

# 纳米二氧化钛复合半导体光催化抑制蓝藻生长

尹海川<sup>1</sup>,林强<sup>2</sup>,涂学炎<sup>3</sup>,周丽娟<sup>4</sup>,陈善娜<sup>4</sup>,蔡晓兰<sup>5</sup>

(1. 昆明理工大学 国土资源工程学院,云南 昆明 650093; 2. 海南大学,海南 海口 570228;

3. 云南大学 化学系,云南 昆明 650091; 4. 云南大学 生物系,云南 昆明 650091;

5. 昆明理工大学 材料与冶金工程学院,云南 昆明 650093)

**摘要:** 利用纳米  $\text{TiO}_2$  掺杂不同比例  $\text{WO}_3$ ,  $\text{ZnO}$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  组成的复合半导体纳米材料在太阳光照射下进行光催化抑制蓝藻的实验研究,经对实验蓝藻的光合速率、呼吸速率和蓝藻叶绿素的吸光度的测定证明,掺杂纳米  $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{TiO}_2$  和 15%  $\text{ZnO}/\text{TiO}_2$  会促进蓝藻的生长,而掺杂 10%和 5%  $\text{ZnO}$  的纳米二氧化钛和  $\text{WO}_3$  的纳米二氧化钛对蓝藻生长具有一定抑制作用,尤其掺杂 1.5%  $\text{WO}_3$  和 5% 的  $\text{ZnO}$  的纳米  $\text{TiO}_2$  的蓝藻的光合速率和呼吸速率非常缓慢,蓝藻吸光度值显著降低,显微镜观察显示蓝藻细胞壁被破坏,对抑制蓝藻生长产生较好的效果。

**关键词:** 纳米  $\text{TiO}_2$ ; 复合半导体; 光催化; 蓝藻抑制

**中图分类号:** X131.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-855X(2005)01-0052-05

## Study on Several Nano - $\text{TiO}_2$ Complex Semiconductor in Photocatalytic Restraint Cyanobacteria

YIN Hai-chuan<sup>1</sup>, LIN Qiang<sup>2</sup>, TU Xue-yan<sup>3</sup>, ZHOU Li-juan<sup>4</sup>,  
CHEN Shan-na<sup>4</sup>, CAI Xiao-lan<sup>5</sup>

(1. Faculty of Land Resoure Engineering, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650093, China;

2. Hainan University, Haikou 570228, China; 3. Chemistry Department of Yunnan University, Kunming 650091, China;

4. Biology Department of Yunnan University, Kunming 650091, China; 5. Faculty of Materials and Metallurgical Engineering, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650093, China)

**Abstract:** Nano -  $\text{ZnO}/\text{TiO}_2$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{TiO}_2$ ,  $\text{WO}_3/\text{TiO}_2$  is used to restrain cyanobacteria under sunlight, which proves that the absorption value of cyanobacteria with 5%, 10%  $\text{ZnO}$  and 1.5%  $\text{WO}_3$  dopant on nano -  $\text{TiO}_2$  photocatalytic degrades greatly. The photosynthetic and photorespiration rate of cynaobacteria becomes quite slow compared to those without photocatalytic, and the broken - up cell wall is observed under the electric microscope, so 5%, 10%  $\text{ZnO}$  and 1.5%  $\text{WO}_3$  dopant on nano -  $\text{TiO}_2$  have won good effect in photocatalytic restraint cyanobacteria.

**Key words:** nano -  $\text{TiO}_2$ ; complex semiconductor; photocatalysis; cyanobacteria

## 0 引言

蓝藻的治理被视为世界性的难题.滇池水体富营养化造成蓝藻等大量生长,严重地影响了滇池水域的生态系统和旅游景观.迄今为止,为改变这一现状,已经投入了大量的人力物力,采取了许多措施和方法进行治理.从治本的角度,主要包括环流截污,减少进入滇池的污染水,彻底使滇池的水质好转,但这是一个比较长期和艰巨的任务;从治标的角度,有物理法即机械除藻,如挖泥法、拉网捞藻法或加入黏土絮凝沉降

收稿日期:2004-07-20. 基金项目:云南省十五攻关项目(项目编号:2001GG18).

第一作者简介:尹海川(1968~),男,在读博士研究生.主要研究方向:有机化学、废水处理及催化剂制备和化学教学研究工作. E-mail:hchyin@sohu.com

剂等<sup>[1~3]</sup>,成本较高,能源消耗较大;化学法即药物除藻,如用氯气与次氯酸钙混合杀藻<sup>[4]</sup>、通入臭氧<sup>[5]</sup>、BC-665等<sup>[6]</sup>,长期使用化学法可能会存在药剂安全性、药效时间不长、二次污染或和对其它生物的不良影响等问题;生物法<sup>[7]</sup>即利用生物菌或放入特殊水体动物如放入白脸鱼、食藻虫、微生物制剂等除藻都未能彻底解决滇池的蓝藻问题。由于蓝藻的繁殖方式主要有营养繁殖和无性繁殖,蓝藻类的光合作用色素中含有其它绿色植物均具有的叶绿素 a,其光合作用效率是一般植物的 5 倍左右<sup>[8]</sup>。按照植物生理的有关理论<sup>[9~11]</sup>,蓝藻的光合作用是一个光能的吸收、转换和能量储存的过程,它的原初反应包括光物理与光化学反应,其中有两个光合系统 和 ,每个光合系统都有它自己的叶绿素分子和相应的电子载体的复合体。在光合系统 中,叶绿素捕获分子被称为  $P_{700}$ ,因为 700 是它最适合的吸收光波长。 $P_{700}$ 对光量子的吸收,使其分子中的一个电子跃迁为激发态,然后这个电子被其它载体所捕获、转移,最后又回到  $P_{700}$ 。在光合系统 中,叶绿素捕获分子为  $P_{680}$ ,当叶绿体吸收各种波长的光时,光合系统 和 是相偶连的。 $P_{680}$ 吸收光量子后也被激发,并释放一个电子,电子通过不同的载体的传递,最终到达  $P_{700}$ ,填补了从这个系统中由于电子的光激发而留下的“空穴”。光合系统 中的  $P_{680}$ ,是由水的离子化产生的  $\text{OH}^-$  离子中取得的电子,填补其自身的“洞”。产生的  $\text{OH}^-$  自由基,可能再结合成过氧化物,最终分解而释放氧。假如在水中运输电子的过程被抑制或阻断,光水解产生的高度氧化物质的积累,会使细胞膜的整合性受到破坏,导致细胞的死亡。具有光催化性能的纳米半导体材料,在光的照射下,能在导带上产生一个高活性导带电子 ( $e_{cb}^-$ ),在价带上留下一个价带空穴 ( $h_{vb}^+$ ),形成氧化还原体系,如在小于 400 nm 的太阳光照射下,锐态型的纳米二氧化钛产生的电子-空穴对,其  $E_V = 3.0$ ,远高于其它常见的强氧化剂。这个氧化还原体系如果能对光合作用中电子的输送过程起到抑制和阻断的作用,那么就有可能利用光催化来抑制蓝藻的生长。陆长梅等<sup>[12]</sup>利用纳米二氧化钛抑制微囊藻的生长时发现藻体自发光强度明显减弱,藻细胞伤害明显,光催化纳米二氧化钛产生的  $\text{OH}^-$  抑制了藻的 SOD, CAT 等抗氧化酶活性,使微囊藻生命力下降,进一步研究未见报道。本实验取昆明滇池蓝藻作为研究对象,在太阳光照射下,使用不同比例  $\text{WO}_3$ ,  $\text{ZnO}$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  掺杂的纳米二氧化钛复合半导体粉末对蓝藻进行了观察,实验表明,加入 15%  $\text{ZnO}$  和经不同比例的  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  掺杂复合半导体纳米二氧化钛对蓝藻生长起了促进作用。经 10% 和 5%  $\text{ZnO}$  改性的掺杂纳米  $\text{TiO}_2$  和  $\text{WO}_3$  改性的纳米  $\text{TiO}_2$  对蓝藻生长具有起抑制作用,尤其 5% 的  $\text{ZnO}$  和 1.5%  $\text{WO}_3$  掺杂复合半导体纳米二氧化钛对蓝藻生长具有很好的抑制作用,显微镜下可以看到光催化后的蓝藻细胞解体,蓝藻颜色由绿色逐渐变得黄,水质变清,蓝藻的光合速率和呼吸速率非常微弱,吸光度值也显著降低。

## 1 实验部分

### 1.1 主要仪器及试剂

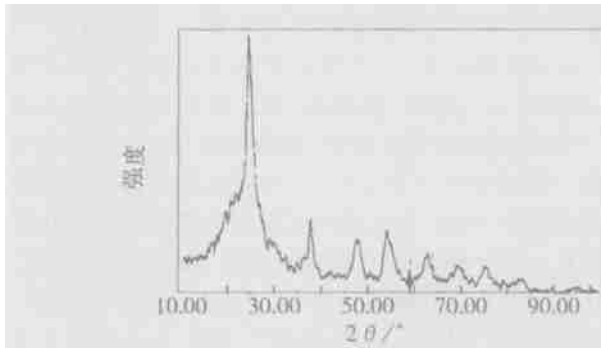
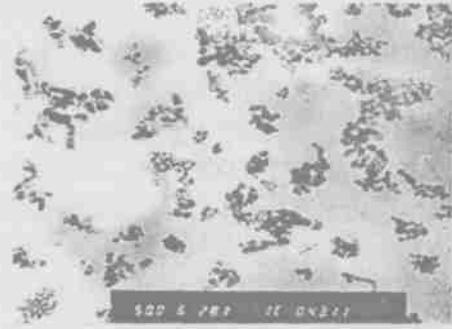
晶体结构:日本理学电机公司 3015 型 X-射线荧光光谱仪测试, Cu 靶, 35 kV, 20 mA, 石墨单色器;紫外-可见光谱:日本岛津公司 UV-2401PC 紫外光谱仪测定;扫描电镜: KYKY-1000G, 加速电压 20 kV;束流, 75 mA;  $\text{Zn}^{2+}$  含量(%):采用 ICPS-1000 型等离子体光谱仪测定;蓝藻细胞的观察:日本 BH-2 OL YMPUS 显微镜;D-120 超声振荡仪。Sartorius 台式电子天平;呼吸速率和光合速率测定用 CY-II 型测氧仪,所用试剂均为化学纯。

### 1.2 纳米 $\text{TiO}_2$ 及其复合半导体纳米粒子的制备

按文献<sup>[13]</sup>法制得  $\text{TiO}_2$  透明溶胶后,室温下静止 3 d,真空干燥并磨细,在 673 K 下热处理 2 h,得到纳米  $\text{TiO}_2$  粉末;在制得  $\text{TiO}_2$  透明溶胶后,分别按一定比例逐滴加入  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ , 和  $(\text{NH}_4)_2\text{WO}_4$  的 5% 的溶液,边加边搅拌,加完毕,各超声振荡 20 min,溶胶静置 2 d 后,抽真空在 373 K 干燥 12 h,将所得固体研磨成粉末,在 673 K 加热 2 h,分别制得含 5%, 10%, 15%  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  的纳米  $\text{TiO}_2$ , 5%, 10%, 15%  $\text{ZnO}$  的纳米  $\text{TiO}_2$  和 1%, 1.5%, 3%  $\text{WO}_3$  的纳米  $\text{TiO}_2$  粉末。图 1 是制得的纳米  $\text{TiO}_2$  粉末的 XRD 图,根据 Scherrer 公式计算,其粒径为 35.8 nm,物相主要为锐钛型,四方晶系;图 2 是它的 SEM 图,其粒径平均为 30~40 nm;其他半导体粉末平均粒径在 25~60 nm (图略)。

### 1.3 光催化抑制蓝藻的活性实验

分别取 0.01 g 掺杂 5%, 10%, 15%  $\text{ZnO}/\text{TiO}_2$  (第一组), 5%, 10%, 15%  $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{TiO}_2$  (第二组), 1%,

图1 TiO<sub>2</sub>粉末的XDR图Fig.1 XDR of nano-TiO<sub>2</sub>图2 TiO<sub>2</sub>粉末的SEM图Fig.1 SEM of nano-TiO<sub>2</sub>

1.5%, 3% WO<sub>3</sub>/TiO<sub>2</sub> 粉末(第三组)于10个250 mL烧杯中,在每组实验中各加入250 mL相同浓度的经浓缩的滇池蓝藻和5 mL 营养液<sup>[14]</sup>,搅拌均匀后置于太阳光下,另取3个250 mL烧杯,各加入250 mL不同浓度蓝藻作空白对照,对上述各组样品进行显微镜下观察并进行呼吸速率和光合速率测定<sup>[15]</sup>和蓝藻叶绿素a含量的吸光度测定<sup>[14]</sup>。

## 2 实验结果

### 2.1 ZnO/TiO<sub>2</sub> 复合纳米粒子对蓝藻的影响

实验共15 d,经过对 ZnO/TiO<sub>2</sub> 复合纳米粒子组对蓝藻实验的观察,加入5%,10%的 ZnO/TiO<sub>2</sub> 复合纳米粒子的蓝藻逐渐变得发黄,沉淀于烧杯底部,水质逐渐变清;加入15%的 ZnO/TiO<sub>2</sub> 复合纳米粒子的蓝藻开始几天逐渐发黄,第4 d开始变绿,从外观看,长势比空白蓝藻好。显微镜下观察的照片显示加入5%,10%的 ZnO/TiO<sub>2</sub> 复合纳米粒子的蓝藻逐渐解体,细胞壁被破坏,而空白和15% ZnO/TiO<sub>2</sub> 蓝藻细胞生长并没有受到破坏。

图3反映了4个实验样品15 d内的吸光度变化(每2 d检测一次),a,b,c,d分别为加入15% ZnO/TiO<sub>2</sub>,空白、10%的 ZnO/TiO<sub>2</sub>和5%的 ZnO/TiO<sub>2</sub>的蓝藻15 d内的叶绿素吸光度值的变化,从图上看,空白样品b经过15 d后,吸光度值从0.109变到0.117,上升7.34%,加入15% ZnO/TiO<sub>2</sub>的蓝藻吸光度升高到0.190,升高了74.3%,而加入10%的 ZnO/TiO<sub>2</sub>和5%的 ZnO/TiO<sub>2</sub>蓝藻样品吸光度后,从0.109降低到0.033和0.020,分别降低了69.7%和81.7%,测定结果与观察一致。实验表明5% ZnO/TiO<sub>2</sub>和10% ZnO/TiO<sub>2</sub>对蓝藻的生长具有抑制作用,而且,前者效果比后者好,当把 ZnO 在纳米材料中的比例增大到15%,不仅不能抑制蓝藻生长,反而促进了蓝藻的生长。表1反映了4个不同样品第15 d的光合速率和呼吸速率情况。

呼吸速率和光合速率是衡量绿色植物进行光合作用强弱的重要标志,从表1看,加入15%的 ZnO/TiO<sub>2</sub>的光合速率和呼吸速率都大于空白样品,而加入10%和5% ZnO/TiO<sub>2</sub>光合速率和呼吸速率已经非常微弱,尤其后者几乎不能再进行光合作用,说明大多数蓝藻的生长受到抑制。

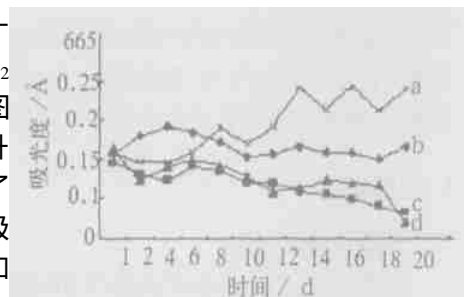


图3 蓝藻的吸光度变化

Fig.3 Absorbance value change of cyanobacteria

表1 不同样品中蓝藻的光合速率和呼吸速率测定

Tab.1 Photosynthetic and photorespiration rate of different cynaobactria

| 样品编号                          | a      | b      | c      | d      |
|-------------------------------|--------|--------|--------|--------|
| CO <sub>2</sub> 的呼吸强度 mg/mL h | 0.2840 | 0.2230 | 0.0008 | 0.0002 |
| CO <sub>2</sub> 的光合强度 mg/mL h | 0.2735 | 0.2156 | 0.0034 | 0.0000 |

### 2.2 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ TiO<sub>2</sub> 复合纳米粒子对蓝藻的影响

Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ TiO<sub>2</sub> 复合纳米粒子对蓝藻的影响见图 4, a 为加入 15 % Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ TiO<sub>2</sub>, b 加入 10 % 的 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ TiO<sub>2</sub>, c 为空白对照, d 为加入 5 % Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ TiO<sub>2</sub> 的蓝藻, 经过 22 d 的实验观察和叶绿素 a 含量测定 (每两天测定一次), 可以看到加入 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ TiO<sub>2</sub> 复合纳米粒子后, 开始两天叶绿素 a 含量增加, 蓝藻长势比空白好, 以后几天内, 蓝藻逐渐发黄, 但从第 10 d 开始, 叶绿素 a 含量逐渐回升, 到 21 d 除 d 样品的值接近空白 c 外, a, b 样品的叶绿素 a 含量都大于空白值 8.8 μg/L<sup>-1</sup>, 分别达到 15.2 μg/L<sup>-1</sup> 和 9.4 μg/L<sup>-1</sup>; 从显微镜下的照片显示, 蓝藻细胞保持完好. 光合速率和呼吸速率测定值与空白相比, 变化不大, 在 0.1 280 mg/ mL · h 左右. 而 a 的呼吸速率和光合速率值达 0.2 840 mg/ mL · h, 远高于空白蓝藻值. 说明掺杂 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 有助于蓝藻的生长.

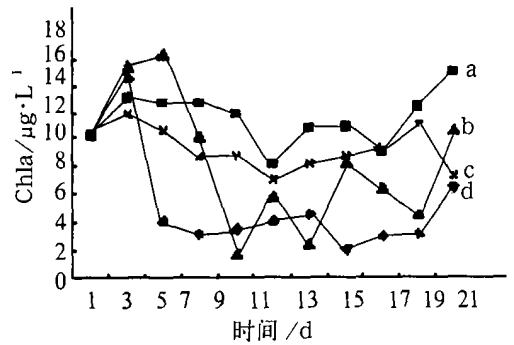


图 4 蓝藻所含叶绿素 a 的变化

Fig.4 Chlorophyll changing of cyanobacteria

### 2.3 WO<sub>3</sub>/ TiO<sub>2</sub> 复合纳米粒子对蓝藻的影响

实验共进行了 20 d, 从蓝藻生长的外观看, 加入 WO<sub>3</sub>/ TiO<sub>2</sub> 复合纳米粒子对蓝藻的生长都具有一定的抑制作用, 但抑制效果与 WO<sub>3</sub> 掺杂的量有关系, 在实验的 3 个掺杂样品中, 从光催化蓝藻的外观颜色看, 掺杂 1.5 % WO<sub>3</sub> 的蓝藻样品的效果比 1 % WO<sub>3</sub> 的抑制效果好, 两个样品蓝藻都发黄, 前者偏褐色, 而后者又比掺杂 3 % WO<sub>3</sub> 的效果好, 掺杂 3 % 的样品颜色为黄绿色, 与空白相比略偏黄. 图 5 是该组试验 20 d 内的吸光度变化值, a 为空白蓝藻, 经过 20 d, 蓝藻吸光度已从 0.076 上升到 0.1 027, b 为加入 3 % WO<sub>3</sub>/ TiO<sub>2</sub> 复合纳米粒子的蓝藻, 吸光度从 0.076 下降到 0.0 504, c, d 分别是加入 1 % 和 1.5 % 的 WO<sub>3</sub>/ TiO<sub>2</sub> 复合纳米粒子的蓝藻样品, 蓝藻吸光度分别为 0.0 280 和 0.0 160.

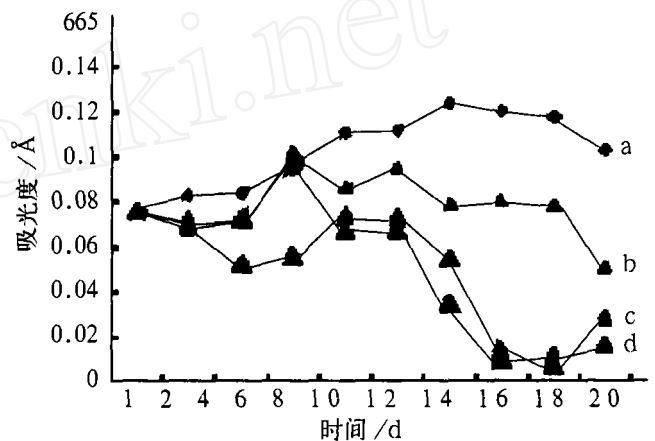


图 5 蓝藻的吸光度变化

Fig.5 Absorbance value changing of cyanobacteria

表 2 反映了 4 个不同样品可以看出第 20 d 的光合速率和呼吸速率情况, 加入 WO<sub>3</sub>/ TiO<sub>2</sub> 的光和速率和呼吸速率都小于空白样品, 而加入 1.5 % 和 1 % ZnO/ TiO<sub>2</sub> 光和速率和呼吸速率已经非常微弱, 尤其后者几乎不能再进行光合作用, 说明大多数蓝藻的生长受到抑制.

表 2 不同样品中蓝藻的光和速率和呼吸速率测定

Tab.2 The photosynthetic and photorespiration rate of different cynaobacteria

| 样品编号                             | a       | b       | c       | d       |
|----------------------------------|---------|---------|---------|---------|
| CO <sub>2</sub> 的呼吸强度 mg/ mL · h | 0.1 524 | 0.0 718 | 0.0 001 | 0.0 000 |
| CO <sub>2</sub> 的光合强度 mg/ mL · h | 0.1 236 | 0.0 654 | 0.0 002 | 0.0 000 |

### 3 讨论

综上所述, 选择合适比例的半导体材料与二氧化钛的掺杂, 可以提高纳米二氧化钛的光催化活性, 从而提起对蓝藻生长的抑制作用, 这是因为不同半导体材料的复合, 导致不同半导体能级之间光生载流子的运输和分离, 可以提高系统的电荷分离效果, 扩展其光谱相应范围, 提高纳米二氧化钛的光催化活性<sup>[16]</sup>. 对蓝藻的生长起到较好的抑制作用. 例如, 实验中的 ZnO/ TiO<sub>2</sub> 复合纳米粒子和 WO<sub>3</sub>/ TiO<sub>2</sub> 复合纳米粒子都显示出较好的光催化活性, 但光催化活性可能随着掺杂半导体量的增加而减弱, 这是因为适量的掺杂半导体 WO<sub>3</sub> 或 ZnO 起到的电子转移中心的作用, 随着数量增加, 电子转移中心有可能变成电子复合

中心,使光生导带电子( $e_{cb}^-$ )和与价带空穴( $h_{vb}^+$ )分离的效率下降,使光催化活性降低.在  $Fe_2O_3/TiO_2$  复合纳米粒子对蓝藻生长的实验研究中, $Fe_2O_3$  的掺杂不仅没有起到抑制蓝藻生长的作用,反而促进了蓝藻的生长,这是因为蓝藻具有聚铁作用<sup>[17]</sup>,它和二氧化钛的光催化作用形成竞争,蓝藻具有聚铁作用具有明显的优势,所以,铁的加入反成了蓝藻的营养元素,促进了蓝藻的生长.

#### 4 结论

在纳米  $TiO_2$  掺杂不同比例  $WO_3$ ,  $ZnO$ ,  $Fe_2O_3$  组成的复合半导体纳米材料在太阳光照射下进行光催化抑制蓝藻的实验中,经对实验蓝藻的光合速率、呼吸速率和蓝藻叶绿素的吸光度的测定证明,掺杂纳米  $Fe_2O_3/TiO_2$  和 15%  $ZnO/TiO_2$  会促进蓝藻的生长,而掺杂 10% 和 5%  $ZnO$  的纳米二氧化钛和  $WO_3$  的纳米二氧化钛对蓝藻生长具有一定抑制作用,尤其掺杂 1.5%  $WO_3$  和 5% 的  $ZnO$  的纳米  $TiO_2$  的蓝藻的光合速率和呼吸速率非常缓慢,蓝藻吸光度值显著降低,显微镜观察显示蓝藻细胞壁被破坏,对抑制蓝藻生长产生较好的效果.

#### 参考文献:

- [1] 赵元章. 我国江河湖海除藻的治标与治本浅析[J]. 生态与自然保护, 2000, 2(8): 29~30.
- [2] 宁平, 徐晓军, 朱易. 混凝法在滇池蓝藻爆发期净水除藻的可行性研究[J]. 上海环境科学, 2002, 21(3): 160~162.
- [3] 潘纲, 张明明, 闫海, 等. 黏土絮凝沉降铜微囊藻的动力学及其作用原理[J]. 环境科学, 2003, 24(9): 1~10.
- [4] Nicholson B, Resitano J, Burch M D. Destruction of cyanobacterial peptide hepatotoxins by chlorine and chloramines[J]. Water Research, 1994, 28(6): 1297~1303.
- [5] 裴海燕, 胡文容. 臭氧杀藻特性实验研究[J]. 工业水处理, 2003, 23(9): 55~57.
- [6] 和丽萍. 利用化学杀藻剂控制滇池水华研究[J]. 云南环境科学, 2001, 20(2): 43~44.
- [7] 万登榜. 污水稳定塘除藻的可行性技术研究[J]. 应用与环境生物学报, 1995, 1(5): 84~87.
- [8] Becker E W. Microalgae - Biotechnology and Microbiology[M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1994.
- [9] Galston A, Davies P, Satter R. 新编植物生理学——绿色植物的生活[M]. 戴尧仁, 倪逸声, 葛明德译. 北京: 北京大学出版社, 1989.
- [10] 严国光, 周佩珍, 郭础, 等. 光合作用原初过程[M]. 北京: 科学出版社, 1987.
- [11] 陈峰, 姜悦. 微藻生物技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999.
- [12] 陆长梅, 张超英, 吴国荣, 等. 纳米级  $TiO_2$  抑制微囊藻生长的实验研究[J]. 城市环境与城市生态, 2002, 15(4): 13~15.
- [13] 方柏, 古国榜, 李新军, 等.  $WO_3/TiO_2$  纳米材料的制备及光催化性能[J]. 物理化学学报, 2000, 16(11): 997~1002.
- [14] 金相灿, 屠清英. 湖波环境调查规范[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1990. 77~79.
- [15] 李合生. 氧电极法测定植物光和速率和呼吸速率. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2001, 152~155.
- [16] Linsebigler A L, Lu G, Yates J T. chem. Rev, 1995, 95(1): 69~96.
- [17] 刘志礼, 刘雪娴, 杜庆红. 蓝藻聚铁作用的模拟试验[J]. 地质科学, 1993, 29(1): 79~86.