廃水の環境適合型生物処理システムの構築

海野 肇^{1††}・邢 新会²・丹治保典¹

¹東京工業大学生命理工学部 生物工学科, 226-8501 横浜市緑区長津田町 4259

²横浜国立大学工学部 物質工学科, 240-8501 横浜市保土ヶ谷区常盤台 156

廃水処理プロセスは環境系に直結しており, 社会に受け入れられることを前提に検討しなければならない。また, 処理を求められている廃水に含まれる物質には, 非生物起源の化学物質も多く含まれておりその性状は単純ではない。生物化学的な処理法は複雑な物質の分解に対応できる多様な機能を持つ微生物の能力に期待している。処理対象物質の分解反応経路すべてを単一の微生物酵素系が触媒するとは限らないため, 複数の微生物機能を複合して処理系を構成することが重要になる。この過程で行われる馴養操作は, 特定の酵素群をコードした遺伝子を持つ微生物を準備し増殖させることと微生物コンソーシアムの構成を目指している。前者では, 人為的に構築した組換え微生物を利用するのではなく, 自然環境で生じている遺伝子伝達現象を利用することが一つのアプローチである。本論文では, これらの2つの点に視点を置き, 微生物機能の複合化を目指した担体担持微生物系を利用する有機物と窒素の同時気化処理, 難分解性物質分解のためのプロセス構成について検討し, あわせて廃水処理系における遺伝子伝達について検討した。

緒 言

産業や文明の発達に伴い種々の化学物質が含まれた廃水が発生している。廃水は発生量を低減する努力が行われ, また, 種々の処理が施されて河川, 湖沼あるいは海洋などの環境系に排出される。廃水中に含まれる汚染物質は最終的には無害化, 無機化して地球循環系に組み込まなければならない。

処理を求められる廃水の種類は極めて多様である。被処理成分は生活廃水に含まれる有機物, 窒素やリン, 各種の工業溶媒や農薬のような非生物起源の物質などが挙げられ, その性状も単純ではない。これらの廃水は物理的, 化学的, 物理化学的あるいは生物化学的な種々の技術によって処理される。なかでも, 生物処理に利用される微生物は極めて多様な能力を持ち, 生物起源の有機物はもとより非生物起源の物質も含めて複雑な物質の分解に対応できることが知られている。この機能にしたがって, 各種の処理プロセス技術が提案され実用化されている (Shokuhin Sangyo Clean Eco-System Gijutsu Kenkyu Kumiai, 1993)。

廃水処理に関わる微生物の能力は大きく分けて好気微生物群による酸化分解と嫌気微生物群による還元的分解で, その特性に応じて利用されている。物質によっては, 酸化反応だけでは最終分解に至らないものも多い。この場合, 別々の装置で嫌気と好気という異なる反応環境を設定したプロセスが稼働しているが装置効率は高くない。多くの微生物処理プロセスでは, 対象物質を分解する一連の酵素を生産する微生物群を集積する馴養操作が行われている。しかし, この微生物群の機能の発現と影響因子は未解明の部分が多く, 適切な操作体系はできていない。

特定の物質を生物化学的に分解するためには, その分解反応を触媒する酵素群をコードした遺伝子を持つ微生物を準備し, その遺伝子を発現することが考えられる。環境系へ漏洩する可能性を完全に否定できないとき, たとえそれが素晴らしい機能を示しても社会に受け入れられる実用技術とはなりえない。人為的に構

築した組換え微生物を利用することには慎重でなければならない。しかし, その遺伝子獲得現象が元来自然界に存在するものであれば, それは積極的に利用すべきである。この視点から現象を探索し効率的なプロセスを構築することが一つのアプローチと考えられる。また, 上述のように, 処理対象物質は複雑な反応経路を経て分解されるのが一般的で, 単一の微生物酵素系がすべての分解反応に与かるとは限らない。そのため, 複数の微生物機能を複合して処理系を構成するための系統的なアプローチも必要となる。

本論文では, 装置効率を向上するための微生物機能の複合化と社会受容性を考慮にいたった廃水処理プロセスの構築に視点を置き, 新たな処理プロセス構成の試みとこれに関係する微生物の調製について検討する。

1. 微生物反応プロセスの複合化

1.1 有機質と窒素成分の同時除去プロセス

有機質ならびに窒素成分は, どのような反応過程を経るにしても最終的には気体 (炭酸ガス, 窒素ガス) として得る。それぞれの物質の分解反応に関与する微生物種は異なっており, また, 酸素要求性, pH, 温度などの最適生育条件も様々である (Horan, 1990)。したがって, これらを同時に含む廃水の生物処理では幾つかの異なる微生物反応プロセスを組み合わせなければならない。

有機物と窒素成分に着目するとき, その同時除去処理は処理反応の最終生成物が両者とも気体であるという点でプロセス効率化の一つの目標となり得る。よく知られているように, 基質成分を有機物 (たとえばグルコース) および窒素化合物 (たとえばアンモニア) とするときその分解気化反応は Eqs. (1) - (4) の生物反応に従う。

なお, 上記の反応式では量論関係は考慮していない。

Eq. (1) に示すように有機質は酸化反応のみによって最終生成

† 1998 年 4 月 6 日受理

†† hunno@bio.titech.ac.jp

Fig. 1 Decomposition system of carbonaceous and nitrogenous compounds

Fig. 2 Porous particle for microbial retainment

Fig. 3 Simultaneous removal of carbonaceous and nitrogenous compounds by retained microbial system

物が得られるのに対し、窒素成分は Eqs. (2)–(4) に示す硝化反応（アンモニア酸化、亜硝酸酸化）と還元反応（脱窒反応）が必要である。窒素酸化物の還元反応は嫌気条件が要求されると同時にプロトン（H）ドナーとして有機物が必要とされる。Fig. 1 に示すように、この要件を満たすために少なくとも 1 つの好気反応槽と 1 つの嫌気反応槽が個別に必要とされる。

このプロセスを単純化するために好気および嫌気という相反する環境条件を一つの反応槽内に実現する複合化を考える。活性汚泥槽のような好気微生物反応槽に Fig. 2 に示す適切な多孔質担体を投入すると、浮遊している微生物が担体の多孔空間内に流体力学的に入り込み、そこで増殖して担持されてゆく（Xing *et al.*, 1991）。十分に微生物が担持されると担体表面近傍の好気微生物群による有機物酸化反応ならびに硝化反応によって溶存酸素が消費しつくされるため担体内部に無酸素領域が出現する。この領域に好気環境で生成した窒素酸化物と未反応の有機物が供給されると、通性嫌気性の脱窒細菌群の生育が可能となり、上記の同時除去反応が実現すると考えられる（Xing *et al.*, 1991, 1993, 1995; Agustiyani *et al.*, 1994）。

Fig. 3 は容積 $10 \times 10^{-3} \text{ m}^3$ の完全混合型活性汚泥槽に大きさ 15

Table 1 Efficiency of simultaneous removal of carbonaceous and nitrogenous substances by a retained microbial system

C/N [(mg L^{-1})/(mg L^{-1})]	Total nitrogen removal [%]	TOC removal [%]
100/40	40	90
100/20	60	90
150/20	80	95
200/20	85	95
300/40	50	70

Fig. 4 Microbial distribution in porous sheet

mm、平均孔径 1.47 mm の立方体の多孔質ポリウレタン粒子を投入して連続運転を行い、60 日後に回分操作に切り替えて担持微生物群の反応特性を調べた結果の一例である（Xing *et al.*, 1997 b）。図は有機物濃度、各態の窒素濃度と全窒素濃度の経時変化を示している。有機物成分と全窒素量の減少過程が明確に見られ、同時処理機能が実現している。脱窒反応が有機物の存在下でのみ進行していることから Eq. (4) の反応が進行していることも確認できる。Table 1 はこの担持微生物反応槽を用いて連続操作を行った場合の処理性能の一例である（Jun *et al.*, 1998）。原水（基質）の全有機質濃度（TOC [mg L^{-1}]) と有機質と窒素成分比（ TOC/N [(mg L^{-1})/(mg L^{-1})]）によって処理性能が変化している。これは各反応に関与する担持微生物群の量とそれらの存在量の割合、担体内の物質移動速度、溶存酸素濃度などが処理性能に関係していることによる。

この有機質および窒素の同時処理プロセスの性能を予測するためには、それぞれの反応を触媒する微生物量と原水成分との関係を明らかにする必要がある。担体内に担持されている機能別の微生物量分布に関する知見を得るために、担体と同じ多孔質ポリウ

Fig. 5 Paranitrophenol (PNP) degradation in retained and suspended microbial systems

レタンを薄い (厚さ 3 mm) シート状にしたものを積層し、それをリアクターの壁面に接して設置して一次的に (反応液に接している面から壁面に垂直に) 微生物を担持させた。1 日 1 回の Fill and draw 操作で基質成分濃度の日変化が定常状態に達した後、反応液に接しているシートから順次担持されている微生物を絞り出して調べた有機質酸化菌群、アンモニア酸化菌群、脱窒菌群の分布の一例を Fig. 4 に示す (Agustiyani *et al.*, 1994; Yanagida *et al.*, 1997)。有機質酸化菌群が溶存酸素濃度にしたがって担体表面近傍に分布するのは当然であるが、有機物酸化活性を有する微生物群が担体内部にも認められる。また、脱窒菌が嫌気的な内部だけでなく比較的表層部分にも分布している。この理由は、この Fill and draw 操作の反応系では担体内の好気領域と嫌気領域が経時的に変化する日変化を繰り返す複雑な系であることと、好気条件下で増殖した好気微生物群が嫌気環境になることによって死滅分解すること、脱窒菌は絶対嫌気性菌ではないことなどによる。このことは、物質収支式と適切な生物反応式 (Monod 式)、好気性微生物の死滅分解による新たな基質の生成などを考慮したモデルによって、Fig. 4 に示すように各菌群の分布が説明される。

上記の結果は、この担持微生物系の性能が、廃水成分、反応時間、担体の量などの操作変数だけでなく、担体内の各機能を分担する微生物量の関数になることを意味しており、今後それらの関係を明らかにしなければならない。

1.2 難分解性含窒素有機物の分解処理プロセス

1.1 で述べたプロセスの例は有機質と窒素成分が個別の物質として含まれている廃水の場合である。窒素を分子内に含む単一物質の酸化分解でも分解の過程で窒素酸化物が生成するため、上記処理プロセスの対象とし得る。含窒素有機物はタンパク質やアミノ酸のような生物起源の物質だけでなく、殺虫剤、除草剤、火薬など非生物起源でかつ分解しにくい物質の例が多い。また、反応の過程で生成する中間代謝産物の特性によりその物質に応じて担体内に微生物種の分布を構成することが期待できる。このことは上記の担持微生物プロセスが種々の難分解性物質の処理プロセスとして適用し得ることを示唆している。

Fig. 5 はパラニトロフェノール (PNP) を含むモデル廃水を

Fig. 6 Acclimatization process for Paranitrophenol (PNP) degrading microbes

Fill and draw 方式で上記の担持微生物プロセスに適用し、担体を用いない分散微生物を用いる方式と比較した一例である。固定化することにより 1 日の全窒素処理率が大きく増加した。PNP は酸化の初期段階で窒素酸化物を放出する。この酸化窒素は Fig. 3 と同様な脱窒反応過程を経て窒素分子に還元されていることがわかる。

2. 馴養過程

上記の担持微生物プロセスの結果はいずれもいわゆる長時間の馴養過程を経た結果である。馴養は目的の分解処理機能を備えた微生物を調製する際に取られる通常の手段である。毒性のある対象であればその濃度が十分低い状態から始めて順次濃度を高めて耐性がありかつ十分な反応活性のある微生物種 (集団) を集積する。

馴養機構が明確になればその特性に応じてより効率的なプロセスを構築できるはずである。反応経路の検討から、原物質より強い毒性を持つ中間代謝産物が生成する可能性がある場合には、原物質と中間代謝産物それぞれの分解反応に対応して微生物群を選択馴致させる馴養方法を考える必要がある。

2.1 馴養の機構

Fig. 6 は上記の担持微生物系と分散微生物系における PNP を含む模擬廃水に対する馴養過程の比較である。1 日 1 回の Fill and draw 方式で、また、PNP 添加濃度を 10 g m^{-3} ずつ増加させた。担持微生物系の馴養が分散微生物系のそれと比べて非常に早いことが認められる。また、Fig. 7 は除草剤の一種である 2,4 ジクロロフェノキシ酢酸 (2,4-D) を含む模擬廃水を等容積の 3 個の完全混合型反応器を直列的に配列した反応装置を用いて、引き抜き液を順送りする Fill and draw 方式で処理させるべく馴養した結果の例である (Xing *et al.*, 1997 a)。図には上記の全反応器容積 (1 個の反応器容積の 3 倍) を持つ 1 つの完全混合型反応器で同様に操作した結果を比較した。結果は、反応容積を分割した直列型反応操作による馴養過程の方が速やかであることを示している。Evans らにより示された分解経路の中間分解産物である 2,4 ジクロロフェノール (2,4-DH) は 2,4-D に比べて生物毒性が強いこ

Fig. 7 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) degradation by a three-reactors-in-series system (TSB) : comparison with single completely mixed reactor system (SB)

とが知られている (Evans *et al.*, 1971; Daughert and Karel, 1994). 上記の結果は、第1槽で2,4-Dの第一段の分解反応が生じ、生成した2,4-DHを含む反応液を引き抜いて第2反応器に送り、2,4-DHを分解し得る微生物群の馴養を第2槽以降に分担させた結果と考えられる。

馴養過程における微生物機能発現の機構は、1) 目的の反応活性を持った微生物種の選別、2) 目的の反応活性の誘導・発現、3) 目的の反応過程に適合した微生物集団 (microbial consortium) の構成、4) 遺伝子の伝達と増幅などが考えられる。Fig. 6の結果は、種々の機能を持った微生物群が担体内に構成され、結果的に3)の機構が主要な要因になっていると考えられる。しかしながら、1)2)4)の過程が重畳していることも考えられる。また、Fig. 7の結果は3)の過程を念頭に置いた馴養操作ではあるものの、やはり1)2)4)の過程が重畳していることも考えられる。

これまでに工業的に開発されてきた多くの純粋培養系の構築では、1)2)あるいは遺伝子操作のいずれかあるいはそれらの組み合わせによっている。処理対象が極めて特定されており、それが完全に閉じた装置内で行われるのであれば、遺伝子組換えによる微生物の調製は合理的な手段と考えられる。しかし、開放的な廃水処理プロセスへの応用では、純粋培養で調製した微生物を種菌として混合培養系に添加しても多くの場合成功しない。経験的に、その場にいる (土着) 微生物種に対して1)2)の機構を前提に増幅操作する場合の成功率が高い。最近注目されているバイオレメディエーションではこのことが特に顕著である (Hinchee *et al.*, 1994)。

開放的な廃水処理を考えると、物質生産プロセスで用いられている遺伝子操作をそのまま応用することは必ずしも効率的ではないし、緒言でも述べたように社会受容性の点から実際的ではない。一方、機構4)は、それが自然環境系で生じている現象であると確認できれば、これを積極的に利用することは社会受容性の点からも可能であろう。

2.2 遺伝子の水平伝達

廃水処理に関わる分解反応酵素の遺伝子は多くの場合プラスミド上にコードされている。当該のプラスミドを保持した微生物量を多くすることで処理プロセスの性能が向上する。上記機構1)で選別された微生物種を増殖させ、当該プラスミドを娘細胞に伝達させることにより所期の微生物を大量に調製し得る。これは従来

Fig. 8 Conjugational transfer of TOL plasmid from *Pseudomonas putida* to *Escherichia coli*

Table 2 Example of phages detected from municipal wastewater treatment plant

Bacterial strain	Phage concentration in activated sludge [$\times 10^5$ PFU L $^{-1}$]	Phage concentration in supernatant [$\times 10^5$ PFU L $^{-1}$]
<i>Escherichia coli</i> JA300	400	35
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1	80	10
<i>Pseudomonas putida</i> mt-2	60	15

から考えられていた馴養の一つの機構であり、遺伝子の垂直伝達と呼ばれる。これに対して、水平伝達とよばれ、当該のプラスミドが異種の微生物に伝達する現象がある。一旦水平伝達が行われると複数の種が垂直伝達によりその遺伝子を増幅することになり、馴養速度が促進される。水平伝達の機構には、形質転換、接合伝達、形質導入があるが、後者の2つは細胞濃度が高い状態でより生じ易くなると考えられる。1. で述べた担体内では微生物濃度が非常に高くなっており、遺伝子の水平伝達が生じている可能性が高い。Fig. 6の結果はこのことを示唆している。

Fig. 8は活性汚泥プロセスのような一般廃水処理系に存在する *Pseudomonas putida* から *Escherichia coli* への TOL プラスミドの接合伝達頻度を調べた一例である (Xing *et al.*, 1997 c). TOL プラスミドは芳香族化合物の分解酵素群をコードしているプラスミドである。得られた結果は、伝達頻度は小さいが一般廃水処理系で明らかに異種間の遺伝子伝達が生じていることを示唆している。一方、プラスミドは垂直伝達の過程で脱落することも少なくない (Shuler and Kargi, 1992)。プラスミドの脱落と操作変数を含む諸因子との関係を明確にすることが今後の一つの課題と考える。

Table 2は活性汚泥系で検出された、それぞれの微生物に感染し得るファージの例である。これらのファージを介して形質導入による遺伝子伝達が行われることも考えられる。Fig. 9はモデル系として P1 ファージによる *E. coli* への形質導入に及ぼす共存固体粒子の影響を調べた結果の一例である。ベントナイトやカオリンは開放系の廃水処理では常に混在する固体粒子である。物質の種類にもよるが、共存固体の存在が形質導入を促進していることが認められる。これは固体表面近傍にファージおよび微生物が吸着あるいは濃縮されてそれらが接触する頻度が大きくなった結果と考えられる。この結果は、担持微生物、微生物フロク、あるいは、底泥の堆積などで形質導入が頻繁に進行していることを示唆するものである。

接合伝達あるいは形質導入では、特定の微生物種あるいはファージの組み合わせであることが必要であり、自然環境に存在する

Fig. 9 Factors affecting on the transduction efficiency by P1 phage

これらの組み合わせとその伝達特性が明確になれば、その原理に従って新たな生物処理プロセスを構築することとその操作設計を行うことが可能になる。

結 言

開放系プロセスとなることが多い廃水処理プロセス技術は社会受容性を考慮に入れて検討すべきである。その基本的な考え方は自然環境に既に存在する微生物現象を抽出・増幅することが一つの方法であろう。この考え方にしがたった廃水処理プロセスを検討するためには、利用できる現象と関係する因子を明確にしなければならない。通常行われる微生物による処理プロセスでは環境系に存在する微生物を用いる馴養操作によって機能を発現している。この過程は、微生物種の選別、活性の誘導発現、microbial consortiumの構成、遺伝子の伝達が挙げられるが、その現象の整理と関係因子を明らかにすることによってより合理的なプロセス構成が可能になると考えられる。

[謝 辞] 本研究は Dwi Agustiyani (現在: LIPI (インドネシア)), 吉野達也(現在: 日レイ), 柳田眞里(現在: P&G), Niniek Fajar Puspita (東京工業大学大学院学生) の諸氏に実験の協力を頂いたこと、また、イノアック(株)から多孔質担体を供与頂いたことを付記し、謝意を表します。

Literature cited

- Agustiyani, D., X.-H. Xing, N. Shiragami and H. Unno; "Distribution of Microbial Species Retained in Porous Substratum Capable of Simultaneous Removal of Organic and Nitrogenous Substances in Wastewater," Proceedings of The 3rd APBioChEC, p. 835-837, Singapore (1994)
- Daughert, D. D. and S. F. Karel; "Degradation of 2,4-D by *Pseudomonas cepacia* DB 01 (PR 0101) in a Dual-Substrate Chemostat," *Appl. Environ. Microbiol.*, **60**, 3261-3267 (1994)

- Evans, W. C., B. S. Smith, H. N. Fernly and J. I. Davies; "Bacterial Metabolism of 2,4-Dichlorophenoxyacetate," *Biochem. J.*, **122**, 543-551 (1991)
- Hinchee, R. E., D. B. Anderson, F. B. Metting, Jr. and G. D. Sayles; *Applied Biotechnology for Site Remediation*, Lewis Publishers/CRC Press, Boca Raton, U.S.A. (1994)
- Horan, N. J.; "Microorganisms Exploited in Wastewater Treatment," *Biological Wastewater Treatment System*, N. J. Horan. ed., p. 107-182, John Wiley & Sons, Chichester, England (1990)
- Jun, B.-H., X.-H. Xing, Y. Yanji and H. Unno; "Simultaneous Removal of Organic and Nitrogenous Substances in Wastewater of High C/N Ratio and High Nitrogen Concentration by a Continuous-Flow Fluidized-Bed Bioreactor Using Porous Carriers," Proceedings of The 32nd Nihon Mizukankyou Gakkai Nenkai, p. 65, Chiba, Japan (1998)
- Shokuhin Sangyo Clean Eco-System Gijutsu Kenkyu Kumiai ed., *Saishin Bio-Mizushori Gijutsu Kenkyu Kumiai*, Kouseisha Kouseikaku, Tokyo, Japan (1993)
- Shuler, M. L. and F. Kargi; "Utilizing Genetically Engineered Organisms," *Bioprocess Engineering*, p. 395-430, Prentice-Hall, New Jersey, U.S.A. (1992)
- Xing, X.-H., H. Honda, N. Shiragami and H. Unno; "Characteristics of Microbial Community Retained in Porous Support Particles for Degradation of Organic Wastewater," *Kagaku Kogaku Ronbunshu*, **17**, 524-530 (1991)
- Xing, X.-H., H. Honda, N. Shiragami and H. Unno; "A Model Analysis of Microbial Retainment Process in Porous Support Particles in a Fluidized-Bed Wastewater Treatment Reactor," *J. Chem. Eng. Japan*, **25**, 89-95 (1992)
- Xing, X.-H. and H. Unno; "Development of Effective Treatment Process of Carbonaceous and Nitrogenous Substances in Wastewater by Using Aerobic Denitrification Phenomenon," *Mizushori Gijyutsu*, **34**, 429-437 (1993)
- Xing, X.-H., N. Shiragami and H. Unno; "Simultaneous Removal of Carbonaceous and Nitrogenous Substances in Wastewater by Continuous-Flow Fluidized-Bed Bioreactor," *J. Chem. Eng. Japan*, **28**, 525-530 (1995)
- Xing, X.-H., N. F. Puspita and H. Unno; "Enhanced Degradation of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid by an Activated Sludge in a Sequentially Arrayed Three-Stage Bioreactor," *J. Chem. Eng. Japan*, **30**, 11-14 (1997 a)
- Xing, X.-H., M. Yanagida, Y. Tanji and H. Unno; "Simultaneous Removal of Organic and Nitrogenous Substances in Wastewater by a Continuous-Flow Fluidized-Bed Bioreactor with Cohabitation of Aerobic and Anaerobic Microbes," Proceedings of The 31st Nihon Mizukankyou Gakai Nenkai, p. 248, Fukuoka, Japan (1997 b)
- Xing, X.-H., T. Yoshino, Y. Tanji and H. Unno; "Analysis of Horizontal Gene Transfer in a Mixed Bacterial Culture for Effective Biodegradation of Xenobiotic Chemicals," Proceedings of The 4th APBioChEC, p. 1099-1102, Beijing, China (1997 c)
- Yanagida, M., X.-H. Xing, Y. Tanji and H. Unno; "Microbial Population Distribution in Porous Carrier in Fluidized-Bed Bioreactor for Simultaneous Removal of Carbonaceous and Nitrogenous Compounds: Numerical Simulation Based on Experimental Distributions," Proceedings of The 4th APBioChEC, p. 1085-1088, Beijing, China (1997)

Environmentally-Adapted Biological System for Treating Wastewater

HAJIME UNNO¹, XIN-HUI XING² and YASUNORI TANJI¹

¹*Department of Bioengineering, Tokyo Institute of Technology, Yokohama 226-8501*

²*Department of Bioengineering, Yokohama National University, Yokohama 240-8501*

Key words: biological wastewater treatment, simultaneous removal, acclimatization, microbial consortium, gene transfer.

As the wastewater treatment process is directly related to the environmental process, its technology should be accepted to the public. Substances included in wastewater are so variable such as not only biological origin but also xenobiotic that their physical and chemical properties are very much complicated. Their biological treatment process is to utilize the versatile characteristics of microbes. Degradation pathway of a target chemical is generally composed of many enzymatic reactions so that one microbial species does not necessarily produce all enzymes for the reactions, which implies the necessity of constructing microbial consortium. During the startup of the biological wastewater treatment process the acclimatization process, which is considered to prepare microbes carrying plasmid encoding the necessary enzymes and also to construct microbial consortium, is needed. Taking the reception by the public into consideration, microbial preparation will not be done by a so-called artificial genetic manipulation but utilizing the gene transfer phenomena observed in the natural environment. In the present paper, by setting the above two views as a steering concept a composite microbial system consisting of porous carriers aiming at the simultaneous removal of carbonaceous and nitrogenous compounds, and a system for degrading a xenobiotic compound are examined. In addition, gene transfer which may appear in the wastewater treatment system is also discussed.