

도시폐수처리장의 활성슬러지에서 분리한 Aniline 분해세균 *Delftia* sp. JK-2의 특성연구

조윤석 · 강형일¹ · 장효원 · 오계현*

순천향대학교 자연과학대학 생명과학부

¹Biotechnology Center for Agriculture and the Environment, Rutgers University,
New Brunswick, New Jersey 08901-8520, U.S.A.

도시폐수처리장의 활성슬러지 표본으로부터 유일 탄소원 및 질소원으로 aniline을 이용할 수 있는 미생물 컨소시엄을 농화배양하였다. 농화배양으로부터 분리된 3개의 분해세균 가운데 분해능이 탁월한 세균을 본 연구에 사용하였다. 분리세균은 그람 음성세균으로서 여러 가지 생리·생화학적 시험을 통하여 *Delftia acidovorans*로 동정되었으며 이를 *Delftia* sp. JK-2로 명명하였다. 10 mM의 aniline이 포함된 액체배지에 *Delftia* sp. JK-2를 접종한 결과 24시간 이내에 aniline이 완전히 분해되었다. 이 기간동안 배양액 내에 NH_4^+ 이온은 일시적으로 생성되었다가 aniline이 완전히 분해됨에 따라 완전히 사라졌다. Aniline을 포함하는 무기배지에 부가탄소로서 glucose를 첨가하였을 때 분해능은 크게 감소하였다. 질소원으로서 0.5% nitrate를 첨가하였을 때 첨가하지 않은 대조군에 비해 aniline의 분해가 80% 이상 향상되었다. Aniline 분해세균의 16S rDNA 염기서열을 이용하여 phylogenetic 분석을 실시한 결과 이 세균은 *Delftia acidovorans*와 96%의 유사성을 나타내었으며, *Acidovorax*, *Aquaspirillum*, *Xylophilus*, *Variovorax*, *Rhodoferrax* 등의 세균들과도 상당한 유사성을 나타내었다.

Key words □ aniline, biodegradation, *Delftia* sp. JK-2

서 론

Aniline은 농약과 염료, 플라스틱, 석유 첨가제 등 여러 화학제품의 제조에 있어서 원료 또는 중간 물질로 널리 이용되고 있는 화합물이다(14). 최근 aniline의 사용량이 크게 증가함에 따라 토양과 수질 환경에 빈번히 노출됨으로 심각한 환경오염을 일으킬 수 있는 화학물질로 간주되고 있다(5,16,19). 특히 국내에서는 aniline으로부터 유래하는 농약을 많이 사용하고 있는데, 농업적 목적으로 살포된 aniline의 일부는 토양에 잔류하여 토착 미생물에 의한 생분해로 제거되기도 하지만 상당량이 강우나 유실수로서 수계에 유입되며 이로 인한 많은 생물체에 대한 문제점이 보고된 바 있다(4,9,10). Aniline은 환경내에서 azobenzenes, azoxybenzene, nitrobenzene, triazine 등과 같은 잔류성이 높은 난분해성 물질로 전환되거나, humic acid와 같은 화합물과 반응하여 환경에 유해한 문제를 일으키는 것으로 알려져 있다(11,13,15,17).

미생물에 의한 aniline 분해는 *Alcaligenes faecalis*, *Pseudomonas putida*, *Moraxella* sp., *Acinetobacter* sp., *Rhodococcus* sp., *Delftia* sp. 등에서 보고되었다(2,3,12,18,20-22). 일반적으로 세균에 의한 aniline의 생분해는 먼저 aniline의 암모

니아 기(group)가 제거되는 산화적 탈아미노화 (oxidative deamination) 과정으로 catechol이 형성되며, 이 화합물은 ortho fission 대사경로 또는 meta fission 대사경로를 통하여 분해된다(18,22) 여러 종류의 세균들에 의한 aniline 생분해의 대략적인 분해대사 경로는 상당부분 밝혀져 있으나, aniline의 생분해에서 가장 중요한 반응인 ring cleavage에 관여하는 효소인 dioxigenase에 관련된 효소학적 및 분자유전학적 연구는 상대적으로 미진한 실정이다.

본 연구에서는 고농도 aniline을 포함하는 산업폐수로부터 aniline의 효율적인 제거를 위한 산업적 적용을 목적으로 농화배양 기법을 이용하여, 폐수처리장의 활성슬러지로부터 aniline 분해능이 탁월한 세균을 분리하였으며, 이 세균을 이용하여 다양한 농도의 aniline 분해능에 대하여 조사하였다. 또한 분리세균의 생리학적 특성과 16S rDNA의 염기서열 분석에 근거한 phylogenetic 특성에 대해서도 조사하였다.

재료 및 방법

Aniline 분해세균의 분리 및 배양 조건

충청남도 천안시 쌍용동 소재 폐수 처리장에서 채취한 활성슬러지로부터 농화 배양기법을 사용하여 aniline을 분해하는 미생물 컨소시엄을 확보하였다. 농화 배양을 위한 배지는 증류수 1 l 당 K_2HPO_4 1 g, KH_2PO_4 1 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.41 g, CaCO_3 0.02 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05 g에 유일 탄소원 및 질소원으

*To whom correspondence should be addressed.

Tel: 041-530-1353, Fax: 041-530-1350

E-mail : kyeheon@asan.sch.ac.kr

로 10 mM의 aniline을 포함하는 액체 무기 배지를 사용하였으며, 30°C, 150 rpm에서 진탕 배양하였다. 배지 내의 미생물 컨소시엄의 성장을 알아보기 위하여 분광광도계(V-550 UV/VIS Spectrophotometer, Jasco Co. Japan)를 사용하여 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이렇게 확보된 미생물 컨소시엄은 aniline이 포함된 고체 무기 평판 배지상에 도말하여 3개의 단일 균주를 순수 분리하였으며, 이 가운데 aniline의 분해능이 가장 탁월한 균주를 선정하여 본 실험에 사용하였다.

형태학적 관찰 및 생리·생화학적 특성 조사

Aniline 액체배지에서 초기 대수 성장기에 있는 분해세균을 사용하여 형태학적 관찰과 생리·생화학적 특성조사를 실시하였다. 분리된 세균의 형태학적 관찰을 위하여 먼저 MacConkey 고체배지 상에서의 성장 여부 및 집락의 색깔을 통해 순수분리를 확인하였으며, Gram 염색을 하여 세균의 형태 및 배열상태를 관찰하였다(8). 생리·생화학적 특성조사는 NFT-API20E (bioMérieux-sa, Marcy-l'Étoile, France)를 이용하여 실시하였다.

분리 균주의 aniline 농도별 성장과 분해능 및 NH₄⁺의 측정

Aniline의 농도에 따른 분리 세균의 분해능을 측정하기 위하여 각각 5 mM, 10 mM, 15 mM, 20 mM, 25 mM, 30 mM의 aniline을 포함하는 무기 배지를 준비하였다. 액체배지에서 유일 탄소원 및 질소원으로 aniline을 이용하는 분리세균을 준비된 다양한 농도의 aniline 무기 배지에 각각 5%를 접종하고 매 12시간마다 세균의 성장과 잔존 aniline을 측정하였다. 배양기간 중에 채취된 샘플은 3,500×g에서 15분 동안 원심 분리하고, 그 상등액을 1 ml 취하여 시료와 증류수를 1대 29의 비율로 희석한 후 자외선 분광광도계를 이용하여 최대 흡광도를 나타내는 280 nm에서 흡광도에 근거하여 잔존 aniline을 측정하였다. 배양기간 중에 aniline으로부터 방출된 NH₄⁺ 이온의 양은 630 nm에서 indophenol blue 반응에 의한 발색반응을 통하여 측정하였다(1,7).

Aniline 분해에 대한 부가 탄소원 및 질소원의 영향

Aniline 분해에 있어서 부가 탄소원과 질소원의 첨가에 따른 분해 세균의 성장과 분해능에 미치는 영향에 대하여 조사하였다. Aniline 분해에 사용된 무기배지에 각각 0.05%, 0.1%, 0.2%의 glucose를 첨가하여 aniline분해에 미치는 영향을 관찰하였다. 또한 aniline 분해에 대한 질소원의 영향을 조사하기 위해 aniline을 포함하는 무기 배지에 다양한 농도의 peptone과 nitrate를 첨가하여 aniline 분해에 미치는 영향을 비교 관찰하였다.

16S rDNA 유전자의 PCR 증폭 및 염기서열 분석

16S rDNA의 PCR증폭에 이용된 primer는 세균의 16S rDNA의 domain에 특이적으로 부착하여 증폭하는 27r (5'-AGAG TTT GAT CCT GG CTG AG-3')와 1522f (5'-AAG GAG GTG ATC CA(AG) CCG CA-3')를 사용하였다. PCR반응 조건은 95°C에서 1분간 초기 열처리를 한 후, 95°C에서 1분, 55°C에서 1분, 72°C에서 1분씩 25회 반복하였고, 최종적으로 72°C에서 10분간 처리하였다. 증폭된 PCR 반응물을 pGEM-T vector에 삽입하였으며,

이 삽입된 vector DNA를 *E. coli* JM109에 넣어 형질전환 시켰으며, 염기서열을 분석하기 위해서 200 ng의 이중 나선 DNA를 주형으로 사용하였다. 염기서열 결정은 ABI 373A automated sequencer를 사용하여 결정하였으며, 염기서열의 계통학적 분석은 Lasergene software (DNA STAR, Inc., Madison, Wisconsin U.S.A)와 Genetic Computer Group(GCG: University of Wisconsin, Madison)의 package version 8.1을 사용하여 염기서열 간의 유전적 거리와 phylogenetic tree를 결정하였다.

결과 및 고찰

Aniline 분해 세균의 분리

폐수 처리장에서 채취한 활성 슬러지 표본으로부터 농화배양 기법을 통해 aniline을 분해하는 미생물 컨소시엄을 확보하였다. 확보된 컨소시엄으로부터 aniline을 제외한 다른 탄소원 및 질소원을 부가하지 않은 고체 무기 평판 배지상에서 도말시켜 3개의 단일 세균을 분리하였다. 분리된 세균은 수 차례 계대 배양을 통하여 순수 단일 세균임을 확인하였으며, 이들 단일 세균을 10 mM aniline을 포함하는 액체 무기 배지에 각각 배양하여, 그 중 분해능이 가장 탁월한 균주를 선별하여 본 실험에 이용하였다.

형태학적 관찰 및 생리·생화학적 특성 조사

선별된 분리세균에 대하여 형태학적 관찰을 실시하였다. Aniline을 포함하는 고체 무기 배지상에서 집락의 색깔은 상아색을 나타냈으며, 임면(elevation)의 형태는 중앙돌기형(umbonate)으로 관찰되었다. 이 세균을 Gram 염색 하여 위상차 현미경으로 관찰한 결과 Gram 음성 및 짧은 간균이었다. NFT-API20E를 이용한 생리·생화학적 실험결과는 Table 1에 나타나 있다. 분리세균에 대한 생리·생화학적 결과를 API date base와 비교한 결과 *Delftia acidovorans*로 동정되었다.

Table 1. Physiological and biochemical characteristics of the isolate, *Delftia* sp. JK-2

Characteristics		Characteristics	
Catalase	+	Growth on	
Oxidase	+	Phenylacetate	-
Tryptophanase	-	N-acetylglucosamine	-
Urease	-	Adipate	+
β-galactosidase	-	Maltose	-
Arginine dihydrolase	-	Mannitol	+
Gelatin hydrolysis	-	Mannose	-
Glucose acidification	-	Sucrose	-
Nitrate reduction	-	Fructose	+
Pigment production	-	Trehalose	+
O/F	± O/F	L-Valine	+
Levan formation	-	Aniline(aerobic)	+
Growth at 42°C	-	Aniline(denitrifying)	+

Aniline의 이용과 분해 측정

250 ml의 Erlenmeyer flask에 각각 5 mM, 10 mM, 15 mM, 20 mM, 25 mM, 30 mM aniline을 액체 무기 배지 100 ml에 농도별로 제조하여 준비하고 aniline 분해 세균의 배양액을 배지의 5%로 접종하였다. 배양은 유일 탄소원 및 질소원으로 aniline을 이용하여 성장하였다. Aniline의 농도가 15 mM 이하에서는 기질 농도와 상관없이 세균의 생장이 이루어졌지만, 20 mM 이상에서는 세균의 성장 곡선 중 유도기(lag phase)가 길어지면서 균의 성장과 기질 분해가 지연되었다. 특히 25 mM 이상의 aniline에서는 균의 성장과 기질의 분해가 현저히 지연됨이 관찰되었다 (Fig. 1). Aniline의 분해정도는 자외선 분광광도계를 이용하여 280 nm에서 최대 흡광도를 관찰하여 측정하였다. 10 mM의 aniline이 24시간만에 완전 분해가 이루어지는 동안 매 4시간마다 샘플을 채취하여 NH₄⁺ 이온 농도의 변화를 조사 하였으며, 그 결과 접종 후 12시간이 경과하였을 때 NH₄⁺ 이온 농도

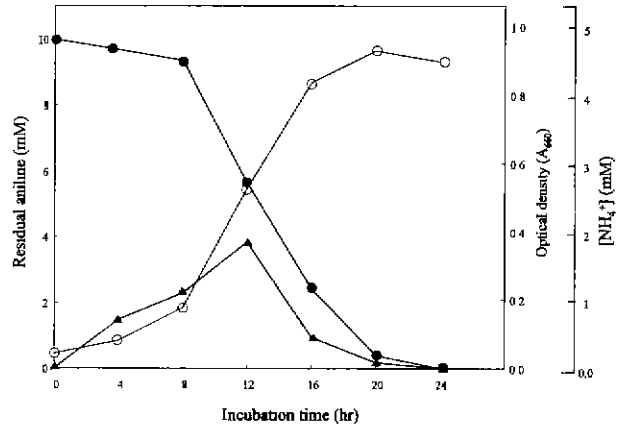


Fig. 2. Growth of the test culture, *Delftia* sp. JK-2, measured as cell density (○) associated with degradation of aniline (●), and the parallel formation of NH₄⁺ (▲).

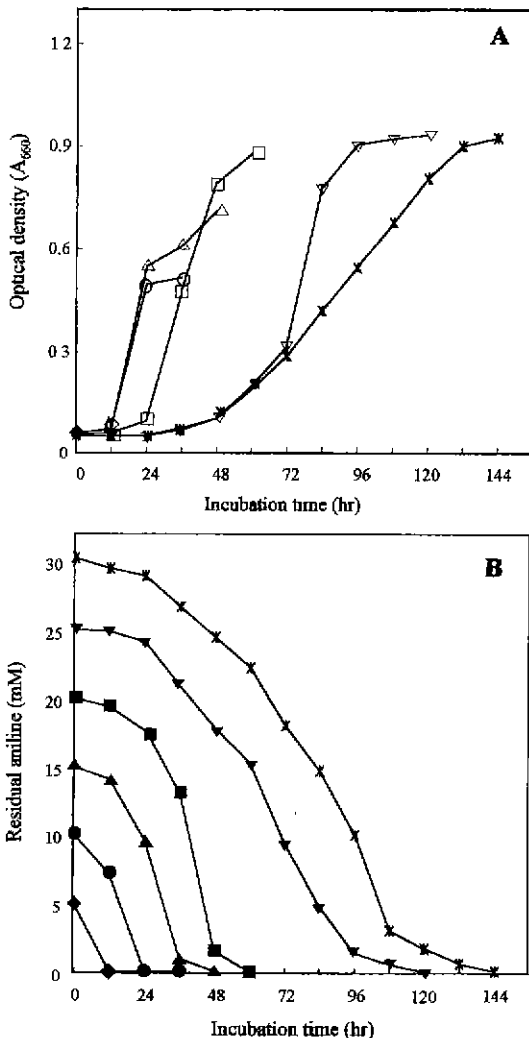


Fig. 1. Growth (A) of test culture, *Delftia* sp. JK-2, and the degradation (B) of aniline. The media contained 5 mM (◇, ◆), 10 mM (○, ●), 15 mM (△, ▲), 20 mM (□, ■), 25 mM (▽, ▼), 30 mM aniline (*, *), respectively.

가 약 1.85 mM로 가장 높았으며 그 후 시간이 경과함에 따라 더 이상의 자유 NH₄⁺ 이온은 검출되지 않았다 (Fig. 2). 이 결과는 aniline 분해 세균의 성장하는데 있어서 질소원으로 aniline의 분해과정에서 배양액으로 방출된 NH₄⁺ 이온이 사용되는 것으로 나타내는 것으로 사료된다. 지금까지 다양한 세균에서 aniline의 생분해에 관한 보고가 있어왔으나 그 분해의 효율적인 면은 크게 강조되지 않았다. Aniline의 생분해에 있어서 분해능이 탁월하다고 보고된 *Rhodococcus erythropolis* AN-13는 10 mM aniline을 완전 분해시키기 위하여 44 시간이 소요되었다(2). 또한 호기적 및 혐기적 조건에서 aniline을 분해할 수 있는 세균인 HY99는 1 mM aniline을 분해하는데 30시간이 걸리는 것으로 보고하고 있다(12). 이러한 결과를 비교하여 볼 때 본 연구에서 사용된 *Delftia* sp. JK-2는 10 mM aniline을 24시간 이내에 완전히 분해시킬 뿐만 아니라, 30 mM aniline도 약 144시간만에 제거시킬 수 있어 그 분해능이 지금까지 보고된 aniline 생분해에 관한 결과 가운데 가장 탁월한 것으로 판단된다.

부가 탄소원 및 질소원 첨가에 따른 Aniline 분해능 영향

Aniline의 생분해에 부가 탄소원 및 질소원의 첨가가 영향을 미치는지를 알아보기 위하여 aniline을 포함하는 무기액체 배지에 조사하였다 (Fig. 3). 부가 탄소원으로서 glucose를 첨가하였고, 질소원으로서는 peptone 또는 nitrate를 첨가하여 aniline 분해를 비교 관찰하였다. 부가 탄소원으로서 0.2%의 glucose가 첨가된 배지는 정상적인 배지보다 분해능이 현저히 지연됨이 관찰되었다. Aniline 10 mM을 포함하는 배양에서 aniline의 분해는 24시간의 배양기간 동안 질소원으로서 0.2% peptone과 0.5%의 nitrate를 첨가시킨 경우 배양 12시간이 경과되었을 때에는 정상적인 배지보다 효과적인 분해능이 나타났으나, 0.2% peptone이 첨가된 배지에서 10 mM aniline은 28시간만에 완전 분해가 이루어졌다. 반면에 0.5%의 nitrate이 첨가된 배지에서 10 mM aniline은 16시간만에 완전 분해가 이루어졌다. 이러한 결과로 이 분해 세균에 의한 aniline의 생분해는 배지 내에 부가 탄소원의

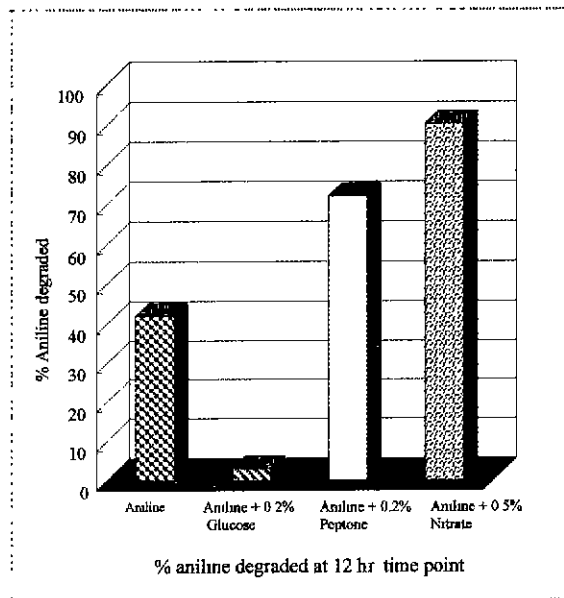
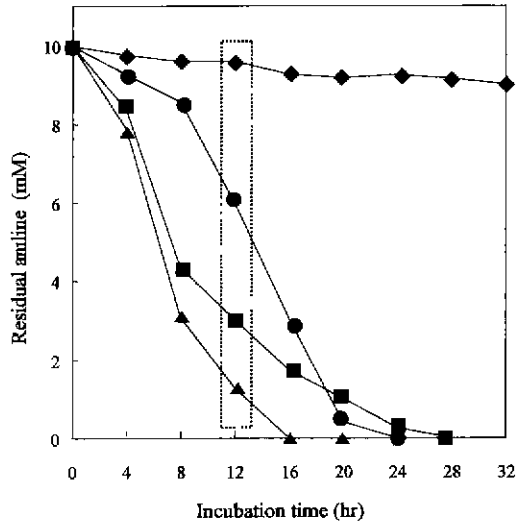


Fig. 3. Effect of supplementary carbon and nitrogen sources on aniline degradation; aniline (●), aniline plus 0.2% glucose (◆), aniline plus 0.2% peptone (■), aniline plus 0.5% nitrate (▲). Rates of aniline degradation over the 32 hours time course of the experiment are presented in the top panel. In the bottom panel, the relative percentages of the initial aniline concentration (10 mM) are compared for the 12 hr time point.

로서 glucose의 첨가는 효과적이 못하였으며, 질소원으로서 0.2% peptone의 첨가는 초기 aniline의 분해에는 효과적이었고, 0.5%의 nitrate가 첨가된 경우 aniline의 분해는 매우 효과적임을 확인할 수 있었다.

16S rDNA 염기서열의 계통수 분석

이 분해균주의 phylogenetic tree를 작성하기 위해 16S rDNA 유전자를 증폭하고, 1525 bp의 부분적인 염기서열을 결정하였으며 GenBank database(AF274816)에 등록하였다. 이 분해균주는 β-Proteobacteria에 속하는 *Delftia acidovorans*와 97%의 높은 유

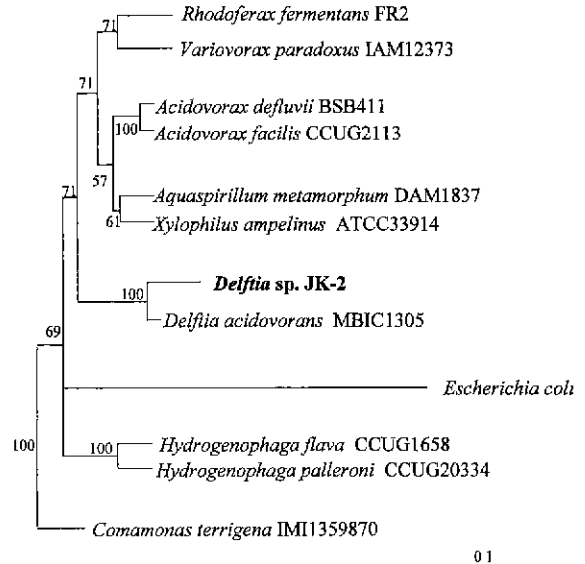


Fig. 4. Phylogenetic tree of the isolate, JK-2 and representative organisms of the β-subdivision of the *Proteobacteria*. Sequence accession numbers and strain numbers are indicated. 1525 bases were used to build the tree. Numbers within the dendrogram indicate the percentages of occurrence of the branching order in 500 bootstrapped trees (only values of 50 and above are shown). The scale bar represents 10 nucleotide substitutions per 100 nucleotides.

사성을 나타냈다. 또한 이 균주와 β-Proteobacteria에 속하는 다른 종과의 유사성을 Fig. 4에 나타내었다. 생리 화학적 실험과 16S rDNA 염기서열의 계통수 분석을 통하여 이 분해균주는 *Delftia acidovorans* MBIC1305와 매우 높은 유사도를 보여 주었다.

Aniline은 다양한 산업에서 널리 사용되어 자연환경에 유출시 잘 분해가 되지 않고, 하천이나 호수의 침적층에 축적되어 생물체에 독성을 나타내는 것으로 알려져 있는데(6) 이러한 환경 오염 물질을 제거하기 위한 연구는 매우 미진한 상태에 있다. 본 연구를 통하여 폐수 처리장의 활성 슬러지로부터 분리된 세균인 *Delftia* sp. JK-2는 환경오염원으로서 aniline의 분해에 탁월한 분해능이 입증되었으며 이에 대한 생리·생화학적 특성 및 phylogenetic tree도 확립되었다. 본 연구는 향후 분리된 JK-2를 이용하여 bioreactor나 pilot에 의한 대량처리 기술에 적용시켜 효과적인 aniline 관련 폐수로부터 유래하는 오염문제를 해결하는 방향으로 진행되어야 할 것이다.

참고문헌

- Allen, S. E., H. M. Grimshaw, J. A. Parkinson, and C. Quarmby. 1974. Inorganic constituents; nitrogen. p. 184-206. *In* S.E. Allen (ed.), Chemical analysis of ecological materials. Blackwell Scientific Publications, London, England.
- Aoki, K., K. Ohtsuka, R. Shinke, and H. Nishira. 1983 Isolation of aniline-assimilating bacteria and physiological characterization of aniline biodegradation in *Rhodococcus erythropolis* AN-13. *Agric.*

- Biol. Chem.* 47, 2569-2575.
3. Aoki, K., R. Shinke, and H. Nishira. 1983 Metabolism of aniline by *Rhodococcus erythropolis* AN-13. *Agric. Biol. Chem.* 47, 1611-1616.
 4. Bollag, J. M., P. Blattman, and T. Laanio. 1978. Adsorption and transformation of four substituted aniline in soil. *J. Agric. Food Chem.* 26, 1302-1306.
 5. Chabra, R. S., M. Thompson, M. R. Elwell, and A. C. Peters. 1990. Toxicity of *p*-chloroaniline in rats and mice. *Food Chem. Toxicol.* 28, 717-722.
 6. Chaudhry, G. R., and S. Chapalamadugh. 1991. Biodegradation of halogenated organic compounds. *Microbiol. Rev.* 55, 59-79.
 7. Franson, M. A. 1976. Standard methods for the examination of water and wastewater. 14th ed. American Public Health Association, Washington, D.C., U.S.A.
 8. Gerhart, P., R. G. E. Murray, R. N. Costillow, E. W. Nester, W. A. Wood, N. R. Kreig, and G. B. Phillips. 1981. Manual of methods for general bacteriology. American Society for Microbiology, Washington, D.C., U.S.A.
 9. Hagglblom, M. M. 1992. Microbial breakdown of halogenated aromatic pesticides and related compound. *FEMS Microbiol. Rev.* 103, 29-72.
 10. Hermans, J. L., S. P. Bradbury, and S. J. Broderius. 1991. Influence of cytochrome P450 mixed function oxidase induction on the acute toxicity to rainbow trout of primary aromatic amines. *Ecotoxicol. Environ. Safety* 20, 156-166.
 11. Itoh, N., M. Naoki, and K. Toyoko. 1993. Oxidation of aniline to nitrobenzene by nonheme bromoperoxidase. *Biochem. Mol. Biol. Intl.* 29, 785-791.
 12. Kahng, H. Y., J. J. Kukor, and K. H. Oh. 2000. Characterization of strain HY 99, a novel microorganism capable of aerobic and anaerobic degradation of aniline. *FEMS Microbiol. Lett.*: in press.
 13. Kearney, P. C., J. R. Plimmer, and F. B. Guardia. 1969. Mixed chlorobenzene formation in soil. *J. Agric. Food Chem.* 17, 1418-1419.
 14. Kearney, P.C., and D.D. Kaufman. 1975. Herbicides: chemistry, degradation, and mode of action, 2nd ed. Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y.
 15. Loidle, M., C. Hinteregger, G. Ditzemuller, A. Ferschel, and F. Streichsbier. 1990. Degradation of aniline and monochlorinated anilines by soil-born *Pseudomonas acidovorans* strains. *Arch. Microbiol.* 155, 56-61.
 16. Meyer, U. 1981. Biodegradation of synthetic organic colorants, p. 371-385. In T. Leisinger, R. Hutter, A.M. Cook, and J. Nuesch (ed.), Microbial degradation of xenobiotics and recalcitrant compounds. Academic Press Inc., London, United Kingdom.
 17. Minard, R. D., S. Russel, and J. M. Bollag. 1977. Chemical transformation of 4-chloroaniline to a triazine in a bacterial culture medium. *J. Agric. Food Chem.* 25, 841-844.
 18. Surovtseva, E. G. and A. I. Bol'nova. 1980. Aniline as the sole source of carbon, nitrogen, and energy for *Alcaligenes faecalis*. *Mikro. Biologiya.* 49, 49-53.
 19. Timourian, H., J. S. Felton, D. H. Stuermer, S. Healy, P. Berry, M. Tompkins, G. Battaglia, F. T. Hatch, L. H. Thompson, A.V. Carrano, J. Munkler, and E. Salanzer. 1982. Mutagenic and toxic activity of environmental effluents from underground coal gasification experiments. *J. Toxicol. Environ. Health* 9, 975-994.
 20. Wyndham, R. C. 1986. Evolved aniline catabolism in *Acinetobacter calcoaceticus* during continuous culture of river water. *Appl. Environ. Microbiol.* 51, 781-789.
 21. You, I. S. and R. Barth. 1982. Metabolism of dichloroaniline by *Pseudomonas putida*. *J. Agric. Food Chem.* 30, 274-277.
 22. Zeyer, J., A. Wasserfallen, and K. N. Timmis. 1985. Microbial mineralization of ring-substituted aniline through an *ortho*-cleavage pathway. *Appl. Environ. Microbiol.* 50, 447-453.

(Received June 24, 2000/Accepted July 8, 2000)

ABSTRACT: Characterization of an Aniline-degrading Bacterium, *Delftia* sp. JK-2 Isolated from Activated Sludge of Municipal Sewage Treatment Plant

Yun-Seok Cho, Hyung-Yeol Kahng¹, Hyo-Won Chang, and Kye-Heon Oh*(Department of Life Science, Soonchunhyang University, P.O. BOX 97, Asan, 336-600, Korea; ¹Biotechnology Center for Agriculture and the Environment, Rutgers University, New Brunswick, New Jersey 08901-8520, U.S.A.)

Activated sludge samples were collected from a municipal sewage treatment plant and used for enrichment of microbial consortia with aniline as the sole carbon and nitrogen source. Three aniline-degrading bacteria were obtained from microbial consortia and an isolate which has excellent aniline degradability was selected for this study. The isolate was Gram-negative, and identified and designated as *Delftia* sp. JK-2 on the basis of various physiological and biochemical tests. 10 mM aniline was completely degraded within 24 hours after inoculation of the culture. Ammonium ion was liberated in the medium transiently during the incubation and disappeared when aniline was completely degraded. Addition of glucose as a supplementary source to aniline minimal media showed significant decrease in aniline degradation rate for the strain. Effective degradation of aniline was achieved by the addition of 0.5% nitrate as a nitrogen source, and resulted in approximately 80% higher aniline degradation compared to the absence of nitrate. Phylogenetic analysis based on 16S rDNA sequence revealed that the strain was closely related to *Delftia acidovorans*, with 96% overall similarity. The 16S rDNA sequence of JK-2 was also found to be closely related to those of six other clonal types, including *Acidovorax*, *Aquaspirillum*, *Xylophilus*, *Variovorax*, and *Rhodoferrax*.