

BIODEGRADAÇÃO DE IBUPROFENO MEDIADOS POR FUNGOS FILAMENTOSOS ISOLADOS DO SOLO PROVENIENTE DE EXTRAÇÃO DE MINÉRIO DE FERRO

Beatriz L. Ferreira[1], Adriana M. Ferreira[1], Fabricio H. Holanda[1], Patrícia de A. Nóbrega[1], Willian G. Birolli[2], André Luiz M. Porto[3], Lilian Grace da S. Solon[1], Irlon M. Ferreira[1].

[1]*Laboratório de Biocatálise e Síntese Orgânica Aplicada, Universidade Federal do Amapá, Universidade Campus Marco Zero do Equador, Rodovia Juscelino Kubitschek de Oliveira Km 02, 68902-280, Bairro Zerão, Macapá, AP, Brazil.*

[2]*Molecular Oncology Research Center, Institute of Learning and Research, Barretos Cancer Hospital, Av. Ébano 165-1, 14784-384, Dr. Paulo Prata, Barretos, SP, Brazil.*

[3]*Laboratório de Química Orgânica e Biocatálise, Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, Av. João Dagnone, 1100, Ed. Prof. Dr. Wagner Douglas, J. Santa Angelina, 13563-120, São Carlo, São Paulo, Brazil*
beatrizferreira.ap@gmail.com

Palavras-Chave: Degradação microbiana; Anti-inflamatório; Fungo de ambiente amazônico.

Introdução

Os medicamentos desempenham um papel fundamental na melhoria da qualidade de vida da população mundial. Entre eles, o ibuprofeno (IBU) é um dos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) mais prescritos. Seu mecanismo de ação baseia-se na inibição seletiva da ciclooxigenase, reduzindo a síntese de prostaglandinas responsáveis pela dor e inflamação (Zhang et al., 2020). Devido à sua eficácia e ampla aplicação terapêutica, permanece entre os AINEs mais utilizados em todo o mundo (Motov et al., 2019; Gutiérrez-Noya et al., 2020).

Segundo o Medical Expenditure Panel Survey (MEPS), conduzido pela Agency for Healthcare Research and Quality (AHRQ), o ibuprofeno figurou entre os 40 medicamentos mais prescritos nos Estados Unidos entre 2013 e 2020. Sua elevada produção e consumo mundial, que alcançam milhões de toneladas por ano, favorecem sua frequente detecção em ambientes aquáticos (Marchlewicz et al., 2015). Essa contaminação ocorre principalmente pela excreção do fármaco não metabolizado, descarte inadequado de medicamentos e efluentes industriais, tornando o IBU um importante micropoluente ambiental (Chabchoubi et al., 2023a).

O ibuprofeno é frequentemente detectado em águas superficiais e é classificado como uma substância ambientalmente perigosa (Chopra e Kumar, 2022). Estudos demonstram efeitos tóxicos em diversos organismos aquáticos, incluindo *Danio rerio*, *Daphnia magna*, *Cyprinus*

carpio e outras espécies (Beitgader et al., 2025; Grzesiuk et al., 2020; Jeffries et al., 2015; Xia et al., 2017). Em embriões de zebrafish, a exposição ao IBU reduziu a taxa de eclosão, comprometeu a função motora, alterou a expressão de genes relacionados ao neurodesenvolvimento e provocou alterações cardiovasculares, evidenciando seu elevado potencial ecotoxicológico (Xia et al., 2017; Zhang et al., 2020).

O monitoramento ambiental revela concentrações de IBU variando de ng L^{-1} a µg L^{-1}, níveis capazes de induzir efeitos citotóxicos, genotóxicos e estresse oxidativo em organismos aquáticos e terrestres (Silva et al., 2020; Ajibola et al., 2021; Jan-Roblero e Cruz-Maya, 2023). Durante a pandemia de COVID-19, o aumento no consumo de AINEs intensificou ainda mais sua carga ambiental.

Diversas tecnologias têm sido empregadas para remover micropoluentes farmacêuticos, incluindo separação por membranas, processos avançados de oxidação, fotodegradação, ozonização catalítica e fotocatalítica, adsorção e biodegradação (Williams et al., 2012; Saeid et al., 2018; Fidelis et al., 2023; Hasan et al., 2021). Entre elas, a biodegradação destaca-se como uma alternativa eficiente e ambientalmente sustentável, especialmente para contaminantes presentes em baixas concentrações (Aguilar-Romero et al., 2021a).

Os fungos filamentosos apresentam grande potencial nesse processo devido à produção de enzimas extracelulares, principalmente oxidases, capazes de degradar diversos poluentes orgânicos, incluindo AINEs (Omokhagbor Adams et al., 2020; Conejo-Saucedo et al., 2021). Espécies como *Rhizophagus irregularis* degradaram cerca de 80% do ibuprofeno em 150 dias (Hu et al., 2021), enquanto *Trametes versicolor* promoveu degradação significativa em apenas sete dias de incubação (Marco-Urrea et al., 2009). Apesar desses resultados, ainda são escassos os estudos voltados à biodegradação do ibuprofeno por fungos filamentosos.

A Floresta Amazônica, o bioma tropical mais biodiverso do planeta, abriga uma imensa diversidade de microrganismos ainda pouco explorados. Seus solos apresentam elevada riqueza microbiana, essencial para a ciclagem de nutrientes e o equilíbrio dos ecossistemas (De et al., 2009; Celestino et al., 2014; Melo et al., 2012). Nesse contexto, este estudo teve como objetivo investigar a biodegradação do ibuprofeno por fungos isolados de solos amazônicos

enriquecidos com metais, avaliando seu potencial como biocatalisadores sustentáveis para a remoção de poluentes farmacêuticos.

Material e Métodos

Amostras de solo foram coletadas em quatro pontos da mina de ferro da empresa UNAMGEN Mineração e Metalurgia S.A., em Mazagão (AP), a 20 cm de profundidade. Após a coleta, as amostras foram secas (50 °C/24 h), homogeneizadas, peneiradas (2 mm) e submetidas à determinação do pH (RAJA; PRAVEENA; WILLIAM, 2017).

O isolamento dos fungos filamentosos foi realizado por suspensão seriada em solução salina estéril, seguido de semeadura em meio ágar Sabouraud acrescido de cloranfenicol. As placas foram incubadas a 28 °C por cinco dias (DESHMUKH; VEREKAR, 2014; FERREIRA et al., 2023a). A identificação ocorreu por características macro e micromorfológicas e foi confirmada por análise molecular no Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Química, Biológica e Agrícola (CPQBA/UNICAMP), sendo identificadas as espécies *Trichoderma pseudoasperelloides*, *Penicillium rolfsii*, *Talaromyces verruculosus*, *Aspergillus* sp. cf. *pseudoviridinutans*, *Purpureocillium lilacinum* e *Penicillium* sp. cf. *guaibinense*.

O crescimento radial dos isolados foi avaliado em meio de extrato de malte contendo ibuprofeno (20, 60 e 100 mg L^{-1}), em triplicatas, com monitoramento diário durante sete dias e análise por ANOVA ($p \leq 0,05$). Os resultados foram expressos como medidas de tendência central acompanhadas de dispersão quando disponível.

Os fungos *T. pseudoasperelloides* (CBMAI 2752) e *Penicillium* sp. cf. *guaibinense* (CBMAI 2758), selecionados na triagem, foram cultivados em meio líquido de extrato de malte (2%) por quatro dias a 30 °C e 150 rpm. Posteriormente, os micélios foram transferidos para tampão fosfato (pH 5, 7 e 9) contendo ibuprofeno (20, 60 e 100 mg L^{-1}), permanecendo em agitação por 3, 6 ou 9 dias (HOLANDA et al., 2019a). Após as reações, os produtos foram extraídos com acetato de etila, concentrados e liofilizados.

Tabela 1. Variáveis independentes usadas no planejamento fatorial de Box-Behnken empregado.

FATOR	VARIÁVEIS	NÍVEIS		
		-1	**0**	**1**
x1	Tempo	3	6	9
x2	pH	5	7	9
x3	Concentração	20	60	100

Foi aplicado planejamento fatorial Box-Behnken de três fatores, com 15 execuções para cada cepa: tempo (3, 6 e 9 dias), pH (5, 7 e 9) e concentração de IBU (20, 60 e 100 mg L^{-1}). A resposta foi o percentual de biodegradação (BD%). O modelo quadrático geral foi $Y = \beta_0 + \beta_1x_1 + \beta_2x_2 + \beta_3x_3 + \beta_{11}x_1^2 + \beta_{22}x_2^2 + \beta_{33}x_3^2 + \beta_{12}x_1x_2 + \beta_{13}x_1x_3 + \beta_{23}x_2x_3$. Para *T. pseudoasperelloides*, a ANOVA apresentou efeitos significativos para pH linear ($F = 98{,}39539$; $p < 0{,}001$) e pH quadrático ($F = 45{,}41326$; $p < 0{,}001$), com $R^2 = 0{,}94961$ e R^2 ajustado = 0,91182. Para *Penicillium* sp. cf. *guaibinense*, pH linear ($F = 46{,}93658$; $p = 0{,}000131$) e pH quadrático ($F = 21{,}66303$; $p = 0{,}001635$) foram significativos, com $R^2 = 0{,}90086$ e R^2 ajustado = 0,82650.

O método analítico foi validado conforme a RDC nº 166/2017 da ANVISA, avaliando seletividade, linearidade, sensibilidade, precisão, limites de detecção e quantificação. A quantificação do ibuprofeno foi realizada por HPLC-UV, enquanto a identificação do fármaco e de seus metabólitos foi conduzida por GC-MS. A curva analítica apresentou $R^2 = 0{,}996$; na validação, os coeficientes de variação reportados variaram de 0,052% a 4,82%. Os experimentos foram realizados em triplicatas.

Por fim, a toxicidade dos produtos de biodegradação foi avaliada em embriões de zebrafish (Danio rerio), conforme a diretriz OECD 236. Foi utilizada a concentração de 8,06 mg L^{-1}, com grupos (n=30) contendo água, DMSO 3%, ibuprofeno comercial, produtos de biodegradação e extratos fúngicos, acompanhados por até 96 hpf. Foram avaliados mortalidade, coagulação, eclosão e alterações morfológicas, incluindo separação da cauda e desenvolvimento de somitos, nos tempos de 24, 48, 72 e 96 hpf. Os experimentos foram realizados em triplicatas. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UNIFAP (Protocolo nº 019/2022).

Tabela 2: Grupos utilizados no ensaio de toxicidade em embriões de zebrafish.

GRUPO	DESCRIÇÃO
1	Água destilada (H_2O)
2	Dimetilsulfóxido 2% (DMSO)
3	Ibuprofeno Comercial (IBU)*
4	Produto biodegradação ibuprofeno *Penicillium* sp. cf. *guaibinense* (PBP)*
5	Produto biodegradação ibuprofeno *Trichoderma pseudoasperelloides* (PBT)*
6	Extrato fúngico *Penicillium* sp. cf. *guaibinense* (EP)*
7	Extrato fúngico *Trichoderma pseudoasperelloides* (ET)*

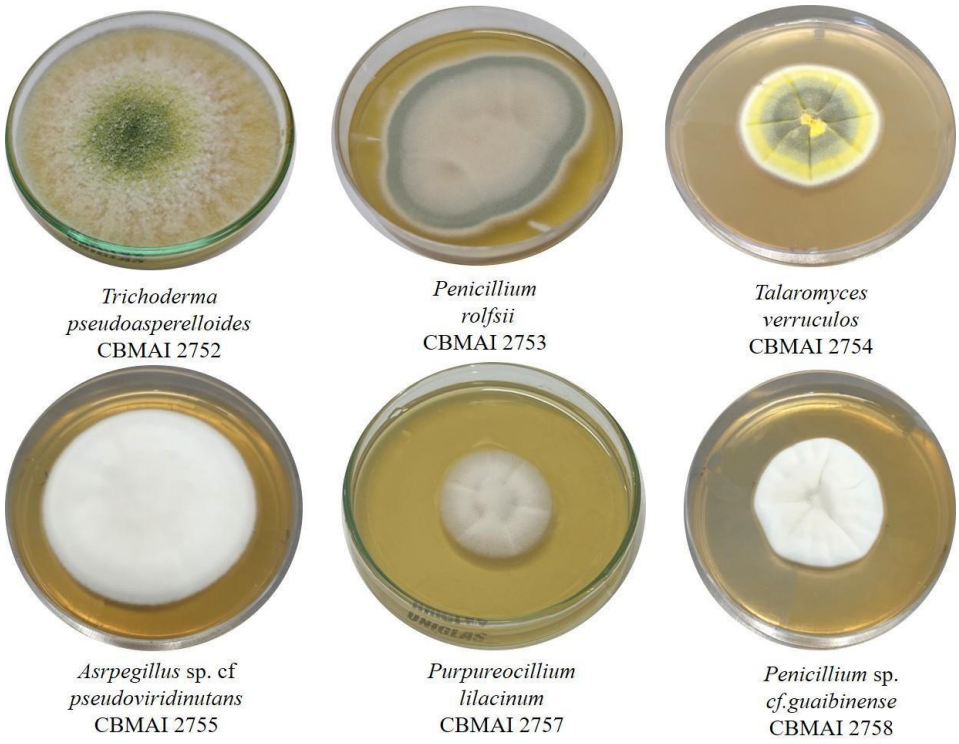
*Concentração 8,06 mg.L^{-1}

Resultados e Discussão

Identificação dos fungos filamentosos e avaliação da biodegradação do ibuprofeno

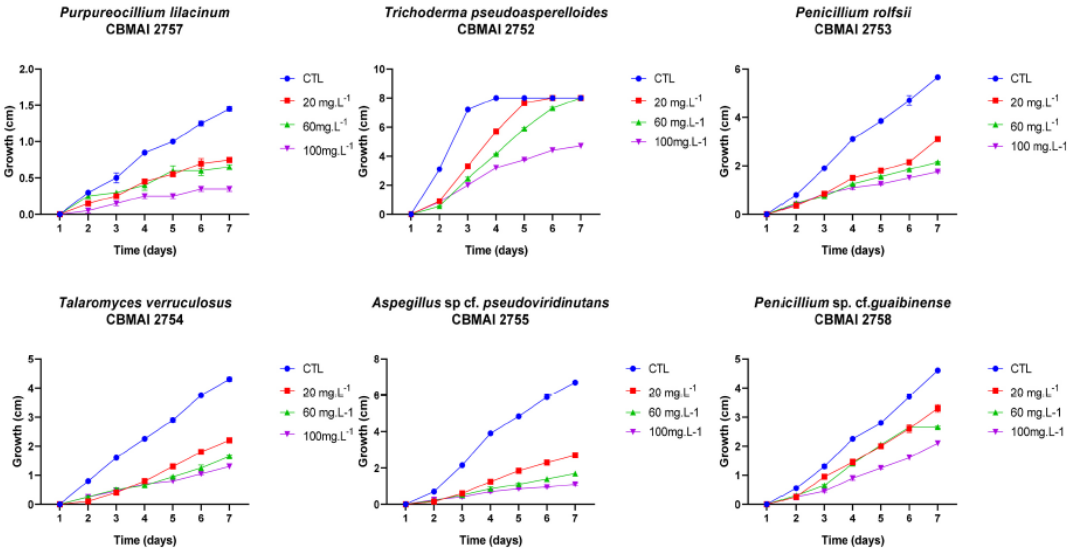
Os isolados fúngicos foram inicialmente caracterizados por análises morfológicas macroscópicas e microscópicas, com posterior confirmação por técnicas moleculares utilizando as regiões ITS, β-tubulina e fator de elongação da tradução (TEF). As sequências obtidas foram comparadas ao banco de dados GenBank por meio da ferramenta BLAST (NCBI), permitindo a identificação das espécies (Figura1) *Trichoderma pseudoasperelloides* CBMAI 2752, *Penicillium rolfsii* CBMAI 2753, *Talaromyces verruculosus* CBMAI 2754, *Aspergillus* sp. cf. *pseudoviridinutans* CBMAI 2755, *Purpureocillium lilacinum* CBMAI 2757 e *Penicillium* sp. cf. *guaibinense* CBMAI 2758 (Nóbrega et al., 2024). Os solos amazônicos destacam-se pela elevada diversidade microbiana, constituindo uma importante fonte de fungos com potencial para aplicações biotecnológicas, como biodegradação e biotransformação.

Figura 1: Espécies de fungos isolados do solo de mina de ferro



O crescimento micelial foi avaliado em meio contendo ibuprofeno (20, 60 e 100 mg L^{-1}) durante sete dias (Figura 2). A análise estatística revelou diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$). *T. pseudoasperelloides* apresentou crescimento semelhante ao controle, atingindo o diâmetro máximo das placas em todas as concentrações testadas. *Penicillium* sp. cf. *guaibinense* também apresentou crescimento satisfatório (Figura2).

Figura 2: Estudo crescimento radial das cepas de fungos isolados do solo de mina de ferro em meio de cultura sólido com IBU. (Malte e Ágar 2%, pH 5, 30°, 7 dias).



A eficiência da biodegradação foi avaliada por planejamento Box-Behnken, com 15 execuções para cada fungo. Na matriz experimental, *T. pseudoasperelloides* apresentou valores de 63,8 a >99% e Penicillium sp. cf. guaibinense, de 95,1 a >99%, dependendo das condições. A análise de Pareto/ANOVA indicou o pH como o fator de maior influência, com efeito linear e quadrático significativos para ambas as cepas

Figura3: Gráfico de Superfície de resposta e contéudo de biodegradação de IBU mediado pelo fungo *Trichoderma pseudoasperelloides* CBMAI 2752, em função de (A) tempo de reação (x1) e pH do meio de cultivo (x2); (B) tempo de reação (x1) e concentração de IBU (x3); (C) pH meio de cultivo (x2) e concentração de IBU (x3)

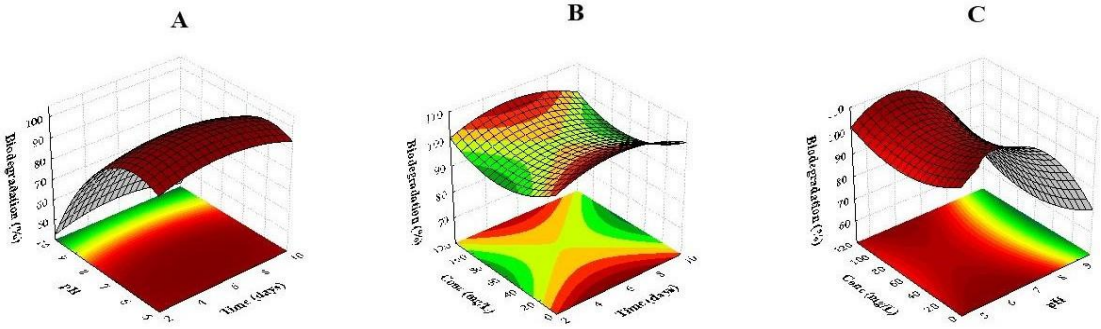
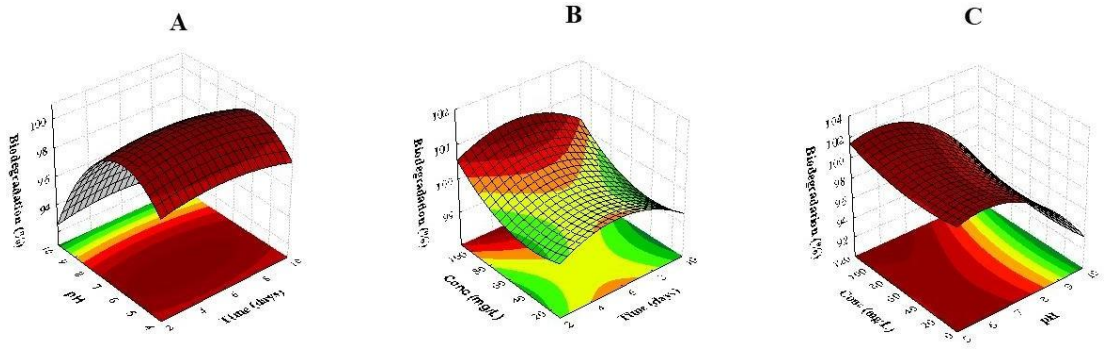


Figura4: Gráfico de Superfície de resposta e contéudo de biodegradação de IBU mediado pelo fungo *Penicillium sp. cf.guaibinense* CBMAI 2758, em função de (A) tempo de reação (x1) e pH do meio de cultivo (x2); (B) tempo de reação (x1) e concentração de IBU (x3); (C) pH meio de cultivo (x2) e concentração de IBU (x3)

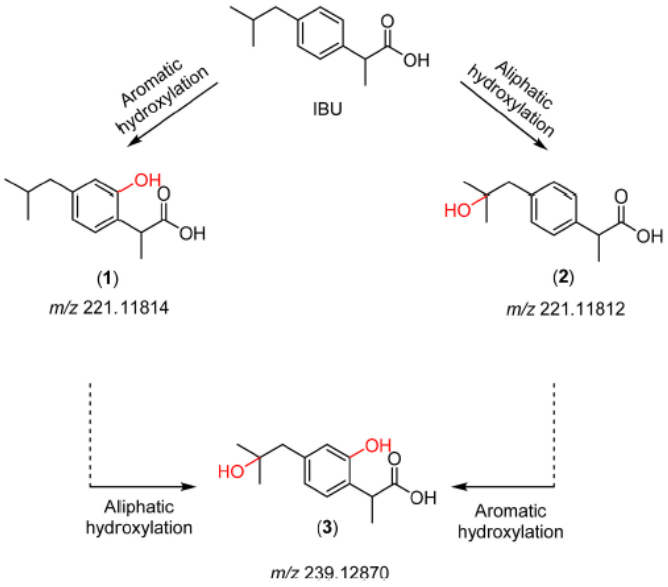


As superfícies de resposta indicaram que valores mais baixos de pH estiveram associados às maiores taxas de biodegradação, com valores de remoção próximos ou iguais à remoção completa do ibuprofeno em diferentes concentrações (Figuras 3 e 4).

Identificação do ibuprofeno e de seus metabólitos por GC-MS e avaliação ecotoxicológica

A identificação dos metabólitos formados durante a biodegradação do ibuprofeno (IBU) foi realizada por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS). Foram detectados três sinais principais (Figura 5). O primeiro, compatível com o ácido 2-(2-hidroxi-4-isobutilfenil)propiônico, apresentou m/z 221,11814 e é consistente com uma transformação de hidroxilação/oxidação do ibuprofeno descrita anteriormente. O segundo sinal, também em m/z 221,11812, foi interpretado como compatível com um isômero posicional relacionado à hidroxilação da cadeia alifática. O terceiro sinal, em m/z 239,12870, foi interpretado como compatível com um derivado di-hidroxilado, possivelmente resultante de etapas sucessivas de oxidação.

Figura 5: Rota de Biodegradação de IBU por fungos de solos amazônicos



Os compostos detectados foram classificados como identificações putativas de nível 2 segundo a Metabolomics Standards Initiative (MSI), baseadas em dados de espectrometria de massas e comparação com estudos prévios, sem confirmação por padrão analítico ou RMN (Sumner et al., 2007; Ferreira et al., 2023b). Portanto, as estruturas químicas apresentadas e a rota de biotransformação devem ser interpretadas como propostas plausíveis, e não como estruturas definitivamente confirmadas.

A segurança dos produtos formados foi avaliada por ensaios ecotoxicológicos utilizando embriões de Danio rerio, seguindo as diretrizes da OECD (2013). Na concentração de 8,06 mg L^{-1}, foram avaliados o ibuprofeno comercial, os produtos de biodegradação, os extratos fúngicos e os controles água e DMSO 3%. Os critérios quantitativos incluíram mortalidade/coagulação, taxa de eclosão e frequência de alterações morfológicas observadas em 24, 48, 72 e 96 hpf, incluindo separação da cauda e desenvolvimento de somitos. O edema pericárdico foi observado no grupo exposto ao extrato de *T. pseudoasperelloides* e desapareceu após 96 hpf.

Figura 6: Morfologia dos embriões de zebrafish na concentração de 8,06mg/L das soluções em estudo pós 24 hpf em comparação com os grupos controles, água e DMSO 3%.

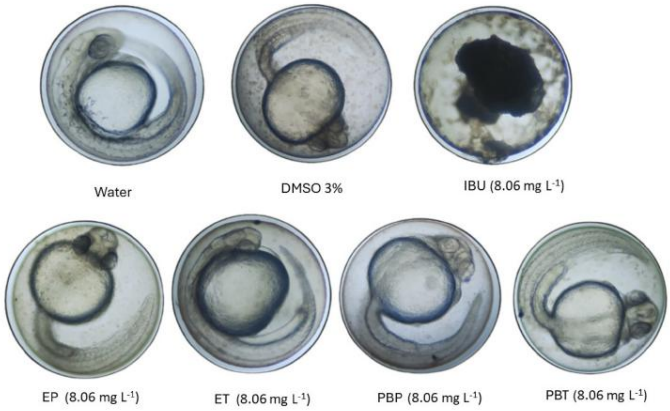
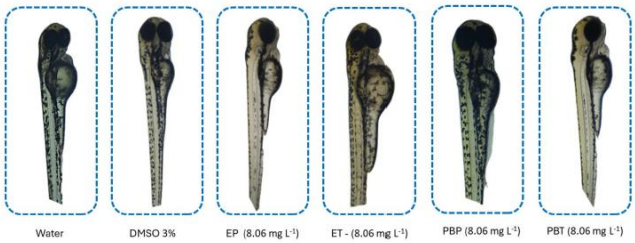


Figura 7: Morfologia dos embriões de zebrafish na concentração de 8,06mg/L das soluções em estudo pós 96 hpf em comparação com os grupos controles, água e DMSO 3%.



Os grupos controle apresentaram desenvolvimento embrionário normal. Os extratos fúngicos de *Penicillium* sp. cf. *guaibinense* e *T. pseudoasperelloides* mantiveram taxas de eclosão superiores a 90%, enquanto os produtos de biodegradação apresentaram taxas superiores a 80%. Esses achados, nas condições e concentração testadas, são compatíveis com menor ocorrência de efeitos adversos em comparação com o ibuprofeno comercial.

Os produtos resultantes da biodegradação e biotransformação do ibuprofeno apresentaram, nas condições avaliadas, menor ocorrência de efeitos adversos que o fármaco original. Foram observadas leves alterações morfológicas e discreto atraso no desenvolvimento inicial, enquanto as taxas de eclosão permaneceram acima de 80%.

Conclusões

Este estudo demonstra, em condições laboratoriais, elevado potencial biotecnológico de *Penicillium* sp. cf. *guaibinense* CBMAI 2758 e *Trichoderma pseudoasperelloides* CBMAI 2752 para a biodegradação de ibuprofeno. Na matriz Box-Behnken, foram observados

percentuais de biodegradação de 63,8 a >99% para *T. pseudoasperelloides* e de 95,1 a >99% para *Penicillium* sp. cf. *guaibinense*, com maior influência do pH.

Os três metabólitos detectados por GC-MS devem ser considerados estruturas propostas/identificações putativas de nível 2 do MSI, e não estruturas químicas definitivamente confirmadas. O sinal de m/z 239,12870 pode representar um derivado di-hidroxilado, mas sua atribuição como metabólito potencialmente inédito requer confirmação adicional por padrão analítico e/ou RMN. Os ensaios ecotoxicológicos indicaram menor ocorrência de efeitos adversos nos produtos de biodegradação nas condições testadas.

De modo geral, os resultados obtidos evidenciam o promissor potencial biotecnológico dos fungos estudados para a biodegradação de ibuprofeno em condições laboratoriais, destacando-se como uma alternativa relevante e sustentável para a remoção desse contaminante emergente. Os achados demonstram a viabilidade da abordagem fúngica e fornecem uma base científica consistente para o avanço de estudos voltados à sua aplicação ambiental. Estudos futuros envolvendo matrizes ambientais reais, validação em escala piloto, avaliação da estabilidade e do destino dos metabólitos e análise técnico-econômica poderão ampliar a compreensão e a aplicabilidade do processo. Assim, este trabalho constitui uma prova de conceito promissora, contribuindo para o desenvolvimento de estratégias biotecnológicas mais sustentáveis para a remoção de ibuprofeno de ambientes aquáticos.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq (Nº402635/2023-0; 445078/2024-3 e 444009/2024-8) pelo apoio financeiro.

Referências

ABRILE, M . G ., CIUCIO, M . M ., DEMARCHI, L . M ., BONO, V . M ., FIASCONARO, M . L ., LOVATO, M . E . Degradation and mineralization of the emerging pharmaceutical pollutant sildenafil by ozone and UV radiation using response surface methodology. **Environ. Sci. Pollut**. Res. Int. 28, 23868–23886. 2021.

AGUILAR-ROMERO, I ., DE LA TORRE-ZÚÑIGA, J ., QUESADA, J . M ., HAÏDOUR, A ., O'CONNELL, G ., MCAMMOND, B . M ., VAN HAMME, J . D ., ROMERO, E ., WITTICH, R . M ., VAN DILLEWIJN, P .,2021. Effluent decontamination by the ibuprofen-mineralizing strain, *Sphingopyxis granuli* RW412: metabolic processes. **Environ. Pollut.** 274. 2021.



AJIBOLA, A . S ., ADEBIYI, A . O ., NWAEKE, D . O ., AJIBOLA, F . O ., ADEWUYI, G . O. Analysis, occurrence and ecological risk assessment of diclofenac and ibuprofen residues in wastewater from three wastewater treatment plants in south-western Nigeria. J. Appl. Sci. **Environ. Manag**. 25, 330–340. 2021.

BEITGADER, Z ., SALAMAT, N ., SALARIALIABADI, M . A ., MOJIRI-FORUSHANI, H ., MOHAMMADI, A. Sex steroid disrupting effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on the Persian Gulf Arabian Sea bream, Acanthopagrus arabicus: in vitro model of environmental drug contamination. **Toxicol**. Vitro 104. 2025.

BIROLLI, W . G ., ALVARENGA, N ., SELEGHIM, M . H . R ., PORTO, A . L . M . Biodegradation of the Pyrethroid pesticide esfenvalerate by marine-derived fungi. **Mar. Biotechnol.**18, 511–520. 2016.

BIROLLI, W . G ., ALVARENGA, N ., VACONDIO, B ., SELEGHIM, M . H . R ., PORTO, A . L . M. Growth assessment of marine-derived fungi in the presence of esfenvalerate and its main metabolites. **J. Microb. Biochem. Technol.** 6, 260–267. 2014.

BORGES, R . S ., KEITA, H ., ORTIZ, B . L . S ., DOS SANTOS SAMPAIO, T . I ., FERREIRA, I . M ., LIMA, E . S ., DE JESUS AMAZONAS DA SILVA, M ., FERNANDES, C . P ., DE FARIA MOTA OLIVEIRA, A . E . M .,DA CONCEIÇÃO, E . C ., RODRIGUES, A . B . L ., FILHO, A . C . M . P ., CASTRO, A . N ., CARVALHO, J . C . T. Anti-inflammatory activity of nanoemulsions of essential oil from *Rosmarinus officinalis* L.: in vitro and in zebrafish studies**. Inflammopharmacology** 26, 1057–1080. 2018.

BORGES, K . B ., DE OLIVEIRA, A . R . M ., BARTH, T ., JABOR, V . A . P ., PUPO, M . T ., BONATO, P . S. LC-MS-MS determination of ibuprofen, 2-hydroxyibuprofen enantiomers, and carboxyibuprofen stereoisomers for application in biotransformation studies employing endophytic fungi. **Anal. Bioanal. Chem**. 399, 915–925. 2011.

CELESTINO, J . D . R ., CARVALHO, L . E . D E, LIMA, M . D . P ., LIMA, A . M ., OGUSKU, M . M ., SOUZA, J . V . B . D e. Bioprospecting of Amazon soil fungi with the potential for pigment production. **Process Biochem**. 49, 569–575. 2014.

CHABCHOUBI, I . B E N, BOUCHHIMA, R . A ., LOUHICHI, N ., BAANANNOU, A ., MASMOUDI, S ., HENTATI, O. Short-term effects of various non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) on *Danio rerio* embryos. **MethodsX** 10. 2023.

CHOPRA, S ., KUMAR, D. Characterization and biodegradation of ibuprofen by *Bacillus siamensis* strain DSI-1 isolated from wastewater. **Rend. Lincei.** 33, 643–652. 2022.

CONEJO-SAUCEDO, U ., LEDEZMA-VILLANUEVA, A ., ÁNGELES DE PAZ, G ., HERRERO-CERVERA, M ., CALVO, C ., ARANDA, E. Toxics evaluation of the potential of sewage sludge mycobiome to degrade high diclofenac and Bisphenol-A concentrations. **Toxics** 9 (6), 115. 2021.



DE, L ., CALDERON, A ., SILVA-JARDIM, I ., ZULIANI, J . P ., DE ALMEIDA E SILVA, A ., CIANCAGLINI, P ., LUIZ, D ., PEREIRA DA SILVA, H ., STÁBELI, R . G. Amazonian biodiversity: a view of drug development for leishmaniasis and malaria. **J. Braz. Chem. Soc.** 2009.

DESHMUKH, S . K ., VEREKAR, S . A. Isolation of keratinophilic fungi from selected soils of Sanjay Gandhi National Park, Mumbai (India). **J. Med. Mycol**. 24, 319–327. 2014.

DONG, C . H ., XIE, X . Q ., WANG, X . L ., ZHAN, Y ., YAO, Y . J. Application of Box-Behnken design in optimisation for polysaccharides extraction from cultured mycelium of *Cordyceps sinensis*. **Food Bioprod. Process**. 87, 139–144. 2009.

FERREIRA, A D R I A N A M A C I E L, DA SILVA SENA, I ., CURTI, J ., DE SOUZA, A . A ., DOS SANTOS LIMA, P . C ., RODRIGUES, A . B . L ., DA SILVA RAMOS, R ., DE SOUZA PINHEIRO, W . B ., FERREIRA, I . M ., CARVALHO, J . C . T. *Trichoderma asperellum* extract isolated from Brazil nuts (*Bertholletia excelsa* BONPL): in vivo and in Silico studies on melanogenesis in zebrafish. **Microorganisms** 11. 2023.

FERREIRA, ADRIANA M ., DE SOUZA, A . A ., KOGA, R . D E C . R ., SENA, I . D A S ., MATOS, M . D E J . S ., TOMAZI, R ., FERREIRA, I . M ., CARVALHO, J . C . T. Anti-Melanogenic potential of natural and synthetic substances: application in zebrafish model. **Molecules**. 2023.

FERREIRA, B. L.; FERREIRA, D. P.; BORGES, S. F.; FERREIRA, A. M.; HOLANDA, F. H.; UCELLA-FILHO, J. G. M.; CRUZ, R. A. S.; BIROLLI, W. G.; LUQUE, R.; FERREIRA, I. M. Diclofenac, Ibuprofen, and Paracetamol Biodegradation: Overconsumed Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs at COVID-19 Pandemic. **Front. Microbiol.** 14, 1207664, 2023.

FERREIRA, I. M.; MEIRA, E. B.; ROSSET, I. G.; PORTO, A. L. M. Chemoselective Biohydrogenation of α,β- and α,β,γ,δ-Unsaturated Ketones by the Marine-Derived Fungus *Penicillium citrinum* CBMAI 1186 in a Biphasic System. **J. Mol. Catal. B Enzym.** 115, 59–65, 2015.

FIDELIS, M. Z.; FAVARO, Y. B.; SANTOS, A. S. G. G.; PEREIRA, M. F. R.; BRACKMANN, R.; LENZI, G. G.; SOARES, O. S. G. P.; ANDREO, O. A. B. Enhancing Ibuprofen and 4-Isobutylacetophenone Degradation: Exploiting the Potential of Nb_2O_5 Sol-Gel Catalysts in Photocatalysis, Catalytic Ozonation, and Photocatalytic Ozonation. **J. Environ. Chem. Eng.** 11, 110690, 2023.

GONZÁLEZ-PLEITER, M.; GONZALO, S.; RODEA-PALOMARES, I.; LEGANÉS, F.; ROSAL, R.; BOLTES, K.; MARCO, E.; FERNÁNDEZ-PIÑAS, F. Toxicity of Five Antibiotics and Their Mixtures Towards Photosynthetic Aquatic Organisms: Implications for Environmental Risk Assessment. **Water Res.** 47, 2050–2064, 2013.

GRZESIUK, M.; PIJANOWSKA, J.; MARKOWSKA, M.; BEDNARSKA, A. Morphological Deformation of *Daphnia magna* Embryos Caused by Prolonged Exposure to Ibuprofen. **Environ. Pollut.** 261, 114135, 2020.



GUTIÉRREZ-NOYA, V. M.; GÓMEZ-OLIVÁN, L. M.; RAMÍREZ-MONTERO, M. DEL C.; ISLAS-FLORES, H.; GALAR-MARTÍNEZ, M.; DUBLÁN-GARCÍA, O.; ROMERO, R. Ibuprofen at Environmentally Relevant Concentrations Alters Embryonic Development, Induces Teratogenesis and Oxidative Stress in *Cyprinus carpio*. **Sci. Total Environ.** 710, 136327, 2020.

HAN, S.; CHOI, K.; KIM, J.; JI, K.; KIM, S.; AHN, B.; YUN, J.; CHOI, K.; KHIM, J. S.; ZHANG, X.; GIESY, J. P. Endocrine Disruption and Consequences of Chronic Exposure to Ibuprofen in Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) and Freshwater Cladocerans *Daphnia magna* and *Moina macrocopa*. **Aquat. Toxicol.** 98, 256–264, 2010.

HASAN, M.; ALFREDO, K.; MURTHY, S.; RIFFAT, R. Biodegradation of Salicylic Acid, Acetaminophen and Ibuprofen by Bacteria Collected from a Full-Scale Drinking Water Biofilter. **J. Environ. Manag.** 295, 113071, 2021.

HOLANDA, F. H. E.; BIROLLI, W. G.; MORAIS, E. DOS S.; SENA, I. S.; FERREIRA, A. M.; FAUSTINO, S. M. M.; GRACE, D. S.; SOLON, L.; PORTO, A. L. M.; FERREIRA, I. M. Study of Biodegradation of Chloramphenicol by Endophytic Fungi Isolated from *Bertholletia excelsa* (Brazil Nuts). **Biocatal. Agric. Biotechnol.** 20, 101200, 2019.

HU, B.; HU, S.; CHEN, Z.; VYMAZAL, J. Employ of Arbuscular Mycorrhizal Fungi for Pharmaceuticals Ibuprofen and Diclofenac Removal in Mesocosm-Scale Constructed Wetlands. **J. Hazard. Mater.** 409, 124524, 2021.

HUSSAIN, A.; RIZWAN-UL-HAQ, M.; AL-AYEDH, H.; AL-JABR, A. Mycoinsecticides: Potential and Future Perspective. **Recent Pat. Food Nutr. Agric.** 6(1), 45–53, 2014.

IVSHINA, I. B.; TYUMINA, E. A.; BAZHUTIN, G. A.; VIKHAREVA, E. V**.** Response of *Rhodococcus cerastii* IEGM 1278 to Toxic Effects of Ibuprofen. **PLoS One** 16, e0260032, 2021.

JAN-ROBLERO, J.; CRUZ-MAYA, J. A. Ibuprofen: Toxicology and Biodegradation of an Emerging Contaminant. **Molecules** 28(5), 2097, 2023.

JEFFRIES, K. M.; BRANDER, S. M.; BRITTON, M. T.; FANGUE, N. A.; CONNON, R. E. Chronic Exposures to Low and High Concentrations of Ibuprofen Elicit Different Gene Response Patterns in a Euryhaline Fish. **Environ. Sci. Pollut. Res.** 22, 17397–17413, 2015.

LI, Z.; WANG, J.; GU, C.; GUO, Y.; WU, S. Marine Bacteria-Mediated Abiotic–Biotic Coupling Degradation Mechanism of Ibuprofen. **J. Hazard. Mater.** 435, 128960, 2022.

MAGAELA, B. N.; NDLOVU, K. S.; TSHANGANA, C. S.; MULEJA, A. A.; MAMBA, B. B.; NYOKONG, T.; MANAGA, M. Photodegradation of Ibuprofen Using 5,10,15,20-Tetrakis(4-Bromophenyl)porphyrin Conjugated to Graphene Quantum Dots. **Opt. Mater.** 134, 113147, 2022.



MARCHLEWICZ, A.; GUZIK, U.; WOJCIESZYŃSKA, D. Over-the-Counter Monocyclic Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs in the Environment: Sources, Risks, and Biodegradation. **Water Air Soil Pollut.** 226, 355, 2015.

MARCO-URREA, E.; PÉREZ-TRUJILLO, M.; VICENT, T.; CAMINAL, G. Ability of White-Rot Fungi to Remove Selected Pharmaceuticals and Identification of Degradation Products of Ibuprofen by *Trametes versicolor*. **Chemosphere** 74, 765–772, 2009.

MARINHO, V. H. S.; HOLANDA, F. H.; ARAÚJO, I. F.; JIMENEZ, D. E. Q.; PEREIRA, R. R.; PORTO, A. L. M.; FERREIRA, A. M.; CARVALHO, J. C. T.; ALBUQUERQUE DE FREITAS, A. C. G.; FERNANDES, C. P.; SOUTO, R. N. P.; FERREIRA, I. M. Nanoparticles from Silk Fibroin and Amazon Oils: Potential Larvicidal Activity and Oviposition Deterrence Against *Aedes aegypti*. **Ind. Crops Prod.** 203, 117133, 2023.

MCINTYRE, M.; MÜLLER, C.; DYNESEN, J.; NIELSEN, J. Metabolic Engineering of the Morphology of *Aspergillus*. **Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.** 73, 103–128, 2001.

MELO, V. S.; DESJARDINS, T.; SILVA, J. L.; SANTOS, E. R.; SARRAZIN, M.; SANTOS, M. M. L. S. Consequences of Forest Conversion to Pasture and Fallow on Soil Microbial Biomass and Activity in the Eastern Amazon. **Soil Use Manag.** 28(4), 530–535, 2012.

MOTOV, S.; MASOUDI, A.; DRAPKIN, J.; SOTOMAYOR, C.; KIM, S.; BUTT, M.; LIKOUREZOS, A.; FASSASSI, C.; HOSSAIN, R.; BRADY, J.; ROTHBERGER, N.; FLOM, P.; MARSHALL, J. Comparison of Oral Ibuprofen at Three Single-Dose Regimens for Treating Acute Pain in the Emergency Department: A Randomized Controlled Trial. **Ann. Emerg. Med.** 74(4), 530–537, 2019.

NÓBREGA, P. DE A.; FERREIRA, B. L.; SÁ, L. S.; BRAGA, F. S.; BEZERRA, R. M.; FERREIRA, I. M. Isolation and Identification of Iron, Chromium, and Manganese Tolerant Filamentous Fungi from Mining Soil. **Curr. Biotechnol.** 13, 2024.

OMOKHAGBOR ADAMS, G.; TAWARI FUFEYIN, P.; ERUKE OKORO, S.; EHINOMEN, I. Bioremediation, Biostimulation and Bioaugmentation: A Review. **Int. J. Environ. Bioremediat. Biodegrad.** 3(1), 28–39, 2020.

PAROLINI, M. Toxicity of the Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) Acetylsalicylic Acid, Paracetamol, Diclofenac, Ibuprofen and Naproxen Towards Freshwater Invertebrates: A Review. **Sci. Total Environ.** 740, 140043, 2020.

RAJA, M.; PRAVEENA, G.; WILLIAM, S. J. Isolation and Identification of Fungi from Soil in Loyola College Campus, Chennai, India. **Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.** 6(2), 1789–1795, 2017.

RAVINDRAN, R.; HASSAN, S. S.; WILLIAMS, G. A.; JAISWAL, A. K. A Review on Bioconversion of Agro-Industrial Wastes to Industrially Important Enzymes. **Bioengineering** 5(4), 93, 2018.

RIGO, D.; GAYESKI, L.; TRES, G. A.; CAMERA, F. D.; ZENI, J.; VALDUGA, E.; CANSIAN, R. L.; BACKES, G. T. Microbiological Production of Enzymes: A Review. **Braz. J. Dev.** 7(1), 9232–9254, 2021.

SAEID, S.; TOLVANEN, P.; KUMAR, N.; ERÄNEN, K.; PELTONEN, J.; PEURLA, M.; MIKKOLA, J. P.; FRANZ, A.; SALMI, T. Advanced Oxidation Process for the Removal of Ibuprofen from Aqueous Solution: A Non-Catalytic and Catalytic Ozonation Study in a Semi-Batch Reactor. **Appl. Catal. B Environ.** 230, 77–90, 2018.

SALGADO, R.; BRITO, D.; NORONHA, J. P.; ALMEIDA, B.; BRONZE, M. R.; OEHMEN, A.; CARVALHO, G.; BARRETO CRESPO, M. T. Metabolite Identification of Ibuprofen Biodegradation by *Patulibacter medicamentivorans* under Aerobic Conditions. **Environ. Technol.** 41(4), 450–465, 2020.

SCOPEL, C. F. V.; SOUSA, C.; MACHADO, M. R. F.; DOS SANTOS, W. G. BPA Toxicity During Development of Zebrafish Embryo. **Braz. J. Biol.** 81(2), 437–447, 2021.

SENA, I. S.; FERREIRA, A. M.; MARINHO, V. H.; HOLANDA, F. H.; BORGES, S. F.; SOUZA, A. A.; CARVALHO, R.; KOGA, R.; LIMA, A. L.; FLORENTINO, A. C.; FERREIRA, I. M. *Euterpe oleracea* Mart. (Açaizeiro) from the Brazilian Amazon: A Novel Source of Fungi for Lipase Production. **Microorganisms** 10(12), 2394, 2022.

SIBIYA, A.; SELVARAJ, C.; SINGH, S. K.; BASKARALINGAM, V. Toxicological Study on Ibuprofen and Selenium in Freshwater Mussel *Lamellidens marginalis* and Exploring the Microbial Cytochrome Through Modelling and Quantum Mechanics Approaches for Its Toxicity Degradation in Contaminated Environment. **Environ. Res.** 257, 119331, 2024.

SILVA, J. R. P. DA; BORGES, C. P.; FONSECA, F. V. DA. A Critical Review of Criteria Used for the Selection of Pharmaceuticals and Personal Care Products in Different Environmental Matrices. **Environ. Pollut. Prot.** 5(1), 2020.

SOARES, I. A.; FLORES, A. C.; MENDONÇA, M. M.; BARCELOS, R. P.; BARONI, S. Fungi in the Biorremediation of Degraded Areas. **Arq. Inst. Biol.** 78(2), 341–350, 2011.

STACHOWIAK, M.; CEGŁOWSKI, M.; KURCZEWSKA, J. Hybrid Chitosan/Molecularly Imprinted Polymer Hydrogel Beads Doped with Iron for Selective Ibuprofen Adsorption. **Int. J. Biol. Macromol.** 251, 126356, 2023.

SUMNER, L. W.; AMBERG, A.; BARRETT, D.; BEALE, M. H.; BEGER, R.; DAYKIN, C. A.; FAN, T. W. M.; FIEHN, O.; GOODACRE, R.; GRIFFIN, J. L.; HANKEMEIER, T.; HARDY, N.; HARNLY, J.; HIGASHI, R.; KOPKA, J.; LANE, A. N.; LINDON, J. C.; MARRIOTT, P.; NICHOLLS, A. W.; REILY, M. D.; THADEN, J. J.; VIANT, M. R. Proposed Minimum Reporting Standards for Chemical Analysis. **Metabolomics** 3(3), 211–221, 2007.

TAMMINEN, M.; SPAAK, J.; TLILI, A.; EGGEN, R.; STAMM, C.; RÄSÄNEN, K. Wastewater Constituents Impact Biofilm Microbial Community in Receiving Streams. **Sci. Total Environ.** 807, 151080, 2022.



WARAKSA, E.; WOŹNIAK, M. K.; BANASZKIEWICZ, L.; KŁODZIŃSKA, E.; OZIMEK, M.; WRZESIEŃ, R.; BOBROWSKA-KORCZAK, B.; NAMIEŚNIK, J. Quantification of Unconjugated and Total Ibuprofen and Its Metabolites in Equine Urine Samples by Gas Chromatography–Tandem Mass Spectrometry: Application to the Excretion Study. **Microchem. J.** 150, 104129, 2019.

WILLIAMS, N. S.; RAY, M. B.; GOMAA, H. G. Removal of Ibuprofen and 4-Isobutylacetophenone by Non-Dispersive Solvent Extraction Using a Hollow Fibre Membrane Contactor. **Sep. Purif. Technol.** 88, 61–69, 2012.

XIA, L.; ZHENG, L.; ZHOU, J. L. Effects of Ibuprofen, Diclofenac and Paracetamol on Hatch and Motor Behavior in Developing Zebrafish (*Danio rerio*). **Chemosphere** 182, 416–425, 2017.

ZHANG, K.; YUAN, G.; WERDICH, A. A.; ZHAO, Y. Ibuprofen and Diclofenac Impair the Cardiovascular Development of Zebrafish (*Danio rerio*) at Low Concentrations. **Environ. Pollut.** 258, 113613, 2020.