

MODEL KINETIKA "PSEUDO SECOND ORDER" UNTUK PENYERAPAN ION Cr^{6+} DARI MEDIA AIR KE BIOMASSA PERIFITON

Evi Susanti, dan Nofdianto

Pusat Penelitian Limnologi – LIPI

E-mail: nofdianto@limnologi.lipi.go.id

Diterima redaksi : 12 Desember 2013, disetujui redaksi : 6 Mei 2014

ABSTRAK

Pengembangan sebuah model pengendalian pencemaran air melalui sebuah perekayasa substrat periphyton tengah dikembangkan di Pusat Penelitian Limnologi-LIPI. Model ini membentuk kanal yang memiliki aliran berkelok-kelok dengan lebar 20 cm, tinggi 11 cm, dan panjang 600 cm. Kanal ini digunakan dalam melakukan sebuah penelitian dengan tujuan untuk mengetahui daya serap kinetik dari algae-perifitik terhadap pencemar logam berat chromium. Setelah populasi perifiton tumbuh dengan baik yang ditandai dengan algal filamentous berwarna hijau muda dan cerah, selanjutnya air kanal dikuras dan dilakukan pengambilan contoh biomassa perifiton sebagai t_0 . Selanjutnya, masukan media yang telah diberi logam Cr (VI) dengan konsentrasi 0,64 mg/L langsung pada media tumbuh perifiton dan ditetapkan sebagai t_0 . Contoh biomassa perifiton dan air diambil setiap 0, 2, 4, 8, 12, 24, dan 48 jam. Konsentrasi logam pada biomassa perifiton dan air dianalisis untuk parameter Total Cr. Model sorpsi orde kedua digunakan untuk memprediksi konstanta laju kinetik yang diperoleh yaitu 0,2813 mg/g/jam dari persamaan model: $t/q = 0,550t + 3,554$; $R^2 = 0,947$

Kata Kunci: Sorpsi, kinetic, perifiton, Cr^{6+} , kanal perifiton

ABSTRACT

KINETICS MODEL "PSEUDO SECOND ORDER" FOR THE ABSORPTION OF Cr^{6+} IONS FROM AQUEOUS MEDIA TO PERIPHYTON BIOMASS. Recently, Limnology Research Center develops a model of water pollution control through an engineering substrate periphyton. These models form the canal which has a winding stream with 20 cm width, 11 cm height, and 600 cm length. This channel is used in conducting a study with the aim to determine the absorption kinetics of algae-perifitic against heavy metal pollutant chromium. After the population is growing well characterized by algal filamentous young and bright green, then drained of water canals and conducted sampling periphytic biomass as t_0 . Furthermore, the input media has added chromium (VI) with a concentration of 0.64 mg/L directly in growth media periphytic and defined as t_0 . Periphytic biomass and water samples were taken every 0, 2, 4, 8, 12, 24, and 48 hours. Analysis of metal concentration on periphytic biomass and in water samples were performed for the parameters total Cr. A batch sorption model, based on the assumption of the pseudo-second order mechanism, was applied to predict the rate constants which were found to be 0.2813 mg/g/hour from the model equation $t/q = 0.550 t + 3.554$; $R^2 = 0,947$.

Keywords: sorption, kinetics, periphyton, Cr^{6+} , canal periphyton

PENDAHULUAN

Persamaan matematika untuk *pseudo-second orde* kinetika penyerapan logam berat, pertama kali dilaporkan oleh Blanchard *et al.* (1984) yaitu oleh batuan zeolite alam (Plazinski *et al.*, 2013). Chowdhury *et al.*, (2010) melaporkan bahwa penyerapan ini sering disebut sebagai serapan pasif dan pengikatan fisiko-kimia beberapa jenis kimia atau ion ke permukaan benda padat. Hingga saat ini mekanisme ini telah diyakini sebagai proses yang efisien dan murah untuk menghilangkan konsentrasi logam berat yang berasal dari limbah industri. Model *pseudo-second orde* ini telah digunakan oleh beberapa peneliti untuk mengekspresikan secara deskripsi dan korelasi data kinetik yang dipantau melalui sistem penyerapan padat atau cair (Ho & McKay, 1999; Ho, 2006; Gupta & Suhas, 2009, Febrianto *et al.*, 2009). Penggunaan *pseudo-second orde* meliputi sistem yang mengandung berbagai macam “sorbate” (unsur yang diserap) seperti logam berat, pewarna organik dan lain-lain, dan fenol, dan “sorbent” (unsure yang menyerap) seperti mineral organik, karbon aktif, dan biomassa baku, dan sebagainya. Pada penelitian ini digunakan logam berat kromium sebagai “sorbet” dan biomassa perifiton sebagai “sorbent”.

Di alam, kromium ditemui dalam bentuk kromium trivalent (Cr^{3+}) pada batuan, tanah, tumbuhan dan emisi vulkanik. Sementara itu pada kegiatan industri umumnya dihasilkan kromium hexavalent (Cr^{6+}), seperti dari industri baja, pelapisan logam dan industri penyamakan kulit. Kromium hexavalent merupakan bentuk oksidasi yang bersifat toksik, yang dapat menyebabkan kerusakan paru-paru, hati, sistem saraf dan ginjal pada mamalia. USEPA telah membatasi kadar maksimum tingkat kontaminan untuk Cr^{3+} dan Cr^{6+} sebesar 0,1 mg/L. Namun WHO membatasi kandungan kromium untuk air minum sebesar 0,05 mg/L (Romero-Gonzalez, *et al.*, 2005).

Di perairan, kromium terdapat dalam bentuk Cr^{3+} dan Cr^{6+} , sehingga pencemaran yang ditimbulkan oleh konsentrasi logam berat ini perlu diatasi. Baru-baru ini banyak dilakukan berbagai penelitian tentang mekanisme penyisihan logam berat dari perairan tercemar, salah satu metode yang aman dalam menurunkan konsentrasi logam berat ini adalah penyerapan secara biotik oleh mikrofitobentik atau sering disebut sebagai perifiton.

Perifiton dapat dijelaskan sebagai komunitas mikroba yang menempel pada permukaan bahan padat di bawah air dan dikendalikan oleh energi cahaya untuk fotosintesis. Mikroorganisme fototrofik oksigenik seperti diatom bentik (sentris, pennate, uniseluler dan filamen), uniseluler, cyanobacteria dan miroalga bentik menghasilkan energi dan mengurangi karbon dioksida, serta menyediakan substrat organik dan oksigen di perairan. Transfer dan konversi energi berlangsung dalam kegiatan fotosintesis, sebagai contoh pengendalian komunitas heterotrofik yang perlu karbon dan nitrogen organik C dan N dari fotosintat dan lisat sel pada saat yang bersamaan dalam regenerasi nutrisi oleh mikroorganisme heterotrofik (Bateson & Ward, 1988).

Sebagai kelompok organisme tingkat rendah, komunitas perifiton memiliki beberapa keunikan, terutama dalam hal menghasilkan zat polimer ekstraseluler (EPS) yang berfungsi sebagai pengikat antara ganggang-biofilm (Flemming, 1993; Wimpenny *et al.*, 2000). Biasanya, dalam tahap tertentu siklus hidup perifiton membentuk lapisan-lapisan yang sering disebut sebagai mikroba tikar atau tikar fototrofik (Guerrero *et al.*, 2002; Roeselers *et al.*, 2007a; Stal *et al.*, 1985; Ward *et al.*, 1998). Lapisan atas biasanya didominasi oleh fototrofik oksigenik, sedangkan lapisan bawah adalah bercampur fototrofik anoksigenik.

Penggunaan perifiton untuk berbagai keperluan semakin meningkat misalnya untuk pengolahan air limbah (Craig *et al.*, 1996; Schumacher & Sekoulov, 2002; Vymazal *et al.*, 2001), bioremediasi (Blanco *et al.*, 1999; Chaillan *et al.*, 2006; Cohen 2002), budidaya (Bender & Phillips, 2004; Phillips *et al.*, 1994, van Dam *et al.*, 2002) dan produksi hidrogen (Prince & Kheshgi, 2005; Tsygankov *et al.*, 1999). Terkait dengan itu prospek aplikasi mikroalga perifitik sangat terbuka luas karena Indonesia merupakan negara tropis dengan perairan darat yang luas, sehingga penerapan mikro alga perifiton terutama dalam pengelolaan sumber daya air berbasiskan ekosistem menjadi sangat penting dan strategis untuk dikembangkan.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pola daya serap kinetik dari algae-perifitik terhadap pencemar logam berat chromium.

BAHAN DAN METODE

Perangkat Percobaan

Dirancang sistem saluran (kanal) menyerupai perairan lotik (sungai) untuk waktu pendek pada kondisi stabil (Gambar 1). Tiga buah kolam dengan sistem kanal yang digunakan merupakan kolam berliku

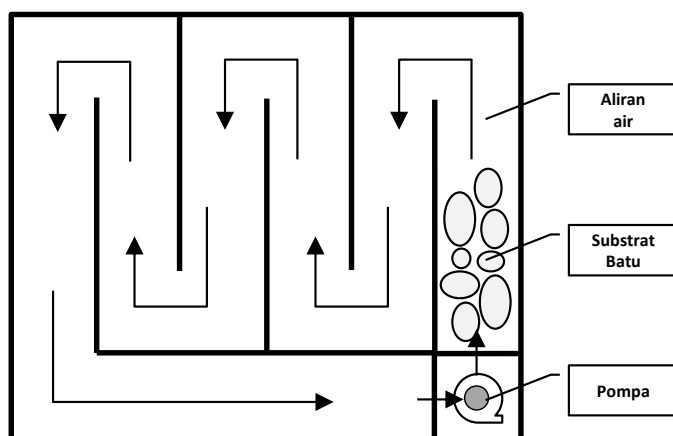
berbahan fibre glass dengan dimensi panjang 600 cm, lebar 20 cm, dan tinggi 11 cm. Kolam system kanal diisi dengan air tanah sebanyak 132 Liter dan luas area perifiton 1,16 m². Pada penelitian ini terbagi menjadi tiga tahapan: (i) aklimatisasi perifiton pada sistem kanal; (ii) penambahan logam pada sistem kanal dengan konsentrasi sebesar 0,64 mg/L; dan (iii) pengamatan bioakumulasi perifiton pada sistem kanal.

Kolonisasi Perifiton

Perifiton disebar pada sistem kanal, substrat berupa batuan kali dengan ukuran diameter 5 – 10 cm. Batu tersebut disebar merata pada bagian dasar kanal dan perifiton dibiarkan tumbuh hingga 1 – 2 minggu dengan asumsi bahwa kurun waktu tersebut cukup untuk menentukan homogenitas pertumbuhan perifiton pada lapisan lotik.

Percobaan Bioakumulasi

Bioakumulasi logam merkuri oleh perifiton diamati pada periode waktu pengamatan 0, 4, 8, 12, 24 dan 48 jam setelah pemaparan konsentrasi Cr⁶⁺ untuk menentukan laju serapan (*uptake*) logam oleh komunitas perifiton. Pengambilan contoh biomassa perifiton dilakukan secara komposit.



Gambar 1. Model kanal artifisial untuk akumulasi perifiton

Analisis Logam

Untuk menentukan kandungan total kromium pada contoh biomassa perfiton digunakan Flame Atomic Absorption Spectrometer (FAAS) pada panjang gelombang 359,4 nm. Larutan standard dipersiapkan dengan mengencerkan 1000 mg/L stok solution.

Sorpsi Kinetik

Laju adsorpsi molekul pada permukaan merupakan parameter esensial untuk menentukan variabel waktu pada sistem dengan kondisi proses yang bervariasi. Gambaran laju sorpsi dan mekanisme reaksi Cr^{6+} pada biomassa perfiton menggunakan dua model kinetik. Model pertama berdasarkan asumsi bahwa sorpsi ion logam pada biomassa merupakan proses *reversible* dan mengikuti reaksi kinetik *pseudo first order*.

Kinetika *pseudo first order* berdasarkan persamaan Lagergren (1898), diekspresikan pada persamaan (1):

$$\frac{dq}{dt} = k_1(q_e - q_t)$$

Dimana q_t merupakan jumlah Cr yang diadsorpsi oleh biomassa perfiton pada waktu t (mg/g) dan k_1 adalah konstanta laju orde pertama (per jam). Persamaan (1) diturunkan menjadi persamaan berikut:

$$\log(q_e - q_t) = \log q_e - \frac{k_1}{2.303} t$$

dengan memplot $\log(q_e - q_t)$ terhadap t .

Kinetika *pseudo-second order kinetic rate model* dievaluasi dengan persamaan Ho *et. al.* (1995), yang diekspresikan pada persamaan (2):

$$\frac{dq}{dt} = k_2(q_e - q_t)^2$$

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2(q_e)^2} + \frac{1}{q_e} t$$

Dengan $h = k_2 q_e^2$ dapat digambarkan sebagai konstanta laju awal pada saat $t = \text{nol}$. q_t adalah jumlah ion metal yang disorpsi pada kondisi setimbang (mg/g); k_2 adalah konstanta laju *pseudo-second order kinetics* yang diaplikasikan (mg/g/jam), plot t/q_t terhadap t akan memberikan garis linier.

Berdasarkan Ho *et al.*, (1995), jika plot linier, kemudian proses sorpsinya dapat digambarkan sebagai chemisorpsi. Data eksperimen dapat dimasukkan pada persamaan (2) dan plot t/q_t terhadap t dan hubungan linier diamati. Nilai kapasitas sorpsi pada biomassa, q_e , konstanta laju *pseudo-second order kinetics*, k_2 , konstanta laju sorpsi, h , dan, r^2 , dievaluasi dari plot.

HASIL DAN PEMBAHASAN

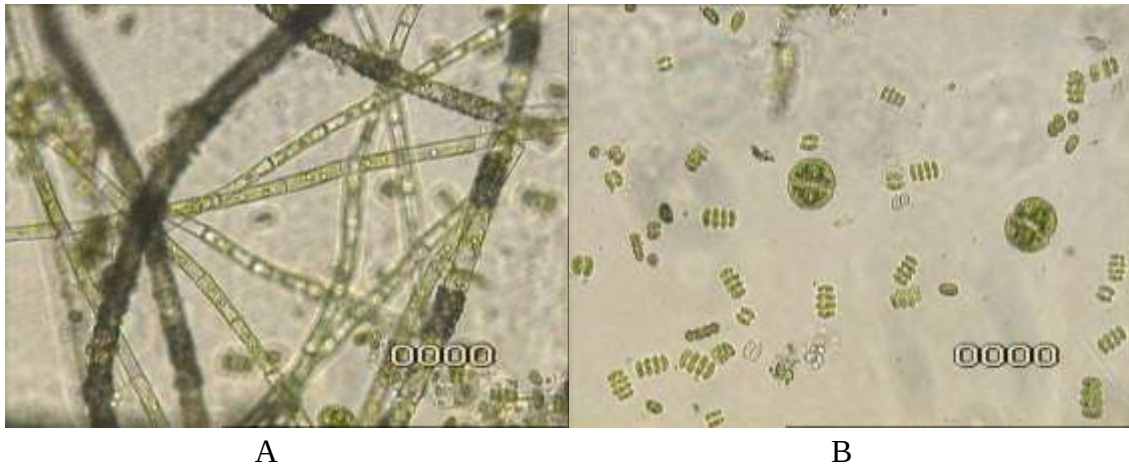
Koloni Perifiton.

Perifiton yang tumbuh pada sistem kanal didominasi oleh koloni dari kelompok Chlorophyta filamentous dan jenis uniseluler. Kelompok Chlorophyta filamentous yaitu dari jenis *Stegioclonium* sp dan jenis uniseluler terdiri atas *Cosmarium* sp dan *Scenedesmus* sp (Gambar 2).

Komposisi jenis perifiton ini sangat mempengaruhi kemampuan ikatan dengan logam kromium yang terdapat pada perairan. Biosorpsi ion logam berat pada berbagai mikroorganisme melalui dua tahap, yaitu tahap *uptake* awal yang cepat pada permukaan adsorpsi komponen dinding sel dan selanjutnya mengalami penurunan laju *uptake* pada saat transpor membran ion logam menuju sitoplasma sel. Pada permukaan sel mikroorganisme mengandung polisakarida, protein dan lipid yang memiliki kemampuan untuk berikatan dengan ion logam (Chris *et. al.*, 1981; Yan & Viraragham, 2003). Pada proses biosorpsi terdapat beberapa parameter yang menentukan laju biosorpsi, diantaranya properti struktural baik *sorbate* dan *biosorbent* (seperti komposisi protein dan karbohidrat serta kerapatan muatan permukaan, topografi dan luas permukaan).

Keberadaan biosorbent, konsentrasi awal ion metal dan keberadaan ion lainnya (yang mungkin berkompetisi pada lokasi biosorpsi aktif) juga mempengaruhi laju biosorpsi (Tuzun *et al.*, 2005).

Perbandingan analisis berdasarkan nilai R^2 menunjukkan bahwa model reaksi *pseudo second order* ($R^2 > 0.947$) memberikan data sorpsi kinetik Cr^{6+} yang lebih baik pada perifiton (Tabel 1). Proses-



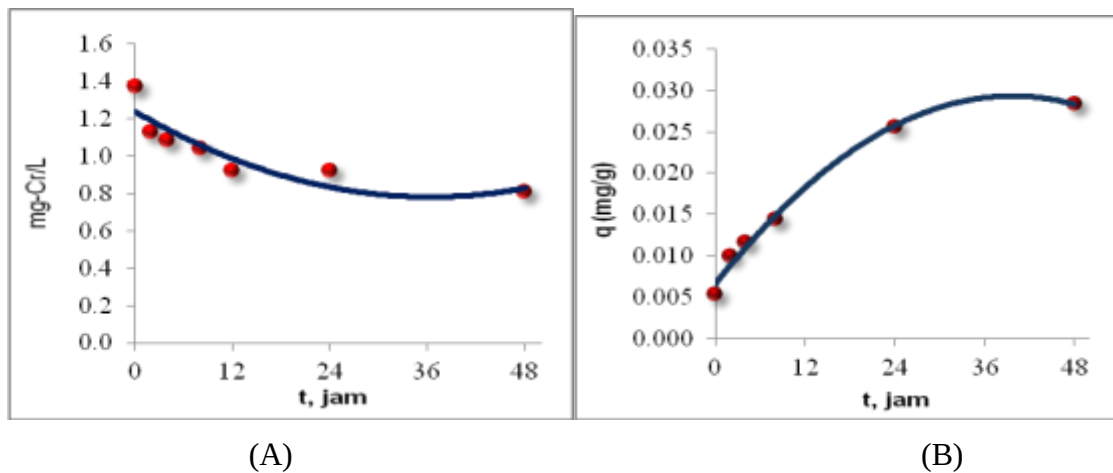
Gambar 2. Koloni perifiton pada sistem kanal; A. Jenis dominan dari kelompok Chlorophyta filamentous, B. kelompok Chlorophyta uniseluler.

Efek waktu kontak terhadap biosorpsi pada biomassa perifiton.

Efek waktu kontak terhadap kuantitas biosorpsi per gram biomassa (q_t) pada perlakuan menunjukkan pola penurunan konsentrasi Cr di air dan mengalami peningkatan pada biomassa perifiton (Gambar 3).

proses ini melibatkan pertukaran electron antara adsorbat dan material permukaan adsorber (Romero-Gonzalez *et al.*, 2005).

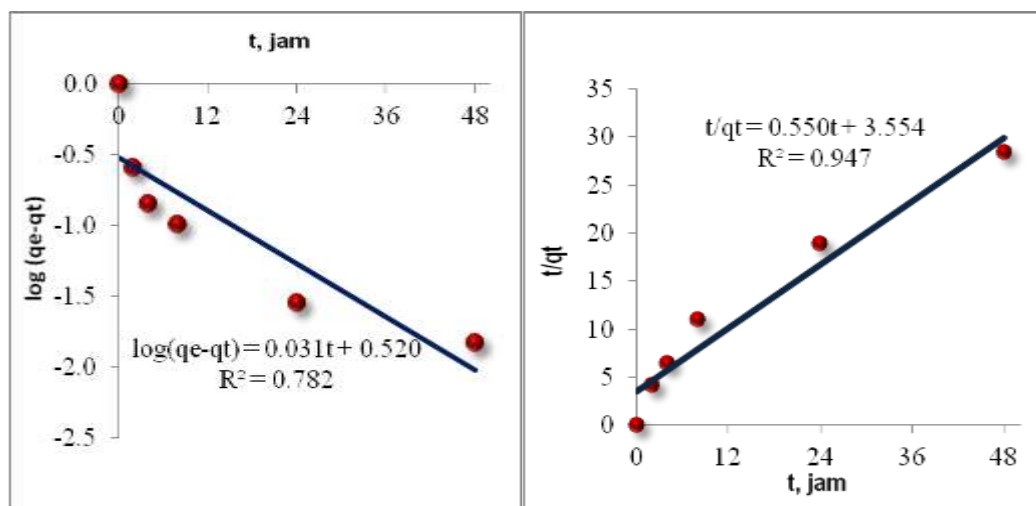
Biosorpsi Cr^{6+} oleh perifiton mengikuti model kinetik *pseudo second order*. Berdasarkan perhitungan model diperoleh nilai $q_e = 1,81 \text{ mg.gr}^{-1}$ dan laju biosorpsi perifiton sebesar $5,136 \text{ mgCr.gr}^{-1}\text{hari}^{-1}$.



Gambar 3. Efek waktu kontak terhadap biosorpsi, (A) penurunan konsentrasi Cr di air dan (B) kenaikan konsentrasi Cr pada biomassa perifiton

Tabel 1. Perbandingan analisis linier persamaan laju reaksi *pseudo first order* dan *pseudo second order*, konstanta dan koefisien korelasi (nilai R^2) pada sorpsi Cr^{6+} oleh perifiton.

Perlakuan	<i>Pseudo first order</i>			<i>Pseudo second order</i>		
	K_1 (jam ⁻¹)	q_e (mg/g)	R^2	q_e (mg/g)	h (mg/g/jam)	R^2
0,64 mg/L	-0.034	3.31	0.782	1.818	0.281	0,947



Gambar 4. Linier plot reaksi *pseudo first-order* dan *second-order* untuk sorpsi Cr^{6+} pada biomassa perifiton

Pengaruh Suhu dan pH terhadap Biosorpsi

Suhu pada perairan sistem kanal berkisar antara 26° – 35°C dan pH > 7. Suhu dan pH pada proses metabolik merupakan faktor vital di perairan untuk organisme stenoniontik. Mekanisme toksisitas logam berat meningkat pada suhu tinggi (Lloyd, 1965) dapat dijelaskan melalui peningkatan aktivitas respirasi. Perairan yang mengandung logam berat juga dapat meningkatkan aktivitas respirasi. Hal ini turut mempengaruhi proses absorpsi dan pelepasan logam. Suhu dan oksigen terlarut berdampak terhadap toksisitas logam berat sehingga dapat menyebabkan perubahan fisiologis pada organisme. Dua parameter tersebut mempengaruhi proses-proses kimia pada perairan dan sedimen (reaksi redoks) serta mempengaruhi avabilitas logam berat (Reinhard & Forstner, 1976). Reaksi kompleks ion sangat bergantung pada pH,

sorpsi ion Cr(VI) diperkirakan menurun pada saat terjadi peningkatan pH (Romero-Gonzalez *et al.*, 2005).

Perifiton yang digunakan sebagai bio-indikator suatu perairan yang terkontaminasi logam, memungkinkan bahwa konsentrasi logam pada perairan tersebut lebih rendah dibandingkan konsentrasi logam tersebut pada perifiton. Perifiton dapat menyimpan logam berat pada periode waktu yang panjang meskipun kandungan logam berat pada perairan tersebut rendah.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan dapat diambil beberapa kesimpulan bahwa, efek waktu kontak terhadap kuantitas biosorpsi per gram biomassa (q_t) pada perlakuan menunjukkan pola penurunan terhadap konsentrasi di media air dan

mengalami peningkatan pada biomassa perifiton. Biosorpsi Cr^{6+} oleh perifiton mengikuti model kinetik *pseudo second order*. Berdasarkan perhitungan model diperoleh nilai $q_e = 1,81 \text{ mg/g}$ dan laju biosorpsi perifiton sebesar $5,136 \text{ mg Cr/g/hari}$. Berdasarkan nilai R^2 menunjukkan bahwa model reaksi *pseudo second order* ($R^2 > 0,947$) memberikan data sorpsi kinetik Cr^{6+} yang lebih baik pada perifiton.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didukung oleh Program Kompetitif LIPI Tahun Anggaran 2011. Ucapan terimakasih kepada Dian Oktaviyani, A.Md, Fajar Sumi Lestari, A.Md., yang telah membantu kelancaran pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Bateson, M.M., & Ward, D.M., 1988, Photoexcretion and Fate of Glycolate in a Hot Spring Cyanobacterial mat, *Appl Environ Microbiol*, 54:1738–1743
- Bender, J., & Phillips, P., 2004, Microbial Mats for Multiple Applications in Aquaculture and Bioremediation, *Bioresour Technol* 94:229–238
- Blanchard, G., Maunaye, M., & Martin, G., 1984, Removal of Heavy Metals from Waters by Means of Natural Zeolites. *Water Res* 18:1501–1507.
- Blanco, A., Sanz, B., Llama, M.J., & Serra, J.L., 1999, Biosorption of Heavy Metals to Immobilised Phormidium Laminosum Biomass. *J. Biotechnol* 69:227–240
- Chaillan, F., Gugger, M., Saliot, A., Coute A., & Oudot, J., 2006, Role of Cyanobacteria in the Biodegradation of Crude Oil by a Tropical Cyanobacterial mat. *Chemosphere* 62:1574–1582
- Cohen, Y., 2002, Bioremediation of Oil by Marine Microbial Mats. *Int Microbiol* 5:189–193
- Craig, R.J., Adey, W.H., Jenson, K.R., St. John, M.S., Green, F.B., & Oswald, J., 1996, Phosphorus Removal from Wastewater using an Algal Turf Scrubber. *Water Sci Technol* 33:191–198
- Febrianto, J., Kosasih, A.N., Sunarso, J., Ju, Y.H., Indraswati, N., & Ismadji, S., 2009, Equilibrium and Kinetic Studies in Adsorption of Heavy Metals using Biosorbent: a Summary of Recent Studies. *J. Hazard. Mater.* 162(2–3), 616–645
- Flemming, H.C., 1993, Biofilms and Environmental-Protection. *Water Sci Technol* 27:1–10
- Forstner, U., & Wittmann, G.T.W., 1981. Metal Pollution in Aquatic Environment. Germany: Springer – Verlag.
- Guerrero, R., Piqueras, M., & Berlanga, M., 2002, Microbial Mats and the Search for Minimal Ecosystems. *Int Microbiol* 5:177–188
- Gupta, V.K., & Suhas, 2009, Application of Low Cost Adsorbents for Dye Removal a Review. *J. Environ. Manag.* 90(8), 2313–2342
- Ho, Y.S., 2006, Second-order Kinetic Model for the Sorption of Cadmium Onto Tree Fern: a Comparison of Linear and Non-linear Methods. *Water Res.* 40(1), 119–125
- Ho, Y.S., & McKay, G., 1999, Pseudo-second Order Model for Sorption Processes. *Process Biochem.* 34(5), 451–465
- Jiang, H., Xu, Y., Zhang, J., Zhang, L., & Han, R., 2007, Pseudo Second Order Kinetic Model for Biosorption of Lead Onto Waste Yeast: A Comparison of Linier and Nonlinier Methods and Error Analysis. *Life Science Journal*: 4 (4), 42 – 45.

- Phillips, P., Russell, A., Bender, J., & Muñoz, R., 1994, Management Plan for Utilization of a Floating Microbial Mat with its Associated Detrital Gelatinous Layer as a Complete Tilapia *Oreochromis Niloticus* Feed System. *Bioresour Technol* 47:239–245
- Plazinski, W., J. Dziuba, & W. Rudzinski 2013, Modeling of Sorption Kinetics: the Pseudo-second Order Equation and the Sorbate Intraparticle Diffusivity. *Adsorption* 19:1055–1064
- Prince, R.C., & Kheshgi, H.S., 2005, The Photobiological Production of Hydrogen: Potential Efficiency and Effectiveness as a Renewable Fuel. *Crit Rev Microbiol* 31:19–31
- Roeselers, G., Norris, T., Castenholz, R., Rysgaard, S., Glud, R., Kuhl, M., & Muyzer, G., 2007, Diversity of Phototrophic Bacteria in Microbial Mats from Arctic Hot Springs (Greenland). *Environ Microbiol* 9:26–38
- Romero-Gonzalez, J., Gardea-Torresdey, J.L., Peralta-Videa, J.R., & Rodriguez, E., 2005. Determination of Equilibrium and Kinetic Parameter of the Adsorption of Cr(III) and Cr(IV) from Aqueous Solution to *Agave Lechuguilla* Biomass. *Bioinorganic Chemistry and Application Journal* :3(1-2), 55 – 68.
- Schumacher, G., & Sekoulov, I., 2002, Polishing of Secondary Effluent by an Algal Biofilm Process. *Water Sci Technol* 46:83–90
- Shamik Chowdhury, & Papita Saha, 2010, Biophysics Pseudo-second Order Kinetic Model for Sorption of Malachite Green Onto Sea Shell: Comparison of Linear and Non-linear methods. *The IIOAB Journal* 1(3): 1-7
- Stal, L.J., Van Gernerden, H., & Krumbein, W.E., 1985, Structure and Development of a Benthic Marine Microbial Mat. *FEMS Microbiol Ecol* 31:111–125
- Tsygankov, A.A., Borodin, V.B., Rao, K.K., & Hall, D.O., 1999, H(2) Photoproduction by Batch Culture of *Anabaena Variabilis* ATCC 234 *J Appl Phycol* 20:227–235
- Tuzun I., Bayramoglu, G., Yalcin, E., Basaran, G., Celik, G., & Arica, Y. 2005, Equilibrium and Kinetic Studies on Bisorption of Hg(II), Cd(II) and Pb(II) ions onto microalgae *Chlamydomonas reinhardtii*. *Journal of Environmental Management* 77, 85 – 92.
- van Dam, A.A., Beveridge, M.C.M., Azim, M.E., & Verdegem, M.C.J., 2002, The Potential of Fish Production Based on Periphyton. *Rev Fish Biol Fish* 12:1–31
- Vymazal, J., Sladerek, V., & Stach, J., 2001, Biota Participating in Wastewater Treatment in a Horizontal Flow Constructed Wetland. *Water Sci Technol* 44:211–214
- Wankasi, D., Horsfall Jnr, M., & Spiff, A.I., 2006, Sorption Kinetics of Pb²⁺ and Cu²⁺ ion from Aqueous Solution by Nipah plam (*Nypa fruticans* Wurmb) shoot biomass. *Electronic Journal of Biotechnology* 9 (5):
- Ward, D.M., Ferris, M.J., Nold, S.C., & Bateson, M.M., 1998, A Natural View of Microbial Biodiversity Within Hot Spring Cyanobacterial Mat Communities. *Microbiol Mol Biol Rev* 62:1353–1370
- Wimpenny, J., Manz, W., & Szewzyk, U., 2000, Heterogeneity in Biofilms. *FEMS Microbiol Rev* 24:661–671