



**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE
TECNOLOGIA, INFRAESTRUTURA E
TERRITÓRIO**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
INTERDISCIPLINAR EM ENERGIA E
SUSTENTABILIDADE**

**TRIAGEM DE MICRORGANISMOS ISOLADOS DO RIACHO ARROIO
DOURADO FRENTE A DIFERENTES FÁRMACOS E AVALIAÇÃO DA
BIODEGRADAÇÃO DO IBUPROFENO E DE SUA FITOTOXICIDADE
EM *Lactuca sativa***

ROSANE DOS SANTOS GRIGNET

Foz do Iguaçu – PR

2025



**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE
TECNOLOGIA, INFRAESTRUTURA E
TERRITÓRIO**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
INTERDISCIPLINAR EM ENERGIA E
SUSTENTABILIDADE**

**TRIAGEM DE MICRORGANISMOS ISOLADOS DO RIACHO ARROIO
DOURADO FRENTE A DIFERENTES FÁRMACOS E AVALIAÇÃO DA
BIODEGRADAÇÃO DO IBUPROFENO E DE SUA FITOTOXICIDADE
EM *Lactuca sativa***

ROSANE DOS SANTOS GRIGNET

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação Interdisciplinar em Energia e Sustentabilidade, do Instituto Latino-Americano de Tecnologia, Infraestrutura e Território, da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito para à obtenção do título de Doutora em Energia e Sustentabilidade.

Área de concentração: Energia e Sustentabilidade.

Orientadora: Profa. Dra. Caroline da Costa Silva Gonçalves

Coorientador: Prof. Dr. Michel Rodrigo Zambrano Passarini

Foz do Iguaçu – PR

2025

Catálogo elaborado pela Divisão de Apoio ao Usuário da Biblioteca Latino-Americana
Catálogo de Publicação na Fonte. UNILA - BIBLIOTECA LATINO-AMERICANA

G857t

Grignet, Rosane dos Santos

Triagem de microrganismos isolados do Riacho Arroio Dourado frente a diferentes fármacos e avaliação da biodegradação do Ibuprofeno e de sua fitotoxicidade em *Lactuca sativa* / Rosane dos Santos Grignet. – Foz do Iguaçu, 2025.

239 f. : il.

Tese (Doutorado em Energia e Sustentabilidade) – Programa de Pós-Graduação Interdisciplinar em Energia e Sustentabilidade, Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Instituto Latino-Americano de Tecnologia, Infraestrutura e Território, Foz do Iguaçu, PR, 2025.

Orientadora: Profa. Dra. Caroline da Costa Silva Gonçalves.

Coorientador: Prof. Dr. Michel Rodrigo Zambrano Passarini.


1. Contaminantes emergentes. 2. Fármacos. 3. Biodegradação fúngica. 4. Biotransformação. 5. Avaliação ecotoxicológica. 6. Ibuprofeno. I. Gonçalves, Caroline da Costa Silva. II. Passarini, Michel Rodrigo Zambrano. III. Universidade Federal da Integração Latino-Americana. IV. Título.

CDU 579.68


**TRIAGEM DE MICRORGANISMOS ISOLADOS DO RIACHO ARROIO DOURADO
FRENTE A DIFERENTES FÁRMACOS E AVALIAÇÃO DA BIODEGRADAÇÃO DO
IBUPROFENO E DE SUA FITOTOXICIDADE EM *Lactuca sativa***

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação Interdisciplinar em Energia e Sustentabilidade do Instituto Latino-Americano de Tecnologia, Infraestrutura e Território da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito para a obtenção do título de Doutora em Energia e Sustentabilidade.


BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **CAROLINE DA COSTA SILVA GONCALVES**
Data: 21/01/2026 11:10:00-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Orientadora: Profa. Dra. Caroline da Costa Silva Gonçalves
UNILA

Documento assinado digitalmente
 **MICHEL RODRIGO ZAMBRANO PASSARINI**
Data: 22/01/2026 12:06:53-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Coorientador: Prof. Dr. Michel Rodrigo Zambrano Passarini
UNILA

Documento assinado digitalmente
 **MARCIANA PIERINA ULIANA MACHADO**
Data: 27/01/2026 15:02:30-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Profa. Dra. Marciana Pierina Uliana Machado
UNILA

Documento assinado digitalmente
 **SUZAN PANTAROTO DE VASCONCELLOS**
Data: 09/02/2026 13:50:02-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Suzan Pantaroto de Vasconcellos
UNIFESP

Documento assinado digitalmente
 **MARCIA ANTONIA BARTOLOMEU AGUSTINI**
Data: 22/01/2026 14:51:31-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Márcia Antônia Bartolomeu Agustini
UTFPR

Documento assinado digitalmente
 **FRANCINE SOUZA ALVES DA FONSECA**
Data: 22/01/2026 17:47:43-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Francine Souza Alves da Fonseca
UFMG

Foz do Iguaçu, 19 de dezembro de 2025.

GRIGNET, Rosane dos Santos. Triagem de Microrganismos Isolados do Riacho Arroio Dourado frente a diferentes Fármacos e Avaliação da Biodegradação do Ibuprofeno e de sua Fitotoxicidade em *Lactuca sativa*. 19 de dezembro de 2025. 239 páginas. Tese (Doutorado) – Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu – PR, Brasil.

RESUMO

O crescimento populacional, aliado à intensificação do consumo de bens de saúde, especialmente de produtos farmacêuticos, tem contribuído para o agravamento de desequilíbrios ambientais, impondo riscos crescentes à integridade dos ecossistemas. Nesse cenário, os contaminantes emergentes, especialmente fármacos detectados em águas superficiais, solos e sedimentos, configuram um dos principais desafios ambientais contemporâneos devido à sua persistência, ampla distribuição e efeitos adversos mesmo em concentrações de traço. A limitada eficiência dos sistemas convencionais de tratamento, aliada à ausência de regulamentação específica, reforça a necessidade de soluções inovadoras alinhadas aos princípios da Agenda 2030 da Organização das Nações Unidas e aos preceitos da Química Verde. Considerando esse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial de microrganismos isolados de sedimentos de um riacho em Foz do Iguaçu (PR) para a tolerância a fármacos e biodegradação do ibuprofeno, bem como investigar seus efeitos fitotóxicos por meio de bioensaios com *Lactuca sativa*, contribuindo para o desenvolvimento de estratégias biotecnológicas aplicáveis ao tratamento de poluentes em sistemas ambientais. Foram isolados 70 microrganismos de dois pontos de coleta, dos quais cinco fungos foram selecionados após triagem de tolerância a compostos de diferentes classes terapêuticas (antitérmicos, anti-inflamatórios, antimicrobianos, antidepressivos e hormônios). As linhagens foram identificadas por sequenciamento da região ITS rRNA, resultando em três isolados de Ascomycota e dois de Mucoromycota. A triagem enzimática revelou um perfil diversificado entre os isolados, com destaque para atividades hidrolíticas e oxidativas. As respostas mais expressivas foram observadas para lipase, com atividade lipolítica superior a 60%, e lignina peroxidase, ultrapassando 250 U·L⁻¹ nos melhores desempenhos. Destacaram-se os isolados *Mucor* sp. FAR014, *Talaromyces* sp. FAR012 e *Geotrichum* sp. FAR003. Nos ensaios de biodegradação do ibuprofeno, embora nenhum isolado tenha promovido degradação completa da molécula, observou-se que *Talaromyces* sp. FAR012 e *Geotrichum* sp. FAR003 foram capazes de oxidar o fármaco e converter a molécula nos isômeros 1-, 2- e 3-hidroxi-ibuprofeno ao longo de 15 dias, demonstrando expressiva capacidade de biotransformação estrutural. Complementarmente, bioensaios ecotoxicológicos com *Lactuca sativa* evidenciaram efeitos fitotóxicos dose-dependentes, sendo o comprimento de raiz e o Índice de Toxicidade (IT) os *endpoints* mais sensíveis, indicando fitotoxicidade a partir de 0,3 mg·L⁻¹. Esses resultados reforçam a relevância do ibuprofeno como contaminante emergente e fornecem base científica para o desenvolvimento de estratégias biotecnológicas voltadas à mitigação de fármacos em matrizes ambientais, à preservação da qualidade hídrica e ao fortalecimento de ecossistemas mais equilibrados e resilientes.

Palavras-chave: contaminantes emergentes; fármacos; biodegradação fúngica; biotransformação; avaliação ecotoxicológica; ibuprofeno.

GRIGNET, Rosane dos Santos. Screening of Microorganisms Isolated from the Arroio Dourado Stream against Different Drugs and Evaluation of Ibuprofen Biodegradation and its Phytotoxicity in *Lactuca sativa*. December, 19 of 2025. 239 pages. Thesis (PhD) Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu – PR, Brasil.

ABSTRACT

Population growth, combined with the intensification of healthcare-related consumption, particularly pharmaceutical products, has contributed to increasing environmental imbalances, posing growing risks to ecosystem integrity. In this context, emerging contaminants, especially pharmaceuticals detected in surface waters, soils, and sediments, represent one of the major contemporary environmental challenges due to their persistence, widespread distribution, and adverse effects even at trace concentrations. The limited efficiency of conventional treatment systems, coupled with the lack of specific regulatory frameworks, highlights the need for innovative solutions aligned with the principles of the United Nations Agenda 2030 and the precepts of Green Chemistry. Within this framework, the present study aimed to evaluate the potential of microorganisms isolated from sediments of a stream located in Foz do Iguaçu (PR, Brazil) regarding their tolerance to pharmaceuticals and their ability to biodegrade ibuprofen, as well as to investigate its phytotoxic effects through bioassays using *Lactuca sativa*, contributing to the development of sustainable biotechnological strategies applicable to pollutant mitigation in environmental systems. A total of 70 microorganisms were isolated from two sampling sites, from which five fungal strains were selected following tolerance screening against compounds from different therapeutic classes (antipyretics, anti-inflammatory drugs, antimicrobials, antidepressants, and hormones). Molecular identification based on ITS rRNA region sequencing revealed three isolates belonging to Ascomycota and two to Mucoromycota. Enzymatic screening indicated a diversified metabolic profile among the isolates, with notable hydrolytic and oxidative activities. The most expressive responses were observed for lipase, showing lipolytic activity exceeding 60%, and lignin peroxidase, surpassing 250 U·L⁻¹ in the best-performing strains. The isolates *Mucor* sp. FAR014, *Talaromyces* sp. FAR012, and *Geotrichum* sp. FAR003 demonstrated the most relevant enzymatic potential. In the ibuprofen biodegradation assays, although complete molecular degradation was not achieved by any isolate, *Talaromyces* sp. FAR012 and *Geotrichum* sp. FAR003 were capable of oxidizing the compound and converting it into 1-, 2-, and 3-hydroxy-ibuprofen isomers over a 15-day period, demonstrating a significant capacity for structural biotransformation. Complementary ecotoxicological bioassays with *Lactuca sativa* revealed dose-dependent phytotoxic effects, with root length and the Toxicity Index (TI) identified as the most sensitive endpoints, indicating phytotoxicity from concentrations as low as 0.3 mg·L⁻¹. These findings reinforce the environmental relevance of ibuprofen as an emerging contaminant and provide a scientific basis for the development of sustainable biotechnological strategies aimed at mitigating pharmaceutical pollutants in environmental matrices, preserving water quality, and promoting more balanced and resilient ecosystems.

Keywords: emerging contaminants; pharmaceuticals; fungal biodegradation; biotransformation; ecotoxicological assessment; ibuprofen.

GRIGNET, Rosane dos Santos. Selección de Microorganismos Aislados del arroyo Arroio Dourado Frente a Diferentes Fármacos y Evaluación de la Biodegradación del Ibuprofeno y de su Fitotoxicidad en *Lactuca sativa*. 19 de diciembre de 2025. 239 páginas. Tesis (PhD) – Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu – PR, Brasil.

RESUMEN

El crecimiento poblacional, junto con la intensificación del consumo de bienes de salud, especialmente de productos farmacéuticos, ha contribuido al agravamiento de los desequilibrios ambientales, imponiendo riesgos crecientes a la integridad de los ecosistemas. En este contexto, los contaminantes emergentes, especialmente los fármacos detectados en aguas superficiales, suelos y sedimentos, constituyen uno de los principales desafíos ambientales contemporáneos debido a su persistencia, amplia distribución y efectos adversos incluso a concentraciones de traza. La limitada eficiencia de los sistemas convencionales de tratamiento, sumada a la ausencia de regulación específica, refuerza la necesidad de soluciones innovadoras alineadas con los principios de la Agenda 2030 de la Organización de las Naciones Unidas y con los preceptos de la Química Verde. En este marco, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar el potencial de microorganismos aislados de sedimentos de un arroyo en Foz do Iguaçu (PR) para la tolerancia a fármacos y la biodegradación del ibuprofeno, así como investigar sus efectos fitotóxicos mediante bioensayos con *Lactuca sativa*, contribuyendo al desarrollo de estrategias biotecnológicas aplicables al tratamiento de contaminantes en sistemas ambientales. Se aislaron 70 microorganismos a partir de dos puntos de muestreo, de los cuales cinco hongos fueron seleccionados tras ensayos de tolerancia a compuestos de diferentes clases terapéuticas (antitérmicos, antiinflamatorios, antimicrobianos, antidepresivos y hormonas). Las cepas fueron identificadas mediante secuenciación de la región ITS del rRNA, resultando en tres aislados pertenecientes a Ascomycota y dos a Mucoromycota. La caracterización enzimática reveló un perfil diversificado entre los aislados, con predominio de actividades hidrolíticas y oxidativas. Las respuestas más destacadas se observaron para la lipasa, con actividad lipolítica superior al 60%, y la lignina peroxidasa, superando las 250 U·L⁻¹ en los mejores rendimientos. Se destacaron los aislados *Mucor* sp. FAR014, *Talaromyces* sp. FAR012 y *Geotrichum* sp. FAR003. En los ensayos de biodegradación del ibuprofeno, aunque ningún aislado promovió la degradación completa de la molécula, se observó que *Talaromyces* sp. FAR012 y *Geotrichum* sp. FAR003 fueron capaces de oxidar el fármaco y transformar la molécula en los isómeros 1-, 2- y 3-hidroxi-ibuprofeno a lo largo de 15 días, evidenciando una notable capacidad de biotransformación. De forma complementaria, los bioensayos ecotoxicológicos con *Lactuca sativa* mostraron efectos fitotóxicos dependientes de la dosis, siendo la longitud de la raíz y el Índice de Toxicidad (IT) los parámetros más sensibles, con indicios de fitotoxicidad a partir de 0,3 mg·L⁻¹. Estos resultados refuerzan la relevancia del ibuprofeno como contaminante emergente y proporcionan una base científica para el desarrollo de estrategias biotecnológicas orientadas a la mitigación de fármacos en matrices ambientales, la preservación de la calidad del agua y el fortalecimiento de ecosistemas más equilibrados y resilientes.

Palabras clave: contaminantes emergentes; fármacos; biodegradación fúngica; biotransformación; evaluación ecotoxicológica; ibuprofeno.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Esquema ilustrativo das principais classes de contaminantes emergentes, fontes de origem e matrizes ambientais afetadas....	30
Figura 2 -	Principais vias de entrada, transporte e destino de fármacos e outros contaminantes emergentes no ambiente	43
Figura 3 -	Etapas do mecanismo de biorremediação fúngica de compostos farmacêuticos ativos	61
Figura 4 -	Mapa hidrológico da região de estudo	69
Figura 5 -	Fluxograma esquemático das etapas metodológicas do estudo, desde o isolamento de microrganismos até os ensaios de biodegradação de ibuprofeno e avaliação ecotoxicológica em <i>Lactuca sativa</i>	73
Figura 6 -	Localização da área de estudo e dos pontos de amostragem	74
Figura 7 -	Estruturas químicas dos fármacos utilizados nos ensaios	76
Figura 8 -	Etapas de preparo das amostras de sedimento enriquecidas com diferentes classes terapêuticas.....	80
Figura 9 -	Procedimentos para isolamento de microrganismos em amostras de sedimento	83
Figura 10 -	Procedimentos para avaliação da viabilidade celular de fungos ..	84
Figura 11 -	Procedimentos para avaliação da viabilidade celular de bactérias	85
Figura 12 -	Metodologias para identificação de fungos de interesse biotecnológico.....	87
Figura 13 -	Esquema da metodologia dos testes qualitativos enzimáticos em placas de Petri.....	91
Figura 14 -	Resumo esquemático da metodologia utilizada para triagem de enzimas oxidases pelo processo de fermentação com palha de arroz	94
Figura 15 -	Metodologia para quantificação enzimática com sondas fluorogênicas	101
Figura 16 -	Resumo esquemático usado no ensaio de biodegradação do ibuprofeno.....	102
Figura 17 -	Resumo esquemático da aplicação do método QuEChERS modificado	105

Figura 18 -	Diagrama experimental da exposição de <i>Lactuca sativa</i> a diferentes concentrações de ibuprofeno	110
Figura 19 -	Microorganismos isolados do riacho Arroio Dourado em Foz do Iguaçu-PR.....	115
Figura 20 -	Gráfico com os fungos que apresentaram maior tolerância no teste de viabilidade celular com TTC elencados por tratamento ..	119
Figura 21 -	Gráfico com as bactérias que apresentaram maior tolerância no teste de viabilidade celular com TTC elencados por fármaco	121
Figura 22 -	Morfologia dos fungos isolados com observação dos microcultivos num aumento de 400 x.....	124
Figura 23 -	Análise filogenética baseada em sequências do gene ITS dos isolados FAR003 e FAR005. Valores de Bootstrap (1000 execuções replicadas, mostradas em%) acima de 70% são listados	127
Figura 24 -	Análise filogenética baseada em sequências do gene ITS do isolado FAR012. Valores de Bootstrap (1000 execuções replicadas, mostradas em%) acima de 70% são listados.....	127
Figura 25 -	Análise filogenética baseada em sequências do gene ITS do isolado FAR014. Valores de Bootstrap (1000 execuções replicadas, mostradas em%) acima de 70% são listados.....	129
Figura 26 -	Testes enzimáticos em placas de Petri com resultados considerados positivos, em (a) lacase (2-naftol), (b) lacase (1-naftol), (c) celulase, (d) lipase	133
Figura 27 -	Sondas fluorogênicas derivadas de umbeliferona para a triagem de hidrolases e monooxigenases.....	134
Figura 28 -	Gráfico temporal da atividade da Lipase nas cinco linhagens fúngicas avaliadas	136
Figura 29 -	Gráfico temporal da atividade de Esterase nas cinco linhagens fúngicas avaliadas	137
Figura 30 -	Gráfico de tendência dos valores de absorbância da atividade enzimática da Lacase em relação a exposição aos fungos no período de 30 dias	140
Figura 31 -	Gráfico de tendência dos valores de absorbância da atividade enzimática da Lignina Peroxidase em relação a exposição aos fungos no período de 30 dias.....	142
Figura 32 -	Gráfico de tendência dos valores de absorbância da atividade enzimática da Manganês Peroxidase em relação a exposição aos fungos no período de 30 dias.....	143

Figura 33 -	Espectros de IV para o fármaco ibuprofeno comercial, com destaque para os grupos funcionais identificados.....	148
Figura 34 -	Em (A), espectro de ¹ H obtidos em CDCl ₃ , com 8 scans, em 400 MHz e (B) espectro de ¹³ C obtidos em CDCl ₃ , em 100 MHz (Bruker® AVANCE I)	149
Figura 35 -	Cromatograma para o controle do ibuprofeno comercial por UPLC/MS.....	153
Figura 36 -	Perfil cromatográfico por UPLC/MS para <i>Geotrichum</i> sp._FAR003.....	154
Figura 37 -	Análise da biodegradação do ibuprofeno por <i>Geotrichum</i> sp._FAR003 com os principais picos no cromatograma por UPLC/MS.....	155
Figura 38 -	Perfil cromatográfico por UPLC/MS para <i>Talaromyces</i> sp._FAR012.....	157
Figura 39 -	Análise da biodegradação do ibuprofeno por <i>Talaromyces</i> sp._FAR012 com os principais picos no cromatograma por UPLC	158
Figura 40 -	Isômeros formados do processo de biodegradação do ibuprofeno com as linhagens fúngicas avaliadas individualmente	159
Figura 41 -	Efeito das diferentes concentrações de ibuprofeno na germinação e desenvolvimento de plântulas de <i>Lactuca sativa</i> ...	168
Figura 42 -	Boxplots representando a Porcentagem de Germinação (A) e Índice de Velocidade de Germinação (B) de <i>Lactuca sativa</i> exposta a diferentes concentrações do ibuprofeno	169
Figura 43 -	Boxplots representando o comprimento de raiz (A) e biomassa seca de raiz (B) de <i>Lactuca sativa</i> exposta a diferentes concentrações do ibuprofeno.....	171
Figura 44 -	Boxplots representando o comprimento da parte aérea (A) e biomassa da parte aérea (B) de <i>Lactuca sativa</i> exposta ao ibuprofeno.....	173
Figura 45 -	Gráfico de linha do IT das plantas em relação às doses	175
Figura 46 -	Box-plots dos valores de absorbância dos testes de viabilidade celular dos fungos em relação aos fármacos testados.....	220
Figura 47 -	Box-plots dos valores de absorbância dos testes de viabilidade celular das bactérias (BAR001-BAR017) em relação aos fármacos testados	224

Figura 48 -	Box-plots dos valores de absorvância dos testes de viabilidade celular das bactérias (BAR018-BAR034) em relação aos fármacos testados	225
Figura 49 -	Box-plots dos valores de absorvância dos testes de viabilidade celular das bactérias (BAR035-BAR051) em relação aos fármacos testados	226
Figura 50 -	Espectro de RMN de ¹ H do ibuprofeno comercial em 400 MHz, CDCl ₃ com TMSO 0,1%, com 8 scans (Bruker® AVANCE I)	232
Figura 51 -	Espectro de RMN de ¹³ C do ibuprofeno comercial em 100 MHz, CDCl ₃ , (Bruker® AVANCE I).....	233
Figura 52 -	Espectro de fragmentação de massas do composto 1 (2-hidroxi-ibuprofeno) produzido por <i>Geotrichum</i> sp._FAR003, em modo negativo de ionização	233
Figura 53 -	Espectro de fragmentação de massas do composto 3 (não identificado) produzido por <i>Geotrichum</i> sp._FAR003, em modo negativo de ionização	234
Figura 54 -	Espectro de fragmentação de massas do composto 4 (3-hidroxi-ibuprofeno) produzido por <i>Geotrichum</i> sp._FAR003, em modo negativo de ionização	234
Figura 55 -	Espectro de fragmentação de massas do composto 1 (2-hidroxi-ibuprofeno) produzido por <i>Talaromyces</i> sp._FAR012, em modo negativo de ionização	235
Figura 56 -	Espectro de fragmentação de massas do composto 2 (1-hidroxi-ibuprofeno) produzido por <i>Talaromyces</i> sp._FAR012, em modo negativo de ionização	235
Figura 57 -	Espectro de fragmentação de massas do composto 3 (não identificado) produzido por <i>Talaromyces</i> sp._FAR012, em modo negativo de ionização	236
Figura 58 -	Espectro de fragmentação de massas do composto 4 (3-hidroxi-ibuprofeno) produzido por <i>Talaromyces</i> sp._FAR012, em modo negativo de ionização	236
Figura 59 -	Espectro de fragmentação de massas do composto 5 (não identificado) produzido por <i>Talaromyces</i> sp._FAR012, em modo negativo de ionização	237

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Condições do ensaio de citotoxicidade do ibuprofeno e respectivos controles.....	103
Tabela 2 -	Resultados da análise de similaridade (BLASTn) das sequências ITS.....	126
Tabela 3 -	Testes enzimáticos qualitativos realizado com fungos, correspondendo (+) positivo, (-) negativo.....	133
Tabela 4 -	Médias \pm desvios-padrão do perfil enzimático avaliado por sondas.....	134
Tabela 5 -	Médias \pm desvios-padrão dos valores de absorbância para enzimas extracelulares em relação aos testes com fungos.....	139
Tabela 6 -	Deslocamentos espectrais de RMN para ^1H em ppm das amostras de ibuprofeno em relação à literatura, em 400 MHz...	150
Tabela 7 -	Deslocamentos espectrais de RMN para ^{13}C em ppm da amostra de ibuprofeno comercial em relação à literatura, em 100 MHz.....	150
Tabela 8 -	Porcentagem de inibição do ibuprofeno em relação aos fungos selecionados.....	151
Tabela 9 -	Compostos detectados por LC-MS após 15 dias de reação com <i>Geotrichum</i> sp._FAR003.....	154
Tabela 10 -	Compostos detectados por LC-MS após 15 dias de reação com <i>Talaromyces</i> sp._FAR012.....	157
Tabela 11 -	Índice de Toxicidade em resposta a diferentes doses de Ibuprofeno.....	174
Tabela 12 -	Médias e desvios-padrão da absorbância nos testes de viabilidade celular fúngica.....	219
Tabela 13 -	Médias \pm desvios-padrão da absorbância nos testes de viabilidade celular das bactérias (BAR001-BAR017).....	221
Tabela 14 -	Médias \pm desvios-padrão da absorbância nos testes de viabilidade celular das bactérias (BAR018-BAR034).....	222
Tabela 15 -	Médias \pm desvios-padrão da absorbância nos testes de viabilidade celular das bactérias (BAR035-BAR051).....	223
Tabela 16 -	Perfil enzimático por sondas para <i>Geotrichum</i> sp._FAR003.....	227
Tabela 17 -	Perfil enzimático por sondas para o <i>Geotrichum</i> sp._FAR005...	228

Tabela 18 - Perfil enzimático por sondas para o <i>Talaromyces</i> sp._FAR012.	232
Tabela 19 - Perfil enzimático por sondas para o <i>Mucor</i> sp._FAR014.....	233
Tabela 20 - Perfil enzimático por sondas para <i>Mucor</i> sp._FAR018.....	234
Tabela 21 - Comprimento médio, biomassa da raiz e percentual de inibição de <i>Lactuca sativa</i> exposta a diferentes concentrações de ibuprofeno.....	238
Tabela 22 - Comprimento médio, biomassa da parte aérea e percentual de inibição de <i>Lactuca sativa</i> exposta a diferentes doses de ibuprofeno.....	239

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Principais classes de contaminantes emergentes e exemplos de algumas substâncias detectadas no ambiente.....	31
Quadro 2 - Listagem de alguns CEs estudados no Brasil	35
Quadro 3 - Relação dos fármacos utilizados nos ensaios experimentais, respectivas dosagens, formas farmacêuticas e classes terapêuticas.....	76
Quadro 4 - Tratamentos usados no enriquecimento das amostras e pontos de coleta.....	81
Quadro 5 - Fármacos utilizados nos ensaios de viabilidade celular..	83
Quadro 6 - Codificação das linhagens isoladas do riacho Arroio Dourado.....	218

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AAS	Ácido acetilsalicílico
AEGs	Áreas de Estratégias de Gestão
AINEs	Anti-inflamatórios não-esteroidais
ANOVA	Análise de variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BAR	Bactéria do Arroio Dourado
CEs	Contaminantes Emergentes
CG-MS	Cromatografia Gasosa acoplada a espectrometria de massa
CONAMA	Conselho Nacional de Meio Ambiente
DEs	Desreguladores Endócrinos
DMSO	Dimetilsulfóxido
DO	Densidade Óptica
ETA	Estação de Tratamento de Água
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
FAR	Fungo do Arroio Dourado
g	grama
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
IBU	Ibuprofeno
ISO	Organização Internacional de Normalização
ITS	Espaçador interno transcrito
Lac	Lacase
LC-MS	Cromatografia Líquida acoplada à espectrometria de massas
LIP	Lignina peroxidase
LIP1	Lipase
MM	Meio Mínimo
MnP	Manganês peroxidase
NA	Ágar Nutriente
NORMAN	Rede de Laboratórios de Referência, Centros de Pesquisa e Organizações Afins para o monitoramento de substâncias ambientais emergentes
ODS	Objetivos do Desenvolvimento Sustentável
ONU	Organização das Nações Unidas

PA	Grau analítico
PDA	Ágar batata dextrose
pH	Potencial hidrogeniônico
PMFI	Prefeitura Municipal de Foz do Iguaçu
PMGRH	Programa Municipal de Gestão de Recursos Hídricos
PMSB	Programa Municipal de Saneamento Básico
QuEChERS	<i>Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe</i> - Rápido, Fácil, Barato, Eficaz, Robusto, Seguro
REMUME	Relação Municipal de Medicamentos Essenciais
RFU	Unidades de fluorescência relativa
RENAME	Relação Nacional de Medicamentos Essenciais
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
rpm	rotação por minuto
SMS	Secretaria Municipal de Saúde
TTC	Cloreto de 2,3,5-Trifeniltetrazólio
UNILA	Universidade Federal da Integração Latino-Americana
UPLC-MS	Cromatografia líquida de ultra desempenho acoplada à espectrometria de massas

Dedico este trabalho aos meus filhos, Juliann e Otavio, e ao meu esposo, Rodrigo.

AGRADECIMENTOS

A vida acadêmica é tecida por capítulos que combinam esforço, esperança e encontros. Cada etapa é construída por pessoas que, de algum modo, deixam marcas profundas; algumas discretas, outras transformadoras. Este trabalho é, antes de tudo, um tributo a todas as mãos, vozes e presenças que caminharam comigo. A cada uma delas, ofereço minha gratidão mais sincera.

À minha orientadora, Profa. Dra. Caroline Gonçalves, minha gratidão é imensa. Obrigada por me acolher desde o início, por confiar em mim, por orientar com firmeza e sensibilidade, por me ensinar com generosidade e por sustentar meu percurso quando a caminhada se tornava difícil. Sua presença foi luz em muitos momentos. Ao Prof. Dr. Michel Passarini, agradeço pela coorientação atenciosa e por cada contribuição técnica que ajudou a dar forma a este trabalho. À Dra. Julia Ottoni, obrigada pelas sugestões e revisões que fortaleceram o caminho e a clareza deste projeto.

À PRPPG UNILA e ao Programa de Pós-Graduação Interdisciplinar em Energia e Sustentabilidade (PPGIES), agradeço pelo amparo institucional que tornou possível este percurso.

Aos que contribuíram tecnicamente para esta pesquisa, deixo meu reconhecimento: ao Odair Bachini, engenheiro agrônomo pela generosidade no fornecimento dos insumos agrícolas; à Pró-Análise® Produtos Laboratoriais, pela doação das microplacas da Craplast®, que tornaram possível a realização do ensaio da enzima manganês peroxidase; e à Profa. Dra. Anita Marsaioli, pela gentileza de disponibilizar as sondas que possibilitaram os ensaios enzimáticos.

Aos técnicos da UNILA, Paula Santos, Carla Betim, Wagner Ferreira e Lisset Geigel, agradeço pela disponibilidade e pelos gestos que, muitas vezes, fizeram toda a diferença nos momentos mais desafiadores do trabalho.

Às professoras Dra. Marcela Boroski e Dra. Marciana Uliana, agradeço pelas contribuições que fortaleceram minha trajetória e possibilitaram uma transição segura para o doutorado. Sou igualmente grata às professoras Marcela Boroski e Rafaella Bonugli pela disponibilidade de seus laboratórios e pelo generoso compartilhamento de conhecimento, fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho, e ao Prof. Vinicius Lemart pelo apoio técnico e pela constante disposição em ajudar.

À banca avaliadora, deixo minha gratidão pela leitura generosa e pelas

reflexões que ampliaram o horizonte desta tese.

Ao Centro Universitário Dinâmica das Cataratas (UDC), agradeço pela infraestrutura que possibilitou avanços essenciais, estendendo minha gratidão à professora Rosicler Hauagge do Prado, reitora da UDC, pelo apoio institucional. Ao Prof. Dr. Adílson Ricken Schuelter, agradeço pela valiosa colaboração nas análises ecotoxicológicas e pelo incentivo constante. À querida Cida, expresse sentimentos de profundo reconhecimento: seu cuidado e dedicação foram fundamentais.

Às colegas de grupo do PPGIES, Jaqueline Orth, Flávia Santos, Kathleen Risson e Fernanda Rubio, minha gratidão pelos sorrisos compartilhados, pelo acolhimento e pela presença que aliviou algumas etapas desafiadoras. À Suzan Bernal, obrigada pela colaboração, que mesmo à distância foi essencial e muito significativa. À Maria Gabriela Azevedo Barros, deixo meu agradecimento especial pela parceria decisiva em tantas fases desta pesquisa e pela amizade que me acolheu e fortaleceu ao longo do caminho.

À minha família, porto seguro desta caminhada, agradeço por cada gesto de carinho e por cada palavra de incentivo. À minha irmã, Catarina, pela presença constante; à minha mãe, Maria de Lourdes, pelo exemplo de força e amor que sustenta gerações; e aos demais familiares que, embora nem sempre familiarizados com o meu campo de estudo, fizeram com que eu me sentisse apoiada em cada etapa desta jornada. Aos meus sogros, Ernesto e Nilda, deixo também minha gratidão pelo afeto e apoio constante.

Aos meus filhos, Juliann e Otavio, agradeço por serem minha fonte inesgotável de amor. Obrigada por compreenderem minhas ausências e por encherem meus dias de sentido. Esta conquista também é de vocês, e desejo que ela inspire a valorização do estudo e do aprendizado contínuo.

E ao meu esposo, Rodrigo Grignet, meu companheiro de todas as horas, agradeço com o coração pleno. Sua paciência, sua força, sua amizade e seu amor foram abrigo quando a tempestade se aproximava. Sem você, esta caminhada teria sido mais pesada. Com você, ela se tornou possível.

Este trabalho é mais do que um resultado acadêmico: é a celebração de uma jornada humana. É feito de ciência, mas também de afeto. É feito de noites solitárias e de mãos que me ampararam. A todos que, de alguma maneira, tocaram minha história e me impulsionaram a seguir, deixo meu mais profundo e eterno agradecimento.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	24
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	29
2.1 Contaminantes Emergentes.....	29
2.2 Fármacos como Contaminantes Emergentes.....	32
2.2.1 Panorama e lacunas regulatórias sobre contaminantes emergentes.....	37
2.2.1.1 Contexto nacional.....	38
2.2.1.2 Contexto internacional.....	40
2.3 Rotas de contaminação de fármacos e demais CEs nos ecossistemas.....	42
2.4 Efeitos nocivos aos ecossistemas e seres vivos.....	45
2.5 Tratamento para remoção dos fármacos do ambiente.....	50
2.5.1 Microrganismos e técnicas de triagem enzimática.....	54
2.5.2 Biorremediação microbiana.....	57
2.5.3 O papel dos fungos na biorremediação de fármacos.....	59
2.6 Ecotoxicologia como ferramenta de apoio à avaliação de risco ambiental.....	64
2.7 Contextualizando o Cenário da Pesquisa.....	66
3. OBJETIVOS	70
3.1 Objetivo Geral.....	70
3.2 Objetivos Específicos.....	70
4. METODOLOGIA	71
4.1 Tipo de pesquisa e etapas metodológicas.....	71
4.2 Localização da área e Pontos de coleta.....	74
4.3 Coleta e transporte das amostras.....	75
4.4 Reagentes e Soluções.....	75
4.4.1 Fármacos selecionados.....	75
4.4.2 Soluções de Fármacos.....	77
4.4.3 Meios de Cultura.....	77
4.4.4 Soluções Tampão.....	79
4.5 Processamento das amostras e isolamento dos microrganismos.....	80
4.5.1 Enriquecimento das amostras.....	80
4.5.2 Isolamento e preservação dos microrganismos.....	81
4.6 Preparação dos inóculos para os ensaios experimentais.....	82
4.7 Teste de viabilidade celular.....	83
4.7.1 Fungos.....	84

4.7.2 Bactérias	85
4.7.3 Análise estatística	86
4.8 Identificação dos isolados fúngicos	86
4.8.1 Caracterização morfológica	87
4.8.2 Identificação Molecular	87
4.9 Triagem enzimática	91
4.9.1 Avaliação qualitativa da atividade enzimática em meio sólido	91
4.9.1.1 Celulase	91
4.9.1.2 Lacase	92
4.9.1.3 Lipase	92
4.9.2 Avaliação enzimática quantitativa a partir de extrato enzimático	93
4.9.2.1 Determinação da atividade de Lacase (Lac)	95
4.9.2.2 Determinação da atividade de Manganês Peroxidase (MnP)	95
4.9.2.3 Determinação da atividade de Lignina Peroxidase (LiP)	95
4.9.3 Avaliação enzimática quantitativa por meio de sondas fluorogênicas.....	96
4.9.4 Análise estatística	98
4.10 Biodegradação de compostos orgânicos.....	99
4.10.1 Fungos selecionados	99
4.10.2 Fármaco utilizado nos ensaios de biodegradação	99
4.10.3 Controle de qualidade do Ibuprofeno	100
4.10.3.1 Ponto de Fusão	100
4.10.3.2 Infra-vermelho	100
4.10.3.3 Ressonância Magnética Nuclear	101
4.10.4 Bioensaio de citotoxicidade do Ibuprofeno	101
4.10.5 Reação de biodegradação do Ibuprofeno por fungos	103
4.10.5.1 Extração e purificação das amostras.....	104
4.10.6 Análise química do ensaio de biodegradação	106
4.10.6.1 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)	106
4.10.6.2 Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada ao espectrômetro de massas (UPLC-MS/MS).....	107
4.11 Ensaio de Ecotoxicidade	107
4.11.1 Seleção da cultivar e planejamento experimental.....	107
4.11.2 Preparo das amostras e montagem dos ensaios.....	108
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	113

5.1 Avaliação dos parâmetros <i>in situ</i>	113
5.2 Isolamento de microrganismos.....	114
5.3 Teste de viabilidade celular	118
5.4 Identificação dos fungos de interesse	122
5.4.1 Caracterização macro e micromorfológica das linhagens fúngicas.....	122
5.4.2 Caracterização molecular dos fungos	125
5.4.3 Potencial biotecnológico e aplicabilidade ambiental dos fungos identificados neste estudo	130
5.5 Testes enzimáticos	132
5.5.1 Ensaio qualitativos em placa	132
5.5.2 Triagem enzimática quantitativa	133
5.6 Biodegradação do Ibuprofeno por fungos filamentosos.....	147
5.6.1 Relevância do Ibuprofeno em estudos de biodegradação	147
5.6.2 Controle de qualidade do fármaco Ibuprofeno.....	148
5.6.3 Bioensaio de citotoxicidade do ibuprofeno	150
5.6.4 Avaliação da Biodegradação do Ibuprofeno	151
5.6.5 UPLC/MS	153
5.6.5.1 UPLC/MS para <i>Geotrichum</i> sp._FAR003	153
5.6.5.2 UPLC/MS para <i>Talaromyces</i> sp._FAR012	156
5.7 Biodegradação do ibuprofeno e formação de metabólitos hidroxilados	158
5.7.1 Biotransformação do ibuprofeno e formação do 3-hidroxi-ibuprofeno.....	160
5.7.2 Biotransformação do ibuprofeno e formação do 2-hidroxi-ibuprofeno.....	160
5.7.3 Biotransformação do ibuprofeno e formação do 1-hidroxi-ibuprofeno.....	164
5.7.4 Comparação dos perfis de biotransformação e atividade enzimática dos isolados fúngicos	164
5.8 Avaliação do ensaio de ecotoxicidade.....	1657
5.8.1 Efeitos do ibuprofeno sobre a germinação de <i>Lactuca sativa</i>	169
5.8.2 Efeito do ibuprofeno sobre o desenvolvimento das plântulas	170
5.8.2.1 Efeito da dose sobre a raiz.....	170
5.8.2.2 Efeito da dose sobre a parte aérea	172
5.8.3 Índice de Toxicidade do ibuprofeno em <i>Lactuca sativa</i>	173
5.8.4 Limitações do bioensaio ecotoxicológico.....	182
5.8.5 Perspectivas de pesquisa para ensaios ecotoxicológicos.....	182
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	184

6.1 Principais contribuições científicas desta pesquisa	185
6.2 Limitações do estudo	185
6.3 Perspectivas e estudos futuros.....	185
7. CONCLUSÃO	186
REFERÊNCIAS	187
APÊNDICES	218
Apêndice A - Código dos Isolados	218
Apêndice B - Tabelas com os dados estatísticos do teste de viabilidade celular....	219
Apêndice C - Dados estatísticos do <i>screening</i> enzimático realizado por sondas...	227
Apêndice D - Espectros de fragmentação de massas para o ibuprofeno e para os isômeros identificados	232
Apêndice E - Avaliação do desenvolvimento de <i>Lactuca sativa</i>	238

1. INTRODUÇÃO

A água é um recurso natural indispensável à vida e essencial para a maioria das atividades econômicas, sendo rios, riachos e lagos as principais fontes de abastecimento. No entanto, sua qualidade vem sendo comprometida devido ao despejo crescente e contínuo de efluentes domésticos e industriais (Li *et al.*, 2024; Pol *et al.*, 2019; Heck *et al.*, 2017). Esse cenário se agrava com o crescimento populacional e o conseqüente aumento do consumo individual, ampliando a pressão sobre os mananciais de abastecimento público (Tarekegn *et al.*, 2020).

Nos últimos anos, a preocupação com a qualidade da água tornou-se ainda mais crítica, visto que métodos convencionais de tratamento físico-químico frequentemente não conseguem remover completamente substâncias potencialmente tóxicas. Entre eles destacam-se os contaminantes emergentes (CEs), também denominados micropoluentes ambientais, cuja presença tem sido registrada mesmo após o tratamento de água e esgoto (Kaur; Krol; Brar, 2021; Zeng *et al.*, 2021). Embora detectados em concentrações traço, esses compostos podem desencadear toxicidade biológica, indução de resistência antimicrobiana e efeitos genotóxicos (Simonetti *et al.*, 2025; Saxena *et al.*, 2021; Bilal *et al.*, 2019a; Riaz *et al.*, 2018; Montagner; Vidal; Acayaba, 2017).

Os CEs são detectados em todos os compartimentos ambientais, como água, solo, sedimentos e ar, sendo provenientes, em sua maioria, de fontes antrópicas, como efluentes domésticos, industriais, hospitalares e agrícolas, além de fontes naturais, como metabólitos de plantas e microrganismos (Huang *et al.*, 2023; Bernstein, 2022; Farto *et al.*, 2021a; Chaves *et al.*, 2020). O destino e os efeitos ecotoxicológicos de muitos desses compostos permanecem parcialmente desconhecidos ou cercados de incertezas, reforçando a urgência de estudos que elucidem rotas de exposição e impactos ambientais (Godoi *et al.*, 2025; Molina *et al.*, 2020).

Os contaminantes emergentes incluem diferentes grupos de substâncias, como agrotóxicos, drogas ilícitas, fármacos, produtos de higiene pessoal, nanocompostos e microplásticos. Estudos recentes têm enfatizado o monitoramento desses agentes em diferentes matrizes ambientais como indicadores de

contaminação (Singh *et al.*, 2024; Chaves *et al.*, 2020; Xie *et al.*, 2019; Schmeller *et al.*, 2018).

Dentro desse conjunto de contaminantes, os fármacos destacam-se como uma das classes mais frequentemente detectadas e estudadas, em razão de seu consumo contínuo, diversidade estrutural e potencial de causar efeitos ecotoxicológicos mesmo em baixas concentrações (Ramírez-Durán *et al.*, 2025; Li *et al.*, 2024).

A expansão contínua da diversidade química exerce pressão crescente sobre as Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) e as Estações de Tratamento de Água (ETAs). Embora fundamentais para a saúde pública, esses sistemas foram concebidos para remover sobretudo matéria orgânica, nutrientes e patógenos, e não moléculas complexas e recalcitrantes, como fármacos, agroquímicos e outros micropoluentes. Como consequência, a falta de adequação tecnológica dos processos convencionais permite que uma parcela significativa desses compostos ultrapasse as barreiras de tratamento e seja novamente liberada no ambiente, agravando a contaminação de águas superficiais e subterrâneas (Farto *et al.*, 2021b; Harish; Jegatheesan, 2025).

Sob uma perspectiva histórica e global, a intensificação das atividades industriais e o avanço tecnológico desde o século XIX resultaram na liberação de inúmeras substâncias no ambiente, muitas delas sem regulamentação específica e com potencial de causar impactos persistentes nos ecossistemas e na saúde humana e animal (Calvelli *et al.*, 2023). No Brasil, a ampla extensão territorial e os contrastes socioeconômicos expõem diferentes níveis de pressão ambiental. Embora o país figure entre as dez maiores economias mundiais em 2025 (FMI, 2025), o elevado consumo acarreta desafios típicos de nações desenvolvidas, especialmente quanto ao descarte inadequado de substâncias químicas.

A presença contínua de CEs em águas superficiais, subterrâneas, solos, sedimentos e até na atmosfera tem sido associada a perturbações endócrinas e alterações comportamentais em organismos aquáticos de diferentes níveis tróficos, evidenciando riscos para o funcionamento e a estabilidade dos ecossistemas (Das *et al.*, 2024; Riaz *et al.*, 2018; Montagner; Vidal; Acayaba, 2017; Bilal *et al.*, 2019a). Adicionalmente, Kourtchev *et al.*, (2025) demonstraram que compostos farmacêuticos e outros CEs podem volatilizar, aderir a partículas atmosféricas e sofrer transporte de

longa distância, contribuindo para a recontaminação de solos e corpos hídricos por deposição seca e úmida.

Diante dos riscos ecotoxicológicos e sanitários, torna-se essencial avançar em marcos regulatórios e práticas mais eficazes de gestão de resíduos químicos (Silva *et al.*, 2023). A formulação de políticas depende de dados robustos sobre toxicidade, ocorrência e mecanismos de ação desses compostos, bem como de estratégias de mitigação e monitoramento (Farto *et al.*, 2021; Mani *et al.*, 2023; Singh *et al.*, 2024).

Apesar dos avanços no monitoramento desses compostos, ainda há lacunas quanto à compreensão dos processos naturais de transformação de fármacos em ambientes aquáticos e de como tais processos podem influenciar seus efeitos ecotoxicológicos, especialmente em organismos não alvo (Godoi *et al.*, 2025; Molina *et al.*, 2020; Farto *et al.*, 2021a; Mani *et al.*, 2023; Singh *et al.*, 2024).

Nesse cenário global, a análise em escala local torna-se fundamental. Ambientes aquáticos urbanos e periurbanos do oeste do Paraná, como o riacho Arroio Dourado, inserido em área sob pressão antrópica, configuram sistemas particularmente relevantes para investigação, pois recebem aporte contínuo, pontual e difuso, de efluentes domésticos e urbanos, o que pode favorecer tanto a presença de fármacos quanto a seleção de microrganismos com repertório metabólico adaptado à transformação de xenobióticos (Singh *et al.*, 2025; Zhang *et al.*, 2024; Soares *et al.*, 2023).

Entre os CEs, o ibuprofeno, um anti-inflamatório não esteroideal (AINE), destaca-se devido ao seu uso massivo e à detecção recorrente em diferentes matrizes ambientais. Sua persistência representa risco ambiental e potencial impacto à saúde pública (Almeida; Mendonça, 2024; Ratnasari *et al.*, 2024; Bernstein, 2022). Ademais, o ibuprofeno se sobressai não apenas pela frequência de ocorrência em ambientes aquáticos, mas também por evidências consistentes de efeitos ecotoxicológicos em diferentes níveis de organização biológica, o que o torna um composto-alvo estratégico (Peng *et al.*, 2024). Nesse sentido, sua seleção possibilita integrar triagens microbiológicas, avaliação de potencial enzimático, análises químicas avançadas e bioensaios com plantas, permitindo investigar, de forma consistente, tanto os processos de transformação quanto os efeitos biológicos decorrentes de sua presença no ambiente.

Nesse contexto, abordagens baseadas em processos biológicos têm ganhado

destaque, e a biorremediação desponta como uma alternativa promissora, sustentável e de custo reduzido para mitigar a presença de micropoluentes. Essa abordagem utiliza microrganismos, especialmente bactérias e fungos capazes de transformar ou degradar compostos recalcitrantes por meio de um repertório diversificado de enzimas, como lacases, peroxidases, hidrolases, lipases, celulases, xilanases e oxigenases (Zeng *et al.*, 2021; Guardado *et al.*, 2019). A busca por práticas sustentáveis tem impulsionado o uso desses organismos como alternativas eficientes aos métodos físico-químicos convencionais (Zhou; Zhang; Cai, 2021; Giovanella *et al.*, 2020). Microrganismos isolados de ambientes potencialmente degradados podem apresentar rotas metabólicas adaptadas a xenobióticos, frequentemente associadas a genes de resistência e transformação (Dong *et al.*, 2021; Madamwar *et al.*, 2021).

Além disso, a ecotoxicologia vegetal tem sido amplamente utilizada para avaliar os efeitos de CEs sobre organismos não alvo. Bioensaios com *Lactuca sativa* são reconhecidos por sua sensibilidade, baixo custo e aplicação em protocolos internacionais, permitindo identificar efeitos letais e subletais por meio de parâmetros como germinação e crescimento radicular (Mendes *et al.*, 2021; Chan-Keb *et al.*, 2022; ISO, 2016; OECD, 2006; USEPA, 2012; Rede *et al.*, 2019; Silva *et al.*, 2023a).

Este estudo se alinha a vários Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Organização das Nações Unidas (ONU). O ODS 3 (saúde e bem-estar) é contemplado ao reduzir riscos à saúde humana e animal associados à presença de fármacos; o ODS 6 (água potável e saneamento) é atendido por meio da preservação da qualidade da água; o ODS 13 (ação contra a mudança global do clima) é contemplado ao adotar métodos de biodegradação com menor impacto ambiental; e o ODS 14 (vida na água) é reforçado ao proteger ecossistemas aquáticos e a biodiversidade (Unesco, 2021).

Diante desse contexto, o presente trabalho teve como objetivo realizar a triagem de microrganismos isolados do sedimento do riacho Arroio Dourado frente a diferentes classes de fármacos e avaliar o potencial de biodegradação do ibuprofeno por fungos selecionados, bem como investigar os efeitos fitotóxicos desse fármaco em *Lactuca sativa* sob diferentes concentrações. Ao integrar análises microbiológicas, enzimáticas e ecotoxicológicas, esta pesquisa busca fornecer subsídios científicos sólidos para o desenvolvimento de estratégias sustentáveis de mitigação de CEs.

Nesse sentido, parte-se da hipótese de que microrganismos isolados do sedimento do riacho Arroio Dourado apresentam capacidade de biodegradar ou biotransformar fármacos, incluindo o ibuprofeno, e que essa atividade metabólica contribui para a redução de seus efeitos fitotóxicos, configurando um processo natural com potencial de atenuação ambiental.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Contaminantes Emergentes

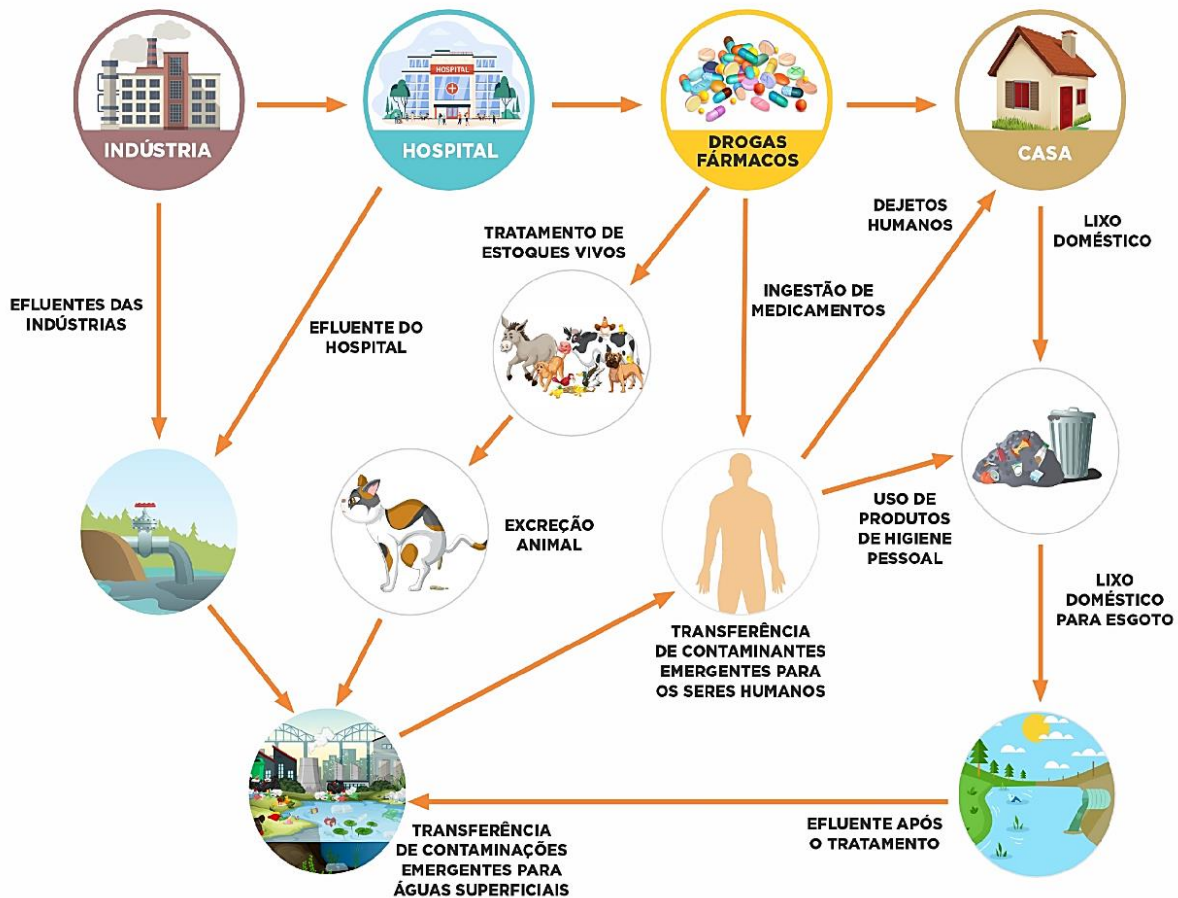
Até o início da década de 1990, as pesquisas em monitoramento ambiental e saúde concentravam-se predominantemente em poluentes orgânicos persistentes e metais pesados, cuja ocorrência tornou-se relativamente controlada com a implementação de normativas específicas e tecnologias de tratamento mais eficientes (Trimidi *et al.*, 2018; Petrovic *et al.*, 2014). A partir desse período, a atenção da comunidade científica voltou-se para outros grupos de compostos, conhecidos como contaminantes emergentes (CEs), que passaram a representar um problema ambiental em razão de sua ampla ocorrência em diferentes ambientes naturais e da ausência de regulamentação específica (Montagner; Vidal; Acayaba, 2017).

Neste estudo, os CEs são definidos como substâncias naturais ou sintéticas, muitas vezes ainda sem limites normativos específicos, detectadas em concentrações traço no ambiente e associadas a potenciais efeitos adversos em organismos e ecossistemas (Dulio *et al.*, 2024; Coccia; Bontempi, 2023; Sivaranjane; Kumar, 2021; Farto *et al.*, 2021a; Montagner *et al.*, 2019; Kourtchev *et al.*, 2025; Rout *et al.*, 2021).

Nesse contexto, Os CEs englobam uma ampla variedade de substâncias e misturas químicas identificadas em diferentes matrizes ambientais, estando fortemente associados a práticas cotidianas relacionadas à atividade industrial, agrícola e aos cuidados médico-hospitalares e veterinários (Simonetti *et al.*, 2025; Ramírez-Malule *et al.*, 2020). Essas substâncias incluem, entre outros, fármacos, agrotóxicos, drogas ilícitas, produtos de higiene pessoal, nanocompostos e microplásticos (Simonetti *et al.*, 2025; Li *et al.*, 2024; Singh *et al.*, 2024; Chaves *et al.*, 2020; Ramírez-Malule *et al.*, 2020).

Para fins de contextualização, a Figura 1 apresenta um fluxograma ilustrativo das principais rotas de geração, liberação e disseminação dos CEs no ambiente aquático, conforme proposto por Coccia e Bontempi (2023). De forma complementar, para melhor entendimento da classificação desses CEs, Li *et al.*, (2024) os categorizaram em seis classes com base em sua origem, uso e características químicas (Quadro 1).

Figura 1 – Esquema ilustrativo das principais classes de contaminantes emergentes, fontes de origem e matrizes ambientais afetadas.



Fonte: Adaptado de Coccia; Bontempi (2023)

Os CE são detectados em todos os compartimentos ambientais, incluindo águas superficiais e subterrâneas, solos, sedimentos e atmosfera, provenientes majoritariamente de fontes antrópicas, como efluentes domésticos, industriais, hospitalares e agrícolas, além de fontes naturais, como metabólitos de plantas e microrganismos (Huang *et al.*, 2023; Bernstein, 2022; Farto *et al.*, 2021a; Chaves *et al.*, 2020). Além disso, o destino e a persistência de muitos desses compostos permanecem parcialmente desconhecidos, sendo influenciados por propriedades físico-químicas como solubilidade, volatilidade, estabilidade e coeficientes de partição (Godoi *et al.*, 2025; Molina *et al.*, 2020).

Quadro 1 – Principais classes de contaminantes emergentes e exemplos de algumas substâncias detectadas no ambiente.

Categoria CEs	Exemplos
Fármacos e Produtos de Cuidado Pessoal (PPCPs)	Quimioterápicos: ciclofosfamida, ifosfamida; Antidepressivos: fluoxetina, sertralina, citalopram; Antibióticos: ciprofloxacina, eritromicina; Hormônios: estradiol, etinilestradiol; Antiepilépticos: carbamazepina; Analgésicos: AAS, dipirona, paracetamol; Anti-inflamatórios: diclofenaco, ibuprofeno, cetoprofeno; Betabloqueadores: propranolol.
Nanomateriais (NMs)	Nanopartículas de prata, nanotubos de carbono, dióxido de titânio, fulerenos, nanopartículas de sílica, nanopartículas de óxido de zinco e óxido de cério.
Compostos Desreguladores Endócrinos (EDCs)	Bisfenol A (BPA); Dioxinas (1,2,3,7,8-pentaclorodibenzo-p-dioxina); Ftalatos (di(2-etilhexil) ftalato); Perclorato de amônio; Pesticidas (atrazina, glifosato); Alquilfenóis (nonilfenol).
Substâncias Per e Polifluoroalquiladas (PFAS)	Ácido perfluorooctanossulfônico (PFOS), Ácido perfluorohexanossulfônico (PFHxS), Compostos GenX, Ácido perfluorononanoico (PFNA), Ácido perfluorobutano sulfônico (PFBS).
Poluentes Industriais e Substâncias Químicas	Metais pesados: mercúrio, chumbo; Fibras de amianto: crisotila, amosita; Nitrosaminas: N-nitrosodimetilamina; Clorofluorcarbonos (CFCs): triclorofluorometano; Retardantes de chama bromados; Compostos orgânicos voláteis: benzeno, tolueno, xileno.
Produtos Plásticos e Microplásticos	Plásticos biodegradáveis; Microesferas plásticas (microbeads); Microfibras (nylon, poliéster); Espumas: poliuretano, isopor; filmes plásticos; nurdles: pequenos pellets de plástico.

Fonte: Li *et al.*, (2024).

A presença contínua de CEs tem sido associada a perturbações endócrinas, alterações comportamentais e efeitos genotóxicos em organismos de diferentes níveis tróficos, bem como à seleção e disseminação de microrganismos com resistência antimicrobiana, mesmo em concentrações traço (Bilal *et al.*, 2019a; Riaz *et al.*, 2018; Saxena *et al.*, 2021; Simonetti *et al.*, 2025; Montagner; Vidal; Acayaba, 2017). Dessa

forma, esses efeitos reforçam a preocupação quanto ao impacto crônico desses compostos sobre a saúde ambiental e humana.

A maioria dessas substâncias apresenta alta solubilidade em água e baixa velocidade de degradação, características que favorecem sua permanência e persistência no meio ambiente, associadas ainda ao contínuo aporte acumulativo (Montagner *et al.*, 2019). Consequentemente, os CEs alcançam os corpos hídricos, acumulando-se ao longo do tempo na água e nos sedimentos, sendo detectados em baixas concentrações inclusive em água potável (Huang *et al.*, 2020; Cartaxo *et al.*, 2020).

Diversas pesquisas indicam que essas substâncias não são removidas por completo nos sistemas de tratamento atualmente implantados, além de evidenciarem a ausência de regulamentação que estabeleça limites de tolerância para muitos desses compostos (Harish; Jegatheesan, 2025; Branco *et al.*, 2021; Ribas *et al.*, 2021; Farto *et al.*, 2021a; Rout *et al.*, 2021; Quadra *et al.*, 2017).

Adicionalmente, apesar da crescente evidência científica, muitos CEs ainda não possuem limites máximos estabelecidos em legislações nacionais e internacionais, o que dificulta sua gestão e controle (Silva *et al.*, 2023; Mani *et al.*, 2023). A formulação de políticas públicas depende de dados robustos sobre ocorrência, toxicidade, destino ambiental e mecanismos de ação (Alygizakis *et al.*, 2020; Puri *et al.*, 2023; Bakare-Abidola; Olaoye, 2025).

Nesse contexto, iniciativas internacionais, como a rede NORMAN (*Network of Reference Laboratories, Research Centres and Related Organisations*), têm atuado na harmonização de métodos analíticos, na compilação de dados de ocorrência e na priorização de CEs para monitoramento e avaliação de risco, contribuindo para avanços na gestão desses contaminantes (Dulio *et al.*, 2024; NORMAN, 2025).

2.2 Fármacos como Contaminantes Emergentes

Os fármacos constituem uma das classes mais relevantes entre os CEs, sendo amplamente detectados em diferentes matrizes ambientais e reconhecidos como micropoluentes de preocupação ambiental crescente (Silva *et al.*, 2023; Huang *et al.*, 2020; Rasheed *et al.*, 2019; Zur *et al.*, 2018; Alygizakis *et al.*, 2016; Fabregat *et al.*, 2016).

Esses compostos abrangem diversas classes terapêuticas, e as propriedades físico-químicas individuais de cada fármaco, associadas às condições ambientais, determinam seu destino e comportamento no ambiente, de modo que alguns apresentam maior persistência e potencial de acumulação, enquanto outros são mais rapidamente transformados ou removidos, influenciando diretamente sua disseminação e detecção em ambientes aquáticos e terrestres (Quadra *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2023).

Alguns fármacos são classificados como desreguladores endócrinos (DEs), definidos como compostos naturais ou sintéticos capazes de mimetizar, bloquear ou interferir na ação dos hormônios naturais em humanos e animais (Maia, 2020). Entre esses compostos destacam-se os hormônios naturais, como o estradiol (E2), e os sintéticos, presentes em anticoncepcionais orais, como o etinilestradiol (EE2), além dos subprodutos de metabolismo, como estrona (E1) e estriol (E3), frequentemente identificados em diferentes matrizes ambientais (Farto *et al.*, 2021a; Montagner *et al.*, 2019). Esses compostos interferem diretamente no funcionamento do sistema endócrino; uma complexa rede de glândulas e hormônios responsável pela regulação de processos fisiológicos essenciais, podendo causar disfunções reprodutivas e metabólicas em organismos aquáticos e terrestres (Li *et al.*, 2024).

Além dos DEs, outras classes farmacológicas apresentam potencial impacto ambiental. As principais incluem os antitêrmicos, antimicrobianos, anti-inflamatórios (AINEs) e antidepressivos, substâncias amplamente utilizadas na medicina humana e veterinária (Ribas *et al.*, 2021; De Sousa *et al.*, 2020; Zur *et al.*, 2018). Nas últimas décadas, o consumo desses medicamentos aumentou significativamente em escala global, inclusive no Brasil, especialmente os de venda livre, como analgésicos, AINEs e antitêrmicos, e os de uso contínuo, como anticoncepcionais e antidepressivos (Montagner; Vidal; Acayaba, 2017). Esse padrão de consumo, aliado ao descarte inadequado, contribui para o aumento da presença de fármacos em águas superficiais, subterrâneas e sedimentos (Chaves *et al.*, 2020; Lima *et al.*, 2017).

Embora frequentemente detectados em concentrações de traço, os fármacos e seus metabólitos podem interagir sinergicamente no ambiente, produzindo efeitos mais intensos do que aqueles esperados individualmente (Cartaxo *et al.*, 2020; Bisognin; Wolff; Carissimi, 2018). A presença contínua dessas substâncias pode induzir resistência bacteriana, alterar a estrutura de comunidades microbianas e afetar

a biota aquática, representando riscos aos ecossistemas e à saúde (Saxena *et al.*, 2021; Alcalá, Navarro; Lopez, 2017; Montagner; Vidal; Acayaba, 2017).

Os primeiros registros científicos sobre a presença de fármacos em águas residuárias datam da década de 1970, nos Estados Unidos da América (EUA), quando estudos pioneiros identificaram compostos farmacêuticos em estações de tratamento de esgoto - ETEs (Lima *et al.*, 2017). Desde então, a fármaco-contaminação passou a ser considerada um problema ambiental emergente em países como Alemanha, Canadá, Inglaterra, Itália, Suécia, Estados Unidos e Brasil. No contexto brasileiro, as primeiras investigações sobre CEs em ecossistemas aquáticos ocorreram na década de 1990, nos estados de São Paulo (Lanchote *et al.*, 2000) e Rio de Janeiro (Stumpf *et al.*, 1997; 1999). Desde então, a presença de fármacos vem sendo reportada em diversas regiões e matrizes aquáticas (De Sousa *et al.*, 2020; Montagner *et al.*, 2019; Montagner; Vidal; Acayaba, 2017). Observa-se que a maior concentração de estudos sobre CEs ocorre nas regiões Sul e Sudeste, refletindo a maior infraestrutura de pesquisa e monitoramento ambiental nessas áreas (Bila *et al.*, 2023; Branco *et al.*, 2021).

Quadra e colaboradores (2017) realizaram um levantamento sobre as principais classes de fármacos detectadas em águas brasileiras entre 1999 e 2017. O estudo identificou a presença recorrente de hormônios, antibióticos, analgésicos, AINEs, antipiréticos e cafeína, sendo os hormônios os mais frequentemente avaliados no período. Compostos como diclofenaco, naproxeno, paracetamol, ibuprofeno e amoxicilina também figuram entre os mais detectados. Outras classes, como antilipêmicos, antidiabéticos e antidepressivos, embora menos estudadas, também apresentam potencial de contaminação relevante. O Quadro 2 apresenta uma síntese das classes de fármacos estudadas no Brasil, adaptada de Ribas *et al.*, (2021).

Chaves e colaboradores (2020) identificaram 33 fármacos e produtos de cuidado pessoal em águas e sedimentos dos rios Bacanga e Anil, no nordeste brasileiro. A cafeína apresentou as maiores concentrações (13.798 ng·L⁻¹), seguida por paracetamol, ibuprofeno, sulfametoxazol, carbamazepina e diclofenaco. Em sedimentos, foram encontrados triclocarban, benzofenona-3 e compostos parabênicos, indicando que a carga contaminante inclui tanto fármacos quanto aditivos cosméticos.

Em outro estudo, Thomas *et al.*, (2014) detectaram antidepressivos como

amitriptilina, citalopram e sertralina em amostras do rio Negro-Amazonas, sugerindo que a contaminação farmacêutica pode estar disseminada em diversas bacias hidrográficas do país. Essa situação tende a se intensificar, especialmente após a pandemia do coronavírus (COVID-19), que elevou o consumo global de antidepressivos e ansiolíticos (Castillo-Zacarías *et al.*, 2021).

Quadro 2 – Listagem de alguns CEs estudados no Brasil.

Grupos	Substâncias
Hormônios	estrona, estriol, androstenediona, progesterona, testosterona
Analgésicos e Anti-inflamatórios	diclofenaco, naproxeno, paracetamol, ibuprofeno, flunixinina, AAS, cetoprofeno
Antibióticos	amoxicilina, sulfametoxazol, trimetoprima, sulfadoxina, lincomicina, florfenicol, ciprofloxacina, sulfaquinoxalina, sulfamazina, sulfatiazol, norfloxacina, tilmicosina, tilosina, marbofloxacina, tetraciclina, sulfaclopiridazina, sulfadiazina, sulfadimetoxina, sarafloxacina, oxitetraciclina, clorotetraciclina, ofloxacina, danofloxacina, enrofloxacina, doxiciclina, clorofenicol, clindamicin,
Betabloqueadores	atenolol
Anticonvulsivos	carbamazepina
Estimulantes	cafeína
Antilipêmicos	gemfibrozil, bezafibrato
Antiparasíticos	ivermectina, fenbendazol sulfona, fenbendazol
Antifúngicos	miconazol
Herbicidas	atrazina
Xenoestrogênios	bisfenol a, nonilfenol, fenol, etilparabeno, metilparabeno, propilparabeno

Fonte: Adaptado de Ribas *et al.*, 2021.

Em revisão recente, Godoi *et al.*, (2025) realizaram um compilado nacional sobre a detecção de AINEs em matrizes hídricas brasileiras, com maior incidência nas regiões Sudeste e Sul, especialmente nos estados de São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro. O estudo reporta o ibuprofeno e o diclofenaco como os fármacos mais frequentes, detectados inclusive em níveis superiores a 700 µg·L⁻¹ no rio São Francisco, e alerta que os efeitos endócrinos e oxidativos observados em espécies nativas evidenciam riscos ecotoxicológicos subestimados em razão da ausência de normas específicas para o controle desses compostos no Brasil.

Muitas das substâncias investigadas no Brasil são aquelas recomendadas

pela União Europeia (UE) para o monitoramento de CEs em águas destinadas ao abastecimento público. Entre essas substâncias, destacam-se os antibióticos e os desreguladores endócrinos (DEs), reconhecidos por seu potencial de interferir em processos biológicos essenciais (Souza, 2017). Os DEs, em particular, representam uma preocupação ambiental crescente, pois o acúmulo desses compostos em ecossistemas aquáticos compromete a reprodução, o crescimento e o equilíbrio hormonal de espécies aquáticas, além de potencialmente afetar a saúde humana (Sivaranjane; Kumar, 2021; Huang *et al.*, 2020; Aydemir; Ulusu, 2023). Nesse contexto, no oeste do Paraná, a dinâmica urbana e sanitária influencia diretamente a carga de micropoluentes, tornando riachos urbanos, como o Arroio Dourado, pontos estratégicos para investigar a ocorrência desses compostos, a seleção microbiana e os efeitos ecotoxicológicos associados.

Entre os fármacos de maior ocorrência ambiental destacam-se os AINEs, como o diclofenaco e o ibuprofeno, frequentemente detectados em rios, estuários e águas subterrâneas (Peng *et al.*, 2024; Ramírez-Durán *et al.*, 2025) e os mais estudados no Brasil (Godoi *et al.*, 2025). Em um estudo global abrangendo 71 países, o diclofenaco foi identificado em 50 deles, com concentrações acima dos níveis preditos de segurança ambiental (Beek *et al.*, 2016). Tais compostos são amplamente utilizados, e sua eliminação parcial em estações de tratamento evidencia a limitação dos sistemas convencionais para remoção de micropoluentes (Wydro *et al.*, 2024).

Segundo Maia (2020), a fármaco-contaminação tende a se agravar nas próximas décadas em virtude do aumento da expectativa de vida e do conseqüente crescimento populacional, que elevam o consumo de medicamentos. Lima *et al.*, (2017) reforçam que o uso indiscriminado e o descarte inadequado de fármacos, muitas vezes por desconhecimento dos riscos ambientais, são fatores determinantes para a presença desses compostos em corpos hídricos. Além disso, aspectos como o padrão de prescrição médica, o marketing farmacêutico, a epidemiologia local e a infraestrutura sanitária influenciam diretamente a concentração desses contaminantes (Ribas *et al.*, 2021; Maia, 2020).

A complexidade do percurso ambiental dos fármacos, desde sua produção até sua degradação final, ainda exige maior investigação. As características da poluição variam conforme o contexto socioeconômico e ambiental de cada região, o tipo de efluente gerado, as condições de tratamento e os fatores climáticos (Cartaxo *et al.*,

2020; Chaves *et al.*, 2020; Sivaranjane; Kumar, 2021). Em geral, os compartimentos mais afetados são os sedimentos e as águas superficiais e subterrâneas (Silva *et al.*, 2023; Cartaxo *et al.*, 2020).

O Brasil figura entre os maiores mercados farmacêuticos do mundo e apresenta tendência de crescimento contínuo no consumo de medicamentos (Freitas; Radis-Baptista, 2021). Esse cenário contribui para o aumento da carga de fármacos e de seus metabólitos lançados no ambiente, frequentemente detectados em drenagens urbanas e redes de esgoto. Estudos recentes relatam a presença de analgésicos, anti-hipertensivos e diuréticos em canais urbanos, com risco ecológico classificado entre moderado e alto (Roveri *et al.*, 2022). Tal problemática reflete uma tendência global, uma vez que resíduos farmacêuticos vêm sendo amplamente detectados em rios de diversos países, incluindo o Brasil (Wilkinson *et al.*, 2022).

Diante desse panorama, o avanço no monitoramento, identificação e tratamento de fármacos em ambientes aquáticos tornou-se essencial. Estudos recentes enfatizam a necessidade de desenvolvimento e aplicação de tecnologias mais eficientes de remoção, incluindo processos de oxidação avançada, uso de carvão ativado, membranas e biorremediação por fungos e bactérias (Farto *et al.*, 2021b; Wydro *et al.*, 2024; Wang *et al.*, 2024). Tais estratégias são fundamentais para reduzir o impacto cumulativo desses contaminantes e minimizar os riscos ecotoxicológicos associados à fármaco-contaminação.

2.2.1 Panorama e lacunas regulatórias sobre contaminantes emergentes

A crescente presença de CEs, entre eles os fármacos de uso humano e veterinário, tem provocado um deslocamento significativo na agenda ambiental global, exigindo respostas regulatórias mais consistentes, integradas e alinhadas às evidências científicas recentes. A expansão do consumo de medicamentos, aliada ao aumento das taxas de urbanização, limitações tecnológicas das Estações de Tratamento de Água e Esgoto (ETAs/ETEs) e lacunas normativas, contribui para a persistência desses compostos nas matrizes aquáticas. Esse cenário evidencia um descompasso estrutural entre o avanço dos métodos instrumentais de detecção, capazes de identificar concentrações traço na ordem de $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ a $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ e a lenta incorporação desses conhecimentos na formulação de marcos regulatórios (Gabriel,

2022; Pimenta *et al.*, 2023).

Diversas organizações internacionais vêm desempenhando papel fundamental no monitoramento de CEs, entre elas a Organização Mundial da Saúde (OMS), a União Europeia (UE) e a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) (Parida *et al.*, 2021). Desde 2014, a OMS vem atualizando progressivamente suas Diretrizes para a Qualidade da Água Potável, revisadas em 2022 e 2024, incorporando compostos anteriormente ausentes e reconhecendo o risco crescente dos fármacos detectados em sistemas de abastecimento (WHO, 2022; Harish; Jegatheesan, 2025). Adicionalmente, a falta de convergência entre listas internacionais de substâncias prioritárias reforça a importância de esforços de harmonização global, de modo a promover respostas regulatórias mais coerentes frente à universalização do problema.

2.2.1.1 Contexto nacional

No Brasil, apesar da robustez de instrumentos legais consolidados, ainda não há parâmetros específicos para fármacos e outros CEs nos principais dispositivos normativos da qualidade das águas. As Resoluções CONAMA nº 357/2005, 396/2008 e 430/2011 abordam padrões físico-químicos, microbiológicos e diretrizes gerais para o lançamento de efluentes, porém deixam de incorporar substâncias farmacológicas amplamente detectadas em corpos hídricos no país (Brasil, 2005; 2008; 2011; Gabriel, 2022).

Do ponto de vista da potabilidade, a Portaria GM/MS nº 888/2021 representou avanço ao atualizar o padrão de qualidade da água, embora não tenha incluído fármacos entre os parâmetros obrigatórios (Farto, 2024). A ausência de limites normativos específicos decorre de múltiplos fatores, incluindo lacunas de evidência toxicológica consolidada, viabilidade técnica de monitoramento em larga escala, custo analítico e processos de priorização regulatória, não devendo ser interpretada como indicativo de inexistência de risco ambiental ou sanitário (Zhao *et al.*, 2025; Li *et al.*, 2024).

Nesse contexto, essa omissão revela a persistente desconexão entre as políticas de vigilância sanitária e ambiental, dificultando a consolidação de estratégias integradas de monitoramento (Oliveira *et al.*, 2022; Nóbrega *et al.*, 2025).

No Brasil, a priorização regulatória ainda se concentra em parâmetros clássicos de potabilidade; o monitoramento de CEs esbarra em fatores estruturais, como o elevado custo de métodos analíticos, a limitada capacidade analítica de parte dos laboratórios estaduais, desigualdades regionais em saneamento básico, dificuldades político-institucionais para inclusão de novos parâmetros e a ainda incipiente demanda social por regulamentação desses compostos (Montagner; Vidal; Acayaba, 2017; Quadra *et al.*, 2017; Branco *et al.*, 2021; Bila *et al.*, 2023; OECD, 2022; USEPA, 2022; Harish; Jegatheesan, 2025; Bakare-Abidola; Olaoye, 2025).

O Decreto nº 10.388/2020, que instituiu o sistema de logística reversa de medicamentos domiciliares, foi o marco mais significativo da última década no campo regulatório nacional, definindo responsabilidades para fabricantes, distribuidores e varejistas. Entretanto, sua implementação ainda é desigual, sobretudo em municípios de pequeno porte, evidenciando limitações estruturais típicas de países em desenvolvimento (Brasil, 2020).

No âmbito institucional, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) dispõe de normativas relacionadas à produção e ao controle de medicamentos (Normativa nº 36/2019 e as Resoluções RDC nº 200/2017 e nº 71/2009), porém nenhuma delas estabelece diretrizes ambientais ou padrões de emissão. Essa lacuna reforça a necessidade de articulação interministerial entre saúde, meio ambiente e saneamento, especialmente diante das evidências de que os tratamentos convencionais atualmente implantados não removem eficientemente compostos como ibuprofeno, diclofenaco, atenolol, fluoxetina e carbamazepina (Farto, 2024; Wydro *et al.*, 2024; Wang; Gao; Zuo, 2024).

O Marco Legal do Saneamento Básico (Lei nº 14.026/2020) estabelece metas ambiciosas para 2033, incluindo universalização do abastecimento e expansão da coleta e tratamento de esgoto (Brasil, 2020b). Entretanto, a modernização das ETAs/ETEs, incorporando processos avançados, como ozonização, carvão ativado, membranas e biorremediação microbiana, ainda não está explicitamente vinculada ao enfrentamento dos CEs, o que limita a efetividade do arcabouço normativo (Harish; Jegatheesan, 2025; Medeiros *et al.*, 2022).

Assim, a convergência entre ciência, tecnologia e regulação permanece o maior desafio brasileiro para garantir qualidade hídrica e segurança ambiental nas próximas décadas. Em paralelo às limitações observadas no cenário brasileiro,

diferentes países e blocos econômicos apresentam níveis variados de avanço regulatório quanto aos CEs.

2.2.1.2 Contexto internacional

No cenário internacional, países e blocos econômicos apresentam níveis de avanço regulatório bastante distintos. A Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE), composta por 38 países, tem produzido relatórios estruturantes, como *Pharmaceutical Residues in Freshwater* (2019) e *Management of Pharmaceutical Household Waste* (2022), que consolidam a percepção de que os sistemas convencionais de tratamento não foram projetados para remover fármacos e que políticas de responsabilidade estendida do produtor devem ser ampliadas (OECD, 2019; 2022).

A União Europeia, por meio da Diretiva-Quadro da Água (DQA) de 2000, criou um dos marcos mais abrangentes de gestão hídrica do mundo, estabelecendo uma lista inicial de substâncias prioritárias, embora ainda sem fármacos. Revisões posteriores, especialmente após 2013, ampliaram o escopo regulatório e criaram a *Watch List*, que passou a incluir compostos farmacêuticos como diclofenaco, 17- β -estradiol e 17- α -etinilestradiol (Carere *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2024).

Cabe destacar que o monitoramento refere-se à detecção sistemática e geração de dados sobre ocorrência e concentração ambiental, enquanto regulamentação implica a definição de limites legais, padrões de qualidade e ações de conformidade (OECD, 2022; USEPA, 2022). Assim, mesmo em países com programas avançados de monitoramento, a maioria dos fármacos ainda não possui valores-limite legalmente estabelecidos (Li *et al.*, 2024; Harish; Jegatheesan, 2025; Bakare-Abidola; Olaoye, 2025). Nesse viés, a iniciativa NORMAN tem fortalecido o processo, introduzindo abordagens modernas de rastreio não-alvo (*suspect* e *non-target screening*), facilitando a inclusão de fármacos e outros CEs nas listas regulamentares europeias (Kourtchev *et al.*, 2025).

Nos Estados Unidos, a atuação da Agência de Proteção Ambiental (EPA) segue pautada pelo programa *UCMR* (*Unregulated Contaminant Monitoring Rule*) que monitora substâncias ainda não regulamentadas com o intuito de identificar compostos potencialmente perigosos à saúde e subsidiar futuras decisões

regulatórias e *Contaminant Candidate List (CCL)*, lista que reúne compostos não regulamentados. Embora a CCL5 (2021) inclua PFAS, cianotoxinas e outros compostos prioritários, nenhum fármaco foi inserido até 2021, revelando uma lacuna na legislação norte-americana (USEPA, 2022). O *Endocrine Disruptor Screening Program (EDSP)* complementa a abordagem, avaliando compostos capazes de interferir no sistema endócrino humano e de fauna aquática. Enquanto a Lei da Água Potável Segura - *Safe Drinking Water Act (SDWA)* regula limites máximos permitidos para diversos contaminantes (USEPA, 2022; Puri *et al.*, 2023; Harish; Jegatheesan, 2025; Bakare-Abidola; Olaoye, 2025). Esses instrumentos evidenciam o esforço da EPA em estabelecer diretrizes baseadas em evidências científicas, embora ainda haja deficiências quanto à inclusão de fármacos emergentes entre as substâncias oficialmente monitoradas.

Austrália e Nova Zelândia adotam um modelo preventivo robusto, com diretrizes nacionais de água potável e normas específicas para reúso, atualizadas em 2022 e 2025. A *Water Research Australia* mantém o banco de dados de produtos químicos emergentes para conscientização nacional (ECHIDNA), atualizado em 2023, o qual se tornou um dos sistemas mais abrangentes para priorização de CEs com base em persistência, bioacumulação e toxicidade (Neale *et al.*, 2023). As versões mais recentes das Diretrizes Australianas para Água Potável (ADWG) incluem recomendações específicas para monitoramento de ibuprofeno, carbamazepina e diclofenaco, mesmo sem definição de valores-guia (Australia, 2025; ANZG, 2018; OECD, 2023).

Na Ásia, o avanço regulatório é heterogêneo. Enquanto Singapura possui um dos sistemas mais rigorosos de monitoramento com 116 compostos analisados, países como Índia e Vietnã ainda enfrentam desafios estruturais, como escassez de dados, insuficiência de infraestrutura e descarga inadequada de efluentes (Mathew; Kanmani, 2020; Harish; Jegatheesan, 2025). A China consolidou suas Normas Nacionais de Qualidade da Água Potável (SDWQ, 2022) e iniciou planos de ação específicos para monitoramento de CEs na Bacia do Rio Amarelo, representando um dos esforços regulatórios mais substanciais do continente, incluindo estratégias de avaliação de risco (Feng *et al.*, 2023).

Em países africanos, como a Nigéria, e outros países em desenvolvimento, como o Brasil, lacunas de infraestrutura e marcos regulatórios ainda dificultam a

gestão de CEs, ressaltando a necessidade de cooperação internacional, fortalecimento institucional e criação de bases de dados unificadas (Ole *et al.*, 2024; Bakare-Abidola; Olaoye, 2025).

Em síntese, as análises recentes de Harish e Jegatheesan (2025) e Bakare-Abidola e Olaoye (2025) convergem ao enfatizar a urgência de políticas integradas, sustentadas por evidências científicas, metodologias de avaliação de risco e tecnologias ambientalmente sustentáveis. Embora haja avanços significativos, subsistem lacunas na regulação da fármaco-contaminação, especialmente em países de média e baixa renda, reforçando a centralidade da governança ambiental, inovação tecnológica e articulação multiescalar para o controle efetivo dos CEs.

2.3 Rotas de contaminação de fármacos e demais CEs nos ecossistemas

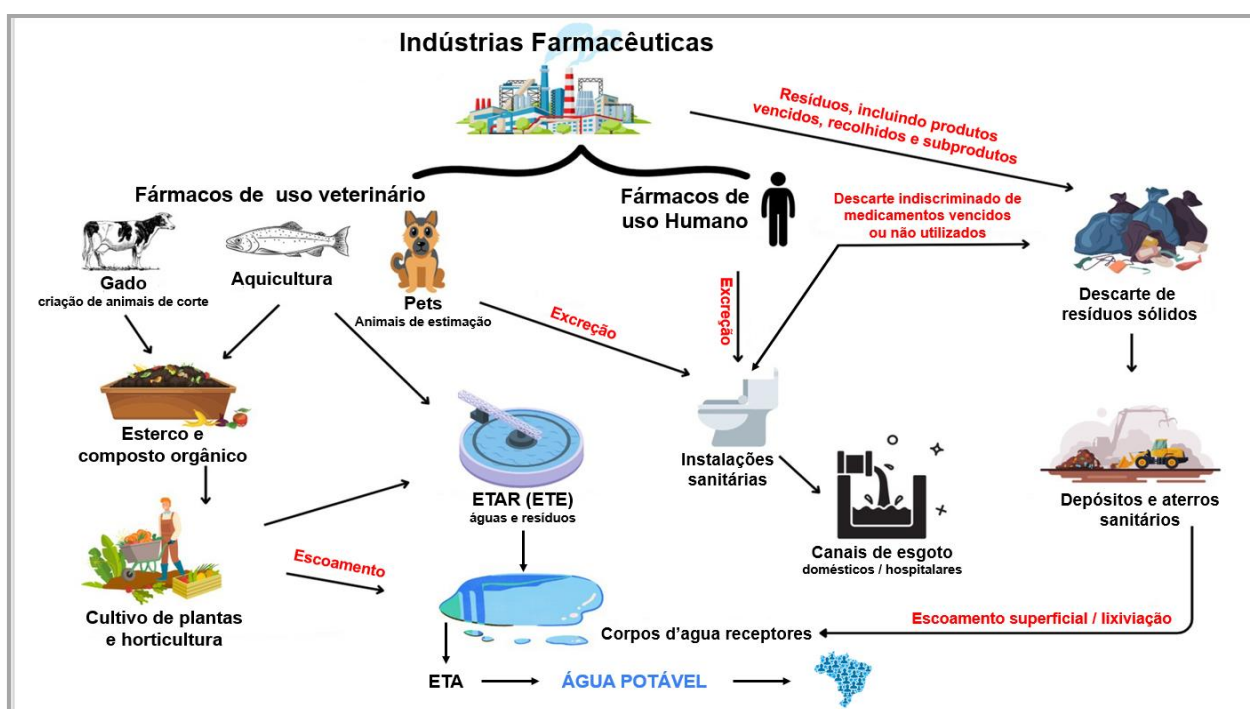
A presença de fármacos e de outros CEs no ambiente resulta, em grande parte, do lançamento de esgotos domésticos e industriais, tratados ou não, nos corpos hídricos. Além disso, as propriedades físico-químicas desses compostos, como solubilidade, volatilidade e estabilidade, determinam seu comportamento ambiental, influenciando tanto sua mobilidade quanto a eficiência dos métodos analíticos utilizados em sua detecção, como a cromatografia gasosa e líquida acopladas à espectrometria de massas (CG-MS e LC-MS) (Li *et al.*, 2024; Ribas *et al.*, 2021).

Adicionalmente, muitos fármacos sofrem apenas biotransformação parcial nos sistemas de tratamento, resultando na formação de metabólitos que podem manter atividade biológica ou apresentar toxicidade igual ou superior à do composto original, o que contribui para a complexidade do risco ambiental associado a esses contaminantes (Montagner; Vidal; Acayaba, 2017; Singh *et al.*, 2021; Godoi *et al.*, 2025).

De forma geral, as rotas de contaminação podem ser classificadas em fontes pontuais e difusas. As fontes pontuais incluem as estações de tratamento de esgoto (ETEs), descargas diretas de efluentes industriais e hospitalares e o descarte inadequado de resíduos farmacêuticos e hospitalares. Já as fontes difusas, de mais difícil controle, estão associadas ao escoamento superficial de águas pluviais, à lixiviação no solo, às práticas agrícolas que utilizam fertilizantes e medicamentos veterinários e a cenários oriundos de acidentes ou vazamentos (Simonetti *et al.*, 2025;

Branco *et al.*, 2021; Quadra *et al.*, 2018; Bisognin; Wolff; Carissimi, 2018). A Figura 2 ilustra as principais vias de entrada e destino de fármacos nos ecossistema, demonstrando a interconexão entre diferentes matrizes ambientais, como águas superficiais, subterrâneas e solos, e os processos de transporte e transformação que podem culminar na contaminação da água potável por estes produtos farmacêuticos (Godoi *et al.*, 2025; Quadra *et al.*, 2018; Ribeiro *et al.*, 2016).

Figura 2 – Principais vias de entrada, transporte e destino de fármacos e outros contaminantes emergentes no ambiente.



Legenda – Estação de tratamento de águas residuais (ETAR), Estação de tratamento de água (ETA).

Fonte: Adaptado de Amobonye *et al.*, (2023); Quadra *et al.*, 2018.

Em termos de relevância, tanto em escala global quanto nacional, as principais vias de entrada de fármacos e outros CE's estão associadas aos efluentes domésticos e hospitalares, especialmente em regiões onde a coleta e o tratamento de esgoto são insuficientes (Singh *et al.*, 2021; Godoi *et al.*, 2025). No Brasil, estudos indicam que as maiores concentrações desses compostos ocorrem em esgoto bruto, seguido de esgoto tratado e águas superficiais, evidenciando a ineficiência dos sistemas convencionais e o elevado aporte dessas fontes nos corpos hídricos (Montagner; Vidal; Acayaba, 2017; Quadra *et al.*, 2018; Farto *et al.*, 2021a; Branco *et*

al., 2021). Ademais, aproximadamente 48,2% do esgoto gerado no país ainda não recebe tratamento adequado, intensificando o aporte direto desses compostos nos corpos hídricos (Brasil, 2025a). Fontes difusas atuam de forma complementar, ampliando e redistribuindo a carga contaminante (Bisognin; Wolff; Carissimi, 2018; Simonetti *et al.*, 2025).

As rotas de contaminação por fármacos envolvem processos industriais, agrícolas, urbanos e atmosféricos, além de práticas inadequadas de descarte de resíduos sólidos e produtos domésticos, refletindo a complexidade do ciclo de vida dos CEs e tornando o controle e a mitigação um desafio crescente para a gestão ambiental (Li *et al.*, 2024).

A descarga industrial representa uma das principais vias de entrada desses contaminantes. Atividades industriais e de manufatura frequentemente liberam CEs nos sistemas aquáticos, incluindo solventes, plastificantes e intermediários farmacêuticos, com efeitos ecotoxicológicos relevantes (Jan *et al.*, 2023; Onyena *et al.*, 2023). Assim, compreender e controlar essas fontes é fundamental para reduzir o aporte contínuo desses poluentes e preservar a qualidade dos recursos hídricos.

Em complemento, o escoamento agrícola configura-se como importante fonte difusa, promovendo a lixiviação de fertilizantes, pesticidas e medicamentos veterinários, que podem infiltrar-se nos lençóis freáticos e contaminar águas superficiais. A aquicultura e o uso de adubos orgânicos oriundos de efluentes ampliam ainda mais a dispersão de CEs e metais pesados no ambiente (Santos *et al.*, 2022; Hossain *et al.*, 2023).

Entre as fontes pontuais, os sistemas de esgoto e tratamento ocupam papel central. Mesmo após o tratamento, muitos compostos não são completamente removidos, sendo liberados em concentrações traço. A eficiência limitada dessas estações na remoção de antibióticos, hormônios e AINEs tem sido amplamente documentada, contribuindo para bioacumulação e disseminação de resistência antimicrobiana (Singh *et al.*, 2021; Di Marcantonio *et al.*, 2023; Godoi *et al.*, 2025).

Outra via relevante é a deposição atmosférica, uma vez que determinados fármacos e outros CEs podem volatilizar, ser transportados pela atmosfera e depositar-se em regiões distantes das fontes de emissão (Barroso *et al.*, 2019; Tu *et al.*, 2024; Kourtchev *et al.*, 2025).

Por fim, o descarte inadequado e a lixiviação de resíduos em lixões e aterros

sanitários liberam lixiviados ricos em metais pesados, microplásticos e resíduos farmacêuticos, contaminando solos e águas subterrâneas (Pathak; Sushil, 2022; Pradhan *et al.*, 2023). Esses compostos, frequentemente resistentes aos processos convencionais de tratamento, atingem os ecossistemas aquáticos e terrestres, provocando efeitos tóxicos sobre a biota e potenciais riscos à saúde humana (Rathi *et al.*, 2021).

Compreender o destino e o comportamento ambiental dos fármacos e demais CEs é essencial para aprimorar sua gestão. Após atingirem o ambiente, esses compostos podem sofrer processos de atenuação natural, como sedimentação, volatilização, adsorção, degradação e biotransformação, influenciados por fatores físico-químicos e biológicos (Tong *et al.*, 2022). Diversos CEs apresentam elevada persistência e capacidade de bioacumulação, favorecendo sua incorporação em organismos aquáticos e seres humanos (Sanderson *et al.*, 2019; Freitas *et al.*, 2024), com exposição por ingestão, inalação ou absorção dérmica (Stefanakis; Becker, 2015), associada a danos teciduais, efeitos genotóxicos e risco carcinogênico (Vasseur *et al.*, 2020; Feng *et al.*, 2023a; Marcu *et al.*, 2023).

Compilações de estudos realizados no Brasil confirmam que as maiores concentrações de fármacos são observadas em esgoto bruto, seguidas de esgoto tratado, águas superficiais e águas de abastecimento público, evidenciando a ineficiência dos sistemas convencionais (Farto *et al.*, 2021a). Além disso, os sedimentos aquáticos atuam como reservatórios de CEs, prolongando sua liberação mesmo após o controle de fontes externas (Reichert *et al.*, 2020; Chaves *et al.*, 2020).

2.4 Efeitos nocivos aos ecossistemas e seres vivos

É amplamente reconhecido pela comunidade científica que os CEs constituem uma ameaça crescente à biodiversidade e à estabilidade dos ecossistemas. Seus efeitos ecológicos, persistentes e cumulativos, comprometem processos naturais, afetam cadeias tróficas e alteram o equilíbrio funcional de ambientes aquáticos e terrestres, demandando respostas conjuntas entre ciência, políticas públicas e inovação tecnológica. Essa preocupação global reflete o entendimento de que a presença contínua e cumulativa desses compostos pode causar impactos duradouros e de difícil reversão (Li *et al.*, 2024; Wang *et al.*, 2024; Simonetti *et al.*, 2025).

Além de efeitos agudos, os CEs podem induzir efeitos subletais e crônicos, tais como perturbações fisiológicas, reprodutivas, metabólicas e comportamentais, frequentemente detectáveis em concentrações na faixa de $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ e manifestadas muito antes da ocorrência de mortalidade. Tais respostas decorrem, em grande parte, de sua bioatividade e, para determinados compostos, de seu potencial de bioacumulação, o que explica por que os fármacos representam um risco ecotoxicológico relevante mesmo quando presentes em concentrações de traço (Molina *et al.*, 2020; Saxena *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2024; Trianda *et al.*, 2024; Yakameran *et al.*, 2025).

Entre os compostos mais preocupantes estão os fármacos hormonais e não hormonais, reconhecidos por afetarem de forma direta a fauna aquática. Diversos estudos relatam danos morfológicos e metabólicos, além de distúrbios endócrinos capazes de provocar feminização de peixes, redução da fertilidade, alterações na espermatogênese e mortalidade em organismos aquáticos e seus descendentes (Lima *et al.*, 2017; Adeel *et al.*, 2017; Rasheed *et al.*, 2019; Sivaranjane; Kumar, 2021). Tais efeitos configuram não apenas uma ameaça biológica, mas também um indicativo da fragilidade dos ecossistemas frente à persistência desses compostos.

Além dos impactos fisiológicos diretos, estudos recentes destacam que a exposição crônica a misturas complexas de diferentes classes de CEs pode desencadear efeitos ecotoxicológicos cumulativos, alterando o comportamento, o crescimento e os mecanismos de defesa antioxidante dos organismos aquáticos e terrestres (Molina *et al.*, 2020; Saxena *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2024; Yakameran *et al.*, 2025).

O reuso de águas residuais tratadas para irrigação agrícola tem sido identificado como uma importante via de disseminação de bactérias multirresistentes e genes de resistência antimicrobiana (ARGs). Esse processo é impulsionado pela presença de resíduos farmacêuticos e outros CEs, que persistem mesmo após o tratamento convencional, contaminando solos, plantas e águas subterrâneas (Sambaza, 2023; Meradji *et al.*, 2025). Embora as concentrações sejam frequentemente baixas, a exposição contínua e cumulativa pode comprometer a fertilidade do solo, a fisiologia vegetal e a segurança alimentar, sobretudo em cenários de exposição prolongada (Yakameran *et al.*, 2025).

Fármacos como analgésicos, anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs),

antibióticos e hormônios exercem efeitos adversos sobre organismos de diferentes níveis tróficos, desde microrganismos procariontes até vertebrados superiores (Molina *et al.*, 2020). Evidências recentes indicam que os CEs modificam a diversidade α e β das comunidades microbianas em ambientes fluviais e sedimentares, alterando a abundância de espécies-chave e influenciando as interações ecológicas entre módulos microbianos, com reflexos diretos sobre a estrutura e a funcionalidade desses ecossistemas (Zhang *et al.*, 2024). Essas alterações comprometem a composição funcional das comunidades microbianas, afetando a diversidade trófica e os ciclos biogeoquímicos essenciais à manutenção do equilíbrio ecológico (Singh *et al.*, 2025).

Entre os AINEs, o diclofenaco e o ibuprofeno figuram entre os contaminantes farmacêuticos mais detectados em ambientes aquáticos e apresentam reconhecido potencial ecotoxicológico. Mesmo em concentrações de traço, sua presença tem sido associada a uma ampla gama de efeitos adversos em diferentes organismos. Em peixes, esses compostos provocam danos hepáticos, branquiais e renais, além de alterações comportamentais e metabólicas que comprometem o equilíbrio fisiológico (Wang *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2021; Ramírez-Durán *et al.*, 2025). Em algas e macrófitas, interferem nos processos fotossintéticos e nas atividades enzimáticas essenciais, reduzindo o crescimento e a produtividade primária dos ecossistemas aquáticos (Thrupp *et al.*, 2018; Czarny *et al.*, 2019).

No contexto brasileiro, Godoi e colaboradores (2025) desenvolveram uma revisão detalhada sobre o consumo, a ocorrência e os impactos ambientais dos AINEs. O estudo analisou 32 trabalhos realizados entre 2013 e 2023 e apontou altas concentrações de ibuprofeno em águas superficiais, variando entre 2,5 e 785.280 ng·L⁻¹, com registros predominantes no estado de São Paulo. Além disso, os autores relataram efeitos adversos significativos em espécies nativas de peixes, como *Rhamdia quelen* e *Astyanax lacustris*, incluindo disfunções endócrinas, estresse oxidativo e imunotoxicidade.

O ibuprofeno destaca-se pela elevada frequência de detecção e pela persistência em efluentes, águas superficiais e sedimentos, associadas à sua baixa taxa de degradação em determinados sistemas e à afinidade por matéria orgânica, características que favorecem sua permanência no ambiente, sua bioacumulação e o transporte ao longo das cadeias tróficas. Estudos demonstram que a exposição

crônica ao ibuprofeno induz estresse oxidativo, inibe enzimas antioxidantes, altera o metabolismo energético e compromete a integridade das membranas celulares, resultando em distúrbios fisiológicos e reprodutivos em diversas espécies aquáticas (Trianda *et al.*, 2024; Godoi *et al.*, 2025). Em plantas e microrganismos do solo, o fármaco também provoca efeitos relevantes, comprometendo a germinação, reduzindo a atividade enzimática e afetando os ciclos do nitrogênio e do carbono, o que interfere em processos ecológicos essenciais e no equilíbrio biogeoquímico (Simonetti *et al.*, 2025).

Estudos recentes reforçam o caráter multifatorial da toxicidade do ibuprofeno. Trianda *et al.*, (2024) demonstraram que sua presença em ambientes aquáticos provoca danos citotóxicos e genotóxicos, além de induzir estresse oxidativo e inibir enzimas antioxidantes, afetando diretamente a fisiologia e a reprodução de organismos como *Oryzias latipes* e *Unio tumidus*. O fármaco também origina diversos metabólitos oxidativos e fotolíticos, alguns com toxicidade superior ao composto original, o que potencializa sua persistência e o risco de bioacumulação. Complementarmente, Costa (2023) cita que o ibuprofeno interfere na atividade da ciclooxigenase de invertebrados aquáticos, comprometendo o equilíbrio energético e podendo causar mortalidade em exposições prolongadas.

De modo semelhante, hormônios naturais e sintéticos, como estrona, 17- β -estradiol e 17- α -etinilestradiol, afetam de maneira significativa os sistemas endócrinos de anfíbios e peixes machos, provocando desregulação hormonal, redução da fertilidade e anormalidades reprodutivas. A alta lipofilicidade desses compostos favorece sua bioacumulação e transferência trófica, ampliando os riscos ecológicos e sanitários associados (Thrupp *et al.*, 2018; Czarny *et al.*, 2019).

Em vertebrados, os impactos também são expressivos. O uso inadequado de diclofenaco, por exemplo, associado ao descarte incorreto de carcaças de animais medicados, levou ao colapso populacional de três espécies de abutres na Ásia e no norte da África, devido à elevada sensibilidade dessas aves ao fármaco (Ashraf *et al.*, 2018).

A exposição prolongada a CEs, incluindo fármacos, metais pesados e pesticidas, pode provocar alterações fisiológicas, mutações genéticas e disfunções endócrinas em organismos aquáticos, ampliando o risco de colapso populacional e de desequilíbrios ecológicos (Singh *et al.*, 2025). Além disso, os autores evidenciam que

antibióticos e AINEs, como o ibuprofeno, presentes em efluentes domésticos e hospitalares, não apenas favorecem a resistência microbiana, mas também intensificam o estresse oxidativo e reduzem a resiliência das comunidades aquáticas. A interação sinérgica entre poluentes farmacêuticos e outras classes de CEs agrava a toxicidade ambiental e reforça a necessidade de estratégias mitigadoras mais eficazes.

Assim, a introdução contínua de fármacos e demais CEs representa uma ameaça transversal aos ecossistemas e à saúde, uma vez que essas substâncias podem infiltrar-se nas cadeias alimentares e nas águas destinadas ao abastecimento público, provocando perturbações endócrinas, reações alérgicas severas, resistência bacteriana e toxicidade aguda, sobretudo em populações vulneráveis (Saxena *et al.*, 2021; Yadav *et al.*, 2021; Narayanan *et al.*, 2025).

Estudos ecotoxicológicos demonstram que a exposição crônica a concentrações traço de fármacos e outros CEs pode resultar em efeitos subletais, como alterações fisiológicas, oxidativas e comportamentais em organismos aquáticos e terrestres, comprometendo funções vitais como crescimento, reprodução e defesa antioxidante, com efeitos que se acumulam ao longo das gerações e afetam a integridade ecológica dos ecossistemas (Molina *et al.*, 2020; Saxena *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2024; Yakamerçan *et al.*, 2025).

Esses efeitos podem ser potencializados pela mistura de diferentes substâncias em efluentes complexos, fenômeno conhecido como efeito de coexposição ou sinergia química, que amplia os impactos ecológicos e dificulta a previsão de toxicidade (Saxena *et al.*, 2021; Yakamerçan *et al.*, 2025). Como consequência, a perda de diversidade biológica enfraquece a resiliência dos ecossistemas e reduz sua capacidade de regeneração frente a diferentes formas de estresse ambiental. Além disso, a introdução contínua de substâncias tóxicas compromete de forma significativa a variabilidade genética e a integridade funcional das populações (Reid *et al.*, 2019; Khan *et al.*, 2022).

Diante desse cenário, torna-se imprescindível a adoção de abordagens interdisciplinares que integrem ciência, governança e biotecnologia, com ênfase na biorremediação microbiana e em métodos avançados de monitoramento ecotoxicológico, como estratégias prioritárias para mitigar os impactos dos CEs, em especial dos fármacos amplamente consumidos e persistentes, como o ibuprofeno.

2.5 Tratamento para remoção dos fármacos do ambiente

O elevado consumo de fármacos pela população mundial, em todas as classes sociais, constitui um dos principais desafios contemporâneos à sustentabilidade ambiental. Entretanto, ainda não existem sistemas de tratamento capazes de promover a remoção ou transformação completa dos CEs presentes nos corpos hídricos (Molina *et al.*, 2020; Rout *et al.*, 2021).

Cabe destacar que a remoção observada em muitos sistemas refere-se, frequentemente, à transferência de fase (adsorção ou retenção) ou à transformação parcial das moléculas, e não à sua completa mineralização em CO₂ e H₂O, o que explica a recorrente detecção de resíduos farmacêuticos e produtos de transformação em efluentes tratados (Rout *et al.*, 2021; Singh *et al.*, 2025). Estudos recentes confirmam essa limitação em escala global. Simonetti *et al.*, (2025) apontam que os sistemas convencionais de tratamento, mesmo em estações modernas, não são eficazes na remoção de compostos farmacêuticos e seus metabólitos. Os autores destacam que a persistência química, a baixa biodegradabilidade e a natureza polar dos fármacos dificultam sua degradação completa, permitindo sua detecção em efluentes tratados e águas superficiais.

A problemática está associada, sobretudo, às limitações das estações de tratamento de esgoto (ETEs) e de água (ETAs), que não foram originalmente projetadas para remover microcontaminantes orgânicos. Tais unidades têm como foco a eliminação de matéria orgânica e nutrientes convencionais, não contemplando compostos farmacêuticos que, devido à sua natureza química estável, atravessam os sistemas de tratamento praticamente inalterados. Desde a década de 1990, quando os primeiros estudos sobre esse tipo de contaminação começaram a ganhar relevância, observou-se que muitas dessas substâncias conseguem resistir aos mecanismos convencionais de remoção (Rasheed *et al.*, 2019; Sivaranjane; Kumar, 2021; Ribas *et al.*, 2021; Farto *et al.*, 2021b; Wang; Gao; Zu, 2024).

Como consequência, resíduos de fármacos têm sido detectados inclusive em águas tratadas destinadas ao consumo humano, desafiando as companhias de saneamento e os sistemas de monitoramento ambiental (Lima *et al.*, 2017). Esse cenário evidencia a necessidade de revisar a legislação vigente, de modo que os padrões de potabilidade e os programas de controle ambiental passem a incluir

também os CEs (Ribas *et al.*, 2021; Brasil, 2021; Brasil, 2017; Farto, 2024). Harish e Jegatheesan (2025) reforçam que a ausência de padrões regulatórios específicos para fármacos em matrizes aquáticas é um problema global, especialmente em países em desenvolvimento. Os autores defendem a criação de marcos normativos harmonizados, baseados em dados ecotoxicológicos e nos limites de detecção alcançados por tecnologias modernas, como forma de reduzir os riscos ambientais e sanitários associados a esses contaminantes.

Simonetti *et al.*, (2025) revisaram os avanços em monitoramento e controle de CEs, enfatizando que a baixa remoção de fármacos persistentes, como o ibuprofeno, em estações de tratamento convencionais reforça a necessidade de integrar biorremediação microbiana e tecnologias digitais de sensoriamento como ferramentas complementares na gestão da qualidade da água.

De modo geral, as estratégias de tratamento podem ser agrupadas em: (i) processos convencionais biológicos, (ii) tecnologias físico-químicas avançadas e (iii) abordagens biotecnológicas, sendo estas últimas consideradas promissoras por aliam eficiência, menor custo energético e sustentabilidade (Branco *et al.*, 2021; Rasheed *et al.*, 2022; Garg *et al.*, 2025; Narayanan *et al.*, 2025).

Entre as alternativas tecnológicas atualmente pesquisadas para a remoção desses compostos destacam-se os processos oxidativos avançados (POAs), a osmose reversa, a filtração por membranas, a adsorção em carvão ativado pulverizado (CAP) ou granular (CAG) e a ozonização. Esses métodos apresentam elevado potencial de remoção de CEs, mas ainda enfrentam desafios significativos, como altos custos de operação, complexidade técnica e formação de subprodutos tóxicos (Narayanan *et al.*, 2025; Farto *et al.*, 2021b; Branco *et al.*, 2021; Cartaxo *et al.*, 2020). Singh *et al.*, (2025) ressaltam que a aplicação isolada de tecnologias avançadas, como ozonização ou POAs baseados em radicais hidroxila, pode gerar intermediários tóxicos e não completamente mineralizados, reforçando a importância de estratégias híbridas que associem processos físico-químicos e biológicos.

No contexto dos fármacos amplamente detectados em matrizes aquáticas, destaca-se o ibuprofeno, cuja eficiência de remoção apresenta forte dependência do tipo de tratamento empregado. Evidências indicam que, para esse composto, processos biológicos e oxidativos frequentemente promovem a formação de metabólitos mais polares, oriundos de reações de hidroxilação e oxidação, os quais

podem apresentar elevada persistência ambiental e, em alguns casos, toxicidade equivalente ou superior à do composto original. Dessa forma, a simples redução da concentração do fármaco parental não assegura diminuição proporcional do risco ambiental, uma vez que produtos de transformação podem manter bioatividade ou mesmo apresentar novos mecanismos de toxicidade. Ademais, a eficiência de remoção e o perfil de subprodutos formados são fortemente influenciados pela matriz ambiental e pela microbiota envolvida no processo, evidenciando que a degradação do ibuprofeno depende tanto das condições operacionais quanto da composição da comunidade microbiana atuante (Montagner; Vidal; Acayaba, 2017; Singh *et al.*, 2021; Farto *et al.*, 2021b; Wang *et al.*, 2024; Godoi *et al.*, 2025).

As abordagens biológicas clássicas de tratamento, como lagoas de estabilização, sistemas de lodos ativados e atenuação natural, ainda são largamente utilizadas, mas sua eficiência se limita à degradação de compostos de estrutura simples. Muitos fármacos, entretanto, apresentam características recalcitrantes, o que dificulta sua completa mineralização em CO₂ e H₂O, resultando na presença de resíduos farmacêuticos mesmo após o tratamento (Li *et al.*, 2024). Nesses casos, torna-se necessário recorrer a etapas complementares e avançadas de tratamento, as quais, embora eficazes, tendem a elevar substancialmente os custos e a complexidade operacional (Wang; Wang, 2016; Zur *et al.*, 2018; Matesun *et al.*, 2024).

Os processos biológicos continuam sendo um recurso amplamente utilizado para o tratamento de efluentes em todo o mundo, mas a recalcitrância de muitos CEs evidencia a necessidade de adotar processos biotecnológicos como alternativa sustentável e de custo reduzido em relação aos métodos físico-químicos tradicionais (Grandclément *et al.*, 2017; Rasheed *et al.*, 2022). Garg *et al.*, (2025) revisam o papel de fungos filamentosos e enzimas ligninolíticas na degradação de compostos farmacêuticos, destacando sua relevância para o avanço dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS). Segundo os autores, a integração entre processos enzimáticos e biorreatores microbianos representa uma via sustentável e eficiente para a remoção de micropoluentes persistentes, conciliando eficiência tecnológica e responsabilidade ecológica.

Uma das alternativas promissoras é a biorremediação, que emprega microrganismos específicos (fungos, bactérias e microalgas), enzimas ou plantas com reconhecida capacidade de degradar compostos farmacêuticos. Quando baseada no

uso de fungos, essa estratégia é denominada micorremediação (Ribas *et al.*, 2021; Alcalá; Navarro; López, 2017; Wu *et al.*, 2023; Chakraborty *et al.*, 2025; Narayanan *et al.*, 2025). Essa estratégia representa um caminho viável e sustentável para mitigar os impactos ambientais decorrentes da contaminação por fármacos. Contudo, pode ser necessária a integração de diferentes sistemas, como processos biológicos e físico-químicos, para alcançar a mineralização, representando a tendência mais promissora da engenharia ambiental contemporânea (Narayanan *et al.*, 2025).

Além disso, a associação entre tecnologias catalíticas e biorremediação, incluindo o uso de fungos, bactérias, microalgas e macrófitas aquáticas, constitui uma estratégia viável para alcançar padrões de segurança ambiental alinhados às metas dos ODS, especialmente os ODS 6 e 14, que tratam da qualidade da água e da preservação da vida aquática (Phanta *et al.*, 2025).

Diante do exposto, conclui-se que os tratamentos convencionais são amplamente ineficientes na remoção completa de fármacos, evidenciando a necessidade de incorporar abordagens sustentáveis aos processos atualmente implantados. O uso de fungos desponta como estratégia promissora, sobretudo para compostos de difícil degradação, como o AINE ibuprofeno, uma vez que apresentam elevado repertório enzimático e tolerância a contaminantes (Zeng *et al.*, 2021; Grandclément *et al.*, 2017).

Evidências recentes indicam que a micorremediação, além de ambientalmente segura, é capaz de atuar em diferentes matrizes ambientais, desde que integrada a outras etapas de tratamento e adequadamente otimizada, reduzindo a toxicidade e contribuindo para a melhoria da qualidade ecológica dos ecossistemas (Rasheed *et al.*, 2022; Simonetti *et al.*, 2025).

Diante das limitações dos tratamentos físico-químicos e dos elevados custos associados às tecnologias avançadas, cresce o interesse por estratégias baseadas em processos biológicos, especialmente aquelas que exploram o potencial metabólico de microrganismos para a transformação e degradação de CEs. Nesse contexto, a compreensão dos mecanismos microbianos envolvidos, bem como a seleção de linhagens e enzimas com elevada eficiência catalítica, constitui etapa fundamental para o desenvolvimento de estratégias sustentáveis de biorremediação.

2.5.1 Microrganismos e técnicas de triagem enzimática

Ambientes com aporte contínuo de efluentes tendem a favorecer a seleção de microrganismos com elevada plasticidade metabólica e repertório enzimático associado à transformação de xenobióticos, configurando reservatórios naturais de linhagens com elevado potencial para aplicações em biorremediação (Boeras *et al.*, 2024; Dong *et al.*, 2021; Madamwar *et al.*, 2021).

Nesse contexto, fungos filamentosos destacam-se como particularmente eficientes para processos de biorremediação, uma vez que produzem grandes quantidades de enzimas extracelulares oxidativas e hidrolíticas, apresentam elevada tolerância a compostos tóxicos e demonstram capacidade de degradar moléculas aromáticas e estruturalmente complexas (Zeng *et al.*, 2021; Guardado *et al.*, 2019; Grandclément *et al.*, 2017; Chmelová *et al.*, 2024).

Em contraste, embora muitas bactérias possuam vias metabólicas especializadas para a degradação de xenobióticos, sua atuação pode ser relativamente mais restrita para determinados fármacos, uma vez que frequentemente dependem de enzimas predominantemente intracelulares, apresentam menor secreção de biocatalisadores extracelulares e, em alguns casos, menor eficiência na interação com compostos hidrofóbicos, quando comparadas a fungos filamentosos (Grandclément *et al.*, 2017; Zeng *et al.*, 2021; Rasheed *et al.*, 2022; Simonetti *et al.*, 2025).

Além de sua relevância ecológica, microrganismos como fungos e bactérias apresentam propriedades particularmente favoráveis para aplicação em reações enzimáticas quando comparados a processos químicos convencionais. Esses microrganismos são de fácil cultivo em laboratório e são capazes de biotransformar e/ou biodegradar uma variedade de compostos xenobióticos em moléculas de menor peso molecular, as quais podem formar produtos com uma toxicidade diferente do composto original (Guardado *et al.*, 2019).

A comunidade microbiana, quando exposta a algum estresse ambiental, pode apresentar variação de crescimento ou expressão metabólica (Barrios-Estrada *et al.*, 2018). Deste modo, microrganismos nativos podem desenvolver a capacidade de degradar contaminantes; entretanto, a degradação pode ser afetada por processos intrínsecos e extrínsecos de cada microrganismo na metabolização de certas

substâncias. Assim, é possível que haja a necessidade de otimização de parâmetros, como pH e temperatura, para promover condições favoráveis aos sistemas biológicos e obter melhores resultados em menor intervalo de tempo (Varjani; Upasani, 2021).

A exemplo da adaptação de comunidades microbianas na presença de compostos xenobióticos, Boeras e colaboradores (2024) investigaram a resiliência das comunidades microbianas sedimentares em ecossistemas lóticos submetidos ao impacto de efluentes de ETEs. Os autores demonstraram que os microrganismos dos sedimentos exercem papel essencial na autodepuração natural e na biorremediação *in situ*, funcionando como barreiras biológicas contra a disseminação de fármacos e genes de resistência antimicrobiana. Concluíram ainda que as ETEs constituem rotas significativas de inserção de CEs nos ecossistemas aquáticos, sugerindo o estabelecimento de programas permanentes de monitoramento ecológico e microbiológico.

Partindo desse pressuposto, pesquisas visando ao isolamento de novas linhagens microbianas de diversos ambientes têm sido desenvolvidas, com foco na produção de enzimas com potencial biotecnológico (Phoon *et al.*, 2020; Guardado *et al.*, 2019; Amenabar; Boyd, 2019).

Quando comparadas às enzimas oriundas de fontes vegetais e/ou animais, as de origem microbiana se mostram vantajosas, dado que apresentam maior atividade catalítica e estabilidade bioquímica (Bayramoglu; Anica, 2018). Não obstante, a produção dessas enzimas é virtualmente fácil de se otimizar, considerando que a diversidade biológica e a manipulação genética permitem a exploração de todo seu potencial, além de se adequarem ao uso, variando conforme a necessidade (Sodhi; Kumar; Singh, 2020).

Os microrganismos utilizam enzimas que atuam como catalisadores de várias reações bioquímicas na degradação de poluentes nos processos de biorremediação. Alguns exemplos são as enzimas oxigenases, lacases, peroxidases, lipases, celulases, monooxigenases e epóxido-hidrolases, que muitas vezes são isoladas e usadas para otimizar os processos biotecnológicos, pois em condições naturais a produção dessas enzimas geralmente é reduzida (Simonetti *et al.*, 2025; Chmelová *et al.*, 2024; Fader *et al.*, 2021).

A triagem de enzimas microbianas com potencial para biorremediação tem se beneficiado fortemente de técnicas de ensaio em placa e ensaios miniaturizados em

microplacas, que permitem avaliar muitas amostras simultaneamente, de forma mais rápida e econômica. Métodos de *high-throughput screening* (HTS) têm sido desenvolvidos para identificar enzimas despolimerizadoras de plásticos, usando microplacas de 96 ou 384 poços, ensaios fluorescentes ou colorimétricos e leitura automatizada dos resultados (Gonçalves; Marsaioli, 2014). Essas metodologias possibilitam não somente comparar vastas bibliotecas de microrganismos ou variantes enzimáticas, mas também controlar variáveis como pH, temperatura, cofatores e tempo de reação de modo padronizado, o que agiliza a seleção de candidatos promissores para uso em biorremediação (Yew *et al.*, 2024).

A triagem enzimática indica potencial biocatalítico, devendo ser complementada por ensaios de transformação e identificação de produtos de degradação, de modo a confirmar a efetiva capacidade do microrganismo ou da enzima de promover a biotransformação ou biodegradação dos contaminantes (Guardado *et al.*, 2019; Zeng *et al.*, 2021; Grandclément *et al.*, 2017; Simonetti *et al.*, 2025; Chmelová *et al.*, 2024).

Além das triagens em microplaca tradicionais, técnicas mais recentes como microfluídica e *droplet-based assays* (ensaios em gotículas) têm permitido uma miniaturização ainda maior e um aumento expressivo no número de variantes simultaneamente testadas. Por exemplo, Nakamura e colaboradores (2025) implementaram um sistema de triagem ultrarrápida de bactérias ambientais com base em microfluídica para selecionar microrganismos produtores de enzimas úteis à degradação de polímeros, destacando o potencial da abordagem para aplicação ambiental.

Por fim, ao combinar essas técnicas de triagem em placa e miniaturizadas com ensaios de caracterização enzimática (atividade, estabilidade, especificidade e cinética) e com engenharia enzimática ou manipulação genética dos microrganismos, o processo de desenvolvimento e otimização de biocatalisadores para biorremediação se torna ainda mais eficaz. Em um estudo recente, por exemplo, foi adotado um método de triagem de diversidade natural para 40 enzimas de nylon-6, utilizando espectrometria de massa para quantificação dos produtos de hidrólise e visando a estabilização térmica da enzima mais ativa (Bell *et al.*, 2024).

2.5.2 Biorremediação microbiana

Os processos de biorremediação microbiana representam uma das abordagens mais promissoras e ambientalmente seguras para atenuar a presença de CEs nos ecossistemas (Chakraborty *et al.*, 2025; Kourtchev *et al.*, 2025). Essa estratégia baseia-se na ampla diversidade metabólica dos microrganismos, capazes de metabolizar ou co-metabolizar uma grande variedade de compostos orgânicos e inorgânicos (Mishra *et al.*, 2025).

A elevada plasticidade adaptativa desses organismos está diretamente associada ao seu curto tempo de geração e às rápidas taxas evolutivas, permitindo-lhes ajustar-se a novas substâncias químicas e, em muitos casos, utilizá-las como fonte de energia ou de carbono para o crescimento celular (Borchert *et al.*, 2021).

Nesse sentido, pesquisas sobre processos de biorremediação que envolvem o uso de microrganismos e de suas enzimas são consideradas promissoras, uma vez que esses organismos podem atuar na transformação de uma ampla gama de poluentes ambientais, incluindo contaminantes recalcitrantes de elevada preocupação, como os fármacos (Chakraborty *et al.*, 2025; Bilal *et al.*, 2019b; Guardado *et al.*, 2019; Bayramoglu; Anica, 2018). Destacam-se, nesse contexto, fungos de podridão branca (por exemplo, *Trametes* sp. e *Pleurotus* sp.) amplamente reportados pela capacidade de biotransformar fármacos persistentes (Chakraborty *et al.*, 2025).

Com o avanço das ferramentas de biotecnologia moderna, como a engenharia genética e a biologia sintética, tem sido possível aprimorar e projetar vias metabólicas específicas, bem como criar consórcios microbianos capazes de atuar sobre compostos recalcitrantes e cenários complexos de poluição (Chakraborty *et al.*, 2025). Nesse contexto, destaca-se a capacidade de degradação de CEs por fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Talaromyces*, *Trichoderma* e *Mucor* (Garg *et al.*, 2025).

Estudos nessa linha têm recebido amplo reconhecimento da comunidade científica devido às vantagens associadas, como potencial de aplicação em escala, custo reduzido e possibilidade de otimização das condições operacionais conforme o ambiente (Vaksmas *et al.*, 2023; Bilal *et al.*, 2019b; Phoon *et al.*, 2020).

Nas últimas décadas, houve grandes avanços nas técnicas de biorremediação, com o objetivo de restaurar efetivamente ambientes contaminados

utilizando uma abordagem ecológica, sustentável e economicamente viável (Narayanan *et al.*, 2025; Ambiente Brasil, 2022). Consequentemente, a biorremediação é reconhecida pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) como uma técnica de gerenciamento de resíduos ambientalmente adequada, capaz de contribuir para a recuperação de áreas contaminadas e para o desenvolvimento sustentável (Bharagava; Saxena; Mulla, 2020).

Tecnologias tradicionais de tratamento biológico de águas residuais são baseadas primariamente no metabolismo de microrganismos, os quais utilizam os compostos presentes nessas águas como substrato energético. Em uma concepção internacional, alternativas biológicas consideradas limpas e sustentáveis têm sido desenvolvidas, visando à máxima biorremediação desses ambientes (Li *et al.*, 2024; Castellet-Rovira *et al.*, 2018).

Na biorremediação, os microrganismos podem transformar contaminantes ambientais em substâncias de menor, igual ou, em alguns casos, maior toxicidade, além de promover a remoção ou a redução de sua concentração no ambiente (Haider *et al.*, 2021; Ambiente Brasil, 2022).

O desempenho da biorremediação depende fortemente da estrutura química do contaminante, de sua biodisponibilidade, das condições ambientais e da capacidade de adaptação metabólica dos microrganismos, sendo geralmente mais eficiente para compostos naturais ou estruturalmente semelhantes, enquanto fármacos sintéticos, biologicamente estáveis e com grupos funcionais diversos tendem a apresentar maior recalcitrância. O processo pode levar a mudanças relativamente pequenas na molécula original, como a substituição ou a modificação de um grupo funcional, ou a completa destruição da molécula, tendo como resultado a sua conversão final em CO₂, água, biomassa e sais minerais, processo conhecido como mineralização (Phanta *et al.*, 2025; Abreu; Soares, 2024; Lacerda; Navoni; Amaral, 2019).

O processo de biorremediação pode funcionar naturalmente ou pode ser aprimorado adicionando nutrientes ou outros elementos que favoreçam o desenvolvimento microbiano (Akay; Tezel, 2020; Molina *et al.*, 2020). Pode ser realizado *in situ*, ou seja, no próprio local contaminado, através das técnicas de bioestimulação, bioaugmentação e bioventilação ou *ex situ*, mediante a transposição do material contaminado para outro local, utilizando as técnicas de compostagem,

landfarming e uso de biorreatores (Li *et al.*, 2024; Martins, 2019).

Para que seja de fato eficiente, o contaminante precisa estar acessível aos microrganismos, bem como as condições ambientais devem ser adequadas para o crescimento e atividade do agente biorremediador (Amobonye *et al.*, 2023; Andrade; Galhardo, 2021; Hyde *et al.*, 2019).

Essas técnicas apresentam, em geral, custo reduzido, elevada aceitação pública e possibilidade de aplicação no próprio local contaminado, desde que adequadamente planejadas (Caires, 2018). Tarekegn *et al.*, (2020) corroboram ao afirmar que a seleção de microrganismos altamente eficientes na produção de enzimas degradadoras do substrato possui elevado potencial biotecnológico.

Nesse sentido, os consórcios microbianos mostram-se, em muitos casos, mais eficientes nos processos de remediação de poluentes do que isolados puros (Molina *et al.*, 2020; Chakraborty *et al.*, 2025). Isso se deve à diversidade metabólica dos microrganismos constituintes, que pode resultar em efeitos sinérgicos, favorecendo taxas mais elevadas de transformação e, em alguns casos, maior extensão da degradação dos poluentes (Chakraborty *et al.*, 2025).

Quando da aplicação das técnicas de biorremediação, devem-se considerar, além da seleção do método, os critérios de desempenho, como concentrações de oxigênio e nutrientes, temperatura, umidade, pH e outros fatores abióticos, que determinam o sucesso dos processos biotecnológicos e potencializam a ação dos microrganismos e de suas enzimas (Chakraborty *et al.*, 2025; Tarekegn *et al.*, 2020; Berticelli *et al.*, 2016).

Outro fator importante refere-se à natureza e ao tipo de poluente, ressaltando-se que não há uma única técnica de biorremediação aplicável a todos os cenários. Assim, a escolha da abordagem deve considerar o melhor custo-benefício em função do contaminante e do local de ocorrência (Francisco; Queiroz, 2018; Azubuike; Chikere; Okpokwasili, 2016).

2.5.3 O papel dos fungos na biorremediação de fármacos

No contexto da biorremediação de fármacos, os fungos têm sido amplamente estudados por sua capacidade de metabolizar compostos farmacêuticos, muitas vezes mimetizando as vias de detoxificação de organismos superiores (Palaric *et al.*,

2019). Gêneros como *Cunninghamella*, *Mucor*, *Aspergillus* e *Fusarium* destacam-se pela presença de enzimas como citocromos P450 (CYPs), sulfotransferases e glicosiltransferases, que participam de reações de fase I (oxidativas) e fase II (conjugativas) (Khan *et al.*, 2023).

Essas enzimas convertem fármacos em metabólitos mais hidrofílicos, facilitando sua excreção ou degradação subsequente. Adicionalmente, as peroxigenases inespecíficas fúngicas (UPOs), que utilizam peróxido de hidrogênio como oxidante, demonstram alta eficiência na transformação de fármacos em metabólitos análogos aos produzidos em mamíferos, sendo úteis para a avaliação de sua toxicidade e destino ambiental (Khan *et al.*, 2023; Ramírez-Durán *et al.*, 2025).

A eficácia dos fungos na remoção de compostos farmacêuticos ativos (PhACs) é atribuída à sua secreção de um amplo espectro de enzimas oxidativas, incluindo lacases, peroxidases e oxidases de função mista, capazes de promover redução, oxidação, hidroxilação, desalogenação, desidrogenação, desaminação e formilação (Amobonye *et al.*, 2023; Chmelová *et al.*, 2024).

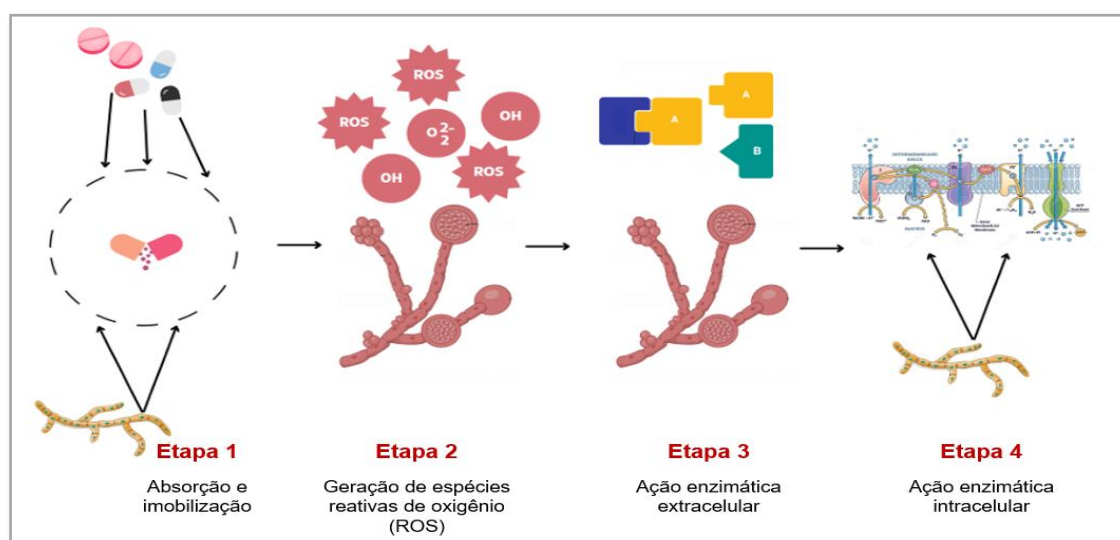
Fungos frequentemente se destacam por secretarem enzimas extracelulares oxidativas e metabolizarem moléculas aromáticas complexas; bactérias podem ser mais eficientes em outras rotas metabólicas e condições ambientais específicas. Essa complementaridade evidencia que diferentes grupos microbianos podem atuar de forma sinérgica na transformação de fármacos e demais CEs (Hyde *et al.*, 2019; Zeng *et al.*, 2021; Chmelová *et al.*, 2024).

A figura abaixo ilustra de forma esquemática o mecanismo geral de biorremediação fúngica de fármacos, destacando as etapas de absorção, oxidação mediada por espécies reativas de oxigênio (ROS) e ações enzimáticas intra e extracelulares que culminam na biotransformação dos contaminantes (Figura 3). De forma integrada, o diagrama evidencia que o processo de micorremediação é polifásico e combina mecanismos físicos, químicos e enzimáticos, resultando principalmente na transformação de contaminantes farmacêuticos em produtos menos tóxicos.

Em muitos casos observa-se biotransformação, enquanto a mineralização completa pode exigir consórcios microbianos e condições ambientais específicas. Nesse contexto, é importante distinguir que a biotransformação corresponde à modificação estrutural do composto original, com formação de metabólitos que podem

apresentar menor, similar ou maior toxicidade, ao passo que a biodegradação envolve a conversão progressiva da molécula em produtos mais simples, podendo culminar, sob condições favoráveis, na mineralização completa em CO₂, H₂O, biomassa e sais minerais (Akroust *et al.*, 2024; Garg; Kim; Romero-Suarez, 2025). Assim, na biorremediação de fármacos, ambos os processos podem ocorrer de forma sequencial ou concomitante, sendo comuns etapas intermediárias de transformação e formação de metabólitos, o que reforça a importância de avaliações ecotoxicológicas complementares e, em alguns casos, do emprego de estratégias híbridas (Grandclément *et al.*, 2017; Molina *et al.*, 2020; Amobonye *et al.*, 2023; Vaksmaa *et al.*, 2023; Khan, 2025).

Figura 3 – Etapas do mecanismo de biorremediação fúngica de compostos farmacêuticos ativos.



Fonte: Adaptado de Amobonye *et al.*, (2023).

As enzimas fúngicas, em particular as extracelulares, apresentam baixa especificidade de substrato (El-Gendi *et al.*, 2021), o que, longe de ser uma limitação, constitui uma vantagem ecológica: essa característica permite que uma única enzima catalise diversas reações químicas, conferindo aos fungos a capacidade de utilizar uma ampla gama de compostos como fontes alternativas de carbono e energia (Harms *et al.*, 2011). Os processos de biodegradação mediados por fungos estão intimamente associados a reações oxidativas conduzidas por oxidases e peroxidases, razão pela qual a maioria das espécies necessita de condições aeróbicas para desempenhar sua

atividade metabólica (Vaksmaa *et al.*, 2023).

Entre as principais enzimas extracelulares destacam-se as oxidoredutases, em especial as lacases e peroxidases, como a manganês peroxidase e lignina peroxidase que utilizam, respectivamente, oxigênio e peróxido de hidrogênio como aceptores finais de elétrons (Chmelová *et al.*, 2024; El-Gendi *et al.*, 2021; Urlacher; Koschorreck, 2021).

Essas enzimas são fundamentais para iniciar reações oxidativas capazes de gerar radicais hidroxila, os quais clivam ligações duplas em estruturas cíclicas e alifáticas (Hofrichter *et al.*, 2010). Os radicais hidroxila podem derivar tanto do ciclo da quinona, desencadeado pela ação de lacases (Gómez-Toribio *et al.*, 2009), quanto de hidroxilações dependentes de peróxido. Tais processos, além de serem energeticamente favoráveis (exergônicos), convertem poluentes complexos em intermediários metabolicamente acessíveis, facilitando etapas subsequentes de degradação (Vaksmaa *et al.*, 2023).

A eficácia fúngica na biorremediação é amplamente documentada para diversos CEs, incluindo os fármacos, que têm sido detectados com frequência crescente em águas superficiais e subterrâneas. Esses compostos, concebidos para serem biologicamente ativos e relativamente resistentes à degradação, chegam ao ambiente principalmente por meio de efluentes hospitalares e municipais, cujas estações de tratamento (ETEs) não são completamente eficientes em sua remoção (Frascaroli *et al.*, 2021; Patel *et al.*, 2019).

Para muitos medicamentos amplamente utilizados, a taxa de eliminação em sistemas convencionais é frequentemente inferior a 10% (Patel *et al.*, 2019). Além de persistentes, os fármacos apresentam alta solubilidade em água, potencial bioacumulativo e toxicidade sobre organismos não-alvo (Kayode-Afolayan *et al.*, 2022). Seus efeitos ambientais incluem a indução de resistência bacteriana, alterações na expressão gênica, síntese anormal de proteínas e enzimas, e perturbações fisiológicas e comportamentais em diferentes níveis tróficos (Patel *et al.*, 2019; Kayode-Afolayan *et al.*, 2022).

Nesse contexto, os fungos despontam como agentes biorremediadores naturais altamente eficazes, capazes de degradar, transformar ou imobilizar contaminantes farmacêuticos e outros CEs, mitigando seus efeitos ecotoxicológicos (Hyde *et al.*, 2019; Shahid *et al.*, 2021; González-González *et al.*, 2022; Morin-Crini *et*

al., 2022). Em aplicações industriais e ambientais, táxons fúngicos específicos e seus sistemas enzimáticos têm sido utilizados para substituir ou complementar tecnologias convencionais de tratamento, especialmente na depuração de águas residuais e na remoção de compostos recalcitrantes.

Destacam-se os fungos filamentosos dos Filos Basidiomycota, Ascomycota e Mucoromycota que possuem notável potencial de degradação, sustentado pela produção de enzimas como lignina peroxidase, manganês peroxidase, lacase e citocromos P450, capazes de oxidar uma ampla gama de compostos orgânicos complexos (Chakraborty *et al.*, 2025).

A compreensão e a aplicação do potencial fúngico em biorremediação representam, portanto, um passo fundamental rumo ao desenvolvimento de soluções sustentáveis e integradas, capazes de conciliar inovação biotecnológica e responsabilidade ambiental. Como salientam Vaksmaa *et al.*, (2023), explorar e otimizar o papel dos fungos na biodegradação de CEs é uma via promissora não apenas para restaurar ecossistemas impactados, mas também para inspirar novos paradigmas na gestão ambiental e na saúde planetária.

De forma complementar, a biodegradação mediada por fungos representa uma vertente de grande relevância dentro da biotecnologia ambiental, fundamentada na ampla capacidade metabólica desses organismos em transformar compostos orgânicos complexos, como os fármacos, em moléculas mais simples e potencialmente menos tóxicas. Essa eficiência decorre da produção de um conjunto diversificado de enzimas oxidativas e hidrolíticas, que catalisam reações de oxidação, redução e clivagem de ligações químicas altamente estáveis, tornando os fungos particularmente adequados para o tratamento de efluentes contendo CEs (Hinzke *et al.*, 2025; Molina *et al.*, 2020; Yang *et al.*, 2020).

Por exemplo, o estudo com o fungo *Apiotrichum* sp. IB-1 demonstrou que o ibuprofeno pode ser reduzido em 78% em apenas três dias por meio de um consórcio microbiano (Peng *et al.*, 2024). Da mesma forma, a dipirona apresentou degradação de 96% em seis dias pelo fungo *Pleurotus eryngii* (Mayorga *et al.*, 2017). A revisão proposta por Grignet *et al.*, (2022) sintetiza essas evidências, indicando que as rotas de biodegradação microbiana de fármacos envolvem uma ampla variedade de enzimas oxidorreduções e hidrolases, responsáveis por catalisar etapas-chave nas reações de transformação e, em alguns casos, mineralização dos compostos.

2.6 Ecotoxicologia como ferramenta de apoio à avaliação de risco ambiental

A ecotoxicologia surge, nesse contexto, como ferramenta essencial para avaliar e compreender os efeitos biológicos associados à fármaco-contaminação, fornecendo subsídios fundamentais para a identificação de perigos ambientais. Por meio de bioensaios laboratoriais, é possível mensurar a resposta de organismos-teste a diferentes concentrações desses compostos, contribuindo para a geração de dados científicos que subsidiam políticas públicas e práticas sustentáveis de gestão ambiental (Mueller *et al.*, 2023).

Bioensaios ecotoxicológicos estimam efeitos (incluindo subletais) sob condições controladas; a avaliação de risco ambiental integra esses efeitos a dados de exposição (ocorrência/concentração, duração e frequência), permitindo inferir a probabilidade de impactos adversos em cenários reais. Dessa forma, a ecotoxicologia fornece a base experimental para a avaliação de risco ambiental (ARA), mas não a substitui, uma vez que o risco é determinado pela combinação entre perigo (efeito) e exposição (USEPA, 2025).

Nesse sentido, a ecotoxicologia é uma área interdisciplinar que combina princípios da toxicologia e da ecologia, com o objetivo de compreender os efeitos de contaminantes químicos sobre organismos e ecossistemas (Silva; Vieira, 2025). Essa ciência busca avaliar os impactos de substâncias potencialmente tóxicas em diferentes níveis de organização biológica, do molecular ao ecossistêmico, e fornecer subsídios para a prevenção, mitigação e regulação de riscos ambientais (Arlos *et al.*, 2018; Mccallum *et al.*, 2019; Chacca *et al.*, 2022; Calvelli *et al.*, 2023).

O avanço da industrialização e do consumo de produtos farmacêuticos e químicos tem intensificado a liberação de CEs em solos e corpos d'água, o que representa uma preocupação crescente para a ecotoxicologia moderna (Araújo *et al.*, 2023). Entre esses compostos, os fármacos destacam-se por sua persistência ambiental, bioatividade e potencial para causar efeitos subletais e crônicos em organismos não alvo, mesmo em concentrações de traço (Piño *et al.*, 2016; Rede *et al.*, 2019). Em uma análise abrangente que reuniu dados de mais de setenta países, Wydro *et al.*, (2024) destacaram a ocorrência ubíqua, em escala global, de compostos como ibuprofeno, diclofenaco, paracetamol e fluoxetina em águas superficiais e subterrâneas.

Diante desse cenário, os estudos ecotoxicológicos desempenham papel essencial no entendimento das respostas biológicas a esses poluentes e no desenvolvimento de estratégias sustentáveis de manejo ambiental. Para a avaliação dos efeitos ecotoxicológicos, o uso de bioindicadores tem se mostrado uma ferramenta eficaz e amplamente difundida. Esses organismos apresentam respostas mensuráveis diante da presença de poluentes e permitem inferir a qualidade do ambiente e os potenciais efeitos de longo prazo sobre a biota (Silva *et al.*, 2024; Silva; Vieira, 2025).

Entre os diversos grupos utilizados, incluindo microrganismos, invertebrados e peixes, os modelos vegetais têm recebido destaque crescente devido à sua sensibilidade, baixo custo experimental e facilidade de manejo (Schmidt; Redshaw, 2015; Mendes *et al.*, 2021). Além disso, as plantas, por serem organismos sésseis, respondem rapidamente às mudanças químicas do meio, tornando-se excelentes indicadores das condições ambientais (Silva *et al.*, 2023a).

Os bioensaios com plantas superiores são reconhecidos por normas internacionais, como a ISO 18763 (2016), a OECD 208 (2006) e os protocolos da USEPA (2012), que recomendam o uso de espécies de crescimento rápido e alta taxa de germinação para detecção de efeitos letais e subletais. Dentre essas espécies, *Lactuca sativa* L. (alface) se destaca como organismo-teste padrão, amplamente utilizado em ensaios de toxicidade por apresentar germinação uniforme, sensibilidade a substâncias químicas e boa reprodutibilidade experimental (Simões *et al.*, 2013; Chan-Keb *et al.*, 2022).

Parâmetros como a porcentagem de germinação, o alongamento da radícula e do hipocótilo, e o peso da biomassa inicial são amplamente utilizados como indicadores de toxicidade em efluentes, solos contaminados e compostos farmacêuticos (Rede *et al.*, 2019; Leles, 2017; Silva; Vieira, 2025).

Os estudos de Rede *et al.*, (2019) demonstraram que misturas de anti-inflamatórios, como ibuprofeno e diclofenaco, provocam inibição significativa do crescimento radicular e do hipocótilo de *Lactuca sativa*, mesmo em baixas concentrações. De forma semelhante, Araújo *et al.*, (2023) observaram reduções de até 82% no crescimento da radícula e 83% no hipocótilo em sementes expostas a paracetamol, indicando a toxicidade desses fármacos mesmo em níveis ambientais.

Entre os fármacos mais detectados em ambientes terrestres e aquáticos, o

ibuprofeno tem se destacado por sua alta frequência de ocorrência e persistência (Schmidt; Redshaw, 2015; Chacca *et al.*, 2022). A exposição crônica a esse composto pode causar alterações fisiológicas, comportamentais e reprodutivas em organismos não alvo (Arlos *et al.*, 2018; Mccallum *et al.*, 2019), além de comprometer o aparato fotossintético e o metabolismo antioxidante em plantas (Biczak *et al.*, 2024). Em *Lactuca sativa* e outras espécies-modelo, o ibuprofeno induz estresse oxidativo, reduz a eficiência fotoquímica e altera a morfologia das raízes e folhas, configurando-se como um importante marcador de impacto ecotoxicológico em ambientes contaminados (Silva *et al.*, 2023a; Biczak *et al.*, 2024).

Portanto, o uso de *Lactuca sativa* como bioindicador representa uma estratégia eficaz e cientificamente robusta para compreender os efeitos ecotoxicológicos dos fármacos enquanto CEs. Essa abordagem fornece dados fundamentais para a ARA, ao subsidiar a integração entre efeitos observados e cenários de exposição, contribuindo para a formulação de políticas públicas voltadas à preservação dos ecossistemas e à promoção de práticas sustentáveis (Mueller *et al.*, 2023).

2.7 Contextualizando o Cenário da Pesquisa

O município de Foz do Iguaçu está localizado na faixa de Fronteira do Brasil, instituída pela Lei Federal nº 6.634/1979, e faz divisa com dois países sul americanos Argentina, ao sul, e Paraguai, a oeste. No âmbito estadual, Foz do Iguaçu localiza-se no Terceiro Planalto Paranaense, na mesorregião Oeste do Paraná, em sua microrregião Foz do Iguaçu (PMFI, 2019 a). O município ocupa uma área de 618.057 km² (0,68% do território paranaense), possui altitude média de 165 metros e limita-se com os municípios paranaenses de São Miguel do Iguaçu e Santa Terezinha de Itaipu, a leste, e Itaipulândia, ao norte (IBGE, 2021).

A área objeto desta pesquisa situa-se na porção sudeste do município, na localidade do Arroio Dourado, localizado entre os paralelos 25°34'04" e 25°34'20" S, e entre os meridianos de 54°30'13" e 54°30'10" W. O acesso ao bairro Arroio Dourado dá-se tanto pela Avenida Felipe Wandscheer quanto pela rodovia das Cataratas (PMFI, 2019a).

Essa localidade foi usada para disposição de resíduos urbanos e hospitalares

entre a década de 60 e o ano de 1992. O aterro Arroio Dourado operou neste período na forma de um lixão, ou seja, sem os mecanismos de controle ambiental necessários para evitar danos ao meio ambiente e a saúde pública, e quando encerrou as atividades não atendeu os devidos trâmites legais para fazê-lo (PMFI, 2019b).

Após a desativação desse local sem critérios técnicos adequados, não foi implementada nenhuma ação de recuperação e/ou mitigação da área degradada e, com a expansão urbana da cidade na última década do século passado, em meados dos anos 90, diversas famílias carentes fixaram residência nessa região. Segundo estudos feitos pela Ambiental Consultoria, além do lixo depositado diretamente no solo, em valas, havia também, a falta de saneamento básico e o lançamento de dejetos, muitas vezes, a céu aberto (PMFI, 2012). A região foi classificada como insalubre em 2014, com os residentes da comunidade submetidos a condições precárias, desassistidos por infraestrutura, saneamento básico e serviços públicos (Valle, 2014).

Esse fato é corroborado por Oliveira, Ramirez e Di Lauro (2021) que analisaram a qualidade do solo da localidade do Arroio Dourado e correlacionaram os resultados com a problemática sócio-ambiental e os riscos provenientes da exposição a metais pesados, estes oriundos da deposição pretérita de resíduos no local. Neste estudo, constatou-se que o solo apresenta concentrações de chumbo e cromo acima das normas nacionais e internacionais vigentes, classificando a área como insalubre e que pode gerar consequências negativas à saúde humana e ao meio ambiente.

O antigo aterro Arroio Dourado, encontra-se sobre um aquífero do tipo fissurado, com interconexões entre diáclases e vacúolos interconectados por um sistema de fraturas que facilita a circulação e o armazenamento da água, propiciando sinergia entre os líquidos contaminantes. Esse fator é extremamente importante, uma vez que a água consumida é captada em poços rasos perfurados dentro da própria camada de lixo, expondo a população a diversos tipos de resíduos e vetores transmissores de doenças, além do alto potencial de contaminação do riacho Arroio Dourado, situado na bacia de captação de água para o abastecimento público (PMFI, 2019b,c).

Outro levantamento preocupante para esta área foi a investigação realizada por Lorence e Balestra (2016) acerca da concentração do gás metano presente no subsolo e identificação das plumas de concentrações do gás inflamável. Os resultados

apontaram que algumas áreas são extremamente perigosas e não se recomenda habitação sobre este local, pois além dos problemas devido a presença de gases inflamáveis, tem-se também a contaminação do solo e do lençol freático.

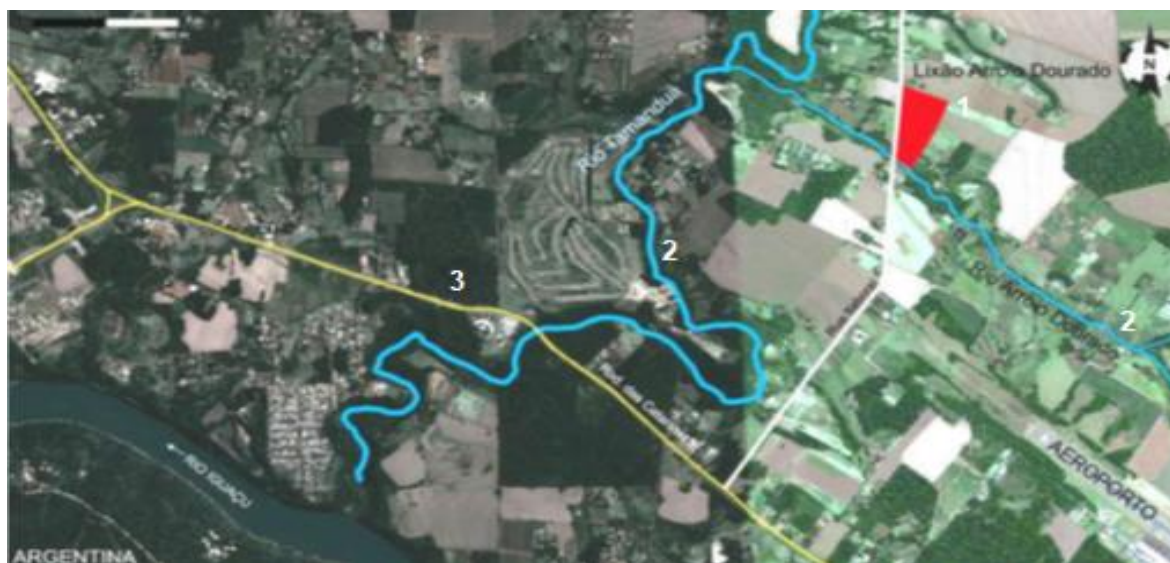
O relatório do Plano Municipal de Saneamento Básico publicado em 2019, corrobora com a afirmação ao mencionar que as medições de gás metano realizadas no local, apontaram que há grande volume de gás aprisionado no solo, configurando como uma área com elevado risco à população local (PMFI, 2019b).

O antigo aterro Arroio Dourado é referenciado pelos Planos Municipais de Saneamento Básico (PMSB) e de Gestão de Recursos Hídricos (PMGRH) de Foz do Iguaçu, ambos atualizado em 2019, como um dos pontos relativos aos passivos ambientais e sem Programa de Recuperação de Áreas Degradadas, e podem ser fonte de poluição para os cursos de água da região.

Os relatórios apontam que no local, há áreas agrícolas que podem estar utilizando técnicas inadequadas de manejo e conservação do solo, podendo causar a transferência de sedimentos para os corpos hídricos e assoreando as calhas dos rios. Além disso, agrotóxicos e fertilizantes usados na agricultura podem contaminar os cursos de água causando prejuízos irreparáveis. Ratificam que não há sistema de esgoto e drenagem pluvial, circundado por atividades agropecuárias. Ademais, ocorre a disposição inadequada de resíduos sólidos em áreas próximas dos rios, potencializando o dano ambiental com grandes riscos à população (PMFI, 2019b, c).

O atual PMGRH dividiu o município em 10 áreas de estratégia de gestão (AEGs), que nada mais são do que a união de bacias hidrográficas com características semelhantes. Optou-se por separar da análise de cada AEG, os rios municipais dos rios federais (Iguaçu e Paraná). A localidade do Arroio Dourado enquadra-se na AEG Tamanduá São João. As questões sanitárias desse local são de extrema importância para a região da tríplice fronteira, uma vez que o riacho Arroio Dourado nasce no município de Foz do Iguaçu, margeia a ocupação do antigo “lixão” e deságua no Rio Tamanduá (Figura 4). Aproximadamente 30% dos moradores de Foz do Iguaçu fazem uso da água oriunda deste manancial, tornando estratégicos os investimentos de proteção da mata ciliar e da biodiversidade local (PMFI, 2020).

Figura 4 – Mapa hidrológico da região de estudo.



Legenda: Antigo aterro Arroio Dourado – 1; Rio Tamanduá e riacho Arroio Dourado – 2; Rodovia das Cataratas – Foz do Iguaçu – PR – 3.

Fonte: Autora (2025).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar o potencial de microrganismos isolados do sedimento do riacho Arroio Dourado quanto à tolerância a fármacos e à biodegradação do ibuprofeno, com ênfase em fungos filamentosos, incluindo a caracterização do perfil de atividade enzimática, bem como investigar os efeitos fitotóxicos do ibuprofeno em *Lactuca sativa* em condições de exposição aguda, visando contribuir para o desenvolvimento de estratégias biotecnológicas sustentáveis para a mitigação de contaminantes emergentes em matrizes ambientais.

3.2 Objetivos Específicos

- ✓ Isolar e caracterizar microrganismos presentes em amostras de sedimento coletadas no riacho Arroio Dourado;
- ✓ Selecionar microrganismos capazes de manter atividade metabólica na presença de fármacos pertencentes às classes de analgésicos, anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), antimicrobianos, antidepressivos e hormônios;
- ✓ Caracterizar morfológicamente os isolados fúngicos por microcultivo;
- ✓ Identificar, por sequenciamento molecular (Sanger), as linhagens fúngicas mais promissoras;
- ✓ Avaliar o perfil de atividade enzimática das linhagens fúngicas identificadas;
- ✓ Investigar o potencial de biodegradação do ibuprofeno pelas linhagens fúngicas selecionadas;
- ✓ Avaliar os efeitos fitotóxicos do ibuprofeno sobre a germinação e o crescimento radicular de *Lactuca sativa* (alface).

4. METODOLOGIA

4.1 Tipo de pesquisa e etapas metodológicas

Trata-se de uma pesquisa experimental laboratorial realizada no município de Foz do Iguaçu - PR por meio do Programa de Pós-graduação Interdisciplinar em Energia e Sustentabilidade (PPGIES) da Universidade Federal da Integração Latino-Americana (UNILA).

Foram utilizados solventes e reagentes grau analítico (PA). Os meios de cultura e todos os materiais foram esterilizados em autoclave (121°C, 15 min, 1,5 bar, Digitale®). A manipulação dos microrganismos foi realizada em cabine de fluxo laminar (SIMBLAB®). O crescimento microbiano foi conduzido em incubadora tipo B.O.D. (Lucadema®, modelo LUCA 161) e, quando sob agitação, em *shaker* orbital a 150 rpm (Lab Companion®, modelo SIF 6000). O processo de liofilização das amostras obedeceu os seguintes parâmetros: pressão 45000 µHg, -45 °C por 30 h no Liofilizador SL-4049 (Solab®). Os reagentes, quando sólidos, foram medidos em balança analítica (EVEN®). O pH foi aferido em pHmetro digital (DL-PH, Dellab®). Todos os ensaios foram realizados em triplicata. As figuras elaboradas para mostrar a sequência das metodologias foram criadas no aplicativo Biorender®. Os resíduos químicos e biológicos foram descartados de acordo com a normativa da UNILA, conforme o Plano de Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde (PGRSS).

Para o desenvolvimento deste estudo, a metodologia foi organizada em etapas sequenciais, conforme ilustrado na Figura 5. O fluxograma apresenta o delineamento experimental adotado na investigação da biodegradação de fármacos por microrganismos, com foco no ibuprofeno, abrangendo desde o isolamento microbiano até a avaliação ecotoxicológica.

Na primeira etapa, foram coletadas amostras de sedimento em dois pontos do riacho Arroio Dourado (P1 e P2), considerando variáveis ambientais como temperatura, pH e condições ambientais do entorno. O isolamento, a seleção e os testes de viabilidade microbiana foram conduzidos nos Laboratórios de Biotecnologia Ambiental da UNILA - LabBioAmb (Campus Jardim Universitário). As amostras foram enriquecidas com diferentes classes de fármacos e, após semeadura em meios específicos, procedeu-se à purificação e preservação dos isolados. A viabilidade

celular foi avaliada pela reativação de fungos e bactérias em meios sólidos e, posteriormente, em meio mínimo suplementado com fármacos. As linhagens mais tolerantes foram selecionadas com base em análises estatísticas. A identificação dos fungos selecionados foi realizada a partir de características morfológicas e moleculares, garantindo a acurácia taxonômica.

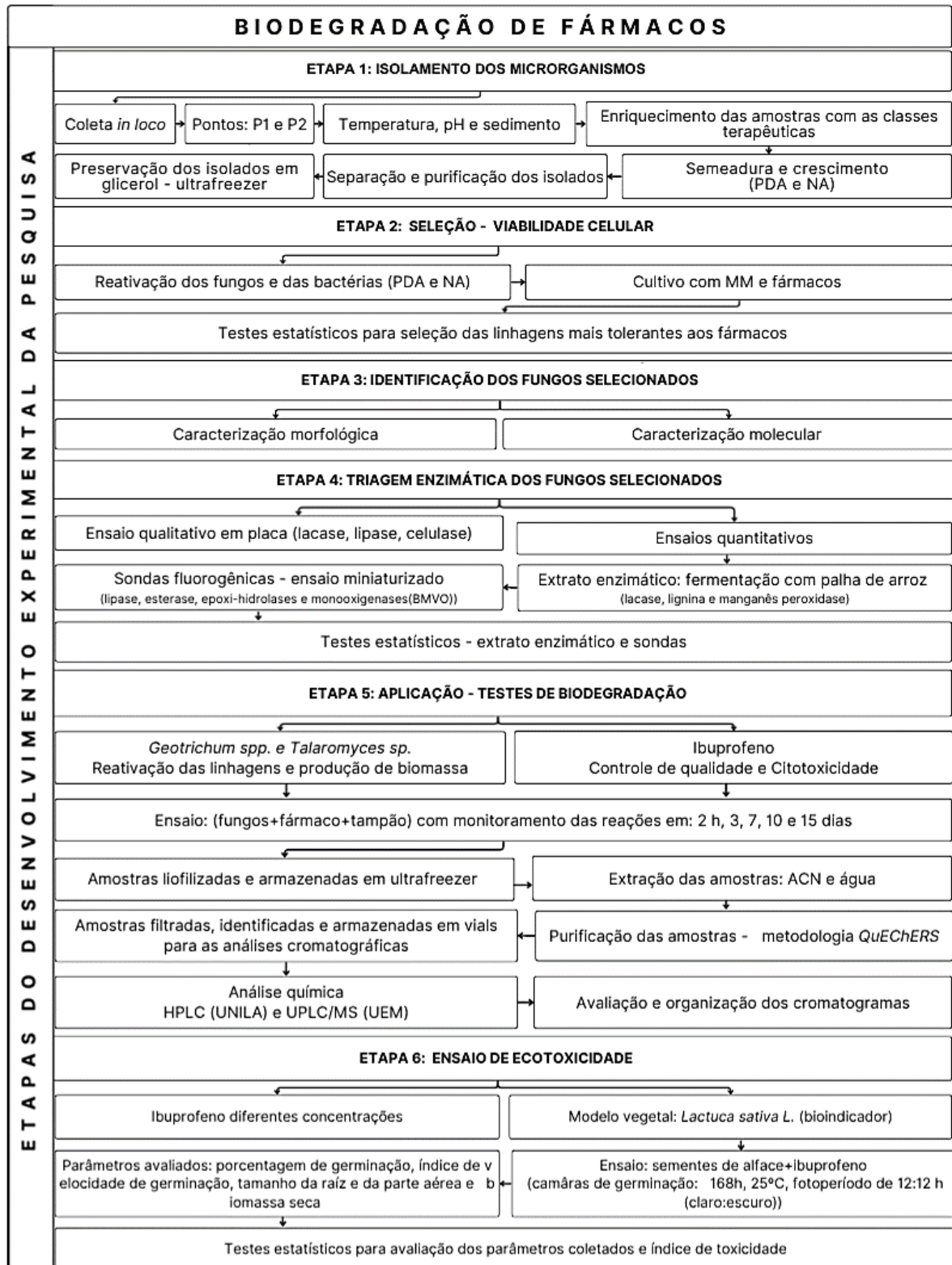
A triagem enzimática foi conduzida no LabBioAmb e no Laboratório de Bioprocessos e Síntese (LBios - Itaipu Parquetec). Foram conduzidos ensaios qualitativos em placas para a detecção preliminar de determinadas atividades enzimáticas, bem como ensaios quantitativos empregando extratos enzimáticos obtidos a partir da fermentação em palha de arroz e sondas fluorogênicas específicas destinadas à avaliação de diferentes classes de enzimas

Os testes de biodegradação foram realizados no Laboratório Multiusuário Engenheira Ednéia Marques (LEAM - Itaipu Parquetec). As culturas foram reativadas para produção de biomassa e expostas ao ibuprofeno em diferentes tempos de incubação (2 h a 15 dias). Após o período experimental, as amostras foram liofilizadas, extraídas e purificadas. As análises químicas foram conduzidas por HPLC e UPLC-MS, permitindo a identificação de metabólitos e a avaliação dos perfis cromatográficos.

Por fim, os ensaios ecotoxicológicos foram realizados no Laboratório de Sementes do Centro Universitário Dinâmica das Cataratas (UDC), utilizando sementes de *Lactuca sativa* expostas a diferentes concentrações de ibuprofeno. Foram avaliados parâmetros de germinação, crescimento radicular, parte aérea e biomassa seca, e os dados foram submetidos à análise estatística para determinação do potencial fitotóxico do composto.

Esse fluxo metodológico integrado permitiu não apenas a seleção de microrganismos com potencial para a biodegradação de contaminantes emergentes, mas também a compreensão das transformações químicas envolvidas e dos efeitos ecotoxicológicos associados.

Figura 5 – Fluxograma esquemático das etapas metodológicas do estudo, desde o isolamento de microrganismos até os ensaios de biodegradação de ibuprofeno e avaliação ecotoxicológica em *Lactuca sativa*.



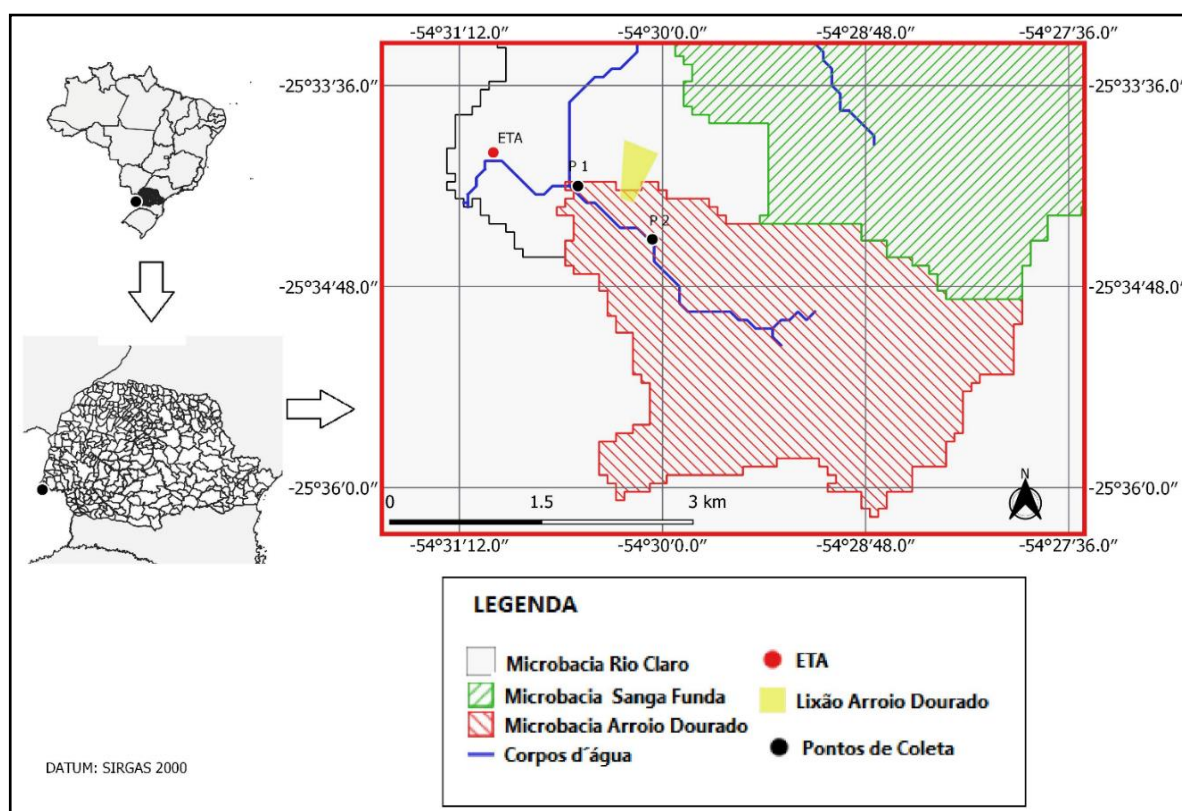
Fonte: Autora (2025).

4.2 Localização da área e Pontos de coleta

As amostras de sedimento foram coletadas no riacho Arroio Dourado, que nasce em Foz do Iguaçu e deságua no rio Tamanduá. A ocupação homônima está localizada na microbacia do córrego Rio Claro, cujo riacho também é afluente do rio Tamanduá. Na confluência entre o Arroio Dourado e o rio Tamanduá (jusante) encontra-se uma Estação de Tratamento de Água (ETA) da Sanepar - Companhia de Saneamento do Paraná (PMFI, 2019c; Lorence; Balestra, 2016).

Os pontos de coleta foram definidos *in situ*: P1, a jusante ($25^{\circ}34'31''\text{S}$, $54^{\circ}30'27''\text{O}$), e P2, a montante ($25^{\circ}34'51''\text{S}$, $54^{\circ}30'60''\text{O}$), separados por aproximadamente 800 m. As coordenadas foram registradas por GPS, e a Figura 6, elaborada no QGIS 3.10, ilustra a região de estudo e os pontos de amostragem.

Figura 6 – Localização da área de estudo e dos pontos de amostragem.



Fonte: Autora (2025).

4.3 Coleta e transporte das amostras

As amostras de sedimento foram coletadas no dia 15 de fevereiro de 2021, no período da manhã, com uma temperatura ambiente de 28 °C. A amostragem foi realizada sob condições de vazão normal do riacho, considerando a ausência de chuvas nos dias anteriores. As amostras foram coletadas em triplicata, utilizando tubos Falcon de 50 mL estéreis. O procedimento foi conduzido de maneira perpendicular ao solo, extraindo-se 10 cm da camada superficial do sedimento fino.

Os parâmetros físico-químicos, pH e temperatura (°C) foram mensurados *in situ* no riacho Arroio Dourado, utilizando fitas de pH e termômetro digital (Kasvi®), respectivamente. Os procedimentos de coleta e preservação das amostras foram realizados de acordo com o guia nacional de coleta e preservação de amostras de água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidas (CETESB, 2011).

Após a coleta, as amostras foram identificadas e acondicionadas em caixa de isopor com gelo para manutenção da integridade da microbiota local e mantidas sob refrigeração a 4 °C ± 2 até a chegada ao LabBioAmb da UNILA.

4.4 Reagentes e Soluções

4.4.1 Fármacos selecionados

Os medicamentos utilizados neste estudo foram doados pela Secretaria Municipal de Saúde (SMS) e a divisão das classes terapêuticas foram definidas com base na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais - RENAME (Brasil, 2020a) e são apresentadas abaixo (Quadro 3, Figura 7).

Essas substâncias estão contempladas na Relação Municipal de Medicamentos Essenciais - REMUME (PMFI, 2017) e são distribuídas pelo Sistema Único de Saúde (SUS) à população. Esses fármacos foram selecionados por apresentarem elevado índice de prescrição para o Município de Foz do Iguaçu - Paraná no quadriênio (2017 - 2020), segundo relatório disponibilizado pela SMS por meio do Sistema de Gestão de Saúde - RP Saúde (PMFI, 2021).

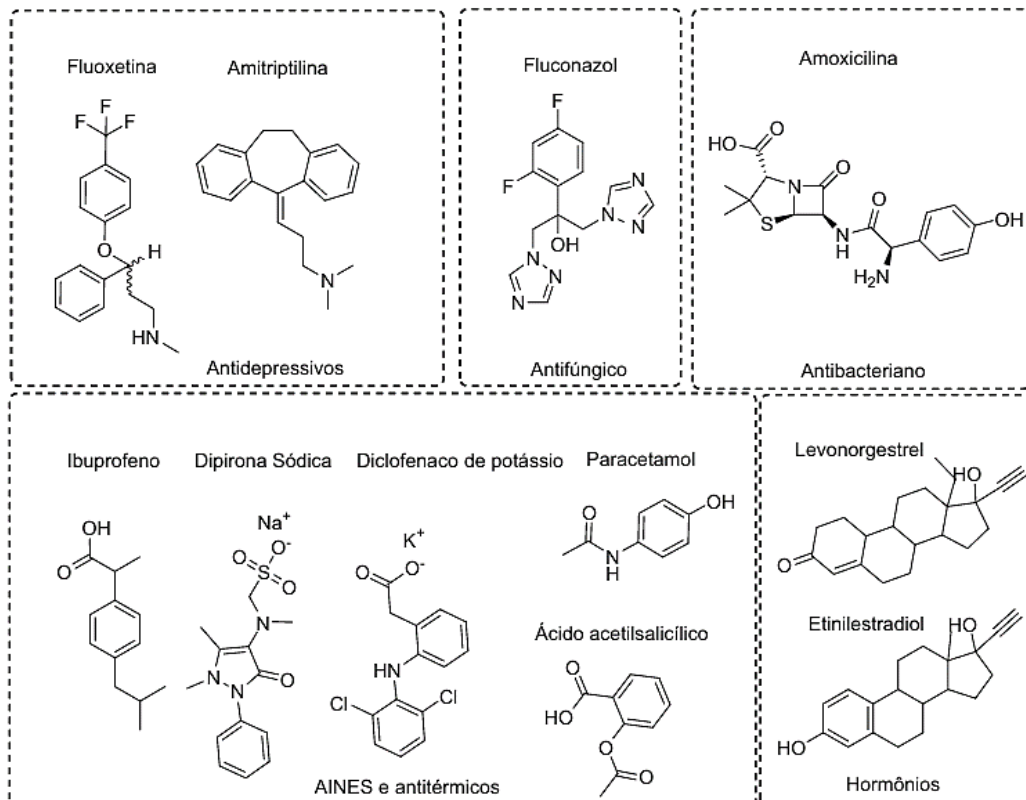
Quadro 3 – Relação dos fármacos utilizados nos ensaios experimentais, respectivas dosagens, formas farmacêuticas e classes terapêuticas.

Fármaco	Dosagem	Forma	Laboratório	Classe terapêutica
Paracetamol	500 mg	comprimido	Hipolabor®	Analgésico / Antitérmico
Dipirona	500 mg	comprimido	Prati Donaduzzi®	Analgésico / Antitérmico
Ácido acetilsalicílico	100 mg	comprimido	Custódia®	Analgésico / Antitérmico
Cloridrato de Amitriptilina	25 mg	cápsula	EMS®	Antidepressivo
Cloridrato de Fluoxetina	20 mg	cápsula	TEUTO®	Antidepressivo
Diclofenaco	100 mg	comprimido	EMS®	AINE
Ibuprofeno	600 mg	comprimido	Prati Donaduzzi®	AINE
Amoxicilina	500 mg	cápsula	TEUTO®	Antibacteriano
Fluconazol	150 mg	cápsula	EMS®	Antifúngico
Etinilestradiol Levonorgestrel	30 µg 150 µg	comprimido	União Química®	Hormônio

Legenda: AINE – Anti-inflamatório não-esteroidal; mg – miligrama, µg – micrograma

Fonte: Autora (2025).

Figura 7 – Estruturas químicas dos fármacos utilizados nos ensaios.



Fonte: Autora (2025).

4.4.2 Soluções de Fármacos

Para as análises, foram preparadas soluções estoque dos fármacos a $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ em água destilada, visando à padronização das diluições subsequentes, adequada solubilização dos compostos e reprodutibilidade entre os ensaios. Dipirona sódica, estradiol, fluconazol, fluoxetina e ibuprofeno foram inicialmente solubilizados em 1 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) para obtenção de soluções homogêneas e, posteriormente, diluídos em água destilada, resultando em uma concentração final de DMSO inferior a 0,1% (v/v). O ácido acetilsalicílico (AAS) foi dissolvido diretamente em água destilada, a amoxicilina em 1 mL de hidróxido de amônio (NH_4OH) $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ e o diclofenaco sódico em 1 mL de metanol (CH_3OH), sendo, em seguida, completado o volume com água destilada.

As soluções foram completadas com água destilada até o volume final (q.s.p.) em balão volumétrico, identificadas e armazenadas em frascos âmbar sob refrigeração, sendo utilizadas conforme a demanda dos ensaios. Para o isolamento de microrganismos, as amostras de sedimento foram enriquecidas com os fármacos na concentração clínica recomendada, diluídos na proporção de 1:10 (Vulava *et al.*, 2016; OECD, 2000). O ensaio de viabilidade foi realizado com concentração final de $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (Ivshina *et al.*, 2019). Para os testes de biodegradação, o ibuprofeno foi preparado conforme descrito, com concentração final ajustada para $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, valor selecionado após teste de citotoxicidade do fármaco (ver item 4.10.4). E, para os ensaios de ecotoxicidade, o ibuprofeno foi utilizado em concentrações crescentes, variando de 0,1 a $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (ver item 4.11).

4.4.3 Meios de Cultura

Os meios de cultura utilizados para crescimento e isolamento microbiano, foram, respectivamente, os meios sólidos Ágar Nutriente (NA) e Ágar Potato Dextrose (PDA) preparados de acordo com a recomendação dos fabricantes. Utilizou-se o NA (Kasvi®) acrescido do antifúngico nistatina ($100.000 \text{ UI}\cdot\text{mL}^{-1}$) para o isolamento de bactérias. Sua formulação compreende ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$): extrato de carne bovina (1,0); extrato de levedura (2,0); peptona (5,0); cloreto de sódio (5,0) e ágar (15,0). O pH final foi ajustado para $7,4 \pm 0,2$.

O PDA comercial (Sigma Aldrich®) foi usado para o crescimento de fungos, composto por (g.L⁻¹): ágar (15,0); dextrose (20,0); extrato de batata (4,0). O pH foi ajustado para 5,6 ± 0,2 e acrescido de antibiótico cloranfenicol (0,07 g.L⁻¹). Para reativação dos isolados, não foram utilizados os antimicrobianos. O meio de cultura extrato de malte (Kasvi®) foi usado como caldo (meio líquido) e como meio sólido, acrescentando-se à composição inicial 15,0 g.L⁻¹ de ágar. O pH foi ajustado para 5,5 ± 0,2 em temperatura ambiente (25 °C).

O meio de cultura mínimo com glicose (MM) foi preparado acrescentando-se 0,5% de glicose, conforme descrito por Ivshina e colaboradores (2019) para enriquecimento das amostras e para os ensaios de viabilidade celular. Sua composição consiste (g.L⁻¹): 0,2 g de cloreto de cálcio (CaCl₂·2H₂O); 0,7 g fosfato de potássio bi-básico (K₂HPO₄); 0,7 g fosfato de potássio monobásico (KH₂PO₄); 0,9 g de glicose; 0,5 g nitrato de sódio (NaNO₃); 0,5 g sulfato de amônio ((NH₄)₂SO₄) e 0,2 g sulfato de magnésio (MgSO₄) completado para 1,0 litro de água destilada.

Para o preparo de um litro do meio de cultura basal com ureia foram utilizados: 0,3 g de ureia; 0,76 g de peptona; 0,25 g sulfato de cobre (CuSO₄·5H₂O); 1,4 g sulfato de amônio (NH₄)₂SO₄; 2,0 g fosfato de potássio monobásico (KH₂PO₄); 0,3 g sulfato de magnésio (MgSO₄·7H₂O); 0,4 g cloreto de cálcio (CaCl₂·2H₂O); 0,005 g sulfato de ferro (FeSO₄·7H₂O); 0,0016 g sulfato de manganês (MnSO₄); 0,0037 g sulfato de zinco ZnSO₄·7H₂O; 0,0037 g cloreto de cobalto (CoCl₂·6H₂O) completado volume para 1,0 L com água destilada. Para cada Erlenmeyer de 125 mL foram acrescidos 2,5 g de palha de arroz usados como indutor enzimático (Rueda *et al.*, 2020).

O meio catalítico Czapeck foi selecionado para os testes de biodegradação, com modificações conforme a metodologia descrita por Palaric *et al.*, (2019). Composto por (g.L⁻¹): 30,0 g de glicose; 5,0 g de extrato de levedura; 2,0 g de nitrato de sódio (NaNO₃); 1,0 g de fosfato de potássio monobásico (KH₂PO₄); 0,5 g de sulfato de magnésio (MgSO₄·7H₂O); 0,5 g de cloreto de potássio (KCl); 0,02 g de sulfato de ferro (FeSO₄·7H₂O), completado para 1,0 litro com água destilada.

Todos os meios de cultura, tanto líquidos quanto sólidos, utilizados nos testes descritos neste trabalho foram preparados e esterilizados seguindo rigorosamente os protocolos estabelecidos e as boas práticas de microbiologia. Os meios foram utilizados imediatamente após a esterilização ou armazenados em refrigerador por no

máximo uma semana.

4.4.4 Soluções Tampão

Foram utilizadas duas soluções para preparar o tampão fosfato pH 7,4 usado nas análises. Para isso, foram preparadas soluções estoque com água deionizada. Para a solução estoque de fosfato monobásico de sódio anidro (NaHPO_4) a $0,2 \text{ mol.L}^{-1}$ (ACS científica[®]), foram pesados 27,8 g transferidos para um balão volumétrico, ajustado o volume para 1,0 L. Para a outra solução a $0,2 \text{ mol.L}^{-1}$ de fosfato bibásico de sódio anidro (Na_2HPO_4) (Chemicals[®]), foram pesados 28,39 g e completados para 1,0 L. Para o preparo de 1,0 L da solução de trabalho, foram adicionados 95 mL de NaHPO_4 $0,2 \text{ mol.L}^{-1}$ e 405 mL de Na_2HPO_4 a $0,2 \text{ mol.L}^{-1}$, completando o volume com água deionizada (Gomori, 1976).

Da mesma forma, duas soluções foram utilizadas para o preparo do tampão borato pH 8,8. Inicialmente foram preparadas as soluções estoque de $0,2 \text{ mol.L}^{-1}$ de ácido bórico (H_3BO_3) e de boráx ($0,05 \text{ mol.L}^{-1}$). A solução de H_3BO_3 foram pesados 6,2 g em 500 mL e para a de boráx 9,75 em 500 mL de água destilada q.s.p. Para preparar a solução de trabalho utilizou-se 50 mL da solução estoque a $0,2 \text{ mol.L}^{-1}$ H_3BO_3 mais 30 mL da solução de bórax a $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$, completando com água deionizada para 200 mL em balão volumétrico (Gomori, 1976).

Para o preparo dos tampões citrato pH 3,0 e pH 4, utilizaram-se duas soluções estoque compostas por ácido cítrico a $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ foram pesados 21,01 g e citrato de sódio a $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ foram pesados 29,41 g, ambos ajustados para 1 L de água deionizada. Para o pH 3,0 foram 46,5 mL da solução de ácido e 3,5 mL da solução de citrato completados para 100 mL com água deionizada. Já para o pH 4,5 foram adicionados 56 mL de ácido cítrico e 44 mL de citrato de sódio completados para 500 mL de água deionizada (Gomori, 1976).

A solução de tampão malonato ($3,5 \text{ mol.L}^{-1}$) pH 4,5 foi preparada com 100,64 g de malonato de sódio (Sigma Aldrich[®]) dissolvido em 200 mL de água deionizada com concentração final de $3,5 \text{ mol.L}^{-1}$ (Gomori, 1976).

O tampão acetato pH 4,5 foi composto por duas soluções estoque. Para a solução de ácido acético ($0,2 \text{ mol.L}^{-1}$), foram adicionados 11,5 mL de ácido acético glacial (Êxodo Científica[®]) em 1,0 L de água deionizada. Para preparar a solução de

acetato de sódio ($0,2 \text{ mol.L}^{-1}$) (Êxodo Científica®) 16,4 g foram dissolvidos em 1,0 L de água deionizada. Para preparar 100 mL do tampão foram acrescentados 30,5 mL da solução de ácido acético e 19,5 mL da solução de acetato de sódio (Gomori, 1976). Todas as soluções estoque foram identificadas e armazenadas em refrigerador.

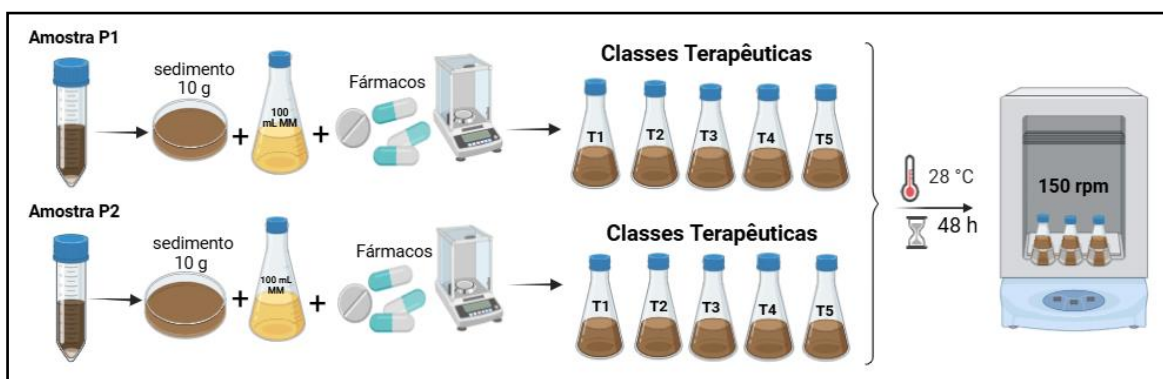
4.5 Processamento das amostras e isolamento dos microrganismos

4.5.1 Enriquecimento das amostras

Para a execução do experimento, as amostras previamente armazenadas em tubos Falcon foram transferidas para placas de Petri (90x15 mm, Olen®) e cuidadosamente homogeneizadas para posterior determinação da massa. Em seguida, foram pesados 10 g de sedimento para cada repetição experimental, totalizando cinco amostras por ponto de coleta (P1 e P2). Cada alíquota foi transferida para frascos Erlenmeyer de 125 mL contendo 100 mL do meio mínimo (MM), suplementado com as respectivas classes terapêuticas dos fármacos na concentração clínica diluída (1:10), conforme descrito no Quadro 4. A preparação dos ensaios seguiu as recomendações metodológicas da diretriz OECD 106 para estudos de interação fármaco-sedimento (Vulava *et al.*, 2016; OECD, 2000).

Os frascos foram incubados em agitador rotativo (shaker) a $150 \pm 2 \text{ rpm}$ e temperatura controlada de $28 \text{ }^\circ\text{C}$, por um período de 48 horas (Figura 8).

Figura 8 – Etapas de preparo das amostras de sedimento enriquecidas com diferentes classes terapêuticas.



Fonte: Autora (2025).

Quadro 4 – Tratamentos usados no enriquecimento das amostras e pontos de coleta.

Tratamento	Classe Terapêutica	Fármaco Dosagem Clínica	Concentração utilizada 1:10	Código
T1	antitérmicos	Paracetamol 500 mg	50 mg	T1 P1 T1P2
		Dipirona 500 mg	50 mg	
		Ácido acetilsalicílico 100 mg	10 mg	
T2	Anti-inflamatórios	Ibuprofeno 600 mg	60 mg	T2P1
		Diclofenaco sódico 100 mg	10 mg	T2P2
T3	antimicrobianos	Amoxicilina 500 mg	50 mg	T3P1
		Fluconazol 150 mg	15 mg	T3P2
T4	antidepressivos	Cloridrato de amitriptilina 25 mg	2,5 mg	T4P1
		Cloridrato de fluoxetina 20 mg	20 mg	T4P2
T5	hormônios	Etinilestradiol 30 µg	3,0 µg	T5P1
		Levonogestrel 150 µg	15 µg	T5P2

Legenda: P1 – ponto de coleta 1; P2 – ponto de coleta 2; µg – micrograma; mg – miligrama.

Fonte: Autora (2025).

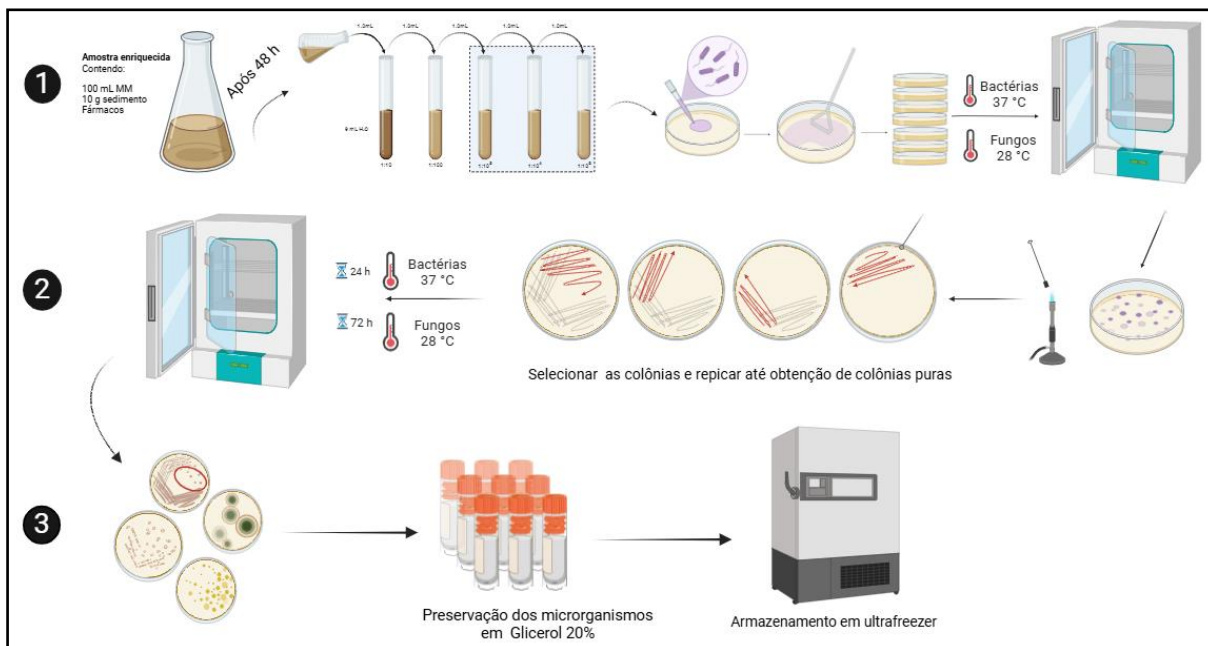
4.5.2 Isolamento e preservação dos microrganismos

Após 48 horas de incubação das amostras enriquecidas com os fármacos, realizou-se uma diluição inicial de 10^{-1} , seguida de diluições seriadas em solução salina (NaCl) 0,85% até 10^{-5} . Foram inoculados 50 µL das três últimas diluições em placas de Petri com meios sólidos, utilizando a técnica de *spread plate* com alça de Drigalski. As placas foram incubadas em duplicata: uma incubadora B.O.D. a 28 °C para fungos, por até 7 dias, monitorada diariamente; e outra a 36,5 °C para bactérias, por 24 horas.

O crescimento microbiano foi avaliado em ágar NA e PDA. Microrganismos foram selecionados com base em características morfológicas das colônias: forma, tamanho, cor, textura, opacidade e consistência. Colônias bacterianas diferenciadas foram transferidas para placas de NA e purificadas por esgotamento, incubadas a 36,5 °C por 24 horas.

Para os fungos, foram avaliadas pigmentação, velocidade de crescimento, elevação, bordas e textura da superfície das colônias. Fragmentos da colônia foram transferidos para novas placas com PDA e incubados a 28 °C por até 7 dias. Colônias confluentes foram re-cultivadas sucessivamente até a obtenção de colônias puras (Figura 9).

Figura 9 – Procedimentos para isolamento de microrganismos em amostras de sedimento.



Fonte: Autora (2025).

Para a preservação dos microrganismos, utilizou-se a técnica de criopreservação, congelamento em meio aquoso com 20% de glicerol. Esse método permite a preservação de fungos, bactérias, tecidos, sendo animais ou vegetais, mantendo-os geneticamente estáveis (Brockbank; Covault; Taylor, 2007; Aguiar *et al.*, 2012). Os microrganismos isolados foram preservados em tubos criogênicos em duplicata. Todas as amostras foram identificadas, codificadas e acondicionadas em caixas de fibra de papelão. Os tubos foram dispostos em freezer (-20 °C) durante 20 minutos, e em seguida, acondicionados em ultrafreezer a -80 °C.

4.6 Preparação dos inóculos para os ensaios experimentais

Para padronizar os experimentos e minimizar alterações genéticas decorrentes de passagens sucessivas, os microrganismos foram reativados a partir de culturas preservadas, sendo transferidos para novas placas contendo PDA ou NA no início de cada fase experimental. O teste de viabilidade celular foi realizado com todos os microrganismos isolados.

O cultivo iniciou-se com a preparação de um pré-inóculo, destinado a reativar

o crescimento e o metabolismo dos isolados armazenados. Uma alíquota foi retirada do frasco crioprotetor e inoculada no meio de cultura adequado. Os fungos foram semeados em placas de Petri (90x15 mm) contendo PDA e incubados em B.O.D. a 28 °C por até 7 dias. As bactérias foram cultivadas em placas de Petri com NA, utilizando a técnica de inoculação em superfície (*spread plate*) com alça de Drigalski, e incubadas a 36,5 °C por 24 horas.

Para os ensaios enzimáticos e de biocatálise (biodegradação), foram utilizados exclusivamente fungos, cultivados em frascos Erlenmeyer de 125 mL contendo 30 mL de caldo extrato de malte (Kasvi®), preparado conforme as instruções do fabricante. A inoculação foi realizada por transferência de quatro discos de 6 mm de diâmetro contendo micélio ativo de colônias previamente cultivadas em meio sólido. Os frascos foram incubados a 28 °C, sob agitação constante de 150 rpm, por 7 dias (168 h).

4.7 Teste de viabilidade celular

Os ensaios foram conduzidos com fungos e bactérias, empregando colônias de crescimento recente previamente reativadas, conforme descrito na seção 4.5. Nesse ensaio, os fármacos foram avaliados individualmente, a fim de determinar seu efeito sobre a viabilidade celular dos microrganismos diferentemente do procedimento utilizado no isolamento, em que foram administrados de acordo com suas classes terapêuticas (Quadro 5). Os métodos aplicados seguiram as diretrizes propostas por Ivshina e colaboradores (2019), com a adição de 0,5 g·L⁻¹ de glicose ao meio mínimo, suplementado com solução dos fármacos em concentração final de 10 mg·L⁻¹.

Quadro 5 – Fármacos utilizados nos ensaios de viabilidade celular.

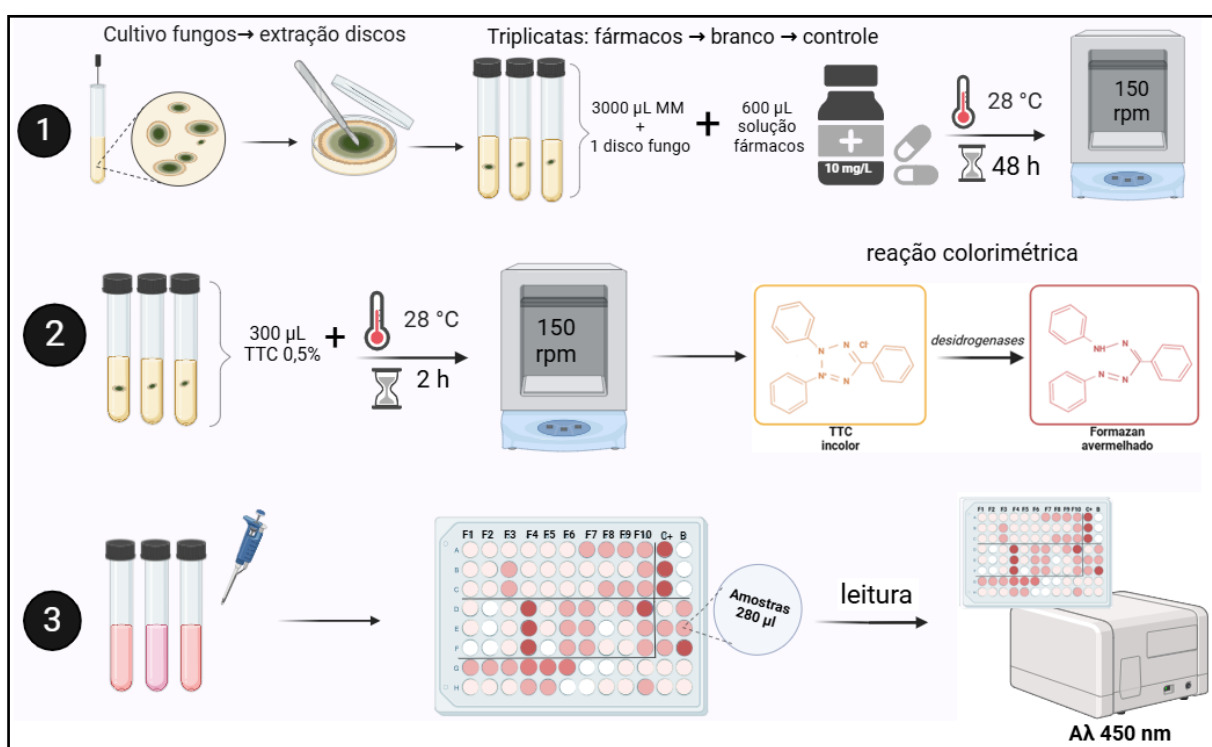
Tratamento	Fármaco	Tratamento	Fármaco
F1	Paracetamol	F6	Fluconazol
F2	Dipirona	F7	Amoxicilina
F3	Ácido acetilsalicílico	F8	Amitriptilina
F4	Ibuprofeno	F9	Fluoxetina
F5	Diclofenaco de sódio	F10	Hormônios

Fonte: Autora (2025).

4.7.1 Fungos

Para cada fungo testado, foram preparados tubos de ensaio de 10 mL com tampa, contendo 3 mL de meio de cultivo mínimo (MM), um disco de micélio de 6 mm de diâmetro como inóculo e 600 µL da solução do fármaco. Os tubos foram incubados por 48 horas em agitador orbital a 28 °C, sob agitação constante de 150 rpm (Figura 10).

Figura 10 – Procedimentos para avaliação da viabilidade celular de fungos.



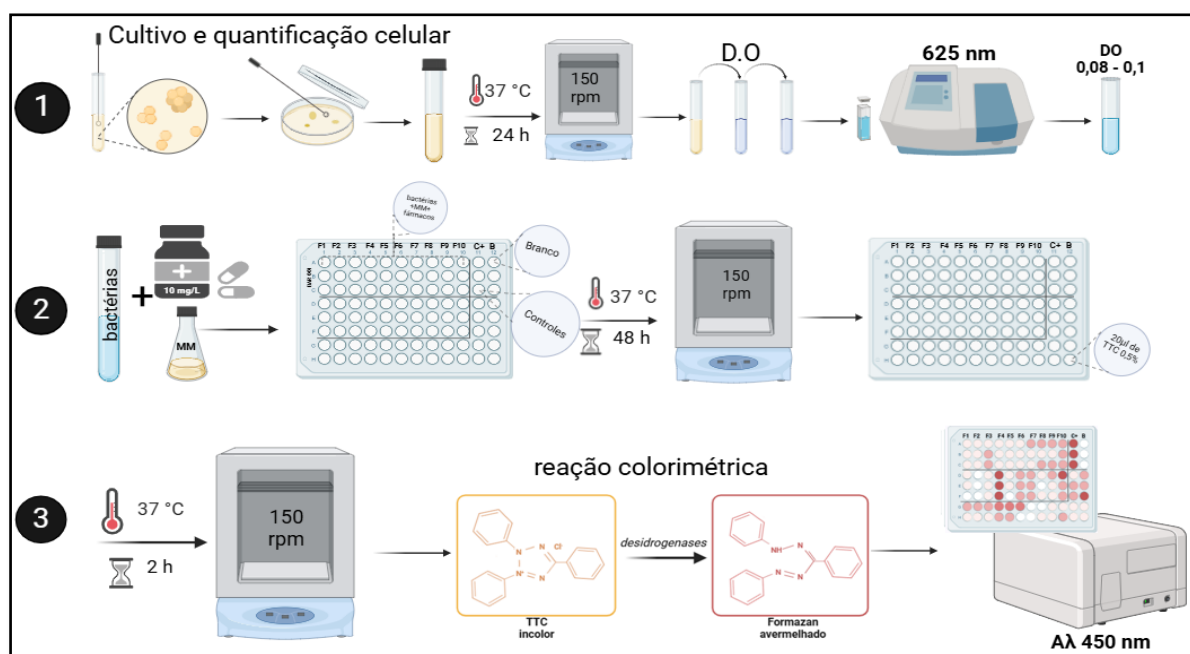
Fonte: Autora (2025).

Após esse período, adicionou-se 300 µL de solução aquosa de cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC, 0,5%), utilizado como indicador de atividade metabólica redutora, inferindo viabilidade celular pela formação de formazan. Os tubos foram incubados por mais 2 horas nas mesmas condições. Em seguida, 280 µL do sobrenadante de cada tubo foram transferidos para microplaca de 96 poços de fundo chato (Kasvi®), e a absorbância foi medida em leitor de microplacas (Celer®, modelo Polaris) a 450 nm, conforme descrito por Moussa *et al.*, (2013).

4.7.2 Bactérias

A concentração celular das bactérias foi ajustada pelo método de turbidimetria, utilizando a Densidade Óptica (DO), que é calculada pela expressão: $DO = \log(I_0/I)$, onde I_0 representa a intensidade da luz incidente e I é a intensidade da luz transmitida através da suspensão celular. As medidas de absorbância foram realizadas a 625 nm (Stremel, 2013). Os inóculos foram preparados em meio de cultura mínimo (MM) com as bactérias selecionadas e incubados a 37 °C sob agitação constante de 150 rpm por 24 horas (Figura 11).

Figura 11 – Procedimentos para avaliação da viabilidade celular de bactérias.



Fonte: Autora (2025).

Em seguida, as culturas foram diluídas em água destilada estéril até que a DO permanecesse na faixa de 0,08 a 0,13 correspondente a 0,5 na escala de McFarland, equivalente a aproximadamente $1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/mL), conforme confirmado em espectrofotômetro digital UV-Vis (Weblabor® modelo M51).

Microplacas de 96 poços foram preparadas com 200 µL de meio MM, 20 µL do inóculo bacteriano e 40 µL do fármaco em cada poço. As microplacas foram

incubadas por 48 horas em *shaker* a 37 °C, sob agitação constante de 150 rpm. Após esse período, adicionou-se 20 µL de solução de TTC a 0,5% e as microplacas foram incubadas por mais 2 horas nas mesmas condições.

A absorbância foi medida em leitor de microplacas (Celer[®], modelo Polaris) a 450 nm. Como controle positivo, utilizou-se MM contendo o microrganismo e a solução de TTC, sem adição do fármaco. O controle negativo consistiu em MM suplementado com o fármaco e o TTC, aplicado tanto para bactérias quanto para fungos. Poços com coloração avermelhada indicaram crescimento microbiano, enquanto a manutenção da coloração incolor sinalizou inibição do crescimento.

4.7.3 Análise estatística

Os testes de viabilidade celular foram conduzidos com fungos e bactérias, utilizando dez fármacos na presença do meio mínimo suplementado, com o objetivo de selecionar os microrganismos mais tolerantes para as etapas enzimáticas subsequentes. As absorbâncias foram corrigidas pelos valores dos controles, sendo que resultados positivos indicaram tolerância aos fármacos testados.

Os fungos com valores estatisticamente significativos em relação ao grupo controle foram selecionados para os ensaios enzimáticos. Os dados foram avaliados quanto aos pressupostos de normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e homocedasticidade (teste de Levene). Uma vez atendidos esses critérios, aplicou-se a análise de variância de dois fatores (ANOVA) para testar a hipótese nula de igualdade das médias de absorbância entre os grupos.

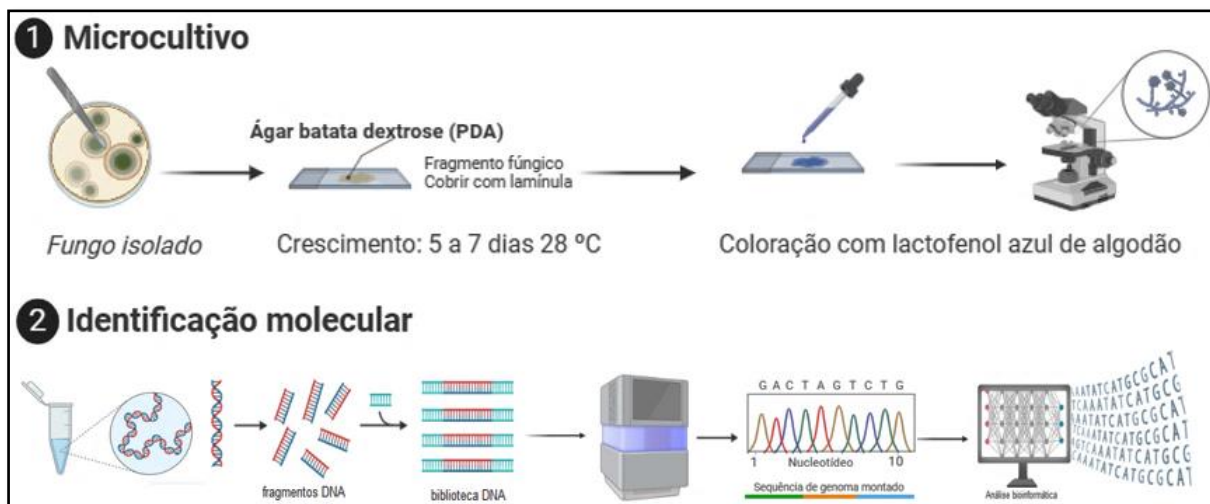
Nos casos de significância estatística ($p < 0,05$), o teste de Dunnett foi utilizado para comparar as médias dos grupos experimentais com a média do grupo controle. As médias, acompanhadas dos respectivos desvios-padrão, foram organizadas em tabelas e representadas graficamente por boxplots, considerando todos os microrganismos testados, e por gráficos de barras, utilizados para destacar as linhagens mais tolerantes a cada fármaco.

4.8 Identificação dos isolados fúngicos

Os fungos foram inicialmente triados por meio de microcultivo, o que

possibilitou a observação de características morfológicas distintivas. Em seguida, a identificação molecular foi realizada para confirmação taxonômica, conforme apresentado na Figura 12.

Figura 12 – Metodologias para identificação de fungos de interesse biotecnológico.



Fonte: Autora (2025).

4.8.1 Caracterização morfológica

As lâminas para identificação morfológica foram preparadas pela técnica de microcultivo com adaptações. Esta técnica consiste na preparação de culturas de fungos em lâminas de microscopia para observação direta em microscópio de campo claro. Os fungos reativados em PDA, foram inoculados em caldo extrato de malte, incubados em *shaker* a 28 °C, 150 rpm por 7 dias. Após esse período foram adicionados 50 µL do inóculo em uma lâmina recoberta com uma fina camada de PDA, coberto por lamínula e incubados por 7 dias a 28 °C. As lâminas foram coradas com azul de algodão com lactofenol (Êxodo Científica®) e as leituras foram realizadas em microscópio óptico Primostar 3 (Zeiss®) para observação das estruturas morfológicas e reprodutivas como hifas, conidióforos e conídios (ANVISA, 2022).

4.8.2 Identificação Molecular

Esta etapa foi conduzida em colaboração com a Professora Dra. Rafaella

Costa Bonugli Santos, do Laboratório de Bioquímica e Microbiologia (LABIMIC) da UNILA.

A extração do DNA (Ácido desoxirribonucleico) foi feita pelo método fenol clorofórmio. Foram selecionados cinco isolados fúngicos ($n = 5$) que apresentaram maior tolerância aos fármacos das classes dos anti-inflamatórios não esteroidais e dos antitérmicos, com base nos ensaios de viabilidade celular por redução do TTC e na identificação de diferenças estatisticamente significativas em relação ao controle. As linhagens selecionadas representam perfis distintos de resposta biológica aos compostos avaliados e foram cultivadas por sete dias em 10 mL de caldo PDA, em estufa tipo B.O.D., a 28 °C. Após o crescimento, o micélio foi transferido para um microtubo de centrífuga e lavado com água ultrapura estéril. A suspensão foi centrifugada a 14.000 rpm por 3 minutos, e o sobrenadante foi descartado. Em seguida, foram adicionados 50 μ L do tampão de extração, composto por 1% de dodecil sulfato de sódio (SDS), 25 mM de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), 250 mM de cloreto de sódio (NaCl) e 200 mM de Tris-HCl (pH 8,0). A suspensão fúngica foi então triturada com o auxílio de um bastão de plástico. Após essa etapa, foram adicionados mais 950 μ L do tampão de extração, e a mistura foi incubada em banho-maria a 65 °C por 20 minutos. O frasco foi retirado do banho-maria e centrifugado a 14.000 rpm por 10 minutos a 4 °C.

Após a centrifugação, foram transferidos 800 μ L do sobrenadante para um novo tubo Eppendorf de 2,0 mL, e 800 μ L de fenol foram adicionados. A amostra foi homogeneizada delicadamente e centrifugada a 14.000 rpm por mais 5 minutos a 4 °C. Findado o tempo, 600 μ L do sobrenadante foram transferidos para um novo tubo Eppendorf de 2,0 mL, e foi adicionada uma mistura de fenol/clorofórmio na proporção de 1:1 (300 μ L de fenol e 300 μ L de clorofórmio). A amostra foi homogeneizada novamente e centrifugada a 14.000 rpm por 5 minutos a 4 °C.

Em seguida, foram transferidos 400 μ L do sobrenadante para um novo microtubo de 2,0 mL, e 400 μ L de clorofórmio foram adicionados. A amostra foi homogeneizada e o ciclo de centrifugação foi repetido (14.000 rpm por 15 minutos a 4 °C). Na sequência, 200 μ L do sobrenadante foram transferidos para um novo microtubo de 2,0 mL, e 120 μ L de isopropanol foram adicionados. A amostra foi homogeneizada e mais um ciclo de centrifugação foi realizado (14.000 rpm por 8 minutos a 4 °C).

Após o término do ciclo, todo o sobrenadante foi descartado. Ao *pellet*, foram adicionados 320 µL de etanol gelado a 70%, e o tubo foi homogeneizado. Realizou-se mais uma centrifugação a 14.000 rpm por 5 minutos a 4 °C, e novamente o sobrenadante foi descartado. O frasco contendo a amostra de DNA foi armazenado na posição invertida (em um suporte aramado) para secagem à temperatura ambiente, visando facilitar a evaporação do álcool residual, por 24 horas. Após a secagem, o *pellet* foi ressuscitado em 30 µL de água Milli-Q® estéril. Finalizado o processo, o microtubo contendo a amostra de DNA foi identificado e armazenado em a - 8 °C (Rueda *et al.*, 2020).

4.8.2.1 Reação de PCR e quantificação de DNA

Para a amplificação do DNA (PCR) foi adicionado às amostras a enzima *Hot Start Taq DNA Polimerase (Classfive enzyme®)* de acordo com as especificações do fabricante. As sequências foram analisadas pelas regiões *Internal Transcribed Spacer (ITS)*. Foram adicionados os *primers forward ITS1 TCCGTAGGTGAACCTGCGG* e *Primer reverse ITS4 TCCTCCGCTTATTGATATGC* (White *et al.*, 1990). As amostras foram colocadas no termociclador (*Touch Thermal Cycle T960*), seguindo as seguintes condições: foi realizado um sistema de 30 ciclos, iniciando a 94 °C por 1 minuto, 55 °C por 1 minuto, 72 °C por 1 minuto, referente às etapas de desnaturação, anelamento e alongamento, respectivamente. Além de um ciclo inicial de 94 °C por 2 minutos e um a 72 °C por 10 minutos para garantir a completa desnaturação do DNA. Posteriormente foi realizada a quantificação do DNA por Nanodrop2000 (Thermo Fisher®).

Os produtos foram avaliados por eletroforese em gel de agarose a 1,2%, utilizando tampão TAE 1x (200 mL de "TRIS + HCL"+ 200 mL de EDTA). A corrida foi realizada sob uma corrente constante de 90 mV por 90 minutos (*Loccus-LHC 13x15*). Como controle usou-se o KASVI 100bp DNA *leader* RTU. A leitura do gel foi feita em cabine de fotodocumentação com transiluminador de luz ultra-violeta (*Loccus® L-PIX EX*).

4.8.2.2 Sequenciamento

As amostras foram purificadas com ExoSAP-IT™ (Thermo Fisher®) e sequenciadas pelo método Sanger no equipamento *Genetic Analyzer AB 3500xL* (Thermo Fisher®), utilizando capilares de 50 cm com polímero Pop7, conforme orientação do fabricante pela empresa ACTGene em Alvorada - RS (FAR012 e FAR018) e GoGenetic em Curitiba - PR (FAR003, FAR005 e FAR014).

4.8.2.3 Análises Filogenéticas – Identificação por bioinformática

As sequências obtidas foram editadas no *BioEdit Sequence Alignment Editor*® (versão 7.2.5) para posterior análise. Em seguida, as sequências nucleotídicas foram comparadas com aquelas armazenadas no *National Center for Biotechnology Information (NCBI)*, por meio da ferramenta *Basic Local Alignment Search Tool (BLASTn)*, que identifica similaridades entre as sequências experimentais e as depositadas no banco de dados. Para assegurar precisão na identificação, foram consideradas apenas sequências com percentual de similaridade superior a 98%, garantindo alta coincidência entre as sequências obtidas e as previamente registradas, o que aumentou a confiabilidade na determinação da linhagem de interesse.

As sequências selecionadas por similaridade foram então alinhadas com as experimentais utilizando o programa MEGA (*Molecular Evolutionary Genetics Analysis*), versão 11.0.13, que possibilita o alinhamento preciso de múltiplas sequências, sendo fundamental para a análise das associações evolutivas entre os organismos estudados e aqueles já descritos (Kumar *et al.*, 2018).

Posteriormente, as sequências alinhadas foram submetidas à análise estatística para definição do modelo mais adequado à construção da árvore filogenética, representando graficamente as relações evolutivas entre os organismos com base na similaridade de suas sequências de DNA.

Para conferir maior robustez às análises, aplicou-se o método de *Phylogeny Bootstrap*, que avalia a confiabilidade dos ramos da árvore por meio de 1000 replicações aleatórias. Este procedimento é essencial para uma verificação mais precisa das distâncias evolutivas entre os fungos avaliados, permitindo uma interpretação confiável das relações filogenéticas e contribuindo para uma classificação taxonômica mais consistente.

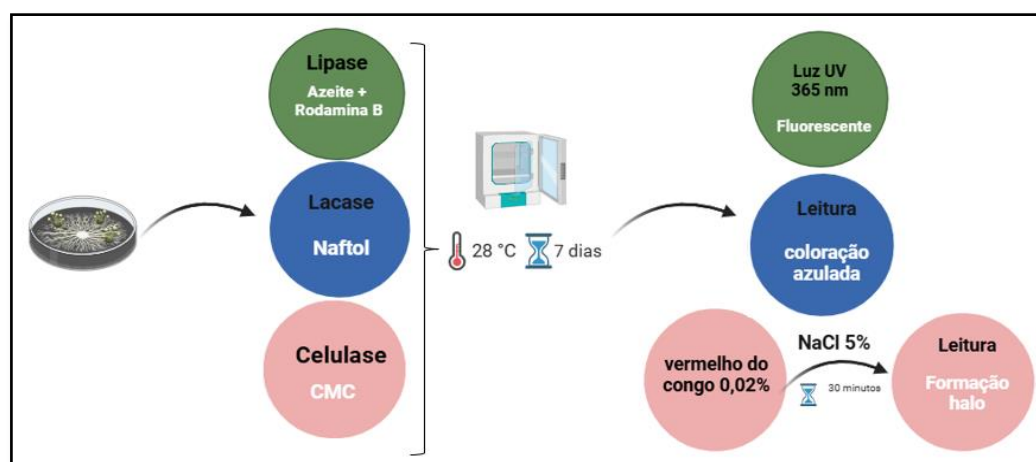
4.9 Triagem enzimática

Com o objetivo de aprofundar o conhecimento sobre os fungos ($n = 5$) que demonstraram maior tolerância aos fármacos testados, particularmente os antitérmicos e AINEs, nos ensaios de viabilidade celular, e estabelecer os parâmetros para estudos subsequentes de biodegradação, foram realizados testes preliminares em placas de Petri. Esses testes visaram verificar a presença de enzimas, inicialmente de forma qualitativa, com a observação de halos de degradação ao redor das colônias, indicativos da produção enzimática, seguidos de análises quantitativas. Para as análises quantitativas, foram utilizados ensaios miniaturizados conduzidos com sondas fluorogênicas e extrato enzimático. Os fungos usados neste *screening* foram reativados conforme descrito na seção 4.5.

4.9.1 Avaliação qualitativa da atividade enzimática em meio sólido

As enzimas testadas nesta fase foram a lacase, celulase e lipase, conforme ilustração abaixo (Figura 13).

Figura 13 – Esquema da metodologia dos testes qualitativos enzimáticos em placas de Petri.



Fonte: Autora (2025).

4.9.1.1 Celulase

Para os ensaios de atividade de celulase, utilizou-se o meio ágar GYP

composto em (g.L⁻¹) por: 0,5 g de peptona; 0,1 g de extrato de levedura e 10 g de glicose, enriquecido com 0,5% de carboximetilcelulose sódica (CMC) como fonte de carbono. Discos de 6 mm de diâmetro contendo propágulos fúngicos foram transferidos individualmente para as placas de Petri que continham o meio GYP e incubados a 28°C durante 7 dias. Após esse período, as placas foram retiradas da estufa e 3 mL de uma solução aquosa a 0,2% de vermelho do Congo foram adicionados. As placas foram então incubadas a temperatura ambiente por 15 minutos. Em seguida, a solução foi descartada e as placas foram lavadas com uma solução de cloreto de sódio (NaCl) a 1 mol.L⁻¹, aguardando mais 15 minutos para a revelação dos halos de descoloração. A atividade de celulase é considerada positiva quando ocorre a descoloração do corante, formando um halo claro (esbranquiçado) de atividade enzimática ao redor das colônias (Toghueo *et al.*, 2017).

4.9.1.2 Lacase

Para lacase, discos de micélio com 6 mm de diâmetro, contendo propágulos fúngicos ativos, foram retirados das colônias previamente cultivadas e transferidos individualmente para placas de Petri contendo meio GYP suplementado com 0,05 g L⁻¹ de 1-naftol ou 2-naftol. As placas foram incubadas a 28 °C por sete dias, conforme protocolo adaptado de Toghueo *et al.*, (2017), a fim de avaliar uma possível seletividade enzimática em relação à posição do naftol oxidado.

A presença dessa enzima foi identificada por alterações visuais no meio de cultura, resultantes da oxidação do substrato. Esse processo envolve a clivagem enzimática e subsequente formação de compostos insolúveis, que se manifestam como um precipitado de coloração azulada nas colônias, caracterizando a reação típica de lacases, conforme descrito por Bratkovskaja, Vidziunaite e Kulys (2004).

4.9.1.3 Lipase

Para essa enzima, discos de micélio com 6 mm de diâmetro, contendo propágulos fúngicos ativos, foram retirados das colônias previamente cultivadas e transferidos individualmente para placas de Petri contendo o meio específico para detecção de lipase. A composição deste meio (g.L⁻¹): 0,2 g de sulfato de magnésio

heptahidratado ($MgSO_4 \cdot 7H_2$); 0,1 g de fosfato de potássio monobásico (KH_2PO_4); 0,1 g cloreto de sódio (NaCl); 0,4 g extrato de levedura; 0,4 g de fosfato de potássio dibásico (K_2HPO_4), 10 ml de azeite de oliva (Gallo®); 0,01% *tween* 80 0,01%; 15 g ágar; e solução a 0,001% de rodamina B, utilizada como marcador cromático de comparação, conforme descrito por Oliveira *et al.*, (2013).

A detecção da atividade lipolítica baseia-se na formação de um complexo entre a rodamina B e os ácidos graxos livres liberados pela ação da enzima sobre o substrato lipídico. Esse complexo fluorescente produz uma coloração alaranjada característica quando as placas são expostas à irradiação ultravioleta (365 nm), permitindo a visualização direta da atividade lipásica em meio sólido (Narasimha *et al.*, 2011).

4.9.2 Avaliação enzimática quantitativa a partir de extrato enzimático

A avaliação quantitativa das enzimas extracelulares por meio do extrato enzimático foi realizada para lacase (Lac), lignina peroxidase (LiP) e manganês peroxidase (MnP). Estas foram avaliadas de acordo com o método proposto por Rueda *et al.*, (2020) com modificações e uso de palha de arroz como biomassa lignocelulósica (Figura 14).

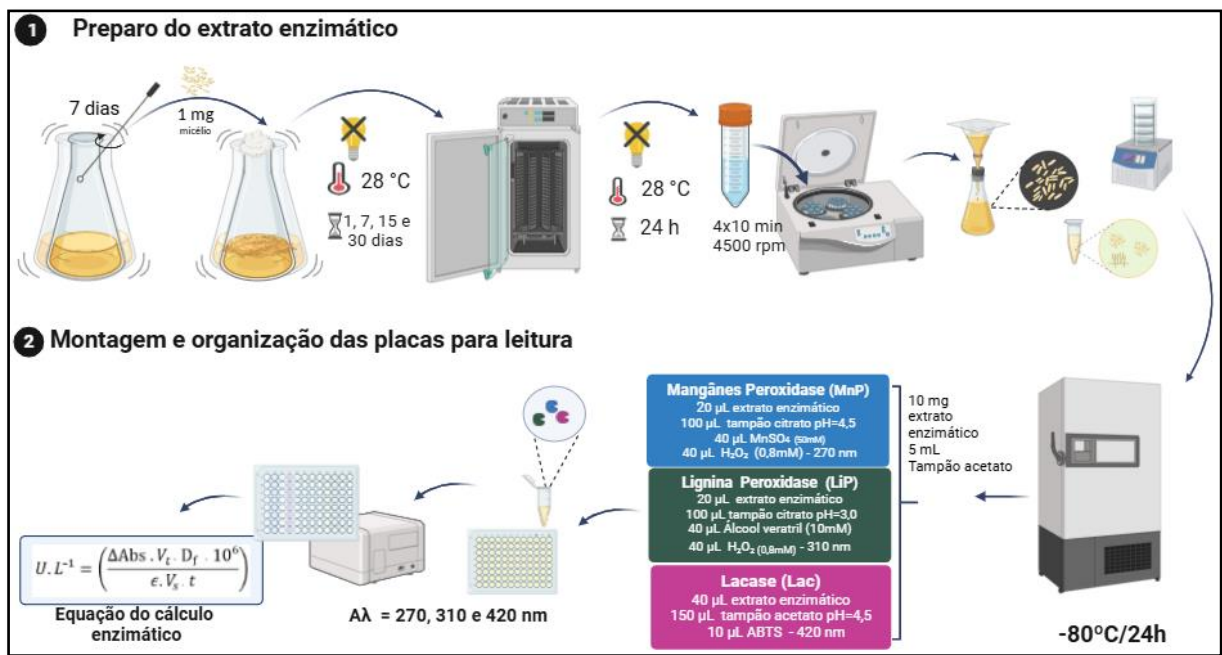
Inicialmente, as palhas foram higienizadas com água destilada e secas à temperatura ambiente por 48 horas. Após a secagem, foram trituradas em um moinho tipo Willye (Tecnal®, TE 650) com peneira de 10 mesh (ABNT), equivalente a frações de aproximadamente 2,5 mm da palha de arroz. Antes de sua utilização na fermentação, as palhas foram submetidas a um processo de descontaminação por autoclavagem (1 atm, 121°C, 40 minutos), seguido de secagem a 100 °C por 24 horas, visando a remoção de possíveis contaminantes.

Os ensaios foram conduzidos em frascos Erlenmeyer de 125 mL, contendo 12 mL de meio basal ureia e 2,5 g de palha de arroz triturada, utilizada como substrato no processo de fermentação. A esses frascos foi adicionado 1 mg de cada fungo selecionado.

Os Erlenmeyers utilizados como biorreatores foram então incubados em B.O.D a 28 °C por um período de 7 (T2), 15 (T3) e 30 (T4) dias, sem agitação. Além disso, uma amostra denominada “tempo zero” (T1) foi preparada, na qual os fungos

foram inoculados no meio basal de ureia e palha de arroz, acrescidos do tampão fosfato pH 7,0, nas mesmas proporções informadas, e incubados em *shaker* a 28 °C e 150 rpm por 24 horas. Para o controle, foi preparado um frasco Erlenmeyer de 125 mL contendo meio basal ureia (12 mL) e palha de arroz (2,5 g), sem a adição do fungo.

Figura 14 – Resumo esquemático da metodologia utilizada para triagem de enzimas oxidases pelo processo de fermentação com palha de arroz.



Fonte: Autora (2025).

Ao final de cada período de fermentação, foram adicionados 10 mL de tampão fosfato pH 7,0 à mistura resultante, que foi então incubada em *shaker* a 28 °C, 150 rpm por mais 24 h (Lim *et al.*, 2013). Na sequência, o extrato enzimático foi transferido para tubos Falcon de 50 mL, centrifugado duas vezes a 4500 rpm por 20 minutos (centrífuga Combate, CELM®), e o sobrenadante foi filtrado em papel-filtro analítico, armazenado a -80 °C e posteriormente liofilizado por 30 horas.

A partir do extrato enzimático bruto obtido no processo de fermentação, foram avaliadas as três enzimas selecionadas (atividades lignocelulolíticas). Inicialmente, foi preparada uma solução de 2 mg·mL⁻¹ em tampão acetato pH 4,5. As leituras ocorreram em um comprimento de onda específico para cada enzima no leitor de placas *FlashScan530* (Analytik Jena®). Além disso, as atividades enzimáticas dos

fungos foram expressas em unidades internacionais (U) que são definidas como a quantidade enzimática necessária para transformar ou oxidar 1 μmol de substrato por minuto (Ryan *et al.*, 2005). As reações foram monitoradas por 5 minutos. Para o cálculo da atividade enzimática, foi aplicada a equação 1, onde V_t é o volume total da reação (0,2 mL para todas as amostras), V_s é o volume da amostra, D_f é o fator de correção da diluição, t é o tempo da reação em minutos, e ϵ é o coeficiente de extinção ($\text{M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) (Agrawal; Verma, 2019).

$$U.L^{-1} = \frac{\Delta Abs. V_t D_f . 10^{-6}}{\epsilon . V_s . t} \quad (1)$$

4.9.2.1 Determinação da atividade de Lacase (Lac)

A avaliação da atividade de lacase, foi feita pelo método de oxidação do ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzothiazoline-6-sulfônico) (ABTS) (1,8 mM), (Sigma Aldrich®). A quantidade de ABTS oxidado resulta em diferentes intensidades de azul. Em microplaca de 96 poços (Olen®), foram acrescentados 40 μL de extrato enzimático ressuspendido; 150 μL de tampão acetato pH 4,5; 10 μL de ABTS. Observada por espectroscopia de UV-Vis a 420 nm. Para esta o valor $\epsilon_{\lambda=420} = 36000 \text{ cm}^{-1}$, e o volume da amostra de 0,04 mL (Agrawal; Verma, 2019; Rueda *et al.*, 2020).

4.9.2.2 Determinação da atividade de Manganês Peroxidase (MnP)

Para avaliação da enzima MnP, adotou-se a metodologia de redução do manganês (Mn), do Mn^{3+} a Mn^{2+} , cuja alteração foi monitorada por espectroscopia de UV-Vis a 270 nm. Em microplaca de 96 poços (Craplast®), foram adicionados 20 μL de extrato enzimático ressuspendido; 100 μL de tampão citrato pH 4,5; 40 μL de tampão malonato de sódio com sulfato de manganês (MnSO_4) 0,5mM; e 40 μL da solução de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a 8mM. Para esta o valor $\epsilon_{\lambda=270} = 11590 \text{ cm}^{-1}$, e o volume da amostra de 0,02 mL (Rueda *et al.*, 2020; Järvinen *et al.*, 2012).

4.9.2.3 Determinação da atividade de Lignina Peroxidase (LiP)

Para avaliação da enzima LiP, utilizou-se a metodologia da oxidação do álcool

veratril (VA) a veratraldeído, resultando na mudança de coloração de incolor para amarelo. Em microplaca de 96 poços (Olen[®]), foram acrescentados 20 µL de extrato enzimático ressuspendido; 100 µL de tampão citrato pH 4,5; 40 µL de VA a 10mM; e 40 µL da solução de H₂O₂ a 8mM. As leituras da absorbância foram realizadas a 310 nm. Para esta o valor $\epsilon_{\lambda=310} = 9300 \text{ cm}^{-1}$, e o volume da amostra de 0,02 mL (Rueda *et al.*, 2020; Khindaria *et al.*, 1995).

4.9.3 Avaliação enzimática quantitativa por meio de sondas fluorogênicas

Os fungos selecionados também foram avaliados quanto à capacidade de produção das hidrolases esterase (EST), lipase (LIP) e epóxido-hidrolase (EPH) e de enzimas monooxigenases Baeyer-Villiger (BMVO). Utilizou-se triagem com as sondas fluorogênicas derivadas da umbeliferona, em placa de 96 poços com fundo chato (Olen[®]).

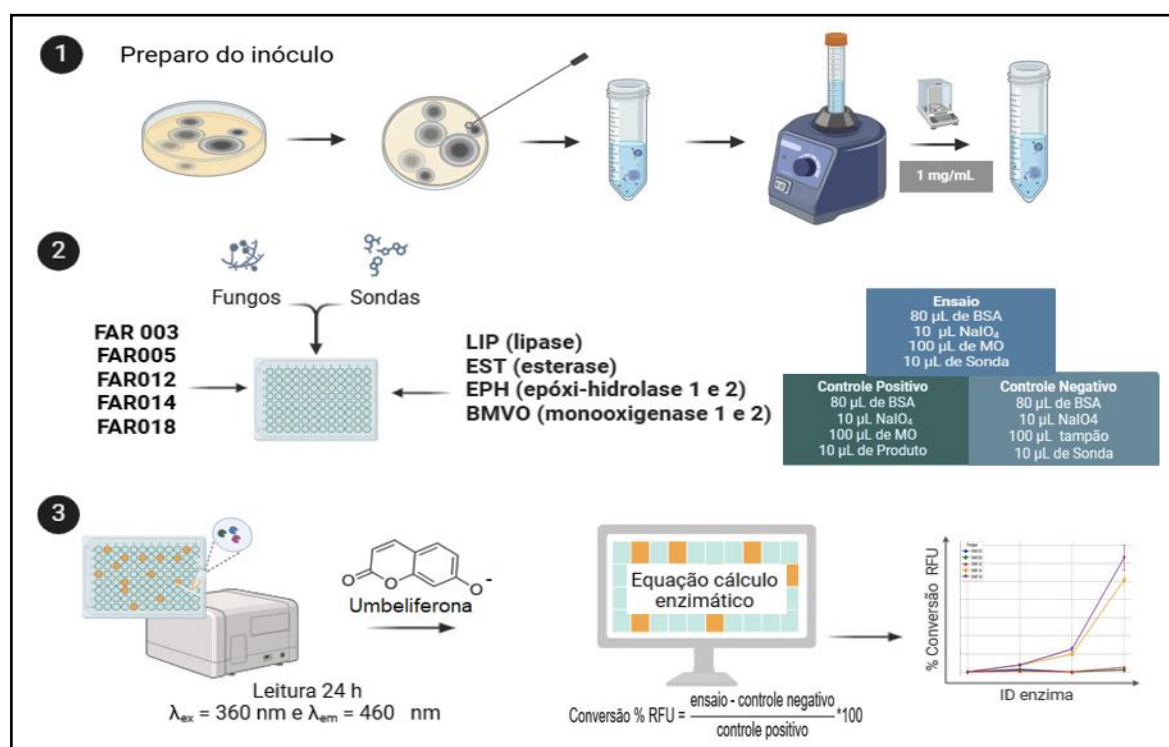
As sondas (EST, LIP, EPH, BMVO) e os controles utilizados neste ensaio foram sintetizados e gentilmente cedidos pelo grupo de pesquisa liderado pela Professora Dra. Anita Jocelyne Marsaioli, especializada em Síntese Orgânica, Biocatálise, RMN e Ecologia Química, da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, São Paulo.

Este ensaio consiste em uma sequência de reações enzimáticas, nas quais os substratos fluorogênicos, após a ação das enzimas, geram produtos que, por meio da oxidação mediada pelo periodato de sódio (NaIO₄) e/ou pela albumina de soro bovino (BSA), resultam na liberação do ânion umbeliferona. Este composto apresenta fluorescência, que pode ser quantificada a uma emissão de 460 nm e, assim, revelar a atividade enzimática de interesse. No caso de ocorrência de hidrolases, os produtos formados são os dióis, enquanto, na presença de monooxigenases, os produtos resultantes são ésteres ou lactonas (Lima *et al.*, 2017; Silva, 2012).

As linhagens fúngicas selecionadas foram cultivadas conforme descrito na seção 4.5. Após crescimento, utilizando uma alça estéril, os fungos foram cuidadosamente raspados e transferidos para tubos Falcon, acrescentado tampão borato (pH 8,8) até atingir uma concentração de 1 mg.mL⁻¹ de massa úmida na solução teste resultante (suspensão fúngica). Para homogeneização do inóculo, o tubo Falcon foi agitado em vórtex (Nova Instrument[®]) com pérolas de vidro 2 mm.

O ensaio consistiu no acréscimo de 100 μL de solução do fungo na concentração de $1\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ em tampão borato (pH 8,8); 10 μL da solução da sonda fluorogênica correspondente a cada uma das enzimas mencionadas ($2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ em acetonitrila/água 1:1); 80 μL de solução de BSA ($2,0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ em tampão borato (pH 8,8)); e 10 μL de solução aquosa de periodato de sódio (NaIO_4) $20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$. Para o branco somente o fungo com o tampão borato (pH 8,8). Para o controle negativo foi adicionado 100 μL de solução tampão borato (pH 8,8); 10 μL da solução de sonda fluorogênica ($2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ em acetonitrila/água 1:1); 80 μL de solução de BSA ($2,0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ em tampão borato (pH 8,8)); e 10 μL da solução aquosa de NaIO_4 ($20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$). Já como controle positivo foi adicionado ao poço da microplaca 100 μL de solução do fungo na concentração de $1\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ em tampão borato (pH 8,8); 10 μL da solução do produto da sonda fluorogênica ($2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ em acetonitrila/água 1:1); 80 μL da solução de BSA ($2,0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ em tampão borato (pH 8,8)); e 10 μL da solução aquosa de NaIO_4 ($20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$). A figura 15 apresenta a sequência do ensaio.

Figura 15 – Metodologia para quantificação enzimática com sondas fluorogênicas.



Fonte: Autora (2025).

A leitura foi realizada no equipamento *FlashScan530* (AnalytikJena®) no

comprimento de onda $\lambda_{ex} = 360$ nm e $\lambda_{em} = 460$ nm (para monitoramento dos comprimentos de onda de emissão da umbeliferona).

O ensaio foi acompanhado por 24 horas, e realizado em quadruplicata, enquanto os controles positivo e negativo foram realizados em duplicata. Para o cálculo da porcentagem de conversão da sonda foi utilizada a equação 2, com a atividade enzimática sendo expressa em porcentagem (%) pela taxa de conversão da sonda nos respectivos produtos.

$$\text{Conversão \% RFU} = \frac{(\bar{x} \text{ RFU}) - (\bar{y} \text{ RFU})}{\bar{z} \text{ RFU}} * 100 \quad (2)$$

Na qual: \bar{x} representa as médias das leituras de unidades de fluorescência relativa (RFU) da amostra, \bar{y} é a média para o RFU do controle negativo e \bar{z} representa o valores médios de RFU encontrados para o controle.

4.9.4 Análise estatística

A atividade enzimática foi determinada por espectrofotometria, utilizando extrato enzimático e sondas fluorogênicas, com os dados avaliados em função do tempo e das linhagens fúngicas. As leituras de absorbância foram submetidas aos testes de Shapiro-Wilk e de Levene para verificação dos pressupostos de normalidade e homocedasticidade, respectivamente. Com os pressupostos atendidos, aplicou-se a análise de variância com dois fatores (ANOVA) para testar a hipótese nula de igualdade entre as médias dos grupos. Em casos de significância estatística ($p < 0,05$), empregou-se o teste de acompanhamento (*post-hoc test*) de Tukey-HSD (*Honestly significant difference*) a fim de comparar as médias dos grupos experimentais. As médias, acompanhadas dos respectivos desvios-padrão, foram organizadas em tabelas e representadas graficamente por meio de gráficos de tendência apresentando médias e erros padrão. Todos os testes foram feitos no programa R (R Core Team, 2022), assumindo-se um nível de significância de 0,05.

4.10 Biodegradação de compostos orgânicos

4.10.1 Fungos selecionados

A seleção das linhagens fúngicas para os ensaios de biodegradação levou em consideração a tolerância aos fármacos, a atividade enzimática previamente triada, a avaliação do potencial patogênico, considerando informações da literatura e o risco biológico associado ao manuseio laboratorial (CDC, 2020). Com base nesses critérios, foram selecionados os fungos *Geotrichum* sp._FAR003, *Geotrichum* sp._FAR005 e *Talaromyces* sp._FAR012. Os fungos selecionados foram cultivados em placas de Petri contendo ágar extrato de malte (MEA) e incubados em estufa a 28 °C por 7 dias, com o objetivo de obtenção de biomassa micelial ativa. Após o período de incubação, discos de micélio foram utilizados como inóculo para os ensaios subsequentes.

A tolerância dos fungos foi definida com base em ensaios de viabilidade celular utilizando o indicador cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC), nos quais foi avaliada a viabilidade metabólica fúngica na presença dos fármacos (ver item 4.7). Os isolados considerados mais promissores foram aqueles que mantiveram atividade metabólica e crescimento viável na presença dos compostos testados, quando comparados aos respectivos controles.

Paralelamente, os isolados tolerantes foram submetidos à triagem do perfil enzimático, visando identificar atividades catalíticas potencialmente envolvidas na biotransformação do ibuprofeno. Embora nenhuma enzima isoladamente tenha sido utilizada como critério exclusivo de seleção, a presença concomitante de atividades oxidativas e hidrolíticas foi considerada determinante, em função de sua relevância em vias conhecidas de transformação de compostos orgânicos aromáticos.

Dessa forma, a seleção dos fungos empregados nos ensaios de biodegradação baseou-se na convergência entre tolerância metabólica aos fármacos, perfil enzimático funcional compatível e crescimento estável sob condições experimentais, conferindo robustez metodológica à escolha das linhagens.

4.10.2 Fármaco utilizado nos ensaios de biodegradação

Embora outros fármacos também tenham apresentado potencial nos ensaios

de tolerância, o ibuprofeno foi selecionado como composto-alvo para os experimentos subsequentes. Essa seleção deve-se não apenas ao desempenho observado nas etapas preliminares, mas sobretudo às suas características amplamente documentadas na literatura, como elevada frequência de uso, persistência em diferentes matrizes ambientais e baixa remoção em sistemas convencionais de tratamento de água e efluentes (Peng *et al.*, 2024; Ratnasari *et al.*, 2024; Hinzke *et al.*, 2025). Além disso, optou-se pelo ibuprofeno por ser o fármaco para o qual foi possível obter um padrão analítico de referência, requisito essencial para assegurar a precisão e a rastreabilidade das análises quantitativas. Em conjunto, esses fatores tornam o ibuprofeno um composto particularmente relevante e adequado para investigações envolvendo a biodegradação de CEs.

4.10.3 Controle de qualidade do Ibuprofeno

Essa etapa foi essencial para avaliar o grau de pureza e a eficácia do processo de purificação, considerando que o fármaco destinado às etapas subsequentes foi obtido em uma farmácia de manipulação (Floreasca) localizada na cidade de Foz do Iguaçu, Paraná. O fármaco, identificado com lote ALIBB0062020, foi adquirido em sua forma pura, sem a presença de excipientes (SM Farmacêutica®).

4.10.3.1 Ponto de Fusão

O ponto de fusão foi aferido pelo PFM-II Digital (MS TECNOPON® Instrumentação), onde um capilar com a amostra foi submetida a aquecimento. O ponto de fusão esperado era de 75 °C (ANVISA, 2019).

4.10.3.2 Infra-vermelho

O ensaio de infravermelho foi realizado no Laboratório Multiusuário Engenheira Enedina Alves Marques (UNILA), pela bolsista-técnica Luísa Parra Sierra, no espectrômetro FRONTIER MIR+SP10 SDT (Perkin Elmer®), com acessório para pastilha de brometo de potássio (KBr), esta preparada para avaliação do ibuprofeno comercial. Os espectros foram obtidos na faixa de 4000 a 400 cm⁻¹ com resolução de 4 cm⁻¹ e 64 scans (ANVISA, 2019; Andrioli *et al.*, 2014).

4.10.3.3 Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) foram obtidos em setembro de 2024 no laboratório de RMN da Universidade Federal do Paraná (LabRMN-UFPR), em colaboração com o professor Dr. Andersson Barison (UFPR) e a Dra. Maria Gabriela de Azevedo Barros do PPGIES UNILA. Para tanto, os espectros de ^1H e de ^{13}C foram obtidos no equipamento *Bruker*[®] AVANCE I 400. O número de 8 *scans* para ^1H em 400 MHz e para o ^{13}C foram realizados 2000 *scans* em 100 MHz. Foi preparada uma amostra de 30 mg·mL⁻¹ do ibuprofeno comercial em clorofórmio deuterado (CDCl₃) com tetrametilsilano (TMS) 0,1% (Sigma-Aldrich[®]). Os espectros foram processados e analisados no software Bruker TopSpin 4.1.4, com licença acadêmica.

4.10.4 Bioensaio de citotoxicidade do Ibuprofeno

O meio Mueller-Hinton (MH) foi utilizado neste ensaio como meio padronizado de suporte, uma vez que o objetivo não foi avaliar crescimento, germinação ou esporulação fúngica, mas sim a viabilidade metabólica celular, determinada pela redução do cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC). Dessa forma, as características do MH, como baixo teor de carbono e pH próximo à neutralidade (7,2- 7,4), não interferem no propósito do ensaio, conduzido em curto período de incubação (48 h) com células fúngicas previamente cultivadas em meio adequado.

A padronização do inóculo foi realizada com base na escala de McFarland (0,5), visando à uniformização da turbidez da suspensão fúngica. Ressalta-se que essa padronização não reflete diretamente a biomassa viável em fungos filamentosos, constituindo uma limitação metodológica considerada na interpretação dos resultados, sendo o método empregado como abordagem comparativa e operacional.

Para este ensaio, foram utilizados os fungos previamente selecionados para os experimentos de biodegradação do ibuprofeno: *Geotrichum* sp._FAR003, *Geotrichum* sp._FAR005 e o *Talaromyces* sp._FAR 012. Os isolados foram cultivados em caldo PDA por quatro dias, em shaker orbital a 150 rpm e 28 °C. Após o período de cultivo, procedeu-se à preparação do inóculo por meio de uma diluição inicial 1:10

do micélio recém-crescido em solução salina (NaCl 0,85%) acrescida de 0,1% de Tween 20 (polissorbato 20), seguida de homogeneização em vórtex.

Em seguida, a suspensão obtida foi submetida à leitura em espectrofotômetro UV-Vis a 530 nm (Weblabor, modelo M51). As amostras foram então ajustadas, por meio de diluição em solução salina (NaCl), até atingirem equivalência ao padrão 0,5 da escala de McFarland (Lobato; Klafke; Xavier, 2016; Kowalska-Krochmal; Dudek-Wicher, 2021).

Em microplacas de 96 poços (Kasvi®), procedeu-se à distribuição da solução fúngica em caldo Mueller Hilton (MH - Kasvi®), a solução de ibuprofeno em DMSO foi racionada até alcançar concentrações na faixa de 10 a 200 mg·L⁻¹ (Tabela 1). Na sequência, as placas foram incubadas em *shaker* orbital a 150 rpm, a 28°C por 48 horas (Moussa *et al.*, 2013; Kowalska Krochmal; Dudek-Wicher, 2021).

A porcentagem de citotoxicidade foi calculada utilizando-se a equação descrita por Gudiña *et al.*, (2010), em relação ao controle positivo (fungo incubado na ausência de fármaco). Em função do método de normalização adotado, valores superiores a 100% podem ocorrer quando a absorbância da amostra é substancialmente inferior à do controle, conforme descrito para ensaios baseados na redução do TTC (Moussa *et al.*, 2023; Gudiña *et al.*, 2010). Nesses casos, tais valores indicam inibição praticamente total da atividade metabólica celular, não devendo ser interpretados como efeito biológico superior a 100%.

$$\text{Citotoxicidade (\%)} = \left(1 - \frac{\text{absorbância da amostra}}{\text{absorbância do controle}}\right) * 100 \quad (3)$$

Os ensaios foram realizados em triplicata, incluindo controle positivo (MH e fungo), negativo (MH e ibuprofeno), branco (MH) e controle de solvente (CDMSO: MH, fungo e DMSO). Para a detecção da toxicidade, foram adicionados 20 µL de solução aquosa de TTC a 0,5% em cada poço, seguidos de incubação adicional por 2 horas. A leitura foi realizada em leitor de microplacas (*Loccus*®- LMR/96) a 450 nm (Moussa *et al.*, 2013).

Os resultados desse bioensaio foram utilizados como informação complementar para a interpretação dos ensaios de biodegradação, não constituindo critério eliminatório para a seleção das linhagens.

Tabela 1 – Condições do ensaio de citotoxicidade do ibuprofeno e respectivos controles.

Concentração final (mg·L ⁻¹)	V fármaco (μL)	V fungo (μL)	V MH (μL)
10	1	20	179
30	3	20	177
50	5	20	175
80	8	20	172
100	10	20	170
150	15	20	165
200	20	20	160
Branco	-	-	200
C-	20	-	180
C+	-	20	180
CDMSO*	20	20	160

Legenda: CDMSO* – Controle do DMSO sem o fármaco; V – volume; MH – meio Mueller Hinton; C- – controle negativo; C+ – controle positivo.

Fonte: Autora (2025).

4.10.5 Reação de biodegradação do Ibuprofeno por fungos

O procedimento para biodegradação do ibuprofeno foi realizado em duas etapas. Na primeira, denominada de pré-cultivo, utilizou-se o meio líquido pré-fermentativo Czapeck (Palaric *et al.*, 2019; Gonda *et al.*, 2016). Após o período de crescimento em meio sólido, cinco fragmentos miceliais com 6 mm de diâmetro foram coletados e transferidos assepticamente para frascos Erlenmeyer de 125 mL, contendo 50 mL do meio pré-fermentativo. Os frascos foram mantidos em um agitador (*shaker*) a uma rotação de 150 rpm e a uma temperatura de 28 °C durante 5 dias de crescimento sem fotoperíodo. Este primeiro estágio teve como objetivo a obtenção de uma massa micelial (inóculo), que foram utilizados na fase seguinte deste ensaio.

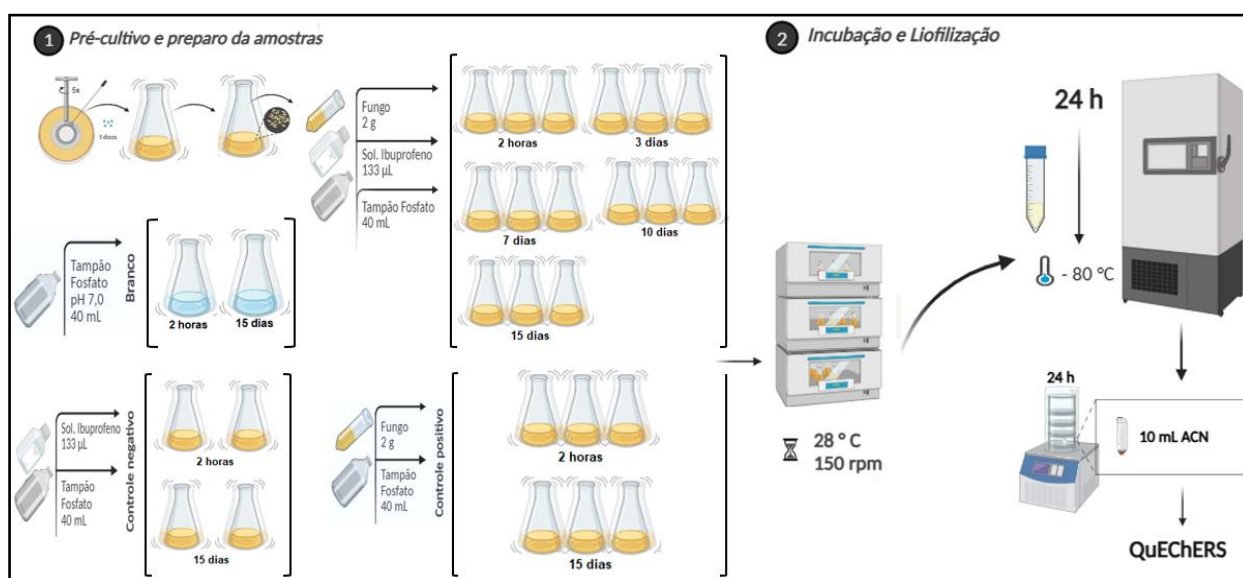
Para a biocatálise, 2,0 g da biomassa obtida no pré-cultivo foram transferidas para frascos Erlenmeyer de 250 mL, contendo 40 mL de tampão fosfato pH 7,0, suplementado com solução de ibuprofeno de modo a obter uma concentração final de 100 mg·L⁻¹. As reações foram conduzidas em *shaker* orbital, sob agitação de 150 rpm, a 28 °C, no escuro, com o objetivo de evitar a fotodegradação do fármaco, conforme esquema apresentado na Figura 16.

Foram incluídos nos ensaios um controle positivo, contendo o fungo e o tampão fosfato (pH 7,0), para monitorar a presença de possíveis metabólitos fúngicos,

e um controle negativo, composto pelo fármaco e o tampão, com o objetivo de avaliar a possível degradação espontânea do ibuprofeno. As reações foram monitoradas nos tempos de 2 horas (tempo inicial), 3, 7, 10 e 15 dias respectivamente.

Os ensaios foram realizados em triplicata para todos os tempos avaliados. Ao final de cada período experimental, os frascos foram retirados do *shaker*, e o volume final da reação foi transferido para tubos Falcon de 50 mL. Os tubos foram devidamente rotulados e armazenados em ultrafreezer a -80 °C. Posteriormente, as amostras foram liofilizadas por 24 horas a -88 °C, sob uma pressão de 0,0944 mbar, utilizando um liofilizador Alpha 2-4 LSCBasic (Christ®).

Figura 16 – Resumo esquemático usado no ensaio de biodegradação do ibuprofeno.



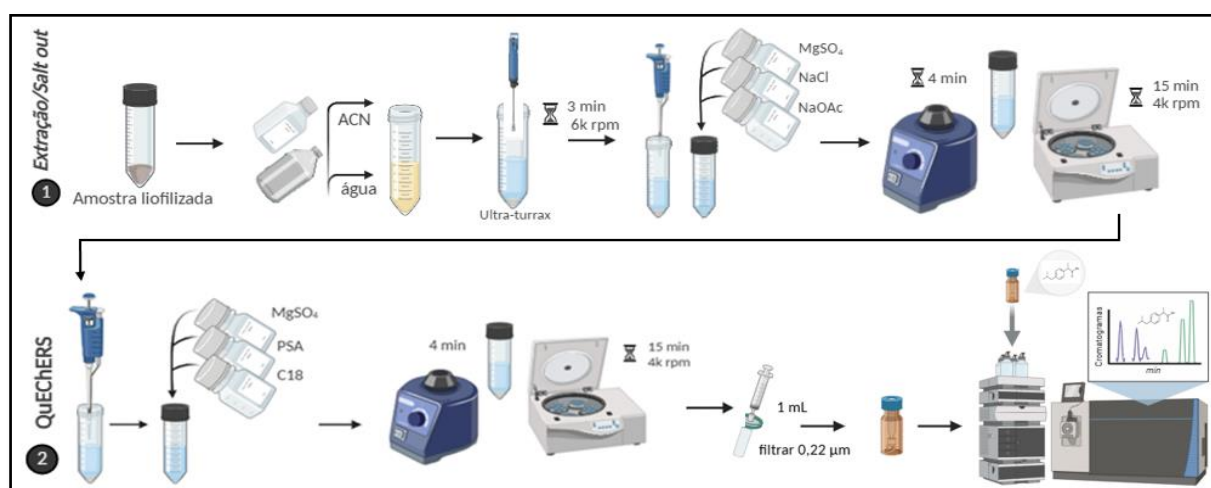
Fonte: Autora (2025).

4.10.5.1 Extração e purificação das amostras

Para cada intervalo de tempo testado no ensaio de biodegradação do ibuprofeno, as análises foram realizadas em triplicata. Para a etapa de extração, optou-se por agrupar o conteúdo das réplicas em um único frasco, com o objetivo de aumentar a biomassa do produto formado, possibilitando sua detecção e análise. Em seguida, as amostras agrupadas foram acondicionadas em tubos Falcon estéreis de 50 mL e devidamente identificadas com o tempo de reação e o fungo utilizado, além dos respectivos controles positivo, negativo e branco (Figura 17).

Ao frasco adicionou-se 10 mL de acetonitrila (ACN) grau HPLC (Sigma-Aldrich®) e 5 mL de água Milli-Q® (ultrapura). A amostra foi submetida a agitação em Ultraturrax (IKA® T18) a 6.000 rpm durante 3 minutos. Em seguida foram adicionados os sais de particionamento (*salt-out*), 4,0 g de sulfato de magnésio (MgSO₄), 1,0 g de cloreto de sódio (NaCl), 1,5 g de acetato de sódio (NaOAc), essa mistura foi homogeneizada em vórtex (NorteCientífica-NA3600®) por 1 minuto. Na sequência esses frascos foram centrifugados (Hettich Zentrifugen-Rotina 380®) a 4.000 rpm durante 15 minutos. Foi observado após a centrifugação a formação de uma fase orgânica, o extrato, e uma fase aquosa contendo as impurezas e água (Salvia *et al.*, 2012; Gabardo *et al.*, 2021).

Figura 17 – Resumo esquemático da aplicação do método QuEChERS modificado.



Fonte: Autora (2025).

Finalizado o processo de extração, foi realizada etapa de purificação pela metodologia *QuEChERS* (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe*), para isso 2,0 mL do sobrenadante (que corresponde à fase orgânica) foram transferidos para novos tubos Falcon de 15 mL contendo 300 mg de sulfato de magnésio (MgSO₄), como agente secante; 50 mg de PSA (amina primária secundária, Sigma Aldrich®), com o objetivo de reter impurezas, tais como açúcares e ácidos orgânicos; 150 mg de sílica C18 (octadecilsilano, Sigma Aldrich®), que tem por função adsorver as impurezas lipídicas. Os frascos foram então homogeneizados em vórtex (NA3600-Nortecientífica®) por 1 minuto, seguido de centrifugação durante 15 minutos a 4000

rpm (Hettich Zentrifugen®) (Gabardo *et al.*, 2021).

Para finalizar o procedimento, 1,0 mL do sobrenadante foi filtrado utilizando uma seringa de 5,0 mL acoplada a um filtro de PTFE com porosidade de 0,22 µm. A amostra filtrada foi acondicionada em um vial de 1,5 mL, identificada e armazenada em freezer a -8 °C para posterior análise cromatográfica.

4.10.6 Análise química do ensaio de biodegradação

4.10.6.1 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)

As amostras foram submetidas à análise cromatográfica utilizando o equipamento HPLC Dionex Ultimate3000 (Thermo Scientific®). Como fase estacionária, foi empregada uma coluna própria para HPLC do tipo C18, que possui 18 carbonos ligados ao grupo silano e apresenta característica apolar (nas dimensões 25 cm x 4,6 cm x 5µm) da ACE®. A fase móvel consistiu em uma mistura (55:45, v/v) de acetonitrila (ACN) grau HPLC (Sigma Aldrich®) e água acidificada a 0,01% com ácido acético glacial (HCOOH) grau HPLC (Dinâmica®). O fluxo da fase móvel foi mantido em 1,5 mL·min⁻¹, por 15 minutos, com monitoramento realizado por um detector de fluorescência, configurado para um comprimento de onda de excitação (λ_{ex}) de 200 nm e emissão (λ_{em}) de 290 nm, além de um detector UV operando em 220 nm (Truong, 2007; Bragança *et al.*, 2012).

Para a dosagem, foi preparada uma curva padrão de ibuprofeno comercial (lote ALIBB0062020), nas concentrações de 1,0 mg·L⁻¹; 5 mg·L⁻¹, 10 mg·L⁻¹, 50 mg·L⁻¹, 100 mg·L⁻¹, 150 mg·L⁻¹, 200 mg·L⁻¹, 250 mg·L⁻¹ e 300 mg·L⁻¹. As soluções padrão foram submetidas também ao processo de purificação utilizando a metodologia *QuEChERS*. Adicionalmente, foi empregado o padrão interno (PI) benzofenona em todas as amostras e na curva padrão. A concentração final do PI foi de 50 mg·L⁻¹, esse é um parâmetro que serve para monitorar possíveis variações no desempenho do equipamento. Estes parâmetros foram otimizados com base em testes preliminares e ajustados para obter a melhor separação e quantificação do ibuprofeno nas amostras analisadas, garantindo resultados reprodutíveis e precisos ao longo do estudo.

4.10.6.2 Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada ao espectrômetro de massas (UPLC-MS/MS)

As análises foram realizadas no Laboratório Massas da Universidade Estadual de Maringá - COMCAP, sob a responsabilidade do técnico Victor Machado Lipaa, em janeiro de 2025.

Para a preparação das amostras, estas foram ressuspendidas em 1,0 mL de metanol (MeOH) grau LC-MS e filtradas utilizando filtros de 0,22 μm (PTFE). As análises foram conduzidas em um equipamento UHPLC Shimadzu Nexera X2, acoplado ao espectrômetro de massas Q-ToF Bruker Impact II. Como fase estacionária, foi empregada uma coluna SB-C18 Agilent® (com dimensões de 1,8 μm x 2,1 mm x 150 mm), a temperatura da coluna foi mantida em 30 °C. O volume de injeção foi de 5 μL , com tempo de corrida de 25 minutos por amostra.

As análises foram realizadas no modo de ionização negativo. Utilizou-se fase móvel isocrática (55:45 v/v) composta por uma mistura de acetonitrila (ACN) grau LC-MS contendo 0,1% de ácido fórmico (HCOOH) e água ultrapura, com um fluxo de 0,3 mL·min⁻¹.

A calibração do sistema foi realizada com 20 μL de formato de sódio (HCOONa). O método de análise considerou uma faixa de massa de 50-1500 m/z, com uma taxa de amostragem de 7,00 Hz para análise quantitativa.

A energia de colisão na câmara foi ajustada para 7,0 elétron-volt (eV), enquanto a energia de íons no quadrupolo foi configurada em 4,0 eV. O processo de ionização foi realizado por *Eletrospray Ionization* (ESI). A pressão do gás de nebulização foi otimizada para 9,0 L·min⁻¹, e a temperatura da fonte de ionização foi mantida em 200 °C.

4.11 Ensaio de Ecotoxicidade

4.11.1 Seleção da cultivar e planejamento experimental

Este ensaio foi conduzido no Laboratório de Sementes do Centro Universitário Dinâmica das Cataratas (UDC), localizado em Foz do Iguaçu-PR, com a colaboração do professor Dr. Adílson Ricken Schuelter (UDC, Uniãoeste Cascavel). O experimento foi delineado com o objetivo de avaliar os efeitos fitotóxicos agudos da exposição de

diferentes concentrações de ibuprofeno na germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.).

Sementes de alface da cultivar Crespa Grand Rapids (ISLA®), lote 178516002, não peletizada e sem tratamento químico, foram submetidas a avaliação mediante o emprego de procedimentos metodológicos descritos nas Regras para Análise de Sementes (RAS), publicadas pelo Ministério da Agricultura do Brasil (Brasil, 2025b), e pelas diretrizes estabelecidas pela *International Organization for Standardization* - ISO 18763 que normatizam ensaios de toxicidade com modelos vegetais (ISO, 2016).

Inicialmente, realizou-se a preparação de uma solução estoque de ibuprofeno com concentração final de $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, seguindo a metodologia descrita por Pino *et al.*, (2016) para o preparo do fármaco. A partir dessa solução estoque, foram realizadas as diluições necessárias para a condução dos ensaios, os quais consistiram na aplicação de 14 tratamentos, sendo 13 concentrações crescentes do fármaco (0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0; 16; 32; 64; $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), além de um controle contendo apenas água destilada.

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado com quatro repetições. A unidade experimental foi constituída por 25 sementes de alface. As concentrações testadas incluíram níveis ambientalmente relevantes e simulações de altas doses, considerando a ausência de dados na literatura sobre os efeitos dessas faixas de exposição.

As doses iniciais utilizadas no experimento (0,1 a $0,5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) foram definidas com base em valores encontrados na literatura, que indicam a presença de ibuprofeno em baixas concentrações em efluentes, corpos d'água e águas de irrigação usados na agricultura contaminados por fármacos (Dordio *et al.*, 2011; Calderón-Preciado *et al.*, 2011; Paíga *et al.*, 2016; Gonda *et al.*, 2016; Rede *et al.*, 2019; Aguilar-Romero *et al.*, 2024), indicando valores com maior relevância ecológica.

As concentrações mais elevadas ($1,0$ a $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) representam simulações de exposição aguda ou acidental e foram incluídas para estimar limiares de efeito e caracterizar a tolerância fisiológica inicial das sementes ao ibuprofeno, com base em estudos anteriores com bioensaios vegetais (Isidori *et al.*, 2005; Eggen *et al.*, 2011; Pino *et al.*, 2016; Silva *et al.*, 2023a, Silva *et al.*, 2023b).

4.11.2 Preparo das amostras e montagem dos ensaios

Antes da instalação do experimento, todos os materiais foram submetidos a procedimentos de assepsia a fim de assegurar condições controladas e minimizar riscos de contaminação externa, etapa essencial para a confiabilidade e o desempenho adequado dos ensaios de germinação. As caixas Gerbox (11×11× 4 cm) foram inicialmente imersas em solução de hipoclorito de sódio a 1% para desinfecção, seguindo-se enxágue triplo com água destilada esterilizada. Em seguida, os recipientes foram acondicionados em estufa germicida para secagem completa, garantindo a remoção de resíduos de umidade e contribuindo para a manutenção da esterilidade dos materiais, conforme preconizado em protocolos laboratoriais aplicados a bioensaios com sementes (Brasil, 2025b). Adicionalmente, todos os materiais e insumos utilizados no estudo, incluindo o papel germitest, as pinças e a água destilada foram devidamente esterilizados.

O lote de sementes apresentou taxa de germinação de 91% e pureza de 99,5%, atendendo aos critérios estabelecidos pelas RAS para uso em bioensaios, os quais exigem germinação $\geq 85\%$. A umidificação das folhas de papel foi padronizada, aplicando-se 4 mL da solução correspondente a cada tratamento (0,0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0; 16; 32; 64; 100 mg·L⁻¹ de ibuprofeno), determinado com base em uma proporção de 2,5 vezes o peso seco do papel, e assegurando uma hidratação uniforme e adequada para o processo germinativo. Na sequência, as caixas gerbox contendo sementes foram seladas com Parafilm® e transferidas para câmaras de germinação (Tecna® TE4020).

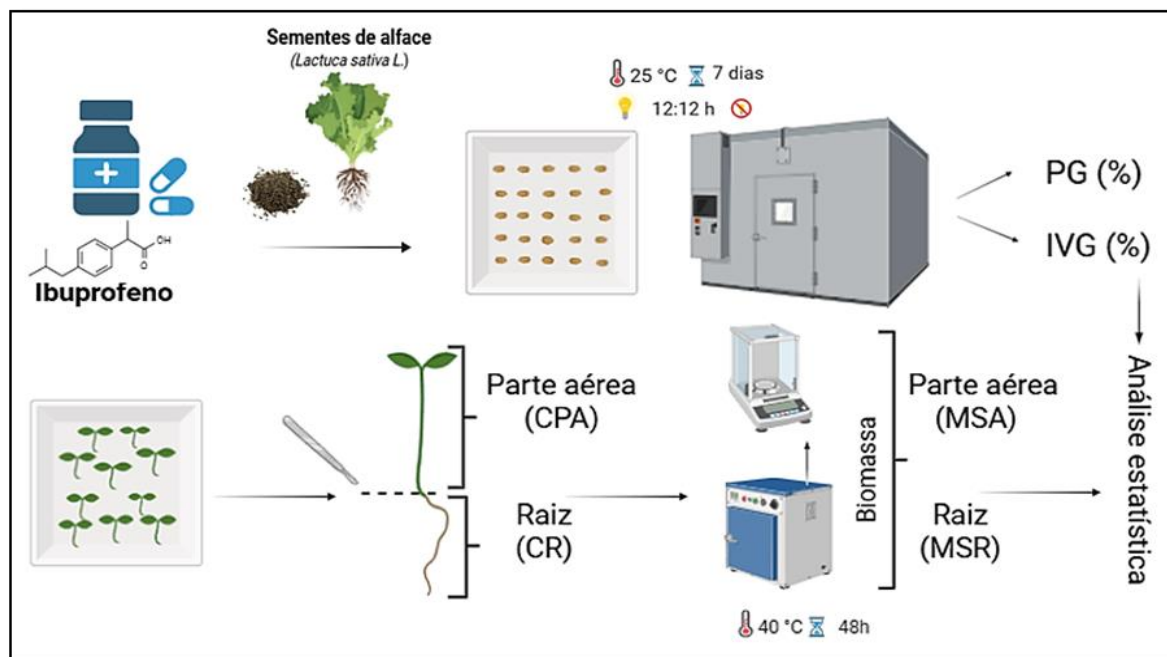
As condições ambientais foram rigorosamente controladas: temperatura constante de 25 °C e um fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro, mantido por um período de 7 dias (168 horas). A padronização dessas condições experimentais e a condução dos testes seguiram os critérios estabelecidos pela RAS assegurando a validade e a reprodutibilidade dos resultados (Brasil, 2025b).

Os procedimentos experimentais adotados para a exposição de *Lactuca sativa* às diferentes concentrações de ibuprofeno, bem como as variáveis avaliadas ao longo do período de germinação, estão sintetizados de forma esquemática na Figura 18.

Durante o período de experimentação, realizou-se anotação de observações para as variáveis porcentagem de germinação (PG) e índice de velocidade de

germinação (IVG). A avaliação inicial foi realizada pela contagem de sementes germinadas após 16 horas do início de incubação.

Figura 18 – Diagrama experimental da exposição de *Lactuca sativa* a diferentes concentrações de ibuprofeno.



Legenda: PG – porcentagem de germinação; IVG – índice de velocidade de germinação; CPA – comprimento da parte aérea; CR – comprimento radicular; MSA – massa seca da parte aérea; MSR – massa seca da raiz.

Fonte: Autora (2025).

As avaliações subsequentes ocorreram a cada 24 horas, até o final do período experimental de 7 dias após a semeadura (168 horas). Para a avaliação da germinação, adotou-se como critério a emergência da radícula (≥ 1 mm), parâmetro adotado para evitar a superestimativa da taxa germinativa por incluir sementes com protrusão incipiente da radícula, as quais podem não completar o processo germinativo. Essa abordagem segue a definição estabelecida na ISO 18763:2016 e visa garantir maior rigor na avaliação inicial do desenvolvimento da planta (ISO, 2016; Brasil, 2025b).

Ao final do período experimental, foram selecionadas aleatoriamente 10 plântulas por repetição ($n = 40$). Essas plântulas foram cuidadosamente retiradas das caixas gerbox para a mensuração do comprimento da parte aérea (hipocótilo e cotilédones) e da raiz primária, utilizando um paquímetro digital (Digimess®), com

precisão milimétrica.

Foram realizadas avaliações das seguintes variáveis morfológicas: crescimento da raiz (CR), crescimento da parte aérea (CPA), massa seca radicular (MSR), massa seca aérea (MSA). Para avaliação, as plântulas foram cuidadosamente removidas do substrato (papel germitest) com o auxílio de pinças. Em seguida, as partes aérea e radicular foram seccionadas utilizando bisturi.

As frações aérea e radicular foram submetidas à secagem em estufa com circulação e renovação de ar (De Leo[®] AFD), à temperatura de 40 °C, por aproximadamente 48 horas, ou até massa constante. Após secagem, as amostras foram pesadas em balança analítica (Shimadzu[®] AUY220) para determinação da massa seca, sendo os valores registrados em miligramas (mg), correspondentes à massa seca radicular (MSR) e massa seca aérea (MSA).

Para a avaliação dos efeitos das diferentes concentrações de ibuprofeno sobre a germinação das sementes, empregou-se o software R (R Core Team, 2025). Inicialmente, os dados de porcentagem de germinação (PG), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento (CR) e massa seca radicular (MSR), e comprimento (CPA) e massa seca da parte aérea (MSA) foram submetidos à verificação dos pressupostos de normalidade e homocedasticidade, por meio dos testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Atendidas as premissas paramétricas, procedeu-se à realização de Análise de Variância de um fator (ANOVA), seguida pelo teste de comparações múltiplas de Tukey ($p < 0,05$). Os valores foram representados graficamente por boxplots, com letras distintas indicando diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos.

O Índice de Toxicidade (IT), que se baseia nas médias normalizadas conforme Silva *et al.*, (2023a) com adaptações, foram realizadas para as variáveis PG, IVG, CR e CPA, conforme a seguinte expressão:

$$IT(\%) = \left(\frac{PG + IVG + CR + CPA \text{ (amostra)}}{PG + IVG + CR + CPA \text{ (controle)}} \right) * 100 \quad (4)$$

Valores inferiores a 80% indicam efeito fitotóxico, sendo este o limiar adotado para este estudo (Gerber *et al.*, 2017). Para investigar as relações entre a dose de tratamento e IT foram ajustados modelos aditivos generalizados (GAM * *Generalized*

*Additive Model**) utilizando a função 'gam()' do pacote mgcv. Este tipo de modelo permite capturar relações não lineares entre a variável preditora (Dose) e a variável resposta (Índice de Toxicidade).

Três modelos GAM foram testados para cada variável resposta, variando o parâmetro 'k', que representa o número de bases para o spline cúbico da suavização. Para selecionar o modelo mais adequado, foram avaliados dois critérios estatísticos:- GCV (*Generalized Cross Validation*), que estima o erro de previsão penalizando modelos muito complexos;-R² ajustado, que indica a proporção da variabilidade explicada pelo modelo ajustado, corrigida pela complexidade do modelo.

Além disso, foi testado um modelo linear simples (lm) para comparar a distribuição dos resíduos com a normalidade por meio do teste de Shapiro-Wilk, para posteriormente realizar uma análise de variância com transformação logarítmica da variável dose ($\log_{10}(\text{Dose} + 1)$) utilizando o teste DIC (Delineamento Inteiramente Casualizado) com o pacote ExpDes.pt.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Avaliação dos parâmetros *in situ*

Para esta pesquisa, foram estabelecidos dois pontos de coleta de sedimento no riacho Arroio Dourado. O ponto 1 (P1) está situado a jusante do antigo lixão municipal, atualmente bairro Arroio Dourado. Essa área apresenta baixo grau de urbanização, com propriedades rurais no entorno, margens cobertas por mata ciliar e água superficial com reduzida quantidade de matéria orgânica vegetal submersa. Nesse ponto ocorre a confluência entre o riacho Arroio Dourado e o rio Tamanduá (Soares *et al.*, 2023).

O ponto 2 (P2), localizado a montante, apresenta mata ciliar mais preservada e abundante. A água nesse local mostrava-se turva e com elevada concentração de matéria orgânica suspensa e submersa. Ressalta-se que, ao longo de sua extensão, o Arroio Dourado é margeado por mata ciliar e que suas microbacias são predominantemente agrícolas, caracterizadas por agricultura intensiva, agricultura familiar e propriedades destinadas à recreação, como pesqueiros (Da Silva *et al.*, 2023).

Os fatores abióticos mensurados em campo nos pontos de coleta incluíram temperatura e pH. Essas medições foram fundamentais para compreender as condições ambientais, fornecendo informações valiosas sobre o ecossistema em questão.

A temperatura variou de 23,9 °C em P1 a 24,6 °C em P2. Para Campagnaro (2009), esse parâmetro é relevante na avaliação da qualidade da água, pois pode interagir e influenciar outras variáveis, como alcalinidade, pH, salinidade e concentração de oxigênio dissolvido. Observou-se que a temperatura em P1 foi relativamente inferior, possivelmente devido à densa cobertura de mata ciliar, que reduz a incidência de radiação solar. Em P2, a maior exposição solar contribuiu para o aumento da temperatura. Em pesquisa realizada no horto Ouro Verde (Conchas, São Paulo), valores mais baixos de temperatura foram registrados em áreas com mata ciliar e eucalipto, confirmando que a radiação solar é a principal responsável pela variação térmica nos rios (Bueno *et al.*, 2005).

As variações de temperatura ao longo do ano em águas superficiais geralmente oscilam entre 4 °C e 30 °C, sendo determinadas por fatores ambientais como intensidade da radiação solar, sombreamento pela vegetação marginal e características hidrológicas locais (Pol *et al.*, 2019). As temperaturas observadas no riacho Arroio Dourado enquadram-se nessa faixa típica, embora a Resolução CONAMA n. 357/2005 não estabeleça limites específicos para esse parâmetro em corpos hídricos de Classe II, categoria à qual o Arroio Dourado se enquadra (Brasil, 2005).

Além da temperatura, avaliou-se o pH, parâmetro fundamental para os processos biológicos nos ecossistemas aquáticos e que deve ser monitorado adequadamente. Em águas naturais sem tratamento, os valores de pH podem variar de 4,0 a 9,0 (Gomes *et al.*, 2018; Heck *et al.*, 2017; Queiroz; Oliveira, 2018). A Resolução CONAMA n. 357/2005 determina que o pH deve situar-se entre 6,0 e 9,0 para águas doces de classes I a IV (Brasil, 2005).

Nos pontos amostrados, foram registrados valores ligeiramente ácidos: pH 5,0 em P1 e 6,0 em P2. Assim, apenas P1 apresentou valores abaixo do limite legal, possivelmente devido ao uso e ocupação do solo da região (Da Silva *et al.*, 2023). A acidez pode estar associada ao lançamento de efluentes, ao aumento de matéria orgânica pela mata ciliar, às características do solo (latossolo vermelho argiloso, rico em óxido de ferro e matéria orgânica) (PMFI, 2020) ou ainda devido à decomposição de resíduos do antigo lixão (Soares *et al.*, 2023).

Pesquisas anteriores no riacho Arroio Dourado reforçam esses achados. Em 2020 e 2021, estudos com sondas multiparamétricas avaliaram pH, turbidez, oxigênio dissolvido, condutividade e outros parâmetros, registrando valores dentro dos limites da Resolução CONAMA 357/2005 (Da Silva *et al.*, 2023; Soares *et al.*, 2023). Contudo, os autores alertam que a recarga subterrânea obrigatoriamente percola pela camada remanescente do antigo lixão, exigindo monitoramento contínuo para prevenir riscos ambientais.

5.2 Isolamento de microrganismos

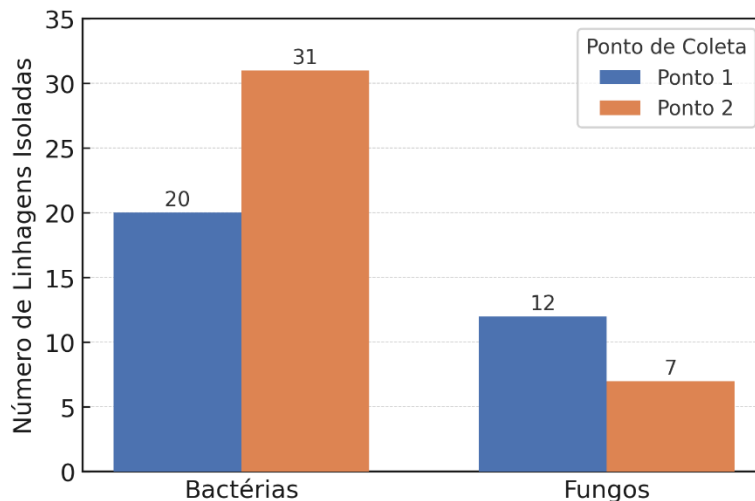
Os microrganismos presentes nos sedimentos do riacho Arroio Dourado foram isolados por métodos convencionais dependentes de cultivo, seguindo protocolos de

microbiologia ambiental. As amostras foram enriquecidas com os fármacos selecionados e inoculadas em meios de cultivo apropriados, favorecendo o crescimento da microbiota presente.

A partir desses enriquecimentos, recuperou-se uma biomassa significativa da microbiota cultivável. Foram utilizados procedimentos de esgotamento em placas de Petri com ágar, resultando no isolamento de 70 linhagens distintas (51 bactérias e 19 fungos filamentosos). A seleção baseou-se na caracterização macroscópica das colônias (cor, brilho, tamanho, bordas, verso e reverso), permitindo distinguir diferentes morfotipos e subsidiar a identificação.

A nomenclatura das linhagens isoladas foi elaborada para facilitar a identificação e categorização dos microrganismos, sendo designados como “BAR” para os isolados bacterianos do arroio (BAR001 a BAR051), “FAR” para os isolados fúngicos (FAR001 a FAR019) (Figura 19; Apêndice A). Essa padronização permite organização eficiente dos isolados e favorece futuras análises pelo grupo de pesquisa.

Figura 19 – Microrganismos isolados do riacho Arroio Dourado em Foz do Iguaçu-PR.



Fonte: Autora (2025).

Em análise, verificou-se que o isolamento mais expressivo de microrganismos ocorreu em P2, respondendo por 54,2% das linhagens selecionadas. O maior número de isolados foi de bactérias, seguido de fungos filamentosos. No ponto P1, observou-se uma menor recuperação de microrganismos isolados, a qual pode estar associada à menor disponibilidade de matéria orgânica no ambiente, fator reconhecido por

influenciar a abundância e a diversidade microbiana. No entanto, outros fatores também são plausíveis, incluindo características físico-químicas do sedimento e a possível presença de contaminantes residuais, os quais podem exercer efeito seletivo sobre a microbiota local. Ainda assim, a relação entre maior teor de matéria orgânica e maior abundância microbiana tem sido amplamente reportada na literatura (Dedysh; Yilmaz, 2018; Ottoni *et al.*, 2022).

A diversidade microbiana dos sedimentos reflete as condições específicas dos micronichos aquáticos, que funcionam como importantes reservatórios de microrganismos responsáveis por processos biogeoquímicos essenciais (Ottoni *et al.*, 2022; Köchling *et al.*, 2017). O estudo da microbiota associada aos sedimentos é, portanto, de grande importância, pois permite aprimorar metodologias para o isolamento de células envolvidas em processos biológicos relevantes e potencialmente aplicáveis ao tratamento de corpos d'água contaminados (Zhang *et al.*, 2020; Passarini *et al.*, 2021).

Pesquisas mostram que o enriquecimento de amostras com contaminantes favorece o isolamento de microrganismos degradadores (Ivshina *et al.*, 2019; Pacholak *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2017). Assim, comunidades expostas a contaminantes, como as do Arroio Dourado, tendem a desenvolver maior adaptação metabólica e taxas elevadas de degradação (Mishra *et al.*, 2025; Hassanshahian; Cappello, 2013). Long *et al.*, (2021) relatam que, em áreas contaminadas, há aumento da diversidade microbiana e da presença de genes de resistência a metais pesados, indicando adaptação e sobrevivência sob condições ambientais adversas.

Esses achados são corroborados por Pacholak *et al.*, (2019), que investigaram microrganismos isolados do lodo de ETEs enriquecido com antimicrobianos, identificando espécies capazes de degradar nitrofurano e nitrofurantoína. De modo semelhante, Liu *et al.*, (2017) isolaram linhagens bacterianas de biossólidos provenientes da produção de gentamicina, as quais demonstraram alta eficiência na remoção do antibiótico em ampla faixa de pH, indicando potencial para biorremediação de poluentes farmacêuticos. Esses resultados reforçam o potencial da microbiota do Arroio Dourado para a biorremediação de compostos emergentes (CEs).

As amostras de sedimento do riacho foram também analisadas por metabarcodificação do 16S rDNA por Ottoni e colaboradores (2022), revelando ampla

diversidade microbiana abrangendo 44 filós de procariotos (41 do domínio Bacteria e 3 de Archaea). Observou-se maior diversidade e abundância em P2 (221 grupos taxonômicos) em comparação a P1 (118 grupos), resultados coerentes com os obtidos neste estudo, que também registrou maior número de isolados em P2, ainda que por método dependente de cultivo, indicando correspondência quanto à tendência geral, mesmo que não em composição específica.

As análises de metabarcoding indicaram que o impacto antropogênico favoreceu a predominância de táxons pertencentes aos filós Proteobacteria, Acidobacteriota, Actinobacteriota, Myxococcota, Chloroflexi e Desulfobacteriota, além de significativa presença de táxons não identificados (54,2%). Esses resultados evidenciam alta diversidade microbiana nos sedimentos e presença de microrganismos atuantes nos ciclos do carbono, nitrogênio e enxofre, além de grupos associados à degradação de xenobióticos e compostos orgânicos complexos (Otoni *et al.*, 2022).

Não foram identificadas pesquisas prévias sobre a biodiversidade microbiana do riacho com uso de técnicas dependentes de cultivo. Os registros disponíveis referem-se a análises microbiológicas realizadas pela prefeitura municipal, incluídas em relatórios de gestão ambiental (PMFI, 2012; PMFI, 2019b). Assim, o presente estudo é pioneiro, destacando o potencial inexplorado da microbiota local como recurso promissor para aplicações biotecnológicas futuras. Embora não tenham sido aplicadas condições de cultivo diferenciadas (como meios seletivos ou anaerobiose), os resultados obtidos refletem uma fração relevante da microbiota cultivável, evidenciando o potencial ecológico e biotecnológico dos microrganismos isolados.

Os microrganismos isolados demonstraram capacidade de sobrevivência em ambientes ligeiramente ácidos, com pH variando entre 5,0 (P1) e 6,0 (P2). Essa característica é particularmente relevante, visto que grande parte dos estudos recentes sobre biodegradação tem destacado o uso desses microrganismos como abordagem eficaz para reduzir a presença de fármacos em águas superficiais e residuárias (Escudero *et al.*, 2020; Ratnasari *et al.*, 2021; Jan-Roblero; Cruz-Maya, 2023; Liu *et al.*, 2023).

Organismos que se desenvolvem sob acidez moderada, ou que toleram essa faixa de pH, apresentam elevada capacidade adaptativa e expressivo potencial para a degradação de compostos farmacêuticos em ambientes aquáticos (Neira *et al.*,

2020; Song *et al.*, 2023). Esses microrganismos podem utilizar tais compostos como fontes de carbono e energia, convertendo-os em bioprodutos de interesse industrial (Hwangbo *et al.*, 2023; Manikandan *et al.*, 2023; Escudero *et al.*, 2020). Além disso, participam de processos funcionais como biodegradação, biotransformação e bioacumulação, metabolizando-os em produtos menos tóxicos ou ambientalmente inertes (Bankole *et al.*, 2020; Ding *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2023).

Entre os compostos farmacêuticos, os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) são frequentemente detectados em diferentes matrizes ambientais, o que reforça a necessidade de métodos eficazes e ambientalmente sustentáveis para sua mitigação (Biczak *et al.*, 2024; Peng *et al.*, 2024; Ratnasari *et al.*, 2024). Como compostos orgânicos, os AINEs apresentam propriedades que os tornam susceptíveis à biodegradação (Ratnasari *et al.*, 2024). Entre eles, destaca-se o ibuprofeno, amplamente identificado em corpos hídricos e reconhecido por seus efeitos ecotóxicos (Hong *et al.*, 2022; Jan-Roblero; Cruz-Maya, 2023).

Nesse contexto, a presença de microrganismos isolados de um ambiente sob influência antrópica, em um cenário no qual CEs são amplamente detectados em diferentes matrizes ambientais (Biczak *et al.*, 2024; Peng *et al.*, 2024), sugere que essas comunidades microbianas possam ter experimentado pressões químicas ao longo de seu desenvolvimento. Tais condições favorecem a persistência de linhagens mais tolerantes e metabolicamente preparadas para responder a compostos bioativos, ativando vias oxidativas, hidrolíticas e outros mecanismos associados à biodegradação (Ratnasari *et al.*, 2024). Dessa forma, os isolados obtidos neste estudo evidenciam potencial ecológico adaptativo e despontam como candidatos promissores para estratégias de biorremediação, constituindo uma base consistente para as etapas subsequentes de avaliação de tolerância, atividade enzimática e capacidade degradativa.

5.3 Teste de viabilidade celular

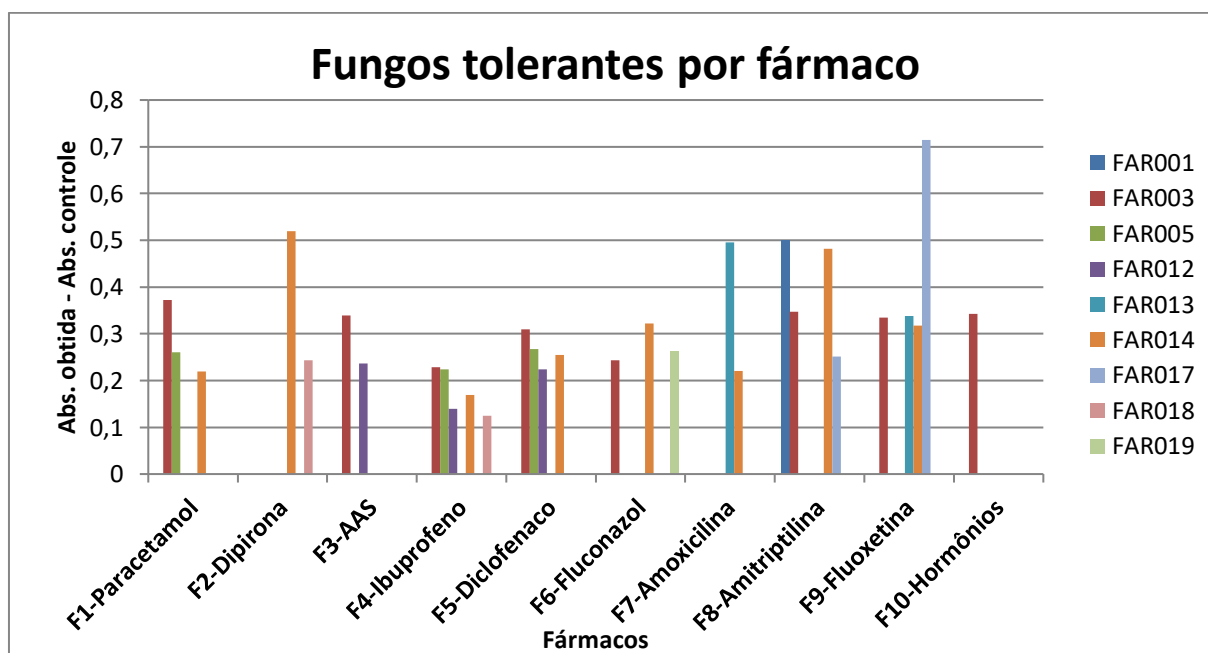
Para avaliar a tolerância dos microrganismos aos fármacos, foram realizados testes de viabilidade celular com as linhagens fúngicas (n = 19) e bacterianas (n = 51), empregando cloreto de trifeniltetrazólio (TTC) como indicador de atividade metabólica. Os isolados foram expostos aos fármacos listados no Quadro 5, na concentração de

10 mg·L⁻¹, e aqueles que apresentaram maior atividade na presença dos compostos foram selecionados para os ensaios enzimáticos subsequentes. As análises estatísticas indicaram que 47,36% dos fungos (n = 9) e 19,60% das bactérias (n = 10) exibiram tolerância a pelo menos um dos fármacos testados.

A mudança de coloração observada após a adição do TTC refletiu a capacidade metabólica das células, uma vez que microrganismos viáveis reduzem o corante e formam o composto vermelho formazan, enquanto células inviáveis permanecem incolores por não apresentarem atividade redutora (Moussa *et al.*, 2013; Abbade; Takaki, 2014).

Nos gráficos utilizados para a seleção dos isolados tolerantes, o eixo X representa os fármacos testados, enquanto o eixo Y corresponde à absorbância ponderada (Abs. Obtida - Abs. controle), que expressa a resposta específica de cada microrganismo frente ao composto avaliado (Figura 20).

Figura 20 – Gráfico com os fungos que apresentaram maior tolerância no teste de viabilidade celular com TTC elencados por tratamento.



Legenda: FAR – fungos Arroio.

Fonte: Autora (2025).

Valores mais elevados de absorbância indicam maior tolerância do isolado ao fármaco, refletindo sua maior atividade metabólica e viabilidade celular sob exposição ao tratamento. Ressalta-se que o ensaio baseado na redução do cloreto de 2,3,5-

trifeniltetrazólio (TTC) avalia a atividade redutora metabólica das células, não sendo indicativo direto de crescimento celular. Dessa forma, cada barra do gráfico corresponde a uma linhagem, permitindo a comparação do desempenho relativo dos isolados frente aos diferentes fármacos. Considerando os fármacos individualmente, observaram-se perfis distintos de tolerância entre os fungos avaliados.

Para o paracetamol, destacaram-se os isolados FAR003, FAR005 e FAR014, enquanto, para a dipirona, as maiores respostas de atividade metabólica foram registradas para FAR014 e FAR018. Em relação ao ácido acetilsalicílico (AAS), sobressaíram os isolados FAR003 e FAR012. Entre os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), o ibuprofeno apresentou maior tolerância metabólica nos isolados FAR003, FAR005, FAR012, FAR014 e FAR018, enquanto para o diclofenaco destacaram-se os isolados FAR003, FAR005, FAR012 e FAR014.

No grupo dos antimicrobianos, o fluconazol evidenciou maior tolerância metabólica nos isolados FAR003, FAR014 e FAR019, ao passo que a amoxicilina apresentou respostas mais elevadas principalmente para FAR013 e FAR014. Para os antidepressivos, a amitriptilina mostrou maior tolerância metabólica nos isolados FAR001, FAR003, FAR014 e FAR017, enquanto a fluoxetina apresentou respostas elevadas em FAR003, FAR013, FAR014 e FAR017. Na classe dos hormônios, apenas o isolado FAR003 exibiu resposta metabólica expressiva.

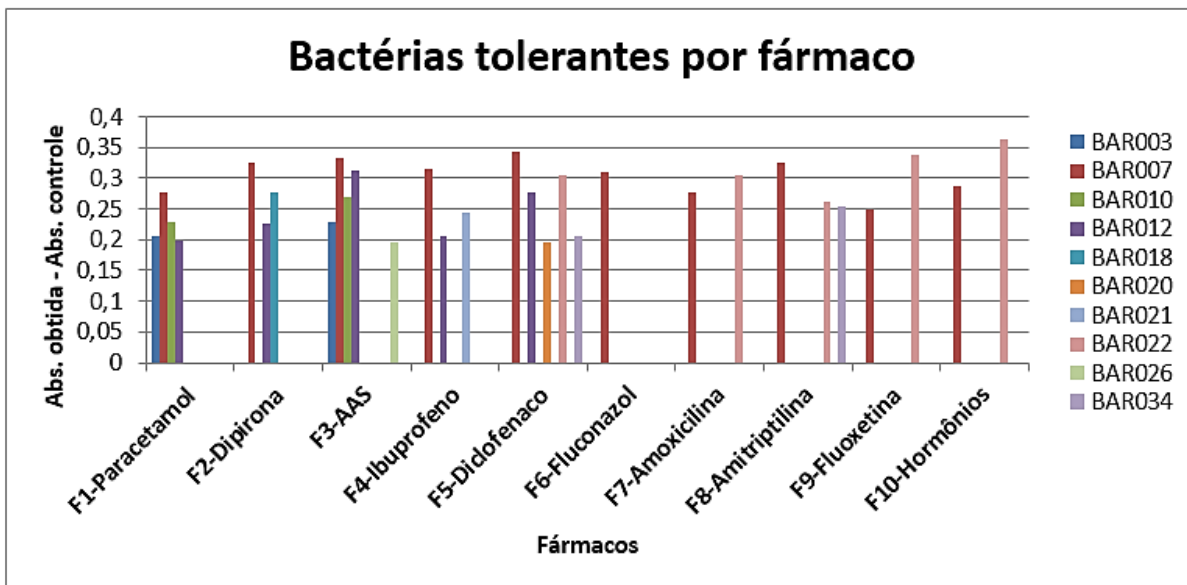
De forma geral, os isolados FAR003 e FAR014 apresentaram maior versatilidade metabólica, figurando entre os mais tolerantes na maioria dos fármacos avaliados. Os dados completos encontram-se no Apêndice B (Tabela 12, Figura 46).

Entre as bactérias, a triagem de tolerância indicou que a linhagem BAR007 apresentou os maiores valores de absorvância para a maioria dos fármacos avaliados, configurando-se como a mais tolerante do conjunto ($p < 0,05$) (Figura 21).

Considerando as classes terapêuticas individualmente, entre os antitérmicos destacaram-se as linhagens BAR003, BAR007, BAR018 e BAR022. Para os anti-inflamatórios não esteroides (ibuprofeno e diclofenaco), observou-se maior tolerância metabólica nas linhagens BAR007, BAR012, BAR018 e BAR022.

No grupo dos antimicrobianos (fluconazol e amoxicilina), as linhagens BAR012, BAR018, BAR022 e BAR034 apresentaram melhor desempenho, padrão semelhante ao observado frente aos antidepressivos. A classe dos hormônios exibiu menor tolerância geral, com destaque relativo para as linhagens BAR022 e BAR034.

Figura 21 – Gráfico com as bactérias que apresentaram maior tolerância no teste de viabilidade celular com TTC elencados por fármaco.



Legenda: BAR – bactérias Arroio.

Fonte: Autora (2025).

Considerando o número total de fármacos para os quais cada linhagem apresentou resposta metabólica positiva, BAR012 e BAR022 mostraram-se as mais versáteis, seguidas por BAR010 e BAR034. Os dados completos encontram-se no Apêndice B (Tabelas 13, 14, 15; Figuras 47, 48, 49).

Os resultados obtidos para os antimicrobianos amoxicilina e fluconazol merecem destaque, pois a ocorrência de linhagens tolerantes a essas classes terapêuticas corrobora registros na literatura sobre o aumento de resistência microbiana em ambientes contaminados, efluentes domésticos e hospitalares (Lee *et al.*, 2023; Grenni, 2022; Wang *et al.*, 2021a; Zainab *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2019).

Esse fenômeno representa um relevante problema de saúde pública, uma vez que a disseminação de microrganismos resistentes compromete a eficácia de tratamentos clínicos e favorece a propagação de infecções de difícil controle. Além do impacto sanitário, constitui também um risco ambiental, pois ambientes aquáticos funcionam como reservatórios e vias de circulação de bactérias e fungos resistentes, favorecendo a manutenção e a transferência de genes de resistência entre diferentes nichos ecológicos (Alfahl *et al.*, 2024).

Estudos recentes têm destacado, inclusive, a preocupação crescente com a

resistência fúngica, reconhecida como um desafio emergente no contexto “*One Health*” - Saúde Única, dado o aumento de linhagens ambientais e clínicas resistentes a múltiplos antifúngicos (Lima *et al.*, 2022; Fisher *et al.*, 2024). Esse cenário evidencia a importância de compreender os mecanismos ambientais associados ao surgimento e à dispersão da resistência microbiana, especialmente em ecossistemas submetidos a pressões antrópicas, como o Arroio Dourado, para identificar microrganismos ambientais adaptados e com potencial aplicável em biorremediação.

Nesse contexto, a avaliação da viabilidade frente aos diferentes fármacos permitiu selecionar cinco isolados fúngicos promissores (FAR003, FAR005, FAR012, FAR014 e FAR018) para a identificação molecular e para a continuidade dos ensaios enzimáticos e de biodegradação. A seleção desses isolados fundamentou-se no desempenho obtido na triagem inicial, em que apresentaram maiores valores de absorvância corrigida e respostas consistentes frente a múltiplas classes de fármacos, incluindo antitérmicos, AINEs, antimicrobianos e antidepressivos. Esse padrão de tolerância indica um potencial metabólico ampliado, possivelmente relacionado à atividade de mecanismos enzimáticos capazes de transformar ou neutralizar compostos xenobióticos.

Além da relevância biológica, considerou-se também o crescimento relativamente mais lento dos fungos em comparação às bactérias, o que, no contexto experimental, representou uma vantagem estratégica. Esse ritmo de crescimento permitiu organizar o aparato laboratorial, preparar insumos, ajustar protocolos e otimizar as condições de cultivo e de ensaio, assegurando maior rigor metodológico e melhor reprodutibilidade nas etapas subsequentes.

Assim, os cinco isolados selecionados apresentam-se como os candidatos mais adequados tanto do ponto de vista biotecnológico, pela resposta robusta diante de diferentes fármacos, quanto do ponto de vista operacional, por favorecerem o planejamento eficiente das etapas enzimáticas e de biodegradação.

5.4 Identificação dos fungos de interesse

5.4.1 Caracterização macro e micromorfológica das linhagens fúngicas

As características morfológicas das colônias, como forma, superfície,

margem, coloração e textura, foram empregadas como critério preliminar para distinguir morfotipos durante o isolamento, uma vez que essas variáveis, por serem influenciadas pelas condições de cultivo, não constituem uma caracterização taxonômica completa (Lücking *et al.*, 2020).

Para a observação das estruturas vegetativas e reprodutivas, aplicou-se a técnica de microcultivo aos isolados que apresentaram melhor desempenho nos testes prévios. A análise morfológica possibilitou a identificação dos fungos até o nível de gênero. Os isolados foram cultivados em ágar batata (PDA) em placas de Petri, e as características macroscópicas e microscópicas registradas encontram-se ilustradas nas imagens representadas abaixo (Figura 22).

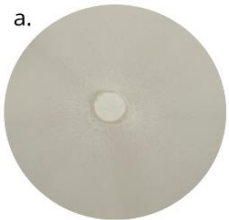
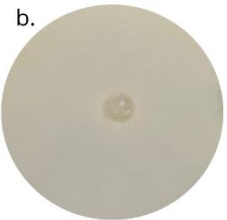
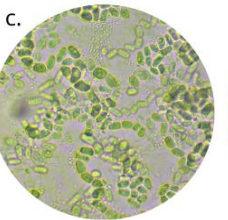
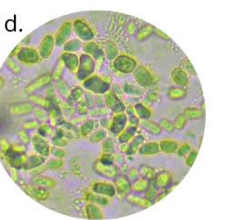

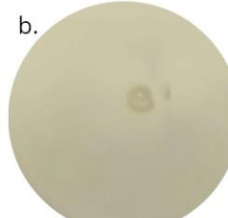
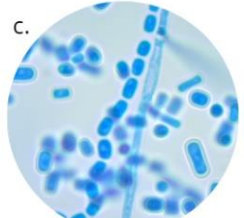
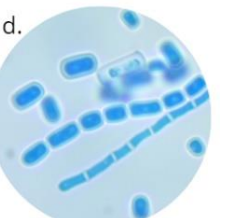
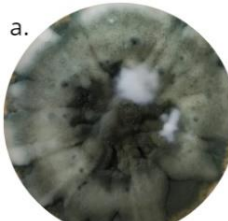

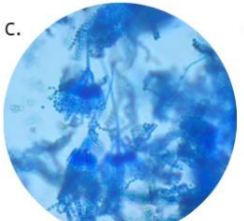
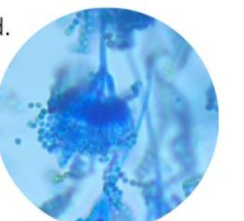
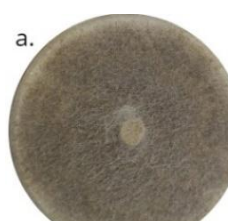
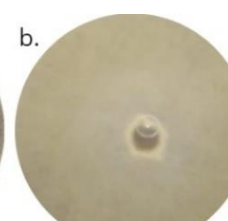
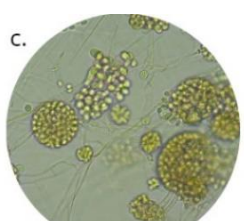
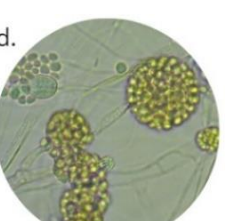
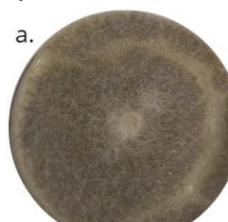
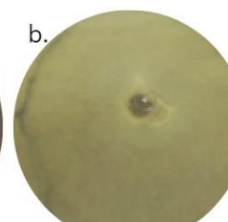
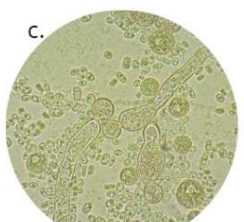
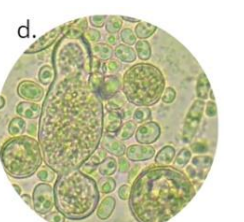
Apesar da caracterização morfológica ter permitido classificar os isolados em nível de gênero, a confirmação da identificação foi obtida por meio de técnicas moleculares. Esse procedimento está alinhado com a literatura recente, que ressalta que a morfologia continua sendo uma etapa inicial valiosa, geralmente suficiente para orientar a identificação em nível de gênero, mas que a elucidação em nível de espécie com segurança costuma requerer dados moleculares complementares (Gautam *et al.*, 2022; Faria *et al.*, 2022).

Os isolados identificados neste estudo *Geotrichum* sp._FAR003, *Geotrichum* sp._FAR005, *Talaromyces* sp._FAR012, *Mucor* sp._FAR014 e *Mucor* sp._FAR018, pertencem a diferentes grupos taxonômicos, o que pode indicar potencial diversidade metabólica entre eles. Contudo, a literatura demonstra que diferenças funcionais não podem ser inferidas exclusivamente a partir da taxonomia, uma vez que fungos filamentosos de distintos gêneros podem compartilhar traços fisiológicos, estratégias ecológicas e vias metabólicas semelhantes (Zanne *et al.*, 2020). Assim, no presente estudo, as interpretações sobre capacidades funcionais são fundamentadas prioritariamente nos resultados experimentais gerados, incluindo os testes de tolerância e os ensaios enzimáticos conduzidos ao longo da pesquisa.

O gênero *Geotrichum*, classificado como ascomiceto (Filo Ascomycota, Classe Saccharomycetes, ordem Saccharomycetales, família Dipodascaceae), forma colônias de aparência branca a creme, com textura aveludada ou farinácea, e apresenta crescimento rápido em meios convencionais. Microscopicamente, caracteriza-se por hifas hialinas septadas e ramificadas, que originam artroconídios por fragmentação. Espécies de *Geotrichum* são importantes na degradação de

carboidratos, participam de fermentações lácteas e, em alguns casos, podem atuar como patógenos oportunistas (Kamilari *et al.*, 2023).

Figura 22 – Morfologia dos fungos isolados com observação dos microcultivos num aumento de 400x.

Características das colônias em placa	Microcultivo		
(A) <i>Geotrichum</i> sp._FAR003			
a. 	b. 	c. 	d. 
(B) <i>Geotrichum</i> sp._FAR005			
a. 	b. 	c. 	d. 
(C) <i>Talaromyces</i> sp._FAR012			
a. 	b. 	c. 	d. 
(D) <i>Mucor</i> sp._FAR014			
a. 	b. 	c. 	d. 
(E) <i>Mucor</i> sp._FAR018			
a. 	b. 	c. 	d. 

Legenda: (a) anverso e (b) reverso das colônias; (c, d) microcultivo corado com azul de algodão em lactofenol.

Fonte: Autora (2025).

O gênero *Talaromyces*, também pertencente aos ascomicetos (Filo Ascomycota, Classe Eurotiomycetes, Ordem Eurotiales, Família Trichocomaceae), apresenta colônias veludas com tons esverdeados, crescimento de moderado a rápido e pigmentos que podem difundir-se no meio. Microscopicamente, exibe hifas septadas e hialinas, conídios organizados em conidióforos ramificados e estruturas sexuais chamadas cleistotecios, contendo ascospores esféricos. Os anamorfos de *Talaromyces* eram tradicionalmente classificados como *Penicillium*. Este gênero possui relevância biotecnológica pela produção de enzimas, metabólitos secundários (como pigmentos e antibióticos), por seu papel na biodegradação de resíduos orgânicos e como agentes de biocontrole contra patógenos transmitidos pelo solo (Zhai *et al.*, 2016; Sun *et al.*, 2020; Zhao *et al.*, 2024).

O gênero *Mucor* (Filo Mucoromycota, anteriormente incluído entre os zigomicetos; Classe Mucoromycetes, Ordem Mucorales, Família Mucoraceae) forma colônias lanosas com micélio aéreo denso, de coloração branca a cinza-amarelada, frequentemente cobertas por esporângios escurecidos durante o esporulado. Microscopicamente, apresenta hifas predominantemente asseptadas, esporângios longos e retos, com esporangióforos que se alargam nas extremidades formando columela, e esporângiosporos unicelulares ovóides variando de amarelo a marrom. Espécies de *Mucor* têm relevância ecológica e biotecnológica na decomposição de matéria orgânica, além de serem utilizadas na produção de ácidos orgânicos e lipases (Tahiri *et al.*, 2023; Richardson; Rautemaa-Richardson, 2019).

5.4.2 Caracterização molecular dos fungos

Após as análises morfológicas, os isolados fúngicos foram submetidos à identificação molecular por meio do sequenciamento da região ITS do rRNA, marcador amplamente empregado na caracterização taxonômica de fungos filamentosos. As sequências obtidas foram comparadas com aquelas depositadas no banco de dados NCBI utilizando a ferramenta BLASTn, permitindo estimar o grau de similaridade com espécies de referência. Em seguida, procedeu-se à análise filogenética, a fim de avaliar o posicionamento evolutivo dos isolados em relação a sequências representativas de fungos previamente descritos, complementando as observações morfológicas. A Tabela 2 apresenta um resumo das melhores correspondências

registradas no NCBI, incluindo códigos de acesso, percentuais de similaridade e referências das sequências tipo utilizadas para comparação.

Tabela 2 – Resultados da análise de similaridade (BLASTn) das sequências ITS.

Isolado	Código NCBI	Nome Científico	Cepa de Referência	% Ident.	Referências
FAR003	NR_163519.1	<i>Geotrichum pseudocandidum</i>	CBS 626.83 ^T	93,49%	Groenewal, 2012
FAR005	NR_077071.1	<i>Geotrichum silvicola</i>	CBS 9194 ^T	97,08%	Schoch <i>et al.</i> , 2014
	MG599260.1	<i>Galactomyces</i> sp.	UFMG-CM-Y3119 ^T	98,15%	Lopes <i>et al.</i> , 2018
	JN974285.1	<i>Galactomyces citri-aurantii</i>	CBS 176.89 ^T	96,08%	Groenewald, 2012
FAR012	NR_120179.1	<i>Talaromyces amestolkiae</i>	CBS 132696 ^T	99,82%	Schoch <i>et al.</i> , 2014
	NR 111781.1	<i>Talaromyces stollii</i>	CBS 408.93 ^T	99,34%	Schoch <i>et al.</i> , 2014
	NR 111780.1	<i>Talaromyces ruber</i>	CBS 132704 ^T	98,15%	Schoch <i>et al.</i> , 2014
	NR_145151.1	<i>Talaromyces primulinus</i>	CBS 321.48 ^T	96,46%	Samson <i>et al.</i> , 2011
	NR_103663.2	<i>Talaromyces viridulus</i>	CBS 252.87 ^T	96,64%	Schoch <i>et al.</i> , 2014
FAR014	NR_126116.1	<i>Mucor circinelloides</i>	CBS 195.68 ^T	97,91%	Schwarz <i>et al.</i> , 2006
	DQ118992.1	<i>Mucor hiemalis</i>	CBS 201.65 ^T	87,86%	Schwarz <i>et al.</i> , 2006
	FN650643.1	<i>Mucor ramosissimus</i>	CBS 135.65 ^T	90,00%	Alvarez <i>et al.</i> , 2010
	NR_126136.1	<i>Mucor griseocyanus</i>	CBS 116.08 ^T	90,79%	Walther <i>et al.</i> , 2013
	JN206429.1	<i>Mucor racemosus</i>	CBS 111228 ^T	90,76%	Walther <i>et al.</i> , 2013
	JN206401.1	<i>Syzygites megalocarpus</i>	CBS 372.39	87,84%	Walther <i>et al.</i> , 2013

Fonte: Autora (2025).

Os resultados obtidos via BLASTn indicaram correspondências principalmente com espécies dos gêneros *Geotrichum*, *Talaromyces* e *Mucor*, com percentuais de identidade variando entre 93,49% e 99,82%, valores que sustentam a identificação em nível de gênero, ainda que insuficientes para delimitação segura em nível específico. As árvores filogenéticas geradas para os isolados (ver figuras 23, 24, 25) também corroboram esses resultados, embora, em alguns casos, com valores de suporte inferiores a 70%, reforçando a limitação do ITS para a discriminação de espécies estreitamente relacionadas.

A análise filogenética dos isolados FAR003 e FAR005 foi conduzida com o objetivo de verificar sua proximidade evolutiva em relação a espécies de referência e avaliar a consistência do agrupamento sugerido pelos resultados de similaridade. A

árvore obtida evidencia o posicionamento de ambos os isolados dentro de clados bem suportados, com valores de bootstrap acima de 70%, permitindo uma interpretação mais robusta da identidade taxonômica. A Figura 23 ilustra a relação entre esses isolados e seus táxons mais próximos.

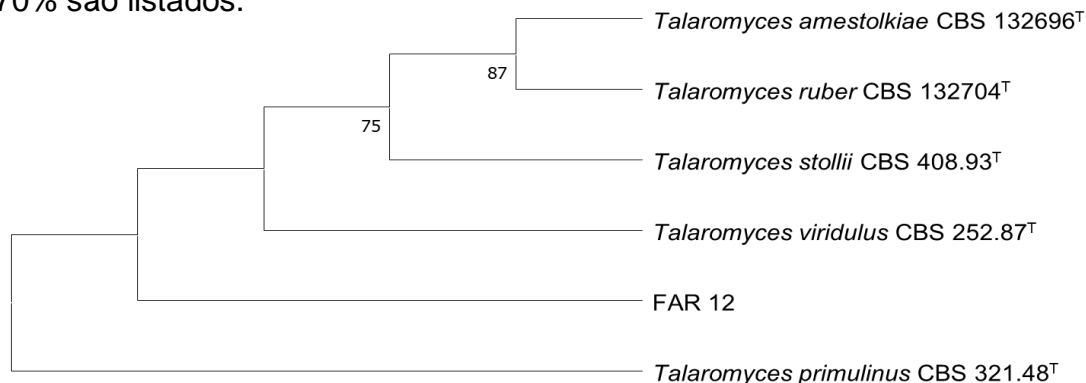
Figura 23 – Análise filogenética baseada em sequências do gene ITS dos isolados FAR003 e FAR005. Valores de Bootstrap (1000 execuções replicadas, mostradas em%) acima de 70% são listados.



Fonte: Autora (2025).

Para confirmar a identificação molecular e avaliar o posicionamento evolutivo do isolado FAR012, foi realizada uma análise filogenética baseada na região ITS. A árvore resultante permitiu observar o agrupamento do isolado com espécies relacionadas, reforçando a proximidade genética indicada pelos resultados do BLAST. Os valores de *bootstrap* superiores a 70% foram considerados como suporte significativo para os clados obtidos. A Figura 24 apresenta a relação filogenética estimada para o isolado FAR012.

Figura 24 – Análise filogenética baseada em sequências do gene ITS do isolado FAR012. Valores de Bootstrap (1000 execuções replicadas, mostradas em%) acima de 70% são listados.



Fonte: Autora (2025).

A reconstrução filogenética do isolado FAR014 foi utilizada para complementar o processo de identificação molecular e confirmar sua relação com espécies próximas dentro do banco de dados de referência. A análise gerou uma árvore com agrupamentos bem definidos, sustentados por valores de *bootstrap* superiores a 70%, o que confere maior confiabilidade ao posicionamento evolutivo observado. A Figura 25 apresenta o agrupamento filogenético do isolado FAR014.

Embora a região do DNA ribossomal interno transcrito (ITS) seja amplamente utilizada como marcador universal para identificação molecular de fungos, diversos estudos indicam que sua resolução filogenética é limitada em determinados grupos taxonômicos. Em gêneros como *Talaromyces*, *Geotrichum* e *Mucor*, o ITS pode não discriminar adequadamente espécies próximas, sendo recomendada a utilização de marcadores adicionais, como os genes β -tubulina (*benA*), calmodulina (*CaM*) e fator de alongação da tradução 1- α (*tef1- α*), que fornecem maior poder de diferenciação intra e interespecífica (Samson *et al.*, 2014; Schoch *et al.*, 2012; Walther *et al.*, 2013; Vu *et al.*, 2019).

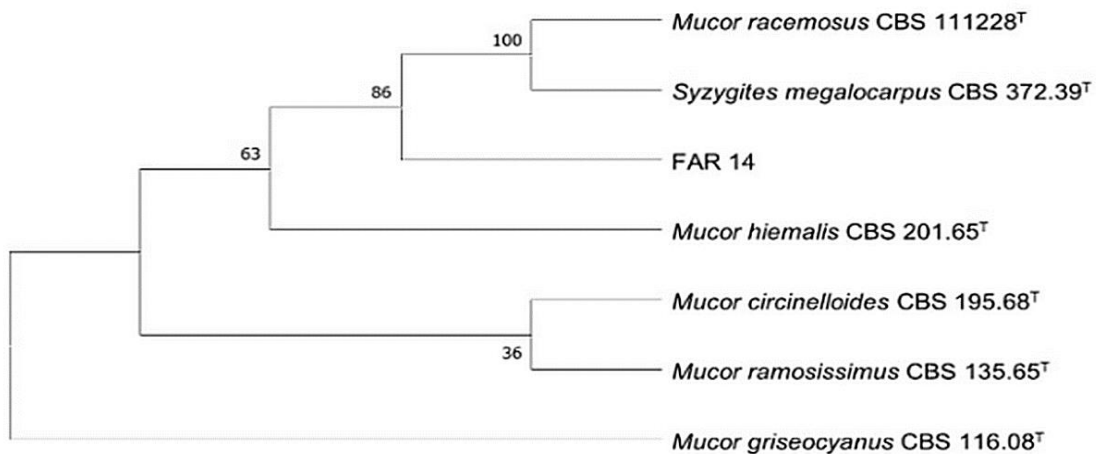
No presente estudo, a identificação molecular foi realizada por meio do sequenciamento da região ITS, conforme o protocolo padrão adotado pelas empresas responsáveis pelo sequenciamento. Apesar das limitações conhecidas desse marcador, a análise BLASTn resultou em níveis de similaridade entre 90,15% e 98,34% para a maioria das amostras, com exceção de *Talaromyces amestolkiae* (99,82%), que apresentou correspondência confiável em nível específico. Nos demais casos, *Geotrichum* e *Mucor*, os percentuais de similaridade obtidos somado aos baixos valores de suporte filogenético (<70%) indicam que a identificação deve ser considerada apenas em nível de genérico.

Ainda assim, quando articulados às características macro e micromorfológicas, os dados moleculares obtidos a partir da região ITS mostraram-se suficientes para a determinação taxonômica dos isolados em nível de gênero, de modo que essa integração entre morfologia e biologia molecular permanece como uma abordagem adequada e amplamente empregada em estudos ecológicos e biotecnológicos, mesmo diante das recentes discussões sobre suas limitações (Schoch *et al.*, 2012; Vu *et al.*, 2019).

Contudo, reconhece-se que, atualmente, o uso isolado do ITS e de descritores morfológicos já não é considerado plenamente robusto para a resolução de grupos

taxonômicos complexos, o que reforça a importância de, em investigações futuras, incorporar painéis *multilocus* e marcadores adicionais que aprimorem a acurácia da identificação e ampliem a capacidade de inferência funcional e ecológica dos microrganismos analisados (Stengel *et al.*, 2022; Su; Niu, 2018).

Figura 25 – Análise filogenética baseada em sequências do gene ITS do isolado FAR014. Valores de Bootstrap (1000 execuções replicadas, mostradas em%) acima de 70% são listados.



Fonte: Autora (2025).

No caso do isolado *Mucor* sp._FAR018, não foi possível obter uma identificação molecular conclusiva, pois as sequências ITS apresentaram baixa similaridade com espécies conhecidas do gênero *Mucor* ou de táxons filogeneticamente próximos.

Diante dessa limitação, sua classificação foi sustentada pelas características macro e micromorfológicas observadas, compatíveis com o gênero, incluindo colônias algodonosas brancas a acinzentadas, hifas hialinas, esporangióforos simples e esporângios globosos, conforme descrito na literatura (Richardson; Rautemaa-Richardson, 2019). Essa limitação reforça a importância da utilização de marcadores complementares em estudos posteriores, de modo a aprimorar a resolução taxonômica e confirmar o posicionamento filogenético desse isolado.

5.4.3 Potencial biotecnológico e aplicabilidade ambiental dos fungos identificados neste estudo

Os fungos isolados e identificados neste estudo pertencem a gêneros reconhecidos por sua versatilidade metabólica e importância biotecnológica. Espécies de *Geotrichum*, *Talaromyces* e *Mucor* apresentam potencial de aplicação em processos industriais, agrícolas e ambientais, destacando-se pela produção de enzimas, pela biossíntese de metabólitos de interesse e pela capacidade de atuar na biodegradação de compostos orgânicos complexos, incluindo fármacos e resíduos industriais (Zhao *et al.*, 2024; Kamilari *et al.*, 2023; Tahiri *et al.*, 2023).

Espécies de *Geotrichum* são utilizadas na indústria de alimentos, especialmente como culturas *starter* em queijos, devido à capacidade de decompor lipídeos e proteínas; além disso, produzem uma variedade de enzimas de interesse biotecnológico, como lipases e xilanases, empregadas em diferentes processos industriais. Essas espécies também têm sido exploradas em aplicações de biorremediação de moléculas aromáticas e poluentes emergentes, em função de sua expressiva produção enzimática oxidativa (Kamilari *et al.*, 2023). Em particular, algumas linhagens mostraram aptidão para acumulação de íons metálicos, o que reforça seu potencial em processos de descontaminação (He *et al.*, 2022). Apesar da pouca literatura específica sobre degradação de fármacos por *Geotrichum*, seu repertório enzimático indica potencial para metabolismo parcial ou modificação de moléculas farmacêuticas no contexto de efluentes complexos.

O gênero *Talaromyces* é amplamente reconhecido pela produção de enzimas de interesse industrial, como xilanases, celulasas e diversos pigmentos (Zhai *et al.*, 2016). Além disso, espécies de *Talaromyces* têm sido investigadas como biossorbentes na remoção de corantes têxteis, evidenciando eficiência na adsorção de compostos orgânicos, como observado para *Talaromyces aculeatus* na remoção de corantes reativos (Katar *et al.*, 2017). Em termos farmacológicos, fungos desse gênero constituem fontes relevantes de metabólitos bioativos, incluindo alcaloides e poliquetídeos, com atividades antimicrobianas, antioxidantes e citotóxicas (Kumari *et al.*, 2018). Assim, *Talaromyces* sp._FAR012 pode apresentar potencial tanto para aplicações industriais quanto para processos de biotransformação ou biossorção de fármacos.

Fungos do gênero *Mucor* apresentam rápido crescimento, elevada versatilidade metabólica e produzem enzimas como lipases e proteases, além de componentes de parede celular, como quitosana, características que lhes conferem reconhecido potencial biotecnológico (Ghosh *et al.*, 2023). Em estudos de micorremediação, membros da ordem *Mucorales* têm sido avaliados quanto à capacidade de remover fármacos, como anti-inflamatórios e analgésicos, por meio de mecanismos de degradação enzimática ou adsorção (Vaksmaa *et al.*, 2023).

Embora apresentem potencial biotecnológico, fungos dessa ordem também podem atuar como patógenos oportunistas, causando mucormicose, infecção grave em imunocomprometidos, com acometimento respiratório e do sistema nervoso (Magri *et al.*, 2024). No Brasil, destacam-se os gêneros *Rhizopus*, *Mucor*, *Rhizomucor* e *Lichtheimia*, sendo *Mucor* spp. responsável por cerca de 12% dos casos (Nucci *et al.*, 2021). A incidência tem aumentado, especialmente após o uso prolongado de corticosteroides durante a pandemia de COVID-19 (Patel *et al.*, 2021; ANVISA, 2021).

É descrito na literatura que *Mucor circinelloides* é um fungo oleaginoso amplamente estudado para a produção de lipídios microbianos e ácidos graxos de alto valor, com aplicações potenciais em biodiesel, bioplásticos e alimentação (Mohamed *et al.*, 2024). No contexto da remediação ambiental, essa espécie tem sido empregada na remoção de corantes, como o Reactive Orange 13, incluindo sistemas com biomassa magnetizada que facilitam sua recuperação (Çelik *et al.*, 2021).

Adicionalmente, *M. circinelloides* foi avaliado em estudos envolvendo a remoção de fármacos, como carbamazepina e diclofenaco, geralmente em consórcios fúngicos, nos quais demonstrou tolerância e capacidade parcial de degradação (Kasonga *et al.*, 2021). Embora esses resultados se refiram a linhagens específicas descritas na literatura, eles podem ser consistentes com o comportamento observado para isolados do gênero *Mucor* avaliados no presente estudo, especialmente no que se refere à tolerância metabólica e ao potencial de aplicação em sistemas biológicos de tratamento. No entanto, ressalta-se que diferenças intraespecíficas e entre isolados ambientais podem influenciar o desempenho observado.

De modo geral, os gêneros identificados apresentam boa capacidade de crescimento em diferentes substratos, e a variação morfológica observada entre os isolados evidencia a diversidade presente no grupo. Esse conjunto de características torna esses fungos relevantes para investigações futuras em bioprocessos

sustentáveis, especialmente após a avaliação de seus atributos metabólicos nas etapas posteriores desta pesquisa.

5.5 Testes enzimáticos

O potencial enzimático dos fungos selecionados, *Geotrichum* sp._FAR003 e FAR005, *Talaromyces* sp._FAR012, *Mucor* sp._FAR014 e *Mucor* sp._FAR018, foi avaliado por abordagens qualitativas e quantitativas. Inicialmente, a análise qualitativa foi realizada em placas de Petri, permitindo a detecção preliminar da atividade enzimática. Para a avaliação quantitativa, foram utilizados extratos enzimáticos dos isolados em conjunto com sondas fluorogênicas em um ensaio miniaturizado, possibilitando a mensuração precisa da atividade enzimática e a comparação entre os diferentes isolados.

5.5.1 Ensaio qualitativos em placa

A atividade de lacase foi verificada utilizando-se 1-naftol ou 2-naftol como substratos específicos. A detecção dessa enzima baseia-se na formação de um composto insolúvel e na alteração da coloração da solução, resultantes da clivagem e oxidação enzimática do substrato (Agrawal; Verma, 2020).

Para a triagem de celulase, utilizou-se o ensaio com vermelho do Congo. O corante fixa-se à celulose presente no meio após adição de NaOH ou HCl, e o ensaio positivo é identificado pelo halo claro decorrente da hidrólise da celulose em açúcares, os quais não interagem com o corante (Sarsaiya *et al.*, 2018).

Na prospecção de lipase, foi empregado o ensaio com rodamina B, baseado na formação de um complexo fluorescente alaranjado na presença de ácidos graxos, gerados pela clivagem enzimática dos grupos ésteres dos triacilgliceróis (Araujo *et al.*, 2022). A Tabela 3 sumariza os resultados dos ensaios qualitativos de atividade enzimática, revelando que os isolados fúngicos analisados manifestaram atividade para um mínimo de três classes de enzimas.

Todos os fungos testados apresentaram atividade celulolítica e lipolítica. Em relação à lacase, observou-se seletividade em *Geotrichum* sp._FAR005 e *Mucor* sp._FAR018, positivos apenas em um dos substratos (1 ou 2-naftol). Por outro lado,

Geotrichum sp._FAR003 e *Mucor* sp._FAR014 oxidaram ambos os isômeros, enquanto *Talaromyces* sp._FAR012 não indicou presença da enzima (Figura 26).

Tabela 3 – Testes enzimáticos qualitativos realizado com fungos, correspondendo (+) positivo, (-) negativo.

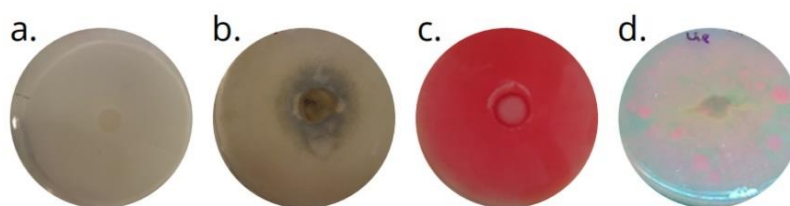
Fungos	Enzimas Testadas			
	Lipase	Celulase	Lacase (1-naftol)	Lacase (2-naftol)
<i>Geotrichum</i> sp._FAR003	+	+	+	+
<i>Geotrichum</i> sp._FAR005	+	+	+	-
<i>Talaromyces</i> sp._FAR012	+	+	-	-
<i>Mucor</i> sp._FAR014	+	+	+	+
<i>Mucor</i> sp._FAR018*	+	+	+	-

*Gênero sugerido pelas características macro e micromorfológicas – demanda de testes adicionais para confirmação.

Fonte: Autora (2025).

Entre os isolados, destacaram-se *Geotrichum* sp._FAR003 e *Mucor* sp._FAR014, que apresentaram maior tolerância nos testes de viabilidade celular, com desempenho superior em oito dos dez tratamentos.

Figura 26 – Testes enzimáticos em placas de Petri com resultados considerados positivos, em (a) lacase (2-naftol), (b) lacase (1-naftol), (c) celulase, (d) lipase.



Fonte: Autora (2025).

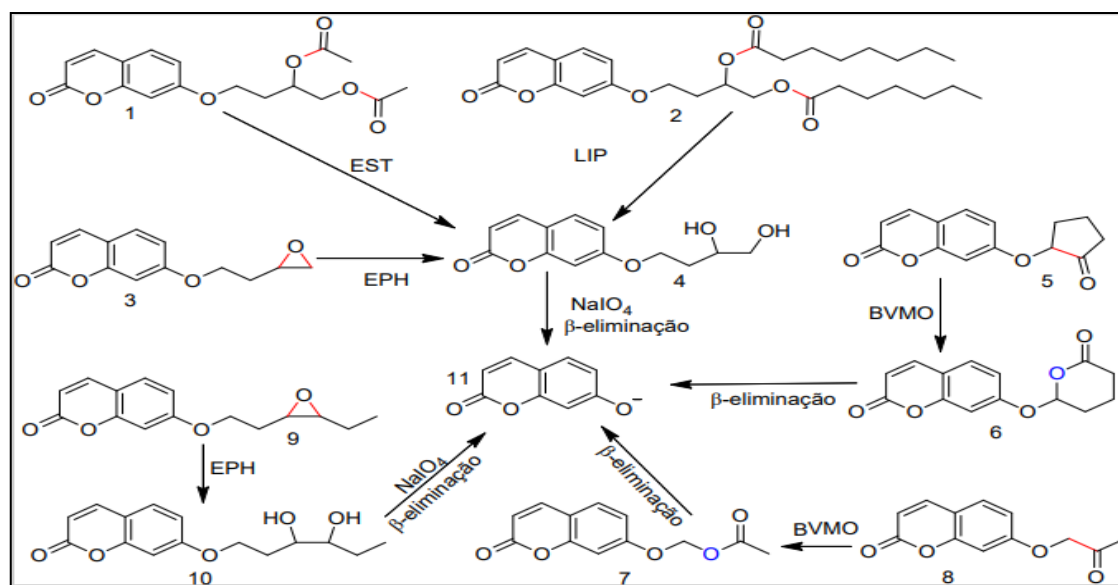
5.5.2 Triagem enzimática quantitativa

5.5.2.1 Ensaio HTS por sondas fluorogênicas

Os ensaios de triagem enzimática miniaturizados, utilizam-se sondas compostas por substratos não naturais, que permitem a mensuração da atividade

enzimática. Na presença das enzimas lipase, esterase e epóxido-hidrolases, as sondas LIP(2), EST(1) e EPH1(3) e EPH2(9) são submetidas a hidrólise, resultando na liberação de produtos específicos (Figura 27).

Figura 27 – Sondas fluorogênicas derivadas de umbeliferona para a triagem de hidrolases e monooxigenases.



Legenda: Esterase (EST); Lipase (LIP); Epóxido-hidrolase (EPH); Baeyer-Villiger monooxigenase (BVMO).
Sondas: (1) esterase; (2) lipase; (3) epóxido-hidrolase; (4) diol - produto das sondas 1 a 3; (5) monooxigenase cíclica; (6) lactona - produto da reação de Baeyer-Villiger da sonda 5; (7) éster - formado pela oxigenação da sonda 8; (8) monooxigenase acíclica; (9) epóxido vicinal; (10) diol - formado pela reação da epóxido-hidrolase sobre o composto 9.

Fonte: Autora (2025).

Posteriormente, os dióis formados são clivados por oxidação utilizando o periodato de sódio (NaIO₄) e, em uma ocorrência espontânea, ocorre β-eliminação promovida pelo BSA, resultando na liberação do ânion umbeliferona, que é o fluoróforo detectado durante a leitura. No caso das sondas BVMO1 (8) e BVMO2 (5), após a oxidação catalisada pela enzima, as cetonas e lactonas geradas também liberam o ânion umbeliferona por meio de β-eliminação mediada pelo BSA (Lima *et al.*, 2017; Silva, 2012; Chen, 2006).

No presente estudo, avaliou-se a atividade das enzimas hidrolíticas nas linhagens fúngicas selecionadas. A Tabela 4 apresenta os valores médios de unidade de fluorescência relativa (% de RFU) obtidos para as sondas enzimáticas ao longo de 24 horas de incubação, sendo selecionados os tempos de 1h, 6h, 12h e 24h. Os dados completos podem ser consultados no Apêndice D.

Tabela 4 – Médias ± desvios-padrão do perfil enzimático avaliado por sondas.

Fungos	Tempo em h	Enzimas testadas – valores expressos em % de RFU		
		EPH1	LIP1	EST1
<i>Geotrichum</i> sp. FAR003	1	1.43±0.65 ^{bcd}	0.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^d
	6	0.00±0.00 ^f	0.19±0.14 ^f	0.29±0.04 ^d
	12	0.01±0.03 ^f	0.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^d
	24	0.13±0.26 ^f	0.25±0.13 ^f	0.21±0.05 ^d
<i>Geotrichum</i> sp. FAR005	1	1.61±0.41 ^{bcd}	0.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^d
	6	0.00±0.00 ^f	0.58±0.17 ^f	0.28±0.04 ^d
	12	0.00±0.00 ^f	0.87±0.57 ^f	0.00±0.00 ^d
	24	0.11±0.22 ^f	3.86±1.23 ^f	0.25±0.06 ^d
<i>Talaromyces</i> sp. FAR012	1	1.99±0.71 ^{bc}	0.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^d
	6	0.00±0.00 ^f	0.19±0.06 ^f	0.18±0.01 ^d
	12	0.30±0.22 ^f	0.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^d
	24	0.72±0.69 ^{def}	0.00±0.00 ^f	0.50±0.03 ^d
<i>Mucor</i> sp. FAR014	1	3.26±0.10 ^a	0.03±0.06 ^f	0.00±0.00 ^d
	6	0.93±0.37 ^{cdef}	23.56±3.83 ^d	0.74±0.11 ^d
	12	2.03±0.37 ^b	60.37±5.26 ^b	1.95±0.18 ^c
	24	3.17±0.78 ^a	100.00±07 ^a	10.17±0.33 ^b
<i>Mucor</i> sp. FAR018	1	1.74±0.17 ^{bcd}	0.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^d
	6	0.00±0.00 ^f	15.13±1.10 ^e	0.76±0.10 ^d
	12	0.53±0.26 ^{ef}	33.62±2.28 ^c	2.51±0.27 ^c
	24	0.85±0.77 ^{def}	62.35±3.76 ^b	12.61±1.37 ^a
p–valor	Fungo	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
	Tempo	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
	Fungo*Tempo	0.0013	< 0.0001	< 0.0001

Legenda: Esterase - EST; Lipase - LIP; Epóxido-hidrolase – EPH.

Nota: Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas entre os grupos experimentais.

Fonte: Autora (2025).

Entre as enzimas avaliadas, EPH2, BVMO1 e BVMO2 permaneceram com atividade indetectável em todas as condições experimentais, enquanto EPH1, LIP1 e EST1 apresentaram respostas diferenciadas entre as linhagens, evidenciando perfis enzimáticos distintos e dependentes do tempo.

A análise permitiu agrupar os resultados em faixas crescentes de atividade. As linhagens *Geotrichum* sp. (FAR003 e FAR005) e *Talaromyces* sp. (FAR012) apresentaram atividades predominantemente na faixa 0-2% de RFU, caracterizando padrão basal. Em contraste, os isolados do gênero *Mucor* (FAR014 e FAR018) mostraram forte indução, e atingiram faixas superiores de 60-100% para LIP1 e acima de 10% para EST1 em 24 horas.

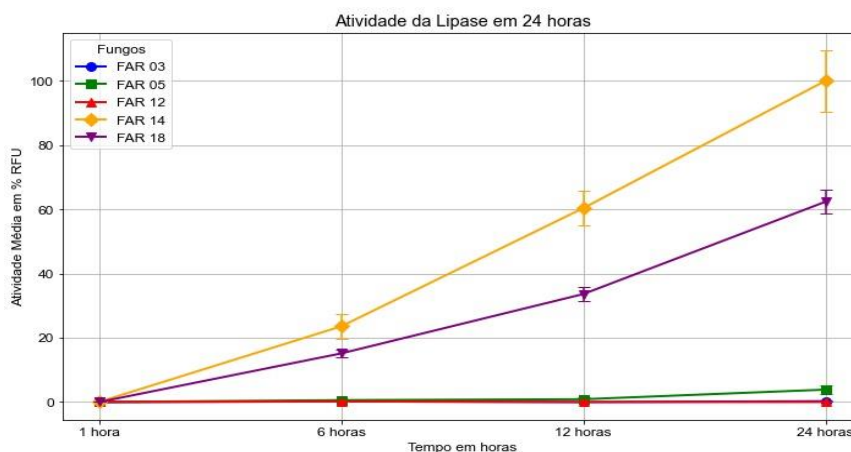
Estatisticamente, as sondas EPH1 e LIP1 apresentaram diferenças significativas entre os grupos experimentais, quando consideradas as interações entre

os fungos e tempos ($p < 0,05$). Foi verificado que para a EPH1, os maiores valores de atividade foram observados quando expostos ao fungo *Mucor* sp._FAR014 ($F_4 = 62,54$; $p < 0,0001$), apresentando atividade em todos os tempos analisados, com uma taxa de conversão de 3,26% na primeira hora de reação, com máximo de 3,17% em 24h ($F_{4, 12} = 3,229$; $p = 0,0013$). Os fungos *Geotrichum* sp._FAR003, *Geotrichum* sp._FAR005, *Talaromyces* sp._FAR012 e *Mucor* sp._FAR018 apresentaram uma fraca atividade para a epóxido-hidrolase1, com valores de conversão da sonda EPH1 em todos os tempos de reação inferior a 2%.

No entanto, na triagem enzimática por sondas fluorogênicas e considerando o limite de detecção da técnica, determinou-se que a atividade dos isolados que apresentaram conversão das sondas em produto igual ou superior a 5% indicava produção detectável de cada enzima testada (Lima *et al.*, 2017; Silva, 2012). Com base nesse critério, os cinco fungos avaliados apresentaram baixa atividade para as enzimas analisadas, o que limita seu potencial biocatalítico aplicado em processos que dependem desse repertório enzimático específico. Nesses casos, a significância estatística observada reflete variações metabólicas entre os isolados, não sendo interpretada como evidência de atividade biocatalítica funcional relevante no contexto aplicado, mas sim como uma hipótese exploratória, indicando diferenças no metabolismo enzimático basal entre as linhagens avaliadas.

Quanto à Lipase, as atividades mais expressivas foram observadas em *Mucor* sp._FAR014 e *Mucor* sp._FAR018 ($F_4 = 929,73$; $p < 0,0001$) (Figura 28).

Figura 28 – Gráfico temporal da atividade da enzima Lipase nas cinco linhagens fúngicas avaliadas.

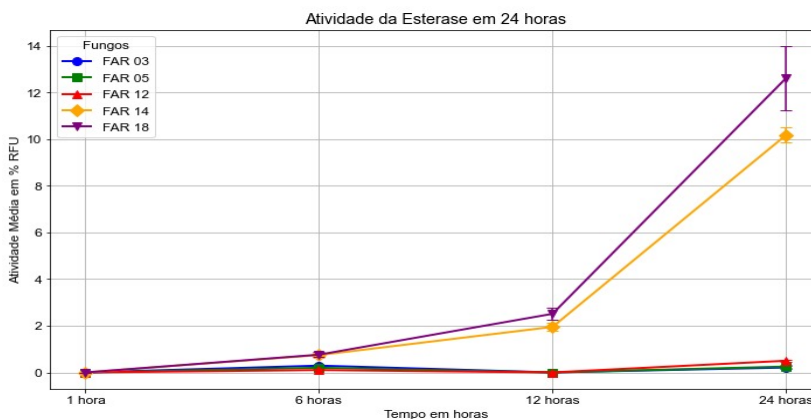


Fonte: Autora (2025).

Estes apresentaram crescimento da atividade enzimática ao longo do tempo ($F_3 = 556,81$; $p < 0,0001$), sendo que a exposição ao *Mucor* sp._FAR014 (com uma taxa de conversão de 100% em 24h), gerou maior atividade quando comparado à exposição ao *Mucor* sp._FAR018 que atingiu 62,35% em 24h de reação ($F_{4,12} = 215,38$; $p < 0,0001$), enquanto os demais fungos não atingiram o limite de 5% de conversão considerado significativo.

Por fim, em relação à sonda EST, a atividade enzimática foi praticamente ausente ao ser exposta aos fungos *Geotrichum* sp._FAR003, *Geotrichum* sp._FAR005 e *Talaromyces* sp._FAR012 com taxas de conversão inferiores a 1% para esterase, mas com respostas significativas em relação aos fungos *Mucor* sp._FAR014 e *Mucor* sp._FAR018 ($F_4 = 544,63$; $p < 0,0001$) (Figura 29). Estes apresentaram crescimento da atividade enzimática ao longo do tempo ($F_3 = 890,53$; $p < 0,0001$), sendo que a exposição ao *Mucor* sp._FAR018 (taxa de conversão de 12,61%) gerou maior atividade quando comparado à exposição ao *Mucor* sp._FAR014 (máximo de conversão de 10,17%), especialmente no último tempo experimental que corresponde a 24 h de reação ($F_{4,12} = 305,91$; $p < 0,0001$; Figura 29).

Figura 29 – Gráfico temporal da atividade da enzima Esterase nas cinco linhagens fúngicas avaliadas.



Fonte: Autora (2025).

Em análise dos resultados obtidos nos ensaios HTS com sondas aplicadas aos fungos avaliados, observaram-se diferenças marcantes entre os gêneros. As atividades de esterase, epóxido-hidrolase e lipase permaneceram abaixo de 2% de RFU em *Geotrichum* sp. (FAR003; FAR005) e *Talaromyces* sp._FAR012, valores

compatíveis com o nível basal do ensaio. Embora discretas, essas respostas hidrolíticas não são irrelevantes, pois tais enzimas podem atuar como catalisadores de etapas preparatórias da biotransformação, introduzindo alterações estruturais que facilitam processos oxidativos subsequentes (Ningombam *et al.*, 2025; Arun *et al.*, 2023).

Em contraste, os *Mucor* sp. (FAR014 e FAR018) apresentaram os maiores níveis de conversão no painel hidrolítico, com lipase variando entre 60-100% de RFU e esterase próxima de 10%. Esse padrão indica um sistema enzimático mais dinâmico e com maior capacidade de hidrólise, sugerindo contribuição diferenciada desse gênero nas fases iniciais da transformação de compostos orgânicos. Tal comportamento é coerente com o que se conhece sobre espécies de *Mucor*, amplamente reconhecidas pelo expressivo potencial lipolítico e aplicação consolidada em biocatálise (Tahiri *et al.*, 2023; Richardson; Rautemaa-Richardson, 2019; Fazili *et al.*, 2022).

5.5.2.2 Ensaio por extrato enzimático quantitativo

A degradação de biomassa lignocelulósica por fungos filamentosos é mediada majoritariamente por enzimas oxidativas, como lacases (Lac), lignina peroxidase (LiP) e manganês peroxidase (MnP). Essas enzimas são fundamentais na decomposição da lignina, favorecendo o acesso às frações estruturais (celulose e hemicelulose) e ampliando o potencial biotecnológico desses microrganismos, essenciais para aplicações biotecnológicas, sobretudo em processos de biorremediação e produção de biocombustíveis (Rani *et al.*, 2024; Chmelová *et al.*, 2024).

A Tabela 5 apresenta os resultados consolidados para os ensaios realizados com extrato enzimático para a avaliação das oxidases extracelulares produzidas pelos fungos selecionados no processo de fermentação em estado sólido (FES) utilizando palha de arroz como substrato. A palha de arroz foi selecionada por ser um resíduo agrícola rico em lignocelulose, o que a torna um substrato ideal para a produção de enzimas ligninolíticas (Araujo *et al.*, 2022).

Para lacase, utilizou-se o ABTS como substrato; para a lignina peroxidase, o substrato foi o álcool veratrílico; e para a manganês peroxidase, o substrato consistiu no tampão malonato contendo Mn^{3+} . A atividade enzimática foi medida em unidades

por litro (U·L⁻¹) e monitorada ao longo de 30 dias. Os dados foram coletados para cada fungo e enzima, permitindo a análise da variação da atividade enzimática ao longo do tempo (Figura 30).

Tabela 5 – Médias ± desvios-padrão dos valores de absorvância para enzimas extracelulares em relação aos testes com fungos.

Fungos	Tempo	Enzimas – U·L ⁻¹		
		Lacase	Lignina Peroxidase	Manganês Peroxidase
FAR003 <i>Geotrichum</i> sp.	1 dia	0.00±0.00 ⁱ	0.00±0.00 ^l	0.00±0.00 ^h
	7 dias	4.19±0.94 ^g	36.56±10.64 ^{ijk}	9.32±0.43 ^{efg}
	15 dias	5.28±0.34 ^{fg}	123.70±7.06 ^{de}	2.70±0.51 ^{gh}
	30 dias	0.00±0.00 ⁱ	180.76±14.70 ^{bc}	0.00±0.00 ^h
FAR005 <i>Geotrichum</i> sp.	1 dia	1.68±0.21 ^h	91.11±10.04 ^{efg}	54.10±6.52 ^a
	7 dias	10.51±0.93 ^b	157.29±17.41 ^{cd}	12.85±2.00 ^{def}
	15 dias	1.62±0.21 ^h	26.52±2.77 ^{kl}	27.46±1.36 ^c
	30 dias	8.88±0.31 ^{cd}	85.66±4.30 ^{fgh}	5.58±1.00 ^{gh}
FAR012 <i>Talaromyces</i> sp.	1 dia	0.00±0.00 ⁱ	16.27±1.40 ^{kl}	36.44±6.54 ^b
	7 dias	0.00±0.00 ⁱ	209.44±7.12 ^b	7.55±0.61 ^{efg}
	15 dias	0.00±0.00 ⁱ	5.16±1.14 ^{kl}	16.77±3.06 ^d
	30 dias	6.38±0.47 ^{ef}	20.07±0.97 ^{kl}	0.00±0.00 ^h
FAR014 <i>Mucor</i> sp.	1 dia	12.26±0.45 ^a	37.35±2.84 ^{ijk}	24.22±1.81 ^c
	7 dias	0.00±0.00 ⁱ	104.13±14.98 ^{ef}	0.00±0.00 ^h
	15 dias	0.00±0.00 ⁱ	253.18±21.90 ^a	0.00±0.00 ^h
	30 dias	6.16±0.12 ^{ef}	51.68±0.66 ^{hij}	6.73±1.08 ^{fgh}
FAR018 <i>Mucor</i> sp.	1 dia	1.84±0.28 ^h	66.02±4.09 ^{ghi}	13.98±0.85 ^{de}
	7 dias	8.50±0.24 ^d	189.79±1.61 ^{bc}	0.00±0.00 ^h
	15 dias	10.13±1.51 ^{bc}	276.94±22.40 ^a	0.00±0.00 ^h
	30 dias	7.76±0.71 ^{de}	272.40±23.10 ^a	3.80±0.15 ^{gh}
p-valor	Fungos	<0.0001	<0.0001	<0.0001
	Tempo	<0.0001	<0.0001	<0.0001
	Fungos*Tempo	<0.0001	<0.0001	<0.0001

Legenda: U·L⁻¹ (unidade por litro).

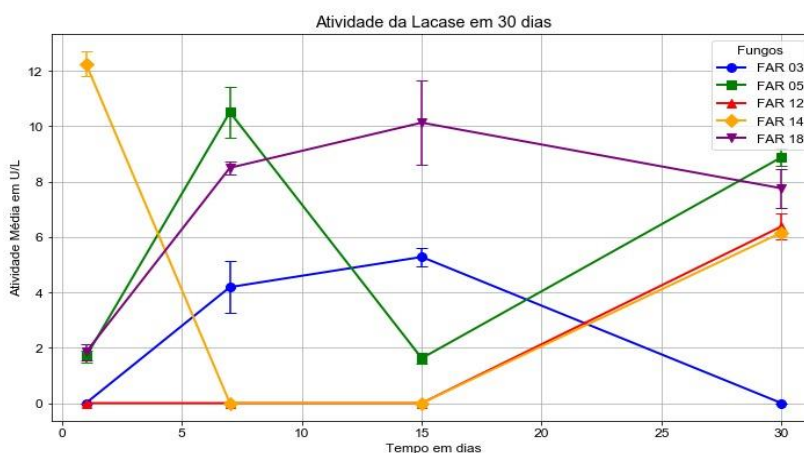
Nota: Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas entre os grupos experimentais.

Fonte: Autora (2025).

Considerando as faixas de atividade, a lacase apresentou valores baixos (0-5 U·L⁻¹) para a maioria dos isolados nas primeiras 24 horas, caracterizando atividade basal inicial. A partir de 7 dias, alguns fungos migraram para faixas moderadas (5-12 U·L⁻¹), com destaque para *Geotrichum* sp._FAR005 (10,51 U·L⁻¹) e *Mucor* sp._FAR018, que manteve produção entre 7 e 10 U·L⁻¹ ao longo do cultivo.

Entre as linhagens avaliadas, *Mucor* sp._FAR014 apresentou a maior média de produção enzimática já nas primeiras 24 horas de incubação, atingindo valores superiores a 12 U·L⁻¹ (12,26 U·L⁻¹), seguida por queda acentuada nos dias subsequentes e novo patamar de atividade aos 30 dias (6,16 U·L⁻¹), evidenciando rápida indução da produção enzimática no início do cultivo.

Figura 30 – Gráfico de tendência dos valores de absorbância da atividade enzimática da Lacase em relação a exposição aos fungos no período de 30 dias.



Fonte: Autora (2025).

Para *Mucor* sp._FAR018, verificou-se aumento gradual entre o 10^o e o 15^o dia, atingindo 10,13 U·L⁻¹, com manutenção de valores até o final do experimento; padrão semelhante foi observado para *Geotrichum* sp._FAR003, cujo pico (5,28 U·L⁻¹) ocorreu aos 15 dias de incubação, o que pode estar associado ao acúmulo progressivo de metabólitos secundários capazes de estimular a produção enzimática.

Esse conjunto de padrões temporais é coerente com os resultados da análise estatística, que demonstrou diferenças significativas entre os fungos ($F_4 = 229,54$; $p < 0,0001$), entre os tempos de incubação ($F_3 = 84,93$; $p < 0,0001$) e na interação fungos e tempos ($F_{12, 40} = 221,93$; $p < 0,0001$), indicando que tanto a identidade do isolado quanto o período de cultivo influenciam diretamente a magnitude e o momento dos picos enzimáticos. De modo geral, a maioria das linhagens atingiu seus picos de atividade por volta do 15^o dia, seguido por declínio gradual, comportamento associado ao consumo dos fenóis derivados da palha de arroz, que atuam como indutores da expressão de lacases (Hussaan *et al.*, 2021; Ali *et al.*, 2019).

Os resultados obtidos com ABTS mostraram correlação direta com os testes

em placa, uma vez que os isolados positivos para naftol também expressaram atividade medida no extrato enzimático. Entre eles, *Geotrichum* sp._FAR005 destacou-se pela seletividade para oxidação da posição α (1-naftol), refletida na produção de $10,51 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$ aos 7 dias e manutenção da atividade aos 30 dias ($8,88 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$).

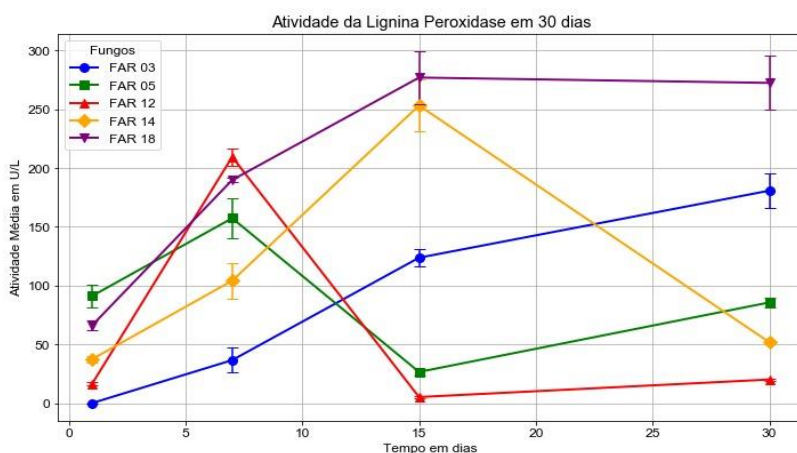
Em contraste, *Talaromyces* sp._FAR012 apresentou comportamento inconclusivo nos testes em placa e baixa produção ($6,38 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$) aos 30 dias de incubação. Enquanto, *Geotrichum* sp._FAR003 exibiu pico modesto aos 15 dias ($5,28 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$), indicando menor capacidade de indução da via ligninolítica. Assim, *Geotrichum* sp._FAR003 e *Talaromyces* sp._FAR012 configuram o grupo de menor desempenho, enquanto *Geotrichum* sp._FAR005 e as linhagens de *Mucor* sp. (FAR014 e FAR018), demonstram maior potencial para a atividade de lacase, evidenciando relevância diferenciada entre os isolados avaliados.

A lignina peroxidase apresentou o perfil mais robusto entre as enzimas avaliadas, distribuindo-se claramente em faixas de atividade ao longo do experimento (Tabela 5). Nas primeiras 24 horas, a maioria dos isolados situou-se na faixa baixa a moderada ($0\text{-}100 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$), com exceção de *Geotrichum* sp._FAR005 e *Mucor* sp._FAR018, que exibiram valores iniciais elevados de $91,11 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$ e $66,02 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$, respectivamente (Figura 31).

A partir de 7 dias, vários isolados migraram para a faixa moderada a alta ($100\text{-}200 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$), incluindo *Talaromyces* sp._FAR012 ($209,44 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$), *Mucor* sp._FAR014 ($104,13 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$) e novamente *Mucor* sp._FAR018 ($189,79 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$). Entre 15 e 30 dias, observaram-se as maiores atividades registradas ($>200 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$), principalmente para *Mucor* sp._FAR014 ($253,18 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$) e *Mucor* sp._FAR018 ($276,94 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$ aos 15 dias; $272,40 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$ aos 30 dias).

A distribuição desses valores nas faixas é coerente com os resultados da análise estatística, que demonstraram diferenças significativas entre os fungos ($F_4 = 17,04$; $p < 0,0001$), os tempos experimentais ($F_3 = 9,13$; $p < 0,0001$) e a interação entre fungos e tempos ($F_{12,40} = 8,84$; $p < 0,0001$). Esses resultados confirmam que tanto a identidade do isolado quanto a duração da incubação influenciaram de forma decisiva a magnitude e o momento dos picos enzimáticos, ou seja, cada linhagem respondeu de maneira particular ao longo do cultivo, revelando perfis cinéticos distintos.

Figura 31 – Gráfico de tendência dos valores de absorbância da atividade enzimática da Lignina Peroxidase em relação a exposição aos fungos no período de 30 dias.



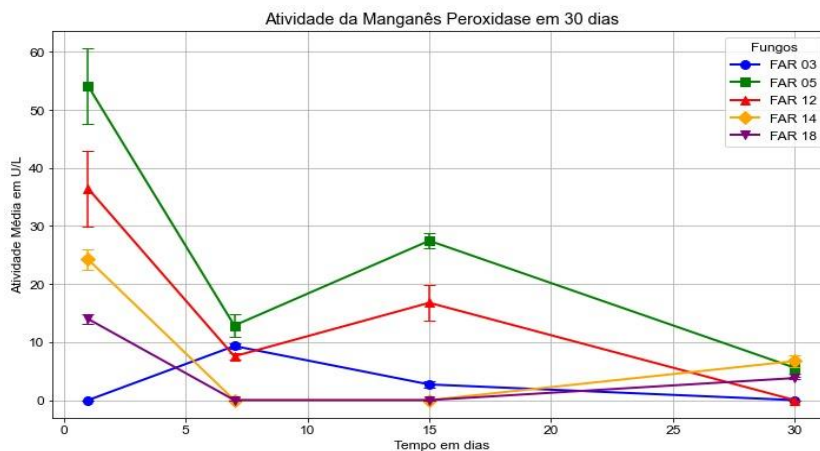
Fonte: Autora (2025).

O isolado *Geotrichum* sp._FAR003 permaneceu na faixa baixa nas primeiras 24 h ($0 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$), avançando progressivamente para $36,56 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$ (7 dias), $123,70 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$ (15 dias) e $180,76 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$ (30 dias), caracterizando indução lenta e tardia. *Geotrichum* sp._FAR005, ao contrário, situou-se desde o início em faixa moderada a alta, com $91,11 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$ nas 24 h e pico em $157,29 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$ aos 7 dias.

Talaromyces sp._FAR012 exibiu pico precoce ($209,44 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$ aos 7 dias), não mantendo níveis elevados nos dias seguintes. *Mucor* sp._FAR014 apresentou valores moderados aos 7 dias ($104,13 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$), mas atingiu seu máximo aos 15 dias ($253,18 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$), revelando uma indução mais tardia. Enquanto *Mucor* sp._FAR018 foi o isolado com melhor desempenho geral, apresentando atividade elevada desde o início ($66,02 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$), um pico expressivo aos 15 dias ($276,94 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$) e manutenção de altos valores após 30 dias ($272,40 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$), configurando o perfil mais estável entre as linhagens avaliadas.

Por fim, em relação a manganês peroxidase, observou-se distribuição clara em faixas de desempenho, com maior variação nas primeiras 24 horas (Tabela 5, Figura 32). Nesse período, *Geotrichum* sp._FAR003 permaneceu na faixa baixa ($0\text{-}10 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$), enquanto *Talaromyces* sp._FAR012 ($36,44 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$), *Mucor* sp._FAR014 ($24,22 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$) e *Mucor* sp._FAR018 ($13,98 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$) situaram-se na faixa moderada ($10\text{-}40 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$). *Geotrichum* sp._FAR005 destacou-se na faixa alta ($>40 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$), com $54,10 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$, evidenciando o melhor desempenho inicial entre os isolados.

Figura 32 – Gráfico de tendência dos valores de absorbância da atividade enzimática da Manganês Peroxidase em relação a exposição aos fungos no período de 30 dias.



Fonte: Autora (2025).

Aos 7 dias, todas as linhagens permaneceram em faixas baixa a moderada, incluindo *Geotrichum* sp._FAR003 (9,32 U·L⁻¹), *Geotrichum* sp._FAR005 (12,85 U·L⁻¹) e *Talaromyces* sp._FAR012 (7,55 U·L⁻¹), enquanto *Mucor* sp. (FAR014 e FAR018) não apresentaram atividade mensurável nesse período. Entre 15 e 30 dias, a MnP manteve predominantemente valores na faixa baixa, com destaque para *Geotrichum* sp._FAR005, que atingiu 27,46 U·L⁻¹ aos 15 dias, o único isolado a apresentar atividade moderada nesse intervalo. *Mucor* sp._FAR014 (6,73 U·L⁻¹) e *Mucor* sp._FAR018 (3,80 U·L⁻¹) mantiveram níveis reduzidos aos 30 dias, indicando que a MnP apresenta uma resposta inicial mais acentuada, seguida de declínio progressivo.

Esses padrões são reforçados pela análise estatística, que evidenciou diferenças significativas entre as diferentes exposições aos fungos ($F_4 = 184,6$; $p < 0,0001$), tempos experimentais ($F_3 = 284,59$; $p < 0,0001$) e a interação entre fungos e tempos ($F_{12, 40} = 54,44$; $p < 0,0001$), demonstrando que a atividade da MnP é fortemente dependente da linhagem e do tempo de incubação.

No desempenho individual, *Geotrichum* sp._FAR003 apresentou a menor expressão enzimática ao longo de todo o experimento; *Geotrichum* sp._FAR005 destacou-se pela maior atividade inicial; e *Talaromyces* sp._FAR012, *Mucor* sp._FAR014 e *Mucor* sp._FAR018 exibiram perfil intermediário, com atividades mais expressivas apenas no primeiro dia. Em síntese, a MnP teve papel mais relevante nas

etapas iniciais do cultivo, apresentando menor estabilidade e menor amplitude temporal em comparação à lacase e à lignina peroxidase

A análise dos resultados apresentados na Tabela 5 evidencia que o uso da palha de arroz como substrato lignocelulósico favoreceu principalmente a produção das enzimas lignina peroxidase (LiP) e manganês peroxidase (MnP), em comparação à lacase (Lac). Os fungos avaliados demonstraram atividade para as três enzimas, indicando a capacidade de metabolizar os componentes estruturais da palha de arroz e utilizá-los como fonte de carbono e energia. Em conjunto, esses dados sugerem a atuação de um sistema ligninolítico funcional, capaz de promover a degradação dos constituintes da lignocelulose, com destaque para a maior amplitude e intensidade da expressão de LiP, que se sobressaiu em relação às demais enzimas ao longo do período de incubação.

Esses resultados podem ter sido influenciados não apenas pelo substrato utilizado, mas também por fatores ambientais, como pH e temperatura (Rueda *et al.*, 2020; Kumar *et al.*, 2022). Outro aspecto relevante, conforme destacado por Debnath e Saha (2020), é a necessidade de uma relação carbono/nitrogênio (C/N) adequada ao longo de todo o processo fermentativo para otimizar a produção enzimática. Caso essa relação não seja equilibrada, a atividade enzimática pode ser prejudicada, tornando necessária a suplementação do meio. O carbono, presente nos substratos, é fundamental para o crescimento celular e como fonte de energia, enquanto o nitrogênio, segundo nutriente mais abundante no meio de fermentação, é crucial para a síntese de compostos celulares, como aminoácidos e purinas (Suryadi *et al.*, 2022).

O estudo de Rueda e colaboradores (2020) verificou um aumento significativo na produção enzimática do fungo *Dictyopanus* sp. LMB4 após a adição de indutores, como o Cu^{2+} (0,5 mM), e o ajuste da relação C/N no meio de cultivo. Inicialmente, sem esses ajustes, a produção de LiP atingiu um valor máximo de $22,3 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$ após 30 dias de cultivo. No entanto, ao modificar as condições do meio, incluindo a adição do indutor e a otimização da relação C/N, a produção de LiP aumentou substancialmente, alcançando $267,6 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$. Em contrapartida, não foi observada atividade de MnP nas condições testadas. Esses resultados reforçam que ajustes ambientais e nutricionais podem potencializar a produção de enzimas específicas em cultivos fúngicos (Rueda *et al.*, 2020; Song *et al.*, 2022).

Neste estudo, não foram utilizados indutores nem realizado o ajuste da

relação C/N no meio fermentativo para a produção enzimática. No entanto, os resultados obtidos revelaram que, em relação à Lac, os melhores desempenhos foram observados nos fungos *Geotrichum* sp._FAR005, *Mucor* sp._FAR014 e *Mucor* sp._FAR018, com atividades enzimáticas de 10,51 U·L⁻¹ (168h), 12,26 U·L⁻¹ (24h) e 10,13 U·L⁻¹ (360h) respectivamente. Para a LiP, todos os fungos avaliados apresentaram boa produção enzimática, com destaque para picos elevados aos sete dias de produção nas linhagens *Geotrichum* sp._FAR005 (157,29 U·L⁻¹), *Talaromyces* sp._FAR012 (209,44 U·L⁻¹) e *Mucor* sp._FAR014 (253,44 U·L⁻¹).

Quanto à MnP, o melhor resultado foi obtido por *Geotrichum* sp._FAR005 em 24h de reação, com atividade de 54,10 U·L⁻¹. Dessa forma, a análise dos resultados indica que os fungos avaliados apresentam potencial biotecnológico para aplicação de oxidases. No entanto, recomenda-se a realização de estudos de otimização para maximizar a produção enzimática.

Nesse contexto, a utilização de substratos alternativos, especialmente resíduos agroindustriais como a palha de arroz, configura-se como uma estratégia eficiente e ambientalmente sustentável para a produção de enzimas de interesse biotecnológico. Além de reduzir o impacto ambiental associado ao descarte inadequado desses resíduos, sua aplicação como fonte de carbono favorece a síntese de enzimas ligninolíticas (Khaswal *et al.*, 2024; Rani *et al.*, 2024). Evidências adicionais indicam que essa abordagem também contribui para ganhos econômicos e para a valorização da biomassa residual no âmbito da economia circular biológica, na qual resíduos agrícolas são reinseridos como insumos industriais estratégicos (Dhiman *et al.*, 2024; Araujo *et al.*, 2022; Grewal *et al.*, 2022; Matei *et al.*, 2021).

Os resultados obtidos neste estudo reforçam essa tendência, demonstrando que a utilização da palha de arroz como substrato favoreceu a expressão de LiP e MnP em todas as linhagens avaliadas, ainda que com perfis distintos entre si. Achados semelhantes são relatados em investigações sobre o potencial de resíduos lignocelulósicos para estimular a produção de enzimas aplicáveis em biocatálise e biorremediação (Perez-Contreras *et al.*, 2024; Benavides *et al.*, 2024).

Além disso, o fato de os gêneros *Geotrichum*, *Talaromyces* e *Mucor* terem sido isolados diretamente do sedimento do riacho é coerente com evidências da literatura que relatam a ocorrência desses mesmos grupos em ambientes aquáticos naturais e antrópicos, frequentemente associados a processos de decomposição

orgânica e produção de enzimas oxidativas e hidrolíticas. Isolados de *Geotrichum candidum* foram descritos em efluentes industriais e águas residuárias com produção de oxidases e hidrolases (Shintani *et al.*, 2002; Peil *et al.*, 2016).

Espécies de *Talaromyces* foram isoladas de águas residuárias têxteis e lodos ativados, com produção de LiP, MnP, lacase e enzimas celulolíticas (Zhang *et al.*, 2021; Egbewale *et al.*, 2023; Egbewale *et al.*, 2025). Enquanto *Mucor circinelloides* é amplamente relatado em ambientes aquáticos contaminados e sedimentos, com capacidades hidrolíticas e oxidativas relevantes, como mostrado por Marchut-Mikołajczyk *et al.*, (2015), Yehia (2023) e Ma *et al.*, (2025). Em conjunto, essas evidências fortalecem a interpretação de que os isolados avaliados neste estudo apresentam potencial metabólico coerente com suas ecologias naturais.

Embora todas as linhagens tenham produzido enzimas extracelulares, os valores observados foram inferiores aos relatados para cepas industriais, altamente adaptadas e cultivadas sob condições fortemente otimizadas. Essa diferença é esperada, visto que os fungos deste estudo são isolados de um riacho e não passaram por pré-tratamentos de substrato, suplementação ou melhoramento genético, fatores amplamente reconhecidos por elevar os rendimentos enzimáticos (Benavides *et al.*, 2024; Sajjad *et al.*, 2025). Assim, as atividades detectadas refletem o potencial genuíno dessas linhagens, evidenciando seu metabolismo natural em condições ambientais reais.

Além das enzimas extracelulares avaliadas, é importante considerar que a tolerância e degradação de fármacos por fungos podem envolver mecanismos intracelulares. De fato, trabalhos recentes demonstram que fungos filamentosos empregam monooxigenases do sistema P450, bem como sistemas de transporte celular e enzimas conjugadoras para transformar e detoxificar compostos farmacêuticos e outros poluentes persistentes (Khan *et al.*, 2023; Arun *et al.*, 2023; Chakraborty *et al.*, 2025). Essa via intracelular atua de forma sinérgica com as ligninases extracelulares, contribuindo tanto para a modificação inicial quanto para a metabolização final dos contaminantes (Ningombam *et al.*, 2025). A combinação dessas vias intra e extracelulares ajudam a explicar a versatilidade metabólica observada nos isolados, reforçando que os valores enzimáticos obtidos representam apenas uma fração do potencial biocatalítico dessas linhagens.

Nesse contexto, os padrões de atividade detectados revelam a presença de um

conjunto amplo de enzimas em microrganismos oriundos de ambientes ainda pouco explorados. Considerando que os fungos são fontes reconhecidas de lipases, esterases, hidrolases, oxidases e peroxidases, o *screening* realizado revelou novas fontes microbianas com propriedades catalíticas relevantes para aplicações biotecnológicas.

De modo geral, *Mucor* sp._FAR014 e *Mucor* sp._FAR018 apresentaram os maiores desempenhos para LiP e MnP, enquanto *Geotrichum* sp._FAR005 destacou-se pela seletividade oxidativa. Esses resultados reforçam o potencial dessas linhagens para aplicações em biorremediação, síntese verde e processos industriais dependentes de biocatalisadores específicos.

Por fim, ressalta-se a necessidade de estudos adicionais de otimização envolvendo condições ambientais, suplementação nutricional e uso de indutores, conforme sugerem Rueda *et al.*, (2020) e Song *et al.*, (2022). A integração entre triagens enzimáticas e configurações fermentativas otimizadas configura-se como estratégia essencial para ampliar a aplicação industrial e ambiental desses microrganismos, consolidando-os como fontes promissoras de biocatalisadores.

5.6 Biodegradação do Ibuprofeno por fungos filamentosos

5.6.1 Relevância do Ibuprofeno em estudos de biodegradação

A seleção do ibuprofeno é justificada por ser um contaminante emergente de ampla recorrência nos corpos hídricos. Este composto anti-inflamatório não esteroide (AINE), possui venda livre em muitos países e, portanto, é amplamente utilizado no tratamento e auxílio de diversas doenças, essencialmente para controle de dor e febre (Aguilar-Romero *et al.*, 2024; Peng *et al.*, 2024; Ratnasari *et al.*, 2024). No Brasil, é um dos fármacos mais utilizados por automedicação, por apresentar baixo custo e fácil acesso (De Oliveira; Carvalho; De Andrade, 2023; Arrais *et al.*, 2016).

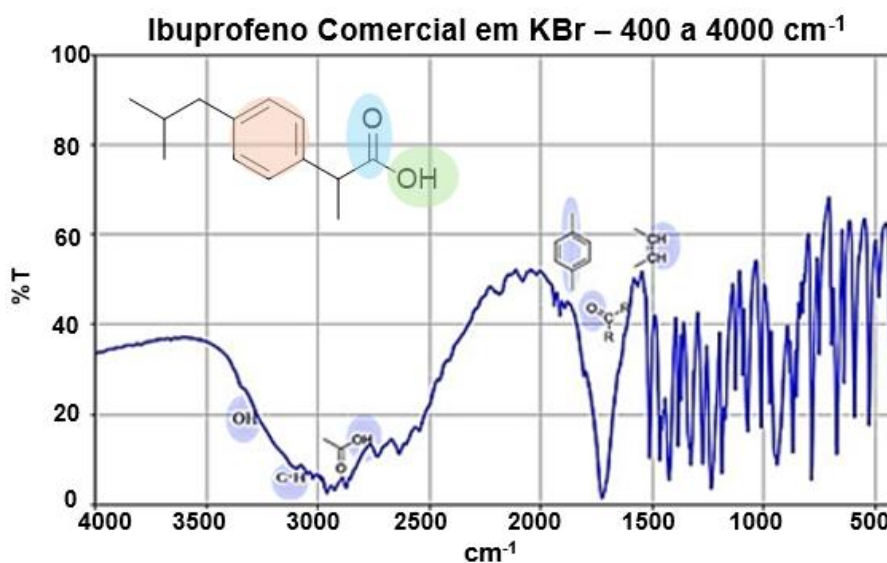
De acordo com dados da *Straits Research* (2025), o mercado global de ibuprofeno atingiu US\$ 1,46 bilhão em 2024 e apresenta projeção de crescimento, estimando-se um aumento de US\$ 1,5 bilhão em 2025 para US\$ 1,8 bilhão até 2033. No entanto, o elevado consumo global, aliado à sua excreção por urina e fezes e ao descarte inadequado, tem contribuído para sua presença recorrente em corpos

hídricos e sedimentos. Essa ampla disseminação ambiental pode comprometer o equilíbrio ecológico e representar potenciais riscos à saúde humana (Malvar *et al.*, 2019; Grabarczyk *et al.*, 2020; Jia *et al.*, 2020; Sánchez-Aceves *et al.*, 2021; Piechocka *et al.*, 2023; Hinzke *et al.*, 2025).

5.6.2 Controle de qualidade do fármaco Ibuprofeno

Ao analisar o fármaco comercial ibuprofeno, observa-se, conforme descrito na Farmacopeia, tratar-se de um pó branco amorfo. A temperatura de fusão determinada para a amostra foi de 73,5 °C a 74,3 °C, inferior ao intervalo especificado, que varia de 75 °C a 78 °C (ANVISA, 2019). No espectro de infravermelho (IV), observa-se uma banda alargada na região de 3300 cm^{-1} , característica do estiramento O-H de ácidos carboxílicos fortemente associados por ligações de hidrogênio, compatível com a estrutura do ibuprofeno e não indicativa de hidroxila livre, presença de água ou degradação do fármaco (Pavia *et al.*, 2015). Adicionalmente, a presença de uma banda forte e estreita em aproximadamente 1700 cm^{-1} , atribuída ao estiramento C=O do grupo carboxílico, confirma a integridade estrutural do composto (Figura 33).

Figura 33 – Espectros de IV para o fármaco ibuprofeno comercial, com destaque para os grupos funcionais identificados.



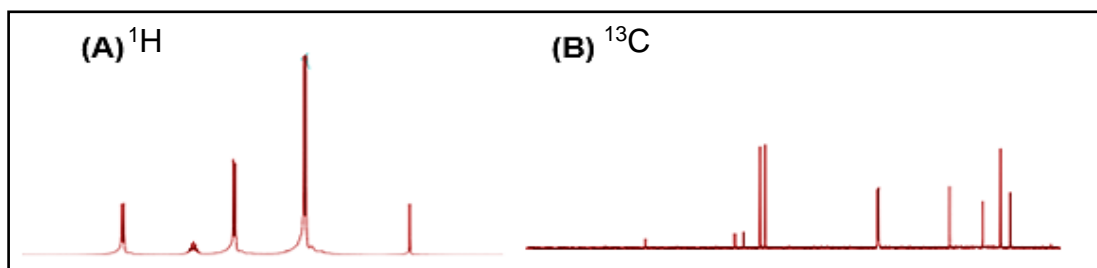
Fonte: Autora (2025).

A banda característica do álcool do ácido carboxílico é identificada na região de 2800 cm^{-1} . Além disso, estiramento de baixa intensidade entre 3000-3200 cm^{-1} são compatíveis com as vibrações de estiramento das ligações C-H e pelas vibrações de deformação na região de 1300 a 1000 cm^{-1} .

Na região de 2000 cm^{-1} , detecta-se um sinal fraco associado ao anel aromático *para* substituído, enquanto a banda em torno de 1500 cm^{-1} corresponde ao estiramento das ligações C=C do anel benzênico (Pavia *et al.*, 2015). Ademais, os espectros obtidos são consistentes com aqueles reportados na literatura (Andrioli *et al.*, 2014; Garrigues; Gallignani; Delaguardia, 1993).

Foram obtidos também os espectros de RMN de ^1H (Figura 34 A) e ^{13}C (Figura 34 B), os quais permitiram confirmar a identidade estrutural do fármaco e a ausência de impurezas orgânicas relevantes detectáveis por essas técnicas.

Figura 34 – Em (A), espectro de ^1H obtidos em CDCl_3 , com 8 scans, em 400 MHz e (B) espectro de ^{13}C obtidos em CDCl_3 , em 100 MHz (Bruker® AVANCE I).



Fonte: Autora (2025).

A tabela 6 apresenta os dados espectrais de ^1H para a amostra de ibuprofeno comercial, o qual foi comparado com Shieh e colaboradores (1993) e são apresentados também os dados de ^{13}C (Tabela 7), os quais foram comparados com as informações contidas na nota técnica *Application Note 21* (Oxford Instruments, 2022).

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C do ibuprofeno comercial, que evidenciam deslocamentos químicos distintos e integrações de sinais, encontram-se apresentados no Apêndice D (Figuras 50 e 51).

Tabela 6 – Deslocamentos espectrais de RMN para ^1H em ppm das amostras de ibuprofeno em relação a literatura, em 400 MHz.

Posição C	Deslocamento químico $\delta^1\text{H}$ (ppm), J (Hz)	
	Literatura ($\delta^1\text{H}$, 75 MHz)	Comercial (400 MHz)
– (OH)	9,10 (s, 1H)	11,71 (s, 1H)
2	–	–
3	3,50 (q, 1H, $J = 7,18$ Hz)	3,7 q (1H $J = 7,18$ Hz)
4	1,50 (dd, 3H, $J = 7,5; 4,5$ Hz)	1,5 d (3H $J = 7,14$ Hz)
5	–	–
6/7	7,2 – 6,9 m (4H)	7,09 (ddd, 2H, $J = 8,11; 6,3; 1,68$ Hz) 7,21 (2H $J = 1,68; 6,3; 8,11$ Hz)
8	–	–
9	2,45 (d, 2H, $J = 7,12$ Hz)	2,44 (d, 2H, $J = 7,23$ Hz)
10	1,85 (sept, 1H)	1,83 (sept, 1H, $J \approx 6,6$ Hz)
11	0,9 (d, 6H, $J = 6,6$ Hz)	0,89 (d, 6H, $J = 6,6$ Hz)

Legenda: $\delta^1\text{H}$ em ppm; multiplicidade: s – simpleto, d – duplete, q – quarteto, dd – duplo duplete, sept – septeto, ddd – duplo duplo duplete, m – multiplete; J – constante de acoplamento (Hz).

Fonte: Autora (2025).

Tabela 7 – Deslocamentos espectrais de RMN para ^{13}C em ppm da amostra de ibuprofeno comercial em relação a literatura, em 100 MHz.

número C	Deslocamento químico $\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	
	Literatura	Comercial (100 MHz)
1	–	–
2	181,36	180,80
3	45,21	45,05
4	30,25	30,18
5	137,19	136,97
6	127,43	127,29
7	129,51	129,44
8	140,93	140,85
9	45,21	44,94
10	18,21	18,14
11	22,51	22,44

Fonte: Autora (2025).

5.6.3 Bioensaio de citotoxicidade do ibuprofeno

Para a definição de uma concentração adequada de ibuprofeno a ser utilizada nos ensaios de biodegradação, foi realizado um ensaio preliminar baseado na metodologia de microdiluição em caldo, com o objetivo de avaliar os efeitos citotóxicos do fármaco em três isolados fúngicos: *Geotrichum* sp._FAR003, *Geotrichum* sp._FAR005 e *Talaromyces* sp._FAR012.

O presente ensaio foi necessário devido à ausência de uma análise isolada

do ibuprofeno no ensaio de viabilidade celular, o qual avaliou a tolerância ao fármaco. Além disso, foi essencial investigar a toxicidade do dimetilsulfóxido (DMSO), solvente utilizado na preparação da solução de ibuprofeno, que também foi empregado no ensaio de biodegradação, uma vez que o fármaco é praticamente insolúvel em água.

Para determinar a concentração ideal do fármaco, o teste de toxicidade do ibuprofeno foi conduzido a fim de avaliar a dose máxima suportada pelos fungos. Tal procedimento foi crucial, pois concentrações muito baixas podem comprometer o rendimento na obtenção dos produtos de interesse, uma vez que a dose ideal para o processo pode estar na faixa entre a toxicidade observada e a máxima concentração suportada, conforme evidenciado na tabela 8, foi de 100 mg·L⁻¹, que inibiu 13,02% do fungo *Geotrichum* sp._FAR003, 5,69% do *Geotrichum* sp._FAR005 e 3,94% do *Talaromyces* sp._FAR012 em relação aos respectivos controles.

Tabela 8 – Porcentagem de inibição do ibuprofeno em relação aos fungos selecionados.

Ibuprofeno Concentração (mg·L ⁻¹)	Fungos avaliados		
	FAR003 <i>Geotrichum</i> sp.	FAR005 <i>Geotrichum</i> sp.	FAR012 <i>Talaromyces</i> sp.
10	57,23	56,47	75,94
30	52,41	41,27	79,60
50	38,92	35,67	95,66
80	33,67	13,29	12,60
100	13,02	5,69	3,94
150	97,99	97,90	97,46
200	98,51	98,88	98,98
DMSO*	176,73	187,69	198,26

Nota: *Valores de citotoxicidade superiores a 100% refletem redução metabólica acentuada em relação ao controle positivo, associada ao efeito do solvente (DMSO), conforme o método de cálculo adotado.

Fonte: Autora (2025).

5.6.4 Avaliação da Biodegradação do Ibuprofeno

O composto (+/-) ibuprofeno [ácido 2-(4-isobutilfenil) propanóico, registro CAS (*Chemical Abstracts Service*) 15687-27-1, fórmula molecular C₁₃H₁₈O₂, massa molecular 206,28 g·mol⁻¹ (CAS, 2025)] adquirido em farmácia de manipulação (Floreasca) com lote ALIBB0062020 foi utilizado como substrato de biotransformação por *Geotrichum* sp._FAR003, *Geotrichum* sp._FAR005 e *Talaromyces* sp._FAR012,

em experimentos aplicando-se variações no tempo de reação.

Na análise por cromatografia com detecção UV/VIS a 220 nm, o sinal correspondente ao ibuprofeno foi observado com tempo de retenção de 10,5 minutos, enquanto o padrão interno (PI) e a benzofenona apresentaram tempo de retenção de 9,6 minutos. Por outro lado, na emissão em 290 nm, não foi detectado sinal referente à benzofenona.

Na análise das amostras por HPLC, os cromatogramas indicaram que o fungo *Geotrichum* sp._FAR005 foi incapaz de promover alterações detectáveis no perfil cromatográfico do ibuprofeno nas condições empregadas neste ensaio, uma vez que não foram observadas alterações significativas no perfil cromatográfico.

Em contraste, os fungos *Geotrichum* sp._FAR003 e *Talaromyces* sp._FAR012 apresentaram alterações no perfil cromatográfico ao longo do tempo de incubação, com sinais compatíveis com conversão parcial do ibuprofeno após 15 dias de incubação, sugerindo a formação de possíveis metabólitos. Essa diferença entre os tempos de retenção do composto majoritário formado entre *Geotrichum* sp._FAR003 e o *Talaromyces* sp._FAR012 sugere a formação de compostos distintos, possivelmente resultante de vias metabólicas próprias de cada fungo.

Para analisar essas diferenças, as amostras de *Geotrichum* sp._FAR003 15 dias e *Talaromyces* sp._FAR012 após 15 dias de incubação foram encaminhadas para análise por UPLC acoplado à espectrometria de massas, com o objetivo de identificar os compostos formados ao longo do processo de transformação do ibuprofeno.

Cabe destacar que o delineamento experimental deste capítulo foi originalmente concebido com a finalidade de avaliar a biodegradação do ibuprofeno por isolados fúngicos, considerando a possibilidade de redução do composto ao longo do tempo de incubação. Entretanto, com base no conjunto de evidências obtidas nas análises cromatográficas e por LC-MS, os resultados sustentam com maior precisão a ocorrência de biotransformação, caracterizada pela conversão parcial do fármaco e pela formação de produtos de transformação, sem que tenha sido possível demonstrar, neste escopo analítico, a remoção quantitativa ou a mineralização do composto.

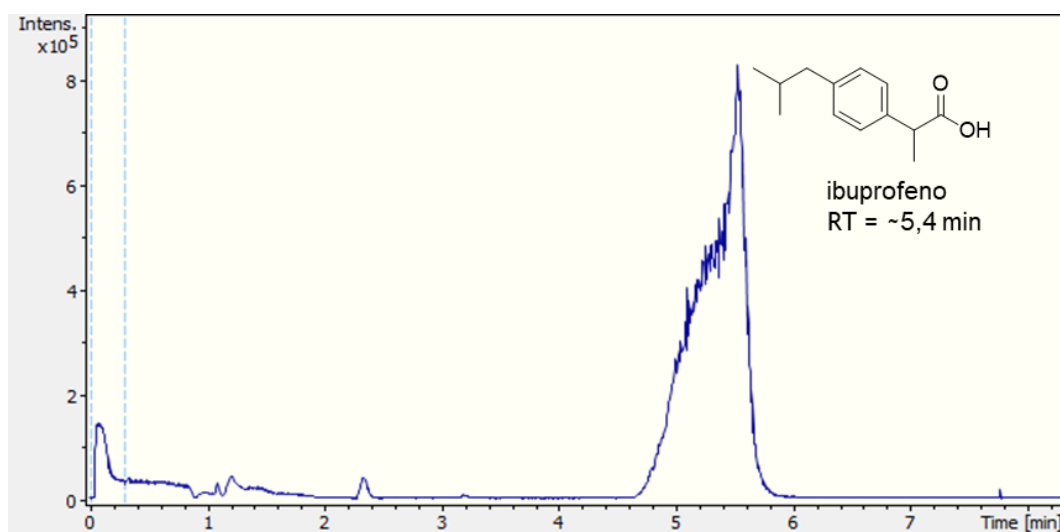
Assim, ao longo da interpretação e discussão dos dados, optou-se por empregar prioritariamente o termo biotransformação, por refletir de forma mais fiel o

fenômeno observado. Ainda assim, o título do item foi mantido como “Avaliação da biodegradação”, uma vez que essa foi a abordagem inicial que orientou o planejamento experimental e a hipótese investigada.

5.6.5 UPLC/MS

Nas análises por UPLC acoplado à espectrometria de massas, foi avaliada a intensidade de íons detectados em função do tempo de retenção (minutos). Observa-se no cromatograma um pico majoritário e bem definido referente à amostra do ibuprofeno comercial, com um tempo de retenção (RT) em aproximadamente 5,4 minutos, sem outros sinais, evidenciando a predominância do composto original nas condições analíticas (Figura 35).

Figura 35 – Cromatograma para o controle do ibuprofeno comercial por UPLC/MS.



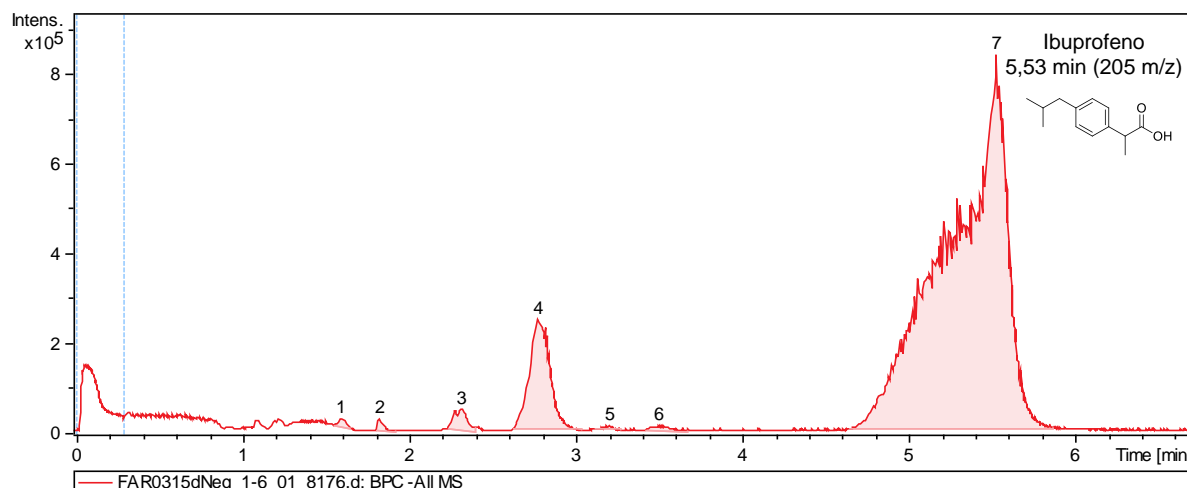
Fonte: Autora (2025).

5.6.5.1 UPLC/MS para *Geotrichum* sp._FAR003

O cromatograma obtido por LC-MS após 15 dias de reação do ibuprofeno com o fungo *Geotrichum* sp._FAR003 revelou um perfil químico diversificado, evidenciando intensa atividade metabólica. Foram detectados sete picos principais, com tempo de retenção entre 1,61 e 5,53 minutos. O pico sete (RT = 5,53 min), com a maior

intensidade, foi identificado como o ibuprofeno (Figura 36).

Figura 36 – Perfil cromatográfico por UPLC/MS para o fungo *Geotrichum* sp._FAR003.



Fonte: Autora (2025).

Sua presença confirma que, embora o fungo tenha promovido biotransformações, parte do fármaco permanece inalterado após o período de incubação. Os demais picos correspondem a metabólitos de biotransformação parcial do fármaco. Os compostos três e quatro, são isômeros ou derivados do ibuprofeno, formados a partir de hidroxilações ou rearranjos moleculares. O pico três, com m/z 175.1, indica um metabólito descarboxilado, evidenciando perda de carbonila (Tabela 9).

Tabela 9 – Compostos detectados por LC-MS após 15 dias de reação com *Geotrichum* sp._FAR003.

N.º	R/T (min)	AR %	Identificação do composto	m/z ([M-H] ⁻)
1	1,61	0,32	2-hidroxi-ibupofeno	221,11
2	1,84	0,36	Não identificado	221,11
3	2,33	1,27	Produto de degradação de IBU	175,11
4	2,79	9,22	3-hidroxi-ibuprofeno	221,11
5	3,21	0,11	Não identificado	293,17
6	3,51	0,44	Não identificado (novo)	472,29
7	5,53	88,28	Ibuprofeno (IBU)	205,11
Área Total		100		

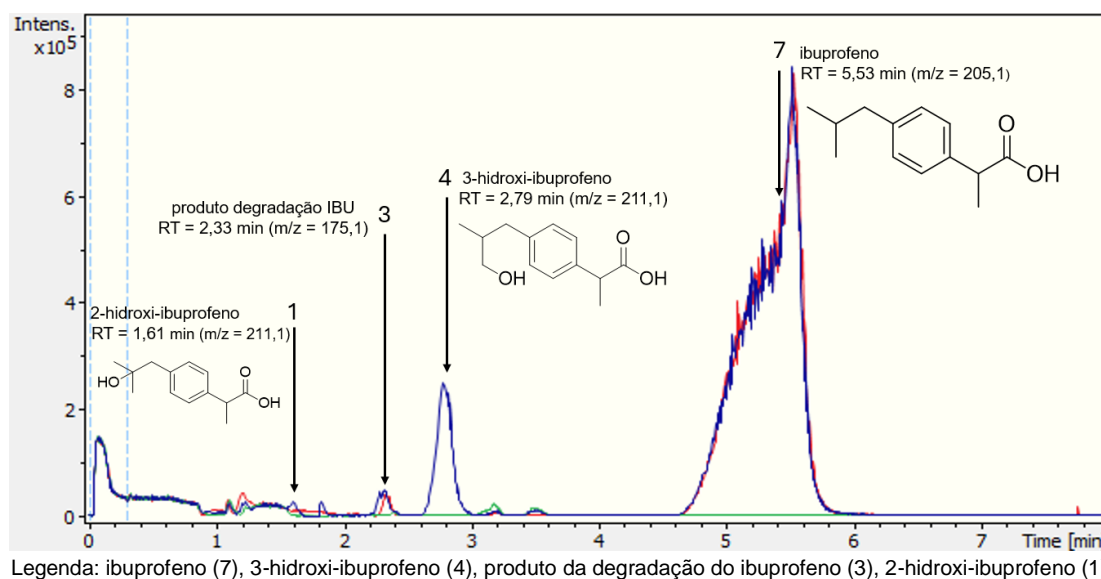
Legenda: RT (Tempo de retenção na coluna cromatográfica), AR % (Área Relativa – Proporção de cada pico em relação à área total dos compostos detectados), m/z (Razão massa/carga do íon detectado ([M-H]⁻ em modo ESI negativo).

Fonte: Autora (2025).

A diversidade e o padrão dos picos reforçam o potencial de *Geotrichum* sp._FAR003 para modificar estruturalmente o ibuprofeno, gerando intermediários e metabólitos. A presença do pico do ibuprofeno indica conversão parcial do composto após 15 dias, sem permitir, neste conjunto de dados, a quantificação de remoção absoluta.

Na figura 37 observa-se o cromatograma do ensaio com o fungo *Geotrichum* sp._FAR003 (linha azul), o controle do fármaco (linha vermelha) e o controle do fungo (linha verde) após 15 dias de reação. Identificou-se a formação de isômeros do hidroxibuprofeno em diferentes proporções ao longo da reação. Nos cromatogramas, observa-se que o pico sete, correspondente ao ibuprofeno inalterado, apresenta intensidade reduzida, indicando sua conversão durante o processo.

Figura 37 – Análise da biodegradação do ibuprofeno pelo fungo *Geotrichum* sp._FAR003 com os principais picos no cromatograma por UPLC/MS.



Fonte: Autora (2025).

Dentre os produtos detectados, destacou-se o 3-hidroxi-ibuprofeno, identificado no pico quatro com tempo de retenção de aproximadamente 2,79 minutos, e o 2-hidroxi-ibuprofeno, no pico com RT de 1,66 minuto. Outros metabólitos também foram observados, como o pico três (RT = 2,33 minutos), associado a um produto de degradação do ibuprofeno com possível perda de fragmento, e o composto correspondente ao pico dois (RT = 1,84 minutos), que pode representar um metabólito

não identificado ou um intermediário presente em baixa concentração (Apêndice D Figura 53).

Os dados obtidos demonstram que o fungo *Geotrichum* sp._FAR003 foi capaz de promover biotransformação do ibuprofeno ao longo de 15 dias, com formação de produtos compatíveis com reações de oxidação e descarboxilação. A confirmação dos produtos de transformação foi respaldada pelos dados de fragmentação observados, com destaque para os íons de m/z 221,11 $[M-H]^-$, atribuídos ao 2-hidroxi-ibuprofeno (RT = 1,61 minuto) e ao 3-hidroxi-ibuprofeno (RT = 2,79 minutos), em concordância com padrões descritos na literatura (Apêndice D - Figuras 52 e 54).

As modificações estruturais observadas resultam na formação de metabólitos mais polares, condição amplamente associada a maior solubilidade em água e, conseqüentemente, maior suscetibilidade a rotas degradativas subsequentes ou processos de remoção ambiental. Esse comportamento já foi relatado para produtos hidroxilados do ibuprofeno, os quais apresentam maior propensão à degradação ou eliminação ambiental devido ao aumento de polaridade (Jan-Roblero; Cruz-Maya, 2023), o que sugere a relevância do isolado *Geotrichum* sp._FAR003 em estudos exploratórios voltados à biorremediação, considerando seu desempenho metabólico sob as condições avaliadas.

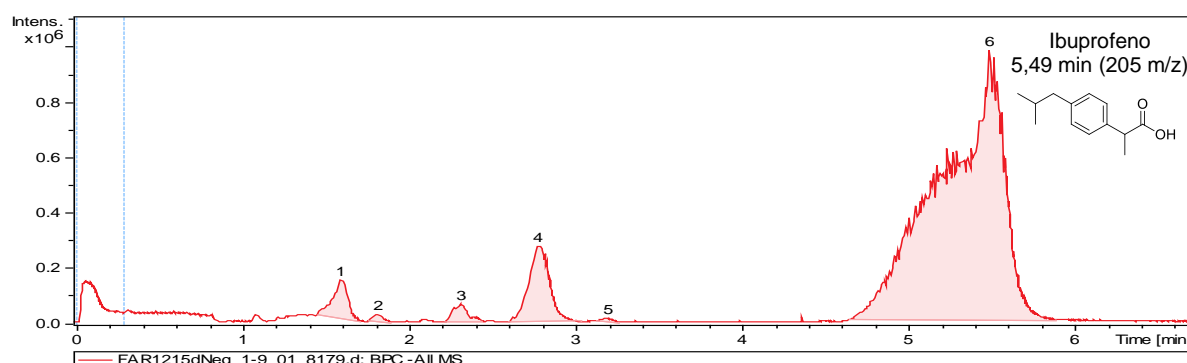
5.6.5.2 UPLC/MS para *Talaromyces* sp._FAR012

No cromatograma obtido por LC-MS após 15 dias de reação do ibuprofeno com o fungo *Talaromyces* sp._FAR012 foram detectados seis picos principais, com tempos de retenção entre 1,61 e 5,49 minutos. O pico seis (RT = 5,49 min), com a maior intensidade, foi identificado como o ibuprofeno (Figura 38). Os demais picos correspondem a potenciais produtos oriundos da biotransformação parcial do fármaco. Os compostos 1,3 e 4, sugerem a formação de isômeros ou derivados do ibuprofeno, como possíveis hidroxilações ou rearranjos moleculares (Tabela 10).

No cromatograma para o ensaio com *Talaromyces* sp._FAR012 (linha azul), observa-se o controle do fungo (linha verde) e o controle do fármaco (linha vermelha) após 15 dias de reação (Figura 39). *Talaromyces* sp._FAR012 demonstrou expressiva capacidade de atuar na biotransformação do ibuprofeno. Essa atividade foi evidenciada pela redução significativa do pico correspondente ao fármaco original nos

cromatogramas, acompanhada pelo surgimento de três novos picos compatíveis com metabólitos monohidroxilados. Esses resultados sugerem fortemente a ação de enzimas oxidativas secretadas pelo microrganismo, capazes de catalisar reações de hidroxilação em diferentes posições da molécula do ibuprofeno, abrangendo tanto a cadeia lateral quanto o anel aromático. Esse comportamento revela a existência de múltiplas rotas metabólicas acessadas pelo fungo durante o processo de transformação do composto.

Figura 38 – Perfil cromatográfico por UPLC/MS para *Talaromyces* sp._FAR012.



Fonte: Autora (2025).

Tabela 10 – Compostos detectados por LC-MS após 15 dias de reação com *Talaromyces* sp._FAR012.

N.º	R/T (min)	AR %	Identificação do composto	m/z ([M-H] ⁻)
1	1,61	3,06	2-hidroxi-ibuprofeno	221,11
2	1,83	0,46	1-hidroxi-ibuprofeno	221,11
3	2,32	1,39	Produto de degradação de IBU	175,11
4	2,79	8,10	3-hidroxi-ibuprofeno	221,11
5	3,21	0,23	Não identificado	293,17
6	5,49	86,76	Ibuprofeno (IBU)	205,11
Área Total		100		

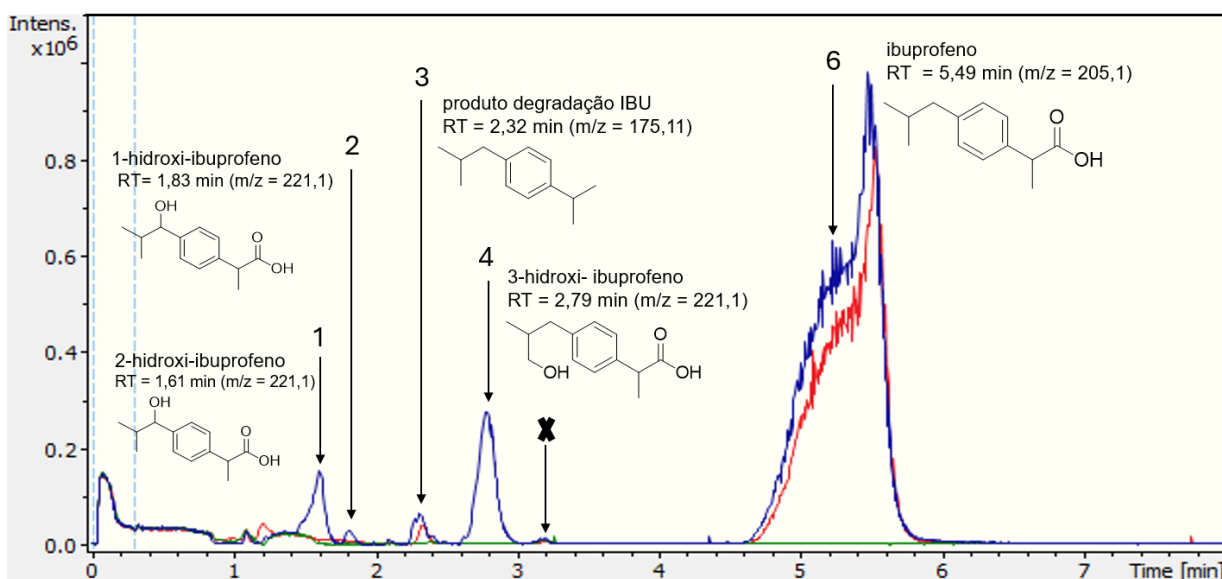
Legenda: TR (Tempo de retenção na coluna cromatográfica), AR % (Área Relativa – Proporção de cada pico em relação à área total dos compostos detectados), m/z (Razão massa/carga do íon detectado ([M-H]⁻ em modo ESI negativo).

Fonte: Autora (2025).

Os três produtos identificados, com razão massa/carga (m/z) de 221,1 [M-H]⁻ e tempos de retenção de 1,61; 1,83 e 2,79 minutos, correspondem, juntos, a aproximadamente 12% da área relativa dos picos cromatográficos, indicando

conversão significativa. Atribuições estruturais baseadas em padrões de fragmentação por espectrometria de massas permitiram a identificação desses compostos como isômeros monohidroxilados do ibuprofeno, nomeadamente o 1-hidroxi-ibuprofeno, 2-hidroxi-ibuprofeno e 3-hidroxi-ibuprofeno (Apêndice D - Figuras 55, 56 e 57).

Figura 39 – Análise da biodegradação do ibuprofeno pelo fungo *Talaromyces* sp._FAR012 com os principais picos no cromatograma por UPLC.



Legenda: ibuprofeno (6), x (não identificado pela técnica utilizada), 3-hidroxi-ibuprofeno (4), produto da degradação do ibuprofeno (3), 1-hidroxi-ibuprofeno (2), 2-hidroxi-ibuprofeno (1).

Fonte: Autora (2025).

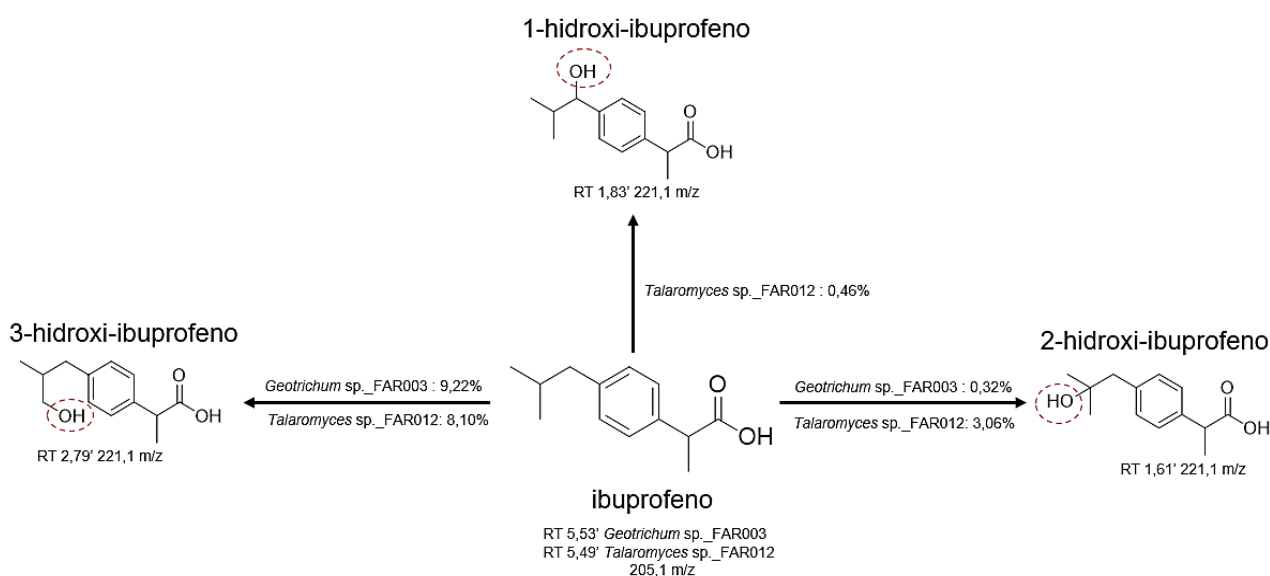
5.7 Biodegradação do ibuprofeno e formação de metabólitos hidroxilados

Esses resultados estão em consonância com dados reportados na literatura científica, nos quais a hidroxilação fúngica tem sido amplamente descrita como uma rota comum na biotransformação parcial de fármacos, conferindo maior polaridade às moléculas e favorecendo sua mineralização subsequente (Peng *et al.*, 2024; Khan, 2025). Essa hidroxilação tem sido atribuída, sobretudo, à ação de sistemas enzimáticos oxidativos que operam tanto intracelular quanto extracelularmente. No ambiente intracelular, destacam-se os complexos citocromo P450 (CYP450) e outras

mono-oxigenases de função mista, reconhecidos por catalisar reações de fase I (oxidação, redução e hidrólise) em moléculas farmacêuticas (Khan *et al.*, 2023).

Já no âmbito extracelular, fungos ligninolíticos produzem lacases e diferentes classes de peroxidases, capazes de promover oxidações radicalares que culminam igualmente na introdução de grupos hidroxila, contribuindo para o aumento da solubilidade e subsequente transformação dos compostos (Amobonye *et al.*, 2023; Khan *et al.*, 2023; Khan, 2025). No presente estudo, a atuação combinada desses sistemas oxidativos resultou na conversão parcial do ibuprofeno em três isômeros monohidroxilados, conforme sintetizado na Figura 40.

Figura 40 – Isômeros formados do processo de biodegradação do ibuprofeno com as linhagens fúngicas avaliadas individualmente.



Fonte: Autora (2025).

Destaca-se que todas as reações foram conduzidas de forma independente, ou seja, *Geotrichum* sp._FAR003 e *Talaromyces* sp._FAR012 atuaram isoladamente, sem formação de consórcios microbianos. Essa abordagem experimental permite atribuir com maior precisão a cada isolado o perfil de transformação observado, garantindo que a formação dos metabólitos hidroxilados decorre exclusivamente da atividade metabólica individual de cada fungo. Os dados cromatográficos e espectrométricos obtidos por LC-MS permitiram a identificação e quantificação relativa dos produtos de transformação, além da elucidação estrutural dos metabólitos com

base na posição da hidroxilação na molécula original do ibuprofeno. Observa-se que o ibuprofeno, com RT de 5,53 min para *Geotrichum* sp._FAR003 e 5,49 min para *Talaromyces* sp._FAR012, apresenta um íon molecular com razão massa/carga (m/z) de 205,11. A estrutura do composto permanece inalterada antes da ação enzimática microbiana.

5.7.1 Biotransformação do ibuprofeno e formação do 3-hidroxi-ibuprofeno

Após 15 dias de reação do ibuprofeno na presença dos fungos *Geotrichum* sp._FAR003 e *Talaromyces* sp._FAR012, a análise por LC-MS revelou a formação de metabólitos oriundos da biotransformação parcial do fármaco. Entre os compostos detectados, destaca-se o 3-hidroxi-ibuprofeno (3-OH-IBU), com tempo de retenção de 2,79 minutos. Esse metabólito apresentou as maiores taxas de conversão relativas: 9,22% para *Geotrichum* sp._FAR003 e 8,10% para *Talaromyces* sp._FAR012, reforçando seu papel como principal produto de transformação nos sistemas avaliados.

A presença consistente desse isômero em ambas as reações indica que o carbono 3 da cadeia lateral do ibuprofeno é um sítio preferencial de oxidação pelas enzimas fúngicas, provavelmente devido à maior estabilidade do radical intermediário gerado durante o processo de hidroxilação. Este metabólito é detectado em baixas concentrações em amostras de urina humana e amostras ambientais (Djukovic *et al.*, 2008; Waraksa *et al.*, 2018; Piechocka *et al.*, 2023; Hinzke *et al.*, 2025). O que corrobora os resultados aqui obtidos ao evidenciar que rotas de hidroxilação semelhantes podem ocorrer tanto em sistemas biológicos humanos quanto em contextos ambientais.

5.7.2 Biotransformação do ibuprofeno e formação do 2-hidroxi-ibuprofeno

Além do 3-OH-IBU, outro metabólito relevante detectado por LC-MS foi o 2-hidroxi-ibuprofeno (2-OH-IBU), um produto monohidroxilado formado a partir da atividade de ambos os fungos. No presente estudo, o 2-OH-IBU foi detectado com tempo de retenção de 1,66 minutos, e essa diferença em relação a outros trabalhos pode ser atribuída às variações nas condições cromatográficas utilizadas, o que não

compromete a correlação estrutural do composto identificado, dada a consistência do padrão de fragmentação obtido por LC-MS (Apêndice D - Figura 55). Embora em menor proporção que o 3-OH-IBU, sua identificação neste estudo é particularmente significativa, uma vez que esse composto é amplamente reconhecido como o principal metabólito do ibuprofeno em humanos, sendo excretado predominantemente pela urina após a administração oral do fármaco (Djukovic *et al.*, 2008; Magiera; Gülmez, 2014; Martins, 2023; Piechocka *et al.*, 2023).

Em estudo recente, Piechocka *et al.*, (2023) utilizaram cromatografia líquida de alta eficiência com detector de espalhamento de luz por evaporação (HPLC-ELSD) para analisar amostras de urina humana, demonstrando que o 2-hidroxi-ibuprofeno é um dos principais produtos resultantes da metabolização do ibuprofeno, com tempo de retenção de aproximadamente 2,8 minutos. Embora esse trabalho não aborde efeitos tóxicos dos subprodutos gerados, revisões ecotoxicológicas indicam que determinados metabólitos hidroxilados e carboxilados do ibuprofeno podem apresentar toxicidade semelhante ou até superior à do composto original em alguns organismos aquáticos em ensaios *in vitro*, ainda que o perfil toxicológico específico do 2-OH-IBU permaneça menos caracterizado (Chopra; Kumar, 2020; Jia *et al.*, 2021). Nesse sentido, os resultados obtidos aqui, aliados à literatura, reforçam que o 2-OH-IBU deve ser considerado não apenas como produto esperado do metabolismo humano, mas também como um composto de interesse em avaliações de risco ambiental.

A formação desse metabólito hidroxilado também evidencia a atuação de sistemas oxidativos intracelulares, especialmente citocromos P450 e outras monooxigenases, que desempenham papel central nas reações de fase I e são amplamente descritos em fungos filamentosos como responsáveis por hidroxilações e outras transformações análogas às que ocorrem no metabolismo hepático humano (Amobonye *et al.*, 2023; Palaric *et al.*, 2019; Olicón-Hernández; González-López; Aranda, 2017). A presença desses sistemas enzimáticos reforça o potencial dos fungos avaliados como modelos para estudos de biotransformação e como plataformas sustentáveis para a síntese verde de metabólitos bioativos.

Esse metabólito tem sido detectado em diferentes compartimentos ambientais, indicando sua persistência e relevância como contaminante emergente. Estudos realizados em regiões da Espanha demonstraram presença tanto em

afluentes e efluentes de estações de tratamento quanto em águas de rios, refletindo a limitada remoção desse composto nos processos convencionais (Ferrando-Climent *et al.*, 2012; Malvar *et al.*, 2019).

A ocorrência desse metabólito também foi registrada em águas oceânicas, com amostras coletadas ao longo da costa portuguesa evidenciando a presença simultânea de 2-OH-IBU e seu composto original, o ibuprofeno (Paiga *et al.*, 2015). Em outro estudo, conduzido no Canadá, observou-se que efluentes hospitalares apresentaram concentrações de 2-hidroxi-ibuprofeno superiores às do próprio ibuprofeno, sugerindo transformações metabólicas relevantes já no ambiente ou durante o tratamento dos resíduos (Ouarda *et al.*, 2019). Esses dados reforçam a necessidade de monitoramento contínuo e estratégias de mitigação mais eficazes para fármacos e seus metabólitos no ambiente aquático.

Além de sua ampla detecção em matrizes ambientais, o 2-hidroxi-ibuprofeno também tem sido identificado como produto principal em diversos processos de biodegradação fúngica do ibuprofeno, destacando seu papel como metabólito recorrente. Em estudo realizado por Klenk e colaboradores (2019), o fungo filamentoso *Mucor hiemalis* foi empregado como biocatalisador, promovendo a conversão do ibuprofeno ($1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) em 2-hidroxi-ibuprofeno com elevado rendimento (90%) por meio de oxifuncionalização.

De forma semelhante, Marco-Urrea *et al.*, (2009) investigaram a ação do basidiomiceto *Trametes versicolor* sobre o ibuprofeno ($10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), observando uma biodegradação rápida e eficiente, com formação de 2-hidroxi-ibuprofeno em 68% após 60 minutos de incubação, valor que aumentou para 84% após 150 minutos.

Mais recentemente, Kasonga e associados (2021) investigaram a capacidade degradativa de cinco linhagens fúngicas, *Aspergillus niger*, *Mucor circinelloides*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Trametes polyzona* e *Rhizopus microsporus* frente ao ibuprofeno ($1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Dentre os isolados avaliados, *Mucor* sp. destacou-se, promovendo a remoção de 98% do fármaco após 48 horas de incubação. Durante o processo, foram detectados os metabólitos intermediários 2-hidroxi-ibuprofeno e 1-hidroxi-ibuprofeno, os quais, entretanto, deixaram de ser observados após 10 dias de reação, sugerindo sua posterior metabolização ou completa mineralização.

A formação de 2-hidroxi-ibuprofeno também foi observada em estudo recente envolvendo a biotransformação do ibuprofeno ($100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) por *Alternaria* sp., um

fungo endofítico. Nesse caso, o metabólito foi identificado como produto da hidroxilação na cadeia lateral do fármaco após 48 horas de reação, com 55,7% de conversão em 96 horas, reforçando a capacidade de diferentes fungos em promover transformações oxidativas semelhantes, ainda que sob diferentes condições e em tempos reacionais distintos (Barros, 2025).

A convergência desses estudos com os resultados do presente trabalho indica que o 2-OH-IBU constitui um metabólito-chave em rotas de biotransformação do ibuprofeno, tanto em sistemas ambientais naturais quanto em processos biotecnológicos controlados, o que justifica sua classificação como contaminante emergente de interesse.

Diante disso, pesquisas vêm explorando a presença e os impactos do ibuprofeno e do metabólito 2-OH-IBU em organismos aquáticos, com especial atenção à bioacumulação em tecidos e órgãos após exposições prolongadas. Em peixes como *Danio rerio* (Sánchez-Aceves *et al.*, 2021) e *Cyprinus carpio* (Islas Flores *et al.*, 2014), foi constatada a indução de estresse oxidativo relacionada a esses compostos, o que levanta preocupações quanto ao bem-estar desses organismos. Adicionalmente, esforços têm sido direcionados para detectar tais substâncias em espécies consumidas pela população, como o mexilhão *Mytilus galloprovincialis* (Malvar *et al.*, 2022), refletindo o interesse em proteger não apenas os ecossistemas, mas também a saúde humana.

Embora ainda haja lacunas importantes a serem preenchidas, os dados de Grabarczyk *et al.*, (2020) trazem um alento ao indicarem que o 2-OH-IBU apresenta toxicidade muito inferior ao ibuprofeno, este último classificado como nocivo a todos os organismos testados. No entanto, o composto ácido 4-(2-hidroxi-2-metilpropil)- α -metil benzenoacético (CAS nº 51146-55-5), amplamente conhecido como 2-hidroxi-ibuprofeno, está listado pela rede NORMAN como um poluente emergente (NORMAN, 2025). Sua inclusão se deve à detecção recorrente em ambientes aquáticos e ao potencial de causar efeitos adversos à biota, ainda que com toxicidade inferior à molécula original (Peng *et al.*, 2024). Assim, ainda que o 2-OH-IBU possa ser menos tóxico que o fármaco de origem, sua persistência, recorrência e capacidade de bioacumulação justificam a atenção regulatória e o seu monitoramento em programas de vigilância ambiental.

5.7.3 Biotransformação do ibuprofeno e formação do 1-hidroxi-ibuprofeno

O fungo *Talaromyces* sp._FAR012 também formou o metabólito 1-hidroxi-ibuprofeno (1-OH-IBU), embora em baixa quantidade, com tempo de retenção de 1,83 minutos. Essa observação evidencia diferenças na regioseletividade e na diversidade enzimática entre os isolados estudados, especialmente em comparação ao perfil metabólico mais restrito de *Geotrichum* sp._FAR003, que não formou esse isômero.

A identificação do 1-OH-IBU foi confirmada por espectrometria de massas, com base em seu padrão de fragmentação característico (Apêndice D, Figura 56). Resultados semelhantes foram previamente descritos por Peng e colaboradores (2024), que relataram a formação desse mesmo metabólito durante a biotransformação do ibuprofeno ($5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) pelo fungo *Apiotrichum* sp. IB-1, o qual apresentou alta eficiência de conversão, atingindo 95,77%.

Por sua vez, Barros (2025) também identificou o 1-OH-IBU como produto de transformação do ibuprofeno ($100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) pelo fungo endofítico *Albonectria* rigidiuscula, com tempo de retenção de 1,7 minutos e taxa de conversão de 0,7% em 96 horas de reação. Esses dados reforçam que, embora o 1-OH-IBU seja um metabólito menos frequente em alguns sistemas fúngicos, ele pode surgir sob condições específicas de catálise enzimática, refletindo a complexidade e seletividade das vias oxidativas microbianas envolvidas na degradação de CEs como o ibuprofeno.

No contexto deste estudo, a formação exclusiva de 1-OH-IBU por *Talaromyces* sp._FAR012, ainda que em baixa conversão, funciona como um marcador adicional de sua maior versatilidade metabólica quando comparado a *Geotrichum* sp._FAR003.

5.7.4 Comparação dos perfis de biotransformação e atividade enzimática dos isolados fúngicos

A identificação dos três isômeros de hidroxi-ibuprofeno foi realizada com base na razão massa/carga (m/z) de 221, compatível com as estruturas apresentadas na Figura 40. Esse resultado sugere que o ibuprofeno foi predominantemente submetido a reações de oxidação, especialmente por hidroxilação da cadeia lateral, indicando essa modificação como uma das principais rotas de biotransformação mediadas pelos

fungos avaliados. A hidroxilação constitui um mecanismo amplamente descrito para fármacos aromáticos e promove o aumento da hidrossolubilidade do composto, reduzindo sua afinidade por membranas biológicas e, conseqüentemente, sua tendência de acumulação intracelular, o que contribui para a atenuação de efeitos tóxicos (Wang *et al.*, 2019).

Nesse contexto, observa-se uma diferença funcional relevante entre os isolados investigados. O isolado *Geotrichum* sp._FAR003 apresentou capacidade moderada de biotransformação, evidenciada pela redução do pico cromatográfico do ibuprofeno e pela formação de metabólitos oxidativos, embora com menor diversidade estrutural. Foram detectados os isômeros 2-hidroxi-ibuprofeno e 3-hidroxi-ibuprofeno, sugerindo um repertório metabólico mais restrito. Em contraste, *Talaromyces* sp._FAR012 promoveu a formação de um terceiro isômero adicional (1-OH-IBU), indicando maior variabilidade metabólica. Essa diferenciação é consistente com estudos que demonstram a variabilidade intra e interespecífica entre fungos filamentosos quanto à capacidade de hidroxilação do ibuprofeno e à geração de conjuntos distintos de metabólitos (Vaksmas *et al.*, 2023; Restrepo; Legarda; Sánchez, 2025).

Os resultados enzimáticos corroboram essas distinções metabólicas. O isolado *Geotrichum* sp._FAR005 demonstrou expressiva atividade na produção de enzimas oxidativas, destacando-se Lac (10,51 U·L⁻¹ em 7 dias), MnP (54,10 U·L⁻¹ em 24 horas) e LiP (157,29 U·L⁻¹ em 7 dias). Para *Geotrichum* sp._FAR003, a enzima mais expressiva foi a LiP (180,76 U·L⁻¹ em 30 dias). Esses perfis evidenciam que isolados pertencentes ao mesmo gênero podem exibir repertórios catalíticos distintos, influenciando diretamente os processos de transformação do fármaco.

Enzimas oxirredutases, como lacases e peroxidases, são amplamente reconhecidas por sua capacidade de atuar sobre estruturas aromáticas e fenólicas, favorecendo reações oxidativas que promovem modificações estruturais em compostos farmacêuticos, incluindo anti-inflamatórios não esteroidais (Bankole *et al.*, 2020; Khan, 2025). Esse comportamento também foi observado em *Talaromyces* sp._FAR012, cuja produção de lignina peroxidase atingiu 209,44 U·L⁻¹, indicando um sistema enzimático ativo e potencialmente relevante na biotransformação do ibuprofeno. Assim, os resultados sugerem que a eficiência observada está fortemente associada aos perfis enzimáticos dos isolados, uma vez que enzimas oxidativas

desempenham papel central na modificação de estruturas químicas recalcitrantes (Torres-Farradá *et al.*, 2024).

A aplicação de fungos e de seus sistemas enzimáticos na transformação de fármacos em matrizes aquáticas representa uma abordagem promissora para o desenvolvimento de estratégias ambientalmente sustentáveis. A micorremediação desponta como alternativa complementar aos métodos convencionais de tratamento, frequentemente limitados na remoção de contaminantes emergentes (Pawlowska *et al.*, 2023; Hinzke *et al.*, 2025). Essa estratégia contribui para a redução da persistência ambiental de micropoluentes e destaca a relevância biotecnológica dos fungos filamentosos.

Apesar desse potencial, desafios significativos ainda restringem a aplicação em escala ampliada, incluindo variabilidade na eficiência enzimática, seletividade metabólica e influência de fatores físico-químicos, como pH, temperatura, disponibilidade de nutrientes e presença de co-contaminantes (El-Gendi *et al.*, 2021; Akrouf *et al.*, 2024; Khan, 2025). Tais aspectos reforçam a necessidade de aprofundamento na compreensão das interações entre fungos, enzimas e matriz ambiental.

Além de sua relevância científica, a micorremediação apresenta alinhamento direto com os ODS, especialmente o ODS 6 (Água potável e saneamento), o ODS 14 (Vida na água) e o ODS 3 (Saúde e bem-estar), evidenciando o potencial dessas abordagens no enfrentamento da fármaco-contaminação (Garg; Kim; Romero-Suarez, 2025).

Em síntese, a análise integrada dos isômeros de hidroxi-ibuprofeno (3-OH-IBU, 2-OH-IBU e 1-OH-IBU) e dos perfis enzimáticos de *Geotrichum* sp._FAR003 e *Talaromyces* sp._FAR012 indica que, embora a biotransformação tenha sido parcial, os isolados fúngicos ativaram rotas predominantemente oxidativas compatíveis com aquelas descritas na literatura. Esses achados reforçam a relevância metabólica desses microrganismos em processos de transformação de contaminantes emergentes. Contudo, permanece fundamental investigar a ecotoxicidade dos metabólitos gerados, especialmente sob cenários de exposição crônica em ecossistemas aquáticos (Vaksmaa *et al.*, 2023; Khan, 2025; Torres-Farradá *et al.*, 2024).

5.8 Avaliação do ensaio de ecotoxicidade

Os resultados do bioensaio agudo com sementes de alface teve duração de sete dias (168h) e estão representados na Figura 41. *Lactuca sativa* demonstrou capacidade de se estabelecer em meio potencialmente tóxico e desenvolver-se parcialmente, exibindo efeitos tanto letais (inibição da germinação) quanto subletais (inibição no desenvolvimento das plântulas).

A Figura 41a ilustra o crescimento uniforme de plântulas germinadas em papel germitest após o período de incubação, no grupo controle. Observa-se 100% germinação, com todas as sementes apresentando emergência radicular e desenvolvimento da parte aérea. As plântulas exibem raízes bem definidas, com alongamento visível, além de cotilédones expandidos, simétricos e de coloração verde intensa, o que indica condições ideais para germinação e ausência de estresse químico. A distribuição regular das plântulas e o padrão homogêneo de crescimento reforçam a confiabilidade do tratamento controle como referência para comparação com os demais tratamentos.

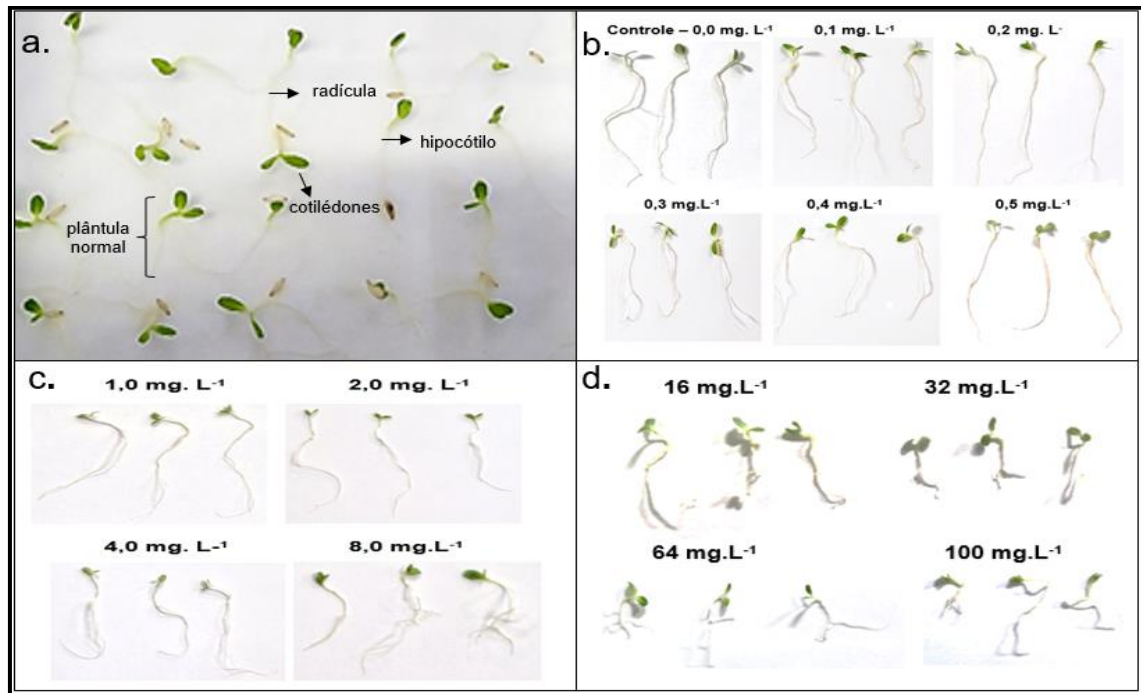
Na Figura 41b, observa-se o desenvolvimento das plântulas sob concentrações variando de 0,0 a 0,5 mg·L⁻¹. No tratamento controle, as plântulas apresentaram maior vigor aparente, caracterizado por raízes mais alongadas e parte aérea com cotilédones expandidos. Com o aumento da concentração do fármaco, verifica-se uma tendência de redução no comprimento radicular e na expansão da parte aérea, particularmente nas concentrações a partir de 0,3 mg·L⁻¹. Na dose de 0,5 mg·L⁻¹, o padrão visual indica maior comprometimento do desenvolvimento das plântulas, com redução da parte aérea e menor alongamento da raiz principal.

Na sequência, a terceira imagem (Figura 41c) complementa a avaliação visual, abrangendo concentrações entre 1,0 e 8,0 mg·L⁻¹. A partir de 1,0 mg·L⁻¹, observa-se um padrão visual compatível com redução do desenvolvimento radicular e da parte aérea, caracterizado por raízes mais curtas e cotilédones menos expandidos. Esse comportamento mantém-se nas concentrações de 4,0 mg·L⁻¹ e 8,0 mg·L⁻¹, nas quais o desenvolvimento das plântulas mostra-se visualmente mais limitado, quando comparado ao tratamento controle.

Na Figura 41d, os tratamentos variam entre 16 e 100 mg·L⁻¹. Os registros fotográficos indicam restrição generalizada do desenvolvimento das plântulas, com

redução do alongamento radicular e da expansão da parte aérea em todas as concentrações avaliadas.

Figura 41 – Efeito das diferentes concentrações de ibuprofeno na germinação e desenvolvimento de plântulas de *Lactuca sativa* L.



Legenda: (a) plântulas normais do tratamento controle ; (b) doses de 0,1 a 0,5 mg.L⁻¹; (c) doses de 1,0 a 8,0 mg.L⁻¹ e (d) superdoses 16 a 100 mg.L⁻¹

Fonte: Autora (2025).

De forma geral, as imagens sugerem uma tendência de redução do desenvolvimento das plântulas com o aumento da concentração de ibuprofeno, afetando tanto o sistema radicular quanto a parte aérea. Ressalta-se que essas observações possuem caráter exclusivamente descritivo, sendo a magnitude e a significância dos efeitos avaliadas por meio das análises estatísticas apresentadas nas seções subsequentes.

Após essa caracterização visual inicial, os resultados seguintes apresentam, de forma quantitativa, os efeitos do ibuprofeno sobre as variáveis morfométricas avaliadas, incluindo taxa de germinação, comprimento das plântulas (raiz e parte aérea) e biomassa seca. Na sequência, é introduzida a análise do Índice de Toxicidade (IT), empregada como métrica integradora para a comparação dos efeitos observados entre os tratamentos.

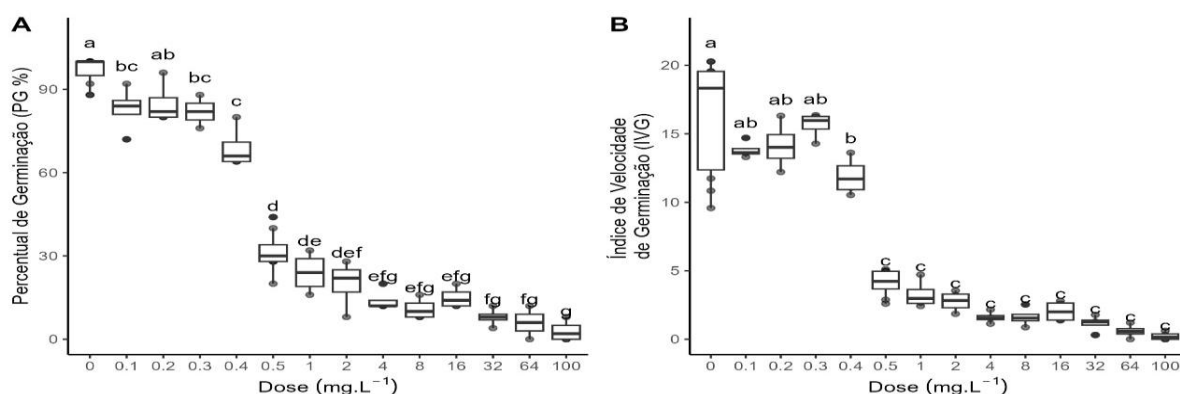
5.8.1 Efeitos do ibuprofeno sobre a germinação de *Lactuca sativa*

Pela análise da porcentagem de germinação (PG) e do índice de velocidade de germinação (IVG), observa-se redução dos valores das variáveis com o aumento da concentração de ibuprofeno, evidenciando um padrão de resposta dose-dependente em ambas as variáveis (Figura 42).

Doses de ibuprofeno entre 0,1 e 0,3 mg·L⁻¹ apresentaram valores de germinação variando entre 85%, 83% e 82%, respectivamente ($F_{13,54} = 187,98$; $p < 0,0001$). Entretanto, concentrações mais elevadas, a partir de 0,5 mg·L⁻¹ resultaram em redução acentuada da germinação para 32%. As maiores inibições ocorreram nas doses de 4, 8, 64 e 100 mg·L⁻¹, cujos valores variaram entre 14% a 3%, todas estatisticamente distintas do controle (Figura 42A).

De forma semelhante, os valores do IVG também apresentaram reduções significativas com o incremento da concentração do composto ($F_{13,54} = 55,405$; $p < 0,0001$). As doses entre 0,1 e 0,3 mg·L⁻¹ promoveram redução tênue no IVG, com percentuais variando entre 82% e 72% em relação ao controle (Figura 42B). No entanto, concentrações mais elevadas ($\geq 0,5$ mg·L⁻¹) promoveram inibições significativas, sendo que os tratamentos com 64 e 100 mg·L⁻¹ apresentaram valores praticamente nulos (3% e 1,2%, respectivamente).

Figura 42 – Boxplots representando a Porcentagem de Germinação (A) e Índice de Velocidade de Germinação (B) de *Lactuca sativa* exposta a diferentes concentrações do ibuprofeno.



Nota: os dados foram expressos em medianas e intervalos interquartílicos. As letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Autora (2025).

Ambas as variáveis analisadas (PG e IVG) apresentaram comportamento consistente em função do incremento da concentração de ibuprofeno, indicando redução dos parâmetros germinativos com o aumento da dose. Esse padrão sugere que a exposição ao fármaco afeta não apenas a proporção de sementes germinadas, mas também a dinâmica temporal do processo germinativo. Esses resultados evidenciam alteração no desempenho germinativo de *Lactuca sativa* em condições laboratoriais controladas, fornecendo subsídios para a interpretação dos efeitos do composto sobre estágios iniciais do desenvolvimento vegetal.

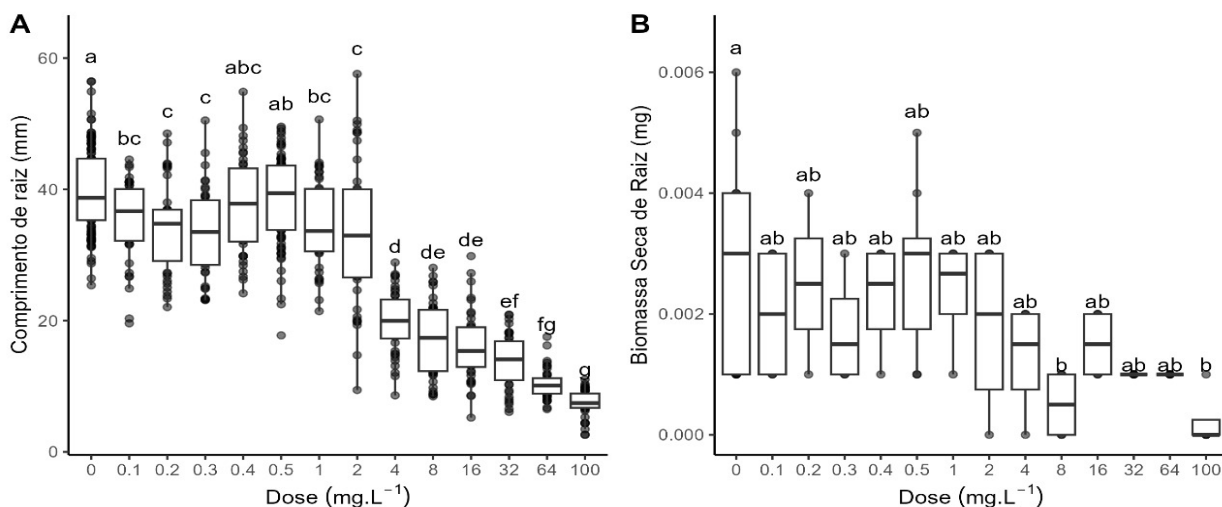
5.8.2 Efeito do ibuprofeno sobre o desenvolvimento das plântulas

5.8.2.1 Efeito da dose sobre a raiz

Em relação ao comprimento das raízes (CR), observou-se que o grupo controle (dose 0,0) apresentou comprimento médio de raiz de $39,81 \pm 0,59$ mm, considerado como 100% de crescimento. Foi possível verificar que houve um efeito significativo da dose sobre o comprimento radicular (CR- $F_{13, 666} = 170$, $p < 0,0001$). As maiores médias foram observadas nos tratamentos com doses de $0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (39,81 mm - 100%), $0,1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (35,47 mm - 89%), $0,4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (37,61 mm - 94%) e $0,5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (38,60 mm - 97%), indicando que alterações no crescimento radicular já são observáveis nas menores concentrações testadas.

Da mesma forma, concentrações intermediárias como 4, 8, 16 e $32 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ resultaram em reduções mais acentuadas, com os percentuais de inibição de 50%, 44%, 40% e 34%, respectivamente, mantendo tendência de redução do CR com o aumento da dose. Reduções progressivas no comprimento radicular foram evidenciadas a partir de $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (34,79 mm - 87%), seguidas de valores significativamente inferiores em doses de $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (33,26 mm - 84%) ($p < 0,05$). As menores médias foram registradas em doses elevadas, especialmente $64 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (10,33 mm - 26%) e $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (7,44 mm - 19%), evidenciando um forte efeito inibitório sobre o crescimento radicular. Os resultados indicam associação significativa entre a concentração do composto e o crescimento da raiz (Figura 43A).

Figura 43 – Boxplots representando o Comprimento de raiz (A) e Biomassa Seca de raiz (B) de *Lactuca sativa* exposta a diferentes concentrações do ibuprofeno.



Nota: os dados foram expressos em medianas e intervalos interquartílicos. As letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Autora (2025).

Quanto à massa seca da raiz (MSR), observou-se que o grupo controle (dose 0) apresentou uma MSR média de $0,0029 \pm 0,0005$ mg, considerado como 100% de crescimento. Houve efeito significativo da dose sobre a biomassa seca da raiz ($F_{13, 54} = 2,736$; $p = 0,00482$). Entretanto, as comparações múltiplas indicaram diferenças pontuais entre tratamentos, sendo que a maior parte das doses não diferiu estatisticamente do controle ($p > 0,05$). Com o aumento das doses, houve uma redução gradual da MSR, indicando um efeito inibitório dependente da concentração (Figura 43B). Por exemplo, a dose de $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ resultou em uma redução para $0,0018 \pm 0,0008$ mg, equivalente a 60% da massa observada no controle.

Concentrações intermediárias como 4 e $8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ resultaram em reduções acentuadas, com percentuais de inibição de 43% e 17%, respectivamente. Na maior dose avaliada ($100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), a MSR média foi de apenas $0,0003 \pm 0,0003$ mg, correspondente a 9% da biomassa do controle, indicando um forte efeito inibitório sobre o desenvolvimento radicular (Tabela 21 - Apêndice E).

Grande parte dos tratamentos, incluindo as doses de 0 ; $0,1$; $0,2$; $0,3$; $0,4$; $0,5$; 1 ; 2 ; 4 ; 16 ; 32 e $64 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, foi considerada similar ($p > 0,05$). Apenas as doses de 8 e $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ apresentaram médias significativamente inferiores em relação ao grupo controle ($0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Esses resultados sugerem que, para a variável avaliada, a

resposta manteve-se relativamente estável na maioria das doses testadas, mas sofreu uma redução significativa em doses específicas mais elevadas.

5.8.2.2 Efeito da dose sobre a parte aérea

O tratamento controle (dose 0 mg·L⁻¹) apresentou o maior comprimento médio obtido, de 12,62 ± 0,19 mm, considerado como 100% do crescimento da parte aérea, diferindo significativamente da maioria dos demais tratamentos (Figura 44A). Com o aumento da dosagem de ibuprofeno, observou-se uma redução progressiva no comprimento, indicando um efeito inibitório dependente da concentração. As doses de 0,1 e 0,4 mg·L⁻¹ apresentaram reduções para 9,02 ± 0,19 mm e 7,37 ± 0,20 mm, respectivamente (72% e 58% em relação ao controle). Doses intermediárias como 2 e 4 mg·L⁻¹ resultaram em um comprimento de 10,16 ± 0,40 mm (80%) e 8,79 ± 0,35 mm (70%), respectivamente.

As maiores doses (32, 64 e 100 mg·L⁻¹) provocaram reduções mais acentuadas no comprimento, chegando a 7,09 ± 0,26 mm (56%), 6,07 ± 0,21 mm (48%) e 5,05 ± 0,37 mm (40%), respectivamente, indicando valores progressivamente inferiores do aumento da dose sobre o crescimento da parte aérea. Foi observado um efeito significativo da dose sobre o comprimento da parte aérea ($F_{13, 666} = 66,85$; $p < 0,0001$), com coeficiente de variação experimental de 21,72%, o que indica uma variação moderada em relação à média geral.

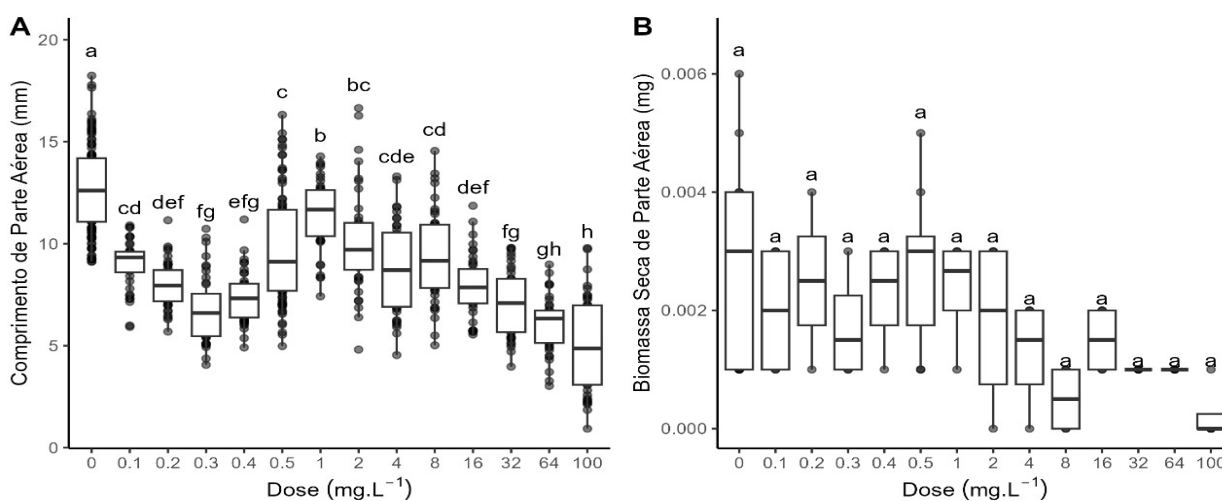
O tratamento controle (dose 0 mg·L⁻¹) apresentou biomassa média de 0,0048 ± 0,0004 mg, considerada como 100% da biomassa da parte aérea (Figura 44B). Com o aumento das doses do composto, observou-se redução progressiva da biomassa, indicando um efeito inibitório dependente da concentração.

A dose de 2 e 4 mg·L⁻¹ apresentaram redução para 0,0040 ± 0,0004 mg e 0,0040 ± 0,0006, respectivamente (83% em relação ao controle), enquanto as maiores doses (64 e 100 mg·L⁻¹) provocaram reduções mais acentuadas, chegando a 0,0025 ± 0,0003 e 0,0025 ± 0,0006 respectivamente (52% de redução em relação ao controle) (Tabela 22 - Apêndice E).

Houve também efeito significativo da dose sobre a biomassa da parte aérea da planta ($F_{13, 54} = 2,736$; $p = 0,00482$). Contudo, ao realizar as comparações múltiplas, não foram identificadas diferenças estatísticas entre as médias, as quais variaram de

0,00292 mg no tratamento controle (0 mg·L⁻¹) para 0,00025 mg na maior dose testada (100 mg·L⁻¹). Esse resultado sugere que, para a variável avaliada, as variações de dose não produziram efeitos detectáveis do ponto de vista estatístico, embora haja tendência de redução dos valores em doses mais elevadas.

Figura 44 – Boxplots representando o comprimento da parte aérea (A) e biomassa da parte aérea (B) de *Lactuca sativa* exposta a diferentes concentrações de ibuprofeno.



Os dados foram expressos em medianas e intervalos interquartílicos. As letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Autora (2025).

5.8.3 Índice de Toxicidade do ibuprofeno em *Lactuca sativa*

A Tabela 11 apresenta o Índice de Toxicidade (IT) observado em plântulas de alface submetidas a diferentes concentrações de ibuprofeno. O IT deve ser interpretado como resposta biológica relativa em condições laboratoriais controladas, não representando diretamente risco ambiental. O tratamento controle (dose 0) apresentou índice nulo de toxicidade ($100,00 \pm 1,09$), considerado como referência.

A partir da menor dose (0,1 mg·L⁻¹), já se observou redução significativa para $83,37 \pm 4,09\%$, com manutenção da toxicidade entre as doses de 0,1 e 0,5 mg·L⁻¹. A partir da dose de 1 mg·L⁻¹, o IT reduziu significativamente, com valores decrescendo progressivamente conforme o aumento da dose.

Nas doses mais elevadas (32, 64 e 100 mg·L⁻¹), os índices foram progressivamente reduzidos, alcançando os menores índices de toxicidade: $17,59 \pm$

0,88 (32), $13,50 \pm 1,35$ (64) e $9,23 \pm 0,28$ (100), todos significativamente diferentes do grupo controle. Estes resultados indicam uma clara resposta dose-dependente, com aumento do efeito fitotóxico em condições laboratoriais à medida que a concentração do composto aumentou.

Tabela 11 – Índice de Toxicidade em resposta a diferentes doses de ibuprofeno.

Ibuprofeno - Dose (mg·L ⁻¹)	Índice de Toxicidade (%) \pm EPM
0.0	100.00 \pm 1.09 ^a
0.1	83.37 \pm 4.09 ^b
0.2	82.77 \pm 1.28 ^b
0.3	81.00 \pm 1.77 ^b
0.4	80.35 \pm 0.52 ^b
0.5	56.53 \pm 2.46 ^c
1	48.21 \pm 2.53 ^{cd}
2	43.44 \pm 5.51 ^d
4	29.12 \pm 2.28 ^e
8	25.93 \pm 1.64 ^e
16	24.07 \pm 2.01 ^{ef}
32	17.59 \pm 0.88 ^{efg}
64	13.50 \pm 1.35 ^{fg}
100	9.23 \pm 0.28 ^g

Legenda: Erro padrão da média - EPM.

Fonte: Autora (2025).

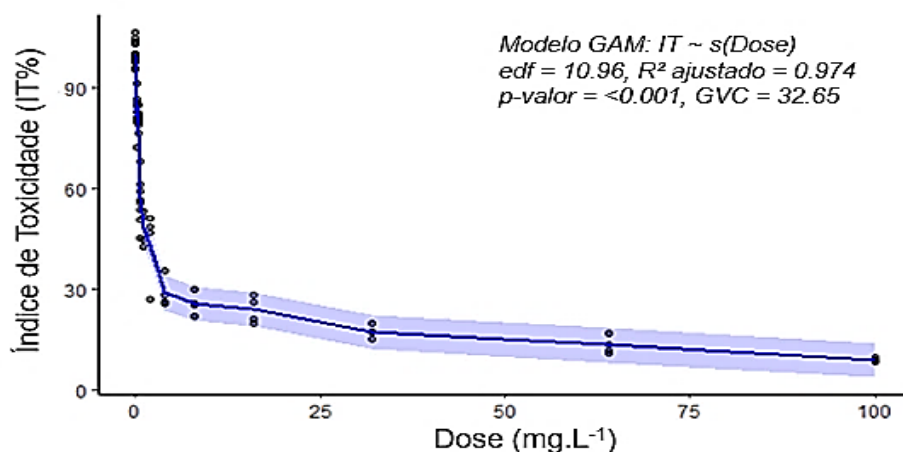
Logo, o IT variou de acordo com as doses do tratamento aplicadas. Para investigar essa relação, foram ajustados modelos aditivos generalizados (GAM) com diferentes graus de suavização ($k = 9, 12$ e 13). O modelo com $k = 12$ foi selecionado com base no menor valor de *Generalized Cross Validation* ($GCV = 32,656$) e no maior R^2 ajustado ($R^2 = 0,9738$), demonstrando bom ajuste e complexidade adequada.

A análise do modelo aditivo generalizado (GAM) selecionado revelou que o IT de *Lactuca sativa* varia significativamente em função da dose de ibuprofeno. O termo suavizador foi significativo ($p < 0,001$; $edf = 11,96$), indicando que a resposta biológica não segue comportamento estritamente linear ao longo do gradiente de concentrações. Observam-se valores mais elevados de IT nas menores doses, seguidos de uma tendência de atenuação das variações em concentrações intermediárias e elevadas. A significância global do modelo ($F = 203,9$; $p < 0,0001$) indica que a dose exerce efeito estatisticamente significativo sobre o IT de *Lactuca*

sativa.

A Figura 45 apresenta a curva ajustada pelo modelo, acompanhada dos intervalos de confiança de 95%, evidenciando o padrão de resposta ao longo das concentrações testadas. O comportamento observado indica redução inicial do IT com o aumento da concentração do composto, seguida de menor variação relativa em doses superiores, sugerindo modulação da intensidade do efeito fitotóxico sob condições laboratoriais controladas.

Figura 45 – Gráfico de linha do Índice de Toxicidade das plântulas em relação às doses.



Nota: Pontos representam observações experimentais. A linha indica a curva ajustada pelo modelo GAM e a faixa sombreada corresponde ao intervalo de confiança de 95%.

Fonte: Autora (2025).

O ibuprofeno (IBU), introduzido em 1969 como alternativa à aspirina, é atualmente um dos fármacos mais consumidos mundialmente. Aproximadamente 15% da dose administrada é excretada inalterada, enquanto o restante é eliminado na forma de metabólitos. Devido à sua ampla utilização, baixa degradação metabólica e remoção incompleta em estações de tratamento de esgoto ($\approx 90\%$), o ibuprofeno é considerado um poluente ambiental persistente, detectado em diferentes compartimentos, incluindo águas superficiais, sedimentos e solos agrícolas (Biczak *et al.*, 2024).

Do ponto de vista químico, o ibuprofeno é um ácido carboxílico fraco ($pK_a \approx 4,9$), cuja forma predominante depende do pH do meio. Em condições neutras ou

levemente alcalinas, o composto encontra-se majoritariamente ionizado (IBU⁻), resultante da dissociação do próton (H⁺) do grupo carboxila (-COOH) (CAS-PubChem, 2025). Nessa condição, o fármaco apresenta maior solubilidade em água e menor afinidade por matéria orgânica, o que aumenta sua mobilidade no solo e na água, e reduz sua sorção a partículas orgânicas e minerais (Hiller; Sebesta, 2017).

Essa alternância entre as formas iônica e neutra é fundamental para compreender o comportamento ambiental e biológico do fármaco, pois regula o equilíbrio entre mobilidade no substrato, disponibilidade para absorção radicular e capacidade de atravessar barreiras celulares (Di Baccio *et al.*, 2017; Oh *et al.*, 2016).

Além disso, sua solubilidade moderada e logP (coeficiente de partição octanol-água) intermediário favorecem tanto a mobilidade quanto à absorção pelas plantas, permitindo a translocação via xilema e floema (Di Baccio *et al.*, 2017). Essa capacidade de transporte interno amplia o risco de bioacumulação em tecidos vegetais e a possível transferência ao longo das cadeias alimentares (Christou *et al.*, 2019).

Em conjunto, essas propriedades físico-químicas determinam a biodisponibilidade e o potencial ecotoxicológico do ibuprofeno em ambientes terrestres, influenciando diretamente as interações com sementes, processos de germinação e respostas antioxidantes em plantas expostas (Biczak *et al.*, 2024). Essa relação entre características químicas e efeitos biológicos foi confirmada pelos resultados obtidos neste estudo.

A partir da concentração de 0,3 mg·L⁻¹, observou-se um ponto de inflexão na curva dose-resposta, com efeitos deletérios mais acentuados na germinação e no desenvolvimento das plântulas. Tanto a porcentagem de germinação (PG) quanto o índice de velocidade de germinação (IVG) apresentaram reduções expressivas, indicando que o ibuprofeno compromete não apenas a capacidade, mas também a velocidade de germinação, parâmetros essenciais para o estabelecimento das plantas em condições naturais.

Estudos anteriores corroboram esses resultados, demonstrando que o ibuprofeno pode afetar o desenvolvimento inicial de plântulas mesmo em concentrações ambientais. Silva *et al.*, (2023a), ao expor sementes de *Lactuca sativa* a 0,02 e 0,20 mg·L⁻¹, observaram reduções significativas no crescimento radicular (18,72%) e da parte aérea (20,72%). Em doses mais elevadas (600 mg·L⁻¹), as

reduções foram ainda mais acentuadas, reforçando o padrão dose-resposta também observado neste estudo, com queda de 61,67% na PG e 75,08% no IVG.

Silva e colaboradores (2023b) também verificaram efeitos tóxicos do ibuprofeno em *Triticum aestivum* (trigo), mesmo em baixas concentrações. Embora a dose de 0,20 mg·L⁻¹ não tenha afetado significativamente a germinação, houve redução de 17,14% no IVG e prejuízos no crescimento radicular e da parte aérea. Na dose de 600 mg·L⁻¹, a germinação foi reduzida em 20%. Esses dados reforçam a sensibilidade interespecífica e a relevância do IVG como indicador de efeitos subletais.

Resultados semelhantes foram reportados por Rede *et al.*, (2019), que observaram ausência de efeitos significativos na germinação de *Lactuca sativa* exposta a concentrações de 0,1 a 1000 µg·L⁻¹ de AINEs, mas destacaram o potencial tóxico de misturas de fármacos, condição mais próxima à realidade ambiental.

De modo consistente, Pino *et al.*, (2016) demonstraram que 12 de 15 fármacos avaliados inibiram o alongamento da radícula e do hipocótilo em *Lactuca sativa*. Ainda que as concentrações de até 1000 mg·L⁻¹ dos AINEs (ibuprofeno, diclofenaco, paracetamol e ácido salicílico) tenham causado inibição de germinação inferior a 12%, observaram-se efeitos subletais evidentes, como radículas finas, curvadas e manchas necróticas em doses entre 250 e 1000 mg·L⁻¹. Tais efeitos morfológicos são compatíveis com as alterações observadas neste estudo, principalmente em concentrações superiores a 8 mg·L⁻¹.

Schmidt e Redshaw (2015) relataram respostas semelhantes em *Raphanus sativus* (rabanete) e *Lactuca sativa*, com comprometimento do alongamento radicular e da emergência de cotilédones mesmo em concentrações ambientalmente relevantes (10 µg·L⁻¹ e 1 mg·L⁻¹). Esses autores destacam a importância de protocolos padronizados para avaliar contaminantes emergentes, dada a variação interespecífica das respostas fitotóxicas.

Hammad *et al.*, (2018) também observaram que, embora *Zea mays* (milho) exposto a 2,5 mg·L⁻¹ de ibuprofeno não apresentasse redução significativa na germinação, ocorreram alterações fisiológicas e bioquímicas. Padrões semelhantes foram relatados por An *et al.*, (2009) em *Triticum aestivum* (trigo) exposto ao paracetamol, sugerindo que a germinação pode ser protegida por mecanismos morfológicos, como a atuação do tegumento como barreira físico-química (Hillis *et al.*,

2011; Silva, 2023).

De forma geral, os parâmetros avaliados em *Lactuca sativa* indicaram que a germinação, o crescimento e a biomassa das plântulas foram significativamente reduzidos em comparação ao grupo controle, evidenciando o potencial fitotóxico do IBU, mesmo em concentrações ambientalmente relevantes. Esses resultados indicam que o composto foi absorvido pelas raízes, interferindo em processos fisiológicos essenciais ao desenvolvimento inicial das plântulas (Garduño-Jiménez; Carter, 2024).

Quanto ao alongamento radicular, em nenhuma das concentrações testadas, os hipocótilos e radículas de *Lactuca sativa* apresentaram crescimento superior ao controle; ao contrário, a partir de $0,3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ houve inibição progressiva do alongamento. Essa tendência está de acordo com Araújo *et al.*, (2023), que relataram redução de até 83% no crescimento do hipocótilo em plântulas expostas a paracetamol, reforçando que contaminantes farmacológicos podem comprometer significativamente o desenvolvimento inicial das plantas.

O sistema radicular se destaca como a principal via de entrada de contaminantes presentes no solo e na água, sendo, ao mesmo tempo, a estrutura mais sensível ao estresse ambiental (Da Silva *et al.*, 2024). Essa vulnerabilidade se reflete em alterações fisiológicas e morfológicas significativas, especialmente quando as plantas são expostas a compostos bioativos como os fármacos (Schmidt; Redshaw, 2015; Pino *et al.*, 2016; Rede *et al.*, 2019).

A presença desses contaminantes no solo pode afetar o metabolismo oxidativo e os mecanismos antioxidantes, com respostas dependentes da concentração, natureza química do composto e sensibilidade da espécie (Minden *et al.*, 2017). Nesse contexto, características físico-químicas do solo exercem papel determinante sobre a biodisponibilidade dos fármacos, modulando tanto os níveis de bioacumulação quanto os impactos sobre o crescimento e o desenvolvimento vegetal (Christou *et al.*, 2019).

Esse conjunto de evidências é reforçado por Wijaya e colaboradores (2020), que observaram forte redução no crescimento de *Vigna unguiculata* (feijão-caupi), com queda nos pigmentos fotossintéticos e indução de estresse oxidativo após exposição ao ibuprofeno em concentrações entre 400 e $2000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Os autores também confirmaram a absorção e a translocação do fármaco nos tecidos, destacando alterações fisiológicas e respostas dose-dependentes compatíveis com

as observadas neste estudo.

Essa capacidade de absorção e transporte interno é amplamente corroborada por pesquisas que demonstram que fármacos podem ser incorporados por difusão passiva e se acumular nos tecidos vegetais, interferindo no metabolismo oxidativo, aumentando o estresse fisiológico e comprometendo o desenvolvimento da planta (Calderón-Preciado *et al.*, 2012; Christou *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2019; Garduño-Jiménez; Carter, 2024; Biczak *et al.*, 2024).

Os efeitos do ibuprofeno sobre *Lactuca sativa* podem comprometer significativamente o aparato fotossintético e o metabolismo antioxidante, como sugerem estudos realizados em outras espécies vegetais e microalgas. Em plantas como *Zea mays*, a exposição ao fármaco reduziu em mais de 50% os teores de clorofilas e carotenoides, com alterações dependentes da concentração e mudanças expressivas na razão clorofila a/b (Biczak *et al.*, 2024).

Resultados semelhantes foram descritos em microalgas e plantas aquáticas, como *Scenedesmus rubescens*, *Scenedesmus obliquus* e *Lemna gibba*, onde o ibuprofeno causou inibição do crescimento, modificações morfológicas e diminuição de pigmentos fotossintéticos (Moro *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2020; Di Baccio *et al.*, 2017). A redução de carotenoides compromete a capacidade antioxidante das células vegetais, favorecendo o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS) e o estabelecimento de estresse oxidativo (Wijaya *et al.*, 2020).

A ação oxidativa do fármaco é corroborada por alterações em parâmetros de fluorescência da clorofila, como a razão Fv/Fm, que indicam danos ao fotossistema II (PSII). Tais danos afetam a eficiência fotoquímica e a conversão de energia luminosa, comprometendo a assimilação de carbono e o balanço energético da planta (Jiao; Hu, 2025). Paralelamente, respostas hormonais moduladas por ácido abscísico (ABA), jasmonatos (JAs) e ácido salicílico (AS) foram descritas em *Basella alba* (espinafre indiano), sugerindo ativação de vias de defesa antioxidante e de regulação do crescimento (Zhang *et al.*, 2021). No entanto, esses mecanismos parecem insuficientes para neutralizar os efeitos tóxicos em concentrações elevadas, o que explica a sensibilidade fisiológica observada também em *Lactuca sativa*.

As reduções significativas na biomassa radicular e na parte aérea confirmam o impacto do ibuprofeno sobre o crescimento vegetal. No presente estudo, a exposição a 8 e 100 mg·L⁻¹ levou a reduções médias de 17% e 9% na massa radicular

e 52% na biomassa da parte aérea, respectivamente, evidenciando inibição do crescimento e possível interferência na alocação de recursos energéticos. Esses achados estão em consonância com os dados de Araújo *et al.*, (2023), que também relataram redução de crescimento em plantas expostas ao paracetamol.

Segundo Di Baccio *et al.*, (2017), o ibuprofeno e outros compostos farmacêuticos interferem na atividade de enzimas antioxidantes e na translocação de nutrientes, fatores que comprometem o equilíbrio redox e a nutrição vegetal, levando à queda de biomassa, especialmente em doses superiores a 8 mg·L⁻¹. Assim, a toxicidade observada em *Lactuca sativa* reflete um processo multifatorial envolvendo estresse oxidativo, distúrbios hormonais e disfunções fotossintéticas, típicos da ação de AINEs em plantas superiores.

O IT estimado evidenciaram reduções expressivas a partir de 0,5 mg·L⁻¹, atingindo valores inferiores a 10% nas maiores concentrações. Esses dados reforçam o potencial fitotóxico do ibuprofeno mesmo em níveis relativamente baixos, corroborando os achados de Silva *et al.*, (2023b), que observaram IT de 13,37% em *Triticum aestivum* exposto a 0,20 mg·L⁻¹ e de 30,56% em 600 mg·L⁻¹. No presente estudo, o IT de 9,2% em 100 mg·L⁻¹ foi inferior ao registrado pelos autores, possivelmente devido a diferenças interespecíficas e metodológicas, como o tempo de exposição (168 h *versus* 72 h) e o tipo de cultivar testado. Considerando o limiar de 80% como indicativo de toxicidade (Gerber *et al.*, 2017), todas as concentrações a partir de 0,5 mg·L⁻¹ já se mostraram tóxicas, evidenciando que AINEs, mesmo em concentrações residuais, apresentam riscos significativos ao desenvolvimento vegetal.

O ibuprofeno é classificado como um contaminante emergente, com detecções variando de 150 ng·L⁻¹ a 10 µg·L⁻¹ em águas e de 5 a 900 ng·g⁻¹ em sedimentos (Batucan *et al.*, 2022). Tais níveis, ainda que baixos, são suficientes para causar efeitos fisiológicos e morfológicos detectáveis em espécies sensíveis, como *Lactuca sativa*. Esses resultados evidenciam o potencial de bioacumulação e transferência trófica do composto, reforçando a necessidade de investigações ecotoxicológicas mais abrangentes (Jan-Roblero; Cruz-Maya, 2023; Silva *et al.*, 2023b; Garduño-Jiménez; Carter, 2024).

De modo geral, os resultados deste estudo confirmam que fármacos, mesmo em concentrações ambientalmente relevantes, podem comprometer o crescimento

inicial das plantas. O sistema radicular, por sua exposição direta, constitui o principal alvo dos efeitos tóxicos, sendo um indicador sensível de fitotoxicidade. Assim, variáveis como o comprimento da radícula, o crescimento do hipocótilo e a biomassa constituem parâmetros robustos para avaliar o impacto de contaminantes emergentes sobre o desenvolvimento vegetal (Priac *et al.*, 2017; Da Silva *et al.*, 2024; Garduño-Jiménez; Carter, 2024).

Embora as pesquisas na área tenham avançado consideravelmente, Christou *et al.*, (2019) enfatizam a importância de avaliar a absorção de contaminantes por plantas em cenários agrícolas reais, nos quais os vegetais são expostos à disponibilidade hídrica natural e aos contaminantes presentes como misturas multicomponentes no ambiente.

Nesse contexto, a revisão sistemática conduzida por Nóbrega *et al.*, (2025) destacou importantes lacunas no conhecimento ecotoxicológico dos fármacos, especialmente dos AINEs, como o ibuprofeno. Ao analisar um portfólio bibliográfico de 27 estudos publicados entre 2015 e 2025, evidenciaram que a maioria das pesquisas se concentra na fitotoxicidade aguda de antibióticos, enquanto as avaliações crônicas envolvendo AINEs permanecem escassas. Ainda segundo os autores, as sementes de *Lactuca sativa* foram as mais utilizadas como bioindicadoras, reforçando sua sensibilidade às substâncias tóxicas, como também verificado nos experimentos aqui descritos.

A partir dessa lacuna científica, destaca-se a relevância de ampliar as investigações sobre os efeitos subletais e cumulativos de fármacos como o ibuprofeno e seus metabólitos, sobretudo em cenários de exposição prolongada e em concentrações ambientalmente relevantes. Assim, os resultados desta pesquisa contribuem de forma significativa para o avanço do conhecimento acerca dos impactos associados aos AINEs, em particular o ibuprofeno, evidenciando que tais compostos podem representar riscos ainda pouco mensurados aos organismos e aos processos ecológicos que sustentam os ecossistemas. Dessa forma, é imprescindível fortalecer estratégias regulatórias que contemplem os contaminantes emergentes e promover práticas de monitoramento e mitigação mais eficazes, assegurando tanto a qualidade ambiental quanto a sustentabilidade dos sistemas naturais diante do crescente aporte de resíduos farmacêuticos.

5.8.4 Limitações do bioensaio ecotoxicológico

O presente estudo foi conduzido sob condições laboratoriais controladas, sendo reconhecidas limitações metodológicas inerentes ao delineamento experimental adotado.

Uma das limitações está relacionada à mensuração dos parâmetros morfométricos, realizada por procedimento manual. Embora tenham sido empregados critérios de padronização e cuidado analítico, medições manuais estão naturalmente sujeitas a pequenas variações associadas ao operador e à própria resolução do instrumento de medida. Essas variações podem introduzir dispersões residuais nas estimativas de comprimento radicular e da parte aérea. O impacto dessa limitação é considerado moderado, uma vez que não compromete a identificação de tendências gerais, mas pode influenciar a precisão de medidas individuais. Como aprimoramento metodológico, estudos futuros podem incorporar sistemas de mensuração digital e análise automatizada de imagens.

Outra limitação relevante refere-se à ausência de análises químicas confirmatórias voltadas à quantificação da absorção, translocação ou eventual transformação do ibuprofeno nos tecidos vegetais. Dessa forma, as interpretações apresentadas baseiam-se exclusivamente nas respostas biológicas observadas, não sendo possível estabelecer associações diretas entre os efeitos fisiológicos e possíveis concentrações internas do composto. O impacto dessa limitação é considerado significativo, pois restringe a compreensão mais aprofundada dos processos envolvidos. Como perspectiva analítica complementar, investigações futuras podem incluir técnicas instrumentais de maior sensibilidade, como LC-MS/MS.

5.8.5 Perspectivas de pesquisa para ensaios ecotoxicológicos

Os resultados obtidos evidenciam oportunidades relevantes para aprofundamento investigativo. Estudos futuros podem incorporar abordagens analíticas confirmatórias para avaliar a dinâmica do ibuprofeno em sistemas vegetais, incluindo absorção, distribuição e formação de metabólitos. A integração entre respostas biológicas e quantificação química permitirá maior robustez na interpretação dos mecanismos de ação do contaminante.

A ampliação dos parâmetros avaliados, contemplando biomarcadores fisiológicos e bioquímicos (ex.: estresse oxidativo, integridade celular, alterações fotossintéticas), poderá contribuir para uma caracterização ecotoxicológica mais abrangente.

Investigações adicionais envolvendo diferentes espécies vegetais e condições ambientais também poderão auxiliar na compreensão da variabilidade interespecífica e na relevância ecológica dos efeitos observados.

Considerando a persistência ambiental de fármacos e seus produtos de transformação, destaca-se ainda a importância de estudos voltados à avaliação ecotoxicológica de metabólitos, aspecto crítico e ainda pouco explorado.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente pesquisa investigou o potencial de microrganismos ambientais como ferramentas biotecnológicas aplicadas à transformação de fármacos frequentemente detectados em matrizes ambientais, integrando isolamento microbiológico, caracterização enzimática, ensaios de transformação do ibuprofeno e avaliação fitotoxicológica em *Lactuca sativa*.

Foram obtidos 70 microrganismos a partir de sedimentos do riacho Arroio Dourado, evidenciando a diversidade microbiana associada ao ambiente estudado. Entre os isolados fúngicos, destacaram-se as linhagens *Geotrichum* sp._FAR003, *Geotrichum* sp._FAR005, *Talaromyces* sp._FAR012, *Mucor* sp._FAR014 e *Mucor* sp._FAR018, selecionadas com base em critérios experimentais de viabilidade metabólica na presença dos compostos testados.

A caracterização enzimática revelou a presença de atividades oxidativas associadas a enzimas ligninolíticas, incluindo lacase, manganês e lignina peroxidase, compatíveis com sistemas descritos na literatura como relevantes na transformação de compostos aromáticos. Embora as intensidades enzimáticas tenham variado entre os isolados, os resultados indicam a existência de repertório metabólico potencialmente envolvido em processos de transformação de contaminantes orgânicos.

Nos ensaios com ibuprofeno, observou-se transformação parcial do fármaco, com formação de metabólitos hidroxilados detectados por HPLC e UPLC-MS. O isolado *Talaromyces* sp._FAR012 apresentou maior conversão relativa, enquanto *Geotrichum* sp._FAR003 demonstrou capacidade consistente de modificação estrutural. À luz das evidências analíticas obtidas, os resultados sustentam com maior precisão a ocorrência de biotransformação, caracterizada pela conversão parcial do composto original e geração de produtos de transformação, sem comprovação de mineralização ou remoção quantitativa total.

A avaliação fitotoxicológica em *Lactuca sativa* demonstrou resposta biológica dependente da concentração, com redução progressiva da germinação e dos parâmetros de crescimento. Esses achados confirmam a sensibilidade do modelo vegetal às condições experimentais usadas e reforçam a relevância de considerar efeitos subletais em estudos envolvendo fármacos em matrizes ambientais.

6.1 Principais contribuições científicas desta pesquisa

Esta investigação permitiu destacar quatro aspectos centrais:

- ✓ Isolamento de microrganismos ambientais tolerantes à presença de fármacos;
- ✓ Detecção de atividades enzimáticas oxidativas em isolados fúngicos;
- ✓ Demonstração de biotransformação parcial do ibuprofeno e identificação de metabólitos;
- ✓ Evidência de fitotoxicidade do ibuprofeno em condições laboratoriais controladas.

6.2 Limitações do estudo

O estudo foi conduzido em escala laboratorial, não reproduzindo integralmente a complexidade de sistemas ambientais naturais ou de tratamento em larga escala. A identificação dos metabólitos concentrou-se na caracterização química, sem avaliação ecotoxicológica específica dos produtos de transformação.

A análise ecotoxicológica foi restrita a um único modelo vegetal, limitando inferências interespécies. Adicionalmente, a ausência de sistemas de biorreatores impediu o controle refinado de variáveis operacionais relevantes.

Essas limitações não invalidam os resultados obtidos, mas delimitam o escopo interpretativo e indicam oportunidades de aprofundamento experimental.

6.3 Perspectivas e estudos futuros

Investigações futuras poderão incorporar consórcios microbianos, expandir modelos biológicos e integrar quantificação química e respostas fisiológicas. A aplicação de técnicas analíticas avançadas e sistemas controlados poderá ampliar a compreensão dos mecanismos de transformação observados.

Os resultados obtidos sugerem que os isolados avaliados representam modelos promissores para estudos exploratórios envolvendo a transformação de contaminantes emergentes, contribuindo para o avanço do entendimento dos processos microbianos e enzimáticos associados a esses compostos.

7. CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo evidenciam que fungos filamentosos ambientais provenientes da matriz sedimentar do riacho Arroio Dourado constituem modelos biologicamente relevantes para investigações envolvendo a transformação de fármacos classificados como contaminantes emergentes.

A integração entre experimentação laboratorial e caracterização enzimática permitiu avançar na compreensão dos mecanismos microbianos envolvidos na modificação estrutural do ibuprofeno. De forma complementar, os ensaios ecotoxicológicos possibilitaram avaliar a resposta biológica do composto em *Lactuca sativa*, ampliando a contextualização ambiental do estudo.

Embora as transformações observadas tenham sido parciais e não permitam inferir remoção completa (mineralização) do composto, os resultados demonstram a capacidade metabólica dos isolados avaliados em promover biotransformações consistentes com rotas descritas na literatura. Esses achados ampliam o entendimento dos processos fúngicos envolvidos na interação com fármacos em condições controladas.

No contexto ambiental, os dados obtidos reforçam a relevância ecotoxicológica do ibuprofeno, evidenciando efeitos fitotóxicos em *Lactuca sativa*, o que corrobora a necessidade de abordagens complementares para avaliação de risco de contaminantes emergentes.

A presente pesquisa contribui para o avanço do conhecimento em biotecnologia ambiental ao explorar o potencial metabólico de fungos isolados de ambiente aquático natural, oferecendo subsídios para investigações futuras voltadas à otimização de sistemas biológicos e enzimáticos aplicáveis à mitigação de micropoluentes.

REFERÊNCIAS

ABBADE, Leticia Caravita; TAKAKI, Massanori. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Tabebuia roseoalba* (Ridl.) Sandwith-Bignoniaceae, submetidas ao armazenamento. **Revista Árvore**, v. 38, p. 233-240, 2014.

ADEEL, Muhammad *et al.* Environmental impact of estrogens on human, animal and plant life: a critical review. **Environment international**, v. 99, p. 107-119, 2017.

AGRAWAL, Komal; VERMA, Pradeep. Multicopper oxidase laccases with distinguished spectral properties: A new outlook. **Heliyon, Elsevier BV**, v. 6, n. 5, e03972, mai. 2020. doi: 10.1016/j.heliyon. 2020.e03972.

AGUILAR-ROMERO, I. *et al.* Ibuprofen-enhanced biodegradation in solution and sewage sludge by a mineralizing microbial consortium: shift in associated bacterial communities. **Journal of Hazardous Materials**, v. 464, p. 132970, 2024.

AKAY, Caglar; TEZEL, Ulas. Biotransformation of Acetaminophen by intact cells and crude enzymes of bacteria: A comparative study and modelling. **Science of the total environment**, v. 703, p. 134990, 2020.

AKROUT, Imen *et al.* Valorizing fungal diversity for the degradation of fluoroquinolones. **Heliyon**, v. 10, n. 10, 2024.

ALCALÁ, I. M., NAVARRO, J. M. G., LÓPEZ, C. F. Pharmaceutical biological degradation, sorption and mass balance determination in a conventional activated-sludge wastewater-treatment plant from Murcia, Spain. **Chem. Eng. J.**, v. 316, p. 332-340, 2017.

ALEXANDRI, Maria *et al.* Valorising agro-industrial wastes within the circular bioeconomy concept: The case of defatted rice bran with emphasis on bioconversion strategies. **Fermentation**, v. 6, n. 2, p. 42, 2020.

ALFAHL, Zina *et al.* Antimicrobial resistance detection methods in water environments: a scoping review. **Sustainable Microbiology**, v. 1, n. 1, p. qvae034, 2024.

AL-GHEETHI, Adel *et al.* Optimizing of pharmaceutical active compounds biodegradability in secondary effluents by β -lactamase from *Bacillus subtilis* using central composite design. **Journal of hazardous materials**, v. 365, p. 883-894, 2019.

ALI, Jasarat *et al.* Exploiting microbial enzymes for augmenting crop production. In: **Enzymes in food biotechnology**. Academic Press, 2019. p. 503-519.

ALMEIDA, D. J. C.; MENDONÇA, L. A. Uso irracional dos AINES, a automedicação problema de saúde pública brasileira. **COGNITIONIS Scientific Journal**, v. 7, n. 2, e475, 2024.

ALVARENGA, N. *et al.* Biodegradation of *Chlorpyrifos* by whole cells of marine-derived fungi *Aspergillus sydowii* and *Trichoderma* sp. **Microbial and Biochemical**

Technology, v. 7, p. 133-139, 2015.

ALVARINO, T. *et al.* Biodegradation pathways and toxicity reduction of ibuprofen by activated sludge microorganisms. **Chemosphere**, v. 341, p. 140088, 2023.

ALYGIZAKIS, N.A. *et al.* Evaluation of chemical and biological contaminants of emerging concern in treated wastewater intended for agricultural reuse. **Environment International**. 2020; 138:105597.

AMBIENTE BRASIL. Artigo Agropecuário *on-line*. **Biorremediação**. 2022. Disponível em: https://ambientes.ambientebrasil.com.br/agropecuario/artigo_agropecuario/biorremediacao.html#google_vignette Acesso em: 13 de aju. 2024.

AMENABAR, Maximiliano J.; BOYD, Eric S. A review of the mechanisms of mineral-based metabolism in early Earth analog rock-hosted hydrothermal ecosystems. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 35, n. 2, p. 29, 2019.

AMOBONYE, Ayodeji *et al.* The potential of fungi in the bioremediation of pharmaceutically active compounds: a comprehensive review. **Frontiers in microbiology**, v. 14, p. 1207792, 2023.

AN, J.; ZHOU, Q.; SUN, F.; ZHANG, L. Ecotoxicological effects of paracetamol on seed germination and seedling development of wheat (*Triticum aestivum* L.). **Journal of Hazardous Materials**, v. 169, n. 1-3, p. 751-757, 2009.

ANDRADE, Matheus Vinicius Vidal de; GALHARDO, Cristiane Xavier. Bioremediation Of The São Francisco River Effluents In Petrolina-Pe: Treatment Perspectives. **Journal on Innovation and Sustainability RISUS**, v. 12, n. 1, p. 70-82, 2021.

ANDRIOLI, Andrea *et al.* Caracterização do insumo ibuprofeno e a correlação com propriedades de dissolução e de fluxo. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, n. 3, 2014.

ANTONOPOULOU, Maria *et al.* An overview of homogeneous and heterogeneous photocatalysis applications for the removal of pharmaceutical compounds from real or synthetic hospital wastewaters under lab or pilot scale. **Science of the Total Environment**, p. 144163, 2020.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**, Monografia: Insumos Farmacêuticos e Especialidade. In: 6. ed. Brasília, Brasil: 2019. v. 2 IF225-00.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Microbiologia clínica para o controle de infecção relacionada à assistência à saúde: Módulo 8- Detecção e Identificação de Fungos de Importância Médica**. 2022. Disponível em: <https://gqr.sh/6MQD>. Acesso em: out. 2024.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Nota Técnica GVIMS/GGTES/ANVISA nº 04/2021**: Orientações para vigilância, identificação,

prevenção e controle de infecções fúngicas invasivas em serviços de saúde no contexto da pandemia da COVID-19. Brasília, DF, 2021. P. 1-39.

ANZG. **Australian and New Zealand Guidelines for Fresh and Marine Water Quality**. Canberra: Australian Government & New Zealand Ministry for the Environment, 2018. <https://www.waterquality.gov.au/guidelines/anz-fresh-marine>. Acesso em 23 ago.2025.

ARAUJO, Sabryna Couto *et al.* Optimization of lipase production by *Penicillium roqueforti* ATCC 10110 through solid-state fermentation using agro-industrial residue based on a univariate analysis. **Preparative biochemistry & biotechnology**, v. 52, n. 3, p. 325-330, 2022.

ARAÚJO, V. F. C. *et al.* **Toxicidade de paracetamol em sementes de alface (*Lactuca sativa*)**. In: Conservação e Biodiversidade Amazônica: potencialidade e incertezas. v. 2. São Paulo: Editora Científica Digital, 2023. p. 138-145.

ARLOS, M. J. *et al.* Modeling the exposure of wild fish to endocrine active chemicals: potential linkages of total estrogenicity to field-observed intersex. **Water Research**, v. 139, p. 187-197, 2018.

ARUN, K. B. *et al.* Filamentous fungi for pharmaceutical compounds degradation in the environment: A sustainable approach. **Environmental Technology & Innovation**, v. 31, p. 103182, 2023.

AUSTRALIA. National Health and Medical Research Council (NHMRC); Natural Resource Management Ministerial Council (NRMMC). Australian Drinking Water Guidelines: **Paper 6 – National Water Quality Management Strategy. Version 4.0, updated June 2025**. Canberra: Commonwealth of Australia. ISBN 1864965118. Disponível em: <https://www.nhmrc.gov.au>. Acesso em: 27 out. 2025.

AYDEMIR, Duygu; ULUSU, Nuriye Nuray. The impact of the endocrine-disrupting chemicals on the glucose-6-phosphate dehydrogenase enzyme activity. **Frontiers in Pharmacology**, v. 14, p. 1133741, 2023.

AZUBUIKE, CC, CHIKERE, CB E OKPOKWASILI, Técnicas de biorremediação do GC classificação baseada no local da aplicação: princípios, vantagens, limitações e perspectivas. **World J Microbiol Biotec.** 32, 180. (2016).

BAKARE-ABIDOLA, Taiwo; OLAOYE, Jelil. Environmental Policy and Governance of Emerging Contaminants in Drinking Water: A Comparative Analysis of Global Regulations and Remediation Strategies. **Path of Science**, v. 11, n. 4, p. 7001-7008, 2025.

BANKOLE, Paul Olusegun *et al.* Novel cobiomass degradation of NSAIDs by two wood rot fungi, *Ganoderma applanatum* and *Laetiporus sulphureus*: ligninolytic enzymes induction, isotherm and kinetic studies. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 203, p. 110997, 2020.

BARRIOS-ESTRADA, Carlos *et al.* Emergent contaminants: endocrine disruptors and their laccase-assisted degradation-a review. **Science of the total environment**, v. 612, p. 1516-1531, 2018.

BARROS, Maria Gabriela Azevedo. **Avaliação do potencial biocatalítico de Fungos Endofíticos de plantas nativas do oeste paranaense** / Maria Gabriela Azevedo Barros. Tese (Doutorado) - Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Instituto Latino Americano de Tecnologia, Infraestrutura e Território, Pós-Graduação Interdisciplinar em Energia e Sustentabilidade. Foz do Iguaçu - PR, 2025.

BARROSO, Pedro José *et al.* Emerging contaminants in the atmosphere: Analysis, occurrence and future challenges. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 49, n. 2, p. 104-171, 2019.

BASF. **Ficha com dados de segurança. Ibuprofeno**. 2025. Disponível em: [file:///E:/Downloads/Ibuprofeno+25_30076127_SDS_GEN_BR_pt_7-0%20\(3\).pdf](file:///E:/Downloads/Ibuprofeno+25_30076127_SDS_GEN_BR_pt_7-0%20(3).pdf). Acesso em: 10 de mar. 2025.

BATUCAN, N. S. P. *et al.* Medicating the environment? A critical review on the risks of carbamazepine, diclofenac and ibuprofen to aquatic organisms. **Environmental Advances**, v. 7, 100164, 2022.

BAYRAMOGLU, Gulay; ARICA, Mehmet Yakup. Adsorption of Congo Red dye by native amine and carboxyl modified biomass of *Funalia troglia*: Isotherms, kinetics and thermodynamics mechanisms. **Korean Journal of Chemical Engineering**, v. 35, n. 6, p. 1303-1311, 2018.

BEEK, Tim Aus Der *et al.* Pharmaceuticals in the environment-Global occurrences and perspectives. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 35, n. 4, p. 823-835, 2016.

BELL, Elizabeth L. *et al.* Natural diversity screening, assay development, and characterization of nylon-6 enzymatic depolymerization. **Nature Communications**, v. 15, n. 1, p. 1217, 2024.

BENAVIDES, V. *et al.* Enhancing laccase and manganese peroxidase activity in white-rot fungi: metal-fungi interaction mechanisms. **Agronomy**, v. 14, n. 11, p. 2562, 2024. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4395/14/11/2562>.

BERNSTEIN, A. **Contaminantes emergentes na água**. Revista Educação Pública, Rio de Janeiro, v. 22, n. 34, 2022. Disponível em: <https://educacaopublica.cecierj.edu.br/artigos/22/34/contaminantes-emergentes-na-agua>. Acesso em: 6 set. 2025.

BERTICELLI, R. *et al.* Compostagem como Alternativa de Biorremediação De Áreas Contaminadas. **Revista CIATEC - UPF**, v. 8, n. 1, p. 12-28, 2016.

BHARAGAVA, Ram Naresh; SAXENA, Gaurav; MULLA, Sikandar I. Introduction to industrial wastes containing organic and inorganic pollutants and bioremediation approaches for environmental management. In: **Bioremediation of industrial waste**

for environmental safety. Springer, Singapore, 2020. p. 1-18.

BILA, D. M. *et al.* Contaminantes emergentes e indicadores de contaminação em ambientes costeiros brasileiros: ocorrência, distribuição geográfica e procedimentos analíticos utilizados. **Revista Brasileira de Meio Ambiente**, v. 9, n. 3, p. 1-22, 2023. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/374416685>

BILAL, Muhammad *et al.* Emerging contaminants of high concern and their enzyme-assisted biodegradation-a review. **Environment international**, v. 124, p. 336-353, 2019a.

BILAL, Muhammad *et al.* Hazardous contaminants in the environment and their laccase-assisted degradation-a review. **Journal of environmental management**, v. 234, p. 253-264, 2019b.

BISOGNIN, Ramiro Pereira; WOLFF, Delmira Beatriz; CARISSIMI, Elvis. Revisão sobre fármacos no ambiente. **Revista DAE**, v. 66, n. 210, p. 78-95, 2018.

BRAGANCA, Idalina *et al.* QuEChERS: a new sample preparation approach for the determination of ibuprofen and its metabolites in soils. **Science of the Total Environment**, v. 433, p. 281-289, 2012.

BRANCO, Felipe Ohade Lopes *et al.* Contaminantes Emergentes nas Bacias Hidrográficas Brasileiras e seus potenciais efeitos a espécies ameaçadas de extinção. **Revista Brasileira de Meio Ambiente**, v. 9, n. 2, 2021.

BRANCO, Felipe Ohade Lopes *et al.* Contaminantes emergentes nas bacias hidrográficas brasileiras e seus potenciais efeitos a espécies ameaçadas de extinção. **Revista Brasileira de Meio Ambiente**, v. 9, n. 2, 2021.

BRASIL, Ministério da Saúde, **Portaria de Consolidação nº 05/2017**. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para o consumo humano e seu padrão de potabilidade. Brasília: Diário Oficial da União, 2017.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Instrução Normativa nº 36**, de 21 de agosto de 2019. Dispõe sobre boas práticas de fabricação complementares a insumos e medicamentos biológicos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 22 ago. 2019.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 71**, de 22 de dezembro de 2009. Dispõe sobre rotulagem de medicamentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 23 dez. 2009.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 200**, de 26 de dezembro de 2017. Estabelece critérios para concessão e renovação do registro de medicamentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 27 dez. 2017.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº 357**, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais. **Diário Oficial da União**, Brasília, 18 mar. 2005.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº 396**, de 3 de abril de

2008. Dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento das águas subterrâneas. **Diário Oficial da União**, Brasília, 7 abr. 2008.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. *Resolução nº 430*, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes. **Diário Oficial da União**, Brasília, 16 maio 2011.

BRASIL. *Decreto nº 10.388*, de 5 de junho de 2020. Regulamenta o §1º do art. 33 da Lei nº 12.305/2010 e institui o sistema de logística reversa de medicamentos domiciliares. **Diário Oficial da União**, Brasília, 8 jun. 2020.

BRASIL. Ministério das Cidades. Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental. **Sistema Nacional de Informações em Saneamento Básico - SINISA 2025**. Brasília -DF. 2025a.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária - MAPA. **Regras para Análise de Sementes** - RAS. 2025b. Disponível em: <https://wikisda.agricultura.gov.br>. Acesso em 28 mar de 2025.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento **Glossário ilustrado de morfologia** / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. - Brasília : Mapa/ACS, 2009. 406 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 888, de 4 de maio de 2021**. Altera o Anexo XX da Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017, para dispor sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Brasília: Diário Oficial da União, 07 de maio de 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Relação Nacional de Medicamentos Essenciais: Rename 2020**. Brasília: Ministério da Saúde, 2020a. 217 p.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). **Resolução n.º 357, de 17 de março de 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Brasília, DF, Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, de 18 de março de 2005.

BRASIL. **LEI Nº 14.026, de 15 de julho de 2020**. Atualiza o marco legal do saneamento básico e altera a Lei nº 9.984, de 17 de julho de 2000, para atribuir à Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico (ANA) competência para editar normas de referência sobre o serviço de saneamento. Brasília: DOU, 2020b.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention; National Institutes of Health (NIH). **Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)**. 6th ed. Washington, DC; 2020. Disponível em: <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/97733>. Acesso em 23 set. 2023.

CALDERÓN-PRECIADO, D. *et al.* Screening of 47 organic microcontaminants in agricultural irrigation waters and their soil loading. **Water Research**, v. 45, n. 1, p. 221-231, 2011.

CALDERÓN-PRECIADO, D. *et al.* Uptake of organic emergent contaminants in spath and lettuce: an in vitro experiment. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 8, p. 2000-2007, 2012

CALVELLI, J. V. B. *et al.* **Histórico da contaminação ambiental**. In: CALVELLI, J. V. B. *et al.* (org.). Contaminantes emergentes: uma visão ecotoxicológica sobre o impacto dos fármacos no meio ambiente e na saúde pública. Ponta Grossa: Atena, 2023. p. 1-10.

CAMPAGNARO, Vanessa Fabiane. **Índice de Qualidade de água e déficit de oxigênio dissolvido como indicadores ambientais no monitoramento de microbacias**. 2009. Dissertação (Mestrado) - Curso de pós-graduação em Engenharia Agrícola, Engenharia de Recursos Hídricos e Saneamento, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2009.

CARERE, Mario *et al.* The emerging contaminants in the context of the EU Water Framework Directive. In: **Emerging Contaminants in River Ecosystems: Occurrence and Effects Under Multiple Stress Conditions**. Cham: Springer International Publishing, 2015. p. 197-215.

CARTAXO, Amanda da Silva Barbosa *et al.* Contaminantes emergentes presentes em águas destinadas ao consumo humano: ocorrência, implicações e tecnologias de tratamento. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 61814-61827, 2020.

CAS. **Chemical Abstracts Service. Registry: The world's largest collection of chemical information**. Columbus, OH: American Chemical Society, 2025. Disponível em: <https://www.cas.org/>. Acesso em: 28 out. 2025.

CAS. **Common Chemistry. Ibuprofen**. CAS, a division of the American Chemical Society, n.d. https://commonchemistry.cas.org/detail?cas_rn=15687-27-1 (retrieved 2025-05-28) (CAS RN: 15687-27-1). Licensed under the Attribution-Noncommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).

CASTELLET-ROVIRA, Francesc *et al.* *Stropharia rugosoannulata* and *Gymnopilus luteofolius*: Promising fungal species for pharmaceutical biodegradation in contaminated water. **Journal of environmental management**, v. 207, p. 396-404, 2018.

CASTILLO-ZACARÍAS, Carlos *et al.* Antidepressant drugs as emerging contaminants: Occurrence in urban and non-urban waters and analytical methods for their detection. **Science of the Total Environment**, v. 757, p. 143722, 2021.

CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. (2011). **Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos**. São Paulo: CETESB; Brasília: ANA, 326 p.

CHACCA, D. E. M.; MALDONADO, I.; VILCA, F. Z. Environmental and ecotoxicological effects of drugs used for the treatment of COVID-19. **Frontiers in Environmental Science**, v. 10, 1287, 2022.

CHAKRABORTY, P. *et al.* Role of fungi, bacteria and microalgae in bioremediation of emerging pollutants. **Clean Technologies and Environmental Policy**, 2025.

CHAN-KEB, C. A. *et al.* Acute phytotoxicity of four common pharmaceuticals on the germination and growth of *Lactuca sativa* L. **Applied Ecology and Environmental Research**, v. 20, n. 5, p. 3737-3746, 2022.

CHATURVEDI, Preeti *et al.* Recent advancement in remediation of synthetic organic antibiotics from environmental matrices: Challenges and perspective. **Bioresource Technology**, v. 319, p. 124161, 2021.

CHAVES, Marisa de Jesus Silva *et al.* Pharmaceuticals and personal care products in a Brazilian wetland of international importance: Occurrence and environmental risk assessment. **Science of the Total Environment**, v. 734, p. 139374, 2020.

CHIANG, Yin-Ru *et al.* Microbial degradation of steroid sex hormones: implications for environmental and ecological studies. **Microbial biotechnology**, v. 13, n. 4, p. 926-949, 2020.

CHMELOVÁ, Daniela; ONDREJOVIČ, Miroslav; MIERTUŠ, Stanislav. Laccases as effective tools in the removal of pharmaceutical products from aquatic systems. **Life**, v. 14, n. 2, p. 230, 2024.

CHRISTOU, A. *et al.* Uptake and bioaccumulation of three widely prescribed pharmaceutically active compounds in tomato fruits and mediated effects on fruit quality attributes. **Science of the Total Environment**, v. 647, p. 1169-1178, 2019.

CROFTS, Terence S. *et al.* Shared strategies for β -lactam catabolism in the soil microbiome. **Nature chemical biology**, v. 14, n. 6, p. 556-564, 2018.

CZARNY, Karolina *et al.* Toxic effects of single animal hormones and their mixtures on the growth of *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus armatus*. **Chemosphere**, v. 224, p. 93-102, 2019.

DAS, Shubhasikha *et al.* Emerging contaminants in the aquatic environment: Fate, occurrence, impacts, and toxicity. In: **Bioremediation of Emerging Contaminants in Water. Volume 1**. American Chemical Society, 2024. p. 1-32.

DA SILVA, Leonardo Mendes. Impactos dos detergentes no meio ambiente: evidências de um estudo ecotoxicológico. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 9, n. 2, p. 1429-1441, 2023.

DA SILVA, Silvia *et al.* Estudo da contaminação da água superficial e subterrânea de um lixão desativado: Arroio Dourado - Foz do Iguaçu - PR. **Rev. Tecnol. Soc.**, Curitiba, v. 19, n. 55, p.345-365, jan./mar., 2023.

DA SILVA, Leonardo Mendes *et al.* Eco (geno) toxicity of an acaricidal formulation

containing chlorpyrifos, cypermethrin, and fenthion on different plant models and *Artemia salina* L. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 31, n. 49, p. 58928-58945, 2024.

DE OLIVEIRA, Raquel Braga; CARVALHO, Fabiano Lacerda; DE ANDRADE, Leonardo Guimarães. Atenção farmacêutica quanto ao uso indiscriminado de anti-inflamatórios não esteroidais (AINES). **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 9, n. 11, p. 1613-1625, 2023.

DE SANTIAGO-MARTÍN, A. *et al.* Pharmaceuticals and trace metals in the surface water used for crop irrigation: risk to health or natural attenuation? **Science of the Total Environment**, v. 705, 135825, 2020.

DE SOUSA, Paulo Victor Amorim *et al.* Efeitos do descarte de medicamentos no meio ambiente. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. e198973868-e198973868, 2020.

DEBNATH, R; SAHA, T. An insight into the production strategies and applications of the ligninolytic enzyme laccase from bacteria and fungi. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 26, p. 101645, 2020.

DEDYSH, Svetlana N.; YILMAZ, Pelin. Refining the taxonomic structure of the phylum Acidobacteria. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 68, n. 12, p. 3796-3806, 2018.

DHIMAN, S. *et al.* Fungal bioprocessing for circular bioeconomy: recent advances and future directions. **Fungal Ecology**, v. 102, 2024. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21501203.2024.2316824>

DI BACCIO, D. *et al.* Response of *Lemna gibba* L. to high and environmentally relevant concentrations of ibuprofen: removal, metabolism and morpho-physiological traits for biomonitoring of emerging contaminants. **Science of the Total Environment**, v. 584, p. 363-373, 2017.

DINAKARKUMAR, Yuvaraj *et al.* Fungal bioremediation: An overview of the mechanisms, applications and future perspectives. **Environmental Chemistry and Ecotoxicology**, v. 6, p. 293-302, 2024.

DING, Tengda *et al.* Biological removal of pharmaceuticals by *Navicula* sp. and biotransformation of bezafibrate. **Chemosphere**, v. 240, p. 124949, 2020.

DONG, Die *et al.* Improving microbial bioremediation efficiency of intensive aquacultural wastewater based on bacterial pollutant metabolism kinetics analysis. **Chemosphere**, [s. l.], v. 265, p. 129151, 2021.

DORDIO, A. *et al.* Study on the use of *Typha* spp. for the phytotreatment of water contaminated with ibuprofen. **International Journal of Environmental and Analytical Chemistry**, v. 91, n. 7-8, p. 654-667, 2011.

DULIO, V. *et al.* Beyond target chemicals: updating the NORMAN prioritisation scheme

to support the EU chemicals strategy with semi-quantitative suspect/non-target screening data. **Environmental Sciences Europe**, v. 36, art. 113, 2024.

EGGEN, T. *et al.* Uptake and translocation of metformin, ciprofloxacin and narasin in forage- and crop plants. **Chemosphere**, v. 85, n. 1, p. 26-33, 2011.

EL-GENDI, Hamada *et al.* A comprehensive insight into fungal enzymes: structure, classification, and their role in mankind's challenges. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 1, p. 23, 2021.

EPA. Environmental Protection Agency. **Unregulated Contaminant Monitoring Rule (UCMR 5)**. Federal Register, Washington, 27 dez. 2021.

ESCUDERO, Ania *et al.* Pharmaceuticals removal and nutrient recovery from wastewaters by *Chlamydomonas acidophila*. **Biochemical engineering journal**, v. 156, p. 107517, 2020.

ESTEBAN, S. *et al.* Presence of endocrine disruptors in freshwater in the northern Antarctic Peninsula region. **Environ. Res.** 2016, 147, 179-192.

FABREGAT, M. B. *et al.* Continuous fungal treatment of non-sterile veterinary hospital effluent: pharmaceuticals removal and microbial community assessment. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v.100, p. 2401-2415, 2016.

FADER, R. C *et al.* **Burton - Microbiologia para as Ciências da Saúde**. Editora Guanabara Koogan. 11^a Edição. Rio de Janeiro-RJ. Grupo GEN, 2021. 9788527737302.

FARTO, Cindy Deina *et al.* Contaminantes Emergentes no Brasil na Década 2010-2019-Parte I: Ocorrência em Diversos Ambientes Aquáticos. **Revista de Gestão de Água da América Latina**, v. 18, n. 2021, 2021a.

FARTO, Cindy Deina *et al.* Contaminantes Emergentes no Brasil na Década 2010-2019-Parte II: Tecnologias de Tratamento e Eficiências de remoção em ETEs E ETAs. **Revista de Gestão de Água da América Latina**, v. 18, n. 2021, 2021b.

FARTO, Cindy Deina. **Contaminantes emergentes em coleções hídricas na região da grande João Pessoa-PB: avaliação da presença e eficiência de remoção nas estações de tratamento de água e esgotos**. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2024.

FAZILI, Abu Bakr Ahmad *et al.* *Mucor circinelloides*: a model organism for oleaginous fungi and its potential applications in bioactive lipid production. **Microbial cell factories**, v. 21, n. 1, p. 29, 2022.

FENG, Weiyang *et al.* Systematic review of contaminants of emerging concern (CECs): distribution, risks, and implications for water quality and health. **Water**, v. 15, n. 22, p. 3922, 2023.

FIA, Ronaldo *et al.* Qualidade da água de um ecossistema lótico urbano. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 20, n. 1, p. 267-275, 2015.

FISHER, Matthew C. *et al.* A one health roadmap towards understanding and mitigating emerging Fungal Antimicrobial Resistance: fAMR. **npj Antimicrobials and Resistance**, v. 2, n. 1, p. 36, 2024.

FMI. Fundo Monetário Internacional. World Economic Outlook Update: **Global economy: tenuous resilience amid persistent uncertainty**. Washington, DC, 2025. Disponível em: <https://www.imf.org/en/Publications/WEO>. Acesso em: 30 set. 2025.

FORTUNATO, María Susana *et al.* Aerobic degradation of ibuprofen in batch and continuous reactors by an indigenous bacterial community. **Environmental technology**, v. 37, n. 20, p. 2617-2626, 2016.

FRANÇA-NETO, José de Barros; KRZYZANOWSKI, Francisco Carlos. Tetrazolium: an important test for physiological seed quality evaluation. **Journal of Seed Science**, v. 41, n. 3, p. 359-366, 2019.

FRANCISCO, W. C.; QUEIROZ, T. M. DE. Biorremediação. **Nucleus**, v. 15, n. 1, p. 249-256, 2018.

FREITAS, D. A.; RADIS-BAPTISTA, G. Pharmaceutical pollution and disposal of expired, unused, and unwanted medicines in the Brazilian context. **Environmental Advances**, v. 4, p. 100 073, 2021. DOI: 10.1016/j.envadv.2021.100073.

GABARDO, Renata P. *et al.* Determination of atrazine and main metabolites in natural waters based on a simple method of QuEChERS and liquid chromatography coupled to a diode-array detector. **Microchemical Journal**, v. 168, p. 106392, 2021.

GABRIEL, Flávia Gomes. Contaminantes emergentes no Brasil: ocorrência de fármacos em matrizes aquáticas e educação ambiental. Dissertação (mestrado)- Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte Natal: IFRN, 2022.

GARCIA, Joice Machado *et al.* Degradação ambiental e qualidade da água em nascentes de rios urbanos. **Sociedade & Natureza**, v. 30, n. 1, p. 228-254, 2018.

GARDUÑO-JIMÉNEZ, A. L.; CARTER, L. J. Insights into mode of action mediated responses following pharmaceutical uptake and accumulation in plants. *Frontiers in Agronomy*, v. 5, 1293555, 2024.

GARG, Shilpa; KIM, Minji; ROMERO-SUAREZ, David. Current advancements in fungal engineering technologies for Sustainable Development Goals. **Trends in Microbiology**, v. 33, n. 3, p. 285-301, 2025.

GARRIGUES, S.; GALLIGNANI, M.; DE LA GUARDIA, M. FIA-FT-IR determination of ibuprofen in pharmaceuticals. **Talanta**, v. 40, n. 1, p. 89–93, jan. 1993.

GERBER, M. D. *et al.* Phytotoxicity of effluents from swine slaughterhouses using lettuce and cucumber seeds as bioindicators. **Science of the Total Environment**, v. 592, p. 86-90, 2017.

GHOSH, S.; DUTTA, T.; SAHOO, R.; RAY, L. Biotechnological potential of *Mucor*

species: enzyme production, metabolic versatility, and chitosan synthesis. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 107, n. 2, p. 451-466, 2023.

GIBBERT, Luiz Fernando *et al.* Viabilidade polinica de *Syzygium malaccense* por metodos colorimetricos. **Agrarian Academy**, v. 4, n. 07, 2017.

GIOVANELLA, Patricia *et al.* Metal and organic pollutants bioremediation by extremophile microorganisms. **Journal of Hazardous Materials**, [s. l.], v. 382, p. 121024, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121024>.

GLASSMEYER, Susan T. *et al.* Nationwide reconnaissance of contaminants of emerging concern in source and treated drinking waters of the United States. **Science of the Total Environment**, v. 581, p. 909-922, 2017.

GODOI, Filipe GA *et al.* Review of the nonsteroidal anti-inflammatory drug consumption, occurrence, potential impacts on environmental health, and insights into regulatory decision-making Brazilian aquatic ecosystems. **ACS omega**, v. 10, n. 25, p. 26250-26265, 2025.

GOMAA, M. *et al.* Phycotoxicity of antibiotics and non-steroidal anti-inflammatory drugs to green algae *Chlorella* sp. and *Desmodesmus spinosus*: assessment of combined toxicity by Box–Behnken experimental design. **Environmental Technology & Innovation**, v. 23, 101586, 2021.

GOMES, Ana Carolina Correia de Oliveira *et al.* Análise de parâmetros físicos, químicos e microbiológicos de poços de monitoramento em área aplicada com vinhaça. **Águas Subterrâneas**, v. 32, n. 2, p. 237-247, 2018.

GOMES, Inês B.; SIMÕES, Lúcia C.; SIMÕES, Manuel. The effects of emerging environmental contaminants on *Stenotrophomonas maltophilia* isolated from drinking water in planktonic and sessile states. **Science of the total environment**, v. 643, p. 1348-1356, 2018.

GONÇALVES, Caroline da Costa Silva; MARSAIOLI, Anita Jocelyne. Monitoring Enzymatic activities with fluorogenic probes. **Química Nova**, GN1 Sistemas e Publicacoes Ltd., 2014. issn 0100-4042.

GONDA, S. *et al.* Efficient biotransformation of non-steroid anti-inflammatory drugs by endophytic and epiphytic fungi from dried leaves of a medicinal plant, *Plantago lanceolata* L. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 108, p. 115-121, 2016.

GONZÁLEZ-ALONSO, S. *et al.* Occurrence of pharmaceutical, recreational and psychotropic drug residues in surface water on the northern Antarctic Peninsula region. **Environ. Pollut.** 2017, 229, 241-254.

GRENNI, Paola. Antimicrobial resistance in rivers: a review of the genes detected and new challenges. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 41, n. 3, p. 687-714, 2022.

GREWAL, Jasneet *et al.* Colorful treasure from agro-industrial wastes: A sustainable chassis for microbial pigment production. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 832918, 2022.

GRIGNET, Rosane S. *et al.* Medicines as an emergent contaminant: the review of microbial biodegradation potential. **Folia Microbiologica**, v. 67, n. 2, p. 157-174, 2022.

GUARDADO, Ana Luisa Parra *et al.* Effect of redox mediators in pharmaceuticals degradation by laccase: A comparative study. **Process Biochemistry**, v. 78, p. 123-131, 2019.

GUDIÑA, Eduardo J. *et al.* Antimicrobial and antiadhesive properties of a biosurfactant isolated from *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* A20. **Letters in applied microbiology**, v. 50, n. 4, p. 419-424, 2010.

GUPTA, Preeti; DAS, Shiva Saran; SINGH, N. B. **Spectroscopy**. Jenny Stanford Publishing, 2023.

HAIDER, Fasih Ullah *et al.* Phytotoxicity of petroleum hydrocarbons: Sources, impacts and remediation strategies. **Environmental Research**, p. 111031, 2021.

HAMMAD, H. M. *et al.* Uptake and toxicological effects of pharmaceutical active compounds on maize. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 258, p. 143-148, 2018.

HAN, Jiayi *et al.* The standards for drinking water quality of China (2022 edition) will take effect. **China CDC Weekly**, v. 5, n. 13, p. 297, 2023.

HARISH, Harini; JEGATHEESAN, Veeriah. A Review of Sources, Worldwide Legislative Measures and the Factors Influencing the Treatment Technologies for Contaminants of Emerging Concern (CECs). **Current Pollution Reports**, v. 11, n. 1, p. 1-39, 2025.

HASSANSHAHIAN, M.; CAPPELLO, S. Crude Oil Biodegradation in the Marine Environments. In: CHAMY, R. (Editor) **Biodegradation: Engineering and Technology**. 475p., 2013.

HAWASH, Hamada B. *et al.* Occurrence and spatial distribution of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the aquatic environment, their characteristics, and adopted legislations. **Journal of Water Process Engineering**, v. 52, p. 103490, 2023.

HE, Yujie *et al.* Metabolism of ibuprofen by *Phragmites australis*: uptake and phytodegradation. **Environmental science & technology**, v. 51, n. 8, p. 4576-4584, 2017.

HECK, T. M. S. *et al.* Avaliação da água através de parâmetros microbiológicos e físico-químicos em áreas populacionais do Arroio Luiz Rau, afluente do Rio dos Sinos, Município de Novo Hamburgo, RS. **Conhecimento online, Novo Hamburgo**, v. 2, p. 105-117, jul./dez. 2017.

HILLER, E.; ŠEBESTA, M. Effect of temperature and soil pH on the sorption of ibuprofen in agricultural soil. **Soil & Water Research**, v. 12, n. 2, p. 108-116, 2017.

HILLIS, D. G. *et al.* Effects of ten antibiotics on seed germination and root elongation in three plant species. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 60, n. 2, p. 220-232, 2011.

HINZKE, Tjorven *et al.* Transformation of the drug ibuprofen by *Priestia megaterium*: Reversible glycosylation and generation of hydroxylated metabolites. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 32, n. 19, p. 11981-11995, 2025.

HONG, Bing *et al.* Sedimentary spectrum and potential ecological risks of residual pharmaceuticals in relation to sediment-water partitioning and land uses in a watershed. **Science of the Total Environment**, v. 817, p. 152979, 2022.

HUANG, J. *et al.* Occurrence, removal, and risk assessment of emerging contaminants in aquatic products processing sewage treatment plants. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, p. 117772-117784, 2023.

HUANG, Yue-hua *et al.* Emerging contaminants in municipal wastewaters and their relevance for the surface water contamination in the tropical coastal city Haikou, China. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 235, p. 106611, 2020.

HUSSAAN, Muhammad *et al.* Physiological and molecular basis of bioremediation of micropollutants. In: **Handbook of bioremediation**. Academic Press, 2021. p. 447-464.

HWANGBO, Myung *et al.* Acidophilic methanotrophs: Occurrence, diversity, and possible bioremediation applications. **Environmental Microbiology Reports**, v. 15, n. 4, p. 265-281, 2023.

IBGE. Instituto Nacional de Geografia e Estatística. Cidades e Estados Brasileiras. **Foz do Iguaçu. código: 4108304**. 2021. <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pr/foz-do-iguacu/panorama>. Acesso em 18 de nov. de 2021.

ISIDORI, M. *et al.* Toxic and genotoxic evaluation of six antibiotics on non-target organisms. **Science of the Total Environment**, v. 346, n. 1-3, p. 87-98, 2005.

ISO. International Organization for Standardization. **ISO 18763:2016**: Soil quality – Determination of the toxic effects of pollutants on germination and early growth of higher plants. Geneva, 2016. Disponível em: <https://www.iso.org/standard/63317.html>. Acesso em: 7 jun. 2025.

IVSHINA, Irina B. *et al.* Features of diclofenac biodegradation by *Rhodococcus ruber* IEGM 346. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 1-13, 2019.

IVSHINA, Irina B. *et al.* Response of *Rhodococcus cerastii* IEGM 1278 to toxic effects of ibuprofen. **PloS one**, v. 16, n. 11, p. e0260032, 2021.

JAN, Saima *et al.* Pollutants in aquatic system: a frontier perspective of emerging threat and strategies to solve the crisis for safe drinking water. **Environmental Science and**

Pollution Research, v. 30, n. 53, p. 113242-113279, 2023.

JAN-ROBLERO, Janet; CRUZ-MAYA, Juan A. Ibuprofen: toxicology and biodegradation of an emerging contaminant. **Molecules**, v. 28, n. 5, p. 2097, 2023.

JIAO, Q.; HU, X. Recent advances and emerging trends in chlorophyll fluorescence parameter Fv/Fm. **Phyton**, v. 94, n. 9, 2025.

KAMILARI, E. *et al.* Uncovering the Biotechnological Importance of *Geotrichum candidum*. **Foods**, v. 12, n. 1124, p. 1-25, 2023.

KASONGA, Teddy K. *et al.* Assessing the fungal simultaneous removal efficiency of carbamazepine, diclofenac and ibuprofen in aquatic environment. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 755972, 2021.

KAUR, Gurpreet; KROL, Magdalena; BRAR, Satinder Kaur. Geothermal heating: Is it a boon or a bane for bioremediation?. **Environmental Pollution**, v. 287, p. 117609, 2021.

KEFFER, Josiane Fernandes *et al.* Efeito de retardantes de fogo sobre a germinação de espécies florestais tropicais. **Ciência Florestal**, v. 31, n. 2, p. 725-748, 2021.

KHAN, Mohd Faheem *et al.* Recent advances in fungal xenobiotic metabolism: enzymes and applications. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 39, n. 11, p. 296, 2023.

KHAN, Mohd Faheem. Fungi for sustainable pharmaceutical remediation: enzymatic innovations, challenges, and applications-a review. **Processes**, v. 13, n. 4, p. 1034, 2025.

KHASWAL, Ashutosh *et al.* Microbial enzyme production: Unlocking the potential of agricultural and food waste through solid-state fermentation. **Bioresource Technology Reports**, p. 101880, 2024.

KLATTE, Stephanie; SCHAEFER, Hans-Christian; HEMPEL, Maximilian. Pharmaceuticals in the environment-a short review on options to minimize the exposure of humans, animals and ecosystems. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 5, p. 61-66, 2017.

KÖCHLING, Thorsten *et al.* Impact of pollution on the microbial diversity of a tropical river in an urbanized region of northeastern Brazil. **Int Microbiol**, v. 20, n. 1, p. 11-24, 2017.

KOURTCHEV, R. *et al.* Rethinking environmental boundaries for contaminants of emerging concern. **Science of the Total Environment**, v. 900, art. 170-316, 2025.

KOWALSKA-KROCHMAL, Beata; DUDEK-WICHER, Ruth. The minimum inhibitory concentration of antibiotics: methods, interpretation, clinical relevance. **Pathogens**, v. 10, n. 2, p. 165, 2021.

KRZEMINSKI, P. *et al.* Performance of secondary wastewater treatment methods for

the removal of contaminants of emerging concern implicated in crop uptake and antibiotic resistance spread: a review. **Science of the Total Environment**, v. 648, p. 1052-1081, 2019..

KUMAR, Sudhir; stecher, Glen *et al.* MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. Edição: Fabia Ursula Battistuzzi. **Molecular Biology and Evolution, Oxford University Press (OUP)**, v. 35, n. 6, p. 1547-1549, mai. 2018. issn 1537-1719. doi: 10.1093/molbev/msy096.

LANCHOTE, V. L *et al.* HPLC screening and GC-MS confirmation of triazine herbicides residues in drinking water from sugar cane area in Brazil. **Water, Air and Soil Pollution**, Dordrecht, v. 118, p. 329-37, 2000.

LEE, Yunjin; ROBBINS, Nicole; COWEN, Leah E. Molecular mechanisms governing antifungal drug resistance. *npj Antimicrobials and Resistance*, **Springer Science e Business Media LLC**, v. 1, n. 1, jul. 2023. issn 2731-8745. doi: 10.1038/s44259-023-00007-2.

LI, Xingyu *et al.* Comprehensive review of emerging contaminants: Detection technologies, environmental impact, and management strategies. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 278, p. 116420, 2024.

LI, Yuanbo *et al.* Insight into the distribution of pharmaceuticals in soil-water-plant systems. **Water Research**, v. 152, p. 38-46, 2019.

LIMA, D. R.S *et al.* Fármacos e desreguladores endócrinos em águas brasileiras: ocorrência e técnicas de remoção. **Eng. Sanit. Ambient.**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 6, p. 1043-1054, dez. 2017.

LIMA, Ricardo *et al.* The emerging threat antifungal-resistant *Candida tropicalis* in humans, animals, and environment. **Frontiers in fungal biology**, v. 3, p. 957021, 2022.

LIU, Shuang-Shuang *et al.* Microbial transformation of progesterone and dydrogesterone by bacteria from swine wastewater: Degradation kinetics and products identification. **Science of The Total Environment**, v. 701, p. 134930, 2020.

LIU, Tian *et al.* Isolation of flurbiprofen-degrading bacteria and evaluating its degradation characteristics. **Environmental Technology & Innovation**, v. 29, p. 102983, 2023.

LIU, Yuanwang *et al.* Biodegradation of gentamicin by bacterial consortia AMQD4 in synthetic medium and raw gentamicin sewage. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-11, 2017.

LOBATO, Rubens Caurio; KLAFKE, Gabriel Baracy; XAVIER, Melissa Orzechowski. Reprodutibilidade de distintas técnicas associadas à filtração na padronização de inóculo de conídios de *Aspergillus fumigatus*. **VITTALLE-Revista de Ciências da Saúde**, v. 28, p. 84-89, 2016.

LOERZ, Christine; MASER, Edmund. The cortisol-activating enzyme 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in skeletal muscle in the pathogenesis of the metabolic syndrome. **The Journal of steroid biochemistry and molecular biology**, v. 174, p. 65-71, 2017.

LONAPPAN, L. *et al.* Diclofenac and its transformation products: Environmental occurrence and toxicity - A review. 2016. **Envir. Inter.** 96. 127-138. 10.1016/j.envint.2016.09.014.

LONG, Shengqiao *et al.* Heavy metal tolerance genes associated with contaminated sediments from an e-waste recycling river in southern China. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 665090, 2021.

LORENCE, A. V; BALESTRA, C.E.T. **Identificação da Pluma de Gás Metano no Subsolo do Lixão Arroio Dourado - Estudo de Caso.** 2016. In: Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia CONTECC'2016.

LÜCKING, Robert *et al.* Unambiguous identification of fungi: where do we stand and how accurate and precise is fungal DNA barcoding?. **IMA fungus**, v. 11, n. 1, p. 14, 2020.

LUO, Yuan *et al.* Seed germination test for toxicity evaluation of compost: Its roles, problems and prospects. **Waste Management**, v. 71, p. 109-114, 2018.

MAGIERA, Sylwia; GÜLMEZ, Şefika. Ultrasound-assisted emulsification microextraction combined with ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of ibuprofen and its metabolites in human urine. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 92, p. 193-202, 2014.

MAGRI, Leonardo Vitor *et al.* Mucormicose: Um estudo de série de casos clínico-patológicos. Research, **Society and Development**, v. 13, n. 2, p. e0213244903-e0213244903, 2024.

MAIA, Anne Caroline Bruno Laurentino. **Regime de responsabilidade pelos danos causados pelos contaminantes emergentes como risco do desenvolvimento.** Dissertação (Mestrado em Direito e Políticas Públicas) - Centro Universitário de Brasília - UniCEUB, Programa de Mestrado em Direito e Políticas Públicas, 2020.

MAÑAS, P.; DE LAS HERAS, J. Phytotoxicity test applied to sewage sludge using *Lactuca sativa* L. and *Lepidium sativum* L. seeds. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 15, p. 273-280, 2018.

MANI, M. *et al.* Environmental and health effects of emerging contaminants – a critical review. **International Journal of Advanced Science and Engineering**, v. 10, n. 2, p. 3449-3470, 2023.

MANIKANDAN, Sivasubramanian *et al.* Critical review of biochemical pathways to transformation of waste and biomass into bioenergy. **Bioresource technology**, v. 372, p. 128679, 2023.

MARSON, Eduardo O. *et al.* A review toward contaminants of emerging concern in Brazil: Occurrence, impact and their degradation by advanced oxidation process in aquatic matrices. **Science of the Total Environment**, v. 836, p. 155605, 2022.

MARTINS, B. A. **Biorremediação e biotransformação como alternativas tecnológicas para remoção de poluentes ambientais e funcionalização de compostos orgânicos**. 180 f. Tese de doutorado Universidade Federal de Minas Gerais - Departamento de Química. 2023.

MARTINS, B. **Biorremediação, Biotecnologia, Blog do Profissão Biotec** (ISSN2675-6013) v.4 (2019). Disponível em: Biorremediação: uma solução sustentável - Profissão Biotec. Acesso em: set. 2024.

MATEI, Jéssica Crecencio *et al.* Agro-industrial wastes for biotechnological production as potential substrates to obtain fungal enzymes. **Ciência E Natura**, v. 43, n. 72, p. 1-28, 2021.

MATHEW, Riya Ann; KANMANI, S. A review on emerging contaminants in indian waters and their treatment technologies. **Nature Environment and Pollution Technology**, v. 19, n. 2, p. 549-562, 2020.

MAYORGA, Rosario *et al.* Degradation of sodium metamizole by enzymatic extracts from some white rot fungi. **Sydowia**, v. 69, p. 205-214, 2017.

MCCALLUM, E. S. *et al.* Investigating tissue bioconcentration and the behavioural effects of two pharmaceutical pollutants on sea trout (*Salmo trutta*) in the laboratory and field. **Aquatic Toxicology**, v. 207, p. 170-178, 2019.

MEDEIROS, Úrsula Thaís de Paula *et al.* Aspectos regulatórios de contaminantes prioritários em efluentes: uma análise crítica de fármacos de preocupação emergente. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 13, n. 11, p. 70-85, 2022.

MENDES, P. M. *et al.* Phytotoxicity test in check: proposition of methodology for comparison of different method adaptations usually used worldwide. **Journal of Environmental Management**, v. 291, 112698, 2021.

MENON, N. G. *et al.* Review on occurrence and toxicity of pharmaceutical contamination in Southeast Asia. In: KUMAR, M.; SNOW, D. D.; HONDA, R. (ed.). Emerging issues in the water environment during Anthropocene: a South East Asian perspective. Singapore: **Springer**, 2020. p. 63-91.

MERADJI, Sameh *et al.* The Role of Water as a Reservoir for Antibiotic-Resistant Bacteria. **Antibiotics**, v. 14, n. 8, p. 763, 2025.

MINDEN, V. *et al.* Antibiotics impact plant traits, even at small concentrations. **AoB Plants**, v. 9, n. 2, plx010, 2017.

MISHRA, Tarun *et al.* Advances in Microbial Bioremediation for Effective Wastewater Treatment. **Water**, v. 17, n. 22, p. 3196, 2025.

MOHAMED, Hassan *et al.* Fed-batch fermentation of *Mucor circinelloides* reveals significant improvement in biomass and lipid accumulation through performance evaluation, chemical analysis, and expression profiling. **Bioresource Technology**, v. 398, p. 130540, 2024.

MOLINA, María Carmen *et al.* From laboratory tests to the ecoremedial system: the importance of microorganisms in the recovery of PPCPs-disturbed ecosystems. **Applied Sciences**, v. 10, n. 10, p. 3391, 2020.

MONTAGNER, Cassiana C. *et al.* Ten years-snapshot of the occurrence of emerging contaminants in drinking, surface and ground waters and wastewaters from São Paulo State, Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, p. 614-632, 2019.

MONTAGNER, Cassiana C.; VIDAL, Cristiane; ACAYABA, Raphael D. Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios. **Química Nova**, v. 40, p. 1094-1110, 2017.

MOREIRA, Irina S. *et al.* Biodegradation of diclofenac by the bacterial strain *Labrys portucalensis* F11. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 152, p. 104-113, 2018.

MORO, I. *et al.* Morpho-physiological effects of ibuprofen on *Scenedesmus rubescens*. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 38, p. 379-387, 2014.

MOUSSA, Shaaban H. *et al.* Tetrazolium/formazan test as an efficient method to determine fungal chitosan antimicrobial activity. **Journal of Mycology**, v. 2013, 2013.

MURSHID, Shabnam; DHAKSHINAMOORTHY, Gnana Prakash. Biodegradation of sodium diclofenac and mefenamic acid: kinetic studies, identification of metabolites and analysis of enzyme activity. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 144, p. 104756, 2019.

NAIDU, R. *et al.* Emerging contaminants in the environment: Risk- based analysis for better management. **Chemosphere**, v. 154, p. 350-357, 2016.

NAKAMURA, K. *et al.* Ultrafast microfluidic screening of environmental bacteria for biopolymer-degrading enzymes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 91, n. 2, e00109-25, 2025. DOI: 10.1128/aem.00109-25.

NARAYANAN, Ishvarya *et al.* Microalgae-based remediation of pharmaceutical contaminants: Emerging strategies and technological synergies. **Discover Applied Sciences**, v. 7, n. 11, p. 1-26, 2025.

NASSAR, S.; BORJAC, J. Effect of a veterinary antibiotic on the growth of regularly consumed *Lebanese plants*. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 20, n. 2, e0303, 2022.

NEALE, Peta A. *et al.* ECHIDNA (Emerging Chemicals Database for National Awareness): a framework to prioritise contaminants of emerging concern in water. **Journal of Water and Health**, v. 21, n. 9, p. 1357-1368, 2023

NEIRA, Gonzalo *et al.* AcIDB 1.0: a database of acidophilic organisms, their genomic information and associated metadata. **Bioinformatics**, v. 36, n. 19, p. 4970-4971, 2020.

NGUYEN, P. Y. *et al.* A review of the biotransformations of priority pharmaceuticals in biological wastewater treatment processes. **Water Research**, v. 188, p. 116446, 2021.

NINGOMBAM, Linthoingambi *et al.* Fungal bioremediation in environmental pollution and recent strategies. **Discover Environment**, v. 3, n. 1, p. 100, 2025.

NÓBREGA, M. *et al.* Fitotoxicidade de fármacos anti-inflamatórios e antibióticos: um panorama quanto aos efeitos agudos e crônicos (2015-2025). **Contribuciones a las Ciencias Sociales**, v. 18, e18639, 2025.

NORMAN. About the NORMAN network: **Monitoring emerging substances**. Paris: **NORMAN Association**, 2025. Disponível em: <https://www.norman-network.net/>. Acesso em: 29 ago. 2025.

NUCCI, M. *et al.* Epidemiology of mucormycosis in Latin America. **Medical Mycology**, v. 59, n. 5, p. 505-514, 2021.

OECD. Organisation for Economic Co-operation and Development. **Management of Pharmaceutical Household Waste: Limiting Environmental Impacts of Unused or Expired Medicine**. Paris: OECD Publishing, 2022. Disponível em: https://www.oecd.org/en/publications/management-of-pharmaceutical-household-waste_3854026c-en.html. Acesso em: 28 ago. 2025.

OECD. Organisation for Economic Co-operation and Development. **Members and Partners**. Paris: OECD, [2025]. Disponível em: <https://www.oecd.org/en/about/members-partners.html>. Acesso em: 28 out. 2025.

OECD. Organisation for Economic Co-operation and Development. **Pharmaceutical Residues in Freshwater: Hazards and Policy Responses**. Paris: OECD Publishing, 2019. Disponível em: https://www.oecd.org/content/dam/oecd/en/publications/reports/2019/11/pharmaceutical-residues-in-freshwater_33f873ac/c936f42d-en.pdf. Acesso em: 28 ago. 2025.

OECD. Organisation for Economic Co-Operation and Development. **Test No. 208: Terrestrial plant test: seedling emergence and seedling growth test**. Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, 2006. DOI: 10.1787/9789264070066-en.

OECD. ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **Test No. 106: Adsorption-Desorption Using a Batch Equilibrium Method**. Paris: **OECD Publishing, 2000**. (OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 1, No. 106). Disponível em: <https://doi.org/10.1787/9789264069602-en>. Acesso 19 jan 2021.

OH, S.; SHIN, W. S.; KIM, H. T. Effects of pH, dissolved organic matter, and salinity on ibuprofen sorption on sediment. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 22, p. 22882-22889, 2016.

OJOGHORO, J. O.; SCRIMSHAW, M. D.; SUMPTER, J. P. Steroid hormones in the aquatic environment. **Science of The Total Environment**, p. 148306, 2021.

OLIBONI, Gabriel Manzi. **Identificação e perfil de sensibilidade de *Aspergillus* spp. presente no ar atmosférico**. 2022. Tese de Doutorado. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo.

OLICÓN-HERNÁNDEZ, Darío R.; GONZÁLEZ-LÓPEZ, Jesús; ARANDA, Elisabet. Overview on the biochemical potential of filamentous fungi to degrade pharmaceutical compounds. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 1792, 2017.

OLIVEIRA, J. C.; GUILLEN, R. D. M.; SILVA, D. S. Portaria nº 888, de 04 de maio de 2021 do Ministério da Saúde: o ponto de partida para enfrentamento aos contaminantes emergentes. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 4, p. 30890-30901, 2022.

OLIVEIRA, Robson; RAMIREZ, Kleber Gomes; DI LAURO, Macarius. Análise Físico-Químico do Solo da Área de Contaminação do Arroio Dourado, em Foz do Iguaçu. **International Journal of Environmental Resilience Research and Science**, v. 3, n. 2. 2021.

ONYENA, Amarachi P. *et al.* Risk assessment of sediment PAH, BTEX, and emerging contaminants in Chanomi Creek Niger Delta, Nigeria. **Environmental monitoring and assessment**, v. 195, n. 9, p. 1080, 2023.

OUARDA, Yassine *et al.* Electrochemical treatment of real hospital wastewaters and monitoring of pharmaceutical residues by using surrogate models. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, n. 5, p. 103332, 2019..

PACHOLAK, Amanda *et al.* Nitrofurantoin-Microbial degradation and interactions with environmental bacterial strains. **International journal of environmental research and public health**, v. 16, n. 9, p. 1526, 2019.

PAGANO, M. *et al.* Toxicological evaluation of acetylsalicylic acid in non-target organisms: chronic exposure on *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819). **Frontiers in Physiology**, v. 13, p. 920952, 2022.

PAÍGA, P. *et al.* Presence of pharmaceuticals in the Lis River (Portugal): sources, fate and seasonal variation. **Science of the Total Environment**, v. 573, p. 164-177, 2016.

PALARIC, Cécile *et al.* Processing of NMR and MS metabolomics data using chemometrics methods: a global tool for fungi biotransformation reactions monitoring. **Metabolomics**, v. 15, n. 8, p. 107, 2019.

PARIDA, Vishal Kumar *et al.* Emerging contaminants in wastewater: A critical review on occurrence, existing legislations, risk assessment, and sustainable treatment alternatives. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 5, p. 105966, 2021.

PASSARINI, Michel Rodrigo Zambrano *et al.* DNA metabarcoding of the leachate

microbiota from sanitary landfill: potential for bioremediation process. **Archives of Microbiology**, v. 203, p. 4847-4858, 2021.

PATEL, Atul *et al.* Multicenter epidemiologic study of coronavirus disease-associated mucormycosis, India. **Emerging infectious diseases**, v. 27, n. 9, p. 2349, 2021.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. & VYVYAN, J. R. Introdução à Espectroscopia. **Cengage learning**, 2015.

PAWŁOWSKA, B. *et al.* Ibuprofen and ketoprofen – inert drugs or potential environmental hazard? *Sustainability*, v. 15, n. 2, 1613, 2023.

PENG, Liang *et al.* Biotransformation activities of fungal strain *apiotrichum* sp. IB-1 to ibuprofen and naproxen. **Archives of Microbiology**, v. 206, n. 5, p. 232, 2024.

PÉREZ-CONTRERAS, Serafin. *et al.* Production of ligninolytic and cellulolytic fungal enzymes for agro-industrial waste valorization: trends and applicability. **Catalysts**, v. 15, n. 1, p. 30, 2024.

PETROVIC, M. *et al.* Determination of 81 pharmaceutical drugs by high performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry with hybrid triple quadrupole-linear ion trap in different types of water in Serbia. *Sci. Total Environ*, v. 468, p.415-428, 2014.

PHOON, Bao Lee *et al.* Conventional and emerging technologies for removal of antibiotics from wastewater. **Journal of hazardous materials**, v. 400, p. 122961, 2020.

PICÓ, Yolanda *et al.* Analysis of ibuprofen and its main metabolites in roots, shoots, and seeds of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) using liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry: uptake, metabolism, and translocation. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 410, p. 1163-1176, 2018.

PIECHOCKA, Justyna *et al.* Application of the HPLC-ELSD technique for the determination of major metabolites of ibuprofen and creatinine in human urine. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 20268, 2023.

PIMENTA *et al.* **Diretrizes ambientais legais para mitigar o potencial de contaminação por fármacos.** In: Contaminantes emergentes: uma visão ecotoxicológica sobre o impacto dos fármacos no meio ambiente e na saúde pública. Alfenas: UNIFAL-MG, 2023.

PINO, M. R. *et al.* Phytotoxicity of 15 common pharmaceuticals on the germination of *Lactuca sativa* and photosynthesis of *Chlamydomonas reinhardtii*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, p. 22530-22541, 2016.

PMFI. Prefeitura Municipal de Foz do Iguaçu. Secretaria Municipal de Saúde. Divisão de Assistência Farmacêutica. **Relação municipal de Medicamentos Essenciais - REMUME 2017.** Disponível em: <http://www.saudefoz.com.br/SaudeFOZ/Default.aspx>.

PMFI. Prefeitura Municipal de Foz do Iguaçu. Secretaria Municipal de Meio Ambiente. **Plano Municipal de Conservação e Recuperação da Mata Atlântica - PMMA**. 2020. p 1-117. Disponível em: <https://portal.UNILA.edu.br/noticias/plano-municipal-de-mata-atlantica-pode-fortalecer-o-turismo-em-foz-do-iguacu/PMMAFoz.pdf>.

PMFI. Prefeitura Municipal de Foz do Iguaçu. Secretária Municipal de Meio Ambiente. **Plano Municipal de Saneamento Básico - PMSB Abastecimento de Água e Esgotamento Sanitário: Diagnósticos dos Sistemas de Saneamento Básico**. Caracterização Geral do Município e Estudo Populacional. 176 p. 2019a. Disponível em: <https://www5.pmfi.pr.gov.br/publicacao-653>.

PMFI. Prefeitura Municipal de Foz do Iguaçu. Secretária Municipal de Meio Ambiente. **Plano Municipal de Saneamento Básico - PMSB Abastecimento de Água e Esgotamento Sanitário Relatório Final**. 963 p.2019b.

PMFI. Prefeitura Municipal de Foz do Iguaçu. Secretária Municipal de Planejamento e Captação de Recursos. **Plano Municipal de Gestão de Recursos Hídricos (PMGRH)**. 963 p. 2019c. Disponível em: <https://www5.pmfi.pr.gov.br/publicacao-653>

PMFI. Prefeitura Municipal de Saúde. Secretaria Municipal de Meio Ambiente e Obras. **Plano Municipal de Saneamento Básico Município de Foz do Iguaçu** (2012). Disponível em: <http://www.cmfi.pr.gov.br/pdf/projetos/1664c.pdf>.

PMFI. Prefeitura Municipal de Saúde. Secretaria Municipal de Saúde de Foz do Iguaçu (2021). **Medicamentos com maior prescrição para o município de Foz do Iguaçu** - Paraná através do sistema de gestão em saúde (RP saúde) do período de 2017-2020. não publicado.

POL, Jeferson Jeldoci *et al.* Avaliação ambiental da água superficial do arroio Schmidt (Campo Bom, RS), por meio de análises físico-química, biológica e toxicológica em dois pontos. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, v. 8, n. 3, p. 159-171, 2019.

PRIAC, A.; BADOT, P. M.; CRINI, G. Treated wastewater phytotoxicity assessment using *Lactuca sativa*: focus on germination and root elongation test parameters. **Comptes Rendus Biologies**, v. 340, n. 3, p. 188-194, 2017.

QUADRA, G. *et al.* Do pharmaceuticals reach and affect the aquatic ecosystems in Brazil? A critical review of current studies in a developing country. **Environmental Science and Pollution Research**. 2017. v. 23. p. 1200-1218.

QUADRA, Gabrielle Rabelo *et al.* Medicamentos e Meio ambientes: soluções individuais, problemas coletivos. **Jornal O-ECO on-line**. 2018. Disponível em: <https://oeco.org.br/author/gabrielle-rabelo-quadra/>. Acesso em: 18 de jan. de 2024.

RAMÍREZ-DURÁN, Ninfa *et al.* Advancing fungal biodegradation of nonsteroidal anti-inflammatory drugs-challenges and future perspectives. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 93, p. 103293, 2025.

RAMÍREZ-MALULE, Howard *et al.* Emerging contaminants as global environmental

hazards. A bibliometric analysis. **Emerging Contaminants**, v. 6, p. 179-193, 2020.

RANI, Neha *et al.* Harnessing agricultural waste: A sustainable approach to lignocellulolytic enzymes production. **Bioresource Technology Reports**, p. 101912, 2024.

RASHEED, Tahir *et al.* Environmentally-related contaminants of high concern: potential sources and analytical modalities for detection, quantification, and treatment. **Environment international**, v. 122, p. 52-66, 2019.

RASTOGI, Aishwarya; TIWARI, Manoj Kumar; GHANGREKAR, Makarand M. A review on environmental occurrence, toxicity and microbial degradation of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs). **Journal of Environmental Management**, v. 300, p. 113694, 2021.

RATNASARI, Anisa *et al.* Bio-prospective of Acidophile Microorganisms in Biodegradation of NSAIDs. **Current Pollution Reports**, v. 10, n. 2, p. 189-206, 2024.

RATNASARI, Anisa *et al.* Opportunities and challenges for sustainable bioremediation of natural and synthetic estrogens as emerging water contaminants using bacteria, fungi, and algae. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 232, n. 6, p. 242, 2021.

REDE, D. *et al.* Individual and mixture toxicity evaluation of three pharmaceuticals to the germination and growth of *Lactuca sativa* seeds. **Science of the Total Environment**, v. 673, p. 102-109, 2019.

REICHERT, G. *et al.* Determination of Parabens, Triclosan, and Lipid Regulators in a Subtropical Urban River: Effects of Urban Occupation. **Water Air Soil Pollut** 231, 133 (2020).

REIS, Ana C. *et al.* Biodegradation of antibiotics: The new resistance determinants-part I. **New biotechnology**, v. 54, p. 34-51, 2020.

RESTREPO, María Alejandra Flórez; LEGARDA, Xiomara López; SÁNCHEZ, Freimar Segura. Bioremediation of emerging pharmaceutical pollutants acetaminophen and ibuprofen by white-rot fungi-A review. **Science of the Total Environment**, v. 977, p. 179379, 2025.

RIAZ, L. *et al.* Fluoroquinolones (FQs) in the environment: A review on their abundance, sorption and toxicity in soil. **Chemosphere**, v. 191, p. 704-720, 2018.

RIBAS, Priscila Pauly *et al.* Estudos sobre remoção de micropoluentes emergentes em efluentes no Brasil: uma revisão sistemática. **Revista Brasileira de Meio Ambiente**, v. 9, n. 1, 2021.

RICHARDSON, Malcolm D.; RAUTEMAA-RICHARDSON, Riina. Biotic environments supporting the persistence of clinically relevant mucormycetes. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 1, p. 4, 2019.

RODRIGUES, Josiane Santiago *et al.* Presença de fármacos e hormônios na água: uma análise cienciométrica. **Research, Society and Development**, v. 7, n. 6, p.

e776185-e776185, 2018.

ROMANO, L. E. **Desenvolvimento de metodologia para determinação de diclofenaco em águas superficiais**. 2018. 61 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2018.

ROUT, Prangya R. *et al.* Treatment technologies for emerging contaminants in wastewater treatment plants: A review. **Science of The Total Environment**, v. 753,

ROVERI, V. *et al.* Occurrence of pharmaceuticals and cocaine in the urban drainage channels of São Vicente Island (Brazil): Environmental risk assessment and load estimation for coastal waters. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 45, p. 67 768–67 782, 2022. DOI: 10.1007/s11356-022-19736-4.

SAARISTO, M. *et al.* Direct and indirect effects of chemical contaminants on the behaviour, ecology and evolution of wildlife. *Proceedings of the Royal Society B*, v. 285, n. 1885, 20181297, 2018. DOI: 10.1098/rspb.2018.1297.

SAEED, Muhammad Usama *et al.* Microbial bioremediation strategies with wastewater treatment potentialities-A review. **Science of the total environment**, v. 818, p. 151754, 2022.

SAJJAD, K. *et al.* Ligninases: current status, production, optimization, and industrial applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 2025. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s43994-025-00287-6>

SALGADO, Ricardo *et al.* Metabolite identification of ibuprofen biodegradation by *Patulibacter medicamentivorans* under aerobic conditions. **Environmental technology**, v. 41, n. 4, p. 450-465, 2020.

SALVIA, Marie-Virginie *et al.* Development of a multi-residue method using acetonitrile-based extraction followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of steroids and veterinary and human drugs at trace levels in soil. **Journal of Chromatography A**, v. 1245, p. 122-133, 2012.

SAMBAZA, Shepherd Sundayi; NAICKER, Nisha. Contribution of wastewater to antimicrobial resistance: A review article. **Journal of global antimicrobial resistance**, v. 34, p. 23-29, 2023.

SAMSON, Robert A. *et al.* Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. **Studies in mycology**, v. 78, n. 1, p. 141-173, 2014.

SANTANA, R. D. **Uso e ocupação do território do Arroio Dourado, antigo lixão do município de Foz do Iguaçu-PR e seu entorno: um enfoque nas desigualdades espaciais**. 2022. 85 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Geografia Bacharelado). Universidade Federal da Integração Latino-Americana (UNILA), Foz do Iguaçu, 2022.

SARSAIYA, Surendra *et al.* The dynamic of cellulase activity of fungi inhabiting organic municipal solid waste. **Bioresource technology**, v. 251, p. 411-415, 2018.

SAXENA, Priyam *et al.* Profiling of emerging contaminants and antibiotic resistance in sewage treatment plants: an Indian perspective. **Journal of Hazardous Materials**, v. 408, p. 124877, 2021.

SCHMELLER, Dirk S. *et al.* People, pollution and pathogens-Global change impacts in mountain freshwater ecosystems. **Science of the Total Environment**, v. 622, p. 756-763, 2018.

SCHMIDT, W.; REDSHAW, C. H. Evaluation of biological endpoints in crop plants after exposure to non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): implications for phytotoxicological assessment of novel contaminants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 112, p. 212-222, 2015.

SCHOCH, Conrad L. *et al.* Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. **Proceedings of the national academy of Sciences**, v. 109, n. 16, p. 6241-6246, 2012.

SILVA, L. M. da *et al.* Ibuprofeno induz toxicidade e mutagenicidade em diferentes organismos modelo expostos a concentrações ambientalmente relevantes e não relevantes. **Saúde e Meio Ambiente: Revista Interdisciplinar**, v. 12, p. 245-258, 2023a.

SILVA, L. M. da *et al.* Ecotoxicidade do ibuprofeno em concentrações ambientalmente relevantes e não relevantes sobre a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de trigo (*Triticum aestivum* L.). **Acta Biológica Catarinense**, v. 10, n. 3, p. 25-33, 2023b.

SILVA, L. M. da. Impactos dos detergentes no meio ambiente: evidências de um estudo ecotoxicológico. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 9, n. 2, p. 1429-1441, 2023.

SILVA, L. M. *et al.* Eco(geno)toxicity of an acaricidal formulation containing chlorpyrifos, cypermethrin, and fenthion on different plant models and *Artemia salina* L. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 31, n. 49, p. 58928-58945, 2024.

SILVA, L. M.; VIEIRA, L. F. A. Ecotoxicological bioassays with terrestrial plants: a holistic view of standards, guidelines, and protocols. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B**, v. 28, n. 3, p. 183-221, 2025.

SILVA, Sílvia Sônia da *et al.* **Qualidade da água superficial e subterrânea na região de um lixão desativado: Arroio Dourado - Foz do Iguaçu**. In: IV Congresso Brasileiro de Ciências e Tecnologias ambientais. Tema: Ciências Ambientais em Tempos de Pandemia: Pilares da Sustentabilidade em Debate. Evento *on-line*. 2021. Toledo - PR. ISSN: 2447-1887.

SILVA, V. W. P. D. *et al.* Descarte de medicamentos e os impactos ambientais: uma revisão integrativa da literatura. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 28, p. 1113-1123, 2023.

SIMÕES, M. S. *et al.* Padronização de bioensaios para detecção de compostos

alelopáticos e toxicantes ambientais utilizando alface. **Biotemas**, v. 26, n. 3, p. 29-36, 2013.

SIMONETTI, Federica *et al.* A review on the latest frontiers in water quality in the era of emerging contaminants: A focus on perfluoroalkyl compounds. **Environmental Pollution**, p. 126402, 2025.

SINGH, Chandra Kant *et al.* Managing the complexity of emerging contaminants in aquatic environments: exploring their ecotoxicological impacts, detection techniques, and the use of innovative technologies for their remediation. **Discover Catalysis**, v. 2, n. 1, p. 9, 2025.

SINGH, Deepti; GUPTA, Neeraj. Microbial Laccase: a robust enzyme and its industrial applications. **Biologia**, v. 75, n. 8, p. 1183-1193, 2020.

SINGH, G.; SINGH, A.; MISHRA, V. K. A critical review of occurrence, sources, fate, ecological risk, and health effect of emerging contaminants in water and wastewater. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, v. 22, 100994, 2024.

SIVARANJANEE, R.; KUMAR, P. Senthil. A review on remedial measures for effective separation of emerging contaminants from wastewater. **Environmental Technology & Innovation**, v. 23, p. 101741, 2021.

SOARES, L. M.; FRIGO, J. P.; SOARES, N. M. **Perspectivas em educação ambiental sobre o lixão desativado Arroio Dourado em Foz Do Iguaçu/PR**. IN: CONEDU-IX Congresso Nacional de Educação Ambiental / organizadores, Paula Almeida de Castro, Jocielys Jovelino Rodrigues. - Campina Grande: Realize eventos, 2024. 645 p. : il; v.2.

SOARES, Lizandra Martins *et al.* Avaliação da qualidade da água na região do lixão desativado em Foz do Iguaçu/PR. **Observatório de La Economía Latinoamericana**, v. 21, n. 10, p. 16431-16451, 2023.

SODHI, Kushneet Kaur; KUMAR, Mohit; SINGH, Dileep Kumar. Potential application in amoxicillin removal of *Alcaligenes* sp. MMA and enzymatic studies through molecular docking. **Archives of Microbiology**, v. 202, n. 6, 2020.

SONG, Wenfang *et al.* Aerobic degradation of ketoprofen by marine consortia: Fenton-like reaction and degradation pathway. **Science of The Total Environment**, v. 892, p. 164520, 2023.

SOUZA, R. C. **Determinação de fármacos em mananciais do estado de São Paulo e estudo da sua ecotoxicidade sobre a cianobactéria *Microcystis aeruginosa***. 2017. Tese (Doutorado em Toxicologia e Análises Toxicológicas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

STENGEL, Ashley *et al.* Improving taxonomic delimitation of fungal species in the age of genomics and phenomics. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 847067, 2022.

STRAITS RESEARCH. **Ibuprofen market size, share & trends analysis report by**

dosage form: forecasts, 2025-2033. 2025. Disponível em: <https://straitsresearch.com/report/ibuprofen-market>. Acesso em: 8 jul. 2025.

STREMEL, D. P., **Apostila de cinética e biorreatores agroindustriais**. Universidade Federal do Paraná. p. 49, Palotina, 2013.

STUMPF, Marcus *et al.* Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Science of the total environment**, v. 225, n. 1-2, p. 135-141, 1999.

STUMPF, Marcus *et al.* Organic residues in lake and drinking water from the lagoa de Juturnaíba (região dos lagos-RJ, Brazil). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 8, p. 509-514, 1997.

SU, Lei; NIU, Yong-Chun. Multilocus phylogenetic analysis of *Talaromyces* species isolated from cucurbit plants in China and description of two new species, *T. cucurbitiradicus* and *T. endophyticus*. **Mycologia**, v. 110, n. 2, p. 375-386, 2018.

SURYADI, Herman *et al.* Biodelignification of lignocellulose using ligninolytic enzymes from white-rot fungi. **Heliyon**, v. 8, n. 2, 2022.

TAREKEGN, M *et al.* Microbes used as a tool for bioremediation of heavy metal from the environment, 2020. **Cogent Food & Agriculture**, 6:1, 1783174 DOI: 10.1080/23311932.2020.1783174.

THOMAS, Kevin V. *et al.* Screening for selected human pharmaceuticals and cocaine in the urban streams of Manaus, Amazonas, Brazil. **JAWRA Journal of the American Water Resources Association**, v. 50, n. 2, p. 302-308, 2014.

THRUPP, Tara J. *et al.* The consequences of exposure to mixtures of chemicals: Something from 'nothing' and 'a lot from a little' when fish are exposed to steroid hormones. **Science of the total environment**, v. 619, p. 1482-1492, 2018.

TOGHUEO, Rufin MK *et al.* Enzymatic activity of endophytic fungi from the medicinal plants *Terminalia catappa*, *Terminalia mantaly* and *Cananga odorata*. **South African Journal of Botany**, v. 109, p. 146-153, 2017.

TORRES-FARRADÁ, Giselle *et al.* White rot fungi as tools for the bioremediation of xenobiotics: a review. **Journal of Fungi**, v. 10, n. 3, p. 167, 2024.

TRIMIDI, Aline Teixeira do Brasil Morais. **Biotransformação/Biodegradação do Antibiótico Norfloxacino por Fungos de Ambiente Marinho**. 2018. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

UE. União Europeia. **Options for a Strategic Approach to Pharmaceuticals in the Environment**. Brussels: European Commission, 2022. Disponível em: <https://environment.ec.europa.eu/>. Acesso em: 27 out. 2025.

UNESCO. **Relatório Mundial das Nações Unidas sobre Desenvolvimento dos Recursos Hídricos 2021**. Paris: UNESCO, 2021. Disponível em:

https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000375751_por. Acesso em: 14 jul. 2025.

USEPA. United States of America USA. Environmental Protection Agency. **Ecological Effects Test Guidelines OCSP 850.4100: Seedling Emergence and Seedling Growth**. Washington, EPA 712c012, 2012. Disponível em: <https://www.epa.gov/test-guidelines-pesticides-and-toxic-substances/series-850-ecological-effects-test-guidelines>. Acesso 28 jun. 2025.

USEPA. United States of America USA. Environmental Protection Agency. Natural Resource Damages: **Ecological Risk Assessments (ERAs) and NRDA**s. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency, 2025. Disponível em: <https://www.epa.gov/superfund/natural-resource-damages-eras-and-nrdas>. Acesso em: 03 nov. 2025.

VAKSMAA, Annika *et al.* Role of fungi in bioremediation of emerging pollutants. **Frontiers in Marine Science**, v. 10, p. 1070905, 2023.

VALLE, Roemi Christiane Dalla. **Indicador de salubridade ambiental-ISA do bairro Arroio Dourado**: Foz do Iguaçu-PR. 2014. Disponível em: <http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/6580>. Acesso: abr. 2022.

VARJANI, Sunita; UPASANI, Vivek N. Bioaugmentation of *Pseudomonas aeruginosa* NCIM 5514-A novel oily waste degrader for treatment of petroleum hydrocarbons. **Bioresource Technology**, v. 319, p. 124240, 2021.

VU, Duong *et al.* Large-scale generation and analysis of filamentous fungal DNA barcodes boosts coverage for kingdom fungi and reveals thresholds for fungal species and higher taxon delimitation. **Studies in mycology**, v. 92, n. 1, p. 135-154, 2019.

VULAVA, Vijay M. *et al.* Sorption, photodegradation, and chemical transformation of naproxen and ibuprofen in soils and water. **Science of the Total Environment**, v. 565, p. 1063-1070, 2016.

WALTHER, G. *et al.* DNA barcoding in Mucorales: an inventory of biodiversity. *Persoonia*: **Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 30, p. 11, 2013.

WANG, Fang *et al.* Emerging contaminants: a one health perspective. **The Innovation**, v. 5, n. 4, 2024.

WANG, H. *et al.* Photosynthetic toxicity of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) on green algae *Scenedesmus obliquus*. **Science of the Total Environment**, v. 707, 136176, 2020.

WANG, Honglei *et al.* Characterization of boscalid-induced oxidative stress and neurodevelopmental toxicity in zebrafish embryos. **Chemosphere**, v. 238, p. 124753, 2020.

WANG, Hongqiang; GAO, Xing; ZUO, Yanqiu. Research and application of water treatment technologies for emerging contaminants (ECs): A pathway to solving water environment challenges. **Water**, v. 16, n. 13, p. 1837, 2024.

WANG, Huan *et al.* Ecotoxicological effects, environmental fate and risks of pharmaceutical and personal care products in the water environment: A review. **Science of the Total Environment**, v. 788, p. 147819, 2021.

WANG, J.; WANG, S. Removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) from wastewater: A review. **J. Environ. Manag.** 2016, 182, 620-640.

WANG, Jianhua *et al.* Bi-enzyme directed self-assembled system toward biomimetic synthesis of fatty acid hydroperoxides like soybean. **Composites Part B: Engineering**, p. 109091, 2021.

WANG, N., *et al.* Decolourisation and degradation of Congo red by a newly isolated white rot fungus, *Ceriporia lacerata*, from decayed mulberry branches. **International Biodeterioration & Biodegradation**, 117, p. 236-244, 2017.

WANG, Ning *et al.* Spatiotemporal distribution and ecological risk assessment of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) from Luoma Lake, an important node of the South-to-North Water Diversion Project. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 195, n. 11, p. 1330, 2023.

WANG, Qiang *et al.* Evolution of microbial community and drug resistance during enrichment of tetracycline-degrading bacteria. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 171, p. 746-752, 2019.

WHITE, Thomas J. *et al.* Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. **PCR protocols: a guide to methods and applications**, v. 18, n. 1, p. 315-322, 1990.

WHO. World Health Organizatio. Edition F. **Guidelines for drinking-water quality. fourth edition incorporating the first and second addenda** (March 2022). pdf. 2022. pp. 104–108. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240045064>.

WIJAYA, Leonard *et al.* Ecotoxicological effects of ibuprofen on plant growth of *Vigna unguiculata* L. **Plants**, v. 9, n. 11, p. 1473, 2020.

WILKINSON, J. L. *et al.* Pharmaceutical pollution of the world's rivers. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, v. 119, n. 8, e2113947119, 2022.

WU, Jia-le *et al.* Occurrence, removal and risk evaluation of ibuprofen and acetaminophen in municipal wastewater treatment plants: A critical review. **Science of the Total Environment**, v. 891, p. 164600, 2023.

WYDRO *et al.* A Review on Pharmaceuticals and Personal Care Products Residues in the Aquatic Environment and Possibilities for Their Remediation. **Sustainability**, v. 16, n. 169, p. 1–38, 2024.

XIE, H. *et al.* Pharmaceuticals and personal care products in water, sediments, aquatic organisms, and fish feeds in the Pearl River Delta: Occurrence, distribution, potential sources, and health risk assessment. **Sci. Total Environ.** 2019, 659, 230-239.

YAKAMERCAN, Elif *et al.* A Critical Review of Contaminants of Emerging Concern in Reclaimed Wastewater: Implications for Agricultural Irrigation. **Water Conservation Science and Engineering**, v. 10, n. 3, p. 112, 2025.

YANG, Chu-Wen; LIU, Chien; CHANG, Bea-Ven. Biodegradation of amoxicillin, tetracyclines and sulfonamides in wastewater sludge. **Water**, v. 12, n. 8, p. 2147, 2020.

YEW, W. S. *et al.* Advances in high-throughput enzyme screening for plastic-degrading biocatalysts. **Trends in Biotechnology**, v. 42, n. 7, p. 945-958, 2024.

ZAINAB, Syeda Maria *et al.* Antibiotics and antibiotic resistant genes (ARGs) in groundwater: A global review on dissemination, sources, interactions, environmental and human health risks. **Water Research**, [s. l.], v. 187, p. 116455, 2020.

ZANNE, Amy E. *et al.* Fungal functional ecology: bringing a trait-based approach to plant-associated fungi. **Biological Reviews**, v. 95, n. 2, p. 409-433, 2020.

ZENG, Jun *et al.* Effects of polycyclic aromatic hydrocarbon structure on PAH mineralization and toxicity to soil microorganisms after oxidative bioremediation by laccase. **Environmental Pollution**, [s. l.], v. 287, p. 117581, 2021.

ZHAI, Ming *et al.* The bioactive secondary metabolites from *Talaromyces*. **Marine Drugs**, v. 14, n. 2, p. 9–21, 2016.

ZHANG, Chongjun *et al.* Co-substrate addition accelerated amoxicillin degradation and detoxification by up-regulating degradation related enzymes and promoting cell resistance. **Journal of hazardous materials**, v. 394, p. 122574, 2020.

ZHANG, H. *et al.* Source, transport, and toxicity of emerging contaminants in aquatic environments: a review on recent studies. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, n. 58, p. 121420-121437, 2023.

ZHANG, Jing *et al.* Feasibility and constraints of edible fungi bio-flocculating microalgae. **Algal Research**, v. 70, p. 103004, 2023.

ZHANG, Lei *et al.* River bacterial community structure and co-occurrence patterns under the influence of different domestic sewage types. **Journal of environmental management**, v. 266, p. 110590, 2020.

ZHANG, T. *et al.* Stress symptoms and plant hormone-modulated defense response induced by the uptake of carbamazepine and ibuprofen in Malabar spinach (*Basella alba* L.). **Science of the Total Environment**, v. 793, 148628, 2021.

ZHOU, Wenting; ZHANG, Wenxiang; CAI, Yanpeng. Laccase immobilization for water purification: A comprehensive review. **Chemical Engineering Journal**, v. 403, p. 1-15, 2021, 126272. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.126272>.

ŻUR, Joanna *et al.* Organic micropollutants paracetamol and ibuprofen-toxicity, biodegradation, and genetic background of their utilization by bacteria. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 22, p. 21498-21524, 2018.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Código dos Isolados

Quadro 6 – Codificação das linhagens isoladas do riacho Arroio Dourado.

Isolado	PC	Classe	Isolado	Ponto	Classe	Isolado	PC	Classe
BAR 001	P1	T1	BAR 029	P2	T3	BAR 044	P2	T5
BAR 002	P1	T1	BAR 030	P2	T3	BAR 045	P2	T5
BAR 003	P1	T1	BAR 031	P2	T3	BAR 046	P2	T5
BAR 004	P2	T2	BAR 032	P2	T3	BAR 047	P2	T5
BAR 005	P1	T2	BAR 033	P2	T3	BAR 048	P2	T5
BAR 006	P1	T2	BAR 034	P2	T3	BAR 049	P2	T5
BAR 007	P1	T2	BAR 035	P2	T3	BAR 050	P2	T5
BAR 008	P1	T2	BAR 036	P2	T4	BAR 051	P2	T5
BAR 009	P1	T2	BAR 037	P2	T4	FAR 001	P1	T1
BAR 010	P1	T3	BAR 038	P2	T4	FAR 002	P1	T4
BAR 011	P1	T3	BAR 039	P2	T4	FAR 003	P1	T4
BAR 012	P1	T3	BAR 040	P2	T4	FAR 004	P1	T5
BAR 013	P1	T3	BAR 041	P2	T4	FAR 005	P1	T5
BAR 014	P1	T4	BAR 042	P2	T4	FAR 006	P1	T5
BAR 015	P1	T4	BAR 043	P2	T4	FAR 007	P2	T1
BAR 016	P1	T4	BAR 044	P2	T5	FAR 008	P2	T4
BAR 017	P1	T5	BAR 045	P2	T5	FAR 009	P2	T1
BAR 018	P1	T5	BAR 046	P2	T5	FAR 010	P2	T4
BAR 019	P1	T5	BAR 047	P2	T5	FAR 011	P2	T5
BAR 020	P1	T5	BAR 048	P2	T5	FAR 012	P2	T2
BAR 021	P1	T5	BAR 036	P2	T4	FAR 013	P1	T2
BAR 022	P2	T1	BAR 037	P2	T4	FAR 014	P1	T2
BAR 023	P2	T1	BAR 038	P2	T4	FAR 015	P1	T5
BAR 024	P2	T1	BAR 039	P2	T4	FAR 016	P2	T3
BAR 025	P2	T1	BAR 040	P2	T4	FAR 017	P1	T3
BAR 026	P2	T2	BAR 041	P2	T4	FAR 018	P1	T3
BAR 027	P2	T2	BAR 042	P2	T4	FAR 019	P1	T3
BAR 028	P2	T2	BAR 043	P2	T4	-	-	-

Legenda: Pontos de Coleta – PC, Bactérias Arroio – BAR, Fungos Arroio – FAR, tratamentos – T, antitêrmicos – T1, anti-inflamatórios – T2, antimicrobianos – T3, antidepressivos – T4, hormônios – T5, Ponto 1 – P1, Ponto 2 – P2.

Fonte: Autora (2025).

APÊNDICE B - Tabelas com os dados estatísticos do teste de viabilidade celular

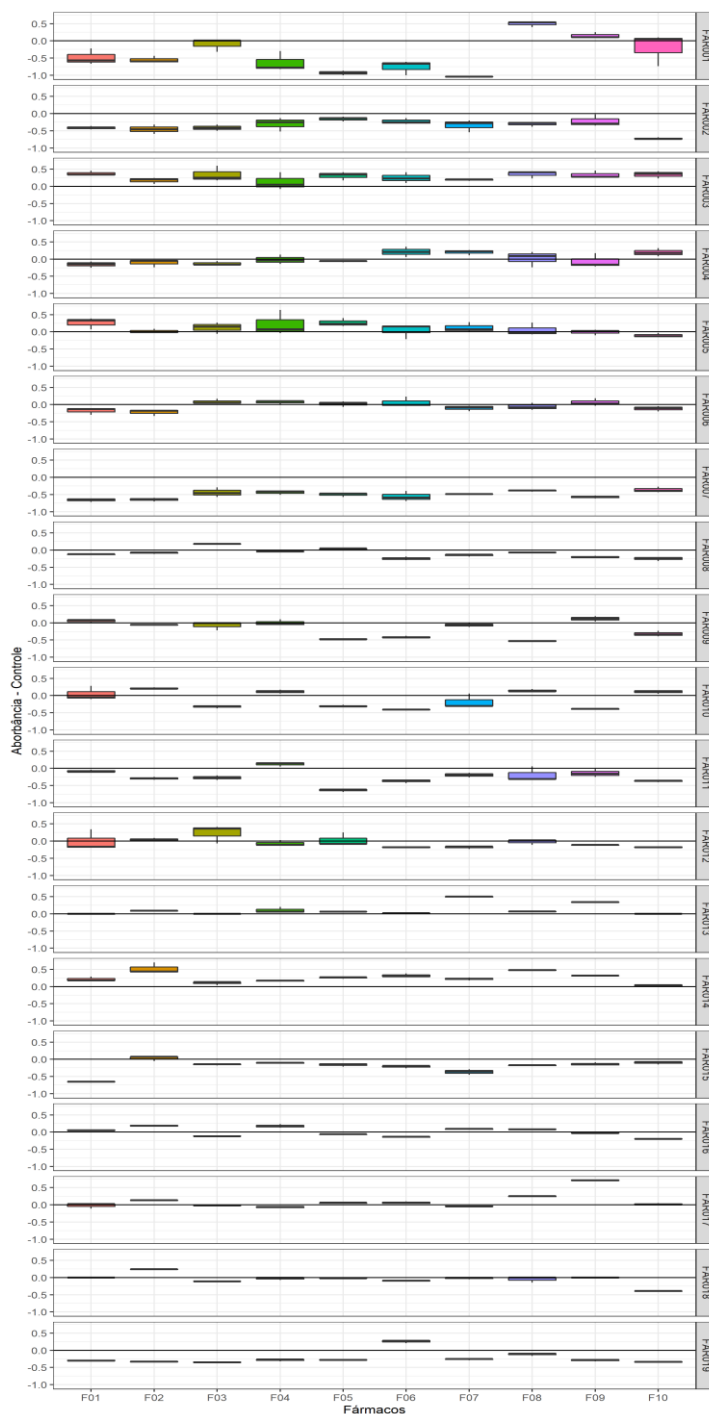
Tabela 12 – Médias e desvios-padrão da absorbância nos testes de viabilidade celular fúngica.

Fungos Isolados	Fármacos									
	Paracetamol	Dipirona	AAS	Ibuprofeno	Diclofenaco	Fluconazol	Amoxicilina	Amitriptilina	Fluoxetina	Hormônios
FAR001	-0,484 ±0,137	-0,551 ±0,057	-0,099 ±0,111	-0,633 ±0,168	-0,933 ±0,040	-0,761 ±0,120	-1,037 ±0,001	0,500 ±0,048	0,151 ±0,052	-0,196 ±0,273
FAR002	-0,413 ±0,028	-0,457 ±0,078	-0,412 ±0,051	-0,300 ±0,117	-0,153 ±0,039	-0,225 ±0,052	-0,342 ±0,104	-0,303 ±0,040	-0,221 ±0,103	-0,722 ±0,016
FAR003	0,372 ±0,039	0,170 ±0,049	0,339 ±0,131	0,228 ±0,046	0,309 ±0,071	0,243 ±0,090	0,193 ±0,018	0,347 ±0,061	0,335 ±0,063	0,343 ±0,062
FAR004	-0,154 ±0,052	-0,109 ±0,067	-0,126 ±0,031	-0,018 ±0,078	-0,063 ±0,015	0,209 ±0,085	0,203 ±0,045	0,021 ±0,134	-0,067 ±0,120	0,191 ±0,070
FAR005	0,261 ±0,097	0,019 ±0,034	0,121 ±0,098	0,224 ±0,012	0,267 ±0,068	0,042 ±0,126	0,117 ±0,084	0,050 ±0,108	-0,004 ±0,048	-0,105 ±0,039
FAR006	-0,177 ±0,062	-0,218 ±0,059	0,087 ±0,043	0,069 ±0,035	0,020 ±0,046	0,057 ±0,084	-0,098 ±0,047	-0,060 ±0,060	0,059 ±0,063	-0,118 ±0,046
FAR007	-0,660 ±0,032	-0,645 ±0,029	-0,441 ±0,081	-0,435 ±0,037	-0,501 ±0,037	-0,558 ±0,087	-0,485 ±0,004	-0,389 ±0,015	-0,569 ±0,024	-0,364 ±0,047
FAR008	-0,126 ±0,011	-0,083 ±0,014	0,180 ±0,009	-0,041 ±0,006	0,033 ±0,016	-0,244 ±0,030	-0,150 ±0,019	-0,064 ±0,004	-0,203 ±0,018	-0,252 ±0,034
FAR009	0,055 ±0,034	-0,062 ±0,006	-0,074 ±0,071	0,001 ±0,051	-0,471 ±0,010	-0,417 ±0,018	-0,066 ±0,034	-0,531 ±0,011	0,116 ±0,044	-0,323 ±0,048
FAR010	0,046 ±0,120	0,213 ±0,011	-0,319 ±0,026	0,115 ±0,031	-0,305 ±0,018	-0,411 ±0,007	-0,181 ±0,119	0,143 ±0,025	-0,388 ±0,010	0,112 ±0,031
FAR011	-0,081 ±0,023	-0,292 ±0,023	-0,271 ±0,038	0,123 ±0,035	-0,639 ±0,028	-0,368 ±0,030	-0,193 ±0,036	-0,187 ±0,126	-0,142 ±0,067	-0,371 ±0,013
FAR012	-0,007 ±0,173	0,046 ±0,023	0,236 ±0,152	0,139 ±0,047	0,224 ±0,111	-0,180 ±0,013	-0,181 ±0,025	-0,017 ±0,044	-0,113 ±0,005	-0,180 ±0,011
FAR013	-0,005 ±0,003	0,086 ±0,003	-0,005 ±0,003	0,104 ±0,050	0,063 ±0,001	0,018 ±0,003	0,496 ±0,008	0,062 ±0,008	0,338 ±0,006	0,005 ±0,003
FAR014	0,219 ±0,035	0,520 ±0,092	0,100 ±0,031	0,169 ±0,012	0,255 ±0,014	0,322 ±0,031	0,221 ±0,024	0,482 ±0,006	0,317 ±0,001	0,034 ±0,011
FAR015	-0,646 ±0,003	0,032 ±0,042	-0,153 ±0,015	-0,108 ±0,014	-0,157 ±0,027	-0,214 ±0,023	-0,366 ±0,049	-0,180 ±0,011	-0,141 ±0,025	-0,101 ±0,026
FAR016	0,058 ±0,011	0,184 ±0,013	-0,117 ±0,008	0,173 ±0,031	-0,069 ±0,011	-0,148 ±0,004	0,093 ±0,012	0,083 ±0,003	-0,021 ±0,009	-0,195 ±0,007
FAR017	-0,021 ±0,046	0,131 ±0,008	-0,022 ±0,002	-0,067 ±0,017	0,053 ±0,013	0,062 ±0,020	-0,039 ±0,012	0,251 ±0,011	0,715 ±0,013	0,021 ±0,015
FAR018	0,002 ±0,002	0,243 ±0,005	-0,112 ±0,007	0,125 ±0,022	-0,011 ±0,010	-0,091 ±0,006	-0,020 ±0,016	-0,045 ±0,053	-0,001 ±0,012	-0,397 ±0,004
FAR019	-0,295 ±0,008	-0,327 ±0,010	-0,350 ±0,014	-0,283 ±0,016	-0,276 ±0,007	0,263 ±0,024	-0,264 ±0,015	-0,116 ±0,024	-0,282 ±0,020	-0,338 ±0,009

Nota: valores positivos em negrito indicam significância estatística em relação ao grupo controle ($p < 0,05$) e tolerância ao fármaco testado.

Fonte: Autora (2025).

Figura 46 – Box-plots dos valores de absorbância dos testes de viabilidade celular dos fungos em relação aos fármacos testados.



Legenda: F01(Paracetamol), F02 (Dipirona), F03 (AAS), F04(Ibuprofeno), F05(Diclofenaco), F06(Fluconazol), F07(Amoxicilina), F08(Amitriptilina), F09(Fluoxetina), F10(Hormônio).

Nota: a linha preta indicada no ponto zero em cada gráfico representa os valores do grupo controle.

Fonte: Autora (2025).

Tabela 13 – Médias ± desvios-padrão da absorbância nos testes de viabilidade celular das bactérias (BAR001-BAR017).

Continua...

Bactérias Isoladas	Fármacos									
	Paracetamol	Dipirona	AAS	Ibuprofeno	Diclofenaco	Fluconazol	Amoxicilina	Amitriptilina	Fluoxetina	Hormônios
BAR001	0,035 ±0,025	0,020 ±0,020	0,088 ±0,043	-0,023 ±0,009	0,063 ±0,054	-0,001 ±0,002	-0,085 ±0,012	-0,033 ±0,012	-0,006 ±0,019	-0,007 ±0,012
BAR002	0,016 ±0,038	-0,035 ±0,048	-0,029 ±0,068	-0,019 ±0,065	-0,067 ±0,059	-0,172 ±0,035	0,064 ±0,073	0,110 ±0,043	-0,057 ±0,024	-0,001 ±0,075
BAR003	0,188 ±0,039	0,083 ±0,033	0,207 ±0,085	0,078 ±0,035	0,041 ±0,010	0,076 ±0,039	-0,048 ±0,058	-0,200 ±0,089	0,134 ±0,026	0,049 ±0,008
BAR004	-0,005 ±0,014	-0,018 ±0,071	0,121 ±0,023	0,030 ±0,012	0,045 ±0,006	0,019 ±0,016	-0,030 ±0,025	-0,014 ±0,040	-0,040 ±0,032	0,045 ±0,022
BAR005	-0,004 ±0,013	0,055 ±0,015	0,002 ±0,035	0,099 ±0,014	0,058 ±0,002	0,019 ±0,020	0,040 ±0,032	0,055 ±0,050	-0,003 ±0,011	0,029 ±0,013
BAR006	0,099 ±0,036	0,098 ±0,034	0,159 ±0,033	0,072 ±0,032	-0,163 ±0,115	0,075 ±0,036	-0,162 ±0,067	-0,056 ±0,107	-0,189 ±0,146	0,056 ±0,044
BAR007	0,276 ±0,010	0,326 ±0,014	0,332 ±0,015	0,316 ±0,027	0,342 ±0,013	0,309 ±0,016	0,276 ±0,010	0,326 ±0,029	0,249 ±0,017	0,287 ±0,043
BAR008	-0,069 ±0,022	-0,075 ±0,010	0,017 ±0,009	-0,081 ±0,015	-0,037 ±0,014	-0,064 ±0,028	-0,092 ±0,001	-0,067 ±0,026	-0,048 ±0,018	-0,337 ±0,101
BAR009	-0,122 ±0,007	-0,132 ±0,006	-0,094 ±0,011	-0,090 ±0,017	-0,093 ±0,013	-0,085 ±0,018	-0,101 ±0,026	-0,083 ±0,018	-0,100 ±0,010	-0,327 ±0,012
BAR010	0,229 ±0,075	0,170 ±0,081	0,270 ±0,034	0,167 ±0,046	0,174 ±0,058	0,115 ±0,116	0,068 ±0,091	0,068 ±0,091	0,056 ±0,093	0,018 ±0,068
BAR011	0,009 ±0,034	-0,035 ±0,107	-0,081 ±0,042	0,020 ±0,093	-0,094 ±0,010	-0,182 ±0,086	-0,096 ±0,023	-0,122 ±0,079	-0,245 ±0,020	-0,090 ±0,156
BAR012	0,199 ±0,008	0,226 ±0,025	0,312 ±0,055	0,206 ±0,020	0,276 ±0,043	0,182 ±0,079	0,164 ±0,019	0,134 ±0,083	0,077 ±0,090	0,060 ±0,087
BAR013	0,088 ±0,023	0,074 ±0,023	0,094 ±0,026	0,145 ±0,082	0,117 ±0,018	-0,097 ±0,044	-0,317 ±0,045	0,045 ±0,093	-0,074 ±0,104	-0,078 ±0,083
BAR014	-0,006 ±0,023	-0,033 ±0,012	-0,027 ±0,019	0,031 ±0,056	0,036 ±0,033	0,116 ±0,063	0,035 ±0,084	0,050 ±0,056	0,1317 ±0,078	-0,036 ±0,003
BAR015	-0,129 ±0,069	-0,030 ±0,101	0,052 ±0,009	-0,051 ±0,060	0,163 ±0,052	0,110 ±0,037	-0,184 ±0,004	0,103 ±0,050	0,128 ±0,023	0,018 ±0,040
BAR016	0,042 ±0,046	0,009 ±0,047	0,118 ±0,060	-0,044 ±0,020	-0,008 ±0,020	0,023 ±0,032	-0,03 ±0,018	-0,068 ±0,064	-0,018 ±0,068	0,087 ±0,028
BAR017	-0,085 ±0,079	-0,058 ±0,003	-0,017 ±0,041	-0,000 ±0,052	0,032 ±0,015	0,032 ±0,006	0,061 ±0,051	0,056 ±0,031	0,135 ±0,045	0,149 ±0,112

Nota: Valores em negrito indicam significância estatística em relação ao grupo controle (p<0,05).

Fonte: Autora (2025).

Tabela 14 – Médias ± desvios-padrão da absorvância nos testes de viabilidade celular das bactérias (BAR018-BAR034).

(continuação)...

Bactérias Isoladas	Fármacos													
	Paracetamol	Dipirona	AAS	Ibuprofeno	Diclofenaco	Fluconazol	Amoxicilina	Amitriptilina	Fluoxetina	Hormônios				
BAR018	0,180 ±0,140	0,276 ±0,113	0,171 ±0,036	0,113 ±0,056	0,162 ±0,023	0,170 ±0,056	0,101 ±0,034	0,105 ±0,032	0,106 ±0,026	0,117 ±0,044				
BAR019	0,056 ±0,012	0,006 ±0,055	0,026 ±0,058	-0,004 ±0,061	-0,038 ±0,019	0,055 ±0,101	0,008 ±0,070	0,024 ±0,115	-0,144 ±0,014	-0,041 ±0,066				
BAR020	0,135 ±0,039	0,135 ±0,109	0,034 ±0,031	0,106 ±0,057	0,195 ±0,086	0,017 ±0,119	0,180 ±0,029	-0,056 ±0,106	-0,209 ±0,085	0,099 ±0,102				
BAR021	0,053 ±0,012	0,134 ±0,023	0,112 ±0,038	0,244 ±0,037	0,126 ±0,021	0,172 ±0,063	0,140 ±0,027	0,010 ±0,008	0,118 ±0,006	0,043 ±0,033				
BAR022	0,082 ±0,032	-0,033 ±0,056	0,138 ±0,092	0,092 ±0,060	0,304 ±0,042	0,150 ±0,101	0,306 ±0,057	0,262 ±0,094	0,337 ±0,023	0,363 ±0,022				
BAR023	0,089 ±0,048	0,069 ±0,090	-0,026 ±0,067	0,143 ±0,162	0,093 ±0,034	0,061 ±0,083	0,135 ±0,125	0,169 ±0,101	0,068 ±0,033	-0,032 ±0,194				
BAR024	-0,088 ±0,059	-0,041 ±0,048	0,135 ±0,116	-0,036 ±0,006	0,041 ±0,014	0,097 ±0,069	-0,169 ±0,010	-0,033 ±0,035	0,035 ±0,010	0,103 ±0,055				
BAR025	0,064 ±0,025	0,080 ±0,035	0,034 ±0,056	0,052 ±0,060	0,030 ±0,021	0,056 ±0,014	0,192 ±0,067	0,129 ±0,061	0,101 ±0,087	0,108 ±0,123				
BAR026	0,175 ±0,112	0,129 ±0,092	0,196 ±0,032	0,075 ±0,046	0,135 ±0,028	0,134 ±0,026	0,085 ±0,018	0,080 ±0,011	0,070 ±0,012	0,069 ±0,038				
BAR027	-0,093 ±0,034	-0,034 ±0,084	-0,052 ±0,065	-0,056 ±0,047	-0,048 ±0,041	-0,033 ±0,056	-0,067 ±0,037	-0,075 ±0,054	-0,075 ±0,054	-0,042 ±0,042				
BAR028	-0,179 ±0,026	-0,251 ±0,007	-0,240 ±0,017	-0,331 ±0,013	-0,162 ±0,030	-0,299 ±0,026	-0,103 ±0,047	-0,110 ±0,027	-0,134 ±0,056	-0,116 ±0,062				
BAR029	0,101 ±0,098	0,137 ±0,077	0,044 ±0,027	0,145 ±0,026	0,0797 ±0,060	0,037 ±0,026	0,017 ±0,049	0,094 ±0,047	-0,025 ±0,012	0,003 ±0,042				
BAR030	0,066 ±0,026	0,142 ±0,039	0,042 ±0,021	0,096 ±0,009	0,055 ±0,018	0,101 ±0,031	0,100 ±0,030	0,183 ±0,075	-0,050 ±0,013	0,170 ±0,051				
BAR031	0,054 ±0,036	0,077 ±0,056	0,011 ±0,023	0,008 ±0,007	0,039 ±0,003	0,050 ±0,011	0,075 ±0,024	-0,088 ±0,024	0,083 ±0,036	0,062 ±0,010				
BAR032	-0,064 ±0,026	-0,053 ±0,027	-0,039 ±0,044	-0,060 ±0,045	-0,029 ±0,046	-0,011 ±0,030	0,007 ±0,008	-0,027 ±0,027	0,069 ±0,046	-0,014 ±0,045				
BAR033	-0,049 ±0,046	-0,060 ±0,015	-0,050 ±0,017	0,092 ±0,059	0,048 ±0,026	0,075 ±0,043	0,157 ±0,046	0,131 ±0,024	0,037 ±0,036	0,081 ±0,070				
BAR034	0,116 ±0,068	0,146 ±0,057	0,160 ±0,039	0,171 ±0,051	0,207 ±0,006	0,179 ±0,023	0,181 ±0,033	0,255 ±0,043	0,130 ±0,022	0,160 ±0,014				

Nota: valores em negrito indicam significância estatística em relação ao grupo controle (p<0,05).

Fonte: Autora (2025).

Tabela 15 – Médias ± desvios-padrão da absorvância nos testes de viabilidade celular das bactérias (BAR035-BAR051).

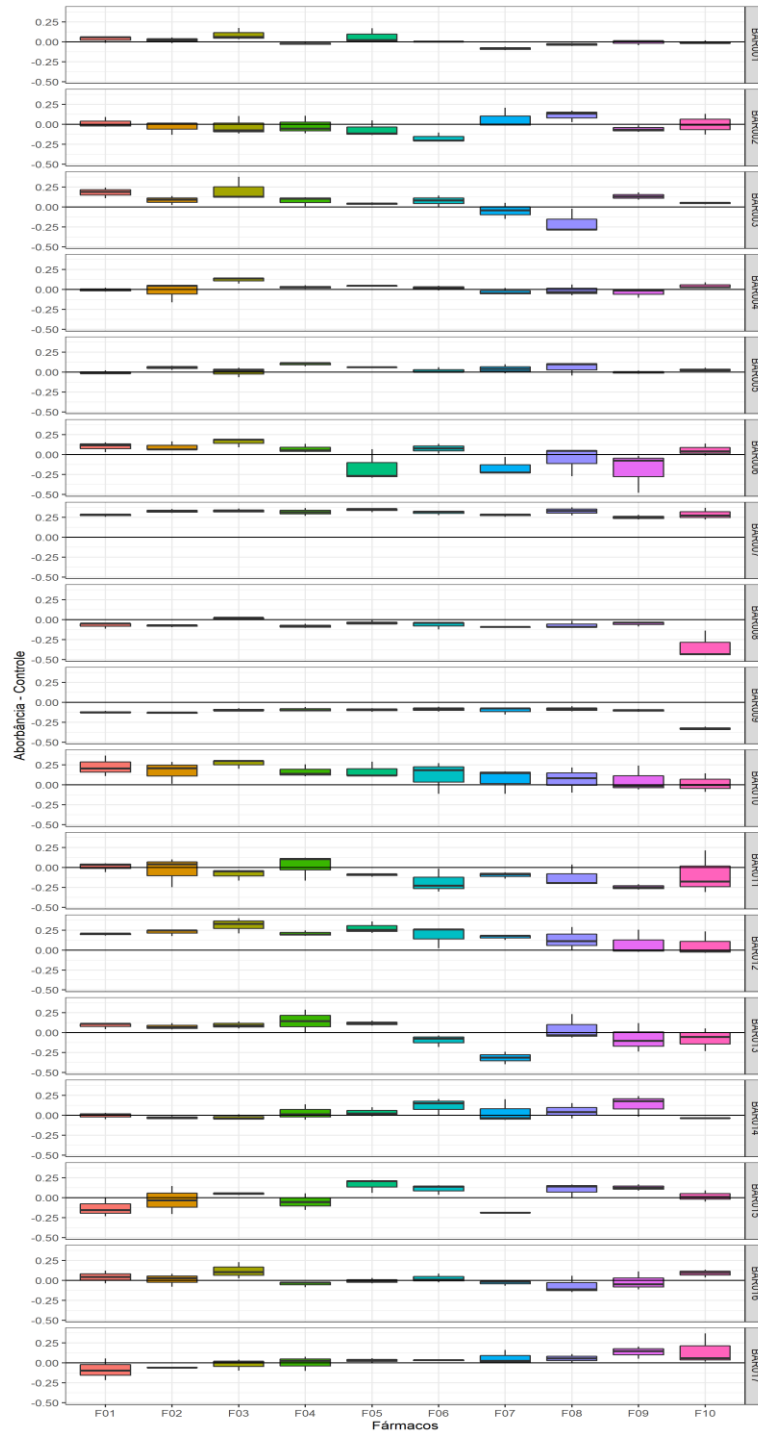
Final.

Bactérias Isoladas	Fármacos																			
	Paracetamol		Dipirona		AAS		Ibuprofeno		Diclofenaco		Fluconazol		Amoxicilina		Amitriptilina		Fluoxetina		Hormônios	
BAR035	-0,015	±0,024	0,020	±0,021	-0,038	±0,016	0,045	±0,016	0,080	±0,074	-0,024	±0,018	0,002	±0,026	0,012	±0,017	0,039	±0,014	0,083	±0,045
BAR036	-0,072	±0,014	-0,063	±0,017	-0,038	±0,014	0,065	±0,108	0,020	±0,036	-0,001	±0,030	-0,007	±0,008	-0,046	±0,015	-0,079	±0,035	-0,043	±0,049
BAR037	0,141	±0,044	0,138	±0,042	0,067	±0,029	0,068	±0,038	0,072	±0,006	0,079	±0,013	0,048	±0,002	0,085	±0,014	0,061	±0,009	0,134	±0,012
BAR038	-0,087	±0,021	-0,137	±0,018	-0,049	±0,017	-0,089	±0,011	-0,001	±0,029	-0,057	±0,007	-0,027	±0,017	-0,048	±0,021	-0,001	±0,016	-0,013	±0,038
BAR039	-0,176	±0,031	-0,162	±0,036	-0,054	±0,037	-0,111	±0,087	-0,160	±0,076	-0,148	±0,076	-0,026	±0,032	-0,056	±0,034	-0,210	±0,009	-0,036	±0,038
BAR040	-0,072	±0,023	-0,050	±0,073	-0,042	±0,086	-0,001	±0,060	-0,089	±0,030	-0,098	±0,055	-0,024	±0,047	-0,089	±0,068	-0,021	±0,042	0,046	±0,047
BAR041	0,027	±0,054	-0,040	±0,011	-0,020	±0,024	0,024	±0,061	0,048	±0,055	0,015	±0,027	0,020	±0,024	0,004	±0,048	-0,017	±0,049	-0,037	±0,052
BAR042	-0,095	±0,016	-0,163	±0,013	-0,136	±0,019	-0,126	±0,031	-0,131	±0,027	-0,133	±0,026	-0,113	±0,030	-0,115	±0,031	-0,096	±0,041	-0,067	±0,050
BAR043	-0,168	±0,013	-0,108	±0,044	-0,168	±0,019	-0,118	±0,033	-0,110	±0,022	-0,013	±0,026	-0,072	±0,058	-0,078	±0,057	-0,065	±0,067	-0,010	±0,064
BAR044	0,076	±0,076	0,077	±0,068	-0,008	±0,019	0,135	±0,012	0,038	±0,012	0,126	±0,022	0,037	±0,007	0,109	±0,017	0,030	±0,012	0,092	±0,017
BAR045	-0,052	±0,011	-0,061	±0,018	-0,027	±0,011	-0,030	±0,004	-0,048	±0,011	-0,038	±0,009	-0,049	±0,003	-0,042	±0,008	-0,024	±0,006	-0,018	±0,007
BAR046	-0,147	±0,032	-0,114	±0,041	-0,165	±0,029	-0,109	±0,043	-0,143	±0,018	-0,117	±0,018	-0,133	±0,017	-0,134	±0,017	-0,157	±0,015	-0,142	±0,014
BAR047	-0,022	±0,003	-0,005	±0,024	0,012	±0,008	0,037	±0,002	0,009	±0,003	0,005	±0,003	0,016	±0,009	-0,002	±0,003	-0,001	±0,006	0,012	±0,009
BAR048	-0,036	±0,007	-0,053	±0,007	-0,037	±0,004	-0,050	±0,002	-0,057	±0,002	-0,050	±0,002	-0,037	±0,004	-0,189	±0,005	-0,017	±0,006	-0,002	±0,001
BAR049	-0,016	±0,026	-0,028	±0,026	-0,037	±0,024	-0,003	±0,042	-0,027	±0,017	-0,009	±0,018	-0,008	±0,018	-0,026	±0,011	-0,013	±0,010	-0,016	±0,007
BAR050	0,000	±0,008	-0,009	±0,005	0,014	±0,012	-0,001	±0,002	-0,025	±0,004	-0,006	±0,007	-0,019	±0,006	-0,018	±0,012	-0,019	±0,006	0,016	±0,009
BAR051	-0,058	±0,041	-0,031	±0,024	0,025	±0,019	-0,004	±0,035	-0,005	±0,018	-0,028	±0,003	0,049	±0,061	-0,027	±0,011	-0,034	±0,020	-0,031	±0,027

Nota: valores em negrito indicam significância estatística em relação ao grupo controle ($p < 0,05$).

Fonte: Autora (2025).

Figura 47 – Box-plots dos valores de absorvância dos testes de viabilidade celular das bactérias (BAR001-BAR017) em relação aos fármacos testados.



Legenda: F01(Paracetamol), F02 (Dipirona), F03 (AAS), F04(Ibuprofeno), F05(Diclofenaco), F06(Fluconazol), F07(Amoxicilina), F08(Amitriptilina), F09(Fluoxetina), F10(Hormônio).

Nota: a linha preta indicada no ponto zero em cada gráfico representa os valores do grupo controle.

Fonte: Autora (2025).

Figura 48 – Box-plots dos valores de absorvância dos testes de viabilidade celular das bactérias (BAR018-BAR034) em relação aos fármacos testados.



Legenda: F01 (Paracetamol), F02 (Dipirona), F03 (AAS), F04 (Ibuprofeno), F05 (Diclofenaco), F06 (Fluconazol), F07 (Amoxicilina), F08 (Amitriptilina), F09 (Fluoxetina), F10 (Hormônio).

Nota: a linha preta indicada no ponto zero em cada gráfico representa os valores do grupo controle.

Figura 49 – Box-plots dos valores de absorvância dos testes de viabilidade celular das bactérias (BAR035-BAR051) em relação aos fármacos testados.



Legenda: F01 (Paracetamol), F02 (Dipirona), F03 (AAS), F04 (Ibuprofeno), F05 (Diclofenaco), F06(Fluconazol), F07(Amoxicilina), F08 (Amitriptilina), F09 (Fluoxetina), F10 (Hormônio).
 Nota: a linha preta indicada no ponto zero em cada gráfico representa os valores do grupo controle.

Fonte: Autora (2025).

APÊNDICE C - Tabelas com os dados estatísticos do *screening* enzimático realizado por sondas

Tabela 16 – Perfil enzimático por sondas para *Geotrichum* sp._FAR003.

Tempo em horas	Enzimas em % RFU					
	LIP	EST1	EPH1	EPH2	BMVO1	BMV2
1	0	0	1,43 ± 0,65	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0,11 ± 0,03	0	0	0	0
6	0,18 ± 0,15	0,28 ± 0,3	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0,16 ± 0,24	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0
11	0,02 ± 0,07	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0
13	0,36 ± 0,06	0,27 ± 0,06	0	0	0	0
14	0,30 ± 0,03	0,12 ± 0,02	0	0	0	0
15	0,15 ± 0,07	0	0	0	0	0
16	0,40 ± 0,09	0,23 ± 0,08	0	0	0	0
17	0,18 ± 0,06	0	0	0	0	0
18	0,58 ± 0,09	0,59 ± 0,03	0	0	0	0
19	0,20 ± 0,25	0	0	0	0	0
20	0,09 ± 0,03	0	0	0	0	0
21	0	0	0	0	0	0
22	0,48 ± 0,09	0,54 ± 0,07	0	0	0	0
23	0,39 ± 0,08	0	0	0	0	0
24	0,25 ± 0,12	0,21 ± 0,05	0	0	0	0

Legenda: LIP (lipase), EST1 (esterase), EPH (epoxi-hidrolases), BMVO (monooxigenases).

Fonte: Autora (2025).

Tabela 17 – Perfil enzimático por sondas para o *Geotrichum* sp._FAR005.

Tempo em horas	Enzimas em % RFU					
	LIP	EST1	EPH1	EPH2	BMVO1	BMV2
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0,36 ± 0,10	0,11 ± 0,03	0	0	0	0
6	0,57 ± 0,16	0,2 ± 0,03	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0
8	0,37 ± 0,28	0	0	0	0	0
9	0,52 ± 0,31	0	0	0	0	0
10	0,32 ± 0,36	0	0	0	0	0
11	0,84 ± 0,48	0	0	0	0	0
12	0,87 ± 0,56	0	0	0	0	0
13	1,79 ± 0,59	0,27 ± 0,04	0	0	0	0
14	1,89 ± 0,60	0,15 ± 0,01	0	0	0	0
15	1,69 ± 0,64	0	0	0	0	0
16	2,26 ± 0,77	0,26 ± 0,06	0	0	0	0
17	2,20 ± 0,72	0	0	0	0	0
18	3,18 ± 0,86	0,68 ± 0,06	0	0	0	0
19	2,85 ± 0,87	0,11 ± 0,04	0	0	0	0
20	2,81 ± 0,92	0,12 ± 0,04	0	0	0	0
21	2,67 ± 1,04	0	0	0	0	0
22	3,90 ± 10,09	0,62 ± 0,05	0	0	0	0
23	3,52 ± 1,17	0,29 ± 0,06	0	0	0	0
24	3,85 ± 1,22	0,25 ± 0,06	0	0	0	0

Legenda: LIP (lipase), EST1 (esterase), EPH (epoxi-hidrolases), BMVO (monooxigenases).

Fonte: Autora (2025).

Tabela 18 – Perfil enzimático por sondas para o *Talaromyces* sp._FAR012.

Tempo em horas	Enzimas em % RFU					
	LIP	EST1	EPH1	EPH2	BMVO1	BMV2
1	0	0	1,99 ± 0,71	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0,14 ± 0,51	0	0	0
4	0	0	0,12 ± 0,58	0	0	0
5	0,14 ± 0,03	0,13 ± 0,03	0	0	0	0
6	0,19 ± 0,06	0,17 ± 0,01	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0,63 ± 0,07	0	0	0
10	0	0	0,33 ± 0,08	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0
13	0,16 ± 0,06	0,33 ± 0,08	0	0	0	0
14	0	0,19 ± 0,04	0	0	0	0
15	0	0,13 ± 0,04	0	0	0	0
16	0	0,23 ± 0,06	0	0	0	0
17	0	0,21 ± 0,03	0	0	0	0
18	0,31 ± 0,06	0,83 ± 0,03	0	0	0	0
19	0	0,25 ± 0,04	0	0	0	0
20	0	0,11 ± 0,10	0	0	0	0
21	0	0	0	0	0	0
22	0	0,82 ± 0,06	0	0	0	0
23	0	0,36 ± 0,05	0	0	0	0
24	0	0,50 ± 0,03	0	0	0	0

Legenda: LIP (lipase), EST1 (esterase), EPH (epoxi-hidrolases), BMVO (monooxigenases).

Fonte: Autora (2025).

Tabela 19 – Perfil enzimático por sondas para o *Mucor* sp._FAR014.

Tempo em horas	Enzimas em % RFU					
	LIP	EST1	EPH1	EPH2	BMVO1	BMVO2
1	0	0	3,26 ± 0,10	0	0	0
2	2,15 ± 0,89	0	0,98 ± 0,21	0	0	0
3	5,89 ± 1,68	0	1,09 ± 0,39	0	0	0
4	10,83 ± 2,50	0	1,44 ± 0,35	0	0	0
5	17,11 ± 3,03	0,51 ± 0,09	1,39 ± 0,44	0	0	0
6	23,55 ± 3,83	0,74 ± 0,11	0,93 ± 0,37	0	0	0
7	29,14 ± 4,34	0	1,45 ± 0,33	0	0	0
8	35,83 ± 4,71	0,83 ± 0,12	1,52 ± 0,42	0	0	0
9	41,91 ± 5,10	1,19 ± 0,12	2,16 ± 0,47	0	0	0
10	47,98 ± 5,27	0,98 ± 0,14	2,00 ± 0,36	0	0	0
11	54,17 ± 5,39	1,68 ± 0,12	1,96 ± 0,48	0	0	0
12	60,37 ± 5,25	1,95 ± 0,17	2,03 ± 0,36	0	0	0
13	65,15 ± 5,27	2,82 ± 0,19	2,12 ± 0,46	0	0	0
14	70,57 ± 5,19	3,23 ± 0,20	1,99 ± 0,53	0	0	0
15	75,33 ± 5,17	3,58 ± 0,28	2,15 ± 0,54	0	0	0
16	79,69 ± 5,21	4,22 ± 0,23	2,37 ± 0,61	0	0	0
17	83,68 ± 5,91	4,64 ± 0,24	2,63 ± 0,56	0	0	0
18	87,93 ± 6,29	5,92 ± 0,21	2,59 ± 0,55	0	0	0
19	91,04 ± 6,77	6,09 ± 0,24	2,85 ± 0,60	0	0	0
20	93,62 ± 7,44	6,64 ± 0,27	2,99 ± 0,61	0	0	0
21	96,04 ± 8,15	6,97 ± 0,30	2,64 ± 0,58	0	0	0
22	100,00 ± 0,71	8,80 ± 0,35	3,11 ± 0,73	0	0	0
23	100,00 ± 2,15	9,16 ± 0,35	3,03 ± 0,86	0	0	0
24	100,00 ± 0,17	10,17 ± 0,33	3,17 ± 0,77	0	0	0

Legenda: LIP (lipase), EST1 (esterase), EPH (epoxi-hidrolases), BMVO (monooxigenases).

Fonte: Autora (2025).

Tabela 20 – Perfil enzimático por sondas para *Mucor* sp._FAR018.

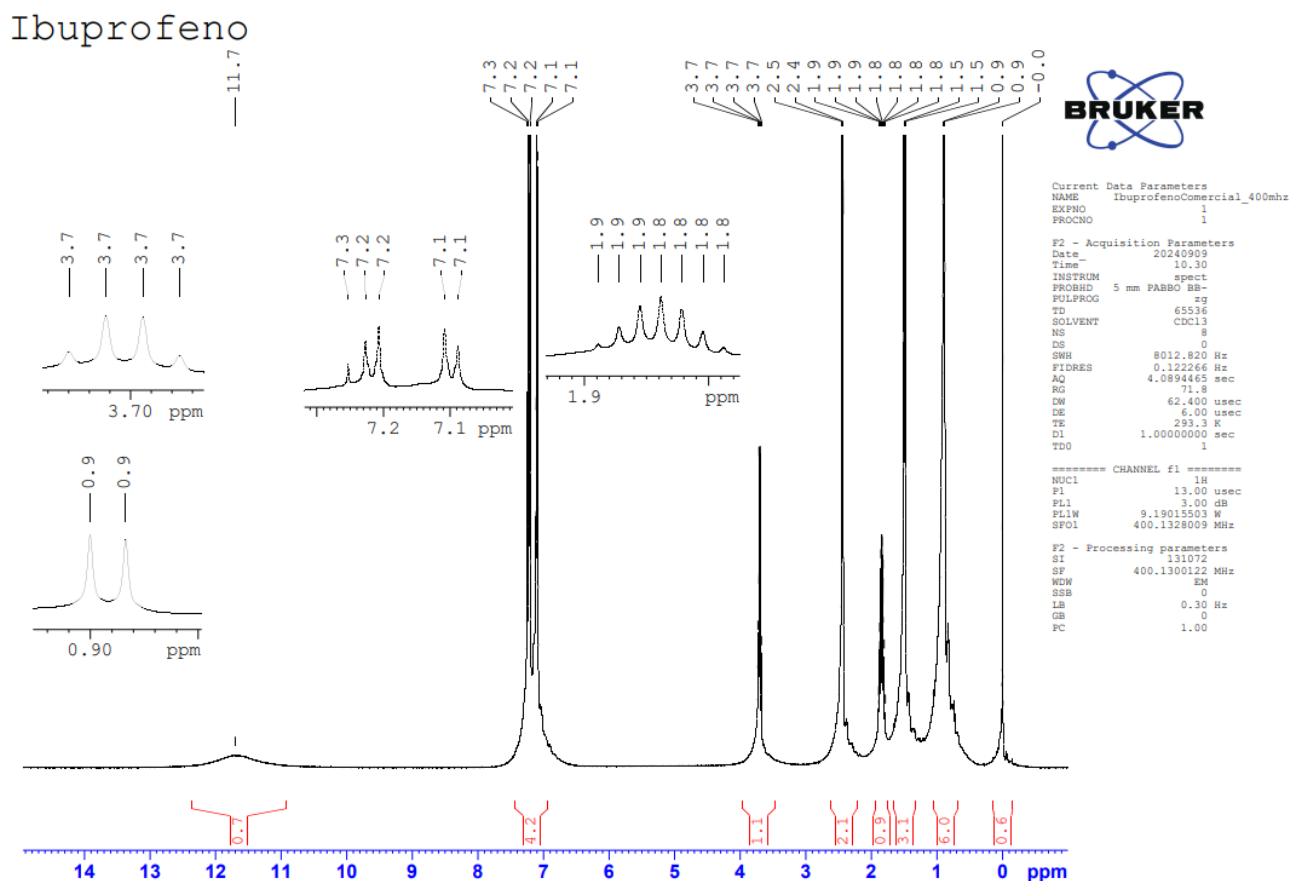
Tempo em horas	Enzimas em % RFU					
	LIP	EST1	EPH1	EPH2	BMVO1	BMVO2
1	0	0	1,74 ± 0,16	0	0	0
2	2,12 ± 0,37	0	0	0	0	0
3	4,76 ± 0,58	0	0,13 ± 0,11	0	0	0
4	7,71 ± 0,77	0	0,34 ± 0,11	0	0	0
5	11,66 ± 0,92	0,56 ± 0,07	0,11 ± 0,17	0	0	0
6	15,13 ± 1,09	0,76 ± 0,10	0	0	0	0
7	17,46 ± 1,20	0,36 ± 0,09	0,36 ± 0,10	0	0	0
8	21,28 ± 1,45	1,03 ± 0,10	0,16 ± 0,20	0	0	0
9	24,61 ± 1,61	1,48 ± 0,17	1,27 ± 0,16	0	0	0
10	27,07 ± 1,84	1,39 ± 0,13	0,70 ± 0,17	0	0	0
11	30,40 ± 1,99	2,17 ± 0,24	0,53 ± 0,17	0	0	0
12	33,62 ± 2,28	2,51 ± 0,27	0,52 ± 0,26	0	0	0
13	36,37 ± 2,43	3,54 ± 0,29	0,73 ± 0,21	0	0	0
14	39,29 ± 2,65	4,00 ± 0,42	0,58 ± 0,25	0	0	0
15	41,76 ± 2,81	4,46 ± 0,42	0,41 ± 0,23	0	0	0
16	44,35 ± 2,88	5,19 ± 0,55	0,55 ± 0,27	0	0	0
17	46,97 ± 3,17	5,85 ± 0,64	0,87 ± 0,30	0	0	0
18	49,98 ± 3,35	7,25 ± 0,72	0,96 ± 0,31	0	0	0
19	52,15 ± 3,44	7,50 ± 0,82	0,99 ± 0,34	0	0	0
20	53,92 ± 3,43	8,25 ± 0,87	1,16 ± 0,34	0	0	0
21	55,68 ± 3,67	8,83 ± 0,99	0,63 ± 0,45	0	0	0
22	59,37 ± 3,75	10,92 ± 1,08	1,15 ± 0,53	0	0	0
23	60,46 ± 3,77	11,41 ± 1,19	0,89 ± 0,61	0	0	0
24	62,35 ± 3,75	12,61 ± 1,37	0,85 ± 0,76	0	0	0

Legenda: LIP (lipase), EST1 (esterase), EPH (epoxi-hidrolases), BMVO (monooxigenases).

Fonte: Autora (2025).

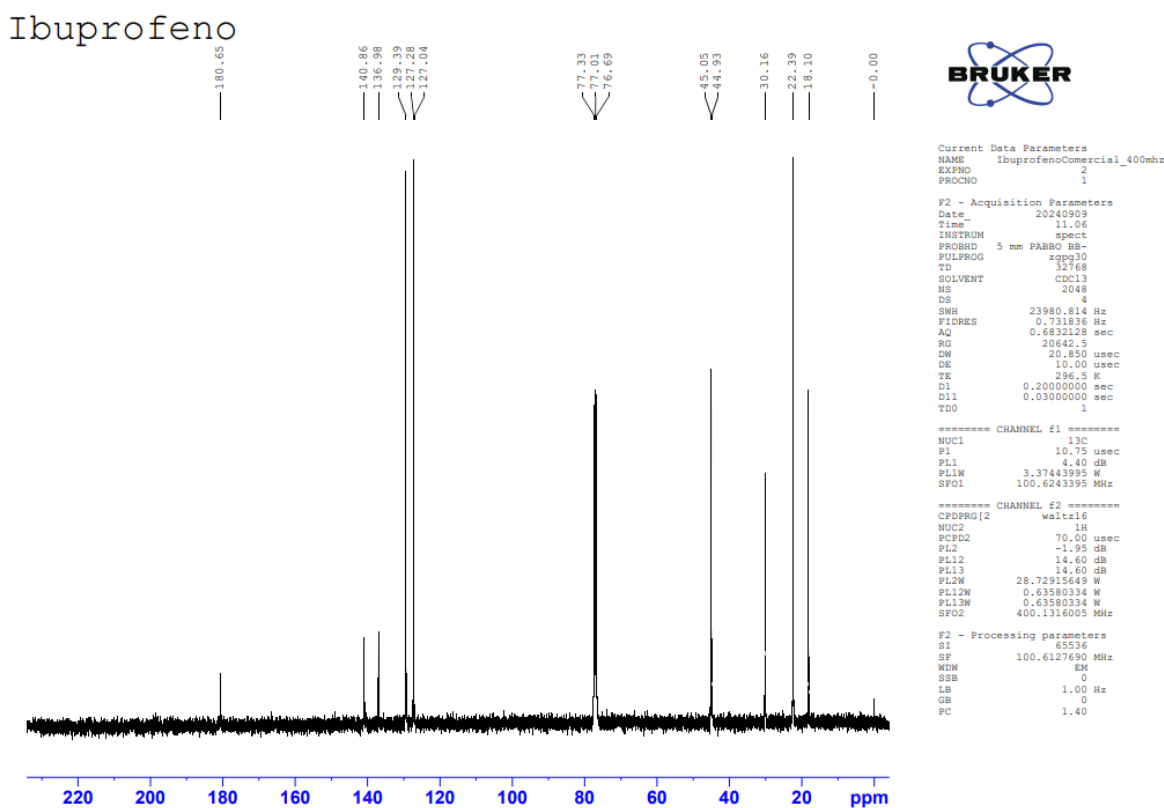
APÊNDICE D - Espectros de fragmentação de massas para o ibuprofeno e para os isômeros identificados

Figura 50 – Espectro de RMN de ^1H do ibuprofeno comercial em 400 MHz, CDCl_3 com TMSO 0,1%, com 8 scans (Bruker® AVANCE I).



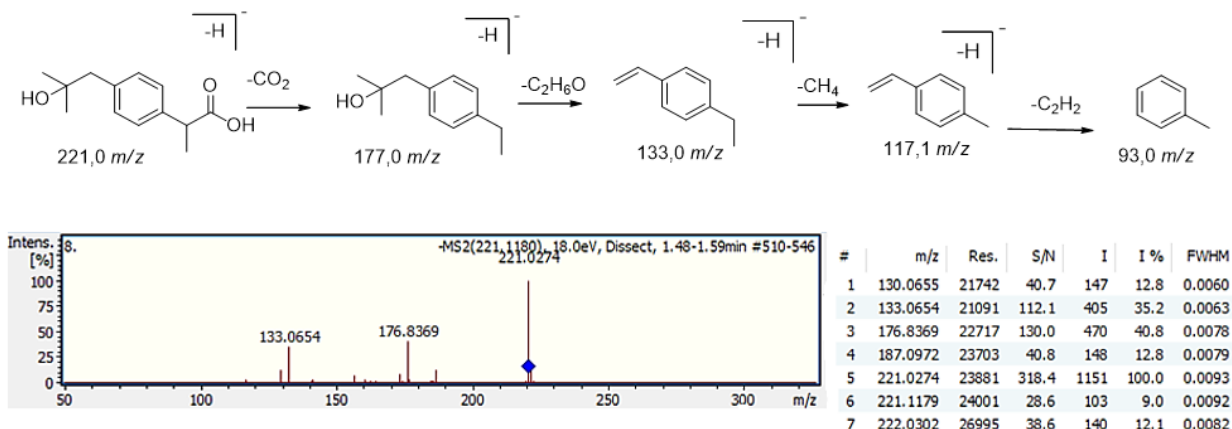
Fonte: Autora (2025).

Figura 51 – Espectro de RMN de ^{13}C do ibuprofeno comercial em 100 MHz, CDCl_3 , (Bruker® AVANCE I).



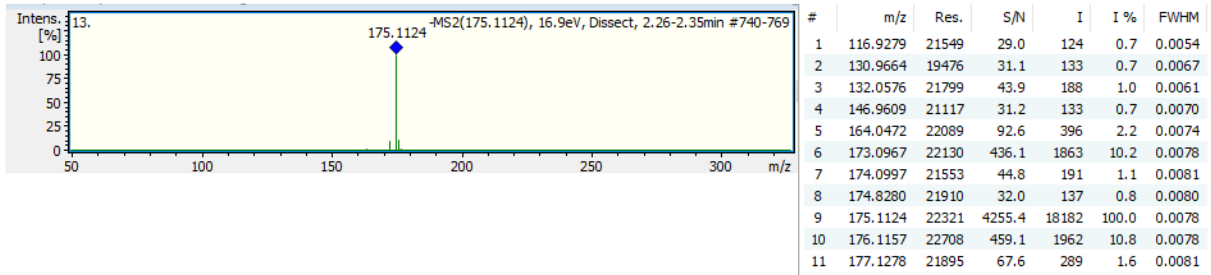
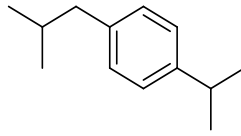
Fonte: Autora (2025).

Figura 52 – Espectro de fragmentação de massas do composto 1 (2-hidroxi-ibuprofeno) produzido por *Geotrichum* sp._FAR003, em modo negativo de ionização.



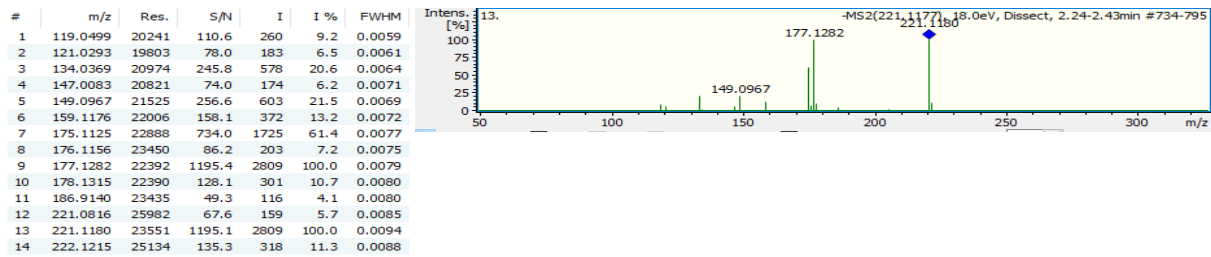
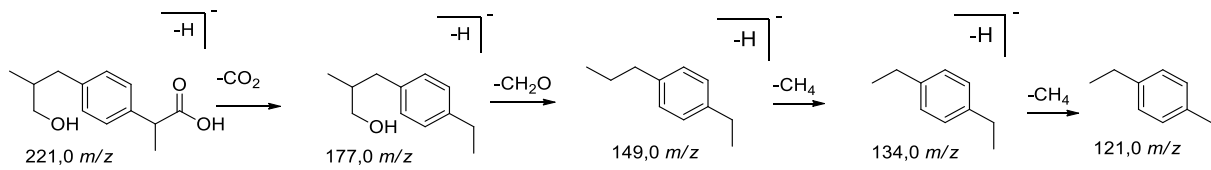
Fonte: Autora (2025).

Figura 53 – Espectro de fragmentação de massas do composto 3 (não identificado) produzido por *Geotrichum* sp._FAR003, em modo negativo de ionização.



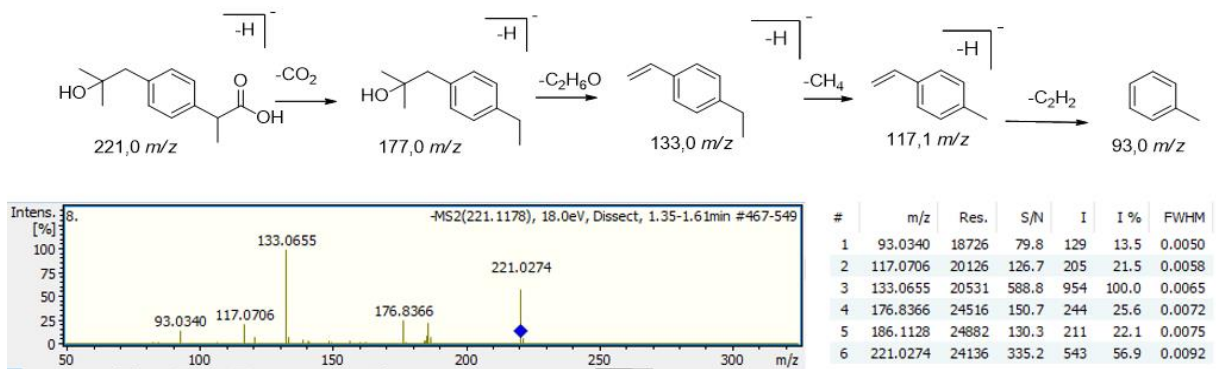
Fonte: Autora (2025).

Figura 54 – Espectro de fragmentação de massas do composto 4 (3-hidroxi-ibuprofeno) produzido por *Geotrichum* sp._FAR003, em modo negativo de ionização.



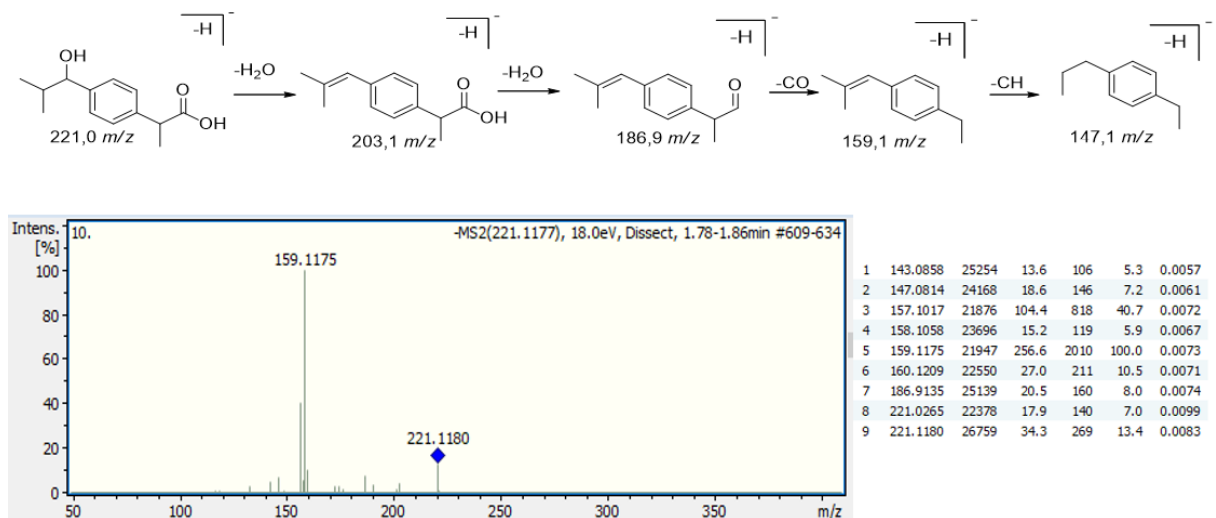
Fonte: Autora (2025).

Figura 55 – Espectro de fragmentação de massas do composto 1 (2-hidroxi-ibuprofeno) produzido por *Talaromyces* sp._FAR012, em modo negativo de ionização.



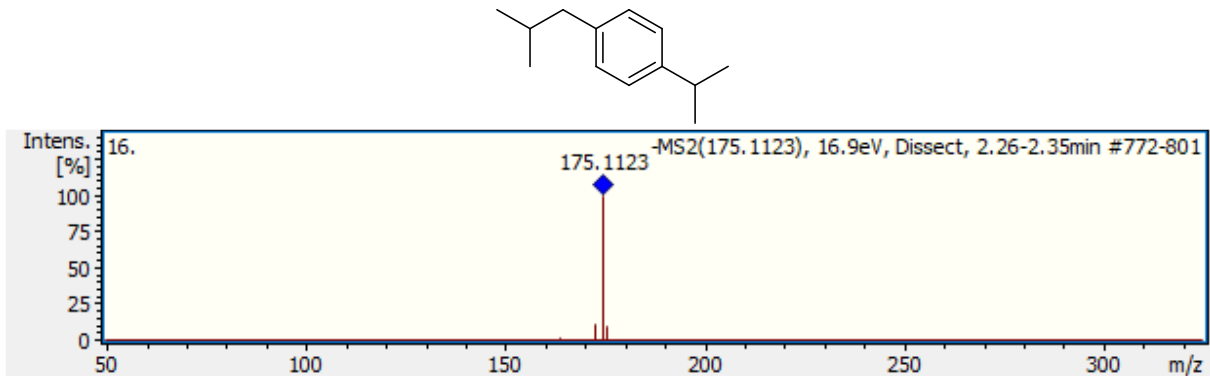
Fonte: Autora (2025).

Figura 56 – Espectro de fragmentação de massas do composto 2 (1-hidroxi-ibuprofeno) produzido por *Talaromyces* sp._FAR012, em modo negativo de ionização.



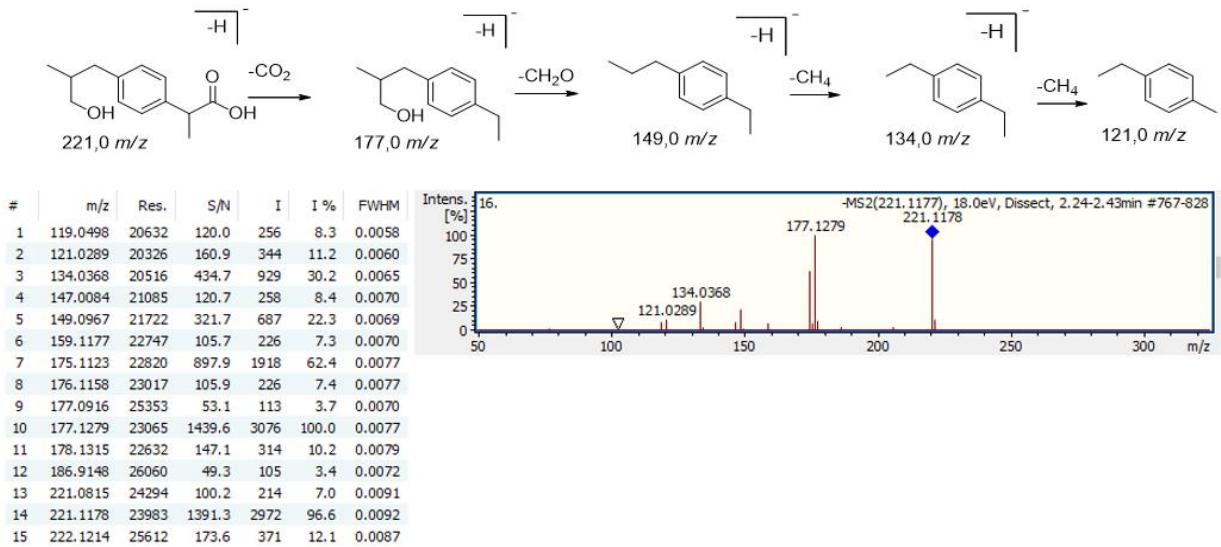
Fonte: Autora (2025).

Figura 57 – Espectro de fragmentação de massas do composto 3 (não identificado) produzido por *Talaromyces* sp._FAR012, em modo negativo de ionização.



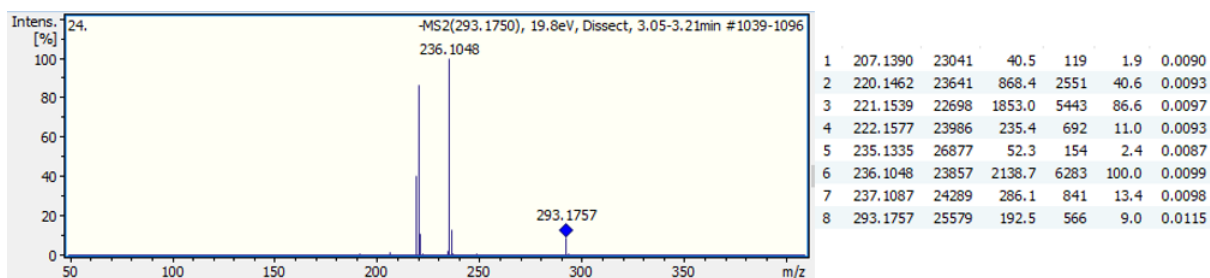
Fonte: Autora (2025).

Figura 58 – Espectro de fragmentação de massas do composto 4 (3-hidroxi-ibuprofeno) produzido por *Talaromyces* sp._FAR012, em modo negativo de ionização.



Fonte: Autora (2025).

Figura 59 – Espectro de fragmentação de massas do composto 5 (não identificado) produzido por *Talaromyces* sp._FAR012, em modo negativo de ionização.



Fonte: Autora (2025).

APÊNDICE E - Avaliação do desenvolvimento de *Lactuca sativa*

Tabela 21 – Comprimento médio, biomassa da raiz e percentual de inibição de *Lactuca sativa* exposta a diferentes concentrações de ibuprofeno.

Ibuprofeno Dose (mg·L⁻¹)	Comprimento da raiz (± EPM)	% de inibição	Biomassa seca da raiz (± EPM)	% de inibição
0.0	39.81 ± 0.59	100%	0.0029 ± 0.0005	100%
0.1	35.47 ± 0.96	89%	0.0020 ± 0.0006	69%
0.2	34.19 ± 1.09	86%	0.0025 ± 0.0006	86%
0.3	33.62 ± 1.05	84%	0.0018 ± 0.0005	60%
0.4	37.61 ± 1.16	94%	0.0023 ± 0.0005	77%
0.5	38.60 ± 0.75	97%	0.0028 ± 0.0005	94%
1	34.79 ± 1.07	87%	0.0023 ± 0.0005	80%
2	33.26 ± 1.74	84%	0.0018 ± 0.0008	60%
4	19.97 ± 0.75	50%	0.0013 ± 0.0005	43%
8	17.52 ± 0.89	44%	0.0005 ± 0.0003	17%
16	16.00 ± 0.83	40%	0.0015 ± 0.0003	51%
32	13.71 ± 0.65	34%	0.0010 ± 0.0000	34%
64	10.33 ± 0.37	26%	0.0010 ± 0.0000	34%
100	7.44 ± 0.33	19%	0.0003 ± 0.0003	9%

Legenda: ± EPM - mais ou menos o erro padrão da média.

Fonte: Autora (2025).

Tabela 22 – Comprimento médio, biomassa da parte aérea e percentual de inibição de *Lactuca sativa* exposta a diferentes doses de ibuprofeno.

Ibuprofeno Dose (mg. L⁻¹)	Comprimento de parte aérea ± EPM (mm)	% de inibição	Biomassa seca de parte aérea ± EPM	% de inibição
0	12.62 ± 0.19	100%	0.0048 ± 0.0004	100%
0.1	9.02 ± 0.19	72%	0.0048 ± 0.0009	99%
0.2	8.00 ± 0.18	63%	0.0048 ± 0.0003	99%
0.3	6.86 ± 0.26	54%	0.0038 ± 0.0003	78%
0.4	7.37 ± 0.20	58%	0.0033 ± 0.0005	68%
0.5	9.72 ± 0.30	77%	0.0046 ± 0.0006	96%
1	11.40 ± 0.27	90%	0.0043 ± 0.0005	89%
2	10.16 ± 0.40	80%	0.0040 ± 0.0004	83%
4	8.79 ± 0.35	70%	0.0040 ± 0.0006	83%
8	9.36 ± 0.35	74%	0.0025 ± 0.0005	52%
16	7.97 ± 0.24	63%	0.0028 ± 0.0004	57%
32	7.09 ± 0.26	56%	0.0030 ± 0.0009	63%
64	6.07 ± 0.21	48%	0.0025 ± 0.0003	52%
100	5.05 ± 0.37	40%	0.0025 ± 0.0006	52%

Legenda: ± EPM - mais ou menos o erro padrão da média.

Fonte: Autora (2025).