



Crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* MBL-03 y degradación de tres concentraciones de Dodecibenceno Sulfonato de Sodio

Pseudomonas aeruginosa MBL-03 growth and degradation of three concentrations of Sodium Dodecylbenzene Sulfonate

Erika Alayo Aguirre¹, Katherine Chacón Rodríguez¹, Nolia Ferrel
Caballero¹, Obed Lujan Meza¹, Santiago Campos Herrera¹, Wilmer
Iparraguirre Tandaypan¹ y Juan Guevara González²

¹Escuela AP de Microbiología y Parasitología. ²Departamento de Microbiología y Parasitología.
Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú.

RESUMEN

La finalidad del presente trabajo es determinar el efecto de las concentraciones de 10, 50 y 100 ppm de Dodecibenceno sulfonato de sodio (DBS) en el crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* MBL-03 y en la degradación del compuesto a los 15 días. Se utilizó un cultivo puro de *P. aeruginosa* MBL-03, reactivado en Caldo nutritivo a 37 °C por 18 horas. Se preparó medio mínimo de sales que contenía: K₂HPO₄ 1%, MgSO₄·7H₂O 2%, KCl 0.5%, FeSO₄·7H₂O, asparragina 0.25% y agua destilada; y una solución patrón de DBS a 10000 ppm. Se inoculó 1.69x10⁸ UFC/mL a tres biorreactores (que contenían 10, 50, 100 ppm de DBS); y a un biorreactor control sin DBS. La evaluación del crecimiento se realizó mediante el método de recuento en placa y la degradación del DBS por el Método de Azul de Metileno. Los resultados a los 15 días, con 5% de significancia, indican que no existe diferencia significativa en el crecimiento bacteriano; sin embargo, en la degradación de DBS existe diferencia significativa entre las tres concentraciones evaluadas.

Las concentraciones de 10, 50 y 100 ppm de DBS, no presentan efecto inhibitorio en el crecimiento de *P. aeruginosa* MBL-03; sin embargo, estas concentraciones sí influyen en la degradación del DBS.

Palabras clave: *Pseudomonas aeruginosa*, degradación, Dodecibenceno Sulfonato de Sodio

ABSTRACT

Effect of concentrations of 10, 50 and 100 ppm of sodium dodecylbenzene sulfonate (DBS) in the growth of *Pseudomonas aeruginosa* MBL-03 and compound degradation at 15 days was determined. It was used a pure culture of *P. aeruginosa* MBL-03, reactivated in nutrient broth at 37 °C for 18 hours. It was prepared a minimal salts medium contained: K₂HPO₄ 1% 2% MgSO₄·7H₂O, 0.5% KCl, FeSO₄·7H₂O, 0.25% asparagine and distilled water, and a standard solution of DBS to 10000 ppm. Inoculated 1.69x10⁸ CFU/mL to three bioreactors (containing 10, 50, 100 ppm DBS) and even bioreactor control without DBS. The growth assessment was performed by plate count method and degradation of DBS by Methylene Blue Method. The results at 15 days, with 5% significance, indicate no significant difference in bacterial growth, however, in the degradation of DBS significant difference between the three concentrations tested. Concentrations of 10, 50 and 100 ppm of DBS, have no inhibitory effect on the growth of *P. aeruginosa* MBL-03, yet whether these concentrations influence DBS degradation.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, degradation, sodium dodecylbenzene sulfonate



INTRODUCCIÓN

Los detergentes son derivados químicos producidos en grandes cantidades en todo el mundo y su consumo va en aumento cada año debido a la creciente población^{1,2}. Algunos de estos detergentes presentaban como compuesto principal al alquilbenceno sulfonato de cadena ramificada que son considerados como no biodegradables y capaces de causar problemas ambientales. A fin de evitar los problemas causados por estas moléculas recalcitrantes, se estableció el uso de los alquilbenceno sulfonato de sodio de cadena lineal puesto que, son más fácilmente biodegradables^{3,4,5}.

El aumento demográfico, la industrialización, urbanización y el turismo en las zonas de la costa, causan un deterioro progresivo del ambiente marino. Son las aguas residuales los que constituyen la principal fuente de contaminación del medio marino y costero⁶.

Sibila realizó la evaluación de la biodegradabilidad y ecotoxicidad de tensioactivos en el medio acuático marino, este consistió en la biodegradación de tensioactivos aniónicos, catiónicos y no iónicos; y la toxicidad sobre los organismos acuáticos⁶. Asimismo, Ivankovic et al² realizaron la recolección de información de los tensioactivos aniónicos que se encuentran en: efluentes de aguas residuales, aguas superficiales y sedimento, así como también la importancia de la toxicidad generada sobre bacterias, algas, invertebrados y vertebrados. Oya et al⁷ muestran que la toxicidad acuática es relativamente alta en agua dulce o agua de mar a causa de LAS.

Los tensioactivos aniónicos se pueden encontrar en las aguas residuales en concentraciones importantes, la mayoría de ellas son conocidos como degradables en condiciones aeróbicas. Sin embargo, los tensioactivos aniónicos también son biodegradables en condiciones anaeróbicas, realizado por bacterias que se encuentran en sedimentos y bajo la superficie del suelo⁸.

En el medio ambiente la degradación de las mezclas de alquilbenceno sulfonato de sodio de cadena lineal (LAS) es en un 50 %, siendo mejor en condiciones de aerobiosis, que en ambientes anóxicos o con bajo contenido de oxígeno disuelto que produce una degradación parcial y selectiva de éstas. [4] Entre otros factores que se tuvieron en cuenta para la degradación de LAS fueron los surfactantes catiónicos, sales o contaminantes orgánicos y pH⁹.

Se realizaron estudios de la degradación de la parte del grupo sulfonato presente en la molécula de LAS, donde fue sometido a ataque microbiano por cultivos puros y mixtos que tuvieron como fuente disponible al tensioactivo y a la glucosa, resultando un mayor metabolismo del sulfonato teniendo como única fuente de carbono al principio activo¹⁰.

Sigoillot y Nguyen³ realizaron un trabajo donde aislaron bacterias del agua de mar costera de Francia contaminados con residuos urbanos. Algunos de estas bacterias no necesitaban sodio para su crecimiento, estos pertenecían a los géneros *Alcaligenes* y *Pseudomonas*. En este trabajo se realizó la completa biodegradación de un surfactante en donde tuvieron en cuenta los siguientes pasos: la oxidación terminal de la cadena alquilo, desulfuración y la escisión del anillo aromático. Sólo pocas cepas son capaces de llevar a cabo los dos primeros pasos. [1][3] Según Ojo y Oso, se produce la biodegradación primaria con la oxidación del grupo metilo externo (β -oxidación), seguido por el acortamiento de la cadena alquil por la vía oxidativa escindiendo las unidades de carbono 2 (ω -oxidación).

Los estudios realizados por Fortunato et al¹² demuestran la capacidad degradativa de poblaciones microbianas mixtas que fueron aisladas de ambientes contaminados por compuestos tensioactivos aniónicos y observándose una mayor eficiencia en el proceso de degradación. Estas poblaciones mixtas del Río de la Plata, responsables de la degradación de tensioactivos son *Pseudomonas* sp., *Pseudomonas putida* y microorganismos provenientes de lodos que también incluyen a *Pseudomonas* sp. y *Aeromonas*.

Según Peressutti et al¹³ un consorcio constituido por cuatro bacterias como *Aeromonas caviae* (dos variedades), *Pseudomonas alcaliphila* y *Vibrio* sp. producen una mayor biomasa a partir de LAS y CO₂ liberado (mineralización) que en cultivos individuales. Por otro lado se realizó una completa degradación de LAS a 10 mgL⁻¹ y los niveles de LAS de 50 y 100 mgL⁻¹ conducen a una pronunciada disminución en el grado de biodegradación e inhibición del crecimiento del cultivo.

De nueve bacterias aisladas por Ogbulie et al¹⁴ del río Otamiri en Nigeria, solamente *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Actinomyces*, *Corynebacterium* y *Staphylococcus* fueron las que pudieron sobrevivir en el agua del río con detergente. La evaluación específica de utilización de detergentes reveló que pueden utilizar los detergentes de forma sola o combinada; *Pseudomonas* presenta mayor capacidad que



Staphylococcus para utilizar estos detergentes. Por ello, la importancia del género *Pseudomonas* en la participación dentro de un consorcio para la degradación de LAS.

La mayoría de las relaciones entre comunidades bacterianas, favorecen la resistencia a diversas condiciones ambientales y son más eficientes en la transformación de LAS que cualquier población bacteriana. [15] En los consorcios, algunos de los miembros atacan la cadena lateral, mientras que otros degradan la fracción aromática. *P. aeruginosa* es capaz de crecer mediante el uso de dodecibenceno sulfonato de cadena ramificada o alcohol citronfenol terpénico o LAS como única fuente de carbono^{16,17}.

La degradación biológica tiene un gran potencial en el presente, teniendo en cuenta que las bacterias capaces de transformar estos compuestos deben ser elegidas con cuidado¹⁸. Las bacterias degradadoras de detergentes caracterizadas e identificadas incluyen a *P. aeruginosa*³. En los estudios realizados por Horvath y Koft¹⁹, *Pseudomonas* sp. muestra una relación directa entre la concentración de LAS suministrados y los rendimientos de la célula; la utilización de LAS se ha mejorado en gran medida por la presencia de fenol. Esta mejora sugiere co-metabolismo y que las concentraciones limitadas de productos fenólicos derivados de LAS deben ser acumulados para obtener el metabolismo activo de su molécula. Asimismo, una cepa bacteriana aislada de lodos activados, utiliza el LAS como única fuente de carbono [17] y además en algunas especies el surfactante inhibe la degradación, sin inhibir el crecimiento²⁰.

En la revisión bibliográfica, no se ha encontrado trabajos publicados sobre bacterias que degraden detergentes u otros surfactantes, implicados en un tratamiento de efluentes o de aguas superficiales en el Perú. Por ello, es importante realizar estudios que permitan conocer las concentraciones apropiadas de detergentes que las bacterias puedan degradar y de esta manera contribuir a la biorremediación de aguas en las que los mayores contaminantes son dichas sustancias químicas, provenientes de fuentes industriales, domésticas o por arrastre de ellas, que se encuentran en el suelo, por las lluvias hacia los ríos y mares.

Por tal razón, el presente trabajo tiene por finalidad determinar el efecto de tres concentraciones de Dodecibenceno sulfonato de sodio, en el crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* MBL-03 y en la degradación del componente a los 15 días.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico

- Dodecibenceno sulfonato de sodio presente en los detergentes.
- Cultivo de *Pseudomonas aeruginosa* MBL-03, proporcionada por el Laboratorio de Microbiología Ambiental de la Universidad Nacional de Trujillo.
- 11.2 mL de solución patrón de Dodecibenceno sulfonato de sodio a 10000 ppm.

Diseño y armado de Biorreactores

Se fabricó 4 biorreactores con frascos de vidrio de 1L de capacidad provistos de 2 deflectores de 1 cm x 9 cm, con motores de 9 V que fueron regulados a 1.5 V para su funcionamiento y una hélice para la agitación. Los biorreactores fueron conectados a un sistema de aireación previamente purificado.

Todos los biorreactores fueron sometidos a desinfección química con hipoclorito de sodio al 5%, y luego esterilizados en cámara UV durante una hora.

Preparación del Medio Mínimo de Sales

El medio mínimo de sales tuvo los siguientes componentes: 6.3 g de NH_4Cl , 2.1 g de K_2HPO_4 1%, 0.525 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2%, 0.525 g de KCl 0.5%, 0.0042 g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y 0.42 g de Asparragina 0.25%. Disuelto en 2.1 litros de agua destilada. Y a pH 7 ± 1 .

Preparación de la solución patrón de DBS

Un litro de "Deterfas" contiene 21.92 % de DBS que es equivalente a 219200 ppm. A partir de este equivalente se extrajo una alícuota de 10 mL y se agregó en un volumen de 209,2 mL de agua destilada estéril correspondiendo a una concentración de 10000 ppm.

Reactivación del cultivo y evaluación de su pureza.

Las bacterias de un cultivo se sembraron en 5 mL de caldo nutritivo, e incubados a 37 °C por 18 horas. El cultivo reactivado fue sembrado por superficie en agar nutritivo e incubado a 37°C por 24



horas. Se observaron las características macromorfológicas de las colonias y las características micromorfológicas mediante coloración Gram. Luego se sembró en agar glutamato y en 10 mL caldo glutamato para observar la producción de pioverdina y piocianina respectivamente.

Preparación del inóculo

Se preparó una suspensión en 4 mL de agua destilada estéril con el cultivo reactivado y se comparó con el tubo número tres del Nefelómetro de Mac Farland (9×10^8 UFC/mL). Se corroboró mediante recuento en placa por siembra en superficie, en agar nutritivo.

Inoculación en los sistemas

Tres biorreactores contenían volúmenes de 0.7 mL, 3.5 mL y 7 mL de la solución patrón y fueron aforados hasta 700 mL con medio mínimo de sales, obteniendo concentraciones de 10, 50 y 100 ppm de DBS, respectivamente. El biorreactor control contenía 699 mL de medio mínimo de sales. Se inoculó 1 mL de la suspensión bacteriana a cada biorreactor; y se adicionó 2 mL de antiespumante a cada uno de ellos.

Los cuatro biorreactores fueron incubados a $30^\circ \text{C} \pm 1$ a pH 7 en condiciones de agitación y aireación durante 15 días.

Evaluación del crecimiento

Se realizó diluciones al décimo de cada contenido de los biorreactores y luego se sembró por superficie para el recuento en placa, por duplicado; utilizando para ello las dos últimas diluciones.

Evaluación de la degradación

Se realizó mediante el Método de Azul de Metileno de acuerdo a lo establecido por Standard Methods for the Examination of water and wastewater, cuyo límite de detección es de 10 μg calculado como alquilbenceno sulfonato lineal.^[21] Evaluado a los 15 días.

Análisis Estadístico

Los datos encontrados se analizaron por la prueba estadística ANAVA, con el propósito de determinar si existe diferencia significativa entre los valores de los parámetros estudiados.

RESULTADOS

El efecto de las concentraciones de 10, 50 y 100 ppm de dodecibenceno sulfonato de sodio en el crecimiento de *P. aeruginosa* MBL-03 se muestra en la Fig. 1. Los sistemas de ensayo fueron incubados a $30^\circ\text{C} \pm 1$, pH 7.0; durante 15 días. La Fig. 2 muestra las concentraciones residuales de DBS en los tres sistemas evaluados.

DISCUSIÓN

En el presente estudio se utilizó un cultivo puro de *P. aeruginosa* MBL-03 previamente aislado de la bocanoma del Río Moche sección La Huaca-La Libertad, el cual se cultivó en Medio Mínimo de Sales, DBS como fuente de carbono y antiespumante; e incubados a temperatura de $30 \pm 1^\circ\text{C}$, pH 7 ± 0.5 ; para evaluar la degradación del DBS y el crecimiento de la bacteria. Esta temperatura y el pH utilizados se eligieron en base a los trabajos realizados por Ambily y Jisha^[24] y Bateman^[23], ya que ellos demostraron que estos parámetros son óptimos para el crecimiento y degradación de *P. aeruginosa*.

El resultado del crecimiento de *P. aeruginosa* MBL-03 en las 3 concentraciones de DBS a los 15 días, demuestra que la bacteria utiliza a este compuesto como fuente de carbono, confirmando así lo mencionado por Horvath¹⁹, Jiménez et al²² y Ambily y Jisha²⁴. Este crecimiento bacteriano a la concentración de 50 ppm de DBS es ligeramente superior, en comparación de 10 y 100 ppm evaluado a los 15 días; pero aplicando el análisis de varianza con un 5% de significancia, indica que esta diferencia en el crecimiento no es significativa, esto indica que hasta 100 ppm puede crecer sin dificultad. Según Peressutti¹³ y Goodnow²⁰, la concentración de 10 ppm es menos tóxica y por lo tanto más asimilable por la bacteria, mientras que a las concentraciones de 50 y 100 ppm son tóxicas e impiden el crecimiento bacteriano. Sin embargo en el presente trabajo se encontró que las concentraciones utilizadas no tiene efecto negativo en el crecimiento, concordando con el trabajo realizado por Ambily y Jisha^[24] que demostraron el crecimiento de *P. aeruginosa* en un rango de concentraciones de 1500-10000 ppm de DBS.

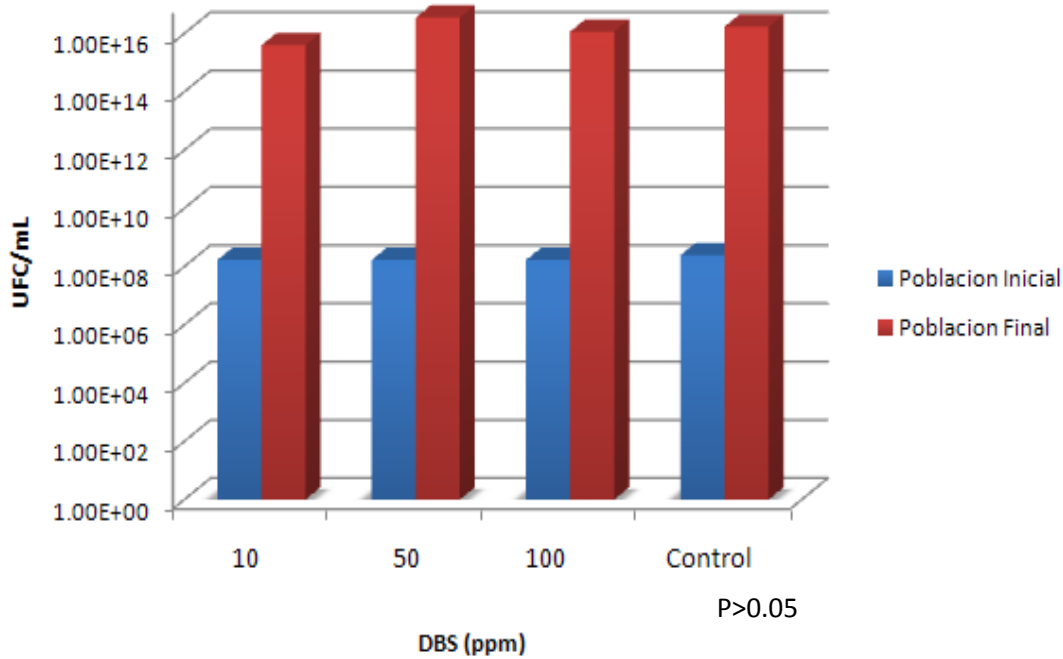


Fig. 1. Crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* MBL-03 en tres concentraciones de dodecibenceno sulfonato de sodio durante 15 días.

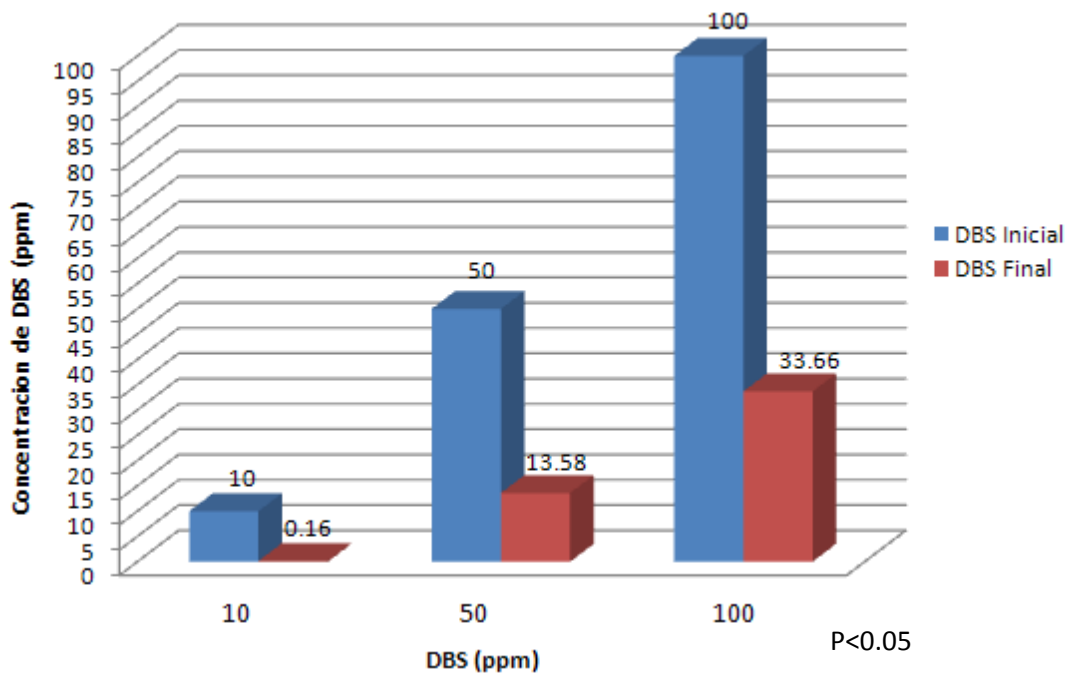


Fig. 2 Degradación de tres concentraciones de dodecibenceno sulfonato de sodio por *Pseudomonas aeruginosa* MBL-03 durante 15 días.

El metabolismo de este compuesto lo utiliza para el crecimiento y acumulación de biomasa confirmando lo dicho por Merrettig-Bruns⁸ y Oso y Ojo³. Este crecimiento también está influenciado por los alcoholes grasos presentes en el antiespumante, estos son la única fuente de carbono disponible; y la urea presente en el “Deterfas” que es una fuente de nitrógeno adicional, esto se comprueba por el crecimiento bacteriano en el biorreactor control.



Para la evaluación de la degradación del DBS, se utilizó el Método de Azul de Metileno, este método según Oso y Ojo³, y American Public Health Association Estándar Methods for the Examination of Water and Wastewater²¹, es relativamente simple y preciso, comprende tres extracciones sucesivas en cloroformo para obtener DBS residual y se realiza la medición de la intensidad del color azul del compuesto en un espectrofotómetro a 652nm de longitud de onda y se cuantifica a través de una curva de calibración detectando la degradabilidad primaria de este compuesto.

En la evaluación de la degradación, a la concentración de 10 ppm de DBS ocurre la mayor degradación, éstos resultados coinciden con los obtenidos por Peressutti^[13]. Sin embargo, en las concentraciones de 50 ppm y 100 ppm existe una disminución de la degradación de DBS, no concordando con Peressutti^[13] y Goodnow^[20], ya que mencionan que a estas concentraciones no existe degradación, porque este compuesto altera la estructura de la membrana celular e induce toxicidad en parámetros fisiológicos como: la actividad metabólica y la tasa de crecimiento específico; no obstante, esto no ocurre con el cultivo de *P. aeruginosa* MBL-03, porque tendría genes de resistencia que le confieren la capacidad de soportar estas concentraciones.

El análisis de varianza con un 5% de significancia, indica que hay diferencia significativa en la degradación de DBS, esto demuestra que las concentraciones sí influyen en la degradación.

Según Ogbulie¹⁴, la capacidad degradativa que presenta *P. aeruginosa* se debe a la presencia de plásmidos que naturalmente no están presentes en todos los microorganismos. Por lo tanto la capacidad de utilizar xenobióticos depende de la posesión de las enzimas necesarias para tal degradación.

Bateman²³ explica que la degradación primaria y secundaria es iniciada por enzimas alquilulfatasas, seguida de la oxidación con liberación de alcoholes primarios y secundarios realizada por una enzima alcohol deshidrogenasa. Merrettig-Brunns⁸, Sigoillot¹¹, Peressutti¹³, Jiménez et al²², mencionan que la vía oxidativa comienza con la ω oxidación de la cadena alquilo (oxidación terminal de la cadena), y es seguida por sucesivas β oxidaciones. Esto conduce a la pérdida de sus propiedades surfactantes.

Para aumentar la capacidad degradativa de *P. aeruginosa* MTCC 10311, Ambily y Jisha^[24] utilizaron caseína y triptona como fuente de nitrógeno adicional obteniendo una mejora en la degradación de DBS. En el trabajo realizado la fuente nitrogenada y carbonada es la urea del "Deterfas" y el ácido graso del antiespumante, respectivamente. Además Ambily y Jisha²⁴ indican que si se incrementa las fuentes de carbono y nitrógeno, disminuye el tiempo de incubación necesaria para la degradación del compuesto.

P. aeruginosa realiza una degradación primaria del DBS, escindiendo a partir del carbono terminal; por lo tanto para una completa mineralización del DBS, Oso y Ojo³, Visoottiviseth, Ekachote y Upatham¹, Fortunato et al¹², utilizan poblaciones microbianas mixtas, en especial aquellas aisladas de ambientes contaminados con este compuesto incluyendo géneros como *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Alcaligenes*, *Vibrio*, *Aspergillus*, *Verticillium*, entre otros para lograr una completa mineralización del DBS.

CONCLUSIONES

- Las concentraciones de 10, 50 y 100 ppm de DBS, no presentan efecto inhibitorio en el crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* MBL-03, sin embargo estas concentraciones sí influyen en la degradación del DBS.
- No se encontró diferencia significativa en el crecimiento de *P. aeruginosa* a las tres concentraciones del DBS; sin embargo, sí presentaron diferencia significativa entre los valores de degradación del DBS.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Visoottiviseth P, Ekachote S, Upatham ES. Microbial Degradation of Anionic Detergent In Natural Water. J. Sci. Soc. 1988; 14: 209-217.
2. Ivanković T, Hrenović J. Surfactants in the Environment. Arh Hig Rada Toksikol. 2010; 61:95-110.
3. Ojo OA, Oso BA. Biodegradation of synthetic detergents in wastewater. AJB. 2009; 8 (6): 1090-1109.
4. Visitación Figueroa L. Degradación Fotocatalítica de detergentes en efluentes domésticos. [Tesis Para Obtener Grado De Magister]. Lima: Pontificia Universidad Católica Del Perú; 2004.
5. Sweeney WA, Anderson RG. Biodegradability of Alkylbenzene Sulfonates. JAOCS. 1989; 66 (12): 1844-1848.
6. Sibila Lores MA. Evaluación de la biodegradabilidad y ecotoxicidad de tensioactivos en el medio acuático y marino. [Tesis doctoral]. Barcelona: Universidad de Cádiz; 2008.
7. Oya M, Takemoto Y, Ishikawa Y. Large Decrease in Acute Aquatic Toxicity of Linear Alkylbenzene Sulfonate in Hard Water and Seawater by Adding Adsorbent. J. Oleo Sci. 2008; 57 (1): 15-21.
8. Merrettig-Bruns U, Jelen E. Anaerobic Biodegradation of Detergent Surfactants. Applied Microbiology. 2009; 2: 181-206; doi: 10.3390/ma 2010181.
9. Sánchez Peinado M. Efectos biológicos de los sulfonatos de alquilbenzeno lineales (LAS) en suelo agrícola: Biotransformación y estudios de biodiversidad. [Tesis Para Obtener Grado de Doctor]. Granada: Universidad de Granada; 2007.
10. Benarde MA, Koft BW, Horvath R, Shaulis A. Microbial Degradation of the Sulfonate of Dodecyl Benzene Sulfonate. Appl. Microbiol. 1965; 13:103-105.
11. Sigoillot JC, Nguyen MH. Complete Oxidation of Linear Alkylbenzene Sulfonate by Bacterial Communities Selected from Coastal Seawater. Appl Environ Microbiol. 1992; 58(4): 1308-1312.
12. Fortunato MS, Rossi S, Korol S, Aquino MD. Eficiencia de la degradación Microbiana de Tensioactivos: Algunos Factores Condicionales. Acta Farm. Bonaerense. 1998; 17 (2): 105-111
13. Peressutti SR, Olivera NL, Babay PA, Costagliola M, Álvarez HM. Degradation of linear alkylbenzenesulfonate by a bacterial consortium isolated from the aquatic environment of Argentina. Journal of Applied Microbiology. 2008; 105: 476-484.
14. Ogbulie TE, Ogbulie JN, Umezuruike I. Biodegradation Of Detergents by Aquatic Bacterial Flora from Otamiri River. Nigeria Afr J Biotechnol. 2008; 7(6): 824-830.
15. Hrsak D, Begonja A. Possible Interactions within a Methanotrophic-Heterotrophic Groundwater Community Able To Transform Linear Alkylbenzene sulfonates. Appl. Environ. Microbiol. 2000; 66(10): 4433-4439.
16. Campos Garcia J, Esteve A, Vazquez Duhalt R, Ramos JL, A, Soberon Chavez G. The Dodecylbenzene Sulfonate Degradation Pathway Of *Pseudomonas aeruginosa* W51d Involves A Novel Route For Degradation Of The Surfactant Lateral Alkyl Chain. Appl. Environ. Microbiol. 1994; 60 (7): 3730-3734.
17. Farzaneh H, Fereidon M, Noor A, Naser G. Biodegradation of dodecylbenzene sulfonate sodium by *Stenotrophomonas maltophilia* Biofilm. Afr J Biotechnol. 2010; 9(1): 055-062.
18. Angelidaki I, Mogensen AS, Ahring BK. Degradation of organic contaminants found in organic waste. Biodegradation. 2000; 11: 377-383.
19. Horvath RS, Koft BW. Degradation of Alkyl Benzene Sulfonate By *Pseudomonas* Species. Appl. Microbiol. 1972; 23 (2): 407-414.
20. Goodnow RA, Harrison AP. Bacterial Degradation of Detergent Compounds. Appl. Microbiol. 1972; 24(4): 555-560.
21. American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th edition, 1999. 5540 C. Anionic Surfactants as MBAS, pp 456 - 462.
22. Jimenez L, Breen A, Thomas N, Ferderle TW, Saylor GS. Mineralization of linear Alkylbenzene sulfonate by a four-member aerobic bacterial consortium. Appl. Environ. Microbiol. 1991; 57 (5): 1566-1569.
23. Bateman T, Dodgson KS, White GF. Primary Alkylsulfatase activities of the detergent-degrading bacterium *Pseudomonas* C12B. Biochem. J. 1986; 236: 401-408.
24. Ambily S, Jisha MS. Biodegradation of anionic surfactant, sodium dodecyl sulphate by *Pseudomonas aeruginosa* MTCC 10311. J. Environ. Biol. 2012; 33: 717-720.