

가시광 및 근적외선 전투과 스펙트럼을 이용한 갈색 혈란 비파괴선별 방법 개발

Development of Nondestructive Sorting Method for Brown Bloody Eggs Using VIS/NIR Spectroscopy

이홍석*, 김대용*, 라리트 칸드팔*, 이상대*, 모창연**, 홍순중***, 조병관*†

Hong-Seock Lee*, Dae-Yong Kim*, Lalit Mohan Kandpal*, Sang-Dae Lee*, Changyeun Mo**,
Soon-Jung Hong*** and Byoung-Kwan Cho*†

초 록 본 논문에서는 가시광 및 근적외선(VIS/NIR) 분광기술을 이용하여 혈란을 비파괴적으로 검출할 수 있는 측정방법을 개발하고자 하였다. 실험에 사용된 혈란 시료는 0.1 mL, 0.07 mL, 0.04 mL, 0.01 mL의 닭의 혈을 인공적으로 노른자 주변에 주입하여 제작하였다. 분석을 위해 사용된 스펙트럼 영역은 471 ~ 1154nm 이었으며, 스펙트럼 해상도는 1.5 nm이었다. 혈란 측정을 위한 두 개 광원의 각도는 30도이었으며 광원과 시료간 거리는 100 mm로 설정하였다. 또한 광원의 열로 인해 시료가 손상되지 않도록 측정을 위한 노출시간은 30 ms으로 설정하였다. 측정된 스펙트럼에 부분최소자승 분류방법(PLS-DA)을 적용하여 선별모델을 개발하였다. 개발된 모델들로 분석한 결과 혈란의 선별 정확도는 0.1 mL, 0.07 mL, 0.04 mL, 0.01 mL 혈란 시료에 대해 각각 97.9%, 97.9%, 94.8%, 86.5% 이었다. 가시광 및 근적외선 스펙트럼 기술은 0.04 mL 이상의 혈점이 포함된 혈란을 비파괴적으로 선별 할 수 있는 가능성을 보여 주었다.

주요용어: 가시광 및 근적외선, 투과 스펙트럼, 혈란, 농산물 품질

Abstract The aim of this study was the non-destructive evaluation of bloody eggs using VIS/NIR spectroscopy. The bloody egg samples used to develop the sorting mode were produced by injecting chicken blood into the edges of egg yolks. Blood amounts of 0.1, 0.7, 0.04, and 0.01 mL were used for the bloody egg samples. The wavelength range for the VIS/NIR spectroscopy was 471 to 1154 nm, and the spectral resolution was 1.5nm. For the measurement system, the position of the light source was set to 30°, and the distance between the light source and samples was set to 100 mm. The minimum exposure time of the light source was set to 30 ms to ensure the fast sorting of bloody eggs and prevent heating damage of the egg samples. Partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) was used for the spectral data obtained from VIS/NIR spectroscopy. The classification accuracies of the sorting models developed with blood samples of 0.1, 0.07, 0.04, and 0.01 mL were 97.9%, 98.9%, 94.8%, and 86.45%, respectively. In this study, a novel nondestructive sorting technique was developed to detect bloody brown eggs using spectral data obtained from VIS/NIR spectroscopy.

Keywords: VIS/NIR, Transmission Spectra, Bloody Egg, PLS-DA(Partial Least Square Discriminant Analysis)

1. 서 론

최근 고품질 안전 농산물에 대한 수요가 증가

함에 따라 농산물의 생산 및 출하단계에서 고품질 농산물을 선별하는 기술의 비중이 높아지고 있다. 주요 농축산물 중 하나인 계란도 내부품질

[접수일: 2014. 1. 27, 수정일: 2014. 2. 16, 게재확정일: 2014. 2. 18] *충남대학교 바이오시스템기계공학과, **농촌진흥청 국립농업과학원 농업공학부, ***농촌진흥청 농촌인적자원개발센터 †Corresponding Author: Department of Biosystems Machinery Engineering, College of Agriculture and Life Science, Chungnam National University, 220 Gung-dong, Yuseong-gu, Daejeon 305-604, Korea (E-mail: chobk@cnu.ac.kr)

을 비파괴로 측정하여 선별하므로 고품질 상품화 하려는 노력이 시도되고 있다. 우리나라의 계란 생산량은 세계 22위 수준으로 시장규모는 약 1조 2천억 원이다[1]. 국내 1일 계란생산량은 2013년 2분기 기준으로 약 3,800만란으로 지속적으로 생산량이 증가하고 있다[2].

계란은 내부의 내용물만 섭취하게 되므로 품질 등급 판정에 있어 가장 중요한 인자는 계란 내부 품질의 이상 유무라 할 수 있다. 계란의 내부 품질은 육안으로는 관찰하기가 어렵고 외피를 제거하고 나서야 정확한 품질을 판단할 수 있다. 특히, 전체 이상란 중 95%를 차지하는 혈란은 노른자 주위에 혈반이 존재하는 계란으로 외부에서 육안으로 판단하기가 매우 어렵다. 혈란은 난소에서 배란될 때 발생되며 닭의 스트레스나 환경적인 요인이 원인이 되는 것으로 알려져 있다. 혈란은 소비자들에게 혐오감을 일으키는 품질저하 상품으로 출하직전 선별과정에서 제거되어야 하지만 현재까지 국내에서는 비파괴적으로 혈란을 선별할 수 있는 기술은 아직 상용화되어 있지 않다.

국내 계란시장의 대부분은 갈색란이 차지하고 있는 반면, 일본 등에서 많이 소비되는 백색란은 전체 국내 계란 생산량의 약 0.1%에 불과하다[3]. 따라서, 국내에서 활용이 가능한 혈란 선별시스템은 갈색란을 대상으로 개발되어야 한다. 현재까지 혈란 선별을 수행하고 있는 농가들은 거의 다 수입 혈란선별기를 이용하고 있다. 그러나 수입 혈란선별기의 경우 해외에서 주로 생산되는 백색란을 기준으로 선별조건이 설정되어있어 국내에서 주로 생산되는 갈색란의 경우 선별 오검출률이 높다. 따라서 대부분 농가에서의 혈란선별기 가동률이 매우 낮은 실정이다.

최근 농산물의 외부품질과 내부품질을 비파괴적으로 측정할 수 있는 기술 개발에 대한 다양한 연구가 수행되고 있다[4]. 특히 비파괴 농산물 비파괴선별기술 중 가시광 및 근적외선 분광분석법은 대상 시료를 파괴하지 않고 내부품질을 빠른 속도로 측정하는 것이 가능하며 흡광도가 낮고 에너지가 중적외선보다 높고 투과율이 높아 농산물 내부품질 측정에 많이 활용되고 있다. 최근 분광분석법을 이용하여 계란의 내부품질을 측정하려는 연구가 있었다. Nakano 등[5]은 갈색란의

혈란 검출 실험에 빛을 투과하여 특정 파장의 영상비값을 이용하면 혈란을 93.7%의 정확도로 검출할 수 있다고 보고하였다. 그러나 혈점 크기별 검출 정확도에 대한 정보는 제시하지 않았다.

Kim 등[6]은 근적외선 분광법(near infrared spectroscopy, NIRS)을 이용하여 비파괴적으로 계란의 신선도인 호우 유닛(haugh unit, HU) 값을 1.35 HU 오차 범위로 측정할 수 있음을 보고하였다. Liu 등[7]은 자외선 및 가시광선 투과분광법을 이용하여 저장기간에 따른 계란의 신선도를 측정할 수 있는 방법을 제시하였다. 그러나 보통 혈란에서 검출되는 소량의 혈점에 대한 검출 정확도를 혈점량에 따라 분석한 정량적 연구는 수행이 되어 있지 않았다. 본 연구에서는 현재까지 시도되지 않았던 소량의 혈점을 포함한 혈란에 대해 혈점량 별로 VIS/NIR 분광분석법을 이용하여 정상 갈색란과 혈란을 구분할 수 있는 기술을 개발하고 이를 계란 선별시스템에 적용할 수 있는 가능성을 검증하였다.

2. 실험

2.1. 혈란 제작

실험에 사용할 수 있는 혈란을 구하기 위해서는 비파괴적으로 계란의 내부상태를 확인하여 혈란을 검출할 수 있는 기술이 필요하나 현재까지 정확하게 혈란을 비파괴적으로 선별할 수 있는 방법이 없으므로 직접 혈란을 제작하여 사용하였다. 시중에서 판매되고 있는 갈색란을 800개 구입한 후 세척하여 표면에 존재하는 이물질 제거하였다. 현재 농가에서는 파각란을 제거하기 위해 계란을 세척한 후 선별하는데 본 연구의 혈란 선별도 같은 과정을 거쳤다. 우선 파각란을 제거하기 위해 Fig. 1과 같이 광원을 계란에 직접 투과한 후 육안으로 파각 부분을 검사하였다.

실험용 혈란을 제작하기 위해 살아있는 닭으로부터 피를 뽑아 항응고제 헤파린(Heparin)를 첨가한 후 용기에 넣어서 1~6°C에서 냉장 보관하며 사용하였다. 계란에 혈점을 주입하기 위해 전동 드릴을 이용하여 작은 구멍을 만들었다. 구멍의 위치는 계란의 윗부분에 존재하는 숨구멍을 피하기 위해 중심에서 약간 아래 부분에 위치하도록

하였으며 주사기를 이용하여 혈점이 노른자 주변에 위치할 수 있도록 주입하였다. 실제 혈란이 발생하는 위치는 주로 노른자 주변에서 발생하는데 실험에서도 이와 유사한 상태가 되도록 혈란을 제작하였다.

총 800개의 갈색란 중 정상란 160개를 제외한 640개의 갈색란에 대해 농도별로 160개의 혈란을 제작하였다. 실험용 혈란에 주입된 혈점의 양은 Fig. 3과 같이 0.1 mL, 0.07 mL, 0.04 mL, 0.01 mL이었다. 제작된 혈란과 정상란을 이용하여 스펙트럼의 변화를 측정하고 혈란 선별 알고리즘을 개발하고자 하였다.

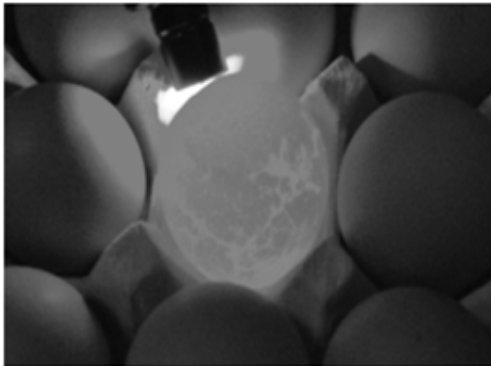


Fig. 1 Preprocessing for sorting a cracked egg



Fig. 2 Fabrication process for an artificial bloody eggs

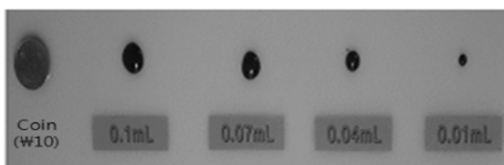


Fig. 3 Blood volumes inserted to the artificial bloody eggs

2.2. 분광분석 시스템 구성

혈란 검출을 위한 실험용 분광분석 시스템은 휴대용 스펙트로미터(USB4000, Ocean Optics Inc., USA)와 옵틱 파이버(OP1000-2-VIS-NIR, Ocean Optics INC., USA), 할로겐램프(LS-F100HS-JR, Seokwang Optical Co., LTD, Korea)로 구성하였다. 사용된 스펙트럼 영역은 471 ~ 1154 nm이며 휴대용 스펙트로미터의 스펙트럼 해상도는 1.5 nm 이었다.

본 실험에 앞서 정확한 투과 스펙트럼을 획득하기 위해 Fig. 5와 같이 시료와 광원의 최적 위치와 거리를 찾기 위한 실험을 수행하였다. 광원에서 발생하는 열로 시료가 손상되지 않으면서 시료에 광원이 균일하게 조사되는 광원의 위치를 설정하였다.

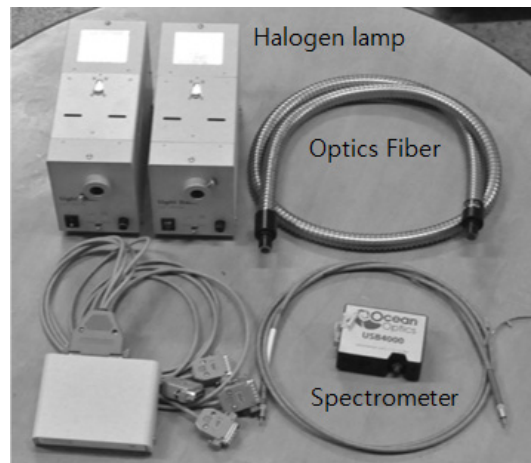


Fig. 4 Components for the prototype

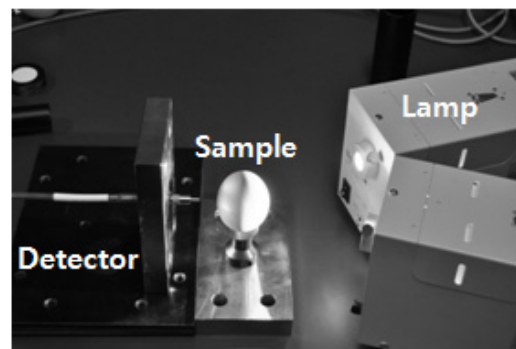


Fig. 5 The constructed spectroscopic system to acquire transmittance spectrum of an egg

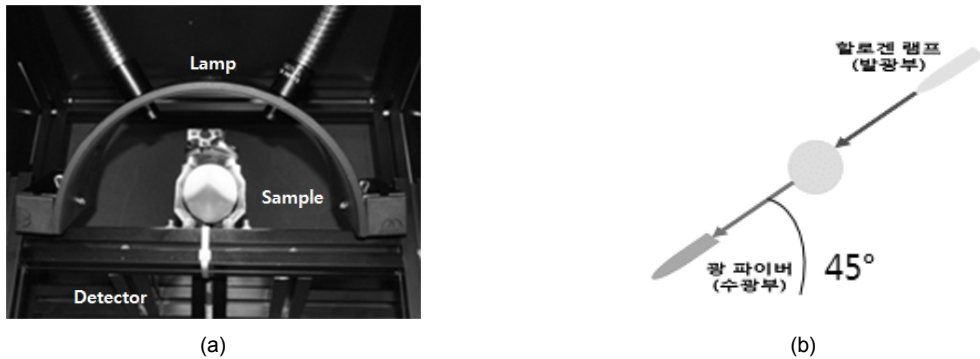


Fig. 6 The developed spectroscopic prototype to acquire transmittance spectrum of an egg

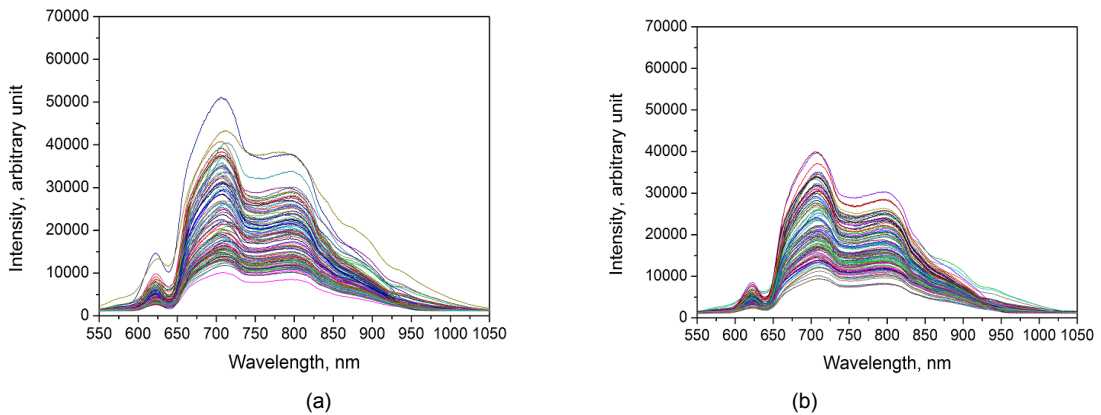


Fig. 7 Representative spectra of normal (a) and bloody eggs of the amount of 0.1mL blood (b)

광원은 단일광원을 사용하는 것보다 2개의 광원을 이용하는 것이 더 효과적이었으며 광원의 위치는 35°, 45°, 60°로 실험을 해 본 결과 30°일 때 시료 표면을 가장 균일하게 조사함을 확인할 수 있었다. 시료와 광원의 거리는 100 mm, 광원의 노출시간은 30 ms로 하였을 때 광원에서 발생하는 열에 의해 시료가 손상되지 않고 스펙트럼이 측정되었다.

실험용 분광분석 시스템은 Fig. 6(a)와 같으며 실험장치의 크기는 가로, 세로, 높이가 동일하게 400 mm로 제작되었다. 광원과 광원의 각도는 30°이고, 광원과 계란의 거리는 100 mm에 위치하도록 하였다. 계란의 숨구멍이 뚫린 상단부에 존재하므로 내용물이 위치하는 아랫부분이 주로 측정이 될 수 있도록 Fig. 6(b)와 같이 광원과 계란, 수광부를 잇는 직선이 수평과 45°의 각도가 되도록 제작하였다. Fig. 7은 측정된 정상란과 0.1 mL 혈란의 스펙트럼이다.

3. 실험결과 및 고찰

실험에 사용된 계란 시료는 스펙트럼을 측정한 후 껍질을 깨어 Fig. 8과 같이 내부를 확인하였다. 초기 선별과정에서 제거되지 못한 자연 발생된 이상란은 분석에서 제외하였다.

정상란과 혈란을 구분할 수 있는 모델을 개발하기 위해 시료를 각각 75:25의 비율로 나누어 PLS-DA(partial least square - discriminant analysis) 모델 개발과 개발된 모델의 검증에 사용하였다.

정상란 120개와 각 농도별 혈란 120개를 이용하여 모델을 개발하였고 모델 검증을 위해 정상란 40개와 각 농도별 혈란 40개씩을 준비하였다.

측정기와 환경요인에 의한 영향을 보정하기 위해 스펙트럼에 전처리 기법을 적용하는데 본 연구에서는 평활화(smoothing), MSC(multiplicative scattering correction), SNV(standard normal variate), 정규화(mean, maximum, range) 방법을 사용하였다.

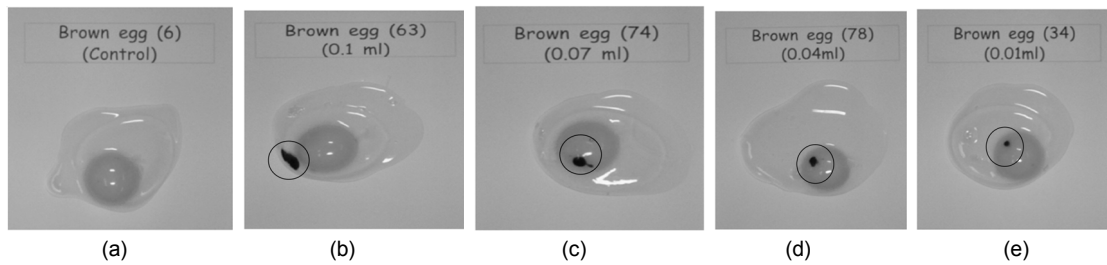


Fig. 8 Internal states of a normal egg and bloody eggs of the amount of 0.1, 0.07, 0.04, 0.01mL blood

Table 1 PLS-DA results of sound and 0.1 mL bloody eggs with several preprocessing

Preprocessing	Sound Vs. 0.1mL						
	Calibration		Validation		Prediction		
	R_c^2	SEC	R_v^2	SEV	R_p^2	SEP	
Raw	0.858	0.189	0.702	0.277	0.720	0.267	
Mean	0.861	0.187	0.668	0.293	0.721	0.270	
Normalization	Maximum	0.860	0.188	0.684	0.284	0.722	0.271
	Range	0.861	0.187	0.682	0.286	0.724	0.270
MSC	0.852	0.193	0.663	0.294	0.685	0.288	
SNV	0.824	0.210	0.654	0.297	0.692	0.283	

Table 2 PLS-DA results of sound and 0.07mL bloody eggs with several preprocessing

Preprocessing	Sound Vs. 0.07mL						
	Calibration		Validation		Prediction		
	R_c^2	SEC	R_v^2	SEV	R_p^2	SEP	
Raw	0.866	0.183	0.692	0.282	0.746	0.258	
Mean	0.858	0.188	0.658	0.296	0.727	0.266	
Normalization	Maximum	0.861	0.187	0.675	0.289	0.710	0.274
	Range	0.862	0.186	0.671	0.291	0.707	0.275
MSC	0.857	0.190	0.679	0.287	0.711	0.274	
SNV	0.855	0.191	0.678	0.287	0.715	0.271	

Table 3 PLS-DA results of sound and 0.04mL bloody eggs with several preprocessing

Preprocessing	Sound Vs. 0.04mL						
	Calibration		Validation		Prediction		
	R_c^2	SEC	R_v^2	SEV	R_p^2	SEP	
Raw	0.851	0.194	0.595	0.326	0.686	0.291	
Mean	0.855	0.191	0.575	0.336	0.641	0.305	
Normalization	Maximum	0.866	0.183	0.626	0.311	0.637	0.315
	Range	0.868	0.182	0.611	0.318	0.685	0.303
MSC	0.866	0.183	0.608	0.319	0.685	0.288	
SNV	0.871	0.180	0.607	0.319	0.688	0.286	

Table 4 PLS-DA results of sound and 0.01mL bloody eggs with several preprocessing

Preprocessing	Sound Vs. 0.01mL						
	Calibration		Validation		Prediction		
	R_v^2	SEC	R_v^2	SEV	R_p^2	SEP	
Raw	0.878	0.175	0.455	0.389	0.505	0.366	
Mean	0.865	0.184	0.400	0.408	0.484	0.375	
Normalization	Maximum	0.863	0.186	0.437	0.393	0.476	0.378
	Range	0.867	0.183	0.448	0.388	0.485	0.372
MSC	0.868	0.182	0.433	0.390	0.468	0.384	
SNV	0.870	0.181	0.431	0.390	0.462	0.389	

Table 5 The classification accuracy of PLS-DA models

Preprocessing	0.1mL	0.07mL	0.04mL	0.01mL
	Accuracy(%)	Accuracy(%)	Accuracy(%)	Accuracy(%)
Raw	96.9	96.8	92.7	86.5
Mean	96.9	98.9	94.8	86.5
Normalization	Maximum	96.9	98.9	92.7
	Range	96.9	98.9	93.8
MSC	97.9	97.9	94.8	86.5
SNV	96.9	97.9	94.8	86.5

전처리 방법은 분광분석법에 표준적으로 사용되고 있는 방법이므로 이에 대한 자세한 설명은 참고문헌으로 대체하고자 한다[8]. 각 전처리 방법을 사용하여 개발된 모델과 예측된 모델의 결과는 Table 1~4에 나타내었다. Table에서 calibration 부분은 각각의 개발된 모델이 혈란과 정상란을 얼마나 정확하게 분류하는지를 나타낸 것이며 validation 부분은 개발된 모델을 검증한 결과이다. Prediction 부분은 개발된 모델을 최종적으로 검증하기 위해 모델 개발에 사용되지 않은 시료를 이용하여 모델의 성능을 분석한 결과이다. 각 모델의 검증은 calibration, prediction, 그리고 validation과정에서 계산되는 표준오차인 standard error of calibration(SEC), standard error of validation(SEV), 그리고 standard error of prediction(SEP)으로 수행하게 된다. 표준오차가 작을수록 모델의 신뢰성은 높게 된다.

PLS-DA 모델을 개발한 결과 Table 1에서 0.1 mL 혈란과 정상란을 가장 잘 분류한 모델은 일정 범위를 이용한 정규화 전처리 모델로 calibration 결정계수(R^2)는 0.861이며, SEC는 0.187이었으며 개발된 모델을 예측한 prediction 결정

계수는 0.724이며, SEP는 0.270이었다. Table 2에서 정상란과 0.07 mL 혈란을 가장 잘 분류한 모델은 전처리를 수행하지 않은 모델로 이 때 calibration 결정계수는 0.866이며, SEC는 0.183이었다. 개발된 모델의 prediction 결정계수는 0.746이며, SEP는 0.258이었다. Table 3에서 정상란과 0.04 mL 혈란을 가장 잘 분류한 모델은 SNV 전처리를 수행한 모델로 이 때 calibration 결정계수는 0.871이며, SEC는 0.180이었다. 개발된 모델의 prediction 결정계수는 0.688이며, SEP는 0.286이었다. Table 4에서 정상란과 0.01 mL 혈란을 가장 잘 분류한 모델은 전처리를 수행하지 않은 모델로 이 때 calibration 결정계수는 0.878이며, SEC는 0.175이었다. 개발된 모델의 prediction 결정계수는 0.505이며, SEP는 0.366이었다.

개발된 모델 성능을 검증하기 위하여 동일한 방법으로 제작된 혈란을 이용하여 개발된 농도별 모델의 선별 정확도를 검증하였다. 검증 결과 Table 5와 같이 정상란에서 0.1 mL 혈란을 선별할 때 정확도는 97.9%였으며 0.07 mL 혈란을 선별할 때 정확도는 98.9%, 0.04 mL 혈란을 선별할 때 정확도는 94.8%이었다. 정상란에서 0.01 mL

혈란을 선별할 때 정확도는 86.5%로 낮게 나타났다. 전체 혈의 양에 대해 가장 이상적인 모델은 MSC의 전처리를 사용한 모델로 0.1 mL, 0.04 mL, 0.01 mL 혈란에서 가장 높은 정확도를 보였고, 혈의 양이 높은 순서대로 정확도가 높게 나타났다. 예측모델에서 발생한 오차는 계란의 크기, 껍질의 두께, 표면의 색상 등에 의한 차이가 혈의 양에 관계없이 분석 결과에 대한 변이로 작용된 것으로 판단된다. 0.1 mL, 0.07 mL, 0.04 mL 혈란의 경우 정확도가 약 95%이상으로 상용 선별기에 적용할 수 있을 정도의 가능성을 보였지만 혈량이 적은 0.01 mL의 경우는 다소 정확도가 낮았다.

4. 결론

본 연구는 국산 갈색란에서 발생하는 혈란을 전투과 분광방식으로 비파괴 선별하기 위한 기술 개발을 위해 수행되었다. 투과 스펙트럼을 효율적으로 측정할 수 있는 분광분석 시스템을 구축하였으며 획득된 스펙트럼에 부분최소자승 분류 방법을 적용하여 선별모델을 개발하고 성능을 분석하였다. 계란의 내부품질 분석을 위한 스펙트럼 획득을 위해서는 2개의 광원과 30°의 각도가 적합하였으며 광원과 계란의 거리는 100 mm가 이상적이었다. 개발된 혈란 선별모델 중 가장 이상적인 모델은 MSC 전처리 기법을 사용한 모델로서 정확도는 0.1 mL, 0.07 mL, 0.04 mL, 0.01 mL 혈란 시료에 대해 각각 97.9%, 97.9%, 94.8%, 86.5%이었다. 본 연구에서 개발된 시스템과 모델을 현재 농가에서 활용하고 있는 중량 선별 시스템에 결합하여 적용한다면 경쟁력 있는 계란 종합선별시스템을 구축할 수 있을 것으로 판단된다.

후 기

본 연구는 농림수산식품부 고부가가치식품사업의 일부지원과 농촌진흥청 차세대 바이오그린21사업(식물분자유종사업단 과제번호: PJ009078012012)의 일부 지원에 의해 이루어진 것임.

참고문헌

- [1] Korea Institute for Animal Products Quality Evaluation, "Livestock products grade judgment criteria details," (2011)
- [2] Statistics Korea, "Average production of eggs of the 1day," (2013)
- [3] J. J. Noh, S. Y. Jeon, B. S. Pack, S. M. Kim, H. S. Kim, H. J. Kim and C. Jo, "Investigation of reliability of automatic cracked and bloody egg detector," *Journal of the Korean Society of Food Preservation*, Vol. 20, No. 1, pp. 69-75 (2013)
- [4] S. H. Noh, "Nondestructive quality evaluation technologies for agricultural products," *Journal of the Korean Society for Nondestructive Testing*, Vol. 18, No. 5, pp. 398-412 (1998)
- [5] K. Nakano, J. Mizutani and Y. Ohtsuka, "Studies on nondestructive detection of abnormal eggs (Part1) Detection of blood spots in eggs using image processing," *Journal of Society of Agricultural Structures*, Vol. 29, pp. 17-23 (1998)
- [6] S. H. Kim, S. J. Lee, D. S. Lee, W. B. Cho, S. H. Lee, S. Borden, Y. A. Woo and H. J. Kim, "Non-destructive measurement of the egg freshness by near infrared spectrometry," *Journal of the Korean Chemical Society*, Vol. 49, No. 6, pp. 531-536 (2005)
- [7] Y. Liu, Y. Ying, A. Ouyang, and Y. Li, "Measurement of internal quality in chicken eggs using visible transmittance spectroscopy technology," *Journal of the Food Control*, Vol. 18, pp. 18-22 (2006)
- [8] Y. Kim, "Development of a nondestructive measuring system for assessment of internal quality and freshness of tomatoes using VIS/NIR transmittance spectroscopy technology," Chonnam National University, Ph.D. Thesis (2009)