

# 선박평형수처리장치 형식승인을 위한 식물플랑크톤 샘플링 방법 비교

장풍국<sup>1</sup>, 현봉길<sup>1</sup>, 이우진<sup>1</sup>, 최근형<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>한국해양과학기술원 선박평형수연구센터, <sup>2</sup>충남대학교 해양환경과학과

## Comparison of sampling method of phytoplankton for type approval of ballast water management system

Pung-Guk Jang<sup>1</sup>, Bonggil Hyun<sup>1</sup>, Woo-Jin Lee<sup>1</sup>, Keun-Hyung Choi<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Ballast Water Research Center, Korea Institute of Ocean Science and Technology

<sup>2</sup>Dept. of Oceanography and Ocean Environmental Science, Chungnam National University

**요약** 본 연구는 선박평형수처리시스템(BWMS) 형식승인을 위한 국제해사기구(IMO)와 미국해양경찰(USCG)의 시험방법 중 차이가 큰 식물플랑크톤의 전처리 방법을 비교하기 위해 배양종, 자연종, 그리고 BWMS의 육상시험에서 채취한 식물플랑크톤 샘플을 이용해 농축과 비농축에 대한 비교시험을 수행했다. 배양종과 자연종의 비교 시험은 농축하는 과정에서 네트 손실 및 손상이 있는 것으로 확인되었으며, 이는 대상종의 생리·형태적 특성에 따라 차이가 있음을 확인했다. BWMS 육상시험에서 생물 농도가 높은 대조수의 경우 비농축한 시료 개체수가 농축한 시료보다 2배 정도 높은 값을 보였고, 생물 개체수가 낮은 처리수는 두 방법 간의 뚜렷한 차이가 없었다. 이러한 결과는 미국형식승인 방법으로 육상시험을 수행하면 시험수 조건이 더 가혹하다는 것을 의미한다. 결과적으로 식물플랑크톤 샘플링 과정에서 농축과 비농축의 차이가 있음에도 불구하고, 농축 방법이 BWMS 성능을 평가하는 방법으로 적용할 수 있을 것으로 판단된다. 하지만 처리수 내에서 살아있는 종이 샘플링의 농축 과정에서 네트 손실 및 손상이 있을 수 있기 때문에 대상종에 대한 평가방법을 개발할 필요성이 있다.

**Abstract** This study aimed to compare the pretreatment methods of phytoplankton for type approval of the Ballast Water Treatment System (BWMS). The International Maritime Organization (IMO) and the United States Maritime Police (USCG) use two different test methods for this purpose. To compare the two methods, a test for concentration and non-concentration was performed with cultured and natural phytoplankton, and samples from the land-based BWMS test. The extent of damages caused by the process of concentration varied between cultured and natural species, indicating differences depending on the physiological and morphological characteristics of the species. In the land-based test, in the control water with a high biological population, the number of non-concentrated samples was about twice as high as that of the concentrated samples. There was no distinct difference between the two methods in the treated water with a low biological population. Thus, although there is a difference between concentration and non-concentration for phytoplankton sampling, the concentration method can be applied as a method of evaluating BWMS performance. However, a method for evaluating whether live species in treated water may be lost or damaged during the concentration process of sampling should be developed and validated.

**Keywords** : Ballast Water Management System, Netting Effects, Phytoplankton Enumeration, Ballast Water, Type approval test

본 연구는 국립충남대학교의 지원을 받아 수행되었으며, 본 연구에 사용된 배양종은 한국해양과학기술원 시료도서관에서 제공받았음.

\*Corresponding Author : Keun-Hyung Choi(Chungnam National University)

email: keunhchoi@cnu.ac.kr

Received October 8, 2020

Revised November 16, 2020

Accepted December 4, 2020

Published December 31, 2020

## 1. 서론

선박평형수는 공선선박의 평형 안정을 유지하기 위해서 신는 물이며, 세계적으로 연간 약 31억톤 규모로 이송되고 있다[1]. 선박평형수로 이송된 대부분의 생물은 배출되는 해역의 환경조건에 적응하지 못하여 사멸하지만, 일부 내성이 강한 종은 살아남게 되어 항만 고유의 생태계를 교란시킬 수 있다[2][3]. 따라서 선박평형수를 통한 국제 규모의 외래종 유입에 따른 생태 교란을 막는 것이 중요하다. 국제해사기구(IMO)는 2004년 선박평형수관리협약(BWMC : Ballast Water Management Convention)을 채택하였고, 2017년 9월 8일에 협약이 발효되어 국제항을 운항하는 모든 선박은 2024년 9월8일까지 형식승인 받은 선박평형수처리장치(BWMS)를 설치하여 선박평형수 내 생물을 D-2 기준에 맞게 처리한 후 배출해야한다(Table 1).

Table 1. Minimum criteria for land-based test for a type approval test of ballast water management system

Parameter	UW <sup>1)</sup>		DW <sup>1)</sup>	
	LB <sup>1)</sup>	CW <sup>1)</sup>	TW <sup>1)</sup>	
Salinity (psu)	M <sup>1)</sup> : 28-34, B <sup>1)</sup> : 10-20, F <sup>1)</sup> : <1			
POC (mg/L)	1	5	-	-
DOC (mg/L)	1	5	-	-
TSS (mg/L)	1	50	-	-
<i>Escherichia coli</i> (cfu 100 mL <sup>-1</sup> )	Measured	-	-	<250
Intestinal enterococci (cfu 100 mL <sup>-1</sup> )	Measured	-	-	<100
<i>Vibrio cholera</i> (O1 & O139) (cfu 100 mL <sup>-1</sup> )	Measured	-	-	<1
Heterotrophic bacteria (bacteria mL <sup>-1</sup> )	10 <sup>3</sup>	-	-	-
≥10 μm and < 50 μm (organisms mL <sup>-1</sup> )	>10 <sup>3</sup>	>100	>100	<10
≥ 50 μm (organisms m <sup>-3</sup> )	>10 <sup>5</sup>	>100	>100	<10

<sup>1)</sup> UW: uptake water, DW: discharged water, LB: land-based test, CW: control water, TW: treated water, M: marine water, B: brackish water, F: fresh water

BWMS 형식승인을 획득하기 위한 생물유효성 시험(육상시험 및 선상시험) 방법은 IMO 가이드라인 G8과 미국 ETV (Environmental Technology Verification Program)가 있으며, 우리나라 정부형식승인 시험은 IMO의 가이드라인 G8에 따라 수행된다[4][5]. 하지만, 미국은 자국 내 운항하는 선박은 미국 ETV에 따라 형식

승인을 받은 BWMS만 설치 운영해야 한다. 따라서 국제 선박 중 미국에 입항해서 선박평형수를 배출해야하는 선박은 IMO 형식승인과 미국형식승인을 모두 받은 제품을 설치해야만 한다. BWMS 형식승인을 위해 각각 염분별(담수, 기수, 해수)로 5회씩 총 15회의 시험을 수행해야 하고, 염분별로 연속적으로 성공해야하기 때문에 적어도 제조사마다 형식승인 시험 비용이 20억 이상 소요되고, 두 개의 형식승인을 받을 경우 비용은 두 배 이상 증가한다.

우리나라는 미국(외국)형식승인을 받은 BWMS의 시험 방법이 정부형식승인 시험 방법과 동등 혹은 그 이상으로 시험한 경우 정부형식승인 시험을 완화 면제하여 제조사의 경제적 부담과 형식승인 받는 시간을 줄여주고자 2019년 선박평형수 관리법을 개정하였다. 따라서 미국형식승인을 받은 BWMS 제품의 형식승인시험을 정부형식승인 시험 기준과 비교하여 정부형식승인의 완화 혹은 면제를 줄 수 있는지를 검토해야하기 때문에 두 시험 방법 중 차이가 있는 것에 대한 유효성 검증이 이루어져야 한다.

IMO는 BWMS의 형식승인 시험기준을 강화하기 위하여 기존의 방법론에서 몇 가지 모호한 방법을 2년에 걸친 광범위한 연구와 토론을 거쳐, IMO MEPC 70차 회의에서 개정된 G8 가이드라인(BWMS Code)을 채택했다(MEPC, 2016). BWMS code와 ETV 시험 방법론에 있어 다소 차이가 있으며, 그 중에서 ≥10 μm & ≤50 μm 크기인 생물(식물플랑크톤)에 대한 전처리 과정이 뚜렷한 차이를 보인다. 식물플랑크톤의 전처리에 대한 ETV 시험방법은 플랑크톤을 네트를 이용해 농축하는 것이 표준절차이지만, BWMS Code는 비농축을 권장하고 있다. BWMS Code 방법론은 네트를 통해서 물을 여과하는 동안에 생길 수 있는 대상종의 잠재적인 손실과 농축하는 동안 네트 내 수압으로부터 발생할 수 있는 손상을 방지하여 처리된 평형수를 올바르게 평가하고자 하는 의도이다. 이에 반해 ETV 방법은 선박평형수 처리수 내에 살아있는 개체수가 적기 때문에 최대한 많은 양의 샘플을 관찰하는 목적으로 농축 방법을 사용한다.

BWMS Code와 ETV는 모두 대상종의 크기가 >50 μm을 초과하는 생물은 농축을 허용하고 있으며, 농축된 샘플 전체를 6시간 이내에 분석하기 때문에 두 방법에 있어 차이는 없다. 또한 몇몇 연구들은 처리된 선박평형수 내 50μm을 초과한 동물플랑크톤의 대표적인 표본 추출과 이에 대한 불확실성에 대해 보고하였다[6-10]. 그러나, ≥10 μm & ≤50 μm 크기인 식물플랑크톤의 대표적인 표준 추출과 이에 대한 불확실성에 대한 연구는

미흡하다[11][12].

따라서 본 연구는 미국형식승인을 받은 BWMS를 평가하기 위해 IMO와 USCG 시험방법 중에서 가장 큰 차이를 나타내는 식물플랑크톤의 샘플링 전처리과정(농축/비농축)에 대한 비교 분석을 통해 미국형식승인 완화 면제를 평가하기 위한 기초 자료를 제공하고자 한다.

## 2. 재료 및 방법

비농축 시료와 넷 농축 시료의 차이를 확인하기 위해 배양종, 자연종 그리고 형식승인을 위한 BWMS 육상 시험에서 식물플랑크톤을 확보하여 비교분석을 하였다. 식물플랑크톤 단일 배양종 ( $\geq 10 \mu\text{m}$  와  $\leq 50 \mu\text{m}$  크기) *Melosira nummuloides*, ( $\sim 16 \mu\text{m}$ ), *Prorocentrum minimum*, ( $\sim 16 \mu\text{m}$ , KIOST clonal number: LIMS-PS-3045), *Stephanopyxis turris* ( $13\text{--}20 \mu\text{m}$ , KIOST clonal number : LIMS-PS-2171)를 사용하였으며, 자연종은 서해안의 부안만과 인천만에서 2019년 2월에 현장에서 시료를 채취하였다. 육상시험의 식물플랑크톤 시료는 한국해양과학기술원에 설치된 육상시험실 비에서 수행한 BWMS 형식승인 육상시험에서 시료를 획득하여 비교 분석하였다.

배양종과 자연종에 대한 농축/비농축 비교 시험은 식물플랑크톤을 200L의 탱크에  $7 \mu\text{m}$  넷으로 여과시킨 자연 해수(30 psu)로 희석하였다. 이를 잘 혼합하여 비농축 시료는 1L 3개의 시료를 확보하고, 농축 시료는 3개의 10 L 시료를 각각  $7 \mu\text{m}$  넷으로 농축시킨 후 각각 1L 시료를 확보하였다. BWMS 형식승인을 위해 육상시험은 담수, 기수, 해수에서 각각 연속적으로 5회씩 배출수 기준을 만족해야 통과된다. 육상시험은 시험수 기준을 맞춘 500톤의 시험수를 BWMS를 통과한 처리수(250톤)와 BWMS를 통과하지 않은 대조수(250톤)를 48시간 후 배출하면서 표 1에 제시한 기준을 만족할 때 성공한 시험으로 인정된다. 배출시 대조수와 처리수에서 연속 샘플한 시료 20 L를 이용해 비농축 시료 1L 시료와 10L을 1L로 농축한 시료를 확보하여 비교 시험을 수행하였다. 각각의 샘플에 대해 시험자의 시험 오차를 확인하기 위해 변동계수(coefficient of variation, CV %) 사용하였으며, CV 값이 20% 미만을 유지하였다. 두 시료(농축 값과 비농축)의 결과 값의 비교는 SPSS 19 통계프로그램을 사용하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1 배양종에 대한 농축/비농축 비교 시험

배양종에 대한 농축/비농축 개체수 비교시험은 세 개의 단일 배양종을 사용하였다. 두 시험 방법에서 비농축 시료의 평균 개체수가 단독형인 *P. minimum*이 2.1배, 체인형인 *M. nummuloides*와 *S. turris*가 각각 1.1배, 1.5배 높은 값을 나타내었다(Fig. 1).

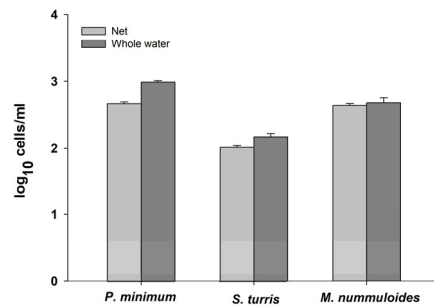


Fig. 1. Comparison of net concentration with whole water sampling of monoclonal cultures for organisms  $\geq 10 \mu\text{m}$  and  $\leq 50 \mu\text{m}$ . three monoclonal phytoplankton cultures ( $\geq 10 \mu\text{m}$  and  $\leq 50 \mu\text{m}$  in minimum dimension) of one dinoflagellate *Prorocentrum minimum* ( $\sim 16 \mu\text{m}$ ) and two chained diatoms *Stephanopyxis turris* ( $\sim 20 \mu\text{m}$ ) and *Melosira nummuloides* ( $13\text{--}20 \mu\text{m}$ ).

이러한 차이는 배양종인 식물플랑크톤의 형태적 특성과 건강 상태에 따라 차이가 나타난 것으로 판단된다. 체인형인 *M. nummuloides*와 *S. turris*가 단독형인 *P. minimum* 보다 넷에 대한 손실이 적은 것은 체인으로 형성된 종이 실질적으로 크기가 커지는 효과가 있어 단독형보다 넷에 대한 손실이 더 작았던 것으로 판단된다. 그리고 *M. nummuloides*가 *S. turris*보다 넷 손실이 적었던 이유는 *M. nummuloides*가 *S. turris*보다 배양 상태가 좋아 체인이 잘 형성되고 결합력도 높았던 것으로 판단된다. 농축과 비농축 시료의 평균 개체수를 ANOVA로 분석해보면, *M. nummuloides*는 유의한 차이를 나타내지 않는 반면, *S. turris*와 *P. minimum*은 유의한 차이를 나타내었다( $p < 0.05$ ).

여과 해수의 양만 증가시켜 넷 농축 양에 따른 개체수를 분석한 결과 *P. minimum*의 경우 최대 160L까지 농축해도 평균 개체수에 미치는 영향은 거의 없었다(Fig. 2). 하지만, *M. nummuloides*는 160L까지 농축할 경

우 여과 해수가 증가했을 때 개체수가 통계적으로 유의한 감소세를 보였다. 이러한 경향은 네트 양이 증가함에 따라 네트 과정에서 체인형인 식물플랑크톤 손실 및 손상이 더 커진 것으로 판단된다. 즉 농축 양이 증가할수록 *M. nummuloides*의 체인이 끊어질 확률이 높아지고, *P. minimum*보다 세포막의 강도도 약하고, *S. turris*보다 세포의 크기가 상대적으로 작아 네트 손실 및 세포의 손상이 증가한 것으로 판단된다.

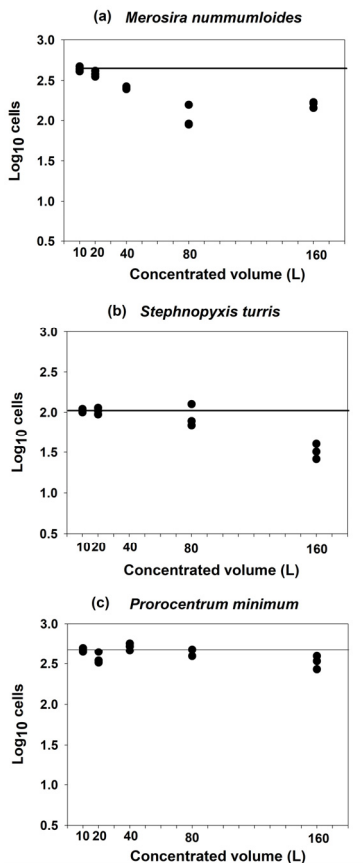


Fig. 2. Effects of the volume of filtered seawater on the abundance of three cultured plankton in the netting through 7  $\mu$ m in mesh size.

### 3.2 자연종에 대한 농축/비농축 비교 시험

부안만에서 채집한 자연종을 농축한 시료는 규조류 30종과 와편모류 4종이 출현하였으며, 비농축 시료는 규조류 21종과 와편모류 2종이 나와 농축한 시료에서 더 많은 종이 관찰되었으며, 주요 우점종인 단독형인 *P. minimum*과 체인형인 *Skeletonema* spp.의 개체수가 비농축 시료에서 각각 6.7배, 11.8배 높은 값을 나타냈다

(Table 2). 10-50  $\mu$ m 크기 생물의 총 개체수는 비농축 시료에서 6,547 cells ml<sup>-1</sup>인 반면 농축 시료는 992 cells ml<sup>-1</sup> 개체수가 계수되어 비농축 시료가 농축 시료보다 6.6배 높은 값을 보였다(Table 2). 비농축 시료에서 단독형은 39.7%, 체인형은 60.2%를 차지하였으며, 이는 비농축에서도 비슷한 비율로 나타났다. 단독형은 비농축

Table 2. Comparison test between concentration and non-concentration in the process of taking a sample of phytoplankton that appeared in Puan Bay.

Phytoplankton species	Size ( $\mu$ m)	Type	Con.	Non-C on.
<b>Diatom</b>				
Amphora sp.	40	S*	1	
Asterionellopsis glacialis	10-20	C*	99	560
Asterionellopsis kariana	20-50	C	22	117
Chaetoceros danicus	20	C	2	20
Chaetoceros didymus	20-30	C	3	
Chaetoceros radicans	20-30	C	7	33
Chaetoceros similis	20-30	C	2	
Chaetoceros socialis	15	C	42	207
Chaetoceros teres	20-30	C	4	33
Chaetoceros sp.	10-30	C	15	63
Cylindrotheca closterium	10	S	1	7
Ditylium brightwellii	40-50	S	2	10
Entomoneis alata	40-50	S		
Eucampiazodiacus	30-50	C	4	110
Fragilaria sp.	10-30	C		
Guinardia delicatula	10-20	C	7	
Gyrosigma sp.	15-20	S	1	
Leptocylindrus danicus	10-15	C	4	
Licmophora sp.	30	S		3
Navicula sp.	10-20	S	1	
Nitzschia reversa	10-20	S		3
Nitzschia sp.	10-20	S		
Odontella longicruris	30-50	C	9	
Odontella longicruris var hyalina	40-50	C	2	
Paralia sulcata	20-40	C	25	80
Pleurosigma sp.	40	S	1	
Podosira stelliger	50	S		7
Pseudonitzschia pungens	5	C	8	27
Rhizosolenia pungens	20-30	C	2	17
Rhizosolenia setigera	20-30	C	1	
Skeletonema spp.	10-30	C	195	2303
Thalassionema nitzschioides	5	C	27	290
Thalassiosira eccentrica	20-50	S	2	3
Thalassiosira fallax	15-40	C	3	
Thalassiosira nordenskiöldii	10-40	C	16	137
<i>Thalassiosira</i> sp.	10-50	S or C	59	130
<b>Dinoflagellate</b>				
Gymnodinium sp.	20	S	1	3
Katodinium glaucum	20	S	1	
Prorocentrum minimum	17-22	S	356	2383
Torodinium teredo	30	S	1	
Number of species			34	23
Abundance (cells/mL)			992	6546

\* S: solid type, C: chain type

/농축의 차이가 6.6배, 체인형은 7.1배로 나타났다. 전체적인 손실을 보면, 배양종은 비농축/농축 비가 1.5인 반면 자연종은 6.9을 나타내 배양종보다 자연종에서 네트에 의한 식물플랑크톤 손실 및 손상이 큰 것으로 파악된다. 특히, 가장 높은 개체수를 나타낸 *P. minimum*은 배양종인 경우 비농축/농축 비가 2.1인데, 자연종은 6.7로 높았다. 이러한 차이는 배양종과 자연종의 성장 환경에 따른 차이일 수 있다. BWMS Code와 ETV 모두 형식승인 시험에 배양종을 사용할 수 있지만, 이들을 사용할 경우 형식승인 시험에 영향을 미치지 않는다는 것에 대해 유효성 검증을 수행하도록 하고 있다. 특히, BWMS code는 시험지역에서 자생하는 종을 사용하도록 권고하고 있어 ETV 보다 좀 더 엄격한 규정을 가지고 있다. 따라서 미국형식승인의 완화 면제를 검토할 때 배양종 사용 비율과 사용한 종에 대한 충분한 유효성 검증이 이루어졌는지 검토가 필요하다.

우점율이 높은 상위 5개의 개체 중 *A. glacialis*와 *Ch. socialis*는 체인형이지만 *Skeletonema* spp.와 달리 비농축/농축 비율이 5.7, 4.9로 낮게 나타났다. 이는 관찰된 *A. glacialis*와 *Ch. socialis*가 *Skeletonema* spp.와 비교해서 체인을 길게 형성하고 있어 상대적으로 농축에 대한 손실이 작았던 것으로 판단된다. 종들에 대해 다소 차이가 있지만, 두 가지 방법에 대한 전체 개체수의 분산분석(ANOVA) 결과 통계적으로 유의한 차이를 보였다.

인천만에서 채집하여 농축한 자연종 시료는 규조류 25종과 와편모류 2종이 출현하였으며, 비농축 시료는 규조류 26종과 와편모류 1종이 나와 부안만과는 달리 두 시료 사이에 출현한 종의 뚜렷한 차이는 없었다(Table 3). 하지만, 인천만 평균 개체수는 부안만 시료보다 14배 낮은 값을 보였다. 식물플랑크톤의 총 개체수는 비농축 시료에서 461 cells ml<sup>-1</sup>인 반면 농축 시료에서는 70 cells ml<sup>-1</sup> 개체수가 계수되어 비농축 시료가 농축 시료보다 약 6.6배 높은 값을 보였다.

비농축 시료에서 단독형은 23%, 체인형은 77%를 차지했고, 농축시료에서는 각각 6%, 93%를 나타냈다. 단독형은 비농축/농축 비가 1.7, 체인형은 7.7로 나타나 단독형이 네트에 대한 손실 및 손상이 부안만에 비해 현저히 낮았다. 우점종인 *Thalassiosira nordenskiöldii*, *Chaetoceros debilis*, *Paralia sulcata*의 개체수는 각각 비농축/농축 비가 8.5, 7.9, 8.4로 높은 값을 보였다. 종들에 대해 다소 차이가 있지만, 전체 개체수에 대한 분산분석(ANOVA) 결과 유의한 차이를 보였다.

Table 3. Comparison test between concentration and non-concentration in the process of taking a sample of phytoplankton that appeared in Incheon Bay.

Phytoplankton species	Size (μm)	Type	Con.	Non-Con.
<b>Diatom</b>				
<i>Actinopterychus senarius</i>	40	S*		1
<i>Amphora</i> sp.	40	S		1
<i>Asterionellopsis glacialis</i>	10-20	C*	1	
<i>Asterionellopsis kariana</i>	20-50	C		1
<i>Bacillaria paxillifer</i>	7-10	C		5
<i>Bacteriosira fragilis</i>	10-20	C	1	6
<i>Caloneis</i> sp.	30	S	1	1
<i>Chaetoceros danicus</i>	20	C		
<i>Chaetoceros debilis</i>	20-30	C	9	71
<i>Chaetoceros similis</i>	20-30	C	1	
<i>Chaetoceros teres</i>	20-30	C	1	5
<i>Chaetoceros</i> sp.	10-30	C	2	45
<i>Cylindrotheca closterium</i>	10	S	1	2
<i>Cylindrotheca gracilis</i>	10	S	1	
<i>Detonula confervacea</i>	10-15	C	1	
<i>Diploneis</i> sp.	20	S	1	1
<i>Ditylium brightwellii</i>	40-50	S	1	1
<i>Entomoneis alata</i>	40-50	S	1	1
<i>Fragilaria</i> sp.	10-30	C	1	
<i>Guinardia delicatula</i>	10-20	C	1	
<i>Melosira moniliformis</i>	20-30	C		2
<i>Melosira nummuloides</i>	20-30	C	1	
<i>Navicula cancellata</i>	20	S		1
<i>Navicula</i> sp.	10-20	S	1	3
<i>Nitzschia lorenziana</i>	10	S	1	
<i>Nitzschia</i> sp.	10	S		1
<i>Odontella longicruris</i>	30-50	C	1	
<i>Paralia sulcata</i>	20-40	C	7	59
<i>Plagiotropis lepidoptera</i>	40	S		1
<i>Pleurosigma</i> sp.	40	S		1
<i>Skeletonema</i> spp.	10-30	C	3	38
<i>Thalassiosira anguste lineata</i>	30	C		1
<i>Thalassiosira fallax</i>	15-40	C	2	26
<i>Thalassiosira nordenskiöldii</i>	10-40	C	17	144
<i>Thalassiosira pacifica</i>	15-40	C	2	7
<i>Thalassiosira rotula</i>	15-40	C	3	2
<i>Thalassiosira</i> sp.	10-50	S or C	7	33
<b>Dinoflagellate</b>				
<i>Amphidinium</i> sp.	30	S	1	
<i>Prorocentrum minimum</i>	17-22	S	1	1
Number of species			27	28
Abundance (cells/mL)			70	461

\* S: solid type, C: chain type

백 등(2016)은 농축하는 네트 망목의 크기, 샘플 방법, 그리고 샘플 양에 관계없이 전처리 과정에서 농축함으로써 식물플랑크톤 손실율이 75-80% 정도 나타났다고 보고하였으며, 주요 요인을 우점종인 *Pseudo-nitzschia* spp.의 크기가 망목을 통과할 수 있기 때문으로 보고했다[12]. 비록 본 논문의 자연종 비교 시험(10L 농축)보다 많은 양(120, 240, 360L)의 자연해수를 농축해서 나타

난 결과지만 농축에 대한 손실율과 이에 대한 주요 요인을 식물플랑크톤의 종의 형태적 특성으로 보고하여 본 논문과 유사하다. Malone et al.(1979)도 본 연구 보다 네트 망목(22  $\mu\text{m}$ )이 큰 것으로 시험을 수행했지만, 식물플랑크톤의 형태적 크기에 따라 네트 손실이 50% 정도가 발생한다고 보고했다[11].

### 3.3 육상시험 시료의 농축/비농축 비교 시험

육상시험 대조수의 농축/비농축 시험 결과를 보면, 전체 개체수에 있어 비농축 시료가 농축시료보다 약 2배 정도 많은 개체수를 나타내었다(Table 4). 1차 시험과 2차 시험에서는 10 L 농축한 시료의 생물량과 네트를 빠져나간 시료의 생물량이 유사한 개체수를 나타내었지만, 3차 시험에서는 네트에서 빠져 나간 생물이 약 1/3로 감소하였다. 3번의 시험 모두 체인형인 *Cyclotella* sp.의 우점율이 높았고, 특히 1차와 2차 시험에서 이 종이 극우점하였다. 이 종에 대한 대조수의 평균 개체수의 농축/비농축 비를 보면, 1차, 2차, 3차 시험에서 각각 2.4, 1.7, 1.5로 시간이 지남에 따라 농축/비농축 비가 감소하는 경향을 나타내었다.

육상시험을 위한 식물플랑크톤 채집은 1차 시험에서 3월17-19일, 2차 시험은 3월31-4월 2일, 3차 시험은 4월18-20일 사이에 이루어져 같은 종이라도 자연 상태의 환경 조건에 따라 차이가 나타난 것으로 판단되며, 이러한 환경 조건에 따라 세포의 크기나 생리적인 건강상태의 차이가 있어 비농축/농축 비의 차이를 나타낸 원인일 수도 있다. 또한 3차 시험이 1차와 2차 시험 때보다 이종의 개체수가 절반 정도 낮아져 개체수 감소가 농축/비농축 비에도 영향을 줄 수 있음을 시사한다.

육상시험에 사용된 종들도 배양된 것이 아니라 고성만 인근에서 채집한 종들이기 때문에 항만에서 시험한 농축/비농축 결과와 유사해야 하지만 오히려 배양종과 유사한 경향을 보였다. 이는 육상시험이 BWMS의 성능을 평가하는 시험이기 때문에 시험수 조건을 맞추기 위해 대상 생물을 채집하는 과정에서 네트에 의한 농축이 이루어진다. 이로 인해 네트 농축에 의한 손실 및 손상이 큰 생물들은 1차적으로 스크린 되어 질 수 있다. 이로 인해 시험수 내의 식물플랑크톤 종조성이 자연종의 구성보다 단조롭고, 비농축/농축 비가 낮아지는 것으로 판단된다.

육상시험 처리수의 경우 농축과 비농축의 차이가 뚜렷하게 나타나지 않았다. 이는 BWMS로 시험수 내 생물을 살균처리하여 처리수 내 살아있는 생물의 수가 급격하게

Table 4. Comparison test between concentration and non-concentration in the process of taking a sample of phytoplankton that appeared in treated water and control water during the land test

	CDW <sup>1)</sup>		TDW <sup>1)</sup>		
	N-C <sup>2)</sup>	Con. <sup>3)</sup>	Con. <sup>4)</sup>	N-C	Con. <sup>3)</sup>
<b>1<sup>st</sup> test cycle</b>					
Bacillariophyta					
<i>Cyclotella</i> spp.	862	360	357		
<i>Aulacoseira</i> spp.	6				
<i>Navicula</i> sp.	2				
<i>Melosira</i> sp.	11				
Dinophyto					
<i>Alexandrium</i> spp.	1				
Ciliate	12	1			
Unidentified organism	7	9	7	0.08	0.08
Phylum/ Species	3/5	3/1	2/1	1/1	1/1
Total Live organism(cells ml <sup>-1</sup> )	899	370	363	0.08	0.08
<b>2<sup>nd</sup> test cycle</b>					
Bacillariophyta					
<i>Cyclotella</i> spp.	1119	662	570		
<i>Eucampia zodiacus</i>	105	57	13		
<i>Melosira</i> sp.	133	29	13		
<i>Navicula</i> sp.		2			
Dinophyto					
<i>Akashiwo sanguinea</i>					
<i>Gyrodinium</i> sp.		2			
Unidentified dinoflagellate	4	1			
Ciliate	10	2	17		
Unidentified organism	3		13	0.08	
Phylum/ Species	3/6	3/7	3/5	1/1	0/0
Total Live organism(cells ml <sup>-1</sup> )	1374	755	627	0.08	0
<b>3<sup>rd</sup> test cycle</b>					
Bacillariophyta					
<i>Chaetoceros</i> spp.	14	15			
<i>Cyclotella</i> spp.	443	304	103		
<i>Melosira</i> spp.	498	345	87		
<i>Skeletonema</i> spp.	22	1			
<i>stephanopyxis</i> spp.	3				
Dinophyto					
Protoperidinium spp.	3				
CHRYSOPHYTA					
<i>Euglena</i> spp.	3	1	13		
Ciliate					
Unidentified organism	23	5	17	0.17	0.08
Phylum/ Species	3/8	2/6	2/4	1/1	1/1
Total Live organism(cells ml <sup>-1</sup> )	1008	672	220	0.17	0.08

<sup>1)</sup> CDW: control discharge water, TDW: Treated discharge water.

<sup>2)</sup> N-C: non-concentration. <sup>3)</sup>Con.: concentration in the net.

<sup>4)</sup>Con.: concentration outside the net

감소하기 때문이다. BWMS 형식승인 시험에서  $\geq 10 \mu\text{m}$  &  $\leq 50 \mu\text{m}$  크기의 생물이 mL 당 10개체 미만으로 존재해야 시험을 통과하기 때문에 처리수 내 생물의 수는



극히 적으며, 본 시험에서도 mL 당 1 개체 미만으로 출현하여, 농축과 비농축의 차이를 나타내지 않은 것으로 생각된다.

결과적으로 생물의 양이 많은 경우 농축과 비농축의 개체수 차이가 크게 나타나 대조수를 농축하여 시료를 분석하는 것은 오히려 더 불리한 시험 조건이고, 처리수 내 생물의 농도가 극히 낮은 경우에는 농축과 비농축 시험이 시험결과에 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다 (Table 3). 따라서 BWMS 육상시험에서  $\geq 10 \mu\text{m}$  &  $\leq 50 \mu\text{m}$  크기의 생물을 10L 농축하거나, 농축하지 않고 살아있는 식물플랑크톤을 개수한다고 해서 처리수의 D-2 기준을 판정하는데 있어서 큰 영향을 미치지 않을 것으로 판단된다.

#### 4. 결론

식물플랑크톤의 배양종, 자연종, BWMS 육상시험의 비농축/농축에 대한 시험결과를 종합해보면 식물플랑크톤의 전체 개체수, 형태적 특징, 생리적인 건강상태가 네트 손상 및 손실에 영향을 미치는 주요 요인으로 작용한다. 이러한 이유 때문에 식물플랑크톤 종마다 네트 손상 및 손실이 다르고 같은 종이라도 생리적인 건강상태에 좌우되는 것으로 판단된다. 따라서 식물플랑크톤 평균 개체수를 확인하기 위한 시험 방법은 비농축 방법이 보다 더 정확한 개체수를 확인할 수 있는 방법으로 판단된다.

하지만 BWMS 형식승인 시험에서 농축 방법은 식물플랑크톤 개체수를 감소시킬 수 있어 배출시 대조수 기준을 만족하였다면, 농축하지 않은 시료는 당연히 기준을 만족했을 것이라 예측할 수 있다. 그리고 처리수는 살아있는 대상종 자체가 매우 낮은 개체수로 존재하기 때문에 농축/비농축 시험 결과에서 유의한 차이를 나타내지 않았다. 처리수 내 살아있는 생물 개체수가 낮기 때문에 BWMS의 성능을 평가하기 위해 보다 많은 시료를 6시간 이내에 관찰하는 방법으로 농축 방법을 사용할 수도 있다. 하지만, 처리수 내 살아있는 개체의 특징이 농축에 의해서 네트 손실 및 손상을 지대하게 받는 종이라고 판단된다면, 비농축 시험을 통해서 검증해야만 한다. 따라서 외국형식승인 시험결과를 평가할 때 처리수 내 생존한 식물플랑크톤 종이 농축에 의해서 손실 및 손상을 받을 수 있는 종이라면 이에 대한 유효성 검증자료 제출을 요청해야 할 것이다.

#### References

- [1] M. David, J. Linders, S. Gollasch, "Is the aquatic environment sufficiently protected from chemicals discharged with treated ballast water from vessels worldwide? - A decadal environmental perspective and risk assessment", *Chemosphere* Vol.207, pp.590-600, Sept. 2018.  
<http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.05.136>
- [2] N. Bax, A. Williamson, M. Aguero, E. Gonzalez, W. Geeves, "Marine invasive alien species: a threat to global biodiversity", *Mar. Policy*, Vol.27, pp.313-323, July 2003.  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0308-597X\(03\)00041-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0308-597X(03)00041-1)
- [3] Ø. Endresen, H. L. Behrens, S. Brynstad, "Challenges in global ballast water management", *Mar Pollut Bull* Vol.48, Ipp.615-623, Apr. 2004.  
<http://doi.org/10.1016/j.marpollbul.2004.01.016>
- [4] International Maritime Organization, "Code for Approval of Ballast Water Management Systems(BWMS CODE) (Resolution 300(72))" [Internet]. International Maritime Organization, May 2018. Available From: <https://docs.imo.org/Documents/Detail.aspx?did=110918> (accessed Sept. 13, 2020)
- [5] U.S. EPA. "Generic Protocol for the Verification of Ballast Water Treatment technology", EPA/600/R-10/146, U.S. EPA, Sept. 2010, pp.1-156.
- [6] M. R. First, S. H. Robbins-Wamsley, S. C. Riley, C. S. Moser, G.F. Smith, M. N. Tamburri, L. A. Drake, "Stratification of living organisms in ballast tanks: how do organism concentrations vary as ballast water is discharged?", *Environ. Sci. Technol.* Vol.47, No.9, pp.4442-4448, Apr. 2013.  
<https://doi.org/10.1021/es400033z>
- [7] M. Frazier, A. W. Miller, H. Lee, D. A. Reusser, "Counting at low concentrations: the statistical challenges of verifying ballast water discharge standards", *ECOL. APPL.* Vol.23, pp.339-351, Mar. 2013.  
<https://doi.org/10.1890/11-1639.1>
- [8] S. Gollasch, M. David, "Sampling methodologies and approaches for ballast water management compliance monitoring", *PROMET-ZAGREB.* Vol.23, No.5, pp.397-405, Jan. 2012.  
<http://doi.org/10.7307/ptt.v23i5.158>
- [9] M. R. Hernandez, M. L. Johansson, Y. Xiao, M. A. Lewis, H. J. MacIsaac, "Modeling sampling strategies for determination of zooplankton abundance in ballast water", *Mar. Pollut. Bull.* Vol.115, pp.80-85, Feb. 2017.  
<https://doi.org/10.1016/j.marpollbul.2016.11.050>
- [10] A. W. Miller, M. Frazier, G. E. Smith, E. S. Perry, G. M. Ruiz, M. N. Tamburri, "Enumerating sparse organisms in ships' ballast water: why counting to 10 is not so easy", *Environ. Sci. Technol.* Vol. 45, No.8,

pp.3539-3546, Mar. 2011.

<https://dx.doi.org/10.1021/es102790d>

- [11] T. C. Malone, M. B. Chervin, D. C. Boardman, "Effects of 22- $\mu\text{m}$  screens on size-frequency distributions of suspended particles and biomass estimates of phytoplankton size fractions 1", *Limnol. Oceanogr.* Vol.24, pp.956-960, Sept. 1979.  
<https://doi.org/10.4319/lo.1979.24.5.0956>
- [12] S. H. Baek, M. J. Lee, K. Shin, "Efficiency of concentrating marine microplanktonic organisms using net sampler to verify the efficacy of a ship's ballast water treatment system", *Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society.* Vol.17, No.3, pp.136-143, Jan. 2016.  
<https://doi.org/10.5762/KAIS.2016.17.3.136>

장 풍 국(Pung-Guk Jang)

[정회원]



- 1998년 2월 : 경남대학교 환경보호학과 (환경학석사)
- 2008년 8월 : 부산대학교 해양학과 (해양학박사)
- 2008년 9월 ~ 현재 : 한국해양과학기술원 선임연구원

<관심분야>

선박평형수, 해양환경오염, 수질, 해양화학

현 봉 길(Bonggil Hyun)

[정회원]



- 2005년 2월 : 목포해양대학교 해양환경공학과 (이학석사)
- 2015년 2월 : 부경대학교 해양학과 (이학박사)
- 2020년 2월 ~ 현재 : 한국해양과학기술원 선임연구원

<관심분야>

해양 생물학, 해양침입외래생물 생리·생태학

이 우 진(Woo-Jin Lee)

[정회원]



- 1997년 2월 : 수원대학교 대학원 생물학과 (이학석사)
- 1998년 11월 ~ 현재 : 한국해양과학기술원 책임기술원

<관심분야>

해양생물, 선박평형수, 해파리

최 근 형(Keun-Hyung Choi)

[정회원]



- 1994년 2월 : 충남대학교 해양학과 (해양학석사)
- 2000년 5월 : Old Dominion University (해양학박사)
- 2002년 3월 ~ 2008년 6월 : San Francisco 주립대 연구원
- 2010년 11월 ~ 2015년 2월 : 한국해양과학기술원 선임연구원
- 2015년 3월 ~ 현재 : 충남대학교 해양환경과학과 부교수

<관심분야>

생물해양학, 침입종 생태학