

# KS-62 균주에 의한 펄프 표백 폐액처리에 관한 연구

조 준 형<sup>†</sup> · 은 주 영<sup>\*</sup>

## Studies on the Treatment of Pulp Bleaching Effluent with KS-62 Fungus

Jun-Hyung Cho<sup>†</sup> and Ju-Young Eun<sup>\*</sup>

### ABSTRACT

High colored kraft bleaching effluent is one of the main constrains in pulp and paper industry due to its dissolved lignin derivatives. The degradation of lignin in pulp and paper mill effluent is mainly caused by white-rot fungi. This paper showed that the treatment with KS-62 fungus significantly reduced the color and chemical oxygen demand in the effluent. The amounts of Mn ions in the wastewater would play roles in the induction and activity of MnP (manganese peroxidase). Extracellular MnP was isolated from the fungus KS-62. The treatment with the MnP had the most effective decolorization in the wastewater treatment using nutrients medium.

### 1. 서론

환경에 대한 관심이 점차 고조됨에 따라 펄프·제지 산업의 커다란 문제점으로 부각되어 온 것은 난분해성 오염물질과 심각한 색도를 띠는 폐수처리가 바로 그것이다. 이러한 펄프 제지 폐수의 오염물질을 효과적으로 제거하기 위하여 물리적, 화학적, 생물학적 처리방법이 연구되어져 왔다. 생물학적 처리방법은 대부분 박테리아를 이용한 현탁 증식 처리 공정인 활성 슬러지법이 주종을 이룬다. 이 처리법은 적용이 용이하며 펄프 공장에서 배출되는 독성을 감소시키거나 제거하기에 효과적이다.<sup>12)</sup> 하지만 이러한 처리법은 긴 HRT (hydraulic retention time)를 요하며 넓은 사

용부지가 필요하여 소요경비에 대한 부담이 큰 단점을 가지고 있다.<sup>6,9)</sup>

최근에는 난분해성 물질인 리그닌의 분해에 대한 관심이 고조되면서 백색부후균에 관한 연구가 활발하게 이루어지고 있다. fungi는 그 분해방법에 의해 white-rot fungi, brown-rot fungi, soft-rot fungi로 구분된다. 이들 세 부류 중 white-rot fungi가 가장 뛰어난 리그닌 분해균으로서 이에 대한 연구가 꾸준히 수행되고 있다. 이러한 백색부후균 중에서 특히 Phanerochaete Chrysosporium과 Coriolus Versicolor는 뛰어난 리그닌 분해력을 지니는 것으로 보고되었다.<sup>5,10-11,14)</sup>

미생물처리는 적절한 배지 조건이 중요하며 리

• 강원대학교 산림과학대학 제지공학과(Dept. of Paper Science & Engineering College of Forestry, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea).

\* 강원도 보건환경연구원(Health and Environment Institute, Kangwon Province).

† 주저자(Corresponding author): e-mail: jhcho@cc.kangwon.ac.kr

그런 분해뿐만 아니라 폐액의 탈색도를 높이기 위해서는 알맞은 성장 기질을 요구한다.<sup>8)</sup> 또한 리그닌 화합물은 biphenyl type의 carbon-carbon 결합으로 인해 분해하기에 어렵다. 특히 염소 표백 단계를 거쳐 배출되는 chlorinated lignin은 높은 염소 함유량에 의해 야기되는 여러 가지 부식 문제로 인해 공장 내의 회수 시스템에 많은 어려움을 주고 있는 실정이다.<sup>12)</sup> 이에, 백색부후균은 리그닌을 분해하는 ligninolytic system을 가지고 있어 kraft lignin과 chlorinated lignin에 대한 분해력을 가지고 있으므로 펄프 표백공정에서 생성된 난분해성 유기 화합물을 포함하는 폐액처리에 널리 이용되고 있다.<sup>1,4)</sup> 리그닌에는 풍부한 탄소가 있으나 이러한 것들은 리그닌 분해균의 성장 기질이 아니다. 이들 분해균은 cellulose, hemicellulose, glycerol과 같은 간단한 탄소원, 즉 에너지원의 존재하에서 리그닌 화합물을 대사한다.<sup>2,3,7,10)</sup> 그러나 이러한 영양물질의 첨가로 인해 폐수처리시 오히려 화학적 산소 요구량(Chemical Oxygen Demand) 및 생물학적 산소 요구량(Biochemical Oxygen Demand)의 부하를 높일 우려를 안고 있다고 보고되었다. 또한 fungi에 의한 리그닌 분해는 그 분해 속도가 느리며 선택성이 나쁜 단점을 지니고 있다. 이에 따라 최근 관심을 가지는 처리법으로, fungi로부터 리그닌 분해 관련 균체의 효소를 분리하여 직접 폐수처리하는 방법이 연구되어지고 있다.<sup>1)</sup>

일반적으로 백색부후균은 폐수처리에 glucose와 같은 보조 영양원을 필요로 하고 있는데 그러한 첨가제의 공급으로 인해 COD는 급격하게 증가하여 균처리에 역효과를 가져오게 된다. KS-62 균주는 이와 같은 보조 영양원의 소량첨가에서도 뛰어난 폐수처리 효과를 보여 COD의 제거에 대한 반응 안정성을 가진다.<sup>13)</sup> 하지만 배양시킨 균을 폐액에 직접 투입하여 리그닌 분해효소를 유도하는 지금까지의 폐액처리 방법은 오랜 처리 기간을 필요로 하는 단점이 있어 본 논문에서는 리그닌 분해균으로부터 균체 외 효소를 분리하여 단시간 내에 효과적인 폐수처리를 하고자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1 균주 및 폐액

본 실험에서 사용한 목재부후균인 KS-62 균주는 일본 구주(九州)대학에서 분리한 것으로 이 균주는 30℃의 Potato-dextrose agar(PDA)배지에서 1주일간 증식시킨 후, 4℃에서 보존하였다.

본 실험에 사용된 폐액은 크라프트 펄프 공장의 침엽수 크라프트 펄프 표백공정으로부터 채취한 폐액을 사용하였다. 이 폐액은 처리하기 전 고형물질을 제거하기 위해 유리 섬유 여과지(GB 140)를 사용하여 여과 처리한 후 사용되었다. pH는 1 N HCl과 1 N NaOH를 사용하여 4.5에 맞추었으며 20분간 121℃에서 멸균하였다. 초기 색도(Color Unit)는 3,500이었다.

### 2.2 배양배지의 조성

배양배지는 Glucose, Ammonium tartrate,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 2-dimethylsuccinate, Thiamine-HCl,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CaCl}_2$ 의 조성으로 만들었으며, 배양조건은 정치배양, 진탕배양의 2가지로 조건을 달리하여 실험하였다.

### 2.3 효소활성 측정

생체 내에서 일어나는 모든 화학반응에 대해 효소는 그 촉매로서 작용하고 있다. 여기서는 리그닌을 분해하는 미생물인 백색부후균의 리그닌 분해 관련효소인 Lignin Peroxidase, Manganese Peroxidase, Laccase의 효소활성을 측정한다.

#### 2.3.1 Lignin-Peroxidase(Lip)의 측정

Lignin-Peroxidase(Lip)는 리그닌 분해 관련 효소일 뿐만 아니라 비페닐화합물의 산화가 가능한 효소이다. 기질로서는 veratryl alcohol(VA) 및 과산화수소( $\text{H}_2\text{O}_2$ )를 이용하여 베라트릴 알코올(VA)이 베라트릴알데하이드(Vald)로 산화되는 속도를 측정한다.

(측정법)

20 mM의 완충액(pH 3.0)을 제조한다. 완충액의 제조는 20 mM 고학산용액 및 20 mM 마

론산나트륨 수용액을 각각 제조한 후 pH 미터를 사용하여 pH 3.0이 되도록 이 두 용액을 적절히 혼합한다. 다음은 이렇게 제조된 완충액을 사용하여 3 mM veratryl alcohol(VA)을 제조한다. 또 3 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 수용액을 제조한다. 시험관에 위에서 제조한 VA를 1 mL, 완충액 1.4 mL를 첨가하고 그 후 배양액 500 mL를 첨가하여 37°C에서 10분간 가온시킨다. 그 다음 100 µL의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 수용액을 첨가하여 5분간 반응시킨 후 310 nm의 파장에서의 흡광도를 측정한다. 이때 control로서는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 수용액 대신 물을 사용하여 위와 동일한 방법으로 흡광도를 측정한다. 효소 1 mL, 반응 1분간에 대한 흡광도 변화를 산출한다. 측정수는 정확성을 위해 3회 이상 반복 측정한다.

### 2.3.2 Mn-Peroxidase(MnP)의 측정

Mn-Peroxidase(MnP)는 금속이온인 Mn<sup>2+</sup>을 과산화수소를 이용하여 Mn<sup>3+</sup>로 산화시키며 이 Mn<sup>3+</sup>가 페놀성 화합물로 산화한다고 알려져 있다. 여기서는 MnP 활성을 측정하기 위한 간접적 방법으로 페놀성 화합물의 중합물에 대한 흡광도를 측정하였다.

#### (측정법)

50 mM의 마론산 완충액(pH 4.5)을 조제한다. 완충액의 조제는 마론산 및 마론산 나트륨을 사용하여 50 mM의 마론산 완충액을 만든다. 이렇게 만들어진 완충액을 사용하여 3 mM의 MnSO<sub>4</sub> 용액 및 3 mM의 dimetoxxyphenol 용액을 제조한다.

또 6 mM의 과산화수소(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 용액을 제조한다. 시험관에 만들어진 MnSO<sub>4</sub> 용액과 dimetoxxyphenol 용액을 각각 1 mL 첨가한 후 마론산 완충액을 800 µL 첨가시킨 다음 배양액을 100 µL 첨가하여 37°C에서 10분간 가온처리한다. 그 후 6 mM의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 수용액을 100 µL 첨가하여 5분간 반응시켜 470 nm에서의 흡광도를 측정한다. 이것을 3회 이상 반복 측정하여 효소 1 mL, 1분간에 대한 흡광도의 변화를 산출한다. control로서는 과산화수소 대신 물(H<sub>2</sub>O)을 사용하여 동일한 방법으로 측정한다.

### 2.3.3 Laccase(Lac)의 측정

Laccase는 페놀성 화합물의 산화에 촉매로서 작용하는 효소로서 MnP와 동일한 이론으로 측정한다.

#### (측정법)

50 mM의 마론산 완충액을 조제한다. 시험관에 3 mM의 2,6-dimetoxxyphenol과 완충액을 각각 1 mL씩 첨가하여 37°C에서 10분간 가온시킨다. 이때 배양액 1 mL를 동시에 가온시킨다. 10분 후 가온시킨 배양액을 1 mL 첨가하고 5분간 반응시킨 다음 파장 470 nm에서의 흡광도를 측정한다. 이것을 3회 이상 반복 측정하여 효소 1 mL, 1분간에 대한 흡광도의 변화를 산출한다. control은 2,6-dimetoxxyphenol 대신 완충액을 사용하여 동일한 방법으로 측정한다.

$$\text{활성도} = \frac{\text{시료의 흡광도} - \text{Control의 흡광도}}{\text{반응시간(min)} \times \text{배양액의 양(mL)}}$$

## 2.4 균체외 효소의 분리

대량 배양한 액체 배지를 유리섬유여과지를 사용하여 균사체를 제거한 후 그 여과액을 -20°C에서 약 48시간 동결시킨 다음 4°C에서 1주일간 해동시킨다. 해동된 배양액을 분자량이 10 KD 이상의 효소액만을 분리하기 위해 4°C에서 한외여과(Ultra-filtration)하여 효소를 분리하였다.

## 2.5 색도(Color Unit)

균처리된 폐수를 pore size가 0.45 µm인 membrane filter로 균사체를 제거한 후 UV를 이용하여 파장 457 nm에서의 흡광도를 측정하였다.

$$CU = \frac{500 \times A_{457}}{0.123}$$

A<sub>457</sub> : 파장 457 nm에서의 흡광도  
0.123 : 색도가 500 CU인 표준용액의 흡광도

## 3. 결과 및 고찰

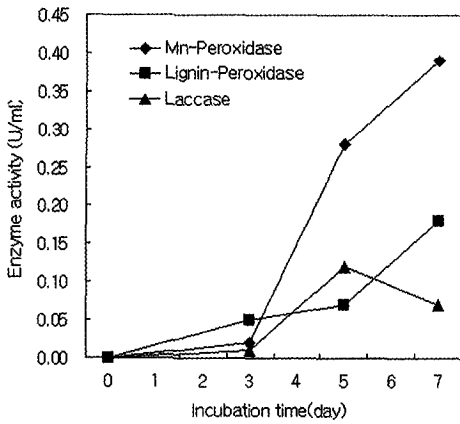


Fig. 1. Comparison of enzyme activity of MnP, Lip and Laccase.

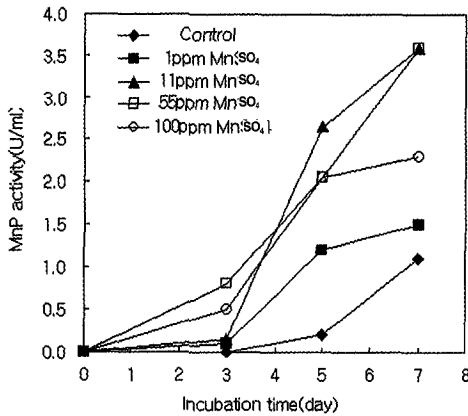


Fig. 2. Effect of the concentration of MnSO4 on enzyme activity.

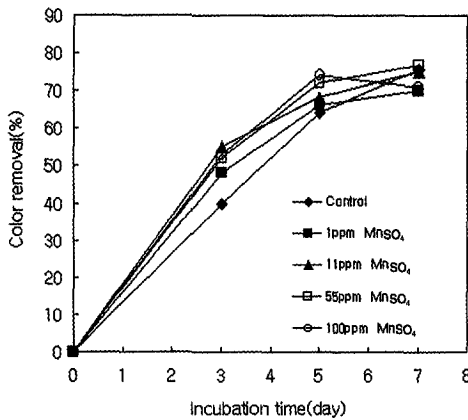


Fig. 3. Effect of MnSO4 concentration on decolorization of wastewater.

### 3.1 리그닌 분해효소활성 측정

KS-62 균주를 배양하여 펄프폐액에 상기의 배지조성으로 균의 생장 정도와 LiP, MnP, Lac의 효소활성을 측정하여 Fig. 1에 나타내었다.

그 결과, LiP와 Lac는 7일간의 배양기간에서 거의 측정되지 않았으나 MnP는 최고 0.37(U/mL)의 활성치를 나타내었다.

Fig. 2는 MnSO4의 첨가량에 대한 폐액의 탈색도 및 MnP의 활성 측정결과이다. 실험 1을 통해 KS-62 균주의 리그닌 관련 분해효소는 MnP임을 알았다.

그러나 그 활성이 낮으므로 여기서는 MnP의 유도제로서 MnSO4를 첨가하여 효소의 활성도 및 색도 감소율을 측정하였다. 폐액을 첨가한 배지에 MnSO4를 각각 1, 11, 55, 100 ppm으로 농도를 달리하여 첨가한 후 전배양한 KS-62 균주를 첨가시켜 30°C에서 7일간 정치배양한다.

3일, 5일, 7일째에 일정량(10 mL)를 취해 여과시킨 후 MnP 활성도 및 색도 감소율을 측정하였다.

그 결과, MnSO4의 첨가량이 11 ppm이었을 때 가장 활성이 높았다. 그러나 첨가량을 100 ppm까지 증가시켰을 경우 오히려 저조한 활성치를 나타냄을 알 수 있었다. 이와 같은 결과를 통해 MnSO4의 적정량 첨가가 MnP 효소유도제로서의 중요한 인자가 된다는 사실을 알 수 있었다.

Fig. 3은 상기의 배지조건으로 KS-62 균주를 투여하고 MnSO4의 첨가량을 달리하여 7일간 배양한 것으로 0, 3, 5, 7일째의 폐액 탈색도를 측정한 결과이다. 위 실험결과 폐액의 탈색도는 7일간 배양했을 경우, 최고 75%의 감소율이 얻어졌다.

### 3.2. Veratryl alcohol(VA) 첨가에 의한 리그닌 분해효소의 유도

배지를 pH 4.5에 맞춰, 멸균처리한 후 전배양하여 균질화시킨 KS-62 균주를 첨가하여 7일간 진탕배양하였다. 배양 3일째에 3 mM의 veratryl alcohol을 첨가하고 최적의 배양 조건을 갖추기 위해 매일 1시간씩 산소를 주입하였다. 3일, 5일, 7일째에 일정량(10 mL)을 취해 여과 후 MnP 효소활성을 측정하였다. Fig. 4에서 알 수

있듯이 전반적으로 veratryl alcohol을 첨가하였을 때 활성이 높았으며 7일간의 배양 후 MnP 활성은 약 1.19 U/mL를 나타내었다. 위와 같은 결과를 통해 본 실험에서의 KS-62 균주의 주요 분비효소는 MnP임을 알 수 있었으며 veratryl alcohol이 KS-62 균주의 MnP 유도제로서 작용함을 확인하였다.

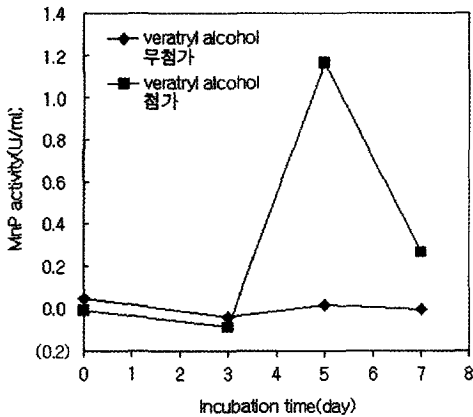


Fig. 4. Effect of the addition of veratryl alcohol on MnP activity.

### 3.3 균체의 효소에 의한 펄프 표백 폐액처리

#### 3.3.1 균체의 효소에 의한 폐액처리 조건 검토

상기의 실험을 통해 확인한 KS-62 균주의 펄프 표백 폐액처리시의 주요 분해효소로 작용하는 MnP의 분비 촉진을 위해 배양배지에 3 mM의 veratryl alcohol과 11 ppm MnSO<sub>4</sub>를 첨가하여 7일간 대량배양하였다. 대량생산된 효소는 Ultra-Filtration(10,000 cut-off)을 사용하여 한외여과시켜 분자량 10 KD 이상의 균체의 효소를 단리하였다. 이렇게 단리한 균체의 효소를 이용한 폐수처리는 100 mL의 삼각플라스크에 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 0.05% Tween 80을 각각 1 mL씩 첨가한 후 단리한 효소액(분자량 10 KD 이상의 효소액)을 50, 100 U/mL가 되도록 첨가한다. 폐수는 5 mL와 40 mL의 두 가지 용량으로 첨가시킨 다음 전량이 50 mL가 되도록 완충액을 첨가시킨다. 그 후 10초간 산소를 주입시킨 후 30℃, 150 rpm의 인큐베이터에서 반응시킨다.

3, 6, 12, 24시간 반응시킨 배양액을 일정량(약 1 mL)을 취해 폐액의 탈색도를 검토하였다.

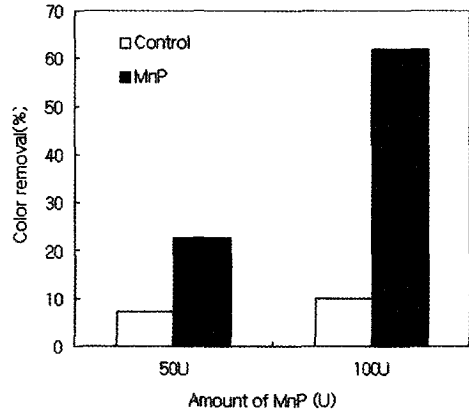


Fig. 5. Effect of MnP addition on decoloration at low concentration of effluents.

Fig. 5에서와 같이, 5 mL의 폐액을 첨가한 경우 100 U의 효소액 첨가로 인해 약 60%의 색도가 감소되었다. 효소액을 첨가시키지 않은 반응에서도 약 10%미만의 탈색도를 보이고 있는데 이것은 폐액처리에 사용된 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 기인된 것을 여겨진다. Fig. 6에서 알 수 있듯이 40 mL의 폐액을 첨가한 경우에는 약 30%의 색도 감소를 보이는데, 5 mL의 폐액을 첨가했을 때와 비교하면

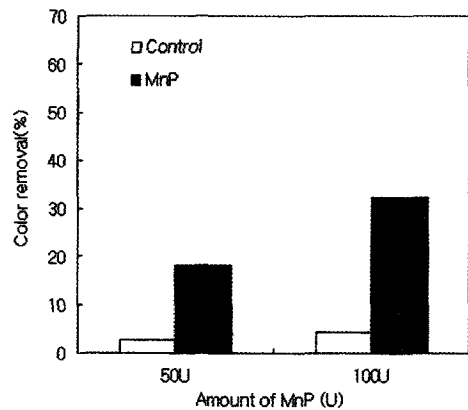


Fig. 6. Effect of MnP addition on decoloration at high concentration of effluents.

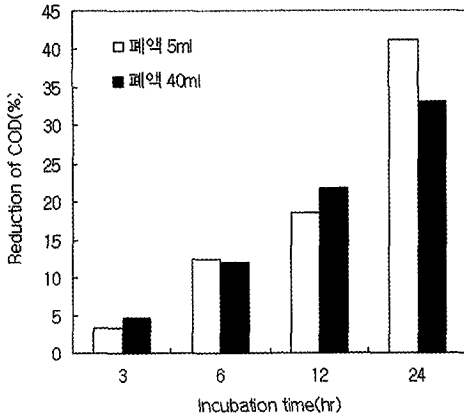


Fig. 7. Comparison of the reduction of the COD by effluent concentration.

거의 반 이상의 차이를 보였다 이와 같은 결과를 통해 저농도의 폐액처리시 더욱 우수한 탈색성을 보임을 알 수 있었다.

Fig. 7은 100 U의 조효소액을 첨가했을 경우의 COD 감소율을 측정한 것으로서 5 mL 폐액 처리의 경우에는 약 40%가 감소되었고 40 mL 폐액처리 경우에는 약 30% 감소되었다.

이러한 결과는 폐액처리에 사용되는 다른 백색 부후균과 비교하였을 때 우수한 결과로서 KS-62 균주가 분비하는 MnP 효소가 폐액의 COD 제거에 효과가 뛰어난 것을 나타내고 있다.

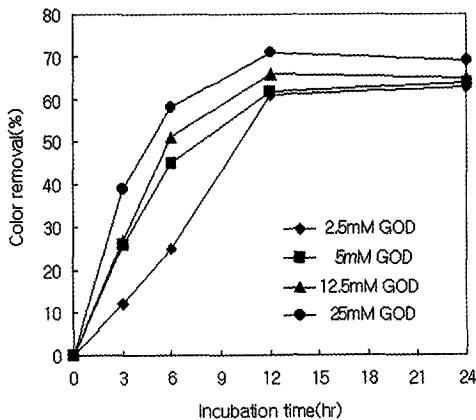


Fig. 8. Effect of GOD addition on decoloration at low concentration of wastewater.

### 3.3.2 Glucose oxidase(GOD) 첨가량에 대한 MnP 활성 및 색도의 영향

glucose의 산화 반응에 있어 GOD가 촉매 역할을 하여 과산화수소(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)를 생산하게 된다. 이렇게 생산된 과산화수소의 양이 적정 수준을 초과하여 생산될 경우 표백제로 작용하여 폐액의 색도 감소에 영향을 미치게 될 가능성이 있으므로 여기서는 GOD의 첨가량에 대한 MnP 활성 및 색도에 대한 영향을 검토하였다. 효소액은 100 U로 균일하게 투입하였으며 GOD는 각각 2.5, 5, 12.5, 25 mM을 첨가하였다. glucose는 투입되

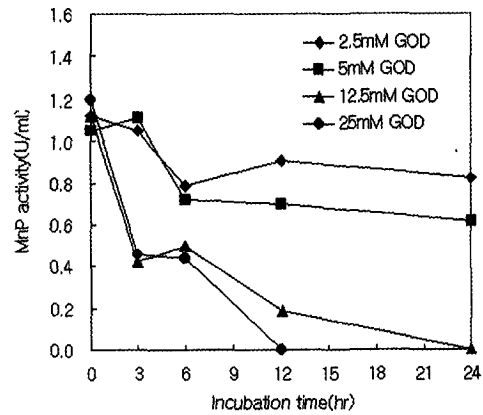


Fig. 9. Effect of GOD addition on enzyme activity at low concentration of wastewater.

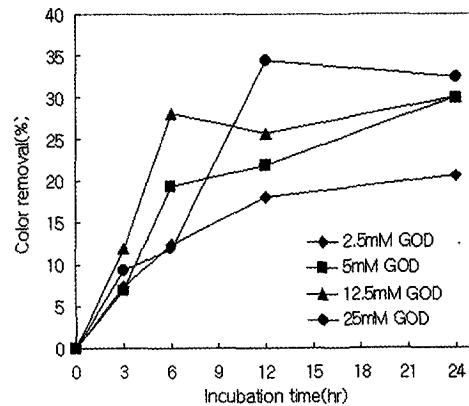


Fig. 10. Effect of GOD addition on decoloration at high concentration of wastewater.

는 GOD의 양에 맞추어 동일한 mole을 첨가하였다. 폐액은 5 mL와 40 mL 첨가하여 30°C, 150 rpm의 진탕배양으로 24시간 처리되었다.

Fig. 8과 Fig. 9는 5 mL 폐액에 적용하였을 경우의 색도 감소율 및 MnP 활성을 측정하였다. 배양시간에 따라 MnP 활성은 전체적으로 감소되는 경향을 보이는데 특히 12.5 mM과 25 mM의 경우, GOD의 첨가량이 증가할수록 활성치는 급격히 감소되어 12시간 후에는 거의 활성을 띠지 않았다. 색도 감소율은 반응시간에 따라 점점 증가되어 12시간 처리 후 거의 60%의 제거율을 보였다. 그림에서 알 수 있듯이 25 mM GOD를 첨가한 경우 MnP 효소의 급격한 감소에도 불구하고 높은 색도 감소율을 보이고 있다. 이는 과량생산된 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의한 감소로 생각된다.

Fig. 10과 Fig. 11은 40 mL 폐액처리의 결과를 나타내었다. 전체적으로 5 mL 폐액처리와 동일한 경향을 보이고 있으며 색도 감소는 최고 35%로서 5 mL의 저농도 폐액처리에 비해 낮은 처리율을 나타냄을 알 수 있었다.

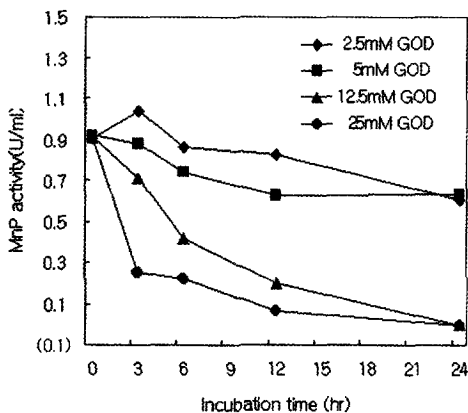


Fig. 11. Effect of GOD addition on enzyme activity at high concentration of wastewater.

## 4. 결론

본 연구는 목재부후균인 KS-62 균주를 사용하여 펄프 표백 폐액처리를 실시한 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. KS-62 균주로 폐액처리시, 펄프 폐액처리

에 관여하는 효소는 Manganese Peroxidase이며 Lignin peroxidase와 Laccase는 거의 관여하지 않음을 확인하였다.

- 직접 균을 주입하여 폐액처리시, 7일간의 반응 후 약 80%의 우수한 색도 감소 효과를 보였다.
- 폐액처리시의 최적 MnSO<sub>4</sub>의 첨가량은 11 ppm이며 과다한 MnSO<sub>4</sub>는 활성을 오히려 떨어뜨린다는 결과를 얻어 적절한 MnSO<sub>4</sub> 사용이 중요함을 확인하였다.
- 균체의 효소 MnP의 유도제로서는 veratryl alcohol 및 MnSO<sub>4</sub>가 우수한 효과를 보였다.
- 균체의 효소를 폐액에 직접 투여하여 처리하였을 경우 24시간 반응 후 약 60%의 높은 탈색도를 보였으며, 약 40%의 COD 감소를 나타내었다. 이러한 결과는 폐액처리에 사용되는 다른 백색부후균과 비교하였을 때 우수한 결과로서 KS-62 균주가 분비하는 MnP 효소가 폐액의 COD 제거에 효과가 뛰어남을 알 수 있었다.
- GOD의 과량첨가시 높은 탈색성을 보이는데 이것은 과도하게 생산된 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의한 효과로 추정되며 저농도 폐액처리시보다 높은 탈색성을 보임을 알 수 있었다.

## 감사의 글

본 논문실험을 위해 실험분석 및 많은 조언을 해 주신 일본 구주대학 목재화학 실험실의 Ryuichiro Kondo 교수님께 깊은 감사를 드립니다.

## 인용문헌

- Bae, H. J., Kim, Y. S., Degradation characteristics of ligninsulfonate by laccase and Mn-peroxidase., 23(4):27 (1995).
- Buswell, J. A., Fungal degradation of Lignin., In Handbook of Applied Mycology., 1:425 (1991).
- Buswell, J. A., Odier, E., Rev. Biotechnol., 6: 1

- (1987).
4. Eriksson, K. E., Blanchette, R. A., Ander, P., Microbial and Enzymatic Degradation of Wood and Wood Components, 407 (1990).
  5. Eriksson, K. E., Kolar, K. C., Environ. Sci. Technol., 19:1086 (1985).
  6. Gove, G. W., McKeown J. J., Tappi 58(12): 121 (1975).
  7. Higuchi, T., Biosynthesis and Biodegradation of Wood Components, Academic Press (1985).
  8. Hiroi, T., Eriksson, K. E., Svensk Papperstidn., 79:157 (1976).
  9. Johnson, D. R., Tappi 59(2):140 (1976).
  10. Kirk, T. K., Farrell, R. L., Ann. Rev. Microbiol., 41:465 (1987).
  11. Lamar, J. M., Chung, L. T. K., Appl. Environ. Microbiol., 56 : 3519 (1990).
  12. Leach, J. M., Chung, L. T. K., Development of a chemical toxicity assay for pulp mill effluents (1980).
  13. Lee, S. H., Kondo, R., Sakai, K., Mokuzai Gakkaishi., 41(1):63 (1995).
  14. Marton, J., Stern, A. M., Marton, T., Tappi 52 (1975-1981).