

가시광 및 근적외선 투과분광법을 이용한 감염 씨감자 온라인 선별시스템 개발

Development of On-line Sorting System for Detection of Infected Seed Potatoes Using Visible Near-Infrared Transmittance Spectral Technique

김대용*, 모창연**, 강점순***, 조병관*†

Dae Yong Kim*, Changyeun Mo**, Jun-Soon Kang*** and Byoung-Kwan Cho*†

초 록 본 연구에서는 온라인 감염 씨감자 비파괴선별 시스템을 구축하고 감염 씨감자 선별을 위한 통계적 모델을 개발하여 적용함으로써 선별시스템의 성능을 평가하였다. 선별모델 개발을 위해 토양병 및 잠복 감염의 대표적인 병원성 세균인 *Pectobacterium atrosepticum*을 인위적으로 씨감자에 감염시켜 씨감자 내부에 병징이 발현되도록 하여 실험하였다. 구축된 선별시스템을 통해 감염 및 정상 씨감자의 투과스펙트럼을 획득한 후 최소자승판별법(partial least square-discriminant analysis)을 이용하여 감염 씨감자 검출모델을 개발하였다. 개발된 모델의 검정결정계수는(R^2) 0.943이었고 분류의 정확도는 99%(n=80) 이상으로 우수한 선별성을 보였다. 개발된 온라인 감염 씨감자 선별시스템은 씨감자 선별뿐만 아니라 다양한 농산물의 감염을 검출하는 기반기술로 응용이 가능할 것으로 판단된다.

주요용어: 농산물 선별, 비파괴 품질측정, 투과 스펙트럼, 부분최소자승법, 감염씨감자

Abstract In this study, an online seed potato sorting system using a visible and near infrared (40 - 1100 nm) transmittance spectral technique and statistical model was evaluated for the nondestructive determination of infected and sound seed potatoes. Seed potatoes that had been artificially infected with *Pectobacterium atrosepticum*, which is known to cause a soil borne disease infection, were prepared for the experiments. After acquiring transmittance spectra from sound and infected seed potatoes, a determination algorithm for detecting infected seed potatoes was developed using the partial least square discriminant analysis method. The coefficient of determination(R_p^2) of the prediction model was 0.943, and the classification accuracy was above 99% (n = 80) for discriminating diseased seed potatoes from sound ones. This online sorting system has good potential for developing a technique to detect agricultural products that are infected and contaminated by pathogens.

Keywords: Agricultural Products Sorting, Nondestructive Quality Measurement, Transmittance Spectrum, Partial Least Square Analysis, Infected Seed Potato

1. 서 론

씨감자의 무름병을 유발하고 토양을 통해 전염되는 주요 토양병(soilborne disease)원인균 중 하나인 *pectobacterium atrosepticum*은 다양한 채소에서 발생하는 그람음성세균(gram-negative strain)의 하나로 식물의 잎, 줄기, 괴경 등 전 부위에서 병

징을 발생시킨다. 특히 이 병원성 세균에 의해 발생하는 병징은 재배기간 동안 육안으로 확인이 어렵고 또한 잠복감염(latent infection)되는 특징이 있어 감염된 종자를 저장할 경우 건전한 종자를 오염시키게 되고, 이듬해 파종기에 병원균을 토양에 퍼트려 광범위한 영역을 감염시키게 된다 [1]. 감염된 종자는 병징발생부위가 지하부에 존

[Received: February 17, 2014, Revised: October 20, 2014, Accepted: November 11, 2014] *충남대학교 바이오시스템기공학과, **농촌진흥청 농업공학부, ***부산대학교 원예학과 †Corresponding Author: Department of Biosystems Engineering, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea (E-mail: chobk@cnu.ac.kr)

재하므로 조기발견이 매우 어렵고 지상부의 식물체에서 병징이 확인된 경우는 이미 증세가 악화된 상황이다. 또한 토양을 대상으로 방제 및 방역을 해야 하므로 사용된 약제의 침투력 및 효율성 등이 낮아 어려움이 따른다. 따라서 토양에 파종하기 전에 감염된 종자를 선별하여 처분하는 것이 가장 바람직하다[2,3].

해마다 식용뿐만 아니라 가공식품, 의료소재, 산업소재 등으로 수요 증가가 예상되고 있는 감자는 재배에 필요한 무병종서의 공급이 중요하다. 그러나 최근 수경재배로 무병종서 보급을 활성화하고 있으나 대부분이 토양에서 재배된 씨감자를 보급하고 있는 실정이다[4]. 따라서 감염된 씨감자가 농가에 보급될 경우 토양을 통한 광범위한 전염을 피할 수 없어 농가 경제에 심각한 피해를 초래할 우려가 있다.

현재 감염 씨감자 선별 기술은 전수조사가 불가능하며 인력에 의해 표면을 육안으로 검사하는 방법뿐이다. 그러나 육안으로는 내부에 발생한 병징을 확인할 수 없고 대량으로 생산되는 씨감자를 전수조사하기에는 한계가 있다. 따라서 농업현장에서는 전수조사가 가능하고 생력효율이 높은 실시간 온라인 비파괴검사 시스템이 필요한 실정이다.

농산물의 파괴 및 비파괴 검출 방법에는 전극센서, 바이오센서, 분광기술 등이 대표적으로 활용되고 있다. 전극센서와 바이오센서는 기질의 효소 반응이나 화학적 반응을 이용하여 측정하는 방법으로서 미량의 검출농도를 측정할 수 있는 장점이 있는 반면 파괴적인 방식이므로 농산물의 대량 전수검사에는 사용이 제한적이다. 분광기술은 농식품 성분의 정량분석이나 품질등급 판별에 많이 활용되고 있는 기술로 기존의 파괴적이며 수작업에 의존하였던 성분분석 및 품질측정 방법을 대체하는 기술로 각광받고 있다. 분광기술의 장점으로는 시료의 전처리가 필요 없으며, 측정시간이 빠르고, 비파괴 방식으로 측정이 가능하다는 점이다. 특히 광 파장 영역 중 가시광 및 근적외선 영역(400~1100 nm)은 대상체를 투과하는 에너지가 강하여 시료 내부의 유기화합물 특징을 효과적으로 반영할 수 있다. 따라서 농산물의 형상에 영향을 받지 않고 내부 품질 및 상태를 비파괴적으로 측정 분석할 수 있다.

분광기법은 측정하는 방법에 따라 투과 및 반

사방식으로 구분하고 있으며 대상체에 광을 조사하여 획득한 스펙트럼의 정보로 대상물의 이화학적 특성을 정성 혹은 정량적으로 나타내는 방법이다[5]. 대상물을 통해 획득한 스펙트럼은 케모메트릭스(chemometrics) 기법을 이용하는데 대표적으로 PCA(principal component analysis), PLS-DA(partial least square-discriminant analysis), SIMCA(soft independent modeling of class analogy) 등이 있다. 최근 분광분석을 농업바이오분야에 적용한 연구로는 콩에 섞여있는 이물질 판별[6], GMO 토마토의 판별[7], 감자의 비중(specific gravity) 측정[8], 콩의 원산지 판별[9], 박테리아 종류 판별분석기법[10] 등의 연구가 진행되어 왔으나 병원성 세균에 감염된 농산물에 대한 선별에 비파괴 분광분석법이 연구된 사례는 없었다.

본 연구는 세균에 감염된 씨감자를 비파괴적으로 선별하기 위해 투과식 분광기법이 적용된 온라인 선별 시스템을 개발하고 선별을 위한 모델 개발과 그 성능을 평가하고자 하였다.

2. 실험

2.1. 공시재료

본 연구에 사용된 씨감자는 강원도 감자종자진흥원으로부터 재배된 것으로 바이러스나 다른 병원체 감염이 없고 표면에 상처가 없는 씨감자를 선별하여 사용하였다. 선별된 씨감자는 12시간 동안 상온 보관 후 실험에 사용하였다.

감염에 사용된 무름병 세균인 *P. atrosepticum* 은 농촌진흥청 농업유전자원정보센터(Gene Bank)에서 분양받아 사용하였고 씨감자의 병징 발생을 위하여 NB(nutrient broth)배지에 계대 배양 후 24시간 정도 지나 세균의 활성 조건이 최상일 때 씨감자에 접종을 실시하였다. 감염된 세균의 활성도를 점검하여 최소 범위의 감염 씨감자 제작 조건을 구명하기 위해 정상 및 감염 씨감자 각각 10개씩 제작하여 1차 감염실험을 실시하였다. 제작된 1차 시료는 7일 동안 병징의 진행 상황을 관찰하는데 사용하였다. 최소 감염 범위를 검증한 후 총 160개의 건전 씨감자를 준비하여 선별 모델 개발용으로 사용하였다. 80개의 건전 씨감자는 절반으로 자른 후 아무런 처리를 하지 않은 대조군으로 사용하였으며 나머지 80개의 건전 씨

감자는 *P. atrosepticum*을 접종한 후 저장하여 병징이 유발된 후 실험에 이용하였다. 모델개발 완료 후 개발된 시스템과 모델의 온라인 성능평가를 위해 별도로 30개의 정상 씨감자와 50개의 감염 씨감자를 제작하였다. 제작된 정상 및 감염 씨감자 80개를 무작위로 온라인 선별시스템에 투입하여 선별 정확도를 평가하였다.

2.2. 세균 병원균 접종

씨감자 시료 제작 과정에서 표면에 묻어있는 세균 및 곰팡이 등에 의해 병징이 유발되거나 교차오염이 발생할 수 있으므로 Fig. 1에 나타낸 바와 같이 세척, 건조, 살균의 과정을 거친 후 무균실에서 병원균을 접종하였다. 세척은 씨감자 표면에 흙을 제거하고 NaClO 200배 희석액에 20분간 침지시킨 후 다시 멸균수로 세척하였다. 그 후 무균실에서 표면에 존재하는 수분을 건조시키고 UV램프를 조사하여 2시간동안 표면을 살균 처리하였다[11]. 감염 씨감자의 제작은 화염 소독된 칼을 이용하여 절반으로 절단한 후 내부의 병징 유무를 확인한 후 절단된 중심부위에 미세한 상처를 입히고 *P. atrosepticum*을 20 μ L을 접종하

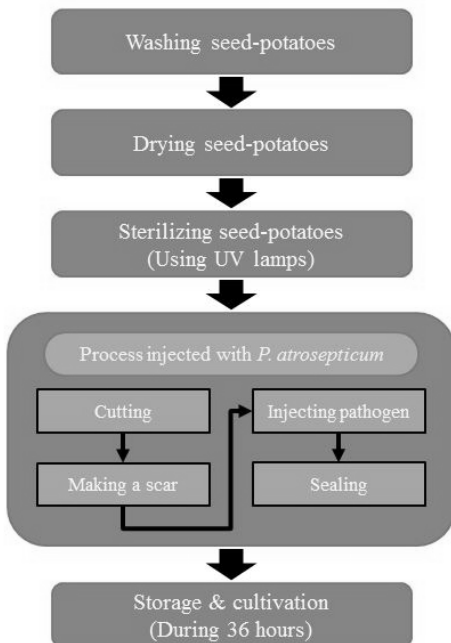


Fig. 1 Flow chart for preprocessing and injection of seed potatoes

는 방식으로 하였다. 접종된 씨감자는 원래의 씨감자 형태로 접합하고 36시간동안 배양 및 저장한 후 온라인 선별시스템을 통해 투과스펙트럼을 측정하고 PLS-DA 모델 개발을 실시하였다.

2.3. 온라인용 투과식 분광분석장치 구축

온라인 시스템에 사용될 분광분석장치는 Fig. 2에 나타낸 바와 같이 분광획득장치인 가시광 근적외선 스펙트로스코피(USB4000, Ocean Optics Inc., USA), 광케이블(QP1000-2-VIS-NIR, Ocean Optics Inc., USA), 광원가이드(GS4-1000F, Seokwang Optical Co., LTD, Korea), 할로겐램프(LS-F100HS-IR, Seokwang Optical Co., LTD, Korea), 광원세기 조절장치(distributor, RC232C-10C-USB, Seokwang Optical Co., LTD, Korea)를 이용하였다. 광원은 Fig. 3(c)에 나타낸 바와 같이 광원프레임을 구성하여 씨감자 위에서 10 cm 거리가 되도록 광원가이드를 구성하여 씨감자가 이송컵에 담겨 지나갈 때 전체적인 표면을 고르게 조사할 수 있도록 설치하였다.

Fig. 2에 나타낸 distributor는 할로겐램프의 광원세기를 조절하는 장치로 본 연구에서 사용한 4개의 할로겐램프의 광세기를 동일하게 제어하기 위한 장치이다. 할로겐램프 세기는 최대값의 60%로 설정하여 사용하였다. 근접센서(proximity sensor)는 이송컵이 광케이블의 중심부에 도달할 때 무접점 릴레이(solid state relay, SSR)가 작동하

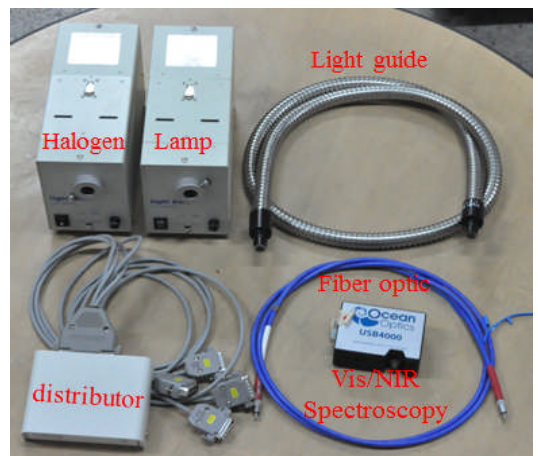


Fig. 2 Components of a prototype for nondestructive spectral measurements of seed potatoes

여 스펙트럼 신호를 프로그램에 저장할 수 있도록 프로그램화 하였다. 즉, 할로겐램프의 중심부에 씨감자가 담긴 이송컵이 지나갈 때 씨감자에 투과된 광스펙트럼이 스펙트로스코피로 측정되도록 구성하였다. 획득한 스펙트럼 데이터는 400 ~ 1100 nm 영역을 0.2 nm 간격으로 샘플링 한 총 3648개의 데이터로 구성되었다.

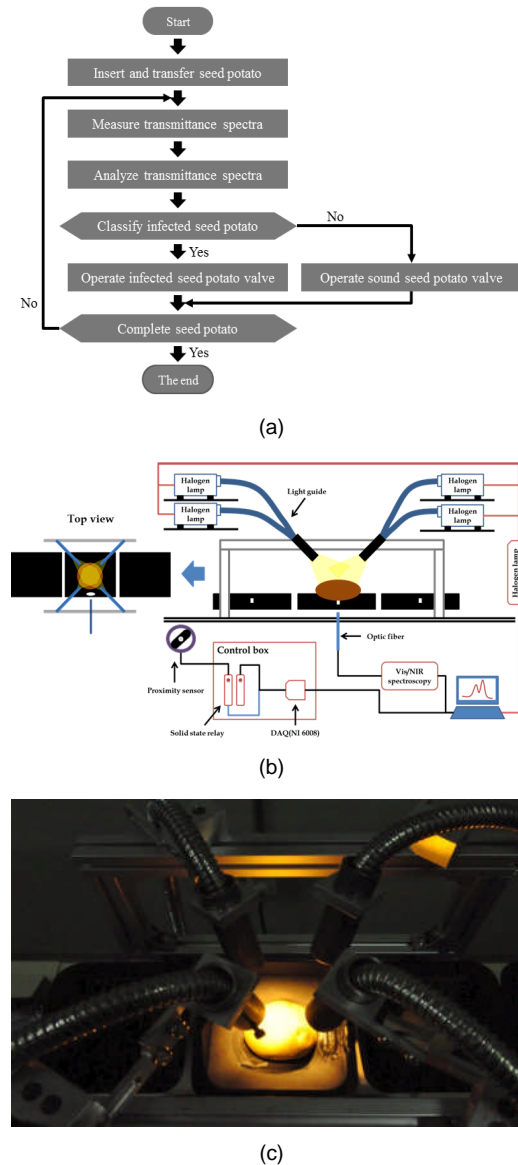


Fig. 3 The developed sorting machine for seed potatoes, (a) flowchart of the sorting machine operation, (b) schematic diagram of the sorting machine operation, (c) nondestructive spectral measurement part

분광분석장치는 온라인 분광분석시스템 개발에 사용하는 것이 목적이므로 온라인 선별 시 구현해야 하는 성능요건을 정하고 이에 맞추어 작동하도록 구성해야 한다. 온라인 선별 시 씨감자 이송컵당 측정에 소요되는 시간이 약 0.45s 간격이므로 온라인 선별장치는 0.45s 이내에 스펙트럼을 획득하고 연산하는 모든 과정을 수행해야 한다. 따라서 분광획득장치의 노출시간(integration time)은 안정적으로 스펙트럼을 획득할 수 있는 최단시간인 30 ms로 설정하였다.

감염 씨감자 온라인 비파괴 선별에 필요한 시스템은 Fig. 3(a)의 구동 프로그램 순서도와 Fig. 3(b)에 나타낸 바와 같이 전체 모식도로 나타내었다. Fig. 3(c)는 실제 온라인 작동중인 씨감자의 스펙트럼 획득 장면이며 4개의 광을 조사하여 이송컵 옆면에서 투과된 스펙트럼을 받는 모습이다. Fig. 3(d)는 스펙트럼 획득과 이송컵 제어를 위한 제어장치를 나타낸 것이다.

온라인 선별시스템은 반자동 투입 방식으로 작업자의 편의성을 고려하여 플라스틱 혹은 박스 단위로 적재한 후 작은 힘으로 씨감자를 투입부의 높은 위치로 옮길 수 있도록 하였으며 쏟아진 씨감자는 계단식으로 배열된 롤러에 올려놓을 수 있도록 하였다. 올려놓은 씨감자는 투입부를 지나 이송컵으로 옮겨지게 되고 이송컵이 지나가는 라인에 분광분석시스템이 구축되어 스펙트럼 획득이 가능하도록 하였다. 이 후 이송컵 아래의 위치한 두 개의 솔레노이드 밸브가 있어 감염 씨감자와 정상 씨감자를 분류할 수 있도록 구축하였다.

2.4. 감염 씨감자 판별을 위한 예측모델 개발 및 성능 평가

조사된 광이 시료 내부를 투과하여 획득된 스펙트럼은 측정과정에서 예측하기 어려운 광 산란, 광 경로의 변화, 주변의 환경 변화 등에 의해 영향을 받게 된다. 따라서 시료의 특성을 최대한 반영하고 기기 및 환경의 영향을 최소화하기 위해서는 스펙트럼에 대한 전처리 기법을 사용해야 된다[12,13]. 본 연구에서는 다양한 전처리 기법 중 이동평균기법(moving average)과 평균, 최대, 범위의 값을 이용한 정규화법(normalization)을 이용하였다(식1-3). 전처리 과정을 거친 스펙트럼

데이터는 PLS-DA (partial least square discriminant analysis) 기법을 사용하여 정상군과 감염군을 구분하도록 모델링하였다.

2.4.1. 이동평균기법

$$\bar{A}_i = \frac{1}{2m+1} \sum_{j=-m}^m A[i+j] \quad (1)$$

where,

\bar{A}_i : i^{th} mean intensity of spectrum

m : segment size

2.4.2. 평균값을 이용한 정규화

$$A'_i = \frac{A_i}{A_{mean}} \quad (2)$$

where,

A'_i : i^{th} intensity normalized by mean

A_i : i^{th} intensity of spectrum

A_{mean} : mean of i^{th} intensity of the entire spectra

2.4.3. 최대값을 이용한 정규화

$$A'_i = \frac{A_i}{A_{max}} \quad (3)$$

where,

A'_i : i^{th} intensity normalized by maximum

A_i : i^{th} intensity of spectrum

A_{max} : maximum of i^{th} intensity of the entire spectra

2.4.4. 일정 범위를 이용한 정규화

$$A'_i = \frac{A_i}{A_{max} - A_{min}} \quad (4)$$

where,

A'_i : i^{th} intensity normalized by range

A_i : i^{th} intensity of spectrum

A_{max} : maximum of i^{th} intensity of spectrum

A_{min} : minimum of i^{th} intensity of spectrum

PLS-DA와 PLS는 동일한 분석방법이지만 PLS의 경우는 스펙트럼과 종속변수(independent variables)인 실제 측정된 값과의 관계를 회귀모델로 개발하고 예측하는 반면 PLS-DA의 경우 종속변수를 임의의 변수(dummy variables)로 지정하여 회귀모델을 개발하고 예측한다는 차이가 있다 [17-20]. 본 연구에서는 정상 씨감자로부터 감염 씨감자를 판별하기 위하여 정상 씨감자의 종속변수를 임의의 값 "0"으로 지정하고 감염된 씨감자의 종속변수는 "1"로 지정하여 사용하였다. 예측된 값은 문턱값인 0.5를 기준으로 정상 씨감자와 감염 씨감자로 나뉘게 된다. PLS-DA 모델은 Matlab(V.7.04, Mathworks Inc, USA)을 사용하여 개발하였다.

PLS-DA를 통해 개발된 판별모델로 연산하여 예측값을 얻기 위해서는 스펙트럼을 하나의 예측값으로 나타내기 위한 선형결합의 계수값이 필요하다. 예측값을 계산하기 위한 계수는 스펙트럼 값들에 결합이 되는 선형계수를 β -coefficient와 상수 β_0 로 구성된다. 예측값은 상수와 획득한 씨감자 스펙트럼의 벡터와 β -coefficient 벡터의 내적으로 표현되며 도출된 예측값을 이용하여 정상 및 감염 씨감자가 판별되어진다. 개발된 모델에서 β_0 와 β -coefficient를 구하여 온라인 선별시스템에 적용하였다. 우수한 모델의 평가기준은 예측된 결정계수가 높고 SEC(standard error of calibration)와 SECV(standard error of cross validation) 값이 낮은 모델을 우수한 모델로 선정하였다. 또한 PLS-DA 알고리즘은 앞서 설명한 바와 같이 스펙트럼으로 감염 여부를 가장 잘 설명할 수 있는 선형계수인 β -coefficient를 찾는 것으로 cross-validation을 이용하여 실측값과 예측된 값의 오차가 최소가 될 때까지 반복하여 β -coefficient를 구하게 된다. 오차가 낮은 모델을 선정하는데 필요한 잠재변수를 principle component(PC)라고 한다. PC 수가 많아질수록 오차가 0에 가까워지게 되지만 개발된 PLS-DA 모델이 과도한 변수 사용으로 불안정한 모델이 될 수 있으므로 정확도를 유지하면서 최소한의 PC 수가 이용되도록 모델을 개발하여야 한다[22].

3. 실험결과 및 고찰

3.1. 병원성 세균의 감염 고찰

감염 씨감자의 판별을 위해 씨감자를 인공적으로 감염시키고 감염 진행 정도를 확인하였다. 접종에 사용된 *P. atrosepticum* 세균은 희석 후 셀카운트로 확인한 결과 1×10^8 cfu/mL이었다. 이 병원균을 20 μ L, 50 μ L의 양으로 접종하여 1-7일 동안 매일 같은 시간에 감염 진행 정도를 측정하였다(Fig. 4). 실험 결과 20 μ L의 경우 1일차에서는 접종된 흔적만 나타났으며 2일차부터 갈색의 변화가 관찰되었다. 50 μ L의 경우 접종 1일 후 20 μ L의 경우보다 넓은 범위의 병징이 관찰되었다. 따라서 씨감자에 병징의 차등을 발생시킬 수 있는 접종량은 20 μ L이며 배양 기간은 1일과 2일 사이인 36시간 정도에 최초 감염 증상이 나타나는 것을 확인할 수 있었다. 또한 인위적으로 제작된 감염 씨감자는 전 등[14]의 연구에서 나타낸 병징의 증상과 유사하였으며 자연적으로 감염된 *P. atrosepticum*의 병징과 거의 유사하였다[15].

3.2. 정상 및 감염 씨감자 투과스펙트럼 분석

정상 씨감자와 감염 씨감자에서 각각 80개씩 획득한 투과스펙트럼을 Fig. 5에 나타내었다. 씨감자의 형상에 따른 스펙트럼의 세기값에 차이가

발생되는 것을 확인할 수 있었다. 또한 씨감자의 투과스펙트럼은 600-950 nm 사이에서 주요한 변화들이 관찰되었는데, 특히 700 nm, 750 nm, 820 nm에서 정상과 감염 씨감자의 뚜렷한 차이가 발생하였다. Chen 등[8]의 연구에서 감자의 흡수스펙트럼은 760 nm에서 수분에 의해 발생하는 것으로 보고되었는데 본 연구에서도 750 nm 근처에서 유사한 흡수현상이 관찰되었다. 또한 ElMarsy 등[21]의 연구에서와 같이 820 nm의 근적외선 흡수는 당과 수분에 의한 것이라는 보고가 있었는데 씨감자 스펙트럼에서도 820 ~ 840 nm 영역에서 유사한 피크가 확인되었다.

정상 씨감자와 감염 씨감자의 각각의 스펙트럼 형상을 비교해본 결과 정상 씨감자의 700 nm 파장 영역의 광세기는 820 nm 영역보다 상대적으로 높게 나타나는 반면 감염 씨감자의 경우 700 nm와 820 nm 파장영역의 피크가 유사하게 나타나 정상 씨감자와 감염 씨감자의 스펙트럼 패턴이 차이가 나타남을 확인할 수 있었다. 이는 Vanoli 등[16]의 연구에서 보고된 것과 같이 정상 씨감자와 내부의 갈색 반점이 있는 감염감자의 흡광도 차이가 690 nm 영역에서 발생한다는 결과와 유사하게 나타났다. Fig. 6은 정상 및 감염 씨감자의 평균 스펙트럼을 나타낸 것인데 두 그룹의 스펙트럼 차이가 확연히 나타나고 있음을 확인할 수 있다.

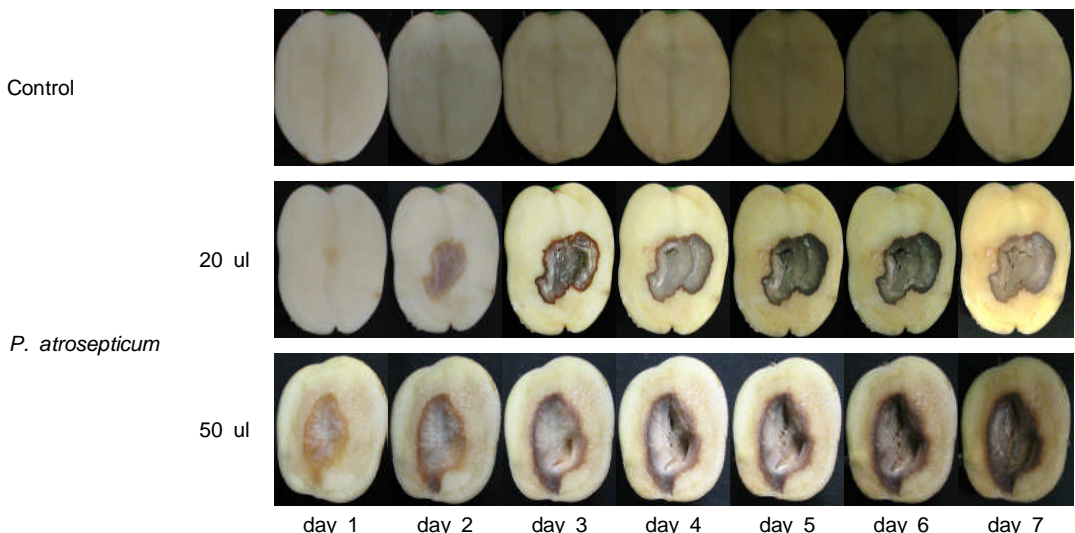
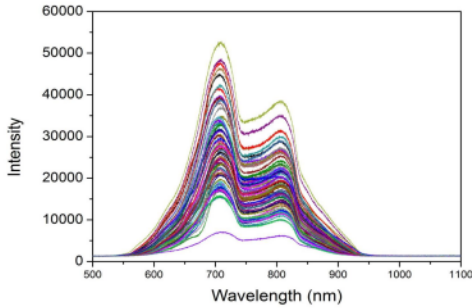
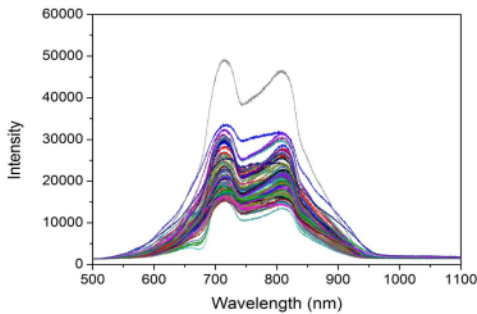


Fig. 4 Sound and *P. atrosepticum* infected seed potatoes during 7 days



(a)



(b)

Fig. 5 Original transmittance spectra of (a) sound and (b) infected seed potatoes, respectively

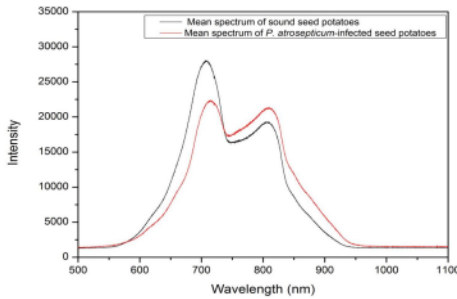


Fig. 6 Transmittance mean spectra of sound and infected seed potatoes

3.3. 감염 씨감자 선별 시스템을 위한 PLS-DA 모델 개발

정상 씨감자와 감염 씨감자로 획득한 스펙트럼의 모델 개발 및 검증에 위하여 160개의 스펙트럼 데이터를 8:2의 비율로 나누어 모델 개발과 검증을 실시하였다. 즉, 총 128개의 데이터를 PLS-DA 모델 개발에 사용하였고 32개의 데이터를 개발된 모델의 검증에 사용하였다.

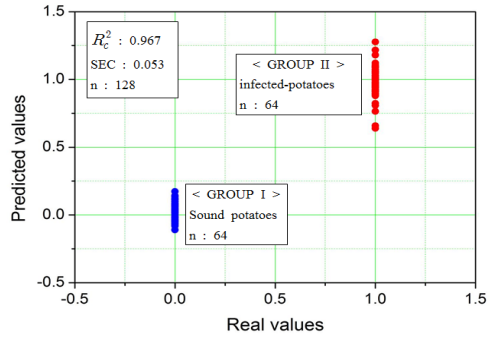


Fig. 7 Results of PLS-DA calibration model for the classification of sound and infected seed potatoes

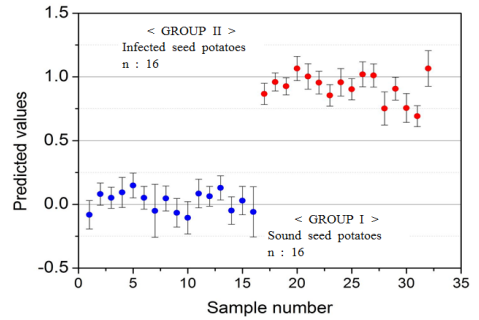


Fig. 8 Prediction results with the best model of PLS-DA for the classification of sound and infected seed potatoes

Table 1은 정상 씨감자와 감염 씨감자의 판별을 위한 PLS-DA 모델의 결과이다. 결정계수는 모든 전처리에서 0.9 이상인 것이 확인되었다. 가장 높은 결정계수는 아무런 전처리를 하지 않은 스펙트럼으로 개발된 모델이 0.989로 가장 높게 확인되었다. 그러나 우수 모델 판정 기준을 고려해볼 때 이동평균을 이용한 평활화 전처리에서 가장 낮은 오차를 보여 가장 적합한 모델임이 확인되었다. 이때 개발된 모델(calibration)의 결정계수는 0.967이며 모델개발표준오차(standard error of calibration, SEC)는 0.091이었다. 검증(validation)의 결정계수는 0.943이고 검증표준오차(standard error of validation, SEV)는 0.121이었다. 정상 및 감염의 판별 정확도는 모든 모델에서 99% 이상(100%)의 정확도를 보였다. Fig. 7은 가장 우수한 모델의 개발 결과를 그래프로 나타낸 것이다. 정상 및 감염 씨감자가 0.5값 위아래로 뚜렷이

Table 1 Calibration results of the sound and infected seed potatoes using PLS-DA models with several preprocessing

Preprocessing	PC no.	Calibration		Validation		Accuracy (%)		
		R_c^2	SEC	R_v^2	SEV	Sound	Infection	
Raw	10	0.989	0.053	0.938	0.125	100	100	
Moving average smoothing	10	0.967	0.091	0.943	0.121	100	100	
Normalization	Mean	10	0.958	0.103	0.913	0.149	100	100
	Range	11	0.959	0.101	0.920	0.143	100	100

R_c^2 : coefficient of determination for calibration

R_v^2 : coefficient of determination for validation

SEC : standard error of calibration

SEV : standard error of validation

PC no. : principle component number

Table 2 Predicted results of sound and infected seed potatoes using PLS-DA models with several preprocessing

Preprocessing	Prediction		Accuracy (%)		
	R_p^2	SEP	Sound	Infection	
Raw	0.948	0.111	100	100	
Moving average smoothing	0.950	0.109	100	100	
Normalization	Mean	0.907	0.151	100	100
	Range	0.915	0.148	100	100

R_p^2 : coefficient of determination of prediction

SEP : standard error of prediction

구분이 되는 것을 확인할 수 있다.

Table 2는 전처리별 모델을 검증한 결과인데 이동평균을 이용한 평활화 전처리에서 0.950의 결정계수와 0.109의 예측표준오차(Standard error of prediction, SEP)가 확인되었다. 이때 판별 정확도는 정상 및 감염 씨감자 모두 99% 이상(100%)으로 판별되었다. Fig. 8은 이동평균을 이용한 평활화 전처리의 스펙트럼으로 개발된 모델의 예측 결과를 나타내었으며 모델개발의 경우와 마찬가지로 정상과 감염 씨감자의 판별값이 뚜렷이 구분되는 것을 확인할 수 있다.

3.4. 온라인 시스템에서의 선별성능 평가

앞에서 개발된 가장 우수한 모델을 실제 온라인 선별 시스템에 적용하여 씨감자에서 획득된 스펙트럼의 전처리와 판별값의 계산이 자동적으로 수행되도록 프로그램을 구성하였다. PLS-DA

를 통해 개발된 판별모델로 연산하여 예측값을 얻기 위해서는 개별 스펙트럼과 크기가 동일한 계수값이 필요하다. PLS-DA 모델에서 얻어진 계수를 β -coefficient라 한다. 정상 및 감염 씨감자를 구분하는 예측값은 획득한 씨감자 스펙트럼과 β -coefficient 값이 내적으로 계산된 후 일정한 상수값(β_0)과 더해져 산출된다(식 5). Fig. 9는 Table 1의 이동평균을 이용한 평활화 전처리 모델의 β -coefficient 값의 그래프이다. β -coefficient 값의 절대값이 클수록 해당 파장이 모델개발에 기여도가 크게 되는데 중간영역 중 700 nm와 820 nm 등이 큰 값을 보이고 있음을 확인할 수 있다.

개발된 모델로 온라인 시스템의 선별성능을 평가하기 위하여 정상과 감염 씨감자를 무작위로 투입부에 넣고 장치를 가동하였다. 온라인 선별이 완료된 후 정상 및 감염 씨감자를 분석하고 확인한 결과를 Fig. 10에 나타내었다. 각각의 정

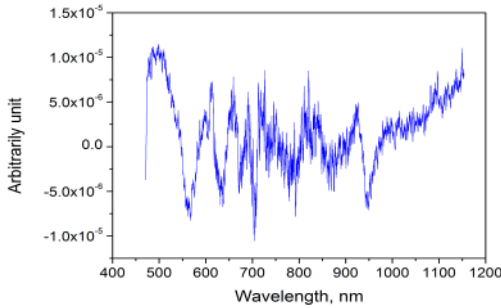


Fig. 9 Beta coefficient of the developed PLS-DA model

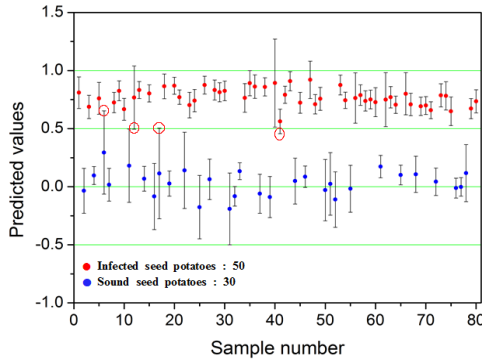


Fig. 10 Classification result of sound and infected potatoes using the online sorting system

상 및 감염 씨감자는 정확하게 두 그룹으로 분류되었다. 일부 에러값의 범위가 선별 문턱값을 초과하는 경우가 있었지만 이는 씨감자 내부에서의 병징의 크기와 위치에 변이가 발생되었기 때문으로 판단된다.

$$\hat{Y} = \beta_i \times X_i^n + \beta_0 \quad (5)$$

where,

i : spectral number

\hat{Y} : predicted result (0 : sound seed potato, 1 : infected seed potato)

β_i : β -coefficient calculated by PLS-DA model

X_i^n : each sample spectrum

β_0 : constant

4. 결론

본 연구에서는 현장에서 감염 씨감자의 비파괴

신속진단을 수행할 수 있는 온라인 선별 시스템 개발을 목표로 시스템을 설계 및 제작하고 선별에 필요한 통계적 모델을 PLS-DA 방법을 통해 개발하고 그 성능을 검증하였다. 대표적인 씨감자 감염 병원균인 무름병 원인균인 *P. atrosepticum*을 이용하여 감염 씨감자를 제작하여 실험에 사용하였다. 총 160개의 정상 및 감염 씨감자 선별을 위해 개발된 모델은 0.934의 결정계수와 0.121의 오차를 나타내었다. 판별 정확도는 정상 및 감염 씨감자 모두 99% 이상이었다.

온라인 선별 시스템의 성능을 평가를 수행하기 위해 정상 씨감자와 감염 씨감자를 구분이 되지 않게 제작하여 무작위로 투입부에 넣고 분석을 실시한 결과에서 정상 씨감자 30개와 감염 씨감자 50개 모두가 99% 이상의 정확도로 선별되었다. 개발된 감염 씨감자 선별 시스템은 신속하게 비파괴 측정 및 전수조사가 가능하여 농업현장에서 부족한 인력을 대체할 수 있을 뿐 아니라 병원균의 감염을 사전에 차단하므로 전염에 의한 경제적인 손실을 최소화하며, 이로 인한 안정적인 씨감자의 공급과 농가의 소득 보전에 기여할 수 있을 것으로 판단된다.

후 기

본 연구는 농림축산식품부 기술사업화지원 사업의 일부지원과 농림축산식품부 첨단생산기술개발사업의 일부지원에 의해 이루어진 것임.

참고문헌

- [1] L. Mattinen, R. Nissinen, T. Riipi, N. Kalkkinen and M. Pirhonen, "Host-extract induced changes in the secretome of the plant pathogenic bacterium *Pectobacterium*," *Proteomics*, Vol. 7, No. 19, pp. 3527-3537 (2007)
- [2] Y. I. Hahm, M. Kwon, J. S. Kim, H. W. Seo and J. H. Ahn, "Surveys on disease occurrence in major horticultural crops in Kangwon alpine areas," *Korean J. Plant Pathol.*, Vol. 14, No. 6, pp. 668-675 (1998)
- [3] C. H. Kim and Y. K. Kim, "Present status of soilborne disease incidence and scheme for its integrated management in Korea," *Pes. Plant*

- Dis.*, Vol. 8, No. 3, pp. 146-161 (2002)
- [4] D. Y. Kim, B. K. Cho and Y. S. Lee, "Development of non-destructive measurement method for discriminating disease-infected seed potato using visible / near-infrared reflectance technique," *CNU Journal of Agricultural Science*, Vol. 39, No. 1, pp. 117-123 (2012)
- [5] D. Y. Kim, B. K. Cho, C. Y. Mo and Y. S. Kim, "Study on prediction on internal quality of cherry tomato using Vis/NIR spectroscopy," *J. of Biosystems Eng.*, Vol. 35, No. 6, pp. 450-457 (2010)
- [6] J. G. Lim, S. W. Kang, K. J. Lee, C. Y. Mo and J. Y. Son, "Identification of foreign objects in soybeans using near-infrared spectroscopy," *Food Engineering Progress*, Vol. 15, No. 2, pp. 136-142 (2011)
- [7] L. Xie, Y. Ying and T. Ying, "Combination and comparison of chemometrics methods for identification of transgenic tomatoes using visible and near-infrared diffuse transmittance technique," *Journal of Food Engineering*, Vol. 82, pp. 395-401 (2007)
- [8] J. Y. Chen, H. Zhang, Y. Miao and R. Matsunaga, "NIR measurement of specific gravity of potato," *Food Sci. Technol. Res.*, Vol. 11, No. 1, pp. 26-31 (2005)
- [9] H. G. Ahn and Y. H. Kim, "Discrimination of Korean domestic and foreign soybeans using near infrared reflectance spectroscopy," *Korean J. Crop Sci.*, Vol. 57, No. 3, pp. 296-300 (2012)
- [10] D. Alexandrakis, G. Downey and A. G. M. Scannell, "Detection and identification of bacteria in an isolated system with near-infrared spectroscopy and multivariate analysis," *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 56, No. 10, pp. 3431-3437 (2008)
- [11] M. Cho, W. D. Jeong and J. Y. Yoon, "Application of UV technology for surface disinfection," *J. of KSEE*, Vol. 29, No. 9, pp. 1020-1026 (2007)
- [12] D. S. Ryu, I. G. Hwang and S. H. Noh, "Pre-processing techniques on VIS/NIR spectral data for non-destructive quality evaluation of fruits," *Proceedings of the Korean Society Agricultural Machinery 2000 Winter Conference*, Vol. 5, No. 1, pp. 451-456 (2000)
- [13] S. Lohumi, C. Y. Mo, J. S. Kang, S. J. Hong and B. K. Cho, "Nondestructive evaluation for the viability of watermelon (*Citrus lanatus*) seeds using Fourier transform near infrared spectroscopy," *J. of Biosystems Eng.*, Vol. 38, No. 4, pp. 312-317 (2013)
- [14] H. J. Chun, H. C. Park, Y. M. Goo, T. W. Kim, K. S. Cho, H. S. Cho, D. J. Yun, W. S. Chung and S. W. Lee, "AtCBP63, a arabidopsis calmodulin-binding protein 63, enhances disease resistance against soft rot disease in potato," *J. Plant Biotechnol.*, Vol. 38, pp. 62-68 (2011)
- [15] S. C. Bae, Y. S. Yeo, S. G. Heu, D. J. Hwang, M. O. Byun and S. J. Go, "Tolerance to potato soft rot disease in transgenic potato expressing a soybean ferritin gene," *Korean J. Plant Biotechnology*, Vol. 29, No. 4, pp. 229-233 (2002)
- [16] M. Vanoli, A. Rizzolo, L. Spinelli, B. Parisi and A. Torricelli, "Nondestructive detection of internal brown spot in potato tubers by time-resolved reflectance spectroscopy: preliminary results on a susceptible cultivar," *International Conference of Agricultural Engineering*, Valencia, Spain, (2012)
- [17] J. G. Lim, S. W. Kang, K. J. Lee, C. Y. Mo and J. Y. Son, "Identification of foreign objects in soybeans using near-infrared spectroscopy," *Food Engineering Progress*, Vol. 15, No. 2, pp. 136-142 (2011)
- [18] T. K. Min and W. S. Kang, "Nondestructive classification of viable and nonviable radish (*Raphanus sativus* L.) seeds using single seed near infrared spectroscopy," *Hort. Environ. Biotechnol.*, Vol. 49, No. 1, pp. 42-46 (2008)
- [19] Y. A. Woo, H. J. Kim and H. I. Chung, "Classification of cultivation area of ginseng radix with NIR and Raman spectroscopy," *Analyst*, Vol. 124, pp. 1223-1226 (1999)
- [20] D. Alexandrakis, G. Downey and A. G. M.

- Scannell, "Detection and identification of bacteria in an isolated system with near-infrared spectroscopy and multivariate analysis," *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 56, pp. 3431-3437 (2008)
- [21] G. ElMasry, N. Wang, C. Vigneault, J. Qiao and A. ElSayed, "Early detection of apple bruises on different background colors using hyperspectral imaging," *LWT-Food Science and Technology*, Vol. 41, pp. 337-345 (2008)
- [22] Y. Shao, Y. He, A. H. Gomez, A. G. Pereir, Z. Qiu and Y. Zhang, "Visible/near infrared spectrometric technique for nondestructive assessment of tomato 'heatwave' (*lycopersicon esculentum*) quality characteristics," *J. Food Eng.*, Vol. 81, No. 4, pp. 672-678 (2007)