

## PAHs를 분해하는 *Sphingomonas* sp. K-19의 분리 및 특성

한규동 · 김성환 · 손승렬\*

단국대학교 첨단과학부 미생물학전공

Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAHs)들에 오염된 토양시료를 채취한 후, phenanthrene을 유일한 탄소원과 에너지원으로 배양하여 PAHs를 분해하는 균주 K-19를 분리하였다. 이 균주는 지방산 조성 실험에서 *Sphingomonas* 속 균주의 특징인 2-hydroxy fatty acid들과 18:1 $\omega$ 7를 포함하고 있었으며, 16S rDNA 염기서열을 이용한 계통유전학적 분석결과 Ribosomal Database에서 *Sphingomonas* CF06과 가장 가까운 유연관계를 보였다. K-19는 phenanthrene 존재 하에서 빠른 성장률과 높은 phenanthrene 분해율로 10일만에 500 ppm의 phenanthrene을 92% 분해하였으며, phenanthrene 이외에 indole, naphthalene 등도 분해하였다. 또한 전 배양 방법을 통하여 phenanthrene 분해능이 더욱 증진됨을 알 수 있었다. 이러한 결과는 우리나라의 유류 오염토양에 *Sphingomonas* 속의 미생물이 존재하며 이 미생물은 여러 종류의 다중 고리 방향족 화합물을 분해할 수 있는 능력을 가지고 있음을 보여준다.

**Key words** □ PAHs, phenanthrene, *Sphingomonas*

Polycyclic aromatic hydrocarbon(PAHs)들은 자연계의 거의 모든 곳에 존재하며, 인간의 건강과 환경을 위협한다는 사실이 밝혀지면서 PAHs의 생분해 기작 및 환경 파괴에 대한 관심이 증가하였다. 일반적으로 PAHs는 2개 혹은 그 이상의 방향족 고리가 선형, 각형, 혹은 집단 배열로 융합된 분자를 말한다(7). PAHs는 크게 두 부류로 나누어 질 수 있는데, naphthalene, phenanthrene, anthracene, fluorene처럼 방향족 고리가 2개 혹은 3개로 구성된 low-molecular weight PAHs와 pyrene, chrysene, fluoranthene처럼 방향족 고리가 4개 혹은 그 이상으로 구성된 high-molecular weight PAHs이다(3).

PAH 분자들의 화학적 특성에 따른 환경 파괴는 분자의 크기, 방향족 고리의 수, 고리의 연결 방식에 의존하며, 일반적으로 PAH 분자들의 크기와 모서리수의 증가는 소수성과 전기 화학적 안정성을 동시에 증가시킨다. 이러한 소수성 화합물은 유기물질과 입자들에게 높은 친화력을 보이므로 유기화합물이 풍부한 해양 저질토, 토양에 축적된다(4). 예를 들어, 저질토와 토양에서 3개의 고리를 가지는 phenanthrene 분자의 반감기는 16~126일인 반면 5개 고리를 가지는 benzo[a]pyrene (BaP)의 경우는 229~1400일 정도이다(9). PAHs는 심한 독성효과로 인하여 돌연변이, 기형, 혹은 암을 유발시키지만, PAHs를 분해하는 미생물의 발견으로 PAH들에 의해 오염된 곳의 정화에 많은 도움이 되었다. 이들 세균들은 탄소원과 에너지원으로서 특정 PAHs를 이용해 CO<sub>2</sub>와 중간대사산물로 완전 분해가 가능함을 보여주었다(7).

PAHs 중에서 phenanthrene은 3개의 벤젠고리가 융합된 화합물

로서 화학적 구조가 benzo[a]anthracene과 같이 암을 유발하는 PAHs에서 발견되어 PAHs의 오염을 인지하는 표지 화합물로 많이 이용되고, 또한 환경에서 PAHs의 생물적 이용, 생물정화, 미생물 분해를 연구하기 위한 모델로서 이용된다(16).

우리나라에서도 여러 PAH 분해 미생물들에 대한 분포와 특성에 관한 연구가 1990년대에 들어서면서 점차 발표되고있는 실정이다. 본 연구는 우리나라의 PAH 분해 미생물을 조사하기 위해 유류에 오염된 토양 시료로부터 phenanthrene을 분해하는 균주를 분리·동정하고, 특성을 알아보았다.

### 재료 및 방법

#### Phenanthrene 분해 균주의 분리

2000년 11월 경기도 수원시의 자동차 공업사 일대로부터 유류에 오염된 토양을 채취하였다. 토양 시료는 토양 표면 아래 5~10 cm로부터 채취하여 멸균된 conical tube (Sarstedt, Germany)에 밀봉하여 실험실로 운반 후 분석하였다. 사용된 최소액체배지는 nitrate minimal medium을 변형한 것으로 그 조성은 증류수 1 L당 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.03 g, NaCl 2 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.5 g, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.05 g, CaCl<sub>2</sub> · H<sub>2</sub>O 0.02 g, KNO<sub>3</sub> 0.01 g, trace metal solution 1 ml을 첨가하였다. 고체배지의 경우 1.5%의 Bacto agar (Difco)를 첨가하였다.

채취된 토양 시료 0.5 g을 500 ppm의 phenanthrene (Sigma, USA)이 포함된 5 ml의 최소액체배지에 접종하고 28°C, 180 rpm에서 1주일 동안 집적배양(enrichment culture)을 하였다. 배양된 시료는 동일한 조건의 새로운 배지로 100  $\mu$ l씩 접종하여 1주일 동안 배양하였다. 이러한 계대과정을 3회 반복하였다. 이 집적배

\*To whom correspondence should be addressed.

Tel: 041-550-3455, Fax: 041-551-9229

E-mail: syson@dankook.ac.kr

양액을 생리 식염수를 이용하여 희석한 후 최소고체배지에 100  $\mu$ l씩 접종하였다. 그 위에 100 ml의 아세톤에 녹인 2 g의 phenanthrene을 분무하여 28°C에서 배양하는 동안 집락 주위에 투명환(clear zone)이 형성된 집락을 분해세균으로 선별하였다(13). 선별된 집락들을 순수 배양하기 위해 tryptic soy agar (TSA)배지에 접종하여 단일 집락을 분리하였다. 분리된 단일 집락은 다시 최소고체배지에 접종한 후 phenanthrene을 녹인 아세톤 (2 g/100 ml)을 분무하여 분해능을 재확인하였다.

#### Phenanthrene 분해 균주의 특성 및 동정

Phenanthrene 분해 세균의 생화학적 특성은 집락 모양, 색소 형성, 그람 염색, 그리고 API (Analytic Profile Index) 20 NE test strips (bioMerieux, Marcy-l'Etoile, France) 실험을 통해 결정하였다. PAHs를 분해하는 균주들의 지방산 분석을 위해 TSA에서 24-48 시간 배양한 후, 세포의 지방산들을 saponification, methylation, extraction하여 microbial identification system (MIDI; ChemStation Version 4.02)을 통해 분석하였다.

16S rRNA 유전자를 증폭하기 위해 이용된 primer는 eubacteria에 특이적인 27F (*E. coli* numbering 8-27:5'-AGAGTTTGATCMTG GCTCAG-3')와 1492R (*E. coli* numbering 1492-1510:5'-GGYTA CCTTGTACGACTT-3')를 사용하였다(14). PCR 반응은 PE480 (Perkin Elmer, USA)을 이용하였으며 PCR 반응 조건은 95°C에서 5분간 초기 열처리를 한 후, 95°C에서 1분, 55°C에서 1분, 72°C에서 1.5분씩 30회 반복하고 마지막에는 72°C에서 10분간 처리한 후 4°C에서 보관하였다.

증폭된 PCR 산물을 정제한 후 염기서열을 결정하였다. 결정된 16SrDNA 염기서열간의 유사도를 알아보기 위해 NCBI의 GeneBank와 EMBL의 database에서 유사한 16S rDNA 염기서열을 비교·검색하였고(15), 이를 토대로 phylogenetic tree를 작성하였다(17).

#### 분리된 균주의 PAHs와 phenanthrene 분해

분리된 균주가 phenanthrene 이외에 다른 종류의 PAHs를 분해할 수 있는지의 여부를 확인하기 위해 indole과 naphthalene은 최소고체배지에 균체를 접종한 후, 페트리접시 뚜껑에 결정체를 첨가해 균체 생성 및 변화를 관찰하였으며, fluoranthene과 pyrene은 각각 2 g을 아세톤 100 ml에 녹여 배지 위에 분무한 후 균체 주변에 투명환의 형성 유무 및 균체 주변 배지 색깔 변화를 관찰하였다.

분리된 phenanthrene 분해 균주가 phenanthrene을 유일한 탄소원과 에너지원으로서 이용하여 성장하는지를 알아보기 위해 100 ml의 최소액체배지에 phenanthrene이 500 ppm 되도록 첨가하였다. 분리된 phenanthrene 분해 균주들은 OD<sub>660</sub>에서 흡광도가 0.15-0.2가 되도록 접종하였으며, 성장률은 배양액 1 ml과 4 ml의 용매혼합물[acetone:methanol:hydrochloric acid=10:10:1(v/v/v)]을 혼합하여 OD<sub>660</sub>에서 spectrophotometer(Biomate 5, USA)를 이용해 측정하였다(8).

Phenanthrene 분해능 측정은 시간별로 배양액을 5 ml씩 취하여

잔존하는 phenanthrene 양을 HPLC (Waters, USA)로 분석하였다. 내부표준물질로서 pyrene을 첨가하고 3배의 ethyl acetate를 가한 후, anhydrous sodium sulfate로 남아있는 수분을 제거하고, 감압 증류 장치로 ethyl acetate를 증발시켜 잔류 phenanthrene을 추출하였다. 추출된 phenanthrene은 acetonitrile 2 ml에 녹여 LC-PAH (Supelco, USA)가 장착된 HPLC를 이용하여 분석하였다. 시료들은 717 plus Autosampler를 이용하여 20  $\mu$ l씩 주입하였고 column 온도는 30°C를 유지하며, 100% acetonitrile을 분당 0.8 ml씩 흘리면서 UV 검출기를 이용하여 254 nm에서 측정하였다.

분리된 균주로부터 phenanthrene 분해를 유도하기 위해 TSB에서 배양한 균주를 최소액체배지로 세척하여 OD<sub>660</sub>에서 흡광도가 0.2가 되도록 500 ppm의 phenanthrene이 포함된 100 ml의 최소액체배지에 접종하여 28°C에서 7일간 180 rpm에서 진탕 배양하였다. Phenanthrene 분해가 유도되어진 균체를 원심 분리한 후 동량의 최소액체배지로 3회 세척하여 phenanthrene 분해를 유도하지 않은 대조 실험군과 동일하게 접종하였다. 시간별로 배양액을 취해 위의 방법과 동일하게 성장률과 phenanthrene 분해능을 측정하였다.

## 결과 및 고찰

#### Phenanthrene 분해 균주의 특성 및 동정

Phenanthrene 분해 세균을 분리하기 위해 자동차 공업사 지대의 유류 오염 지역 토양을 가지고 집적배양을 실시하였다. 몇 단계의 집적배양과정을 거친 후, Kiyohara의 방법(13)에 의해 phenanthrene이 도포된 최소고체배지에서 집락 주위에 뚜렷한 투명환을 형성하는 것만을 선택적으로 취하여 36개의 단일 집락을 분리하였다. 36 균주중 다양한 PAHs에 대한 분해능이 좋은 단일 집락을 실험대상으로 삼고 K-19로 명명하였다. K-19는 그람음성의 간균으로서 TSA 배지에서 24시간 이상 배양했을 때 집락이 생성되었으며, 집락은 점성이 있고 흰색을 띠었다. API test kit를 이용하여 생화학적 검사를 실시한 결과 K-19는 *Pseudomonas putida*로 판독되었으나 유사성은 그리 높지는 않았다(자료 미제시).

분리된 K-19의 주요 지방산은 18:1 $\omega$ 7로 나타났으며, 일반적인 균주에서 잘 나타나지 않는 2-hydroxy fatty acid들이 발견되었다(Table 1). 이 지방산들은 *Sphingomonas* 속에서 나타나는 공통적인 특징으로 알려져 있다(19). 분석 결과 K-19는 일반적인 phenanthrene 분해세균들의 하나인 *Sphingomonas paucimobilis*로 판독되었다. 지금까지 밝혀진 phenanthrene 분해세균의 속들로는 *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Comamonas*, *Norcardioides*, *Cycloclasticus*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Sphingomonas*가 보고되었고(1), 최근에는 *Pseudomonas* 속이나 *Flavobacterium* 속으로 알려진 PAH 분해세균들이 *Sphingomonas*로 재분류되고 있다(11). K-19의 16S rRNA 유전자 염기서열을 분석한 결과, K-19는 *Sphingomonas* CF06과 99.14%의 유사성을 보여주었다. 또한 본 실험실에서 전에 분리된 균주들의 16S rDNA 염기서열들과 함께 phylogenetic tree를 작성하여 이들과의 유전학적 거리를 조사

**Table 1.** Fatty acid composition of K-19.

Fatty acid	Relative (%)
14:0	0.58
14:0 2OH	6.48
16:1ω5	3.72
16:0	12.14
17:1ω6	2.76
16:0 iso 3OH	0.39
16:0 2OH	0.40
18:1ω7	56.73
18:1ω5	1.74
18:0	0.78
11 methyl 18:1ω7	2.45
Summed feature 3	
16:1ω7/15 iso 2OH	11.83

하였다(Fig. 1).

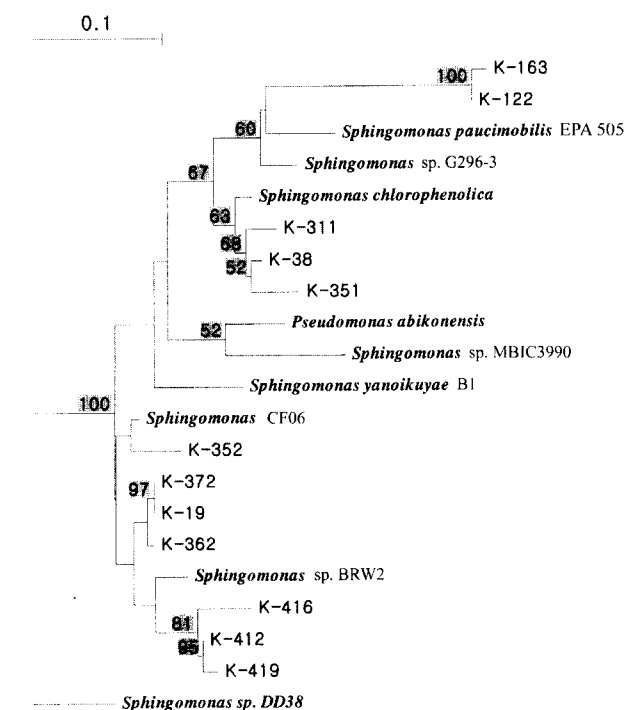
*Sphingomonas* 속에 속하는 여러 세균들은 토양, 물, 저질토 등에 널리 분포되어 있으며, 다양한 이화능력을 가지고 있어 환경에서 PAHs의 생물적 이용능력 및 생물정화에 높은 잠재성을 가지고 있다(6). 따라서 분리된 균주들은 phenanthrene 이외에 더 많은 종류의 오염물질을 분해할 수 있을 것으로 추정된다.

**분리된 균주의 PAHs와 phenanthrene 분해**

분리된 K-19가 phenanthrene 이외에 다른 종류의 PAHs를 분해하는지 알아본 결과, indole로부터 indigo를 형성하였고, naphthalene

을 분해하였다. 그러나 fluoranthene과 pyrene은 분해하지 않았다(Table 2). 따라서 K-19는 빠른 시간 내에 indole, naphthalene, phenanthrene을 분해하는 균임을 확인하였고, *Sphingomonas* 속으로 동정되었다. Pyrene을 분해할 수 있는 *Sphingomonas*는 *Sphingomonas* sp. strain KS14(5)와 *Sphingomonas paucimobilis* BA2(10) 등 소수가 알려져 있고, *Sphingomonas paucimobilis* Q1과 *Sphingomonas yanoikuyae* B1은 biphenyl, naphthalene, m-xylene을 분해할 수 있다(12). *Sphingomonas* sp. strain F199의 경우는 toluene, naphthalene, dibenzothiophene, benzoate, p-cresol, xylene의 isomer를 분해하는 것으로 알려져 있다(18).

500 ppm의 phenanthrene이 포함된 최소액체배지에서 K-19의 phenanthrene 분해능과 성장률의 관계를 살펴보았다. 일반적으로 PAHs는 액체 배지 상에서 입자 형태로 존재하며 이러한 입자에 균주가 흡착하여 성장하므로 Iwabuchi에 의해 제안된 방법을 사용하였다(8). 분리된 균주 K-19의 경우 2일간의 유도기를 거쳐 3일 이후 대수적 성장을 보였으며, 8일 이후 균은 사멸기에 도달하였다(Fig. 2). Phenanthrene의 분해는 균체의 성장과 거의 비례하였다. 2일 동안의 유도기간에는 거의 분해가 진행되지 않았고, 대수적 성장을 보인 3일 이후부터 서서히 분해가 시작되어 4일과 6일 사이에 phenanthrene의 양이 급격히 감소하는 것을 나타냈고, 이후 10일까지도 서서히 분해가 진행됨을 볼 수 있었다. 이 실험을 통해 분리된 균주들이 유일한 탄소원과 에너지원으로서 phenanthrene을 이용하여 성장함을 확인할 수 있었다. 일반적으로 세균이 phenanthrene과 같은 PAHs를 이용하여 성장할 경우

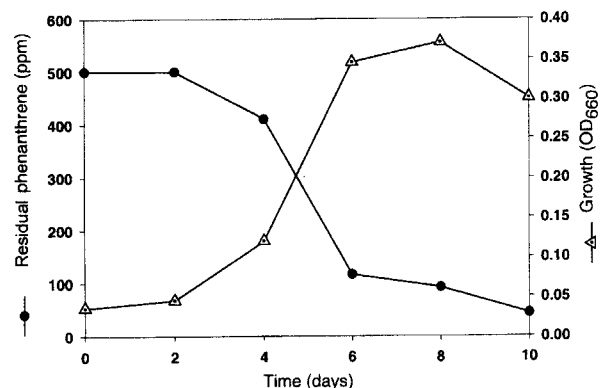


**Fig. 1.** Phylogenetic tree of K-19 based on 16S rDNA sequence.

**Table 2.** Degradation of PAHs by K-19 (plate assay).

PAHs	K-19
Indole	+
Naphthalene	+
Phenanthrene	+
Fluoranthene	-
Pyrene	-

+: Degradation  
 -: No degradation



**Fig. 2.** Relationship between phenanthrene degradation and growth of K-19.

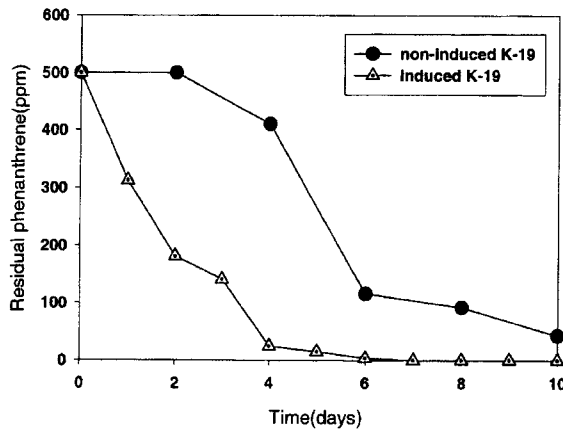


Fig. 3. Induction of phenanthrene degradation by pre-culture of K-19.

낮은 성장률을 보이는데, 이것은 세균이 PAHs의 분해 과정에서 상당량의 중간대사산물이 배지 내로 분비되기 때문으로 알려져 있다(8). 이전에 연구된 *Spingomonas* strain 1-21 (1)은 200 ppm의 phenanthrene이 포함된 배지에서 성장할 경우 OD<sub>660</sub>의 최대치가 약 0.06이었으며, *Pseudomonas* sp. AJ1(8)은 1,000 ppm의 phenanthrene이 포함된 배지에서 성장할 경우 OD<sub>660</sub>의 최대치가 약 0.1이었다. 하지만 이번 실험에서 분리된 균주는 500 ppm의 phenanthrene이 포함된 배지에서 OD<sub>660</sub>의 최대치가 0.37을 나타내므로 위에서 서술한 PAH 분해균주들 보다 월등히 높은 성장률을 나타내는 것으로 생각된다.

K-19를 500 ppm의 phenanthrene이 첨가된 최소액체배지에 전배양시킨 균체와 대조균으로 TSB에서 배양된 균체를 사용하여 PAH 분해 유도과 phenanthrene 분해의 상관관계를 실험하였다. Phenanthrene을 첨가한 최소액체배지에서 전배양된 실험균은 유도기의 과정 없이 바로 분해를 시작해 1 일만에 72.3%, 2 일에 93.5%, 3일 이후에는 98% 이상의 phenanthrene 분해율을 보여주었다. 그러나 TSB에서 배양된 대조균은 PAH 분해 유도기를 거쳐 3일 이후부터 본격적인 분해를 보여주었다(Fig. 3). 이러한 결과는 phenanthrene을 이용한 전배양 방법이 phenanthrene 분해 균주인 K-19의 phenanthrene 분해능을 증진시킴을 보여주는데, 아마도 분해효소의 생성이 유도되어진 결과일 것으로 생각된다.

이전에 보고된 *Spingomonas* strain 1-21의 경우도 phenanthrene이 첨가된 최소액체배지에 전배양함으로써 phenanthrene의 분해능을 증진시켰으며(1), *Mycobacterium* sp. C2-3의 경우엔 pyrene이 첨가된 최소액체배지에 전배양함으로써 pyrene의 분해능을 증진시켰다. 또한 PAHs의 분해가 surfactant나 humic acid를 처리함으로써 증진된다는 연구결과도 있었다(2).

지금까지 국내 토양에서 분리된 PAH 분해균주들에 대한 연구는 매우 빈약하지만, K-19와 같이 PAHs에 대한 분해능을 갖는 *Spingomonas* 속에 대한 많은 연구가 계속 진행됨으로써 유류에 의해 오염된 토양의 복원 및 생태계 유지에 도움을 줄 수 있는 것으로 사료된다.

## 감사의 말

이 연구는 2002학년도 단국대학교 대학연구비의 지원으로 연구되었습.

## 참고 문헌

1. 염태경. 1998. 유류 오염 토양에서 분리한 phenanthrene 분해균주의 특성. 이학석사학위논문. 단국대학교
2. 이일규. Hexadecane과 pyrene 분해세균의 분리 및 특성. 이학박사학위논문. 단국대학교
3. Bastiaens, L., D. Springael, P. Wattiau, H. Harms, P. Wachter, H. Verachert, and L. Diels. 2000. Isolation of adherent polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-degrading bacteria using PAH-sorbing carriers. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 1834-1843.
4. Berardesco, G., S. Dyhrman, E. Gallagher, and M. P. Shiaris. 1998. Spatial and temporal variation of phenanthrene-degrading bacteria in intertidal sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 2560-2565.
5. Cho, J. C. and S. J. Kim. 2001. Detection of mega plasmid from polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading *Spingomonas* sp. strain KS14. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 4, 503-506.
6. Fredrickson, J. K., D. L. Balkwill, G. R. Drake, M. F. Romine, D. B. Ringelberg, and D. C. White. 1995. Aromatic-degrading *Spingomonas* isolates from the deep surface. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 1917-1922.
7. Hedlund, B. P., A. D. Geiselbrecht, T. J. Bair, and J. T. Staley. 1999. Polycyclic aromatic hydrocarbon degradation by a new marine bacterium, *Neptunomonas naphthovorans* gen. nov., sp. nov. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 251-259.
8. Iwabuchi, T., K. Venkateswaran, S. Harayama, and H. Tanaka. 1994. Low growth yield of a marine *Pseudomonas* grown on phenanthrene: a general phenomenon in bacteria grown on polycyclic aromatic hydrocarbons. *J. Mar. Biotechnol.* 2, 11-14.
9. Kanaly, R. A. and S. Harayama. 2000. Biodegradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria. *J. Bacteriol.* 182, 2059-2067.
10. Kastner, M., B. J. Maren, and B. Mahro. 1998. Impact of inoculation protocols, salinity and pH on the degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and survival of PAH-degrading bacteria induced into soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 359-362.
11. Khan, A. A., R. F. Wang, W. W. Cao, W. Franklin, and C. E. Cerniglia. 1996. Reclassification of a polycyclic aromatic hydrocarbon-metabolizing bacterium, *Beijerinckia* sp. strain B1, as *Spingomonas yanoikuyae* by fatty acid analysis, protein pattern analysis, DNA-DNA hybridization, and 16S ribosomal DNA sequencing. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 46, 466-469.
12. Kim, E. B., P. J. Aversano, M. F. Romine, R. P. Schneider, and G. J. Zylstra. 1996. Homology between genes for aromatic hydrocarbon degradation in surface and deep-subsurface *Spingomonas* strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 1467-1470.
13. Kiyohara, H., K. Nagao, and K. Yano. 1982a. Rapid screen for bacteria degrading water-insoluble, solid hydrocarbon on agar plate. *Appl. Environ. Microbiol.* 43, 454-457.
14. Lane, D. J. 1991. 16S/23S rRNA sequencing, p. 115-175. In E. Stackebrandt and M. Goodfellow (ed.). *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*. John Wiley and Sons, New York, N.Y.
15. Maidak, B. L., N. Larsen, M. J. McCaughey, R. Overbeek, G. J. Olsen, K. Fogel, J. Blandy, and C. R. Woese. 1994. The Ribosomal

- Database Project. *Nucleic Acids Res.* 22, 3485-3487.
16. Moody, J. D., J. P. Freeman, D. R. Doerge, and C. E. Cerniglia. 2001. Degradation of phenanthrene and anthracene by cell suspensions of *Mycobacterium* sp. strain PYR-1. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 458-461.
  17. Saitou, N. and M. Nei. 1987. The neighbour-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4, 406-425.
  18. Stillwell, L. C., S. J. Thurston, R. P. Schneider, M. F. Romine, J. K. Fredrickson, and J. D. Saffer. 1995. Physical mapping and characterization of a catabolic plasmid from the deep-subsurface bacterium *Sphingomonas* sp. strain F199. *J. Bacteriol.* 177, 4537-4539.
  19. Takeuchi, M., T. Sakane, M. Yanagi, K. Yamasato, K. Hamana, and A. Yokota. 1995. Taxonomic study of bacteria isolated from plants: proposal of *Sphingomonas rosa* sp. nov., *Sphingomonas asaccharolytica* sp. nov. and *Sphingomonas mali* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 45, 334-341.

(Received February 14, 2003/Accepted October 7, 2003)

---

**ABSTRACT: Isolation and Characterization of PAHs Degrading *Sphingomonas* sp. K-19**

**Kyudong Han, Seong Hwan Kim, and Seung-Yeol Son\*** (Dept. of Microbiology, Dankook University, Cheonan 330-714, Korea)

We isolated a bacterium, K-19, which could degrade PAHs (polycyclic aromatic hydrocarbons) from a soil sample contaminated with PAHs. K-19 was cultured under the conditions where phenanthrene was a sole source of carbon and energy. It could also degrade other low molecular weight PAHs, such as indole and naphthalene, but could not degrade high molecular weight PAHs. Fatty acid composition analysis showed that it contained 2-hydroxy fatty acids and 18:1 $\omega$ 7, which are the characteristics of the genus *Sphingomonas*. Its phylogenetic analysis using 16S rDNA sequence data showed that it is closely related to *Sphingomonas* CF06 among microorganisms in Ribosomal Database. *Sphingomonas* sp. K-19 could degrade 500 ppm of phenanthrene completely within 10 days, and grew faster than other known organisms that could use phenanthrene as a sole source of carbon and energy. In addition, we found that its phenanthrene-degrading ability was enhanced by preculture, suggesting the possibility of induction of degrading enzymes.