

초분광 영상기술을 이용한 수박종자 발아여부 비파괴 선별기술 개발

Development of Non-Destructive Sorting Technique for Viability of Watermelon Seed by Using Hyperspectral Image Processing

배형진*, 서영욱*, 김대용**, Santosh Lohumi*, 박은수*, 조병관*[†]

Hyungjin Bae*, Young-Wook Seo*, Dae-Yong Kim**, Santosh Lohumi*, Eunsoo Park* and
Byoung-Kwan Cho*[†]

초 록 본 연구에서는 발아여부를 고속·대량으로 측정 가능한 초분광 영상 시스템 기반의 비파괴 선별기술을 개발하고자 하였다. 수박의 건전종자 96립과 퇴화종자 96립을 초분광 단파적외선 시스템을 이용하여 측정하였으며, 종자발아검증은 국제종자검정협회(ISTA)규정에 맞추어 5~14일 동안 25℃에서 BP(between paper)법을 이용하여 실시하였다. 스펙트럼 데이터는 초분광 영상 시스템을 이용하여 데이터를 획득하였으며, 종자판별모델 개발에는 PLS-DA(partial least square - discriminant analysis)를 적용하였다. PLS-DA분석법을 이용한 종자의 발아여부 판별 결과는 mean normalization을 이용하여 데이터 전처리를 이용할 경우가 가장 우수했으며, calibration의 경우 94.7%의 분류 정확도를 보였으며, validation의 경우 84.2%의 분류 정확도를 나타내어 평균적으로 90.8%의 정확도를 보였다. 이러한 결과는 종자가 퇴화하면서 야기되는 구성성분물질의 차이로 인한 것으로 사료되며, 두 그룹의 분류에 주요한 영향을 끼친 요인의 파악 및 적용을 통해 종자선별기의 개발이 가능함을 보였다.

주요용어: 수박종자, 종자 발아율, 부분최소자승판별분석, 초분광 영상시스템

Abstract Seed viability is one of the most important parameters that is directly related with seed germination performance and seedling emergence. In this study, a hyperspectral imaging (HSI) system having a range of 1000 - 2500 nm was used to classify viable watermelon seeds from nonviable seeds. In order to obtain nonviable watermelon seeds, a total of 96 seeds were artificially aged by immersing the seeds in hot water (25°C) for 15 days. Further, hyperspectral images for 192 seeds (96 normal and 96 aged) were acquired using the developed HSI system. A germination test was performed for all the 192 seeds in order to confirm their viability. Spectral data from the hyperspectral images of the seeds were extracted by selecting pixels from the region of interest. Each seed spectrum was averaged and preprocessed to develop a classification model of partial least square discriminant analysis (PLS-DA). The developed PLS-DA model showed a classification accuracy of 94.7% for the calibration set, and 84.2% for the validation set. The results demonstrate that the proposed technique can classify viable and nonviable watermelon seeds with a reasonable accuracy, and can be further converted into an online sorting system for rapid and nondestructive classification of watermelon seeds with regard to viability.

Keywords: Watermelon Seed, Seed Viability, Partial Least Square Discriminant Analysis (PLS-DA), Hyperspectral Imaging System

[Received: November 26, 2015, Revised: January 16, 2016, Accepted: January 20, 2016] *충남대학교 바이오시스템 기계공학과, **CJ대한통운 연구소, [†]Corresponding Author: Department of Biosystems Machinery Engineering, Chungnam National University, Daejeon 34134, Korea (E-mail: chobk@cnu.ac.kr)

1. 서론

21세기 들어서 종자 산업은 국가 경쟁력의 새로운 원천으로 인식되고 있다. 최근 종자산업은 최신의 유전공학기술을 이용하여 이상기후변화에 적용할 수 있으며, 높은 생산성을 기대할 수 있는 고품질 우량종자 개발에 노력을 기울이는 등 고부가가치 산업으로 주목 받고 있다. 현재 세계 종자산업 규모는 2011년 기준으로 780억 달러로 추정되는데 이는 300억 달러 시장규모인 반도체(DRAM)보다 3.5배 이상의 규모로서 성장 잠재력을 고려할 때 향후에도 고성장이 예상된다[2]. 이러한 고부가·고성장이 예상되는 종자산업의 경쟁력 제고를 위해 고품질 종자를 선별할 수 있는 관련 연구 및 개발이 중요한 실정이다. 일반적으로 종자는 저장 상태나 환경에 따라 활력감소 속도를 지연시킬 수 있으나[3], 저장기간이 지난 종자는 폐기처분 하고 있어 손실이 따르며, 저장기간이 지나지 않더라도 저 활력의 종자가 유통되는 경우 농민들의 막대한 경제적 피해로 이어지게 된다. 따라서 활력도가 좋은 우수한 품질의 종자를 선별할 수 있는 기술의 개발이 시급한 실정이다.

고품질 종자의 선별 방법에는 비중선[4]을 이용하거나, tetrasodium test[5,6]와 같은 화학적 선별, 염수를 이용하는 침습적 비중 선별, 성분조사를 위한 파괴적 측정 및 종자의 크기나 무게별로 선별하는 물리적 방법[7] 등이 기존의 종자정선 방법으로 이용되어 왔다. 하지만 위의 방법들은 검사과정에 많은 시간과 노동력이 소요되고 결과를 확인하기까지 오랜 시간이 걸리며 검사자의 숙련된 기술이 필요하여 전수검사가 불가능하다는 단점이 있다. 기존 검사방법의 단점을 극복하는데 각광받고 있는 기술로는 근적외선(near-infrared, NIR) 영역을 이용한 분광분석방법을 들 수 있다. 근적외선분광분석법은 780~2500 nm의 파장 영역에서 주로 C-H, N-H, O-H 등의 작용기를 가지는 유기물질을 정량·정성 분석할 수 있어 농업뿐만 아니라 식품, 화학, 제약 등 다양한 분야에서 응용되고 있다. 특히 다변량 통계 분석법을 이용하여 농산물의 주요 화학적 정보를 스펙트럼에서 추출하는 방법으로 품질관리[8], 고품질 선별[9], 검출 기술[10] 등이 다양하게 연구되고 있다. 분광분석법은 획득한 스펙트럼의

중첩된 정보로부터 유익한 정보를 분석하기 위하여 chemometrics를 사용한다[11]. 대표적인 기법으로는 부분최소제곱 회귀 분석(partial least square regression, PLSR)이나 주성분 분석(principal component analysis, PCA)과 같은 분석 방법을 들 수 있다. 최근 연구 동향으로는 visible & NIR spectroscopy를 이용한 배추종자의 발아력 측정[12], NIR spectroscopy 이용한 무종자의 발아력 측정에 최적의 샘플수의 예측[13], NIR spectroscopy를 이용한 수박종자의 발아력 예측[14], FT-NIR과 Raman spectroscopy를 이용한 옥수수종자의 발아력 예측[15] 및 초분광 영상 시스템을 이용한 상추종자의 발아력 예측[16] 등의 채소 종자를 측정하여 퇴화된 종자를 선별하는 연구가 보고되었다.

본 연구에서는 1000~2500 nm 파장대역의 NIR 초분광 영상기술을 이용하여 건전종자를 선별할 수 있는 비파괴 판별모델을 개발하고, 개발된 모델의 정확도를 평가한다. 기존의 분광분석장치는 광섬유의 말단 부분이 좁은 탓에 한정된 부위만 측정할 수 있으며, 넓은 범위를 측정하기 위해서는 별도의 광섬유 다발을 이용하여 측정하는 반면, 본 연구에 사용된 초분광 카메라는 영상으로 획득한 시료의 모든 영역을 동시에 분광정보로 획득 및 사용이 가능하므로 정확한 측정이 어려웠던 시료의 전체 면적의 변화, 공동, 조직변화 및 미세한 물리적 손상 등의 종자활력 및 종자 품질과 관련된 요인들을 정확하고 신속하게 분석할 수 있다[17].

따라서 본 연구에서는 수박종자의 활력도를 초분광 영상 시스템을 이용해 측정하고 발아된 종자와 비발아된 종자를 판별하는 알고리즘을 다변량 분석법을 활용하여 개발 및 검증한다. 또한, 개발된 검량식과 이미지프로세싱 기술을 초분광 영상으로 획득한 종자 이미지에 적용하여 신속하고 편리한 종자 판별 결과 영상을 제시하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 공시재료

본 연구에서 공시된 재료는 수박(*Citrullus lanatus*)종자이며 현대종묘를 통해 구입한 새천년 수박 품종의 종자를 이용하였다. 총 시료는 192

개의 종자를 무작위로 선별하였으며, 건전종자 96립과 퇴화종자 96립을 실험에 사용하였다. 퇴화종자의 경우 인위적으로 퇴화처리를 하여 실험에 사용하였다.

2.2. 실험재료의 전처리과정

본 실험에 사용된 퇴화된 시료는 정상종자를 인위적으로 퇴화시킨 수박종자를 사용하였으며, 종자의 인위적인 퇴화는 국제종자검정협회(International Seed Testing Association, ISTA)의 규정에 따라 Fig. 1과 같은 방법으로 수행하였다. 첫 번째로 저온건조법을 이용하여 종자의 초기 함수율을 3반복하여 측정하였다. 저온건조법은 103 ± 2 °C 에서 17시간 동안 건조 후 측정된 수분 함수율과 비교하는 방법으로 곡물이나 종자의 수분함량을 측정 하는데 널리 사용된다. 두 번째로 수분 함수율을 20%가 되도록 증류수 첨가 및 교반작업을 실시하였다. 교반작업은 수분이 충분히 흡수되도록 3시간 동안 진행되었다. 세 번째로 진공 포장된 샘플을 50°C의 항온수조(DS 250ws, Daewon Science, Korea)에서 168시간 동안 퇴화처리 하였다. 마지막으로 20°C에서 저온건조법을 이용하여 측정되었던 초기 함수율까지 건조작업을 수행하였다. 발아력 검증의 경우 BP (between paper)법을 사용하였으며 25°C 암실에서 5일에서 14일 동안 실시하였다.

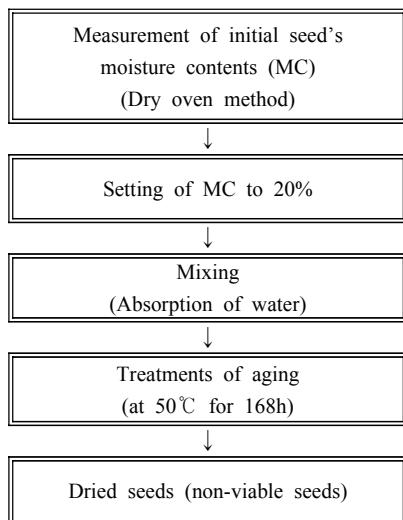


Fig. 1 Schematic diagram of treatment of seed aging

2.3. 초분광 영상 시스템

본 연구에 사용한 초분광 영상 시스템은 Fig. 2에 나타낸 바와 같이 초분광 장치와 시료이송부 분으로 나눌 수 있다. 영상획득부분은 라인스캔을 위한 슬릿(slit)과 영상획득을 위한 단파적외선 영역 (1000~2500 nm)을 측정할 수 있는 MCT (Mercury cadmium telluride sensor)센서(Xeva-2.5-320, Xenics, Belgium)와 image spectrograph가 탑재된 카메라(SWIR, Headwall photonics, Fitchburg, MA, USA)로 구성하였다. 그리고 스텝 모터로 구동되는 시료 이송부는 slide assembly, 컨트롤러 등으로 구성되어 있다. 조명은 최대 100 W이며 광량 조절이 가능한 할로겐램프(JCR12V-100WB, USHIO)를 사용하였다. 시료 이송부에 올려진 샘플은 스텝 모터를 통해 일정한 간격으로 이송되며, 이때 영상은 25 μ m slit을 통과하면서 라인스캔방식으로 spectrograph에 의해 각 파장별 분광이 생성되며 분광정보는 카메라 센서에 의해 이미지로 저장된다.

본 연구에서는 초분광 영상 획득 시스템의 노출시간(exposure time)을 10.0 ms로 하였고 스텝모터를 이용하여 0.1 mm 간격으로 1100 mm 를 이용하며 320 × 1100 픽셀의 해상도로 수박종자의 초분광 반사 영상을 획득하였다.

초분광 영상 획득의 경우 비주얼베이직(Visual Basic 6.0)으로 개발된 구동 프로그램을 사용하였으며 퇴화종자의 데이터 분석 및 검출 알고리즘은 MATLAB(version 7.0.4, The Mathworks, Natick, MA, USA)을 이용하여 개발하였다.

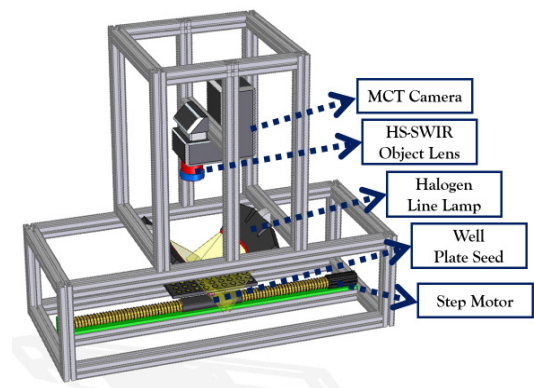


Fig. 2 Schematic diagram of SWIR hyperspectral imaging system

2.4. 수박종자의 퇴화종자 검출을 위한 PLS-DA 모델 개발

건진종자 96립과 퇴화종자 96립을 이용, 총 192립의 수박종자를 초분광 영상 시스템을 이용하여 측정하였다. 초분광 영상으로 획득한 각각의 종자로부터 전체 픽셀에 해당하는 스펙트럼을 획득 후 분석에는 종자 1립당 하나의 평균스펙트럼으로 나타내었다. 건진종자 중 20립은 불발아하여 총 76립을 사용하였으며, 퇴화종자도 20립을 제외한 76립에서 획득한 데이터만 사용하였다. 따라서, 총데이터 152립의 약 70% (N=114)는 모델을 개발하는데 사용하였고, 30% (N=38)는 모델을 검증하는데 활용하였다. 또한, 제안된 PLS-DA 모델을 이용하여 퇴화종자의 분리를 이미지에서 상에서 도시하기 위하여 별도의 건진종자 96립과 퇴화종자 96립을 이용하여 초분광 데이터를 획득하여 사용하였다.

측정된 스펙트럼은 다양한 전처리 방법을 활용하여 여러 환경적인 요인을 최소화한 후 모델을 개발하고, 개발된 모델의 결과를 비교하여 전처리에 따른 모델 성능을 확인하였다.

전처리 방법에는 일반적으로 평활화(smoothing), 정규화(normalization), MSC (multiplicative scattering correction), SNV (standard normal variate), Savitzky-Golay법 등이 있다. 본 실험에서는 기기 자체 혹은 실험 환경에 기인하여 발생한 노이즈를 제거하는 방법으로 평활화 기법을 사용하였으며, 스펙트럼의 편차를 줄이기 위해서 정규화 방법을 사용하였다. 종자의 불규칙한 형상 및 크기에 의한 광산란 영향을 제거하기 위해 MSC, SNV 전처리를 실시하였다. 스펙트럼의 베이스라인의 이동을 제거하거나 미소성분의 스펙트럼 특성을 강조하기 위해 Savitzky-Golay 1차, 2차 미분법을 사용하였다.

본 연구에 사용된 분석기법은 PLS-DA를 이용하여 퇴화종자를 판별하고자 하였다. 부분최소제곱(partial least squares, PLS) 회귀 분석법은 주성분(PCA) 분석법을 보완한 방법으로 스펙트럼(독립변수) 데이터의 주성분을 구하고 그 주성분을 이용하여 회귀식을 구하는 주성분분석과는 다르게 스펙트럼뿐만 아니라 실제 측정된 종속변수 값을 동시에 고려하여 새로운 변수를 찾고 이를 이용하여 회귀식을 구하는 방법이다. 이와 같이

독립변수와 종속변수를 모두 고려하기 때문에 독립변수만을 고려하는 주성분 모델보다 더 안정적인 특징을 보인다. PLS 모델을 행렬로 표현하면 다음 식(1)과 같다.

$$\begin{aligned} X &= TP + E_X \\ Y &= UQ + E_Y \end{aligned} \quad (1)$$

여기서 변수 T와 P는 실측한 데이터 X의 scores와 loadings를 의미하며 변수 U, Q는 각각 {-1,1}을 가지는 예측치의 scores 및 loadings를 의미하며, E는 error를 의미한다. 여기서 스펙트럼 X의 score 행렬 T와 측정된 농도 Y의 score 행렬 U는 다음 식(2)와 같은 관계가 있다.

$$B = (T^T T)^{-1} T^T U \quad (2)$$

여기서 변수 B는 PLSR의 regression coefficients를, 위첨자 T는 벡터의 전치를 의미한다. PLS 분석법은 정량적 분석 외에 정성적 분석법도 활용이 되는데 대표적인 방법이 PLS-DA(partial least squares-discriminant analysis) 방법이다. 기존의 PLS 모델과는 달리 PLS-DA는 종속변수로 연속적인 값 대신 판별하고자 하는 그룹들을 가상 변수로 설정하여 이를 판별 하는 회귀모델이다. 본 연구에서는 건진종자와 퇴화종자를 판별하기 위해 PLS-DA 모델을 이용하였다. 또한 스펙트럼 X의 score 행렬 T와 측정된 농도 Y의 score 행렬 U의 관계식으로 구한 beta coefficient를 이용하여 초분광 영상에서 PLS 영상을 구성하고 이를 발아 종자와 불발아 종자를 선별하는 영상 구성에 이용하였다. PLS 영상을 구하는 식은 아래와 같다.

$$PLS_image = \sum_{i=1}^n W_i H_i + constant \quad (3)$$

여기서 변수 W_i 는 PLS의 beta coefficients를 의미하며 변수 H_i 는 전체 spectral image 중 i번째의 wavelength 이미지를 의미한다. 변수 constant는 beta coefficients constant를 의미한다.

2.5. 예측모델 선정

각 전처리에 의해 개발된 PLS-DA 예측 모델의 성능을 평가하기 위해 SEC(standard error of calibration) 및 SEP (standard error of prediction)가

작고, bias가 작으며 개발된 모델의 결정계수와 검증시료의 결정계수가 크며, 모델에 포함된 PLS factor (principal component)의 수가 작을 것을 제안하였다[18]. 본 연구에서는 전처리별로 우수한 모델을 확인하기 위하여 SEC, SEP, bias 및 검증의 결정계수를 비교 후 선정하였으며 (식 4~7), 각각의 식은 다음과 같이 표현된다.

$$SEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^m (y_i - \hat{y}_i)^2}{(m-1)}} \quad (4)$$

$$SEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^m ((y_i - \hat{y}_i) - bias)^2}{(m-1)}} \quad (5)$$

$$bias = \frac{\sum_{i=1}^m (y_i - \hat{y}_i)}{(m)} \quad (6)$$

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^m (y_{real} - y_{pred})^2}{n}} \quad (7)$$

여기서 변수 y_{real} 은 종자 발아를 실측한 결과 (real value)를 의미하며 변수 1은 viable seeds, 변수 2는 nonviable seeds 그룹으로 설정하였다. 변수 y_{pred} 는 PLS-DA model을 이용하여 예측한 결과 (prediction value)를 의미한다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 종자의 발아력 시험 결과

Table 1 Viability rate of the used watermelon seeds

Sort	Viable seed	Non-viable seed
Percent (%)	79.2% (76/96)	0% (0/96)

초분광 영상 시스템을 이용하여 수박종자의 건전종자와 퇴화종자의 측정된 후에 발아력 검증을 실시하였다. 발아력 시험의 경우 종이와 종이 사이에 치상하는 BP법을 이용하였으며 치상 후 5일 후부터 14일 후까지 종자의 발아력 시험을 진행하였다. Table 1에 나타난 바와 같이 건전종자 96립과 퇴화종자 96립을 사용하여 실험을 수행하였으며, 건전종자 96립 중 20립이 비발아 되어 79.2%의 발아율을 보였고, 퇴화 처리한 종자는 모두 발아되지 않았다.

3.2. 종자의 스펙트럼 분석 결과

건전종자 76립과 퇴화종자 76립을 초분광 영상 시스템을 이용하여 반사영상을 측정된 후 스펙트럼을 분석하였다. 사용된 영역은 전체 파장 영역(1000~2500 nm) 중 노이즈가 많이 발생하는 영역을 제거하고 1000~1980 nm 영역을 분석에 이용하였다. Fig. 3은 각각의 건전종자 및 퇴화종자의 평균 스펙트럼을 나타낸 것이며 각각의 스펙트럼은 차이가 보이는 특별한 파장을 발견하기는 어려웠다.

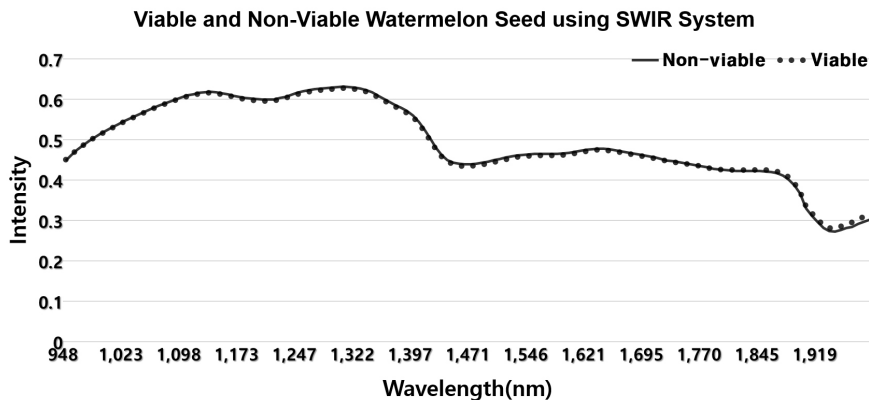


Fig. 3 Hyperspectral SWIR average spectra both of viable and non-viable watermelon samples

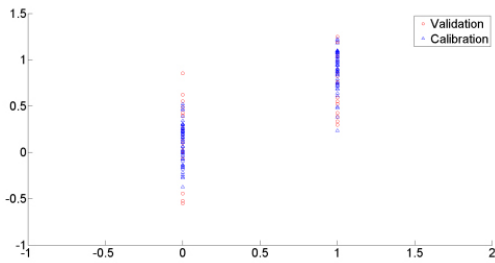


Fig. 4 Classification results of viable and non-viable watermelon seeds using PLS-DA model with mean normalization derivative preprocessing

3.3. PLS-DA을 이용한 종자 발아 판별

Fig. 4는 PLS-DA를 이용하여 분류한 수박종자 152립의 발아와 비발아 판별 여부를 분석하기 위하여 PLS-DA를 이용하였다. 분석에 사용한 스펙트럼 중 70%는 calibration 그룹으로 판별 예측 모델 개발에 사용하였고, 나머지 30%는 test 그룹으로 구성하여 개발된 모델의 검증에 활용하였다. 모델 개발 시 발아종자의 스펙트럼 그룹을 가상변수 '1'로, 비발아 종자의 스펙트럼 그룹은 가상변수 '0'로 설정하여 모델을 개발하였다. 두 그룹의 판별 기준은 중간값인 0.5를 발아여부의 문턱값으로 설정하여 판별하였다. 개발된 모델에 의한 예측 결과값이 0.5보다 높으면 발아종자, 0.5보다 낮으면 비발아 종자로 판단하였다 발아종자 스펙트럼의 예측 결과값이 1에 가깝고 비발아 종자 스펙트럼의 예측 결과값이 0에 근접할수록 판별 성능이 우수하다고 볼 수 있다.

발아종자와 비발아 종자를 판별하기 위해 제안된 최적모델의 beta coefficient를 계산하여 두 그룹의 판별에 주된 영향을 미친 영역을 확인하였다. Fig. 5는 개발된 모델의 beta coefficient를 나타낸 것이다. 이 값의 절대값이 클수록 해당 영역의 파장이 모델 개발에 영향을 많이 미친 과장으로 해석할 수 있다. 파장에 주된 영향을 끼친 영역대의 경우 1135 nm, 1374 nm, 1417 nm, 1463 nm, 1523 nm, 1669 nm 및 1717 nm 부근의 파장대가 모델 개발에 주된 영향을 미친 것으로 나타났다. 파장대가 미친 영역대의 작용기와 성분은 Table 2와 같다. 주요피크에 나타난 lignin 효소와 cellulose 및 단백질은 세포벽을 구성하는 주요한 성분으로, 종자가 퇴화되면서 발생한 세포벽의 구성성분의 변화가 스펙트럼에 반영된 것

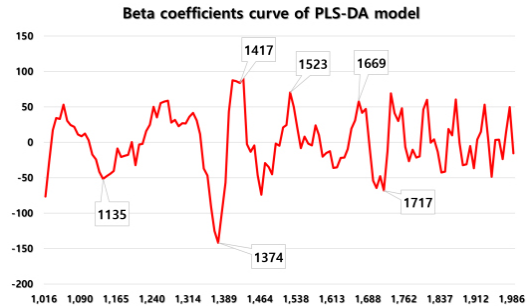


Fig. 5 Beta coefficients of the developed PLS model

Table 2 Suggested band assignments for seed samples

Region (nm)	Bond vibration	structure	Comp.	Ref.
1135	$V_1 + V_2 + V_3$ combination	H ₂ O	Water	[22]
1374	O-H stretch, 1st overtone	Primary -OH	Lignin, cellulose	[21]
1417	C-H stretch combination		Lignin	[19]
1463	C=O stretch, 3rd overtone	α - β unsat. aldehyde	Lignin	[21]
1523	N-H symmetric stretch, 1st overtone	-NH ₂	Protein	[20]
1669	C-H stretch 1st overtone		Lignin	[19]
1717	C-H anti-symmetric stretch, 1st overtone	-CH ₃	Lignin	[20]

으로 사료된다.

Table 3은 수박종자의 발아종자와 비발아 종자의 스펙트럼에 다양한 전처리를 하여 개발한 모델의 calibration 정확도 및 prediction결과를 나타내었다. 수박종자의 발아종자와 비발아 종자를 구별하는 최적의 모델로는, 3가지 정규화 방법 중 평균값을 이용한 정규화 방법으로 calibration의 경우 94%, prediction의 경우 86.8%로 가장 높은 정확도를 나타냈으며 평균 90.8% 정확도를 나타내었다. 평활화(smoothing)를 이용한 경우 평균 88.6% 정확도를 나타냈으며, 최대값을 이용한 정규화는 평균 86.8%, 일정범위를 이용한 정규화는 평균 88.6%로 나타났다. 또한 MSC 전처리에 의한 모델의 분류 정확도는 88.2% 이었으며, SNV

전처리에 의한 모델은 88.2%의 분류정확도를 보였다. Savitzky-Golay 1차 미분법을 이용한 모델의 경우 평균 89.9%의 정확도를 보였으며, Savitzky-Golay 2차 미분법을 이용한 모델은 78.6%의 정확도를 보였다.

3.4. 부분최소제곱판별분석(PLS-DA) 영상을 이용한 종자 발아 판별

수박종자의 발아여부를 개발된 PLS-DA 모델을 이용하여 영상으로 나타내는 알고리즘을 개발하였다. 퇴화종자를 검출하는 영상처리 과정은 Fig. 6에 나타낸 바와 같다. 첫 번째로 측정된 초분광 이미지 중 최적의 파장 영역을 선택하였다. 분류가중치를 나타내는 beta coefficient를 이용하여 최적파장의 이미지를 선택하였다. 두 번째로 배경을 제거한 마스크 이미지를 제작하였다. 이는 종자부분을 제외한 나머지 배경을 영상을 제거한 영상으로, 샘플의 스펙트럼 영상만을 획득한 영상이다. 세 번째로 획득한 영상에 PLS 모델의 분류가중치인 beta coefficient를 곱하여 PLS 영상을 획득하였다. 가중치가 곱해진 PLS 영상의 데이터 값은, PLS-DA 값과 마찬가지로 예측 결과값이 1에 가깝고 비발아 종자 스펙트럼의 예측 결과값이 0에 근접할수록 판별 성능이 우수하다고 볼 수 있다. 마지막으로 두 그룹의 판별 기준은 중간값인 0.5를 발아여부의 문턱값으로 설정하여 판별하였다.

Table 4는 PLS 영상처리를 이용한 전체 비발아 종자 검출 정확도를 나타낸 것이며, Fig. 7은 PLS 영상처리를 통한 결과를 나타낸 것이다. 그림에 붉은 사각형으로 마킹된 부분은 이미지 처리를 통해 오분류된 종자를 나타낸다. 영상처리 분석을 위해 발아종자와 비발아 종자를 측정시 총 192개의 종자를 측정하였으며 두 개의 plate로 96립씩 나누어 측정하였다. Fig. 7에 (a)는 전체 측정된 plate중 첫 번째 plate의 결과값으로 96립 중 79립이 정분류되어 82.3%의 정확도를 나타내었다. Fig. 7의 (b)는 두 번째 plate의 결과값을 나타낸 것으로 96립중 82립이 정분류되어 85.4%의 정확도를 나타내었다. 총 192립 중 161립이 정분류되어 83.9%의 정확도를 보였다. 본 연구에서 제안하는 실시간 이송부와 선별부로 구성된 플랫폼에 초분광 카메라를 결합함으로써 대량의 종자

Table 3 Calibration and prediction accuracy between viable and nonviable watermelon seeds

P.P*	D.D*	Class	Cor*	Inc*	Acc*
Sm*	Calibration	Healthy	50	6	89.3
		Infected	53	5	91.4
		Total	103	11	90.4
	Prediction	Healthy	17	2	89.5
		Infected	16	3	84.2
		Total	33	5	86.8
Mean*	Calibration	Healthy	52	4	92.9
		Infected	56	2	96.6
		Total	108	6	94.7
	Prediction	Healthy	17	2	89.5
		Infected	16	3	84.2
		Total	33	5	86.8
Max*	Calibration	Healthy	52	4	92.9
		Infected	56	2	96.6
		Total	108	6	94.7
	Prediction	Healthy	16	3	84.2
		Infected	14	5	73.7
		Total	30	8	78.9
Ran*	Calibration	Healthy	54	2	96.4
		Infected	55	3	94.8
		Total	109	5	95.6
	Prediction	Healthy	16	3	84.2
		Infected	15	4	78.9
		Total	31	7	81.6
MSC	Calibration	Healthy	55	1	98.2
		Infected	56	2	96.6
		Total	111	3	97.4
	Prediction	Healthy	15	4	78.9
		Infected	15	4	78.9
		Total	30	8	78.9
SNV	Calibration	Healthy	55	1	98.2
		Infected	56	2	96.6
		Total	111	3	97.4
	Prediction	Healthy	16	3	84.2
		Infected	14	5	73.7
		Total	30	8	78.9
S.G 1st	Calibration	Healthy	54	2	96.4
		Infected	55	3	94.8
		Total	109	5	95.6
	Prediction	Healthy	15	4	78.9
		Infected	17	2	89.5
		Total	32	6	84.2
S.G 2nd	Calibration	Healthy	50	6	89.3
		Infected	55	3	94.8
		Total	109	5	95.6
	Prediction	Healthy	15	4	78.9
		Infected	17	2	89.5
		Total	32	6	84.2

*P.P : Pre Processing, *D.D : Date Division, *Cor : Correct
 *Inc : Incorrect, *Sm : Smoothing,
 *Mean : Mean Normalization, *Max : Maxium Normaization
 *S.G : Savitzky_Golay

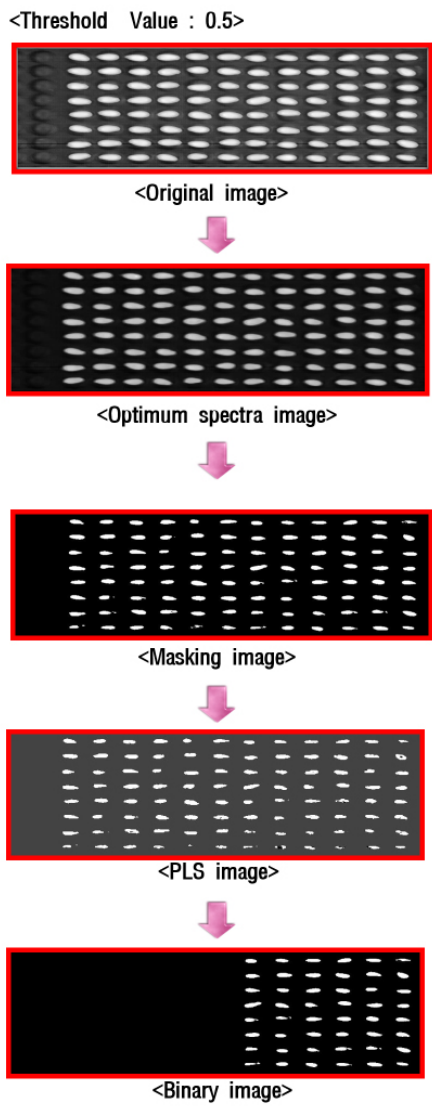


Fig. 6 Image processing for detecting nonviable watermelon seeds

Table 4 Classification accuracy of watermelon seeds based on hyperspectral imaging method

	Total	True	False	Accuracy(%)
Sample number	192	161	31	83.9

를 비파괴적으로 검사할 수 있는 가능성을 확인할 수 있었다. 차후 실시간 온라인 선별시스템 개발을 위해서는 본 연구에서 개발된 영상 알고리즘을 바탕으로 선별을 위한 하드웨어 플랫폼 및 구동 소프트웨어의 개발이 필요하다.

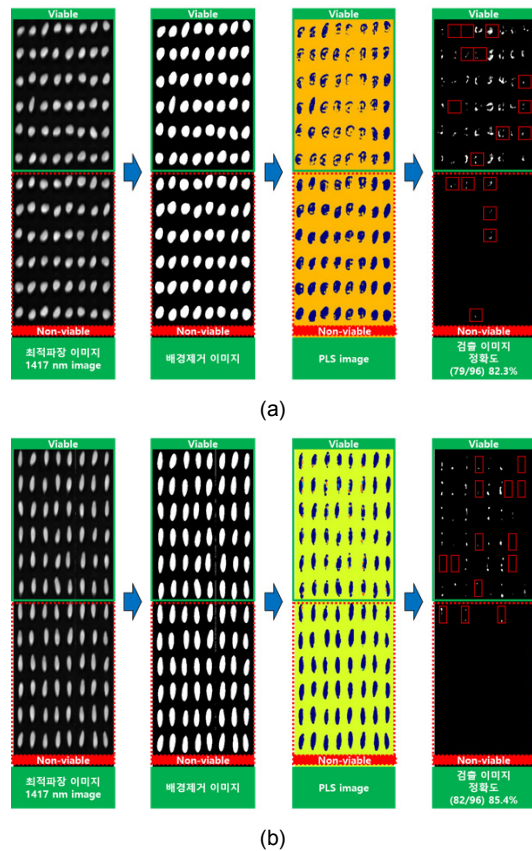


Fig. 7 Detection results of nonviable watermelon seeds in plate1(a) and plate2(b) using PLS images with the germination test

4. 결론

본 연구에서는 수박의 발아종자와 비발아 종자의 분광 특성을 분석하고 이를 이용하여 퇴화종자를 검출할 수 있는 비파괴 선별기술을 개발하였다. 수박의 발아종자와 비발아 종자를 분류하기 위해 판별모델을 개발하고 모델의 성능을 검증하였다. 개발된 판별모델을 영상처리 알고리즘에 적용하여 종자의 초분광 영상을 통하여 퇴화종자를 검출하였다. 본 논문을 요약하면 다음과 같다.

- 1) 초분광 단파적외선(1000~2500 nm) 영상 시스템을 이용하여 획득한 스펙트럼 중 노이즈를 제거한 1000~1980 nm영역을 이용하여 판별모델을 개발하였다. 모델의 정확도를 향상시키기 위해 다양한 전처리를 적용한 데이터를

PLS-DA 방식을 활용하여 최적의 판별모델을 개발하였다. 개발된 모델에서 판별정확도가 가장 높은 전처리 방식은 mean normalization을 이용한 모델로 calibration의 경우 94.7%의 높은 정확도를 나타내었으며, prediction의 경우 86.8%의 정확도를 나타내어 평균 90.8%의 정확도를 나타내었다.

- 2) PLS-DA 분석을 이용하여 beta coefficient값을 통해 파장별 가중치 값을 구하고 주요한 영향을 끼치는 성분대를 확인할 수 있었다. 1135 nm, 1374 nm, 1417 nm, 1463 nm, 1523 nm, 1669 nm 및 1717 nm 부근의 파장대가 모델 개발에 주된 영향을 미친 것을 확인할 수 있었으며, 이들 영역대는 주로 lignin 효소 및 단백질과 관련된 영역임을 알 수 있었다. Lignin 효소와 cellulose는 세포벽을 구성하는 주요한 성분으로, 수박종자가 퇴화하는 과정에서 발생하는 세포벽을 구성하는 조성물질의 변화와 세포막 상실에 의한 저장양분의 누출과 관련되는 것으로 판단된다.
- 3) 1000~1980 nm 영역의 스펙트럼을 이용한 최적의 판별모델의 beta coefficients를 PLS 영상에 적용하여 수박종자의 퇴화종자의 검출알고리즘을 개발하였다. 수박 퇴화종자의 알고리즘의 검출결과 전체 192립 중 31립이 오분류되어 83.9%의 정확도를 보였다. 이는 초분광 영상기술이 대량의 종자를 비파괴적으로 선별할 수 있는 가능성을 보여주었다.

후 기

본 연구는 농림축산식품부 기술사업화지원 사업에 의해 이루어진 것임

References

- [1] M. S. Kim, Y. R. Chen, B. K. Cho, K. Chao, C.-C. Yang, A. M. Lefcourt and D. Chan, "Hyperspectral reflectance and fluorescence line-scan imaging for online defect and fecal contamination inspection of apples," *Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety*, Vol. 1, No. 3, pp. 151-159 (2007)
- [2] W. S. Shin, "Current status of global seed industry and role of golden seed project in Korea", *Journal of Plant Biotechnology*, Vol. 42, No. 2, pp. 71-76 (2015)
- [3] R. P. Moore, "Life alone is not enough-How alive are seeds?" *Seedmen's Digest*, USA, pp. 12-13 (1955)
- [4] H. Hill, A. Taylor and T. Min, "Density separation of imbibed and primed vegetable seeds," *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Vol. 114, No. 4, pp. 661-665 (1989)
- [5] J. G. Hampton and D. M. TeKRONY, "Handbook of Vigour Test Methods," *Handbook of Vigour Test Methods*, Ed. 3, USA, pp. 72 (1995)
- [6] M. Santos, A. Novembre and J. Marcos-Filho, "Tetrazolium test to assess viability and vigour of tomato seeds," *Seed Science and Technology*, Vol. 35, No. 1, pp. 213-223 (2007)
- [7] A. Mansouri, A. H. Mirzabe and A. Ráufi, "Physical properties and mathematical modeling of melon (*Cucumis melo* L.) seeds and kernels," *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* (2015)
- [8] H. Cen and Y. He, "Theory and application of near infrared reflectance spectroscopy in determination of food quality," *Trends in Food Science & Technology*, Vol. 18, No. 2, pp. 72-83 (2007)
- [9] H. Cen and Y. He, "Theory and application of near infrared reflectance spectroscopy in determination of food quality," *Trends in Food Science & Technology*, Vol. 18, No. 2, pp. 72-83 (2007)
- [10] R. Chalucova, G. Krivoshev, M. Mukarev, V. Kalinov and C. Scotter, "Determination of green pea maturity by measurement of whole pea transmittance in the NIR region," *LWT-Food Science and Technology*, Vol. 33, No. 7, pp. 489-498 (2000)
- [11] T. H. Kim, S. Y. Chung, N. Park, S.-Y. Hamm, S. Y. Lee and B.-W. Kim, "Combined analyses of chemometrics and kriging for identifying groundwater contamination sources

- and origins at the Masan coastal area in Korea," *Environmental Earth Sciences*, Vol. 67, No. 5, pp. 1373-1388 (2012)
- [12] D. Wu, L. Feng, Y. He and Y. Bao, "Variety identification of Chinese cabbage seeds using visible and near-infrared spectroscopy," *Transactions of the ASABE*, Vol. 51, No. 6, pp. 2193-2199 (2008)
- [13] N. Shetty, T.-G. Min, R. Gislum, M. Olesen and B. Boelt, "Optimal sample size for predicting viability of cabbage and radish seeds based on near infrared spectra of single seeds," *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, Vol. 19, No. 6, pp. 451 (2012)
- [14] S. Lohumi, C. Mo, J.-S. Kang, S.-J. Hong and B.-K. Cho, "Nondestructive evaluation for the viability of watermelon (*Citrullus lanatus*) seeds using fourier transform near infrared spectroscopy," *Journal of Biosystems Engineering*, Vol. 38, No. 4, pp. 312-317 (2013)
- [15] A. Ambrose, S. Lohumi, W.-H. Lee and B. K. Cho, "Comparative nondestructive measurement of corn seed viability using Fourier transform near-infrared (FT-NIR) and Raman spectroscopy," *Sensors and Actuators B: Chemical*, Vol. 224, pp. 500-506 (2015)
- [16] C.-K. Ahn, B.-K. Cho, C. Y. Mo and M. S. Kim, "Study on development of non-destructive measurement technique for viability of lettuce seed (*Lactuca sativa* L) using hyperspectral reflectance imaging," *Journal of the Korean Society for Nondestructive Testing*, Vol. 32, No. 5, pp. 518-525 (2012)
- [17] C. Mo, G. Kim, K. Lee, M. S. Kim, B.-K. Cho, J. Lim and S. Kang, "Non-destructive quality evaluation of pepper (*Capsicum annuum* L.) seeds using LED-induced hyperspectral reflectance imaging," *Sensors*, Vol. 14, No. 4, pp. 7489-7504 (2014)
- [18] H. S. Kwak, M. Kim, Y. Lee and Y. Jeong, "Identification of key sensory attributes for consumer acceptance and instrumental quality of aseptic-packaged cooked rice," *International Journal of Food Science & Technology*, Vol. 50, No. 3, pp. 691-699 (2015)
- [19] J. S. Shenk, J. J. Workman and M. O. Westerhaus, "Application of NIR spectroscopy to agricultural products, in Handbook of Near-Infrared Analysis," D.A. Burns and E.W. Ciurczak, Editors. Marcel Dekker: New York, USA (2001)
- [20] E. C. Keeffe, "Rapid nutrient determination of sugarcane milling by-products using near infrared spectroscopy," Queensland University of Technology (2013)
- [21] I. Murray. and P. C. Williams, "Chemical principles of near-infrared technology, in Near-infrared technology in the agricultural and food industries," P. Williams and K. Norris, Editors, American Association of Cereal Chemists: St. Paul, Minnesota, USA (1987)
- [22] G. R. Hunt., "Spectral signatures of particulate minerals in the visible and near infrared," *Geophysics*, Vol. 42, No. 3, pp. 501-513 (1977)