이미지분석기를 이용한 취수원수 장해성 조류 분석 결과 보고서

조은주, 김민정, 최병도, 부민준, 차영섭, 김복순

1. 서론

조류(algae)는 수생태계의 일차생산자 및 산소 공급자로서 매우 중요한 미생물이다. 그러나 하천 및 호소의 지표수를 취수원으로 사용하는 정수처리시설에서는 조류가 대량번식할 경우 산소 고갈로 인한 물고기 폐사, 조류 대사산물인 맛·냄새물질로 인한 물 이용·음용의 불편함, 독소물질로 인한 가축 폐사 및 사람 건강 위해도 증가, 정수처리과정에서 응집침전 및 여과장해, 조류분비물질과 소독제가 반응하여 트리할로메탄과 같은 발암물질을 생성하는 등의 많은 문제점을 야기한다. 한강 상수원 수계에서는 연중 규조류가 우점하고, 여름철에는 남조류가 우점하기도 하며, 녹조류와 편모조류는 소수 출현하고 있어 한강 상수원 수계에 위치한 정수장에서는 규조류와 남조류 위주의 관리가 필요한 것으로 판단된다(조은주 등, 2018). 특히 장해성 규조류인 시네드라속과 아울라코세이라속은 고농도 출현시 여과지를 단시간 내에 폐쇄시켜 여과지속시간을 단축시켜 정수 생산량을 감소시키고 배출수량을 증가시켜 배출수처리 부하를 증가시키게 된다(김민채 등, 2014). 또한 유해남조류 외의 슈드아나베나속은 저수온시기의 냄새물질인 2-MIB 발생시키는 원인물질 중 하나로 알려져 있어, 저수온 시기 상수원에 고농도 발생시 정수처리 운영에 어려움을 겪고 있다(변정환 등, 2015).

조류 개체수 조사를 위한 분석방법은 현재 수질오염공정시험기준에 의거한 현미경 관찰방법이 표준시험방법이나 시료 중에 고농도 존재시 장시간 현미경 관찰로 인한 분석자의 피로도 과중 및 데이터 생산 지연 등의 문제점을 가지고 있다.

따라서 본 조사는 이미지분석장치를 이용하여 정수처리장 운영관리에 중요한 인자인 여과폐색 규조류와 유해남조류 및 냄새물질 발생 남조류를 보다 신속하게 검출하고자 하였으며, 현미경관찰로 야기될 수 있는 분석자의 근골격계 질환 등의 질병 예방까지 도모하고자 하였다.

2. 조사대상 및 방법

2.1. 시료 채수지점 및 주기, 항목

시료채취 지점은 팔당댐에서 잠실수중보 사이에 위치한 광암, 강북, 암사, 자양, 풍납의 5개 취수장이며, 조사 주기는 월 2회 실시하였다(그림 1). 유해남조류는 여름철에만 주로 증식하기 때문에 데이터 수를 확보하기 위하여 한강본류의 4개 대교지점(미사대교, 강동대교, 광진교, 잠실철교)에서 채수된 8월 시료를 추가하여 조사하였다.

그림 1. 시료채취 지점

조사항목은 주요 여과폐색규조류 3속(*Aulacoseira*속, *Synedra*속, *Asterionella*속)과 유해남조류 4속(*Microcystis*속, *Anabaena*속, *Oscillatoria*속, *Aphanizomenon*속) 및 냄새물질 발생남조류인 *Pseudanabaena*속이었다.

2.2. 조류 시험방법

2.2.1. 이미지분석방법

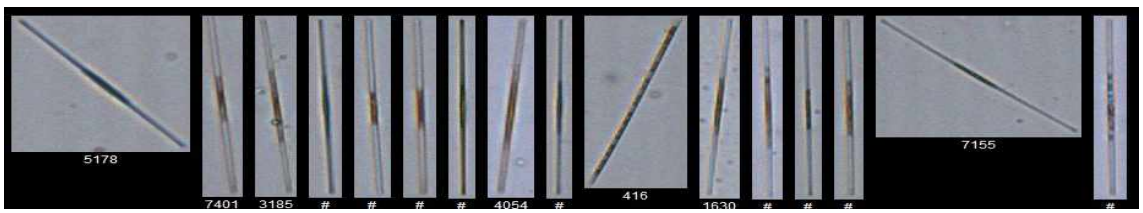
이미지분석장치는 Flowcam 화상분석시스템(Fluid Imaging Technologies, InC., USA)을 사용하였고, 기타 세부 조건은 아래와 같이 수행하였다(그림 2)(표 1).

그림 2. 조류 이미지 분석장치

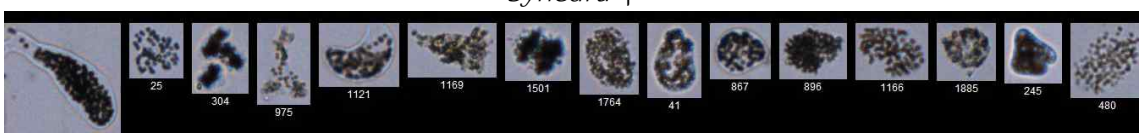
표 1. 이미지분석 조건

구 분	조 건	비고
셀의 종류	FC 300 (깊이 300 μm, 폭 3,000 μm)	
렌즈 배율	4배	
시료량	3~10 mL	셀이 막히는 경우 2~4배 희석
유 속	1 mL/min	
이미지 측정 속도	초당 11 프레임	
입자측정범위	15~300 μm	

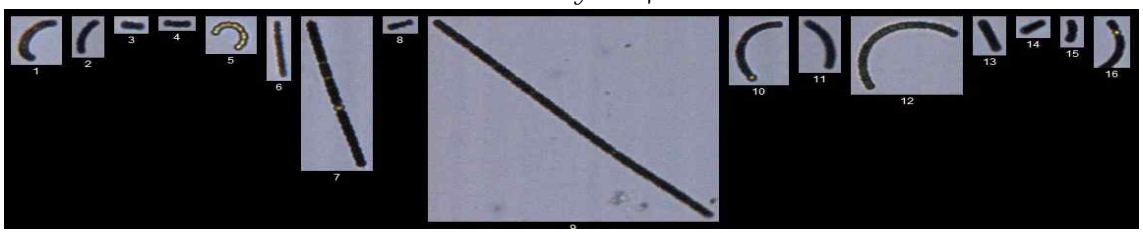
측정 셀의 막힘 여부에 따라 시료를 초순수로 2~4배까지 희석한 후 3~10mL를 측정셀에 넣으면 4배 렌즈를 통과하면서 이미지가 자동으로 촬영되어 저장되며, 촬영된 입자가 가지고 있는 특징(길이, 면적, 원형도, 대칭도 등)도 함께 저장되었다. 측정에는 시료량에 따라 3~10분이 소요되었다. 측정이 끝나면 입자의 이미지들을 '유사특성 입자 정렬' 기능을 이용하여 비슷한 모양과 크기를 가진 입자들을 정렬시킨 후 조류 속별 분류를 수동으로 시행하였다(그림 3). 이 때 라이브러리 구축 후 자동으로 분류할 수 있는 필터 기능을 사용할 수 있으나 조류가 크기와 모양 등이 서로 비슷하여 자동 분류가 어려우므로 이 기능은 사용하지 않았다. 시료별 분류된 속별 조류 입자의 특징(측지길이, 면적, 갯수 등)을 엑셀파일로 변환 후 평균 세포 크기, 시료 1mL당 입자수 비율, 희석배수를 적용하여 시료 1mL 당 개체수로 환산하였다.



<*Synedra*속>



<*Microcystis*속>

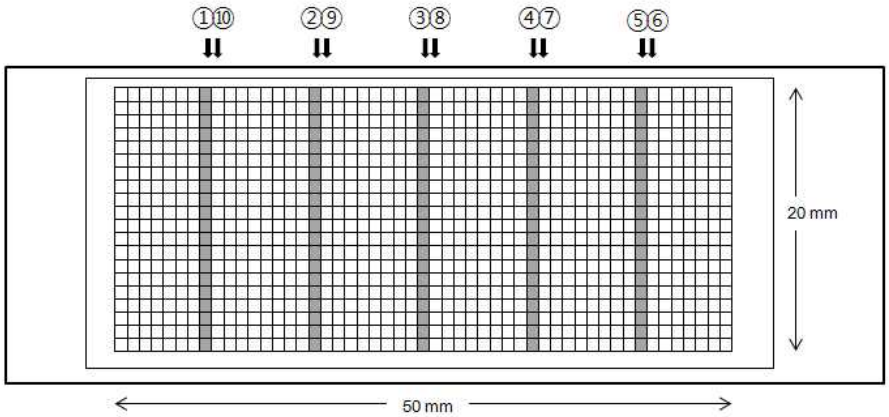


<*Anabaena*속>

그림 3. 이미지분석기를 이용한 조류 속별 분류 예

2.2.2. 현미경 관찰방법

조류 개체수는 수질오염공정시험기준의 식물플랑크톤-현미경계수법에 따라 시험하였다. 시험방법은 시료를 충분히 혼합한 후 1 mL를 취하여 세즈윅-라프터(Sedgwick-Rafter) 챔버에 가한 후 커버글라스를 덮고 15분 정도 방치시킨 후 유해남조류 4속(*Microcystis*속, *Anabaena*속, *Oscillatoria*속, *Aphanizomenon*속)은 현미경 총배율 40배로 챔버의 표면과 바닥면 전체를 관찰하면서 해당 조류가 발견되면 100~400배로 배율을 높여 동정 및 계수를 실시하였다. 나머지 조류에 대하여는 200~400배율로 5개의 스트립을 계수한 후 개체수의 합이 200 개체 이하이면 5개 스트립을 더 계수하였다(그림 4).



- 5개 스트립 계수 : ① ~ ⑤번 스트립 계수
- 10개 스트립 계수 : 5개 스트립 계수 후 ⑤번 스트립 옆의 ⑥번부터 ⑩번 까지 계수

그림 4. 세즈윅-라프터 챔버의 계수 방법

조류 개체수는 아래의 식에 따라 산출하였다.

$$\text{개체수 / mL} = \frac{C}{L \times D \times W \times N} \times 1{,}000 \qquad \text{식 (1)}$$

여기서, C = 계수된 개체수의 합

L = 스트립의 길이 (mm, 세즈윅-라프터 챔버는 20 mm)

W = 스트립의 폭 (mm, 세즈윅-라프터 챔버는 1 mm)

D = 스트립의 깊이 (mm, 세즈윅-라프터 챔버는 1 mm)

N = 계수된 스트립의 개수

3. 결과

3.1. 여과폐색규조류

3.1.1. 아울라코세이라속(*Aulacoseira*속)

*Aulacoseira*속은 한강상수원 수계에서 여름부터 가을철에 고농도로 출현하여 정수센터의 모래여과지를 폐색하는 것으로 보고된 바 있으며, 2018년에는 6월~11월까지 고농도 출현하였다. *Aulacoseira*속은 세포 여러 개가 연결된 사상체로 분포하므로 이미지 분석시 개체수 산정은 사상체의 굽은 모양을 따라 측정된 길이, 즉 측지길이(geodesic length)를 측정하고, 평균 세포크기(길이)로 나누었다. 평균 세포 크기는 세포가 구분가능한 사상체 200개를 선정하여 사상체당 세포수를 계수한 후 사상체의 측지길이를 세포수로 나눈 값들의 평균값으로 하였다. 세포당 평균 크기는 표 2와 같다. 이미지분석과 현미경관찰 방법 비교 결과, 두 분석방법 간에 선형관계가 성립되었고, 현미경 관찰방법이 이미지분석보다 1.2배 정도 높게 검출되는 것으로 나타났다. 결정계수 R^2은 0.76, 상관계수 R은 0.87, p값은 1.8×10^{-20}(p값<0.01)으로 두 방법 간에 유의미한 관계가 있는 것으로 나타났다(그림 5).

표 2. *Aulacoseira*속 평균 세포 크기 산정 결과

사상체수	세포 크기(μm)			
	평균	중위수	최대	최소
200	47	47	69	33

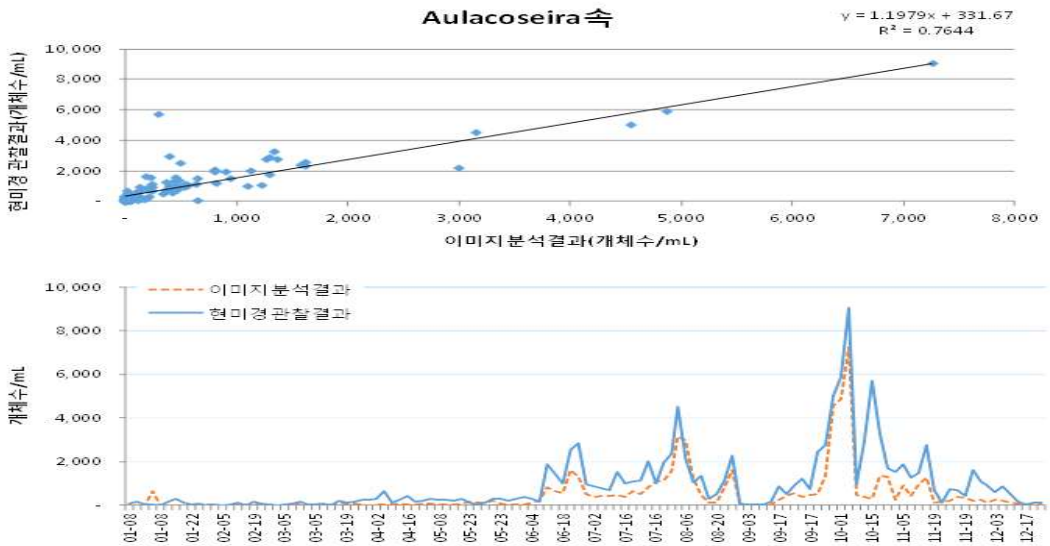


그림 5. *Aulacoseira*속의 이미지분석결과와 현미경 관찰결과 비교

3.1.2. 시네드라속(*Synedra*속)

*Synedra*속은 한강상수원 수계에서 500개체/mL의 적은 개체수로도 여과폐색을 일으키는 규조류로 보고된 바 있으며, 2018년은 4~6월에 최근 5년 동안 가장 높은 농도로 출현하였다. *Synedra*속은 개개의 세포가 단독으로 분포하므로 이미지 분석 시 개체수 산정은 측정된 입자의 수를 그대로 이용하였다. 이미지분석과 현미경관찰 방법 비교 결과, 두 분석방법 간에 선형관계가 성립되었고, 현미경 관찰방법과 이미지 분석방법이 거의 유사한 값을 나타내었다. 결정계수 R^2은 0.9416, 상관계수 R은 0.97, p값은 2.7×10^{-75}(p값<0.01)으로 두 방법 간에 유의미한 관계가 있는 것으로 나타났다(그림 6).

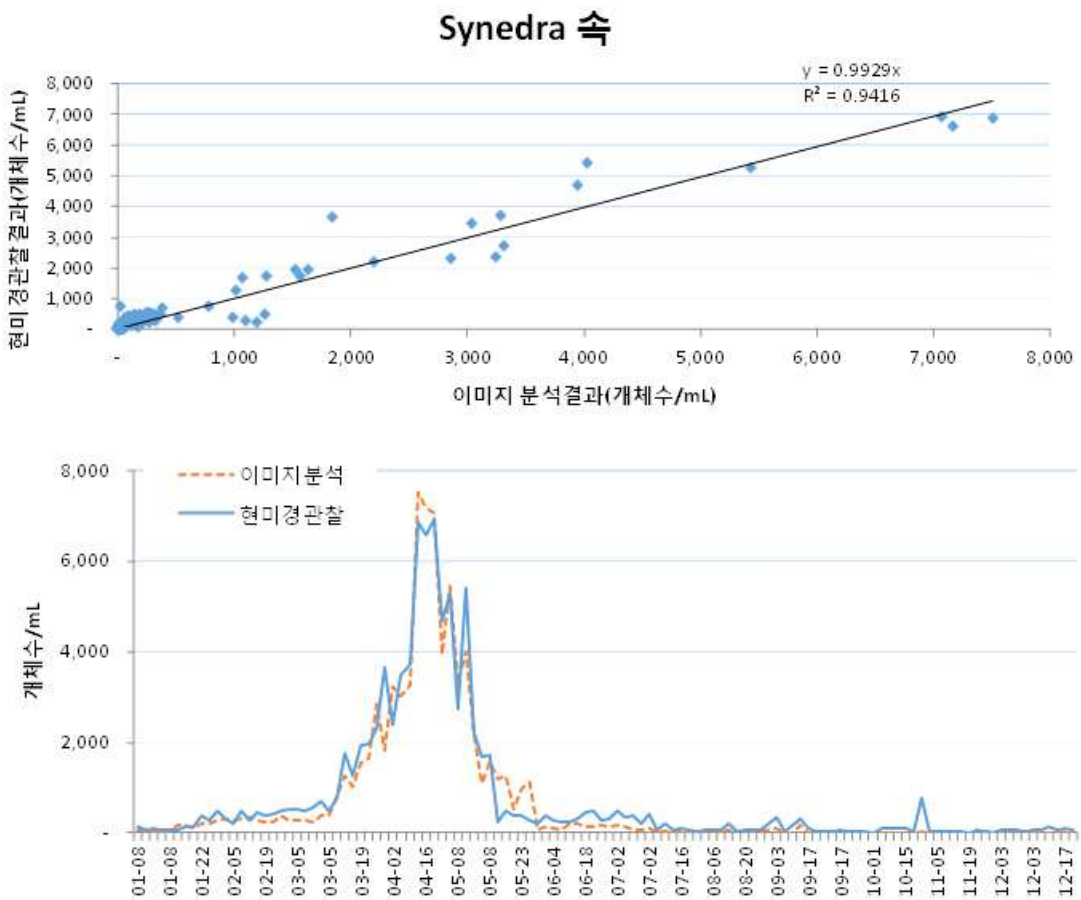


그림 6. *Synedra*속의 이미지 분석결과와 현미경 관찰결과 비교

3.1.3. 아스테리오넬라속(*Asterionella*속)

*Asterionella*속은 한강상수원 수계에서 주로 겨울철에 고농도로 출현하는 여과폐색 규조류로 2018년에는 1월부터 3월에 고농도 검출되었다. *Asterionella*속은 세포 여러 개가 연결되어 사상체를 이루기 때문에 이미지 분석시 개체수 산정은 측지길이를 측정하고, 세포당 평균 세포길이로 나누었다. 세포당 평균 길이는 세포가 구분가능한 사상체 100개를 선정하여 사상체당 세포수를 계수한 후 사상체의 측지길이를 세포수로 나눈 값들의 평균값으로 하였다. 평균 세포 크기 산정 결과는 표 3과 같다. 이미지분석과 현미경관찰 방법 비교 결과, 두 분석방법 간에 선형관계가 성립되었고, 현미경 관찰방법이 1.2배 정도 높게 검출되는 것으로 나타났다. 결정계수 R^2은 0.7644, 상관계수 R은 0.95, p값은 2.2×10^{-54}(p값<0.01)으로 두 방법 간에 유의미한 관계가 있는 것으로 나타났다(그림 6).

표 3. *Asterionella*속 평균 세포 크기 산정 결과

사상체수	세포 크기(μm)			
	평균	중위수	최대	최소
100	50	51	77	25

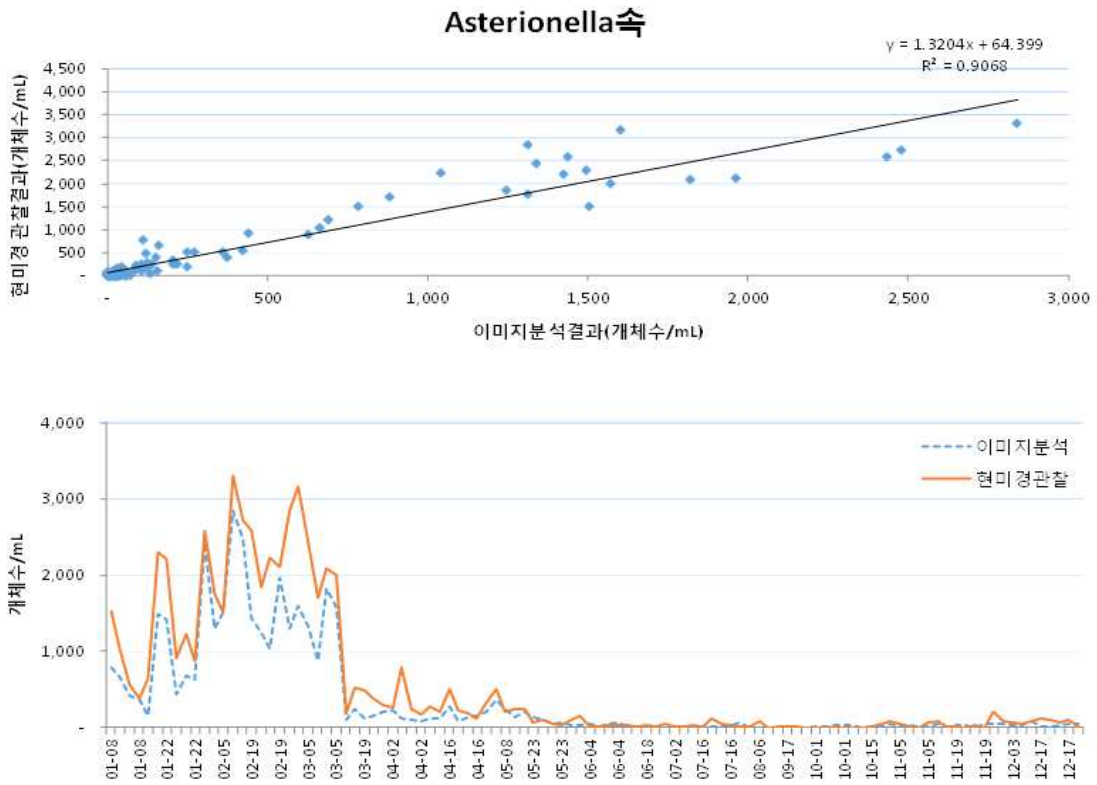


그림 6. *Asterionella*속의 이미지 분석결과와 현미경 관찰결과 비교

3.1.4. 기타 여과폐색 규조류

기타 여과 폐색규조류인 *Diatoma*속, *Melosira*속, *Skeletonema*속, *Fragillaria*속은 저농도 저빈도로 검출되어 현미경 관찰결과와 비교할 만한 데이터를 얻지 못했으나, 동정가능할 정도의 해상도로 이미지가 측정되어 향후 고농도 검출시 활용가능할 것으로 판단되며, 기타 *Nitzchia*속, *Navicula*속 등도 검출 가능하였다.

3.2. 남조류

3.2.1. 슈드아나베나속(*Pseudanabaena*속)

*Pseudanabaena*속은 연중 검출되나 최근 3년간 가을철에 고농도 발생하고 있으며, 2018년에도 10월부터 11월까지 고농도로 검출되었다. *Pseudanabaena*속은 세포가 여러 개가 연결되어 사상체를 이루므로 이미지 분석시 개체수 산정은 사상체의 측지길이를 측정하고, 세포당 평균 세포길이인 10μm로 나누었다. 이미지분석과 현미경관찰 방법 비교 결과, 두 분석방법 간에 선형관계가 성립되었고, 데이터가 다소 흩어져 있으나 두 방법이 비교적 유사한 값을 나타내었다. 결정계수 R^2은 0.52, 상관계수 R은 0.72, p값은 2.7×10^{-20}(p값 <0.01)으로 두 방법 간에 유의미한 관계가 있는 것으로 나타났다(그림 7).

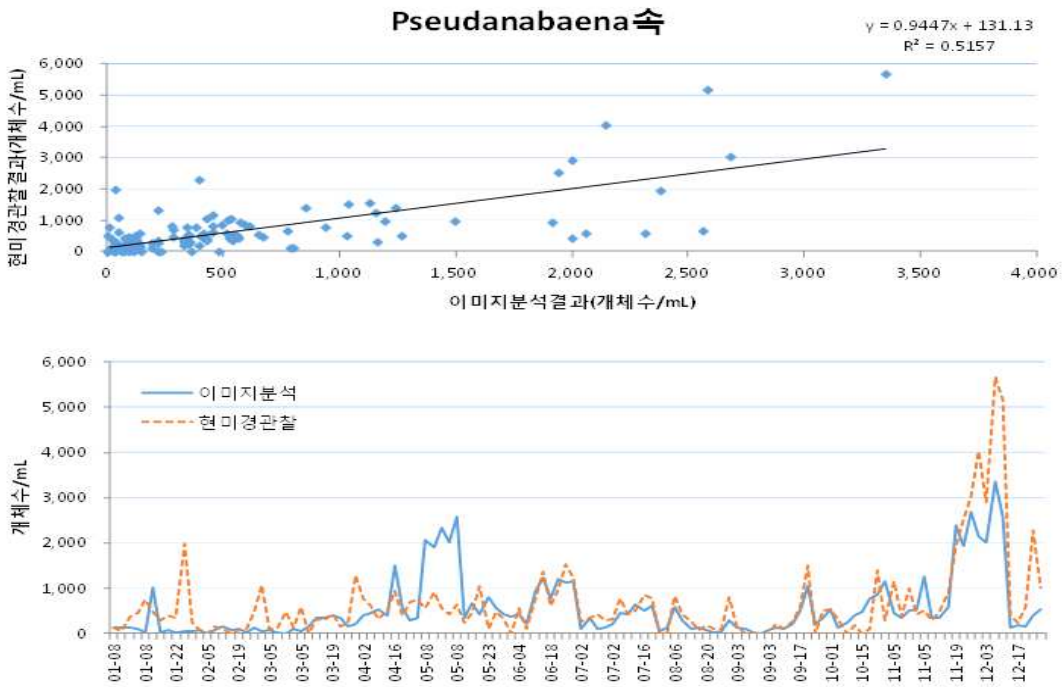


그림 7. *Pseudanabaena*속의 이미지 분석결과와 현미경 관찰결과 비교

3.2.2. 마이크로시스티스속(*Microcystis*속)

*Microcystis*속은 최근 3년간 한강에서 여름철 유해남조류의 우점속으로 출현하고 있으며, 2018년에도 우점속으로 검출되었다. 이 속은 세포가 여러 개가 모여 한천질 내에 군집을 이루는 특성이 있어 이미지 분석시 개체수 산정은 군집의 면적을 측정하고, 세포당 평균 면적으로 나누었다. 세포당 평균 면적은 세포가 구분가능한 군집 100개를 선정하여 군집당 세포수를 계수한 후 군집의 면적을 세포수로 나눈 값들의 평균값으로 하였다. 평균 세포 면적 산정 결과는 표 4와 같다. 이미지분석과 현미경관찰 방법 비교 결과, 두 분석방법 간에 선형관계가 성립되었고, 현미경 관찰 방법이 이미지분석방법의 0.43배 정도 낮게 검출되는 것으로 나타났다. 특히 *Microcystis*속의 개체수가 500 개체/mL이상일 때 차이가 많이 나는 것으로 나타났다. 이는 현미경 관찰의 경우 군집 내 존재하는 세포수를 모두 계수하나 여러 층으로 세포가 존재할 경우 계수에 어려움이 있어 과소 계수되며, 이미지 분석은 세포가 비어있는 한천질 영역도 면적으로 측정하여 세포수가 과다 계수되는 한계점이 있었다. 결정계수 R^2은 0.712, 상관계수 R은 0.84, p값은 1.4×10^{-17}(p값<0.01)으로 두 방법 간에 유의미한 관계가 있는 것으로 나타났다(그림 8).

표 4. *Microcystis*속 평균 세포 크기 산정 결과

군집수	세포 면적(μm^2)			
	평균	중위수	최대	최소
100	60	57	99	45

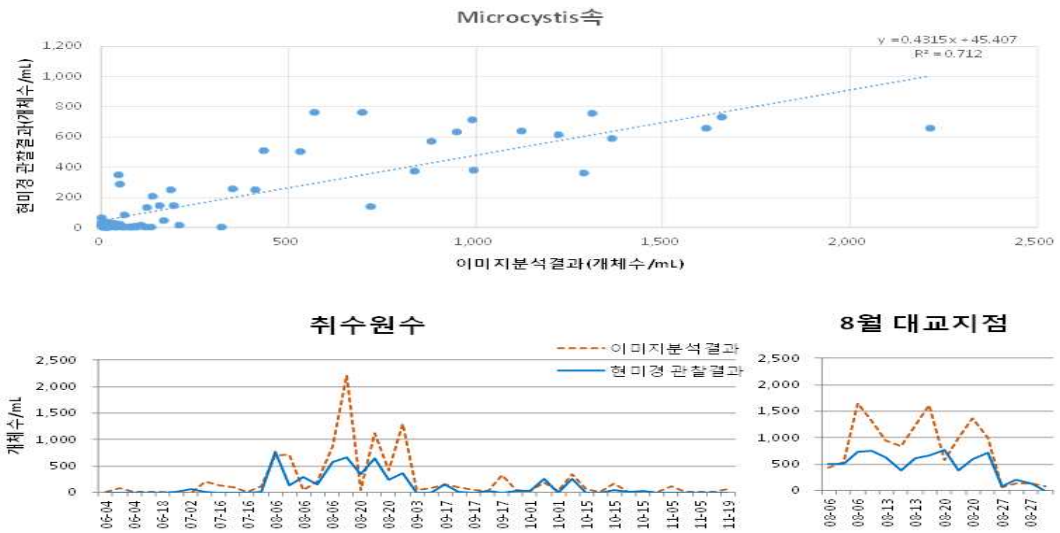


그림 8. *Microcystis*속의 이미지 분석결과와 현미경 관찰결과 비교

3.2.3. 아나베나속(*Anabaena*속)

*Anabaena*속은 과거에는 한강상수원 녹조 발생 남조류의 제 1우점속이었으나 최근 3년 간은 두 번째 우점속으로 출현하고 있다. *Anabaena*속은 세포 여러개가 연결되어 사상체로 분포하므로 이미지 분석시 개체수 산정은 사상체의 측지길이를 측정하고, 세포당 평균 세포길이인 10μm로 나누었다. 이미지분석과 현미경관찰 방법 비교 결과, 데이터가 다소 흩어져 있으나 두 분석방법 간에 선형관계가 성립되었고, 현미경관찰결과가 이미지분석결과의 0.54배 낮은 값을 나타내었다. 결정계수 R^2은 0.5, 상관계수 R은 0.72, p값은 1.2×10^{-6}(p값<0.01)으로 두 방법 간에 유의미한 관계가 있는 것으로 나타났다(그림 9).

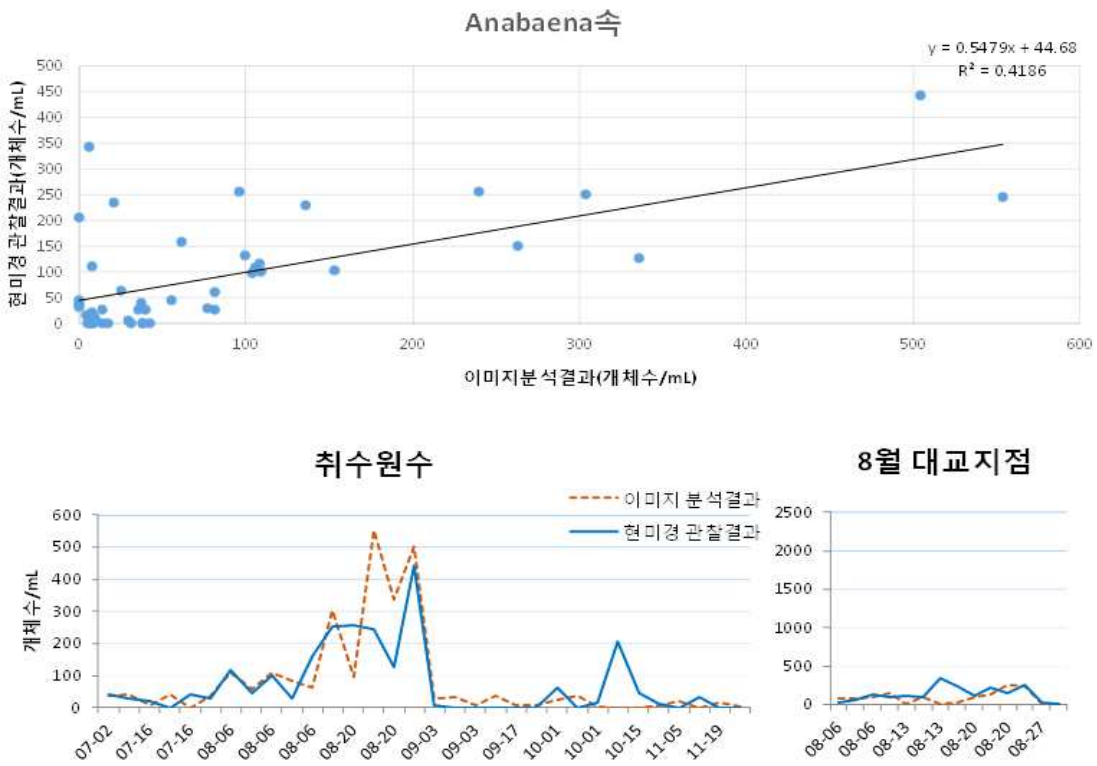


그림 9. *Anabaena*속의 이미지 분석결과와 현미경 관찰결과 비교

3.2.4. 오실라토리아속(*Oscillatoria*속) 및 아파니조메논속(*Aphanizomenon*속)

*Oscillatoria*속은 2018년에 거의 검출되지 않아 두 방법 간 비교가 어려웠으며, *Aphanizomenon*속은 저빈도 저농도로 검출되었을 뿐아니라 사상체의 두께가 매우 얇아 4배율 이미지 분석기로 식별하기 어려웠고, 사상체의 군집 검출시 뭉쳐서 출현하는 특징 때문에 개체수 산정이 불가능하였다.

4. 결론

여과폐색 규조류 및 남조류(유해남조류 및 냄새발생남조류)에 대하여 이미지분석장치를 적용한 결과, 한강상수원 수계에서 고농도로 출현하는 대표적인 여과폐색 규조류인 *Aulacoseira*속, *Synedra*속, *Asterionella*속 검출시 현미경 관찰결과와 유의미한 상관관계가 나타나 정수처리 효율 평가 등에 사용가능할 것으로 판단된다.

유해남조류 4속 중 *Microcystis*속과 *Anabaena*속은 이미지분석결과가 현미경 관찰결과에 비해 2배 정도 높게 검출되어 아직 현장 적용이 어려운 것으로 생각되며, 이는 분석방법의 차이 뿐만 아니라 유해남조류가 여름철에만 검출되는 특성으로 검출시료수가 적은데 기인하는 것으로 향후 보다 많은 데이터를 구축하여 재검토할 필요가 있다.

냄새발생 남조류인 *Pseudanabaena*속은 현미경관찰 결과와 이미지분석결과가 유사하게 나타나 냄새발생 경보 등 발령시 신속하게 적용가능할 것으로 판단된다.

이미지분석방법은 검경가능한 배율 및 측정 셀의 크기 한계 등으로 크기가 다양한 총조류를 모두 측정할 수는 없으나 정수센터에서 처리대상인 주요 여과폐색 규조류 2속(*Aulacoseira*속, *Synedra*속)과 냄새발생 남조류 *Pseudanabaena*속을 신속하게 스크리닝 하는데 효과적이며, 시료 1건당 3~4시간이 걸리는 현미경 관찰방법은 고정된 자세로 인해 분석자에게 근골격계 질환을 야기할 수 있는데 반해 이미지분석방법은 고정된 자세를 피할 수 있고 이미지측정부터 분류 및 개체수 산정까지 1시간 정도 소요되어 분석자의 피로감을 덜 수 있는 것으로 나타났다.

또한 본 조사에서 대상으로 한 여과폐색규조류와 남조류 이외에도 이미지분석기를 사용하여 크기가 상대적으로 큰 녹조류와 일부 편모조류, 섬모충류 등의 원생동물, 물벼룩 등의 미소 갑각류 등도 검출이 가능하고, 특히 현미경 관찰시 다량의 시료를 적용할 수 없는 한계점을 이미지분석기에서 극복할 수 있어 향후 상수도 계통에서 발생할 수 있는 미소 생물류의 스크리닝 및 정수처리공정별 제거효율 평가 등에 활용가능할 것으로 판단된다.

참고문헌

1. 김민채, 김지훈, 서규태, 2014. 낙동강유역 상수원의 규조류 발생에 따른 정수장에서 제거율 향상 방안, J.Kor.Soc.Environ. Eng., 36(1). pp 29~34.
2. 조은주, 김민정, 최연규, 김새봄, 한지선, 김유나, 정종순, 차영섭, 김복순, 2018. 서울시 취수원수 총조류 조사 보고서(2014년~2017년), 서울물연구원.
3. 변정환, 황순진, 김백호, 박진락, 이재관, 임병진, 2015. 북한강 수계에 출현한 남조류와 이취미의 상관관계, KJEE., 48(4). pp 263-271