per 1.000 abitanti al giorno nel 2018 (40,2 miliardi di DDD), con un aumento del 46% rispetto a 9,8 DDD

per 1.000 persone al giorno nel 2000. Hanno notato ampie variazioni nazionali e subnazionali nell'uso degli antibiotici nei paesi a basso e medio reddito, in particolare, nel 2018, l'utilizzo di antibiotici è stato più elevato in Europa centrale, Europa orientale e Asia centrale, mentre i livelli più bassi sono stati stimati per l'Africa sub-sahariana. Le stime di quest'ultimo studio sono leggermente inferiori rispetto a quelle del precedente, infatti, nel 2015 sono stati stimati 38,3 miliardi di DDD rispetto ai 42,3 miliardi DDD di Klein et al. (2018). Questa discrepanza è parzialmente spiegata dall'utilizzo da parte di Browne et al. (2021), dei valori DDD aggiornati per antibiotici chiave come ampicillina e amoxicillina.

#### **4.1 Consumo umano**

L'aumento del consumo di antibiotici per uso umano è guidato principalmente da paesi con grandi economie emergenti, ovvero Brasile, Russia, India, Cina e Sud Africa (un gruppo noto come BRICS), che tra il 2000 e 2010 hanno mostrato un aumento del consumo di antibiotici rispettivamente del 68%, 19%, 66%, 37% e 219%. Sebbene circa il 75% dell'aumento totale del consumo globale si sia verificato in questi paesi, il consumo pro capite complessivo degli stessi stati era in quel periodo ancora inferiore a quello degli Stati Uniti. Nel 2000, i paesi ad alto reddito (Francia, Nuova Zelanda, Spagna, Hong Kong e Stati Uniti) avevano il più alto tasso di consumo in DDD per 1000 abitanti al giorno (Kovalakova et al., 2020). Ad oggi sta diminuendo o è rimasto approssimativamente allo stesso livello dal 2000, anche negli Stati Uniti, il tasso di prescrizione è diminuito del 5% dal 1999 al 2012.

I paesi europei non hanno mostrato una tendenza all'aumento significativa nel periodo 2013-2017 e otto paesi (ovvero Paesi Bassi, Svezia, Germania, Norvegia, Finlandia, Regno Unito, Italia e Lussemburgo) hanno mostrato invece una tendenza al ribasso significativa. Ciononostante, si prevede che il consumo nei paesi BRICS raddoppierà entro il 2030, a causa dell'aumento della popolazione.

In generale, circa l'80% del consumo mondiale totale di antibiotici avviene al di fuori dell'ambiente ospedaliero. In Europa nel 2015, solo il 10% degli antibiotici veniva utilizzato negli ospedali.

Per quanto riguarda invece le classi di antibiotici più utilizzati, le penicilline ad ampio spettro sono le più utilizzate (39% del totale dei DDD nel 2015) (Oberoi et al., 2019). Nei paesi europei il consumo va dal 36% (Germania) al 71% (Slovenia), seguono i macrolidi dal 5% (Svezia) al 25% (Slovacchia), i Beta-lattamici dallo 0,2% (Danimarca) al 22% (Germania) e chinoloni dal 2% (Regno Unito) al 16% (Ungheria) (Kovalakova et al., 2020).

#### **4.2 Consumo veterinario**

Mentre la popolazione mondiale e la sua ricchezza aumentano, si fa sentire sempre di più la domanda di proteine animali, e quindi il bisogno di incrementare l'utilizzo di antibiotici per la prevenzione delle malattie e come promotore della crescita negli animali da allevamento come bovini, suini e pollame e nei pesci da acquacoltura (Kovalakova et al., 2020).

Il consumo globale di antibiotici nelle diverse attività di allevamento ha raggiunto un valore di 63.151 tonnellate nel 2010, superiore anche al consumo umano, e si prevede un aumento di un altro 67% entro il 2030 (Kraemer et al., 2019) con a capo paesi come Cina (30%), Stati Uniti (10%), Brasile (8%), India (4%) e Messico (2%) (Oberoi et al., 2019).

Secondo un rapporto della Food and Drug Administration (FDA) statunitense del 2016, il volume totale di antimicrobici venduti per essere utilizzati negli animali da produzione alimentare negli Stati Uniti è stato di circa 15.600 tonnellate, con un aumento del 24% dal 2009 al 2015, un valore che rappresenta circa l'80% di tutti gli antibiotici consumati negli Stati Uniti.



In Cina si parla di una quantità maggiore di circa dieci volte rispetto agli Stati Uniti, infatti, ogni anno vengono utilizzate in totale da 150.000 a 200.000 tonnellate di antibiotici, di cui il 46% viene utilizzato per il trattamento veterinario e la promozione della crescita in animali da allevamento.

Per quanto riguarda l'Europa, tra il 2011 e 2014 le vendite più elevate sono state in Spagna, seguite da Italia e Germania (Kovalakova et al., 2020).

Le classi di antibiotici più frequentemente utilizzate sono tetraciclina, chinoloni, penicillina, amoxicillina, gentamicina, tilosina e novobiocina e sono utilizzate per curare soprattutto diarrea, polmonite bovina e febbre da trasporto (Chaturvedi et al., 2021).

Vengono somministrati principalmente sotto forma di trattamento di massa (premiscele, polveri orali e soluzioni), seguiti da iniezioni e preparazioni intramammarie.

Gli antibiotici sono ampiamente utilizzati anche nell'acquacoltura, negli allevamenti di organismi acquatici come pesci, molluschi, crostacei e piante acquatiche e vengono dosati direttamente nell'acqua, principalmente per scopi terapeutici e profilassi.

La penicillina, il sulfonamide, la tetraciclina, il fenicolo e il chinolone sono ampiamente utilizzati.

Secondo l'Organizzazione delle Nazioni Unite per l'alimentazione e l'agricoltura (FAO), il 90% della produzione totale dell'acquacoltura mondiale proviene dall'Asia, in particolare dalla Cina, che soddisfa l'80% e il 90% della domanda mondiale di gamberi e pesci carnivori. Da queste aree deriva anche il maggior rischio di rilascio in ambiente di antibiotici usati in acquacoltura (Kovalakova et al., 2020).

## **5. Fonti di inquinamento**

Gli antibiotici possono essere rilasciati in ambiente da molte fonti. Una prima sede di immissione è rappresentata dai siti di produzione industriali di questi farmaci. Dopo l'assunzione, solo una piccola frazione viene metabolizzata o assorbita dall'organismo e un'alta percentuale viene escreta attraverso l'urina e le feci, o come composto parentale o come derivato coniugato.

In generale, si parla di un tasso di escrezione del 50-80% dei composti parentali, ma tassi di escrezione più elevati si sono osservati per la ciprofloxacina e la tetraciclina (fino al 90%), mentre tassi di escrezione più bassi si osservano per l'eritromicina (dal 5 al 10%), il sulfametossazolo (dal 15 al 30%) o la claritromicina (25%) (Danner et al., 2019).

Quindi, dopo l'escrezione, percentuali variabili di antibiotici si trovano negli effluenti domestici e nelle acque reflue ospedaliere, nonché in quelle provenienti da insediamenti zootecnici o da impianti di acquacoltura. Queste fonti puntuali di inquinamento andranno ad alimentare un grande serbatoio di antibiotici costituito dagli impianti di trattamento delle acque reflue.

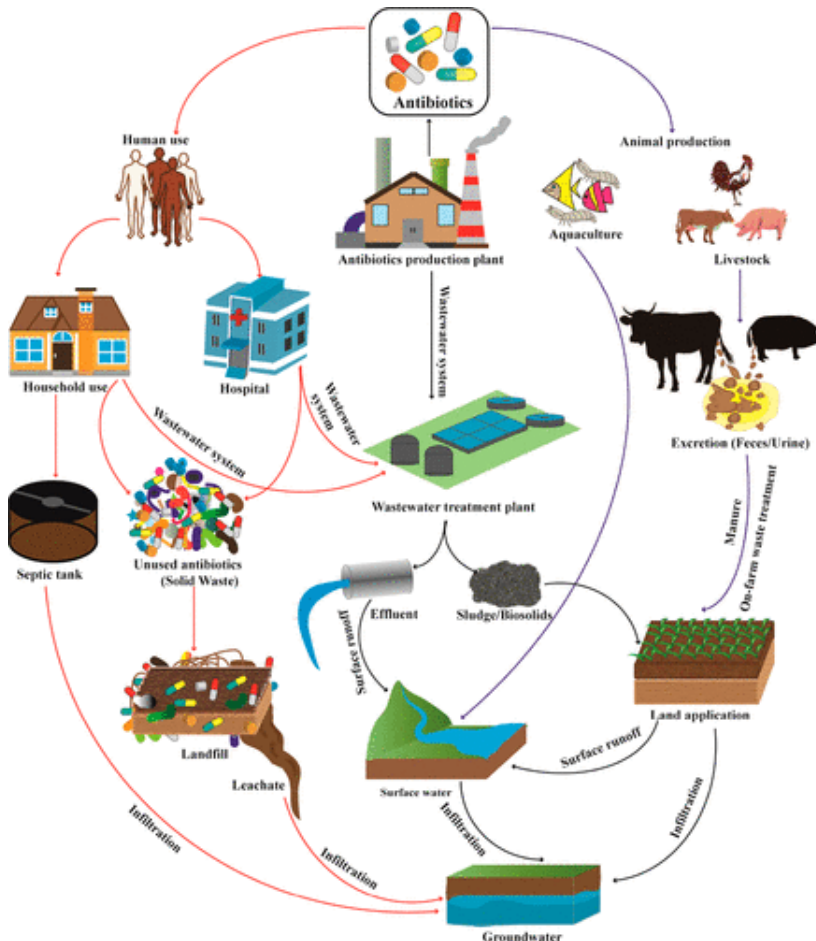
Ma in riferimento alle stesse origini, si può parlare anche di fonti diffuse di antibiotici. Ad esempio, un contributo importante può venire dall'uso del letame come concime per il terreno, permettendo agli antibiotici in esso contenuti, di infiltrarsi sempre più in profondità, resistere alla degradazione e inquinare il suolo e talvolta anche la falda (Yang et al., 2021).

Altre fonti riguardano lo smaltimento diretto di antibiotici inutilizzati o scaduti nei servizi igienici/scarichi e nei rifiuti solidi domestici/ospedalieri, la lisciviazione da discariche, le perdite da linee fognarie e da fosse settiche (Kovalakova et al., 2020).

Gli impianti di trattamento delle acque reflue non sono in grado di rimuovere completamente la maggior parte degli antibiotici, che rimangono così negli effluenti. Questi ultimi sono stati principalmente identificati come serbatoi di tracce di antibiotici e PPCP con concentrazioni fino a  $\mu\text{g/L}$  (Chaturvedi et al., 2021). L'effluente a sua volta può essere usato a scopo irriguo, ricaricato nella falda o finire nelle acque superficiali. In tutti i casi abbiamo una contaminazione dell'ambiente.

Sebbene gli impianti di depurazione siano considerati la principale fonte di antibiotici per le acque superficiali, le normative vigenti nell'UE e negli Stati Uniti non fissano limiti per le concentrazioni di antibiotici nei loro effluenti.

Inoltre, l'assenza di reti fognarie o tecnologie di trattamento nei paesi a basso reddito e nelle zone rurali può influire sulle vie di esposizione, infatti, è una pratica comune in molti paesi a basso e medio reddito, scaricare le acque reflue non trattate nei fiumi e in altri corpi idrici (Kovalakova et al., 2020).



**Figura 2:** Fonti potenziali e destino degli antibiotici nell'ambiente (da Oberoi et al., 2019).

## 6. Concentrazioni

Le concentrazioni di antibiotici negli ambienti acquatici sono legate fortemente al grado di inquinamento dell'effluente che esce dall'impianto di trattamento.

Complessivamente, gli antibiotici più frequentemente rilevati negli effluenti degli impianti di depurazione includono eritromicina (ERY), ciprofloxacina (CIP), norfloxacina (NOR), ofloxacina (OFL), tetraciclina (TC), clorotetraciclina (CTC), ossitetraciclina (OTC), sulfametossazolo (SMX) e trimetoprim (TMP) con le seguenti concentrazioni: ERY (ND - 1.492 ng/L), CIP (ND-3.403 ng/L), NOR (36,7-9.347 ng/L), OFL (47,4-8.637 ng/L), TC (ND-1.536 ng/L), CTC (ND-1.986 ng/L), OTC (10,8-2.014 ng/L).

Infine, la presenza di TMP (trimetoprim) e SMX (sulfametossazolo), ampiamente utilizzati in combinazione per trattare le infezioni batteriche, è stata rilevata ubiquitariamente negli effluenti trattati,

con le concentrazioni più elevate rispettivamente di 12.848 ng/L e 5.316 ng/L.

Inoltre, il livello di antibiotici è più elevato nelle aree urbane rispetto a quelle suburbane o rurali, a causa dell'elevata densità di popolazione e delle attività antropiche connesse, che si traducono in maggiori immissioni di acque reflue nei fiumi.

L'inquinamento da antibiotici è anche correlato al reddito nazionale: le concentrazioni ambientali di antibiotici sono notevolmente più elevate nei paesi a basso reddito, dove le operazioni di trattamento delle acque reflue sono limitate o meno efficienti, rispetto ai paesi ad alto reddito (Yang et al., 2021).

### **6.1 Acque superficiali**

Le classi di antibiotici presenti nelle acque superficiali rispecchiano quelle presenti nelle acque reflue, con la differenza che nelle acque superficiali sono a concentrazioni minori, il che può essere dovuto agli effetti della diluizione da parte delle acque fluviali e dell'adsorbimento da parte dei solidi sospesi e dei sedimenti. Le concentrazioni vanno da non rilevabile (ND) a diverse migliaia di ng/L e in generale seguono l'ordine decrescente: sulfamidici (SA, ND - 5.320 ng/L) > macrolidi (MA, ND - 2.910 ng/L) ≈ fluorochinoloni (FQ, ND - 2.888 ng/L) > tetracicline (TC, ND - 700ng/L).

Tre MA [ERY, roxithromycin (RTM) e clarithromycin (CTM)], tre FQ (CIP, OFL e NOR), tre TC (TC, CTC e OTC), tre SA [SMX, sulfadiazina (SDZ) e sulfametazina (SMZ)] e TMP sono stati frequentemente rilevati.

Si è notato che la presenza e la distribuzione degli antibiotici nelle acque superficiali cambia stagionalmente, ad esempio, in uno studio della pianura di Jiangnan (Cina), i SA sono stati rilevati più frequentemente in primavera (stagione delle piogge) che in autunno (stagione secca), in quanto nella prima, le precipitazioni stagionali facilitano l'ingresso in acque superficiali degli antibiotici depositati sulla superficie del suolo in acque superficiali. Risultati simili sono stati ottenuti in uno studio sulla presenza di antibiotici a Shell Creek (Nebraska, USA), dove sono state rilevate le più alte concentrazioni di lincomicina (68 ng/L) e monensina (49 ng/L) durante i mesi estivi. Altri fattori determinanti sono il basso flusso e il freddo che possono aumentare la persistenza degli antibiotici nell'acqua. È stato riscontrato che le frequenze di rilevamento e le concentrazioni di antibiotici nelle acque superficiali dell'estuario dello Yangtze (Cina) erano relativamente elevate a gennaio (Yang et al., 2021).

Ovviamente c'è un'enorme variabilità nelle concentrazioni anche rispetto alla località: in generale, le concentrazioni di antibiotici nei paesi asiatici in via di sviluppo tendono ad essere superiori a quelle riportate nei paesi europei e nordamericani. Ad esempio, in India si sono raggiunti i livelli più alti mai registrati, con l'ofloxacina rilevata fino a 160 mg/L e il trimetoprim fino a 4,4 mg/L, inoltre, le concentrazioni di ciprofloxacina e cetirizina nelle acque superficiali superavano le concentrazioni plasmatiche terapeutiche nell'uomo (Kovalakova et al., 2020).

### **6.2 Acque marine**

L'ambiente marino è un importante ricettacolo di residui di antibiotici terrestri derivanti da effluenti di acque reflue e scarichi fluviali. Le concentrazioni di antibiotici nelle acque marine sono relativamente basse rispetto a quelle nelle acque reflue e nelle acque superficiali dei fiumi, variando da ND a 1349,2 ng/L. ERY-H<sub>2</sub>O, SMX e TMP sono gli antibiotici più frequentemente rilevati nelle acque marine. Le minori concentrazioni di antibiotici rilevate in mare, sono in gran parte attribuite agli impatti della diluizione, deposizione e degradazione durante il trasporto fluviale, infatti, in uno studio condotto nelle acque al largo del Mare di Bohai e del Mar Giallo in Cina, si è notato come la concentrazione di

eritromicina, sulfametossazolo e trimetoprim diminuisce esponenzialmente dai fiumi alle acque costiere al mare aperto.

Anche lo scambio idrologico tra le acque costiere e il mare aperto influisce sulla presenza e sulla distribuzione degli antibiotici, infatti, sempre in riferimento a questo studio, è stato riscontrato che le concentrazioni totali di antibiotici nelle baie aperte erano significativamente inferiori a quelle nelle baie più chiuse. Inoltre, nei campioni marini studiati da Jia et al. (2011) sia l'antibiotico SMX che il suo metabolita (N-acetil-SMX), sono stati rilevati nell'acqua di mare, suggerendo che il contributo dei metaboliti degli antibiotici alla contaminazione ambientale è paragonabile a quello dei corrispondenti composti parentali (Yang et al., 2021).

## 7. Ecotossicità per gli organismi acquatici

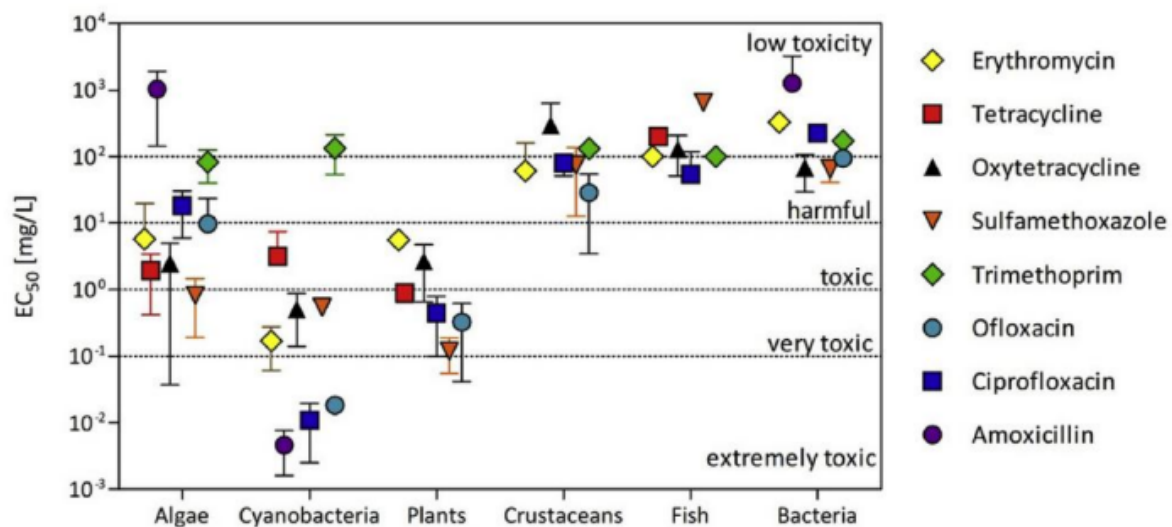


Figura 3:

Ecotossicità di alcuni antibiotici nei confronti di diversi gruppi di organismi valutata in più studi indipendenti. I valori di EC50 sono concentrazioni medie espresse in mg/L e le barre di errore rappresentano la deviazione standard. Le alghe sono rappresentate da diversi ceppi di alghe verdi, cioè *Pseudokirchneriella* sp., *Chlorella* sp. e *Scenedesmus* sp.. I cianobatteri sono rappresentati da *Microcystis* sp., *Synechococcus* sp. e *Anabaena* sp.. Si noti che nel complesso i cianobatteri sono gli organismi più sensibili all'ofloxacina, alla cipro floxacina e all'amoxicillina, seguiti dalle piante acquatiche (rappresentate da specie della famiglia delle lenticchie d'acqua) e dalle alghe. D'altra parte, i batteri (*Vibrio fisheri*), i pesci e i crostacei (*Daphnia magna*, *Ceriodaphnia dubia* e *Artemia salina*) sono relativamente resistenti agli effetti degli antibiotici nei saggi ecotossicologici acuti standard. Il trimetoprim si dimostra relativamente non tossico per tutti i gruppi di organismi. Complessivamente, i dati mostrano che le alghe verdi sono più sensibili a questi otto antibiotici rispetto ai crostacei e ai pesci e, i cianobatteri sono più sensibili delle alghe verdi (da Kovalakova et al., 2020).

### 7.1 Cianobatteri e alghe verdi

Le alghe e i cianobatteri, in quanto produttori primari, svolgono un ruolo importante come base della catena alimentare negli ecosistemi acquatici. Qualsiasi alterazione della comunità di organismi fotoautotrofi può provocare gravi effetti *bottom up* su altri organismi a livelli trofici più elevati

(Kovalakova et al., 2020).

Molti studi, tra cui quello di Guo et al. (2016), hanno confermato che i cianobatteri sono il gruppo di organismi più sensibile con valori di EC50 dell'ordine di  $\mu\text{g/L}$ , più bassi rispetto agli altri gruppi di organismi. Come conseguenza dell'elevata sensibilità, le specie algali blu-verdi sono raccomandate come specie che dovrebbero essere utilizzate nella valutazione del rischio ambientale degli antibiotici come parte del processo di autorizzazione all'immissione in commercio (Guo et al., 2016). Gli effetti avversi comprendono l'inibizione della crescita e il cambiamento delle attività dei biomarcatori (Yang et al., 2021). Questi farmaci possono provocare effetti negativi anche sulle alghe, specialmente sugli organelli come i cloroplasti e i mitocondri che possiedono somiglianze con i batteri nelle strutture e persino nell'origine evolutiva (Kovalakova et al., 2020). Pertanto, gli effetti tossici degli antibiotici sulle alghe verdi sono correlati all'inibizione del metabolismo dei cloroplasti, interferendo sulla sintesi proteica e sulla fotosintesi, influenzando quindi la crescita cellulare. È stato riportato che molti antibiotici sono inibitori della fotosintesi in quanto possono bloccare la catena di trasporto degli elettroni del fotosistema II (PSII), interrompendo il trasferimento di energia di eccitazione dalla clorofilla al centro di reazione del fotosistema I (PSI).

Di particolare interesse è stata l'indagine sulla tossicità degli antibiotici per il sistema antiossidante algale: le molecole di clorofilla eccitate possono formare spontaneamente triplette di clorofilla e indurre ulteriormente la formazione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) causando stress ossidativo nelle cellule algali, che non viene adeguatamente contrastato, soprattutto in presenza di altri inquinanti.

La rimozione dei ROS è regolata da antiossidanti enzimatici come quelli nel ciclo dell'ascorbato-glutatione, tra cui ascorbato perossidasi (APX), monodeidroascorbato reductasi (MDAR), deidroascorbato reductasi (DHAR), glutatione reductasi (GR) e altri enzimi antiossidanti come catalasi (CAT), superossido dismutasi (SOD) e glutatione-specifica perossidasi (GPX). Inoltre, alcuni antiossidanti endogeni non enzimatici, come l'ascorbato (AsA) e il glutatione (GSH) svolgono un ruolo importante nella protezione delle piante dallo stress ossidativo.

Un ruolo rilevante è svolto dal ciclo delle xantofille che consiste in una conversione ciclica dipendente dalla luce tra tre xantofille, violaxantina (V), zeaxantina (Z) e antheraxantina (A), catalizzata da violaxantina de-epossidasi e zeaxantina epossidasi. Si tratta di un importante meccanismo fotoprotettivo per le piante per far fronte all'assorbimento eccessivo della luce, inoltre, zeaxantina e antheraxantina possono estinguere l'ossigeno singoletto, minimizzando i suoi danni sull'apparato fotosintetico e sulle strutture cellulari, prevenendo così la perossidazione lipidica (Nie et al., 2013).

Nie et al. (2013) ha indagato gli effetti dell'esposizione ad eritromicina (ETM), ciprofloxacina (CPF) e sulfametossazolo (SMZ), tre antibiotici comunemente usati in Cina, sul sistema antiossidante di *Pseudokirchneriella subcapitata*, comunemente utilizzata come alga modello d'acqua dolce nei test di tossicità standard. Per studiare la risposta del sistema antiossidante delle alghe agli antibiotici, sono stati monitorati i cicli dell'ascorbato-glutatione e della xantofilla, nonché le attività enzimatiche di SOD, CAT, glutatione perossidasi (GPX) e glutatione- S-transferasi (GST).

Dallo studio è emerso che l'eritromicina è la più tossica per il sistema antiossidante di *P. subcapitata*, infatti, con l'aumento dell'esposizione di ETM si è osservata una riduzione sia del contenuto di ascorbato totale sia del glutatione totale. Alla più alta concentrazione di ETM, l'ascorbato totale e il glutatione totale sono diminuiti rispettivamente al 47,8% e al 64,8% del valore di controllo. Al contrario, con un aumento di CPF e SMZ, i contenuti di AsA e GSH sono aumentati. AsA e GSH sono i più importanti antiossidanti non enzimatici nelle cellule vegetali e responsabili della regolazione dell'omeostasi redox: AsA elimina i ROS attraverso molteplici meccanismi, incluso l'eliminazione di  $\text{H}_2\text{O}_2$  attraverso il ciclo dell'ascorbato e glutatione e svolgendo un ruolo importante nel ciclo della

xantofilla. GSH elimina i ROS direttamente o attraverso il ciclo dell'ascorbato-glutatione, ed è riconosciuto come cofattore per la coniugazione di xenobiotici elettrofili tramite enzimi GST. Dunque, le diminuzioni del contenuto di AsA e GSH di *P. subcapitata* con l'aumento della concentrazione di ETM, suggeriscono che l'ETM interferisca con la loro biosintesi, influenzando negativamente il ciclo dell'ascorbato-glutatione e incrementando così lo stress ossidativo, rendendo *P. subcapitata* più vulnerabile ai ROS. L'aumentata concentrazione di ETM ha inoltre diminuito gradualmente anche le attività enzimatiche di SOD, CAT e GPX, al contrario di SMZ e CPF, che invece le hanno aumentate. I risultati indicano che ETM potrebbe comportare rischi elevati per le microalghe come *P. subcapitata* nell'ambiente acquatico, mentre CPF e SMZ non causerebbero impatti diretti significativi sulle alghe a causa della loro minore tossicità.

## 7.2 Pesci

Gli studi sugli effetti degli antibiotici nei pesci stanno prendendo piede solo recentemente; dunque, manca ancora una panoramica completa di come possano influenzare caratteristiche genetiche e fisiologiche. Tuttavia, alcuni dati, suggeriscono che i farmaci antibiotici rilasciati negli ambienti acquatici possano rappresentare un rischio cronico per i pesci e causare alterazioni genetiche e istologiche nei loro tessuti, anche a livelli di esposizione ambientale.

I pesci comunemente usati per i test di tossicità sono *Oncorhynchus mykiss*, *Cyprinus carpio*, *Carassius auratus* e *Orzai latice*. Solitamente però, si preferisce usare un soggetto di prova più standardizzato e conveniente, *Danio rerio*, comunemente noto come *zebrafish*, che è ampiamente utilizzato sia durante la fase larvale sia durante quella adulta, per valutare la tossicità di varie sostanze bioattive, nonché di antibiotici.

Oltre alla mortalità, gli indicatori della potenziale tossicità degli antibiotici, sono cambiamenti morfologici e risposte genotossiche. La genotossicità indotta da inquinanti è principalmente dovuta all'inibizione del processo di riparazione del DNA, e la tecnica più ampiamente utilizzata per misurarla negli organismi acquatici, è il *test della cometa* che rileva la frammentazione del DNA. Un'altra tecnica è l'osservazione dei micronuclei, che funge da biomarcatore per la genotossicità negli eritrociti. La genotossicità è solitamente accompagnata da cambiamenti nei parametri fisiologici e biochimici dei pesci, come l'inibizione della trascrizione dei geni coinvolti nell'infiammazione, nel metabolismo energetico e nelle risposte antiossidanti, riscontrati nel fegato e nei tessuti muscolari dei pesci.

Altri effetti di rilievo sono danni cardiovascolari, sviluppo ritardato, cambiamenti nel tempo di schiusa e alterazione metabolica (Yang et al., 2020).

Molteplici studi si sono concentrati sugli effetti degli antibiotici durante la fase embrionale e, tra gli effetti più frequentemente riportati, troviamo malformazioni, che includono cambiamenti nella lunghezza del corpo e del peso, curvatura spinale, edema, malformazioni assiali, carenza di vescica natatoria e aumento dell'area del sacco vitellino.

Un altro importante effetto embriotossico è la cardiotoxicità che comprende alterazioni del funzionamento del cuore e malformazioni cardiache. Alcuni antibiotici, come i sulfamidici e i macrolidi, richiedono anche basse concentrazioni per indurre ad un aumento della frequenza cardiaca, nello specifico da 0,1 mg/l fino a 0,0002 mg/L per i sulfonamidi e  $10^{-6}$  mg/L per l'eritromicina, un macrolide. Le malformazioni e gli effetti embriotossici osservati sono spesso accompagnati da un aumento dello stress ossidativo. In particolare, basse concentrazioni di sulfonamidi, tetracicline e beta-lattamici inducono lo stress ossidativo, che spesso è un fattore scatenante di ulteriori effetti avversi, a livello neurologico e dello sviluppo. Ad esempio, negli embrioni di *zebrafish* esposti al sulfametossazolo, lo

stress ossidativo è stato associato a una riduzione delle dimensioni del corpo (a 0,1 mg/L) o a un ritardo nella schiusa (a 0,0001 mg/L).

Lei et al. (2022) hanno invece esaminato gli effetti di doxiciclina, enrofloxacin, florfenicolo e sulfametazina sul metabolismo dei lipidi negli embrioni di *zebrafish*, e sono stati rilevati cambiamenti antibiotico-specifici e dose-dipendenti nel contenuto di trigliceridi e nell'espressione di geni correlati al metabolismo lipidico. Gli autori hanno scoperto che la sulfametazina, aveva effetti più dirompenti agendo sulla sovraregolazione del maggior numero di geni, seguita dal florfenicolo e poi dalla doxiciclina e dall'enrofloxacin, meno potenti.

Per quanto riguarda invece gli effetti degli antibiotici su pesci adulti e giovani, si segnalano stress ossidativo e compromissione comportamentale. Complessivamente, tra tutti gli antibiotici, l'ossitetraciclina è la più ampiamente valutata per i suoi effetti sui pesci adulti, probabilmente a causa del suo uso comune in acquacoltura. È stato dimostrato che anche concentrazioni molto basse (420 ng/L) di ossitetraciclina influenzano il metabolismo del glucosio e dei lipidi nel fegato e nell'intestino della tilapia del Nilo (*O. niloticus*), causando al contempo una compromissione della crescita. Inoltre, sono state osservate immunotossicità nel fegato e infiammazione dell'intestino.

Effetti simili si sono osservati con esposizioni anche a basse dosi di sulfamidici, che si sono sommati ad una soppressione della fertilità, un aumento del peso e un incremento del tasso di consumo di ossigeno.

Quanto è stato sopra descritto, rappresenta un'analisi di diversi studi e fornisce alcune informazioni sui potenziali effetti di alcuni antibiotici. Risulta tuttavia difficile fare un confronto tossicologico tra i vari antibiotici, poiché la valutazione andrebbe condotta nelle stesse condizioni di laboratorio, tempi e concentrazioni di esposizione (Li et al., 2023).

### 7.3 Crostacei

Gli antibiotici più testati sui crostacei sono il sulfametossazolo (SMX) e l'ossitetraciclina (OTC), il primo per la sua elevata frequenza di rilevamento nelle acque dolci di tutto il mondo con concentrazioni mediane di circa 83 ng/L; il secondo perché è uno degli antibiotici più comunemente usati in acquacoltura e il suo uso intensivo è diventato motivo di forte preoccupazione.

Recentemente, gli studi sulle alterazioni del microbiota dell'intestino sono stati proposti come strategia per studiare l'interazione ospite-ambiente in molti organismi acquatici. Il motivo è che le comunità del microbiota intestinale sono un elemento chiave per il mantenimento dell'omeostasi, per lo sviluppo e per la difesa contro i patogeni e una loro alterazione, potrebbe essere molto dannosa per la salute dell'animale. Infatti, il microbiota è una comunità estremamente dinamica, influenzata dall'area geografica e da tutti i fattori chimico-fisici che la caratterizzano, perciò, la presenza di inquinanti nell'acqua, come gli antibiotici, rappresenta un aspetto importante da considerare (Hernández-Pérez et al., 2022). Hernández-Pérez et al. (2022) hanno preso in esame la comunità batterica intestinale del gambero *Pacifastacus leniusculus*, esponendo l'animale a concentrazioni rilevanti per l'ambiente di sulfametossazolo. Dopo 21 giorni di esposizione, il DNA è stato estratto dall'intestino di ogni singolo animale e, dopo la pulizia e la purificazione del prodotto della PCR, l'rRNA batterico 16S è stato sottoposto al sequenziamento. Rispetto ai controlli, negli animali esposti all'antibiotico, non si sono osservate differenze sostanziali nel microbiota intestinale, però è stato rilevato un notevole incremento della specie *Vibrio*. Nonostante questi microrganismi contribuiscano alla digestione, è anche noto che alcune specie di *Vibrio* possono causare gravi malattie nei gamberi. Ma non è tutto, infatti, un accumulo di *Vibrio* nell'intestino dei crostacei può portare ad una diffusione di questi potenziali agenti patogeni

ad altri ecosistemi attraverso la predazione di pesci, uccelli e mammiferi (Hernández-Pérez et al., 2022). Il SMX è stato protagonista anche di uno studio volto a testare la suscettibilità di *Pacifastacus leniusculus* all'infezione da White Spot Syndrome Virus, un noto agente patogeno dei crostacei. I risultati hanno evidenziato che una bassa concentrazione dell'antibiotico, interferiva sul sistema immunitario diminuendo la risposta cellulare, in particolare mediante la sottoregolazione di proteine degli emociti granulari e una riduzione del numero di emociti circolanti (Hernández-Pérez et al., 2020) Ren et al. (2017) si sono focalizzati invece, sull'indagare gli effetti dell'ossitettraciclina sul sistema antiossidante e il danno biomolecolare nelle larve di *Portunus trituberculatus*. Lo studio ha dimostrato che questo antibiotico può causare una significativa diminuzione dei processi antiossidanti, influenzare le espressioni di geni ed enzimi correlati alla disintossicazione e causare danni alle biomolecole. Di certo, sono necessari ulteriori studi per comprendere a pieno i rischi che questi antibiotici possono arrecare, però i risultati ottenuti rappresentano in punto di partenza per la pianificazione di nuovi esperimenti.

#### 7.4 Molluschi

La vongola *Ruditapes philippinarum* è una delle principali specie oggetto di pesca e acquacoltura al mondo e la più utilizzata in studi ecotossicologici. Nicolussi et al. (2022) si sono serviti dei suoi emociti per valutare gli effetti di tre antibiotici, amoxicillina (AMX), trimetoprim (TMP) e ciprofloxacina (CIP), sia da soli che in miscela. Gli emociti sono i principali effettori immunitari delle vongole, responsabili sia della difesa cellulare che umorale. Sono anche coinvolti in molti processi fisiologici, come la riparazione dei tessuti e la produzione del guscio, e sono noti per essere suscettibili alle variazioni ambientali e all'esposizione a sostanze tossiche, agendo come cellule sentinella.

Gli antibiotici sono stati testati ad una concentrazione ambientalmente realistica di 1 µg/L in acqua di mare filtrata, sia da soli che come miscela e, dopo l'esposizione, è stata valutata una serie di parametri cellulari, quali la vitalità degli emociti, la loro morfologia, la stabilità della membrana lisosomiale, lo stress ossidativo, l'attività della fosfatasi acida, la frequenza dei micronuclei e le aberrazioni cromosomiche. Dallo studio è emerso che la vitalità cellulare non è cambiata però è aumentata la percentuale di cellule di forma rotonda probabilmente come conseguenza degli effetti dannosi sul citoscheletro. I tre antibiotici e la loro miscela hanno influenzato significativamente la stabilità della membrana lisosomiale degli emociti, aumentato significativamente l'attività della fosfatasi acida e la produzione di anione superossido intracellulare. Per quanto riguarda i micronuclei, non è stato riscontrato alcun aumento significativo della loro frequenza negli emociti di *R. philippinarum* in seguito all'esposizione agli antibiotici testati, però si è osservato un notevole aumento della frequenza delle aberrazioni cromosomiche.

Dunque, dai risultati ottenuti, si è potuto concludere che questi antibiotici, testati sia da soli che in miscela, arrecano un evidente stress alla cellula. C'è però da sottolineare che l'esposizione alla miscela, non sempre ha comportato un effetto additivo rispetto ai singoli antibiotici, infatti gli effetti più dannosi sulla stabilità della membrana lisosomiale, sulla forma cellulare e sulla frequenza delle aberrazioni sono stati osservati nelle cellule trattate con AMX. Questo ci suggerisce la presenza di potenziali interazioni antagoniste tra gli antibiotici in miscela ed evidenzia l'importanza di testarne i possibili effetti sia singolarmente, sia in miscela, in modo da valutare un rischio più realistico per gli organismi acquatici, dato che nell'ambiente non sono quasi mai esposti ad un solo inquinante.



## 8. Rimozione degli antibiotici dalle acque reflue

La presenza di residui di antibiotici negli effluenti non rappresenta un problema legato esclusivamente agli effetti tossici sull'ambiente, ma contribuisce alla diffusione della resistenza agli antibiotici, poiché finiscono nelle acque superficiali, dove la loro concentrazione è troppo bassa per uccidere i batteri ma può comunque essere sufficientemente elevata per favorire l'insorgenza di batteri resistenti e geni di resistenza. Di conseguenza, è necessario intervenire sugli impianti di trattamento, aumentando il grado di rimozione, per ridurre al minimo tutte le tracce residue (Furia et al., 2021). Non esistono impianti di trattamento specificatamente progettati e gestiti per rimuovere gli antibiotici, però ci sono processi in grado di rimuovere una maggior quantità di antibiotici rispetto ad altri (Oberoi et al., 2019).

### 8.1 Sistema ibrido con bioreattore a membrana e filtrazione a membrana

Recentemente si è notato che, selezionando i processi di rimozione più efficaci e combinandoli tra loro, si può ottenere un unico sistema ibrido in grado di raggiungere un'efficienza di rimozione eccellente, anche del 98% (Dhangar et al., 2020).

I bioreattori a membrana (MBR) combinano il trattamento biologico con una separazione solido/liquido mediante filtrazione su membrana ottenendo elevate efficienze di rimozione sia dei contaminanti convenzionali che di quelli emergenti. Dopo una fase di pretrattamento per rimuovere detriti di grandi dimensioni, particelle pesanti e olio/grasso, l'acqua reflua subisce il trattamento biologico nella vasca di fanghi attivi, dove numerosi microrganismi attuano un processo di biodegradazione, dopodiché avviene una separazione su membrana per eliminare batteri e virus (Cartagena et al., 2013). Quest'ultima può avvenire per microfiltrazione o ultrafiltrazione e sostituisce il sedimentatore secondario di un depuratore tradizionale. I due processi, biologico e di filtrazione, possono essere accoppiati in un'unica vasca o separati, nel primo caso parliamo di MBR sommerso, nel secondo di MBR a flusso laterale (Goswami et al., 2018).

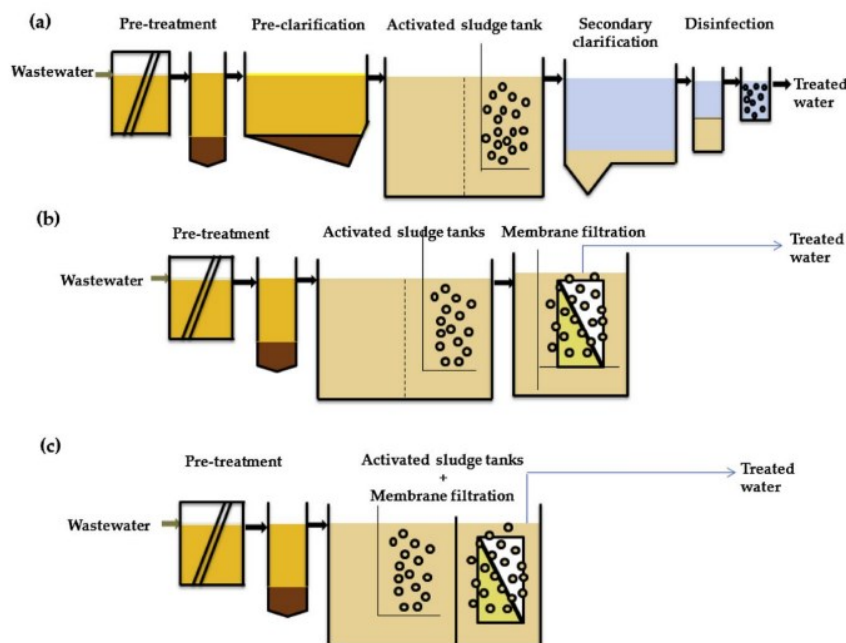


Figura 4:

Schema del (a) processo convenzionale di trattamento delle acque reflue, (b) MBR a flusso laterale (c) MBR sommerso (da Goswami et al., 2018).

L' MBR risulta essere un metodo valido per il trattamento delle acque reflue grazie ai numerosi vantaggi, tra cui la migliore qualità dell'effluente prodotto, una minore produzione di fanghi, minori volumi e superfici occupati, nitrificazione dell'azoto migliorata e ridotto fabbisogno di disinfezione delle acque reflue trattate grazie alla significativa rimozione di agenti patogeni e virus (Cairone, 2022). Mentre la filtrazione a membrana è un semplice trattamento fisico in cui le soluzioni vengono filtrate trattenendo i contaminanti sulla membrana, le diverse caratteristiche di filtrazione, quali la dimensione dei pori, idrofobicità e carica superficiale, ottenute da diverse membrane, determinano i contaminanti da rimuovere. I processi di membrana che hanno dimostrato un potenziale migliore di rimozione di prodotti farmaceutici, tra cui anche gli antibiotici, sono la nanofiltrazione (NF) e l'osmosi inversa (RO).

Diversi studi hanno dimostrato che il trattamento MBR è efficace per rimuovere contaminanti emergenti idrofobici e facilmente biodegradabili, mentre una minore rimozione è osservata per i composti idrofilici e biologicamente persistenti, tuttavia, i composti idrofilici sono stati efficacemente rimossi dalle filtrazioni su membrana, RO e NF. Pertanto, il permeato di MBR privo di contaminanti idrofobici e contenente contaminanti idrofilici, può essere efficacemente processato mediante trattamento NF/RO. In questo modo si realizza un sistema ibrido di trattamento MBR-NF/RO, ottenendo un'eccellente efficienza complessiva (Dhangar et al., 2020). In particolare, sulla base dei risultati riportati nella *review* di Dhangar et al. (2020) si può affermare che le filtrazioni RO/NF sono un eccellente trattamento complementare per i processi MBR per quanto riguarda molti antibiotici poiché vengono quasi del tutto abbattuti (minimo 95% per Trimethoprim) (Tabella 1).

ECs Category	ECs	ECs Source	MBR + RO <sup>a</sup>		MBR + NF <sup>b</sup>	
			Influent ( $\mu\text{L}^{-1}$ )	Removal (%)	Influent ( $\mu\text{L}^{-1}$ )	Removal (%)
• Antibiotics	Azithromycin	WWTP	0.118	99.5	1.41	99
	Clarithromycin		2.02	99.5	0.008	99
	Erythromycin		0.049	99.5	0.020	99
	Ofloxacin		0.605	99.5	0.560	99
	Sulfamethaxazole		0.102	99.5	0.037	95
	Amoxicillin		0.02	100	0.02	100
	Trimethoprim		0.007	95	0.007	95
	Sulfadimidine		0.059	100	0.059	96
	Norfloracin		0.106	100	0.106	100
	Ciprofloxacin		0.034	100	0.034	100
	Lomefloxacin		0.01	100	0.01	100
	Enrofloxacin		0.004	100	0.004	100
	Oxytetracycline		0.018	100	0.018	100
	Tetracycline		0.023	100	0.023	100
	Chlortetracycline		0.008	100	-	-
	Doxycycline		0.018	100	0.018	100
Clarithromycin	0.368	99.5	0.368	100		
Roxithromycin	0.079	100	0.079	100		

**Tabella 1:**  
rimozione degli antibiotici in sistemi ibridi MBR + RO/NF (da Dhangar et al., 2020, modificata).

## 8.2 Utilizzo di microalghe

Recentemente, la tecnologia basata sulle microalghe è stata esplorata come potenziale alternativa per il trattamento delle acque reflue. Si tratta di un processo biologico che richiede pochi agenti chimici e può essere utilizzato per rimuovere efficacemente i contaminanti emergenti come gli antibiotici, con vantaggi come un'augmentata fissazione della CO<sub>2</sub>, riduzione dell'apporto di nutrienti agli ecosistemi acquatici e sviluppo di prodotti derivati dalle alghe (Leng et al., 2020).

Ad esempio, Villar-Navarro et al. (2018) hanno testato un sistema di stagno algale ad alta velocità

dominato da *Coelastrum* sp., che ha rimosso 64 PPCP (Pharmaceuticals and Personal Care Products) tra cui 33 antibiotici (con una concentrazione media di 223 µg/L) dalle acque reflue municipali, con tassi medi di rimozione degli antibiotici superiori del 5-50% rispetto al processo convenzionale a fanghi attivi della durata di sei mesi.

Il tasso di rimozione degli antibiotici dipende fortemente dalle specie algali, dalle concentrazioni e dalle classi di antibiotici; dunque, si preferisce selezionare più specie algali con capacità complementari di rimozione, in modo da eliminare più classi di antibiotici possibili.

I meccanismi di rimozione delle microalghe, si basano su una serie di risposte che vengono messe in atto dalle stesse, per sopravvivere e rimuovere gli antibiotici tossici. Durante il processo di rimozione, possono avvenire adsorbimento, accumulo, biodegradazione, idrolisi e fotodegradazione.

L'adsorbimento è il processo di rimozione degli inquinanti mediante legame passivo degli stessi a un materiale solido. Questo meccanismo di rimozione non è quello dominante, ma sicuramente può agire come processo primario seguito, ad esempio, da accumulo e biodegradazione. L'adsorbimento può essere realizzato dai gruppi funzionali e dagli assemblaggi polimerici (simili a cellulosa, emicellulosa e proteine, ecc.) sulle pareti cellulari algali ed è un processo extracellulare.

A differenza dell'adsorbimento che è extracellulare, l'accumulo è un processo intracellulare, e prevede l'attraversamento delle membrane cellulari algali e poi eventualmente la biodegradazione. Quest'ultima consiste in un processo di scomposizione degli antibiotici da parte delle alghe all'interno o all'esterno delle cellule, con formazione di composti derivati che in parte vengono ulteriormente consumati dalle cellule algali.

Le microalghe possono metabolizzare gli antibiotici anche grazie ai loro enzimi idrolitici, i quali realizzano una serie di reazioni di idrolisi che aumentano la polarità e l'idrofilia degli antibiotici, facilitandone la solubilizzazione e la successiva biodegradazione.

Infine, per la rimozione degli antibiotici dalle acque reflue, può essere sfruttata la fotodegradazione, che comprende la fotolisi diretta causata dalla luce e la successiva fotodegradazione indiretta che è indotta da componenti reattive, prodotte dalle alghe in presenza di luce. Infatti, molti antibiotici possono essere rimossi mediante fotolisi diretta in presenza di luce e in assenza di alghe, ma la rimozione è fortemente migliorata quando le alghe sono presenti nel sistema. Durante la fotodegradazione indiretta, specie reattive dell'ossigeno, come il radicale ossidrilico, possono essere generate da componenti algali, portando alla rottura delle molecole di antibiotico.

Attualmente, l'uso di microalghe per la rimozione degli antibiotici è ancora nella sua fase iniziale. Occorrono ulteriori ricerche e valutazioni per comprendere se lo stesso livello di rimozione avvenga in presenza di altri inquinanti e con più antibiotici in miscela. Inoltre, rimane da affrontare la tossicità dei prodotti intermedi e finali dalla degradazione (Leng et al., 2020).

## **9. Conclusioni e prospettive future**

Gli antibiotici sono una delle classi di farmaci più utilizzate e si prevede un incremento del loro tasso di consumo e del conseguente rilascio in ambiente. Per questo motivo gli obiettivi principali sono mettere a conoscenza le persone sul problema rappresentato dai farmaci nell'ambiente, riciclare gli antibiotici scaduti o non utilizzati nel modo corretto e educare i prescrittori e gli utenti sull'uso prudente degli antibiotici.

Inoltre, sono necessarie ulteriori ricerche sulla loro presenza in ambiente, sulle condizioni che ne favoriscono la degradazione e sulla loro tossicità. In particolare, si dovrebbe puntare allo sviluppo di metodi analitici per l'individuazione di un maggior numero di antibiotici e dei relativi prodotti di

trasformazione e alla messa a punto di ulteriori studi tossicologici sugli organismi, per valutarne in modo esauriente le risposte fisiologiche. Questi studi dovrebbero infine prendere in considerazione i potenziali effetti degli antibiotici non solo singolarmente, ma anche come miscele, a concentrazioni ambientali realistiche, e testare anche la tossicità dei loro prodotti di degradazione.

Un altro passo sarà quello di sviluppare tecnologie di trattamento delle acque reflue sempre più efficienti per eliminare non solo antibiotici ma anche quanti più inquinanti possibile (Leng et al., 2020).

## 10. LETTERATURA CITATA

Aydin, S.; Aydin, M.E.; Ulvi, A.; Kilic, H. *Antibiotics in hospital effluents: occurrence, contribution to urban wastewater, removal in a wastewater treatment plant, and environmental risk assessment. Environmental Science and Pollution Research.* **2019**; 26 (1), 544-58.

Browne, A.J.; Chipeta, M.G.; Haines-Woodhouse, G.; Kumaran, E.P.A.; Hamadani, B.H.K.; Zaraa, S. et al. *Global antibiotic consumption and usage in humans, 2000-18: a spatial modelling study. Lancet Planet Health.* **2021**, 5(12) 893-904.

Cartagena, P.; El Kaddouri, M.; Cases, V.; Trapote, A.; Prats, D. *Reduction of emerging micropollutants, organic matter, nutrients and salinity from real wastewater by combined MBR–NF/RO treatment. Separation and Purification Technology.* **2013**, 110, 132-43.

Chaturvedi, P.; Shukla, P.; Giri, BS; Chowdhary, P.; Chandra, R.; Gupta, P. et al. *Prevalence and hazardous impact of pharmaceutical and personal care products and antibiotics in environment: A review on emerging contaminants. Environmental Research.* **2021**, 194, 110664.

Danner, M.C.; Robertson, A.; Behrends, V.; Reiss, J. *Antibiotic pollution in surface fresh waters: Occurrence and effects. Science of The Total Environment.* **2019**, 664, 793-804.

Dhangar, K.; Kumar, M. *Tricks and tracks in removal of emerging contaminants from the wastewater through hybrid treatment systems: A review. Science of The Total Environment.* **2020**, 738, 140320.

Furia, F.; Minella, M.; Gosetti, F.; Turci, F.; Sabatino, R.; Di Cesare, A. et al. *Elimination from wastewater of antibiotics reserved for hospital settings, with a Fenton process based on zero-valent iron. Chemosphere.* **2021**, 283, 131170.

Goswami, L.; Vinoth Kumar, R.; Borah, S.N.; Arul Manikandan, N.; Pakshirajan, K.; Pugazhenthii, G. *Membrane bioreactor and integrated membrane bioreactor systems for micropollutant removal from wastewater: A review. Journal of Water Process Engineering.* **2018**, 26, 314-28.

Guo, J.; Selby, K.; Boxall, A.B.A. *Comparing the sensitivity of chlorophytes, cyanobacteria, and diatoms to major-use antibiotics. Environmental Toxicology and Chemistry.* **2016**, 35(10), 2587-96.

Hernández-Pérez, A.; Noonin, C.; Söderhäll, K.; Söderhäll, I.; *Environmental concentrations of sulfamethoxazole increase crayfish *Pacifastacus leniusculus* susceptibility to White Spot Syndrome Virus. Fish & Shellfish Immunology.* **2020**, 102, 177–84.

Jia, A.; Hu, J.; Wu, X.; Peng, H.; Wu, S.; Dong, Z. *Occurrence and source apportionment of sulfonamides and their metabolites in Liaodong Bay and the adjacent Liao River basin, North China. Environmental Toxicology and Chemistry.* **2011**, 30(6), 1252-60.

Klein, E.Y.; Van Boeckel, T.P.; Martinez, E.M.; Pant, S.; Gandra, S.; Levin, S.A. et al. *Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. Proceedings of the National Academy of Sciences.* **2018**, *115*(15), 3463-70.

Kovalakova, P.; Cizmas, L.; McDonald, T.J.; Marsalek, B.; Feng, M.; Sharma, V.K. *Occurrence and toxicity of antibiotics in the aquatic environment: A review. Chemosphere.* **2020**, *251*, 126351.

Kraemer, S.A.; Ramachandran, A.; Perron, G.G. *Antibiotic Pollution in the Environment: From Microbial Ecology to Public Policy. Microorganisms.* **2019**; *7*(6), 180.

Lei, Y; Li, F.; Mortimer, M.; Li, Z.; Peng, B.X.; Li, M. et al. *Antibiotics disrupt lipid metabolism in zebrafish (*Danio rerio*) larvae and 3T3-L1 preadipocytes. Science of The Total Environment.* **2023**, *858*, 159755.

Leng, L.; Wei, L.; Xiong, Q.; Xu, S.; Li, W.; Lv, S. et al. *Use of microalgae based technology for the removal of antibiotics from wastewater: A review. Chemosphere.* **2020**, *238*, 124680.

Li, Z.; Lu, T.; Li, M.; Mortimer, M; Guo, L.H. *Direct and gut microbiota-mediated toxicities of environmental antibiotics to fish and aquatic invertebrates. Chemosphere.* **2023**, *329*, 138692.

Nie, XP; Liu, B.Y.; Yu, H.J.; Liu, W.Q.; Yang, Y.F. *Toxic effects of erythromycin, ciprofloxacin and sulfamethoxazole exposure to the antioxidant system in *Pseudokirchneriella subcapitata*. Environmental Pollution.* **2013**, *172*, 23-32.

Oberoi, A.S.; Jia, Y.; Zhang, H.; Khanal, S.K.; Lu, H. *Insights into the Fate and Removal of Antibiotics in Engineered Biological Treatment Systems: A Critical Review. Environmental Science and Technology.* **2019**, *53*(13), 7234-7264.

Ren, X.; Wang, Z.; Gao, B.; Liu, P.; Li, J. *Toxic responses of swimming crab (*Portunus trituberculatus*) larvae exposed to environmentally realistic concentrations of oxytetracycline. Chemosphere.* **2017**, *173*, 563–71.

Richardson, S.D.; Kimura, S.Y. *Emerging environmental contaminants: Challenges facing our next generation and potential engineering solutions. Environmental Technology & Innovation.* **2017**, *8*, 40-56

Stefano Cairone. *Tecnologie innovative per la rimozione dei contaminanti emergenti dalle acque reflue. Authorea.* **2022** DOI: 10.22541/au.166012113.36669134/v1

Villar-Navarro, E.; Baena-Nogueras, R.M.; Paniw, M.; Perales, J.A.; Lara-Martín, P.A. *Removal of pharmaceuticals in urban wastewater: High rate algae pond (HRAP) based technologies as an alternative to activated sludge based processes. Water Research.* **2018**, *139*, 19-29.

Wilkinson, J.; Hooda, P.S.; Barker, J.; Barton, S.; Swinden, J. *Occurrence, fate and transformation of emerging contaminants in water: An overarching review of the field. Environmental Pollution.* **2017**, *231*, 954-70.

Yang, Q.; Gao, Y.; Ke, J; Show, P.L.; Ge, Y.; Liu, Y. et al. *Antibiotics: An overview on the environmental occurrence, toxicity, degradation, and removal methods. Bioengineered.* **2021**, *12*(1), 7376-7416.

## **RINGRAZIAMENTI**

Un sentito ringraziamento va alla mia relatrice, la Prof.ssa Maria Gabriella Marin, che mi ha seguita con disponibilità e gentilezza in tutta la realizzazione dell'elaborato.

Grazie a tutta la mia famiglia per avermi sostenuta in ogni momento fino a questo traguardo.

Un grazie speciale va ai miei genitori per avermi sempre supportata in ogni mia scelta e per aver sempre creduto in me.

Ringrazio tutti i miei amici che hanno sempre saputo alleggerire i miei momenti più pesanti e difficili e che mi hanno sempre sostenuto.