

석면섬유 자동계수를 위한 고효율 현미경법의 영상처리 알고리즘 개선

조명옥* · 윤성희* · 한화택* · 김중경†

Improvement of Image Processing Algorithm of High-Throughput Microscopy for Automated Counting of Asbestos Fibers

Myoung-Ock Cho, Seonghee Yoon, Hwataik Han and Jung Kyung Kim

Abstract. We developed a high-throughput microscopy (HTM) method which enabled us to replace a conventional phase contrast microscopy (PCM) method that has been used as a standard analytical method for airborne asbestos. We could obtain the concentration of airborne asbestos fibers under detection limit by automated image processing and analysis using HTM method. Here we propose an improved image processing algorithm with variable parameters to enhance the accuracy of the HTM analysis. Since the variable parameters that compensate the difference of the brightness are applied to the individual images in our new image processing method, it is possible to enhance the accuracy of the automatic image analysis method for sample slides with low asbestos concentration that caused errors in binary image processing. We demonstrated that enumeration of fibers by improved image processing algorithm remarkably enhanced the accuracy of HTM analysis in comparison with PCM. The improved HTM method can be a potential alternative to conventional PCM.

Key Words : Asbestos(석면), PCM(위상차현미경법), HTM(고효율 현미경법), Image analysis(영상 분석법), Variable parameters(가변 파라미터)

1. 서론

석면은 내구성 및 불연성 등의 우수한 특성으로 인해 2000년대 초반까지 건축자재로 많이 사용되었으나 폐암, 악성중피종 등 치명적인 질환의 발생 현황이 최근 밝혀지면서 사용 규제가 강화되고 있다⁽¹⁾. 우리나라에서도 2002년부터 석면사용에 대해 법적 규제를 강화하였으며 2012년부터는 석면안전관리법이 실시되어 모든 공공기관에 석면지도 작성을 요구하는 등 한층 강화된 석면 정책을 시행 중이다⁽²⁾. 이렇게 석면이 사회적 문제로 대두되고 법적 규제가 강화되고 있는 상황에서 석면검출의 효율을 높이는 원천기술의 개발이 필수적이다. 현행 공기중 석면의 검출 방법으로는 위상차현미경법(phase contrast microscopy; PCM법)을 사용하고 있다⁽³⁾. 그러나 전 과정에 거쳐 수작

업이 필요하고 전문가의 판독을 요구하므로 시간이 많이 소요되며 검사자의 주관에 결과가 영향을 미치는 등의 문제점이 있고, 또한 건강에 매우 치명적일 수 있는 0.25 μm 미만의 섬유는 검출하기 힘든 단점이 있다⁽⁴⁾. 이러한 단점을 극복하고 객관적인 석면 분석 결과를 도출하기 위해 석면의 영상을 촬영하여 자동분석을 시도한 연구가 지속되어왔다. 영상분석의 경우 육안으로 구별이 힘든 가늘고 투명한 석면섬유를 색의 대비 효과를 통해 비교적 쉽게 검출할 수 있고 정확한 크기정보 파악이 가능하다는 장점이 있다⁽⁵⁾. 특히, 석면의 광학적 특성을 이용한 분산염색을 통해 석면 섬유의 위치 변화에 따른 색의 변화를 확인하여 석면의 여부를 가려내는 정성검사법 등의 연구가 활발히 이루어졌다^(6,7). 최근에는 석면에 선택적으로 부착되는 단백질 을 이용하여 형광염색을 통해 석면을 검출하는 연구가 이

† 책임저자, 국민대학교 기계공학과
E-mail : jkkim@kookmin.ac.kr

* 국민대학교 기계공학과

루어지는 등^(8,9) 석면을 효과적으로 빠르게 검출하고자 하는 연구가 여러 분야에서 이루어지고 있다. 본 연구진은 선행연구를 통해 공기중 석면시료의 자동 영상 획득 및 자동계수가 가능한 고효율현미경법(high-throughput microscopy; HTM법)을 개발하였으며 자동으로 획득한 석면시료 영상의 분석을 통해 공기중 석면검출의 자동계수가 가능함을 제시하고, 표준 석면 농도 측정법인 PCM법 분석결과를 기준으로 HTM법의 성능을 평가하였다^(10,11). 또한 석면에 특이적으로 부착하는 단백질과 반응한 석면에 대해 형광 및 명시야 현미경을 동시에 활용하여 검출이 가능한 DM-HTM법(dual-mode high-throughput microscopy)을 개발하여 백석면의 선택적 고효율 검출을 시도하였다⁽¹²⁾. 본 연구진의 또 다른 선행연구에서는 HTM법을 이용하여 작업장에서 채취한 저농도 공기시료와 고농도 국제정도관리(PAT) 시료를 분석하고 새로운 석면검출기법의 현장적용 가능성을 평가하였다⁽¹³⁾. 그러나 석면 시료의 영상 분석에서 일부 저농도 현장시료의 경우는 일반적으로 이진화했을 때 영상의 밝기 차이로 인해 결과값에 많은 오류가 발생하였다. 본 논문에서는 HTM법의 영상처리 알고리즘에서 고정 파라미터를 적용했을 때 일부 시료에서 초과 계수되는 오류를 해결하고자 각 석면시료 영상의 특성을 고려한 가변 파라미터 영상처리법을 개발하였다. 또한 가변 파라미터를 적용하여 영상 처리한 개선된 HTM법과 PCM법의 분석결과를 비교 평가하였다.

2. 실험 장치 및 방법

2.1. 밝기보정을 위한 가변 파라미터 최적화

선행연구를 통해 개발하여 본 연구에서 사용된 자동 영상 획득 장치와 이를 사용하여 촬영한 석면의 현장 시료 영상을 Fig. 1에 나타내었다. 한 개의 시료에서 대량으로 획득한 영상은 ImageJ 프로그램(<http://imagej.nih.gov/ij/>)을 사용한 기존 영상처리법에서 동일한 파라미터를 적용하여 일괄 분석을 하였다. 그러나 본 연구에서는 영상의 밝기를 나타내는 계조치(gray level) 차이로 인한 오차를 줄이기 위해 각 영상의 밝기 차이를 보정하여 일정한 결과값을 가질 수 있도록 영상처리법을 개선하였다. 먼저, 대표적인 석면시료 영상을 선정하여 Fig. 2와 같이 10단계의 계조치를 갖도록 임의로 처리하였다. 개선된 영상처리법에서는 계조치의 최대값(Max), 최소값(Min), 평균값(Mean), 표준편차(Stddev)를 고려한 합수를 적용하여 영상의 밝기를 보정하였는데 이에 사용된 보정식은 다음과 같다.

$$\text{Min}' = \text{Mean} - (\text{Min} + \text{Stddev}) \quad (1)$$

$$\text{Max}' = \text{Mean} + ((\text{Max} - \text{Min}) + \text{Stddev}) \quad (2)$$

영상 계조치의 최소값(Min)과 최대값(Max)을 재설정하기 위해서는 일반적으로 히스토그램 평준화(Histogram Equalization)를 사용하여 영상의 밝기 값을 균일하게 만들거나 색의 대비 차를 뚜렷하게 하여 영상을 개선하는 작업을 수행하는데, 본 연구에서는 배경과 물체의 대비가 매우 적은 석면시료 영상에 특화된 새로운 정규화 전처리법(Normalization)을 제시하였다. 본 연구에서 제안한 영상 분석 전처리법에서는 각 영상의 배경 값을 정규화하여 각각의 영상이 갖는 배경의 명암 값의 차이를 상쇄할 수 있으므로 영상 분석시 일부 영상에서 나타나는 지나치게 밝아지거나 어두워지는 등의 분석 오류를 최소화 할 수 있다. 영상 이진화를 위해 배경을 제거하는 과정에서는 Subtract Background를 사용하였고 여기서 변수 rolling값을 석면 분석기준의 최소길이인 5 μm , 최대폭 10 μm 에 해당하도록 30~60 pixels로 설정하였다.

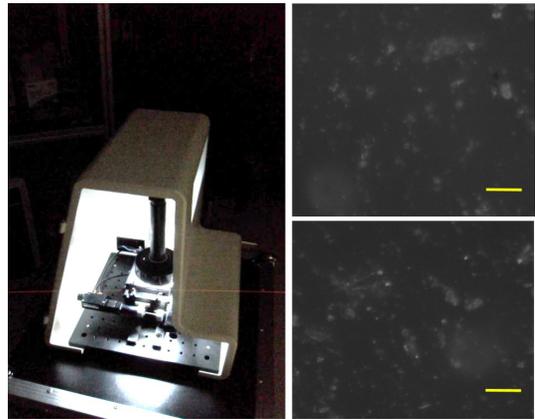


Fig. 1. HTM setup and images of airborne asbestos samples taken by HTM (bar = 100 μm).

2.2. 영상 이진화를 위한 파라미터 최적화

이진화 과정에 사용되는 파라미터 Radius는 각 영상에서 국소 영역의 반경을 pixel 단위로 나타내며 1~50에서 최적값을 가진다. 영상의 이진화는 Subtract Background와 Auto Local Threshold 과정을 거쳐서 이루어지는데 각 과정에서 영상단위의 크기를 지정하는 Rolling값과 Radius, Contrast threshold값을 고려해야 한다. Radius는 석면 분석기준의 최소 길이인 5 μm 가 HTM 영상의 약 30 pixel에 해당하는 것을 고려하여 15로 설정하였다. 영상

이진화 조건 함수에 사용되는 파라미터 Contrast threshold 는 1~30에서 최적 값을 가지며 본 연구에서는 1~36의 값을 대입한 결과 최적 경험값으로 15를 사용하였다. Fig. 3 에는 영상분석을 위한 가변 파라미터의 최적화 과정을 나타내었다.

3. 결과 및 토의

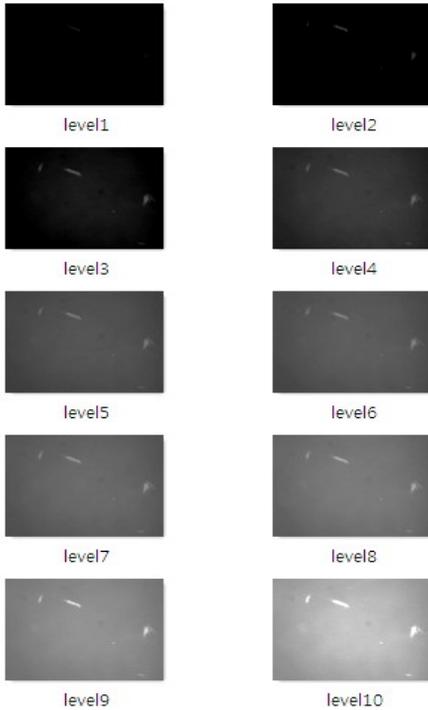


Fig. 2. Asbestos sample images with 10 different grey levels.

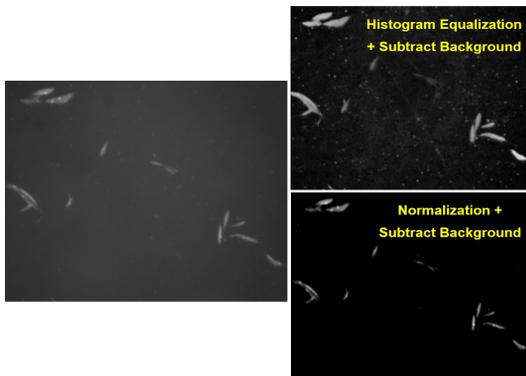


Fig. 3. Procedure of parameter optimization for processing of asbestos sample images

본 연구에서는 선행연구를 통해 개발한 영상 기반 석면 섬유 자동계수법인 HTM법에서 동일한 파라미터를 적용하여 일괄 분석할 때 영상의 밝기를 나타내는 계조치 차이로 인해 오차가 발생하였던 문제점을 해결하고자 각 영상의 밝기 차이를 보정하여 일정한 결과값을 가질 수 있도록 영상처리법의 알고리즘을 개선하였다. 기존 영상처리법과 개선된 영상처리법을 각각 적용하여 분석한 석면섬유 자동계수 결과를 비교하였으며 저농도의 실내 공기 시료에 대한 자동계수의 정확도를 높일 수 있음을 확인하였다. 본 연구에서는 인위적으로 계조치를 10단계로 조절한 석면영상을 분석한 결과를 토대로 영상 정규화 과정을 추가하여 기존 HTM법을 개선하였으며 선행연구에서 기준치를 초과하였던 시료 5개를 개선된 영상처리법으로 재분석해본 결과 석면 자동계수 결과가 PCM의 오차범위 안에 속하는 것을 확인하였다.

인위적으로 영상의 계조치를 10단계로 조절한 시료에 대해 HTM법에 의한 영상처리 결과와 가변 파라미터를 사용하여 개선된 영상처리법을 적용한 결과를 수동계수 결과와 비교하여 Table 1에 나타내었다. 기존 영상처리 결과에서는 같은 영상임에도 불구하고 계조치 차에 의한 영상의 이진화 오류로 인해 최대 100개 이상의 자동계수 오차가 발생하였다. 이는 표준 석면검출법인 PCM법에서 100개 시야에 해당하는 기준치에 비해 10배 이상 초과하는 수치이다. 반면, 각 영상의 계조치 정보를 기반으로 가변 파라미터가 각각의 영상에 자동으로 적용되는 개선된 영상처리법을 이용한 석면 자동계수 결과는 수동계수 결과와 동일하거나 PCM법의 오차범위를 벗어나지 않았다. 이러한 결과를 바탕으로 선행연구에 사용된 저농도 현장 석면 시료 중 기준치를 초과하였던 시료 5개를 개선된 영상처리법을 이용하여 재분석한 결과를 Table 2에 나타내었다. 기존 영상처리법에서 PCM법에 비해 자동계수 결과가 최대 2배 이상 초과되었던 시료에서 개선된 영상처리법을 사용할 경우 PCM법의 측정 오차범위에 속하는 계수 결과를 얻을 수 있었다.

본 연구진은 후속 연구를 통해 영상처리 도중 영상의 배경이 매우 지지분하거나 초점이 전혀 맞지 않는 등 분석에 부적합한 영상에서 간혹 발생하는 오류를 제거하기 위한 단일 영상의 최대 계수 값 제한 과정을 추가하여 더욱 최적화된 가변 파라미터 적용 알고리즘을 개발할 예정이며 이를 통해 HTM법에 의한 석면섬유 자동계수 결과의 신뢰도를 향상시키고자 한다. HTM법은 PCM법에 비해 통계처리 등이 용이한 장점이 있다. 현재 개발 중인 형광 HTM법에 개선된 영상처리법이 함께 적용될 경우 특정 석면을

Table 1. Results of asbestos fiber count by Manual, old version of HTM and new version of HTM methods.

| Grey level (Min/Max) | 80/255 | 60/255 | 40/255 | 20/255 | 0/255 |
|----------------------|--------|--------|--------|--------|-------|
| Manual Count | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 |
| HTM (old) | 2 | 0 | 100 | 134 | 13 |
| HTM(new) | 1 | 2 | 3 | 3 | 4 |
| Grey level (Min/Max) | 0/220 | 0/185 | 0/150 | 0/115 | 0/80 |
| Manual Count | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| HTM (old) | 132 | 103 | 10 | 0 | 0 |
| HTM(new) | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |

Table 2. Comparison of asbestos concentrations of representative indoor air samples by HTM and PCM methods.

| | Field1 | Field2 | Field3 | Field4 | Field5 |
|-----------------|---------|---------|---------|---------|---------|
| HTM (count/mm3) | 0.002 | 0.0004 | 0.003 | 0.002 | 0.005 |
| PCM (count/mm3) | > 0.002 | > 0.004 | > 0.002 | > 0.002 | > 0.004 |

정량적으로 분석하고 노동력과 시간을 절감할 수 있는 차세대 환경 모니터링 기기를 개발할 수 있을 것으로 기대한다.

4. 결론

본 연구에서는 선행연구를 통해 개발한 영상 기반 석면 섬유 자동계수법인 HTM법에서 동일한 파라미터를 적용하여 일괄 분석할 때 영상의 밝기를 나타내는 계조치 차이로 인해 오차가 발생하였던 문제점을 해결하고자 각 영상의 밝기 차이를 보정하여 일정한 결과값을 가질 수 있도록 영상처리법의 알고리즘을 개선하였다. 기존 영상처리법과 개선된 영상처리법을 각각 적용하여 분석한 석면섬유 자동계수 결과를 비교하였으며 저농도의 실내 공기 시료에 대한 자동계수의 정확도를 높일 수 있음을 확인하였다. 본 연구에서는 인위적으로 계조치를 10단계로 조절한 석면영상을 분석한 결과를 토대로 영상 정규화 과정을 추가하여 기존 HTM법을 개선하였으며 선행연구에서 기준치를 초과하였던 시료 5개를 개선된 영상처리법으로 재분석해본 결과 석면 자동계수 결과가 PCM법의 오차범위 안에 속하는 것을 확인하였다.

후 기

이 논문은 교육부의 재원으로 한국연구재단(NRF)의 지원(NRF-2013R1A1A2059539)과 휴먼인지환경사업본부-신기술융합형 성장동력사업의 지원(2013K000392)을 받아 수행된 연구결과임.

참 고 문 헌

- 1) Kim, H. R., Ahn, Y. S. and Jung, S. H., 2009, "Epidemiologic Characteristics of Malignant Mesothelioma in Korea", JKMA, Vol. 52, No. 5, pp. 449-455.
- 2) Jeong, J.-I., 2011, "Harmfulness in Asbestos and Review from Comparison Method for Securing National Health Right", J. Kor. Soc. Law & Medicine, Vol. 12, No. 1, pp.69-98.
- 3) Asbestos and Other Fibers by PCM: Method 7400. In NIOSH Manual of Analytical Methods (NMAM), 4th ed.; DHHS (NIOSH) Publication: Cincinnati, OH, USA, 1994.
- 4) Dement, J. M. and Wallingford, K. M., 1990, "Comparison of phase contrast and electron microscopic methods for evaluation of occupational asbestos exposures", Appl. Occup. Environ. Hyg., Vol. 5, pp.242-247.
- 5) Kawabata, K., Komori, Y., Mishima, T. and Asama, H., 2009, "An Asbestos Fiber Detection Technique Utilizing Image Processing Based on Dispersion Color", Particulate Science and Technology, Vol. 27, pp.177-192.
- 6) Moriguchi, Y., Hotta, K. and Takahashi, H., 2009, "Asbestos Detection from Microscope Images Using Support Vector Random Field of Local Color Features". LNCS, Vol. 5507, pp.344-352.
- 7) Nomoto, A., Hotta, K. and Takahashi, H., 2009, "An Asbestos Counting Method from Microscope Images of Building Materials Using Summation Kernel of Color and Shape". LNCS, Vol. 5507, pp.671-678.
- 8) Kuroda, A., Nishimura, T., Ishida, T., Hirota, R. and Nomura, K., 2008, "Detection of Chrysotile Asbestos by Using a Chrysotile-binding Protein", Biotechnol. Bioeng. Vol. 99, pp.285-289.

- 9) Ishida, T., Alexandrov, M., Nishimura, T., Minakawa, K., Chihirota, R., Sekiguchi, K., Kohyama, N. and Kuroda, A., 2010, "Selective Detection of Airborne Asbestos Fibers Using Protein-based Fluorescent Probes", *Environ. Sci. Technol.*, Vol. 44, pp.755-759.
- 10) Cho, M. O., Yoon, S., Han, H. and Kim, J. K., 2010, "Development of High-throughput Microscopy (HTM) for Automatic Counting of Asbestos Fibers", *J. Kor. Soc. Indoor Environment*, Vol. 7, No. 4, pp. 235-242.
- 11) Cho, M. O., Yoon, S., Han, H. and Kim, J. K., 2011, "Automated Counting of Airborne Asbestos Fibers by a High-Throughput Microscopy (HTM Method)", *Sensors*, Vol. 11, pp.7231-7242.
- 12) Cho, M. O., Chang, H. M., Lee, D., Yu, Y. G., Han, H. and Kim, J. K., 2013, "Selective Detection and Automated Counting of Fluorescently-Labeled Chrysotile Asbestos Using a Dual-Mode High-Throughput Microscopy (DM-HTM) Method", *Sensors*, Vol. 13, pp.5686-5699.
- 13) Yoon, S. H., Jeon, B. H., Choi, H.-C., Han, H. and Kim, J. K., 2011, "A Study on Applicability of High-Throughput Microscopy (HTM)-Based Automated Asbestos Counter for Measurement of Airborne Asbestos Fiber Concentration", *J. Kor. Soc. Indoor Environment*, Vol. 8, No. 4, pp.321-329.