

海水活性汚泥の微生物相、とくにフロックの構造性について

田邊幾之助・木佐木博・原田元弘・川路博志

(応用微生物学研究室)

昭和56年8月10日受理

On the Microflora of the Sea-Water-Activated-Sludge, Especially on the Microbiological Structure of a Floc

Ikunosuke TANABE, Hiroshi KISAKI, Motohiro HARADA and Hiroshi KAWAJI

(Laboratory of Applied Microbiology)

緒 言

南九州の主要な地場産業である旧式焼酎の蒸溜廃液の処理に海水活性汚泥法が有効であることはすでに証明して来た^{3, 4, 5, 7)}。また、この方法を効果的に機能させるためには海水活性汚泥がどのような微生物間のバランスに依存しているかを明らかにし、それに適した微生物管理を行なわなくてはならない。それでこの線に沿ってすでに従来法による海水活性汚泥の微生物相を明らかにし、ワーリングブレンダーの切削効果を考慮すると汚泥の構成的な細菌相は *flavobacteria*, *Achromobacter-Pseudomonas* 群および *Corynebacterium roseum* から成り立っていると推定した⁶⁾。ここでこのような細菌から成り立っている海水活性汚泥の構成単位であるフロック中の微生物の分布・構成を明らかにすることは従来法による総括的な微生物相が汚泥全体を一つの単位とみるのに対し、単位のレベルをフロックとし、フロックのレベルで浄化能・フロック形成等を検討する第一歩であろう。例えば、自然に存在するフロックのような微生物学的に不均一系の生物

塊にはその表層と内部とでは生育のための環境条件、とくに酸素分圧の点ではある程度差があるものと思われる。従って、フロック全体を低酸素分圧下におくと内部の低酸素分圧がフロック表層部にまで及び、フロック構成の微生物相もこの変化に対応しよう。

この報告はフロックの微生物学的な構造性について、従来法で得られた情報と組合せて検討を行っている。

材料と方法

フロック内部を構成する微生物種をフロック全体に優越させて分離・検出するため、活性汚泥を人為的に低酸素分圧下に置く方法をとった。すなわち、曝気を止め活性汚泥を静置し、時々手で振盪して上清と混合する程度として、COD 負荷量 $0.03\text{kg/m}^3/\text{day}$ で半連続処理を行った。また、対照として COD 負荷量 $0.3\text{kg/m}^3/\text{day}$ で曝気を行う半連続好気処理を行った。その他の処理条件は表 1 にまとめた。

活性汚泥試料の調製および微生物の分離・同定は 3

Table 1. Treating-conditions for a semi-continuous treatment of the Shôchû-distiller's slops by an activated sludge

	aerobic condition	facultatively anaerobic condition
pH	6.5~7.5	6.5~7.5
temperature, °C	25°	25°
aeration, l/min	3.0~3.5	0
COD-loading, kg/m ³ /day	0.3	0.03
sludge, vol. %	12	12

* この研究は文部省科学研究費特定研究の研究補助金を受けて行ったものの一部で、昭和51年2月2日の研究成果発表会(特定研究“微生物による環境浄化”研究報告, p. 336-338)で、また昭和51年10月10日の日農化関西支部・西日本支部合同大会(高知大学朝倉校舎、高知市、講演要旨集 p. 38)でも口演した。さらに、「環境改善技術の微生物生態学に関するシンポジウム」(北海道大学農学部、昭和52年8月26日、講演要旨集 p. 1-2), 日農化西日本支部大会シンポジウム「微生物による難分解物の処理」(熊本工業大学、昭和54年11月10日、講演要旨集 p. 23), および「汚染防除技術における微生物の生態」シンポジウム(東京大学農学部、昭和55年1月8日、研究報告 p. 109-123)でその一部として口演した。

週間毎に前報と同様の方法で行った⁶⁾。なお、図表中の記号に Ss-1, Sa-4, Tb-5, Sb²-4, Ta³-5 とあるが、S は海水活性汚泥試料、T は水道水活性汚泥試料、s, a, b はそれぞれ活性汚泥が実験出発時のもの、対照である好気処理のもの、低酸素分圧下に置かれたもの（通性嫌気処理試料）、又、b², a³ はそれぞれ通性嫌気処理 2 実験期間、好気処理 3 実験期間であることを示す。1 実験期間は 3 週間であるから、a は好気処理 3 週間目の活性汚泥試料、b² は通性嫌気処理 6 週間目、a³ は好気処理 9 週間目ということである。

実験の全過程において海水活性汚泥の対照として水道水活性汚泥を実験に供した。

結果および考察

1. 直接観察

海水活性汚泥は 0.1~0.2mm 程度の微生物塊であるフロックから成り立っている。このフロックを直接常法によりグラム染色するとグラム反応の異なるいくつかのミクロコロニー microcolony が認められた（写真 1）。さらに焦点を少しずらして断層撮影のように顕微鏡写真をとると表層だけでなく内部までも同じようにグラム反応が相互に異なるいくつかのミクロコロニーで出来上っており、微生物学的な構造性があることが確かめられた（写真 2）。

2. 分離

次に、以上の結果から、フロックはとくに細菌種について不均一系であると推定出来る。また、フロックを構成する細菌の多くは好気性であることを考慮に入れると、フロックの表層部と内部とでは酸素分圧にある程度の差が出来ているものと考えられる。従って、逆にフロック全体を低酸素分圧下におくと内部の低酸

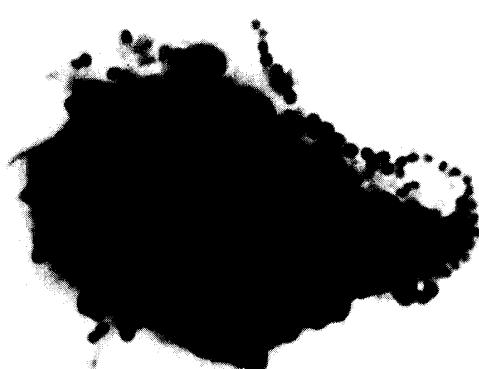


Photo 1. Gram-stained floc, focused on the level of a slide-glass

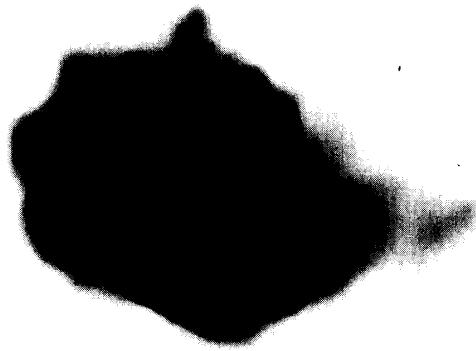


Photo 2. Gram-stained floc, focused slightly above the level of a slide-glass

素分圧が表層部にまでおよび、フロックを構成する細菌もこれに対応して、通常ならばフロック内部を構成するものが表層部の微生物相の主要な構成細菌になるものと思われる。この状態のフロックから微生物を分離すると耐低酸素分圧性のフロック内部に優越すると思われる細菌を確かめることが出来るという判断である。

まず、分離培地上に出現したコロニーをその形態・色によって類型化し、コロニー型として、各コロニー型ごとに計数する。次に、各コロニー型ごとになるべく雑菌混入のない典型的なコロニーを 2 つ以上選び鈎菌し、斜面培養とした。これらをぶどう糖軟寒天培地による糖利用と運動性、硝酸還元性、ゼラチン液化、リトマスミルクによってグルーピングし、純粋分離を行って同定実験に供した。この結果と各コロニー型ごとの計数とをつき合せて問題の検討を行った。

3. 分離細菌の同定検索

ここで分離された細菌については BERGEY's Manual 8 版²⁾ でもあまりよく整備されていないのとここではなるべく区分けを忠実に示したいので、便宜的な手段として微生物名として普通名詞を多用した。とくに、coryne-form bacteria 群では全て色素産生能を組合せた普通名詞を使用した。また、海水活性汚泥における flavobacteria については BRISOU の記載¹⁾ や ZOBELL & UPHAM の記載⁸⁾ は現在そのままでは使われていないが、幾つかの海産種を表すのに便利なので使用することにした。この結果は、海水活性汚泥からの分離細菌は表 2、水道水活性汚泥からのものは表 3 に示した。また、これらの表にはそれぞれの細菌の性質のうち代

Table 2. Bacterial isolates from the sea-water-activated-sludge

colony-forms	type-strains	Gram shape motile catalase oxidase sugar-util. nitrate-red. starch-hyd. gelatine-liq. H ₂ S-prod. citrate-util. gluconate-util. glutamate-util. p-OH-benz.-util. milk-reaction opt. temp.	chromogenesis	identification
flav 1	Sa-5-3	- R - + ± - - - + - ~ ~ ~ ~ - 30°	reddish orange	<i>Fl. xanthochrus</i>
flav 2	Sb-4-2	- R - + + - + - - - ~ ~ ~ ~ - 28°	yellow orange	
	Sb-1-2			
flav 7	Sb-5-3	- R + + - - - - - ~ ~ ~ ~ - 28°	yellow	<i>Fl. sp.</i>
	Saa-3			
flav 8	S-5-1	- R + + - - + - - - ~ ~ ~ ~ A 37°	reddish yellow	<i>Fl. sp.</i>
ps 1	S-1-10 Sb-5-14	- R + P + + ± + + - ~ ~ + + - 37°		<i>Ps. azotogena</i>
ps 4	S-1-11 Sbb-9	- R + + + ± + - - - ~ ~ + ~ - 37°		<i>Ps. azotogena</i>
ps 5	Sb-1-4	- Sp + + + Ox - + + - ~ ~ + ~ - 37°		(<i>Ps. azotogena</i>)
ps 6	Saa-13 Sb-5-10	- R + P + + ± + - - - ~ ~ ~ ~ - 27°	fluorescent	<i>Ps. fluorescens</i>
ps 9	Sb-1-3	- R + + + Ox - - - - ~ ~ ~ ~ - 35°		<i>Ps. sp.</i>
arthr 1	Sbb-16	+ R - + - - + - - - ~ ~ ~ ~ A 35°		<i>Arthr. sp.</i>
arthr 2	Saa-12	- Sp + P + + ± + - - - ~ ~ ~ ~ A 35°		(<i>Ps. azotogena</i>)
yel-cor	Sa-5-6	+ R - + - - + + - - ~ ~ ~ ~ - 30°	pale orange	
or-cor	Sb-5-7	+ R - + - - - - - ~ ~ + ~ - 37°	orange	
pink-cor	Sbb-3	+ R - + - - - - - ~ ~ + ~ - 37°	light orange ~ pink	
spr	Sb-5-1	- Sp + + + - + - - - ~ ~ ~ ~ - 25°	orange	<i>Spirillum serpens</i>
bac 1	S-5-3	+ R + + + - - - + - ~ ~ + ~ - 42°		<i>Bacillus sp.</i>
bac 2	Sa-4-2 Sbb-13	+ R + + - Ox - - - - ~ ~ ~ ~ + 40°		<i>Bacillus sp.</i>

表的でしかもその株を概念的に把握するのに便利な性質を同時にあげておいた。

表2中, ps 1 および ps 4群を *Pseudomonas azotogena* としたが, 海水試料中には非常に多く普遍的な種である。ただ, ps 1 群には fluorescent pseudomonad である *Ps. fluorescens* が一部含まれており, また ps 6 群は同じく *Ps. fluorescens* であった。

水道水活性汚泥の ps 2 群の細菌もぶどう糖利用, 濃粉水解以外の点では *Ps. stutzeri* に一致する。ただ, ぶどう糖利用で酸生成の程度が低くみえるのは軟寒天に穿刺した細菌が穿刺後早い時期に好気的に活発に動き軟寒天表層部に集ってしまうためと, この菌のもつ活潑なアンモニア化成によって, 実際より酸生成が弱くみえるものと判断出来た。

4. 海水活性汚泥の微生物相の変動

表4は海水活性汚泥の好気条件下と低酸素分圧下の

細菌相の変化を示したものである。Ss-①, Sa-①, Sb-①はそれぞれ出発時, 通気半連続処理3週間, 静置低酸素分圧下半連続処理3週間の海水活性汚泥の上清, すなわち処理水の微生物相であり, 数字の①の代りに④の場合は海水活性汚泥をブレンダー処理しないで, そのまま稀釀平板した時の細菌相, 数字が⑤の時はブレンダー処理後稀釀平板した場合で, いずれも前報と同じ記号である⁶⁾。生菌数でみるとブレンダーの切削効果は充分とはいえないが, 出発時試料 Ss をブランクとして好気下試料 Sa と低酸素分圧下試料 Sb を比較するとわずかではあるが微生物相変化の方向性が読みとれる。とくに試料⑤は切削効果によって表在性のものが強調される傾向にあり, 比較的 mixed colony の形をとり易い試料④が結果を読みとりにくいくこと対象的である。試料⑤での変化をみると *pink coryne-form bacteria* に認められるものが著しい。こ

Table 3. Bacterial isolates from the tap-water-activated-sludge

colony-forms	type-strains	Gram	Shape	motile	catalase	oxidase	sugar-util.	nitrate-red.	starch-hydr.	gelatine-liq.	H ₂ S prod.	citrate-util.	gluconate-util.	glutamate-util.	p-OH-benz-util.	milk-reaction	opt. temp.	chromogenesis	identification
flav 1	Ta-1-2 Taa-8	-	SR	+	++	Ox	-	++-	-	~	~	~	~	~	-	30°	reddish yellow	<i>Fl. rigense</i>	
flav 2	Tbb-12	-	R	+	+-	-	-	-	-	~	~	~	~	~	-	25°	reddish yellow		
flav 4	Taa-5	-	R	+	++	-	-	-	-	~	~	~	~	~	-	35°	reddish yellow		
flav 9	Tb-1-1	-	R	-	+-	-	-	+ -	-	~	~	~	~	~	-	25°	light reddish yellow		
ps 1	Ta-5-7 Tb-5-8	-	Sp + P	++	Ox	+	-	-	+	+	+	~	-	28°					
ps 2	Tb-4-2 Tb-5-10	-	R + P	++	±	+	-	-	+	+	+	+	+	-	37°		<i>Ps. stutzeri</i>		
ps 3	Ta-1-5 Tb-5-5	-	R	+	++	-	+	-	-	+	+	+	+	A	30°			<i>Alc. faecalis</i>	
arther	Ta-4-7	+	R	-	+-	Ox	+	-	-	~	~	~	~	~	-	40°			
wh-cor 1	T-5-6 Tb-5-9	+	SR	+	+-	Ox	+	-	-	+	+	+	+	A	30°				
wh-cor 2	Ta-5-9	+	LR	+	+-	-	+	-	-	~	~	~	~	~	-	35°			
yel-cor	Tb-5-3	+	SR	+	+-	Ox	-	-	+	-	~	~	~	~	-	30°	pale yellow		
or-cor	Tbb-2	+	R	-	+-	-	+	-	-	+	+	+	+	~	-	35°	yellow orange ~pale salmon pink		
pink-cor	Ta-1-1	+	SR	-	+-	Ox	+	-	-	-	+	-	+	-	30°		sea-shell pink		
spr	Tb-5-2	+	SR	-	+-	Ox	+	-	-	-	+	-	+	-	30°		orange		
bac 1	Tb-4-11	+	R ^{1,2}	±	+-	Ox	+	-	+	-	(+)	+	~	+	37°			<i>B. cereus</i>	
bac 2	Ta-4-3	+	R ^{1,4}	±	+-	Ox	-	+	-	+	(+)	+	~	(+)	42°			<i>B. megaterium</i>	
act.																		<i>actinomycetes</i>	

れを、さらに長期間処理を続けて観察した場合の各試料の⑤についての表 5 をみるとこの傾向が一層はっきりとしてくる。*pseudomonads* 群の微生物相の揺動は解釈しにくいが、*flavobacteria* 群と *pink coryne-form bacteria* の微生物相中での変化は方向性を認めることができるもの。すなわち、好気下での微生物相は *flavobacteria* と *pseudomonads* が主で、フロックは表層をこれら 2 群の微生物のミクロコロニーによって被われた *flavobacteria-pseudomonads* 型であると思われる。

一方、低酸素分圧下のフロックは *pink coryne-form bacteria* が 40% 近くのシェアをもっているが、これらが増殖して大きな比重を示すというよりも、*flavobacteria* の減少で相対的に増加したものと考えた方がよいと思われる。前報までの結果もこの判断を支持するだろう^{3,4,6)}。従って、海水活性汚泥では通気条件の変

動に影響を受けやすい *flavobacteria* はフロック表層部でこそよく活動出来るが、フロック内部に埋り周囲を好気性の細菌にとりかこまれると自然に衰退してしまうものと思われる。一方、*pink coryne-form bacteria* は低酸素分圧に耐えるという判断よりも、表 5 の試料 Sa^2 と Sa^3 で *pink coryne-form bacteria* は好気条件で消滅するのでもないところから、かなり低酸素分圧でよく生育出来るし、必要以上の酸素分圧に対しては independent であるとみなした方がよい。以上から海水活性汚泥のフロックの構造について推論すると、通常の好気処理ではフロック微生物相の基本は *flavobacteria-pseudomonads* 型でフロックの生長とともに内部では *flavobacteria* が消滅して *pink coryne-form bacteria-pseudomonads* 型になっているものと思われる。

一方、水道水活性汚泥の場合も海水活性汚泥の場合

Table 4. Bacterial flora in the sea-water-activated-sludges semi-continuously treating the Shôchû-distiller's slops under an aerobic, or an anaerobic condition

samples viable counts per ml sludge volume	Ss-①	Ss-④	Ss-⑤	Sa-①	Sa-④	Sa-⑤	Sb-①	Sb-④	Sb-⑤	%
	2.3×10^5	5.6×10^6	4.1×10^8	3.4×10^6	1.1×10^8	4.1×10^8	7.7×10^5	6.1×10^7	3.6×10^8	
flav 1			21	3	2	8		2	19	
flav 2						2		1		
flav 7						11				2
flav 8			37			17				
ps 1	31	28		30	25	49		43	17	
ps 4	14	28	12					71	26	9
ps 5								8		
ps 6										
ps 9										
arthr 1										
arthr 2										
yel-cor						12				2
or-cor										
pink-cor	39	14		65	62			12	38	
spr							12	8	4	
bac 1			7							
bac 2	14	28	22							

*Ss, Sa, and Sb: = in Table 5.

①, ④, and ⑤: Microflorae of the samples, supernatant, not homogenated sludge, and homogenated sludge, respectively.

Table 5. Bacterial flora in the sea-water-activated-sludges semicontinuously treating the Shôchû-distiller's slop under an aerobic, or an aerobic condition

samples viable counts per ml sludge volume	Ss-⑤	Sa-⑤	Sa ² -⑤	Sa ³ -⑤	Sb-⑤	Sb ² -⑤	%
	4.1×10^8	4.1×10^8	9.9×10^8	8.7×10^8	3.6×10^8	3.7×10^7	
flav 1	21	8	48	49	19		
flav 2					2		
flav 7		2					
flav 8	37	17					
ps 1		49			17	16	
ps 4		12			9	14	
ps 5			18	21			
ps 6			6				
ps 9							
arthr 1				10		15	
arthr 2			14				
yel-cor		12		12	2		
or-cor						3	
pink-cor			11	1	38	37	
spr		12	3		4		
bac 1	7						
bac 2	22						

*Ss: Microflora of the activated sludge at a start of treatment. Sa, Sa², and Sa³: Microflorae of the aerobic activated-sludge after 3 weeks, 6 weeks, and 9 weeks treatments, respectively. Sb, and Sb²: Microflorae of the anaerobic activated-sludge after 3 weeks, and 6 weeks treatments, respectively.

Table 6. Bacterial flora in the tap-water-activated-sludges semi-continuously treating the Shôchû-distiller's slops under an aerobic, or an anaerobic condition

samples viable counts per ml sludge volume	Ts-①	Ts-④	Ts-⑤	Ta-①	Ta-④	T-a⑤	Tb-①	Tb-④	Tb-⑤
	4.5×10^4	10^8	3.6×10^8	9.6×10^5	3.9×10^8	4.2×10^8	2.0×10^7	1.7×10^8	6.4×10^8
flav 1				5		21			
flav 2									
flav 4	16	40	53	5		26		10	4
flav 9									2
ps 1		20	17	9	50	31	45		31
ps 2	13			8				38	14
ps 3				32					8
arthr		20	17		21	11			
wh-cor 1			6					25	
wh-cor 2	9					10		15	1
yel-cor					21				
or-cor									
pink cor	60	10	6	40					13
spr							5	56	14
bac 1								1	8
bac 2									
act.									

*Ts, Ta, and Tb: = in Table 7.

(1), (4), and (5): Microflorae of the samples, supernatant, not-homogenated sludge, and homogenated sludge, respectively.

Table 7. Bacterial flora in the tap-water-activated-sludges semi-continuously treating the Shôchû-distiller's slops under an aerobic, or an anaerobic condition

samples viable counts per ml sludge volume	Ts-⑤	Ta-⑤	Ta ² -⑤	Ta ³ -⑤	Tb-⑤	Tb ² -⑤
	3.6×10^8	4.2×10^8	1.8×10^9	1.5×10^9	6.4×10^8	7.2×10^8
flav 1		21	31	7		
flav 2						14
flav 4	53	26	36	10		1
flav 9					2	
ps 1	17	31		42	31	20
ps 2					14	
ps 3					8	
arthr	17	11				
wh-cor 1	6		6	15		
wh-cor 2		10				
yel-cor				16		
or-cor						
pink-cor	6				13	50
spr.			7		14	
bac 1			6	1		
bac 2					8	
act.			6			

*Ts: Microflora of the activated sludge at a start of treatment. Ta, Ta², and Ta³: Microflorae of the aerobic activated-sludge after 3 weeks, 6 weeks, and 9 weeks treatments, respectively. Tb, and Tb²: Microflorae of the anaerobic activated-sludge after 3 weeks, and 6 weeks treatments, respectively.

と同じようにフロックに微生物学的な構造性があるものと判断出来る結果であった(表6, 表7)。とくに, *pink coryne-form bacteria* (*spr* も水道水活性汚泥の場合これと同じ種であった) の場合は海水活性汚泥のものとも同一種でやはり *flavobacteria* の増減と関連している。あるいは、この両者の関係は海水活性汚泥よりもさらに明解かも知れないが、直接的な拮抗ではなく海水活性汚泥と同様、両者それぞれの特性によって互に独立に変化したと解釈する方がよいと思われる。

要 約

海水活性汚泥は 0.1~0.2mm の微生物塊であるフロックの集合体であるが、フロックは顕微鏡観察でさらにグラム染色性の異なるいくつかのミクロコロニーから出来上っていることが確かめられた。このフロックの微生物学的な構造性を検討するため海水活性汚泥全体を低酸素分圧下において微生物相を調べた。すなわち、フロックを構成する微生物は多くは好気性であることを考慮に入れるとフロックの表層部と内部とでは酸素分圧に差が生じているものと推定出来るので、海水活性汚泥全体を低酸素分圧下におくと耐低酸素分圧性のフロック内部の微生物にフロック全体が被われることになろう。

低酸素分圧下におき、COD 負荷量 0.03kg/m³/day で半連続処理をした場合の海水活性汚泥の微生物相を通常の好気処理中の海水活性汚泥と比較すると通気条件に感受性の高い *flavobacteria* が消滅し、*pink coryne-form bacteria* が増加し、微生物相は *pink coryne-form bacteria-pseudomonads* 型に移行する。のことからフロックの微生物学的構造は表層部は

flavobacteria-pseudomonads 型であるのに対し、内部は *pink coryne-form bacteria-pseudomonads* 型であるものと思われる。

対照として検討した水道水活性汚泥でも海水活性汚泥とほぼ同じ結果であった。

文 献

- 1) Brisou, J.: *Microbiologie du Milieu Marin*, Editions Médicales Flammarion (1955)
- 2) Buchanan, R. E. (editor): *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th ed., The Williams and Wilkins Co., Baltimore (1974)
- 3) Tanabe, I.: Microbiological studies of the sea water activated sludge, *Microbiology for Environment Cleaning, Scientific reports of the research project, "Environment Cleaning by Microorganisms, 1974-1977"*, 74-86 (1978)
- 4) 田邊幾之助: 旧式焼酎蒸溜廃液の海水活性汚泥による処理とその微生物生態学的局面, 「環境科学」研究報告, 環境汚染物質の生物変換・汚染防除技術における微生物の生態, 109-123 (1980)
- 5) Tanabe, I., Fujii, M., Kamimura, Y., Yoshii, S., Kuboyama, H., Nagata-Maehara, T., Kawaji, H., and Sonoda, T.: Studies on the biological treatment of the Shôchû-distiller's slops by the sea-water activated sludge, *Mem. Fac. Agr. Kagoshima Univ.*, 15, 131-143 (1979)
- 6) 田邊幾之助・上村幸広・吉井右・木佐木博・藤井正範: 海水活性汚泥の微生物相、とくに従来法による常在微生物相について、鹿大農学術報告 No. 31, 33-39 (1981)
- 7) 田邊幾之助・田実博美・真角孝則・上村幸広・吉井右・久保山宏・前原哲勝・大林晃: 旧式焼酎醸造の微生物学的研究(第4報) 蒸溜廃液の処理について、鹿大農学術報告 No. 24, 171-180 (1974)
- 8) ZoBell, C. E. and Upham, H. C.: A list of marine bacteria including descriptions of sixty new species, *Bulletin of the Scripps Institution of Oceanography of Univ. Calif.*, 5(2), 239-292 (1944)

Summary

The sea-water-activated-sludge consists, collectively, of a great number of flocs, or a bacterial mass with size of 0.1 to 0.2 mm, which also was a colony composed of several microcolonies in possession of varying shades of Gram-staining on observation under a microscope. For approaching the microbiological structure of a floc, the microflora in the sea-water-activated-sludge put under a low partial-pressure of oxygen was investigated. Compared with the surface of a floc, the inner portion of a floc seems to be more deficient in oxygen-supply, due to the abundance of aerobic floc-microorganisms. When an activated sludge was kept under a low partial-pressure of oxygen, microorganisms which are abundant in the inner portion of a floc, and insensitive to the changes of aeration might be prevailing over the surface of a floc.

The microflora in the sea-water-activated-sludge which was semi-continuously treating the Shôchû-distiller's slops at a COD-loading of 0.03 kg/m³/day under a low partial-pressure of oxygen,

was compared with that in the sludge which was aerobically treating them at a COD-loading of 0.3 kg/m³/day. Under a low partial-pressure of oxygen, *flavobacteria*, susceptible to a low oxygen partial-pressure disappeared, while the *pink coryne-form bacteria*, insensitive to a change of partial pressure of oxygen, with the result that the whole was made to have shifted from the microflora of *flavobacteria-pseudomonads*-type to the microflora of *pink coryne-form bacteria-pseudomonads*-type. This indicates that a surface of a floc, supplied with enough oxygen, is covered with the microflora of *flavobacteria-pseudomonads*-type, and the inner portion of a floc, not supplied with enough oxygen, is occupied by the microflora of *pink coryne-form bacteria-pseudomonads*-type.

On the microflora of the tap-water-activated-sludge used as a control, the same result was obtained as the one on that of the sea-water-activated-sludge.