

Remoção de cafeína de efluentes através de leito de macrófita de fluxo subsuperficial vertical plantado com *Vetiveria zizanioides*

Bruno Joukoski Jalowski¹, Berenice da Silva Junkes², Teresa Borralho³, Adelaide Almeida⁴

¹Instituto Federal de Santa Catarina (IFSC), Aluno do Curso Técnico Integrado em Química, Campus Florianópolis, bruno.jalowski@gmail.com

²Instituto Federal de Santa Catarina (IFSC), Professora do Curso Técnico Integrado em Química, Campus Florianópolis, berenice@ifsc.edu.br

³Instituto Politécnico de Beja (IPBeja), Professora do Departamento de Ciências e Tecnologias Aplicadas, mtcarvalhos@ipbeja.pt

⁴Instituto Politécnico de Beja (IPBeja), Professora do Departamento de Ciências e Tecnologias Aplicadas, maalmeida@ipbeja.pt

RESUMO

Considerada o estimulante do sistema nervoso central mais consumido no mundo, a cafeína se mostra como uma ameaça a ecossistemas aquáticos, por ser descartada e indevidamente tratada, sendo então detectada em fontes de abastecimento. Este trabalho buscou avaliar a capacidade de remoção da cafeína através de fitorremediação, em um leito plantado com *Vetiveria zizanioides* (capim-vetiver) em agregados leves de argila expandida. O fluxo ao leito foi efetuado em modo vertical contínuo. Foi utilizado uma solução nutritiva de Hoagland, enriquecida com $8 \pm 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de cafeína. Manteve-se o caudal afluente constante e carga hidráulica em $200 \text{ L} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$. A eficiência de remoção de cafeína no leito, bem como a sua assimilação pelas folhas das plantas foi determinada através de HPLC-MS. Na biomassa vegetal foram determinados os teores de clorofila *a*, *b*, total e carotenoides. Obtiveram-se eficiências médias de remoção de cafeína de até $69 \pm 2 \%$, tendo a *V. zizanioides* assimilado durante todo o processo de tratamento cerca de $20 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ na folha. Verificou-se que a exposição da planta à cafeína causou uma diminuição no teor de clorofila *a* e *b* e total. Este estudo aponta para a possibilidade do uso da fitorremediação como uma tecnologia de baixo custo aplicável ao tratamento de águas residuais contaminadas com compostos emergentes.

Palavras-chave: **Carotenoides, Leitos Flutuantes, Assimilação Pelas Plantas, HPLC-MS.**

Introdução

A cafeína (1,3,7-trimetilpurina-2,6,diona) é um alcaloide púrico e é considerada o estimulante do sistema nervoso central mais consumido ao redor do mundo (CHEN, 2017). Em cursos d'água, esta substância é considerada um sinalizador de contaminação (DANESHVAR et al., 2012), pois, junto de outros produtos farmacêuticos presentes no esgoto doméstico, ela é metabolizada e absorvida pelo organismo humano de modo parcial e é excretada nas fezes e na urina, tendo como destino o ambiente aquático. Esses compostos liberados em pequenas e contínuas concentrações podem causar mudanças e efeitos crônicos no ecossistema, de acordo com Daughton e A Ternes (1999).

Em diversos estudos fora detectada a presença de cafeína em águas residuais sem tratamento, na ordem dos 16 mg.habitante⁻¹.dia⁻¹, com eficiências de remoção em estações de tratamento de esgoto convencionais de 60 % (BUERGE, 2003).

Em âmbito nacional, a cafeína é amplamente detectada em águas de mananciais e de abastecimento, tanto em fontes subterrâneas (SOUZA et al., 2016) quanto superficiais (GONÇALVES, 2008). Essa presença recorrente existe, pois, a passagem dos resíduos farmacêuticos por estações de tratamento não elimina completamente essas substâncias do efluente final, devido aos métodos atualmente aplicados não removerem eficientemente esse micropoluente (JONES et al., 2005).

Dentre os diferentes métodos que permitem a remoção de cafeína de águas residuais destaca-se a fitorremediação, técnica que consiste na utilização de plantas para descontaminação de ambientes aquáticos e terrestres, removendo, degradando ou reduzindo a biodisponibilidade dos contaminantes. Quando esta tecnologia é aplicada no tratamento de águas residuais, é denominada “Wetlands construídos” também muitas vezes denominados leitos de macrófitas ou apenas leitos. Ela é provada como eficiente na remoção de diversos compostos orgânicos e inorgânicos, incluindo pesticidas, metais pesados e hidrocarbonetos poliaromáticos (RAI, 2009). Por Matamoros et al. (2009) foi constatada a possibilidade de remover cafeína em águas residuais com eficiência de 97 % a 99 %. Ademais, segundo Divensi, Lima e Souza (2010), apresenta custos de implementação e impactos ambientais muito inferiores aos dos métodos físico-químicos

usuais, além de ser de fácil manipulação, ser capaz de atingir mais de um composto simultaneamente e poder ser utilizada para outros fins que não a biorremediação (MARTINS, 2004), como na fabricação de materiais de construção, artesanato e perfumes (UCKER E ALMEIDA, 2013).

Os leitos de macrófitas podem ser classificadas de acordo com vários parâmetros, mas os dois mais importantes são o tipo de vegetação dominante que os habita, (emergentes, flutuantes enraizadas ou não enraizadas, e submersas), ou em termos operativos, pela forma como o efluente as percorre (sistemas de fluxo superficial (FS) e fluxo subsuperficial (FSS) que poderá ser em movimento vertical ou horizontal) (KADLEC E WALLACE, 2008). Os leitos com escoamento em modo subsuperficial vertical, apresentam condições muito mais aeróbias que os outros tipos de leitos construídos, podendo assim ser utilizados tanto para remoção de matéria orgânica como para a nitrificação e outros processos aeróbios (VYMAZAL, 2003).

A macrófita utilizada no estudo foi a *Vetiveria Zizanioides*, selecionada principalmente pela sua grande resistência a variações de pH (de 3 e 10,5) e de temperatura (-10 e 60°C) do solo, e a concentrações elevadas de metais pesados (As, Cd, Pb, Hg, Ni, Se e Zn) (TRUONG E HART, 2001). Outras características que influenciaram a sua escolha foram seu modo de reprodução assexuado e seu sistema radicular comprido (THE WORLD BANK, 1993).

Este trabalho investigou a possibilidade de utilização de fitorremediação, usando leitos de escoamento vertical plantado com *Vetiveria zizanioides* para o tratamento de águas residuais contaminadas com concentrações de cafeína de $8 \pm 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, valores próximos aos relatados por Buerge (2003). Como objetivo secundário, foi analisado o comportamento dessas mesmas plantas quando expostas às referidas soluções.

Metodologia

Descrição dos leitos

Este estudo foi realizado em um leito de fluxo vertical em escala piloto, com dimensões de $0,24 \text{ m}^2 \times 0,70 \text{ m}$, plantado com *V. zizanioides* em aglomerados leves de argila expandida (Leca® NR10/20), normalmente denominada matriz de suporte.

Regime de amostragem

O leito flutuante foi operado em modo de fluxo contínuo por três meses. O fluxo contínuo foi alcançado usando uma bomba Eheim-2400 (Deizisan, Alemanha) e foi estabelecido em $20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ (carga hidráulica de cerca de $200 \text{ L}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$), com saída situada na superfície do leito. Um tanque de armazenamento de 125 L foi utilizado como reservatório para a solução de Hoagland usada na irrigação. As amostras foram coletadas 2 vezes na semana (todas as terças e quintas-feiras pela manhã), por um período de 5 semanas ($n= 10$ amostras), de 15 de outubro a 5 de novembro de 2019. A amostragem foi efetuada na entrada e saída do leito e as amostras foram analisadas *in situ* para determinação de pH. Para a determinação de cafeína, as amostras foram conservadas a -20°C até a análise.

Solventes e reagentes

Cloreto de cálcio, dihidrogenofosfato de potássio, cloreto de amônio (Panreac, Alemanha), sulfato de potássio e cloreto de cobre (II) dihidratado (Scharlau, Espanha), cloreto de manganês (II) tetrahidratado (Sigma-Aldrich, Alemanha), sulfato de ferro (II) heptahidratado (VWR Chemicals, Bélgica), todos com grau de pureza 95 %; e cloreto de zinco de grau analítico (Riedel-de Haën, Alemanha) foram utilizados para a preparação da solução de Hoagland (água residual sintética). A cafeína utilizada, com grau de pureza superior a 99 %, fora obtida da Sigma Aldrich, Alemanha.

Acetonitrila e metanol, ambos com grau HPLC de pureza, foram obtidos de Carlo Erba, Espanha. Água ultrapura foi obtida de um sistema de purificação de água MilliQ.

Extração da cafeína dos tecidos das plantas

A cafeína foi extraída das plantas segundo o método de ruptura por areia do mar. A areia foi passada por uma peneira de 2 mm, lavada com água deionizada até que o líquido saísse límpido e, em seguida, lavada três vezes com metanol 99 %. Foram pesados 0,5 mg de amostra de plantas e, em duplicata, moídos com a areia em um almofariz, com adição de 2 mL de metanol. O conteúdo do almofariz foi transferido para uma seringa de 20 mL com 3 discos de papel filtro no fundo. Outro disco foi usado para cobrir o material

e foi então comprimido pelo êmbolo da seringa. A seringa foi seca sob vácuo e então eluiu-se o material em seu interior 3 vezes com 10 mL de metanol. A solução extraída foi concentrada utilizando uma leve corrente de gás nitrogênio, até um volume de 40 µL, sendo assim diluída para um volume final de 10 mL. A amostra para análise foi filtrada com um filtro de acetato de celulose de 0,45 µm e inserida em um vial para posterior leitura em HPLC-MS (TEIXEIRA E COSTA, 2005; ZHANG et al., 2012).

Extração de clorofila a, b e carotenoides totais

Esta extração, e a conseguinte quantificação, seguiram o método de Lichtenthaler (1987), e utilizaram de duas fontes: uma planta sem adição de cafeína e outra proveniente do leite estudado. As folhas foram cortadas e congeladas a -80 °C, e destas pesou-se 25 mg, adicionando em seguida 0,1 mL de água. Após 10 min., 8 mL de etanol 96 % foram adicionados e o conjunto foi centrifugado em um homogeneizador de tecidos *Precellys Evolution* por 2 min. a 4500 rpm. As amostras foram mantidas na ausência de luz por 24 horas, envoltas em papel alumínio e armazenadas em um armário, e a análise espectrofotométrica então foi realizada em um *Ultrospec 2100 pro* em 4 faixas de absorção (470 nm, 649 nm, 664 nm e 750 nm).

Determinação de pH

Dez amostras da entrada e da saída de água do leite foram coletadas e o pH foi monitorizado com a utilização de uma sonda portátil multiparamétrica (HI9829 HANNA).

Análise cromatográfica

A análise HPLC-MS foi realizada em um cromatógrafo líquido de alta performance *UltiMate 3000 HPLC series* da *Thermo Scientific* (Thermo Scientific, EUA) com fonte de ionização eletrospray (ESI), com os softwares de controle “Chromeleon – Dionex” e “Thermo Scientific Xcalibur”. A quantificação da cafeína nas amostras de efluente e afluente do leite foi realizada por análise cromatográfica em modo isocrático, em uma coluna de fase reversa Hypertensil C18 de 160 x 4,6 mm, a 25 °C. A fase móvel

consistia em uma mistura de acetonitrila:água ultrapura (40:60) acidificada com 0,1 % de ácido fórmico e com fluxo de 0,2 mL.min⁻¹. O preparo das amostras se deu pela filtração das mesmas em filtros de acetato de celulose de 0,45 µm, seguido de inserção em vials e alocação no amostrador. O volume de amostra utilizado foi selecionado de acordo com a reta de calibração preparada para o equipamento. Preparou-se uma solução mãe de cafeína a 200 mg .L⁻¹ através da dissolução de cafeína pura em uma mistura de acetonitrila:água (67:33). A partir desta, retirou-se alíquotas necessárias para a preparação da curva de calibração, com concentrações de 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 e 2,5 mg .L⁻¹.

Foi feita a leitura do teor de cafeína nas amostras e nos padrões com um detector UV-VIS na faixa de 273 nm, resultando em um tempo de retenção de 1,38 s. Tendo em vista que o tempo de retenção varia de acordo com as condições experimentais do HPLC, fez-se em seguida a detecção em MS, em polaridade positiva, e íon precursor de m/z=195. As condições operatórias aplicadas ao detector MS encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1: Condições operacionais do espectrômetro de massa (MS).

	Nome	Valor
	Sweep gas Flow	0.01
	Voltagem do capilar (V)	39.93
	Temperatura do capilar (°C)	299.85
	Voltagem do Tube Lens (V)	54.53
Vácuo:	Medidor de Íons (E-5 Ton)	1.76
	Medidor de Convecção (Torr)	1.36
	Vida (horas)	28388
Bomba Turbo:	Velocidade (Hz)	750
	Potência (Watts)	57
	Temperatura (°C)	37

FONTE: Dados da pesquisa.

Tratamento dos resultados obtidos

Os resultados obtidos foram tratados estatisticamente no programa Statistica (versão 8) sendo utilizado em todos os testes um limiar de significância de 5%. A

comparação das diferenças entre os valores de entrada e saída do leito, para os diversos parâmetros físico-químicos monitorizados, foi efetuada por análise de variância (ANOVA) a dois fatores, sendo as suas médias avaliadas posteriormente pelo teste de Tuckey. As eficiências de remoção foram analisadas por ANOVA a um fator e comparadas pelo teste de Tuckey.

Resultados e discussão

Remoção da cafeína de águas residuais e assimilação pelas plantas

Os resultados obtidos relativos aos teores de cafeína na água residual sintética (afluente do leito), e posteriormente à sua passagem pelo leito plantado com *V. zizanioides*, indicaram que ocorreu remoção de cafeína no interior do leito (Figura 1).

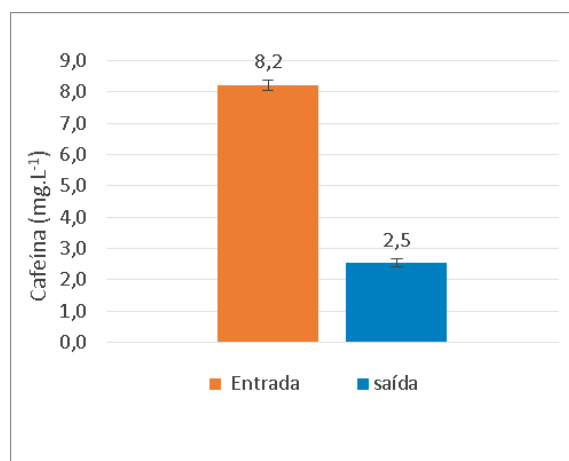


Figura 1: Médias das concentrações de cafeína na entrada e na saída de água do leito (n= 10 amostras)

FONTE: Dados da pesquisa.

A eficiência média de remoção foi de $69 \pm 2 \%$, valor muito inferior aos encontrados por Hijosa-Valsero et al. (2010) e Matamoros et al. (2009), com médias que variaram de 95 % a 99 % para o mesmo estilo de leito. Alguma desta cafeína pode ter sido removida através da assimilação pela biomassa vegetal, nomeadamente as raízes e a parte aérea. No entanto, apenas se determinou a cafeína presente nas folhas das plantas e foi de $20 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de biomassa fresca. Este valor excedeu os relatados por Zhang et. al (2012), de $6,39$ a $13,65 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de biomassa fresca, que utilizou concentrações de cafeína de $0,5$ a $2,0 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$

¹. O valor quantificado representa apenas uma pequena fração quando comparada com a quantidade removida da água residual. Assim, além da assimilação pelas plantas, ocorreram outros mecanismos de remoção de cafeína, nomeadamente a assimilação pelos microrganismos presentes e a sua degradação aeróbia.

Clorofila e carotenoides

Medindo, em triplicata, os níveis de clorofila e carotenoides nas plantas, pode-se checar a existência de alterações em suas estruturas, assim como em suas capacidades de realização da fotossíntese. Essa medição visa à verificação de respostas tóxicas da planta à presença de cafeína no meio. Com os resultados, apresentados na Figura 2, pode-se constatar que a presença de cafeína na água do leito interferiu significativamente ($p < 0,05$) na quantidade de clorofila *a* (Chl *a*) e total (Chl total), assim indicando possíveis efeitos de toxicidade para as plantas, embora não tenha sido detectada nenhuma alteração morfológica através da observação efetuada durante a amostragem. Clorofila *b* (Chl *b*) e carotenoides, no entanto, não apresentaram suficiente alteração ($p > 0,05$).

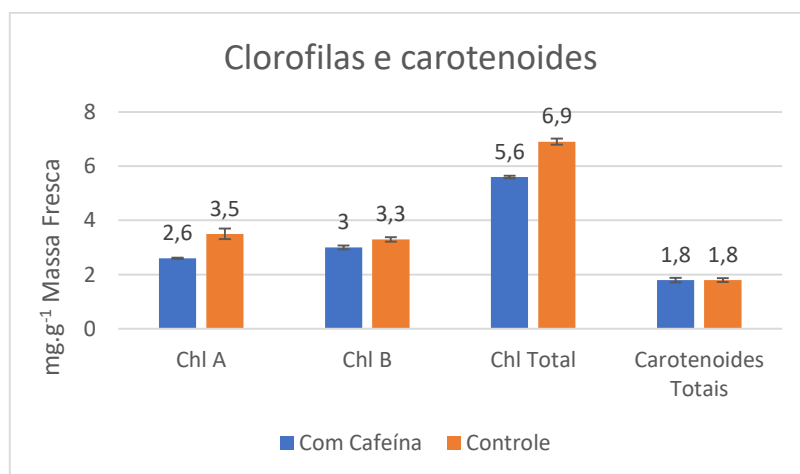


Figura 2: Médias de clorofilas e carotenoides presentes na *Vetiveria zizanioides* (grupos amostrais de $n = 3$ amostras). Leito sem cafeína (controle) representado pelas barras em laranja e leito com adição de cafeína representado pelas barras em azul.

FONTE: Dados da pesquisa.

pH da água

Os valores de pH se mantiveram constantes no decorrer do período de estudo, com o pH médio do afluente sendo $7,1 \pm 0,1$ e do efluente, $7,1 \pm 0,1$. Esses dados indicam que, com as quantidades de cafeína adicionadas, as reações químicas e biológicas que possam ter ocorrido não alteram significativamente os valores de pH ($p > 0,05$).

Conclusão

O presente trabalho constatou a possibilidade de utilizar fitorremediação com *V. zizanioides* para promover a remoção sustentável de cafeína em leitos contaminados. Foram obtidas elevadas eficiências de remoção e observou-se que nas folhas das plantas houve assimilação do poluente.

Foi identificada uma diminuição do teor em clorofilas *a* e totais devido à exposição das plantas à cafeína, embora não se tenha observado sinais de amarelamento nas folhas da *V. zizanioides*.

A fitorremediação pode ser uma resposta à remoção sustentável da cafeína presente em águas residuais. A *V. zizanioides* e a matriz de suporte mostraram ser adequadas ao sistema em estudo. Sugere-se que em estudos futuros, possam fornecer esclarecimentos dos mecanismos envolvidos no processo de remoção da cafeína empregando leitos de escoamento subsuperficial vertical.

Bibliografia

BUERGE, Ignaz J.; POIGER, Thomas; MÜLLER, Markus D.; BUSER, Hans-rudolf. Caffeine, an Anthropogenic Marker for Wastewater Contamination of Surface Waters. **Environmental Science & Technology**, [s.l.], v. 37, n. 4, p. 691-700, fev. 2003. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/es020125z>.

CHEN, Feng et al. Measurement of caffeine and its three primary metabolites in human plasma by HPLC-ESI-MS/MS and clinical application. **Biomedical Chromatography**, [s.l.], v. 31, n. 6, p.3900-3900, 4 jan. 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/bmc.3900>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5415443/>>. Acesso em: 11 nov. 2019.

DANESHVAR, Atlasi et al. Evaluating pharmaceuticals and caffeine as indicators of fecal contamination in drinking water sources of the Greater Montreal region. **Chemosphere**, [s.l.], v. 88, n. 1, p.131-139, jun. 2012. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.03.016>. Disponível em:
<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004565351200330X?via%3Dihub>>
. Acesso em: 26 dez. 2019.

DAUGHTON, C G; A TERNES, T. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change?. **Environmental Health Perspectives**, [s.l.], v. 107, n. 6, p.907-938, dez. 1999. Environmental Health Perspectives. <http://dx.doi.org/10.1289/ehp.99107s6907>. Disponível em:
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1566206/>>. Acesso em: 3 jan. 2020.

DIVENSI, Helizabett Fernanda do; LIMA, Sônia Barbosa de; SOUZA, Débora Cristina de. Tratamento de efluentes contendo altas concentrações de matéria orgânica e nutrientes utilizando macrófita aquática. In: ENCONTRO DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA, 5., 2010, Campo Mourão. **Anais do V Encontro de Produção Científica e Tecnológica**. Campo Mourão: Fecilcam, 2010. Disponível em:
http://www.fecilcam.br/nupem/anais_v_epct/PDF/engenharias/05_DIVENSI_LIMA_SOOUZA.pdf. Acesso em: 7 jan. 2020.

GONÇALVES, Eline Simões. **O uso da cafeína como indicador de contaminação por esgoto doméstico em águas superficiais**. 2008. 90 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Geociências, Universidade Federal Fluminense, Teresópolis, 2008. Disponível em:
<<https://app.uff.br/riuff/handle/1/3603>>. Acesso em: 30 dez. 2019.

HIJOSA-VALSERO, María; MATAMOROS, Víctor; MARTÍN-VILLACORTA, Javier; BÉCARES, Eloy; BAYONA, Josep M.. Assessment of full-scale natural systems for the removal of PPCPs from wastewater in small communities. **Water Research**, [s.l.], v. 44, n. 5, p. 1429-1439, mar. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2009.10.032>.

JONES, O. A. H.; VOULVOULIS, N.; LESTER, J. N.. Human Pharmaceuticals in Wastewater Treatment Processes. **Critical Reviews In Environmental Science And Technology**, [s.l.], v. 35, n. 4, p.401-427, jul. 2005. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10643380590956966>. Disponível em:
<http://www.geol.lsu.edu/blanford/NATORBF/14%20Pharmaceuticals%20and%20RBF/Jones%20et%20al_Crit%20Reviews%20Env._2005.pdf>. Acesso em: 26 dez. 2019.

KADLEC, Robert H.; WALLACE, Scott D.. **Treatment Wetlands**. 2. ed. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2008. 965 p.

LICHTENTHALER, Hartmut K.. [34] Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods In Enzymology**, [s.l.], p.350-382, 1987. Elsevier. [http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1).

MARTINS, Ana Paula Lang. **Capacidade do Polygonum hydropiperoides e Typha domingensis na fitorremediação de efluentes de tanques de piscicultura na região**

da bacia do rio Iraí. 2004. 92 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005. Disponível em: <<https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/3459>>. Acesso em: 4 jan. 2020.

MATAMOROS, Víctor; ARIAS, Carlos; BRIX, Hans; BAYONA, Josep M.. Preliminary screening of small-scale domestic wastewater treatment systems for removal of pharmaceutical and personal care products. **Water Research**, [s.l.], v. 43, n. 1, p. 55-62, jan. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2008.10.005>.

RAI, Prabhat Kumar. Heavy Metal Phytoremediation from Aquatic Ecosystems with Special Reference to Macrophytes. **Critical Reviews In Environmental Science And Technology**, [s.l.], v. 39, n. 9, p.697-753, 31 ago. 2009. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10643380801910058>. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10643380801910058>>. Acesso em: 3 jan. 2020.

SOUZA, L. F. C. B. et al. Caféina em água de captação e tratada: um indicador químico de contaminação antrópica.. In: Congresso de Pesquisa em Saúde Animal e Humana, 1., 2016, Londrina. **Anais do I COPESAH**. Londrina: ISSN, 2016. p. 149-152. Disponível em: <https://www.tratamentodeagua.com.br/artigo/cafeina-em-amstras-de-agua-de-captacao-e-tratada-um-indicador-quimico-de-contaminacao-antropica/>. Acesso em: 29 dez. 2019.

TEIXEIRA, D. Martins; COSTA, C. Teixeira da. Novel methods to extract flavanones and xanthonones from the root bark of *Maclura pomifera*. **Journal Of Chromatography A**, [s.l.], v. 1062, n. 2, p.175-181, jan. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2004.11.053>.

THE WORLD BANK (United States). **Vetiver Grass: The Hedge against Erosion**. 4. ed. Washington, D.c, 1993. 48 p. Disponível em: http://www.vetiver.org/PUBLICATIONS/TVN_greenEng.pdf. Acesso em: 22 maio 2020.

TRUONG, Dr. Paul; HART, Barbara. **Vetiver System for Wastewater Treatment**. Queensland, 2001. 26 p. Disponível em: https://www.vetiver.org/PRVN_wastewater_bul.pdf. Acesso em: 22 maio 2020.

UCKER, Fernando Ernesto; ALMEIDA, Rogério de Araújo. UTILIZAÇÃO DO CAPIM VETIVER NA REMOÇÃO DE NUTRIENTES DO ESGOTO DOMÉSTICO. **Revista Eletrônica de Gestão e Tecnologias Ambientais (gesta)**, Goiás, v. 1, n. 2, p. 267-275, 2013. Disponível em: <https://portalseer.ufba.br/index.php/gesta/article/download/8541/6424>. Acesso em: 20 abr. 2020.

VYMAZAL, J.. The Use of Aquatic Macrophytes for Wastewater Treatment in Constructed Wetlands. In: 1ST INTERNATIONAL SEMINAR ON THE USE OF AQUATIC MACROPHYTES FOR WASTEWATER TREATMENT IN CONSTRUCTED WETLANDS, 1., 2003, Lisboa. **Proceedings of the 1st International seminar on the use of aquatic macrophytes for wastewater treatment in constructed wetlands.** Lisboa: Icn e Inag, 2003. p. 35-69.

ZHANG, Dong Qing et al. Assessment of plant-driven uptake and translocation of clofibric acid by *Scirpus validus*. **Environmental Science And Pollution Research**, [s.l.], v. 20, n. 7, p.4612-4620, 30 dez. 2012. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-012-1375-1>.