

PVA에 고정화된 질화세균에 의한 암모니아성 질소제거

서근학·김용하·조진구·김병진·서재관·박은주·김성구*
부경대학교 화학공학과·생물공학과
(1999년 5월 21일 접수)

Removal of NH₃-N by using Immobilized Nitrifier Consortium in Polyvinyl Alcohol

Kuen-Hack Suh, Yong-Ha Kim, Jin-Koo Cho, Byong-Jin Kim,
Jae-Koan Seo*, Eun-Ju Park*, and Sung-Koo Kim*

Department of Chemical Engineering, Pukyong National University, Pusan 608-739, Korea.

*Department of Biotechnology and Bioengineering, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea.

(Manuscript received 21 May, 1999)

Nitrifier consortium immobilized in polyvinyl alcohol was used for the removal of ammonia nitrogen from synthetic aquaculture water in the airlift bioreactor. At the aeration rate of 0.15 vvm and bead packing volume fraction of 20%, airlift bioreactor was operated effectively for a removal of ammonia nitrogen and for a stability of operation. Ammonia nitrogen removal rate by airlift bioreactor was continuously increased with decreasing hydraulic residence time. At the HRT(hydraulic residence time) of 0.3 hour, ammonia nitrogen removal rate was 84.3 g/m³·d and the highest ammonia nitrogen removal rate was 130.8 g/m³·d when HRT was 0.1 hour.

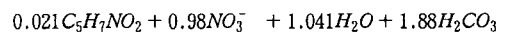
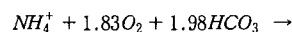
Key words : nitrifier consortium, polyvinyl alcohol, ammonia, airlift bioreactor, removal rate

1. 서론

어류 양식에 있어 자연의 환경 자원을 영구히 보존하면서 어류 생산을 하기 위하여 환경 친화적 양어방법 발전을 위한 기술개발이 필요하게 되었다. 어류의 고밀도 사육이 가능하며 사육조에서 발생한 오염물질을 양어장 밖으로 배출하지 않고 물리적 생화학적 방법으로 수처리하여 물을 재 사용하는 순환여과식 양식시스템을 이용한 고밀도 양식시스템이 제시되고 있다.¹⁾ 사육조 내에서 어류의 대사작용과 미생취 사료의 분해 등으로 인하여 발생하는 암모니아는 어류의 성장을 저해하거나 치사시키는 등 유해한 영향을 끼친다. 사육조 내 암모니아는 비이온성 암모니아(NH₃)와 이온성 암모니아인 암모늄이온(NH₄⁺)으로 존재한다. 양어장 수 중의 비이온성 암모니아는 어류의 세포벽을 통과하여 어류에게 치명적인 피해를 주게되므로, 미국 환경보호청에서는 사육조 내 비이온성 암모니아를 0.02 g/m³ 이하로 유지하도록 권장하고 있다.²⁾ 수온 25 °C에서 일반적인 어류 양식조건인 pH 7.0~7.5일 경우 수중의 비이온성 암모니아의 비율은 총 암모니아의 0.8~1.2% 정도이므로 비이온성 암모니아를 0.02 g/m³ 이하로 유지하기 위해서는 총암모니아 농도를 2.5 g/m³ 이하로 유지하여야 한다.

암모니아성 질소를 제거하는 방법으로써 생물학적 처리 공정이 많이 이용되고 있다.³⁾ 질산화 미생물은 암모

늄이온을 아질산염으로 산화시키는 *Nitrosomonas sp.* 와 아질산염을 질산염으로 산화시키는 *Nitrobacter sp.* 등이 있다. 질산화 미생물의 합성과 암모니아 산화식을 포함하는 총괄식은 다음과 같다.⁴⁾



생물학적 처리공정은 담체를 사용하지 않는 공정과 담체를 사용하는 고정화 미생물 공정의 두 가지로 분류될 수 있다. 담체를 사용하지 않는 공정에서의 미생물 농도(2~5 g/l)에 비해서 담체를 사용하는 고정화 미생물 공정은 고농도의 미생물 농도(10~40 g/l)를 유지할 수 있어 더 많은 양의 암모니아성 질소를 제거하는데 유리하다.⁵⁾

고정화 방법은 미생물을 담체 표면에 고정시키는 생물막법과 담체내부에 고정화시키는 포괄고정화법이 있다. 포괄 고정화법은 처리수와 미생물의 분리가 용이하고, 반응기 내부의 미생물 농도를 고농도로 유지할 수 있기 때문에 유입되는 폐수를 짧은 시간 안에 처리할 수 있다. 또한 온도나 pH 같은 환경조건이 급격히 변화하거나 독성물질이 유입되어도 고정화 미생물 자체의 완충작용에 의해 활성이 크게 변하지 않는 장점을 가진다.^{6,7)} 포괄고정화법에 많이 사용되는 담체로는 천연고분자인 *k-*

carrageenan, alginate 등과 합성고분자인 PEG(polyethylene glycol), PVA 등이 있으며, 이중 PVA는 가격이 저렴하고 비드 강도가 크며 장기간의 사용에 대한 내구성이 크며 고정화시 미생물에 독성이 없는 장점을 가지고 있다.^{8,9)}

본 연구에서는 양어장 수 중의 암모니아성 질소의 효율적인 제거를 위해 PVA를 이용하여 질화세균균을 포괄고정화시킨 후, 공기부상식 생물반응기에 충전된 암모니아 제거 및 운전 안정성을 위한 가장 효율적인 충전율과 공기유량을 조사하고 HRT, 온도 및 pH의 변화가 암모니아 제거에 미치는 영향에 대해 연구하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 질화세균 고정화된 bead

고정화에 사용한 질화세균균은 부산 수영 하수처리장의 활성 슬러지를 Table 1에 나타낸 암모니아 배지를 이용하여 1~2개월간 질화세균균으로 순양시켜 사용하였다.

PVA-boric acid법에 의한 질화세균 고정화 방법은 Fig. 1에 나타내었다. 순양시킨 질화세균균은 3000 rpm에서 10분 원심분리시켜 농축 질화세균균을 얻은 후 질화세균균을 4.5%(D.W/V)로 희석하고, 30%(W/V) PVA 용액과 동량의 부피로 기포가 생기지 않도록 천천히 혼합하여 PVA 15%-질화세균균 2.25%인 혼합용액을 만들었다. 이 혼합용액을 peristaltic pump를 이용하여 일정한 속도로 8℃로 냉각한 포화 boric acid 용액에 떨어뜨려 구형의 질화세균 고정화된 bead를 생성하였다. 이때 boric acid 용액은 질화세균 고정화된 bead가 서로 붙지 않고, 구형을 형성시키기 위해서 완속교반 시켰다.

Table 1. Synthetic feedstock solution

Component	Concentration, g/m ³
TAN	50
NaHCO ₃	60
Na ₂ HPO ₄	15

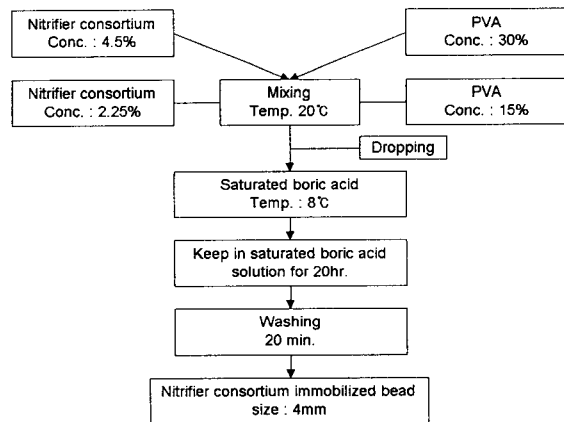
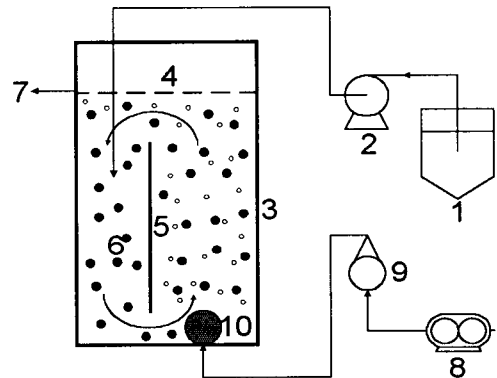


Fig. 1. Preparation of nitrifier consortium immobilized bead by PVA-boric acid method.

질화세균 고정화된 bead는 다시 포화된 boric acid 용액에 20시간 동안 완속교반 시켜 bead 내부까지 완전히 경화시킨 후, bead 주위에 묻어 있는 boric acid를 제거하기 위하여 흐르는 수돗물에 세척하였다. 이러한 방법으로 제조한 질화세균 고정화된 bead의 평균직경은 4mm였다. 질화세균 고정화된 bead는 다시 20일 정도 Table 1의 암모니아 배지를 희석하여 TAN(total ammonia nitrogen)이 2.0~5.0 g/m³이 되게 공급하여 질화세균 고정화된 bead를 활성화시킨 후 암모니아 제거 실험에 사용하였다.

2.2. 실험장치

실험에 사용한 공기부상식 생물반응기는 내부 질화세균 고정화된 bead의 유동성을 높이기 위하여 반응기 내부에 baffle을 설치한 split-cylinder airlift bioreactor 형태로 제작하였다.¹⁰⁾ 공기부상식 생물반응기 및 실험장치의 모식도는 Fig. 2와 같다. 공기부상식 생물반응기는 내경 8 cm, 높이 24 cm의 아크릴 관을 이용하여 제작하였으며 이때 반응기 체적은 500 ml 이었다.



- 1. Feed tank
- 2. Peristaltic pump
- 3. Airlift bioreactor
- 4. Screen
- 5. Baffle
- 6. Immobilized bead
- 7. Outlet port
- 8. Air pump
- 9. Rotameter
- 10. Air stone

Fig. 2. Schematic diagram for airlift reactor.

Bead 상승부의 하부에 air stone을 이용한 공기 분산기를 설치하여 질화세균 고정화된 bead를 유동시키고, 질산화에 필요한 산소를 공급하기 위해 일정량의 공기를 공급하였다. 합성 양어장 수의 유입구는 bead가 침강하는 부분인 하강부의 액면 아래에 설치하여 유입된 합성 양어장 수가 질화세균 고정화된 bead와 접촉하지 않고 배출되는 것을 방지하였다. 유출구는 하강부 상부에 설치하였으며, 반응기 상부에는 bead의 유출을 막기 위하여 유출구 아래에 미세망을 설치하였다.

2.3. 실험방법

합성 양어장 수는 Table 1의 암모니아 배지를 희석하

여 $\text{NH}_3\text{-N}$ 의 농도가 $2.0\sim 5.0 \text{ g/m}^3$ 이 되도록 조성하였다. 합성 양어장 수의 성분은 암모니아성 질소원으로 NH_4Cl , 질산화에 소모되는 알칼리도를 보충하기 위해 NaHCO_3 그리고 인성분으로 Na_2HPO_4 를 수돗물을 사용하여 용해 후 정량펌프를 이용해 일정한 유량으로 공급하였다. 공기부상식 생물반응기의 상층부로 공급되는 공기는 반응기 내부의 질화세균 고정화된 bead를 유동시키기 위한 최소 공기량인 0.15 vvm 으로 공기펌프를 이용하여 공급하였다.

공기부상식 생물반응기 내부에 반응기 체적에 대하여 10, 20 및 30%(V/V)의 질화세균 고정화된 bead를 충전하고 합성양어장 수를 공급하여 정상상태에서 유출수의 암모니아 농도를 측정된 후 암모니아 제거속도를 구하여 적절한 bead의 충전율을 찾아내고, 공기량은 0.15, 0.3 vvm으로 변화시켜 암모니아 제거속도를 구하여 적절한 공기량 변화에 따른 암모니아 제거영향을 구하였다. 수력학적 체류시간이 암모니아 제거속도에 미치는 영향을 알아보기 위하여 수력학적 체류시간을 0.5시간에서 0.1시간으로 변화시켜 암모니아 제거속도를 구하고, 이때 pH 및 용존산소의 변화도 함께 관찰하였다. 질화세균 고정화된 bead의 온도와 pH의 영향에 따른 암모니아 제거속도 변화를 구하기 위하여 온도를 20, 25 및 30°C 로 변화시켰고, pH를 6.2, 7.1 및 7.7로 변화시켜 암모니아 제거에 대한 온도 및 pH 영향을 고찰하였다.

유출수와 유입수의 암모니아 농도는 선택성 전극(ORION-9512BN)을 사용하여 측정하였고, 용존산소는 용존산소 측정기(YSI-55)를 사용하여 측정하였으며, pH는 pH meter (ORION-290A)를 사용하여 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 공기부상식 생물반응기의 운전조건

본 실험에서 사용한 장치는 공기부상식 생물반응기 중 split-cylinder airlift bioreactor 형태로써 가장 중요한 운전인자는 반응기내 액체 순환속도이다. 이 액체 순환속도는 반응기내의 상층부와 하강부의 밀도와 공급되는 공기량과 밀접한 관계를 가지고 있다.

Fig. 3은 합성 양어장 수의 TAN의 농도를 5.0 g/m^3 으로 공급하고, 수력학적 체류시간이 0.5시간 일 때 공기 유량을 0.15 vvm으로 유지할 경우 반응기내 bead의 충전율을 10, 20 및 30%로 변화시킴에 따른 암모니아 제거속도를 나타내었다. 충전율이 증가함에 따라 암모니아 제거속도는 증가하지만 충전율이 3배 증가하였을 때 제거속도는 약 2배정도 증가하는 것을 볼 수 있다. 이는 충전율이 높아짐에 따라 반응기내에 밀도가 높아져 액체 순환 속도가 감소하고, 반응기내의 질화세균 고정화된 bead와 암모니아의 접촉기회가 줄어들었기 때문으로 판단된다. 충전율 30%에서는 bead끼리의 충돌이 자주 발생하여 bead의 파손이 우려되고, bead의 순환이 원활하지 않으므로 이후 실험에서는 충전율을 20%이하로 유지하며 실험을 수행하였다.

Fig. 4는 bead의 충전율이 10 및 20%일 때 공기량을 bead를 유동화하기 위한 최소량인 0.15 vvm 에서 0.3 vvm

로 변화시킴에 따른 암모니아 제거속도와 유출수 용존산소의 농도를 나타내었다. 공기량이 0.15 vvm 에서 0.3 vvm 으로 증가시 충전율 10% 일 때 암모니아 제거속도는 변화가 없었으며 용존산소는 약간 증가하였고, 충전율 20% 일 때 암모니아 제거속도는 10% 증가하였으며 용존산소는 약 1.5 g/m^3 증가하여 포화용존산소량에 근접하였다. 위 실험결과에서 충전율 20%일 때 암모니아 제거가 효과적이고 공기량 1.5 vvm 으로 공기부상식 생물반응기를 운전하여도 반응기내의 용존산소의 농도는 6.0 g/m^3 이상을 유지할 수 있었다. 양어장에서 일반적으로 권장하는 양어장 사육조 용존산소가 4.0 g/m^3 ¹¹⁾이므로 본 반응기는 순환여과식 양어장 순환수 처리 시 0.15 vvm 의 공기 유량에서 암모니아 제거를 위한 충분한 산소 전달이 이루어질 수 있으리라 예상된다.

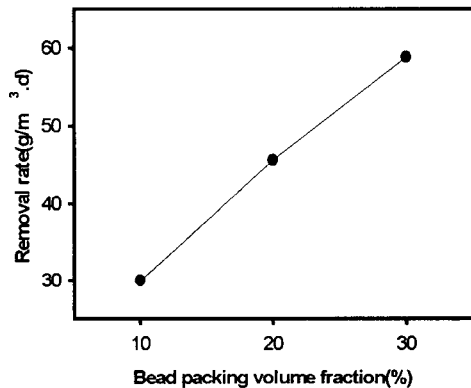


Fig. 3. Change of $\text{NH}_3\text{-N}$ removal rate on bead packing volume fraction.

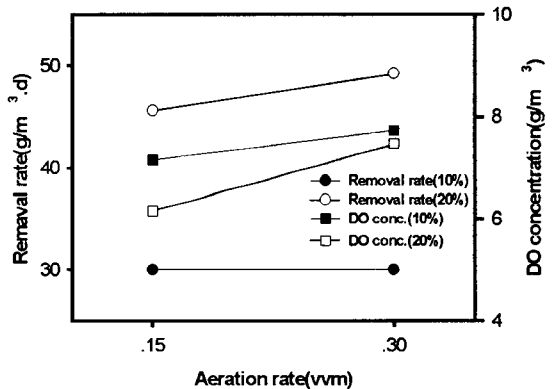


Fig. 4. Change of $\text{NH}_3\text{-N}$ removal rate and DO concentration on aeration rate.

3.2. 수력학적 체류시간에 따른 $\text{NH}_3\text{-N}$ 제거속도, pH 및 용존산소의 변화

질화세균 고정화된 bead의 충전율 20%, 공기량 0.15 vvm , 유입수 암모니아 농도 5.0 g/m^3 으로 유지하며 수리학적 체류시간을 0.5, 0.3, 0.2 및 0.1시간으로 변화시켜 정상상태에서 유입수와 유출수의 암모니아 농도, pH와 용존산소

의 변화를 관찰하였고 암모니아 제거속도를 구하였다.

Fig. 5는 수력학적 체류시간 변화에 따른 유입수와 유출수의 암모니아 농도 및 암모니아 제거속도의 변화를 나타내었다. 수력학적 체류시간이 0.5시간에서 0.1시간으로 감소함에 따라 유입수와 유출수의 암모니아 농도차는 감소하는 경향을 나타내었으며, 암모니아 제거속도는 거의 직선적으로 증가하였다. 이는 물을 재 사용하는 순환 여과식 양식시스템에서 수력학적 체류시간을 감소시키면 단위시간당 제거되는 암모니아의 양은 점점 증가하여 시스템 내 암모니아 농도를 낮출 수 있음을 알 수 있다. PVA를 이용한 공기부상식 생물반응기에서 수력학적 체류시간 0.3시간에서는 $84.3 \text{ g/m}^3 \cdot \text{d}$ 의 암모니아 제거속도를 나타내었고, 수력학적 체류시간을 0.1시간까지 감소시켜도 암모니아 제거속도는 계속 증가하였으며, 수력학적 체류시간 0.1시간에서 $130.2 \text{ g/m}^3 \cdot \text{d}$ 의 최고 높은 암모니아 제거속도를 나타내었다. 이는 PVA를 이용한 공기부상식 생물반응기는 수력학적 체류시간 0.1시간에서 질화세균 고정화된 bead와 합성 암모니아가 충분한 접촉이 이루어 졌으며 암모니아가 bead의 내부로 확산되어 제거되었기 때문으로 사료된다. 서 등¹²⁾은 Ba-alginate와 Ca-alginate에 고정화한 질화세균균을 충전한 간접폭기식 반응기를 이용한 암모니아 제거실험에서 수력학적 체류시간이 0.3시간일 때 암모니아 제거속도는 최대였고, 0.3시간 이하의 수력학적 체류시간에서 암모니아 제거속도는 감소하였다고 보고하였다. 이것은 순환 양어장 수의 암모니아 부하가 더 많을 경우 alginate를 이용한 충전층 생물반응기보다 PVA를 이용한 공기부상식 생물반응기가 암모니아 제거 시 효과적인 반응기로 사료된다.

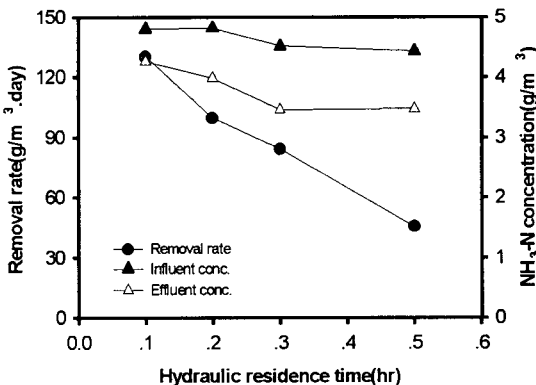


Fig. 5. Change of $\text{NH}_3\text{-N}$ concentration and $\text{NH}_3\text{-N}$ removal rate on hydraulic residence time.

Fig. 6은 수력학적 체류시간 변화에 따른 pH와 용존산소의 변화를 나타내었다. 질산화 반응에 있어 1g의 암모니아성 질소를 산화할 때 알칼리도 7.14g이 감소하며 이는 pH저하의 원인이 된다. 수력학적 체류시간이 감소함에 따라 pH의 변화는 거의 없었고, 용존산소는 증가하는 경향을 나타내었다. 수력학적 체류시간이 감소함에 따라 pH가 변하지 않는 것은 합성 양어장 수 제조 시 질화작용에 필요한 충분한 알칼리도가 첨가되었기 때문이며, 용

존산소의 증가는 체류시간이 감소함에 따라 유입되는 합성 양어장 수의 용존산소 양이 암모니아 산화 시 소모되는 용존산소의 양보다 많기 때문으로 판단된다.

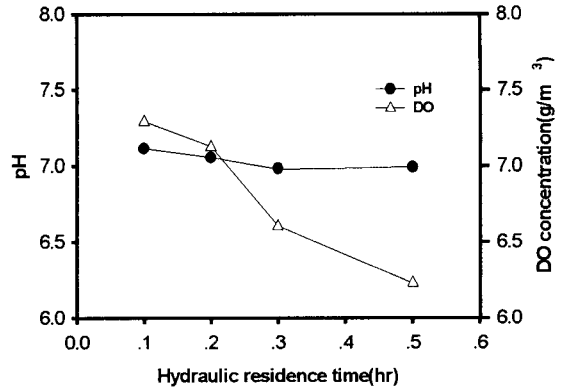


Fig. 6. Change of pH and DO concentration on hydraulic residence time.

3.3. 온도와 pH의 영향에 따른 암모니아 제거속도

수력학적 체류시간을 0.2시간으로 고정시키고 bead 충진율 20%, 공기량 0.15 vvm으로 고정시킨 후 합성 양어장 수의 암모니아성 질소의 농도를 양어장 수를 기준으로 2.0 g/m^3 으로 제조하여 공급하고 반응기 온도를 20, 25, 30 °C로 변화시켰을 때, 질화세균 고정화된 bead의 각 온도에 따른 암모니아 제거특성을 Fig. 7에 나타내었다. 암모니아 제거속도는 반응기내의 온도가 20 °C에서 25 °C로 바뀌었을 때 암모니아 제거속도가 증가하는 비율보다 25 °C에서 30 °C로 바뀌었을 때 암모니아 제거속도의 증가율이 더 크게 나타났으며, 30 °C에서의 암모니아 제거속도는 $113.6 \text{ g/m}^3 \cdot \text{d}$ 로 나타났다. 이와 같은 현상은 질화세균의 생장은 8~30 °C 범위에서 온도에 의해 영향을 받으며, 질화세균의 최적 성장 온도는 약 30 °C^{13,14)}인 것에 기인한 것으로 사료된다.

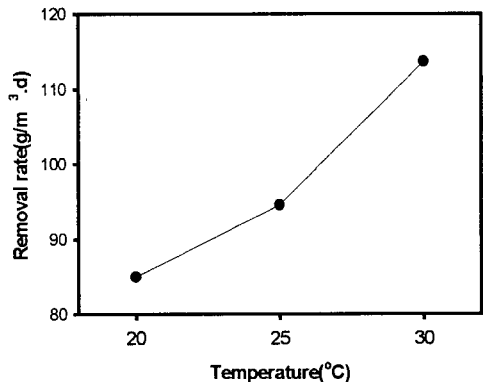


Fig. 7. Change of $\text{NH}_3\text{-N}$ removal rate on temperature.

Fig. 8은 수력학적 체류시간 0.2시간, bead 충진율 20%, 공기량 0.15 vvm으로 고정시킨 후 합성 양어장 수의

참 고 문 헌

암모니아성 질소의 농도를 양어장 수를 기준으로 2.0 g/m^3 으로 제조하여 공급하고 반응기내 pH를 6.2, 7.1, 7.7로 변화시켰을 때 질화세균 고정화된 bead의 각 pH에 따른 암모니아 제거특성을 나타내었다. 반응기내의 pH가 7.7에서 7.1로 바뀌었을 때의 암모니아 제거속도 감소보다 pH 7.1에서 6.2로 바뀌었을 때의 제거속도가 더 크게 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 질화세균의 성장 최적 pH조건은 7.2~8.4이며¹⁴⁾ 질화작용은 pH 6.0 이하에서 급격히 감소하기^{15,16)} 때문에 생각된다. 위와 같은 실험 결과로부터 온도 및 pH의 영향을 볼 때 질화세균 고정화된 bead의 암모니아 산화조건은 질화세균의 최적 성장조건 및 질화작용 조건과 거의 흡사한 경향을 나타냄을 알 수 있었다.

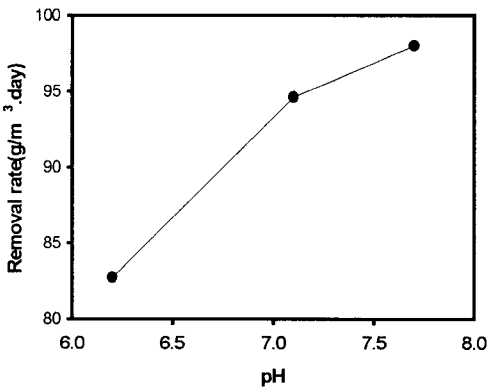


Fig. 8. Change of $\text{NH}_3\text{-N}$ removal rate on pH.

4. 결 론

질화세균 고정화된 bead를 이용한 공기부상식 생물반응기의 운전조건은 공기량 0.15 vvm 일 때 충진율 20%로 운전하는 것이 암모니아 제거와 연속운전의 안정성을 위해서 가장 효과적임을 알 수 있었다.

질화세균 고정화된 bead를 이용한 공기부상식 생물반응기에의 암모니아성 질소제거는 수력학적 체류시간 0.3시간에서 $84.3 \text{ g/m}^3 \cdot \text{d}$ 의 암모니아 제거속도를 나타내었고, 수력학적 체류시간 0.1시간에서 $130.2 \text{ g/m}^3 \cdot \text{d}$ 의 암모니아 제거속도를 나타내었으며 0.1시간까지 수력학적 체류시간이 감소하여도 암모니아 제거속도는 증가하는 경향을 나타내었다. 수력학적 체류시간 0.5시간에서도 반응기 내의 용존산소는 6.0 g/m^3 을 유지하였으므로 공기량 0.15 vvm 으로 공기를 공급하여도 질산화에 필요한 산소 공급량은 충분하였다. 온도 및 pH의 조건의 경우 질화세균 고정화된 bead의 암모니아 산화 조건은 질화세균의 최적 성장조건 및 질화작용 조건과 거의 흡사한 경향을 나타냄을 알 수 있었다. 질화세균 고정화된 bead를 이용한 이 공기부상식 생물반응기는 순환여과식 양어장에서 순환수 처리 장치로 적용 가능하리라 사료된다.

감사의 글

본 연구는 해양수산부 한국해양수산개발원에서 시행한 98년도 수산특정연구 개발사업의 연구결과이며 이에 관계자 여러분께 감사드립니다.

- 1) Kim, I. B., 1980, Pilot scale fish production in water recycling system, Bull. Korean Fish. Soc., Vol. 13, No. 4, 195~206.
- 2) EPA(Environmental Protection Agency), 1976, Quality criteria for water, Washington D.C.
- 3) Bitton, G., 1994, Wastewater Microbiology, John Wiley & Sons. 213~444pp.
- 4) EPA(Environmental Protection Agency), 1975, Process Design Manual for Nitrogen Control, Office of Technology Transfer, Washington D.C.
- 5) 김의용, 1993, 고정화 미생물을 이용한 유동층 반응기에서의 폐수처리, 생물공학, 7, 85~95.
- 6) Kim, S. K., J. K. Seo, J. S. Lee, I. S. Kong, and K. H. Suh, 1997, Immobilization of nitrifier consortium for the removal ammonium ion in the recirculating aquaculture system, J. Korean Fish. Soc., Vol. 30, No. 5, 816~822.
- 7) Kim, B. J., 1999, Nitrifier consortium immobilized packed bioreactor for ammonia removal, Ph. M. Thesis dissertation, Pukyong National University.
- 8) Ariga, O., T. Yamakawa, H. Fujimatsu, and Y. Sano, 1989, Immobilization of β -galactosidase with polyvinyl alcohol, J. of Fermentation and Bioengineering, Vol. 68, No. 4, 293~295.
- 9) Hashimoto, S. and K. Furukawa, 1987, Immobilization of activated sludge by PVA-boric acid method, Biotechnology and Bioengineering, Vol. 30, July, 52~59.
- 10) Chisti, M. Y., 1989, Airlift bioreactors, Elsevier applied science, London and New York, 93~96pp.
- 11) Environment Canada, 1979, Water Quality Sourcebook, A Guide to water quality parameters, Inland Waters Directorate, Water Quality Branch, Ottawa.
- 12) Suh, K. H., B. J. Kim, M. C. Cho, J. K. Cho, Y. H. Kim, and S. K. Kim, 1998, Removal of ammonia-N by immobilized nitrifier consortium, Korean J. Biotechnol. Bioeng., Vol 13, No 3, 238~243.
- 13) Hittlebaugh, J. A. and R. D. Miller, 1981, Operational problems with rotating biological contactors, J. Water Pollut. Control Fed, 53, 1283~1293.
- 14) EPA(Environmental Protection Agency), 1977, Water treatment facilities for sewered small community, EPA.
- 15) Painter, H. A., 1970, A review of literature on inorganic nitrogen metabolism in microorganism, Water Res., 4, 393~450.
- 16) Painter, H. A. and J. E. Loveless, 1983, Effect of temperature and pH value on the growth-rate constants of nitrifying bacteria in the activated sludge process, Water Res., 17, 237~248.