

11-1543
000-001
407-01

발 간 등 록 번 호

11-1543000-001407-01

사료용 GMO
옥수수
말아억제
비파괴
검사기술
개발

최
종
보
고
서

2002

농
림
축
산
식
품
부

첨단생산기술개발사업 R&D Report

사료용 GMO 옥수수 말아억제 비파괴 검사기술 개발

최종보고서

2016. 09. 08.

주관연구기관 / (주)생명과학기술
협동연구기관 / 충남대학교

농림축산식품부

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “첨단생산기술개발사업”(개발기간 : 2014. 07. ~ 2016. 07.)과제의 최종
보고서로 제출합니다.

2016. 10. 27.

주관연구기관명 : (주)생명과학기술 (대표자) 김 채 주 김채주(인)
협동연구기관명 : 충남대학교 (대표자) 이 왕 희 이왕희(인)

주관연구책임자 : 김채주

협동연구책임자 : 이왕희

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의
합니다.

3. 보고서 요약서

보고서 요약서

과제고유번호	314034-2	해당단계 연구기간		단계구분	(해당단계)/ (총단계)
연구사업명	중사업명				
	세부사업명	첨단생산기술개발사업			
연구과제명	대과제명				
	세부과제명	사료용 GMO 옥수수 발아억제 비파괴 검사기술 개발			
연구책임자	김채주	해당단계 참여 연구원 수	총:15명 내부: 명 외부: 명	해당단계 연구개발비	정부:200,000천원 민간:67,000천원 계:267,000천원
		총연구기간 참여 연구원 수	총:28명 내부: 28명 외부: 명	총연구개발비	정부:400,000천원 민간:134,000천원 계:534,000천원
연구기관명 및 소속부서명	(주)생명과학기술			참여기업명	(주)생명과학기술
위탁연구	연구기관명: 충남대학교			연구책임자:	이왕희
요약(연구개발성과를 중심으로 개조식으로 작성하되, 500자 이내로 작성합니다)				보고서 면수	

4. 국문 요약문

		코드번호	D-01
연구의 목적 및 내용	<ul style="list-style-type: none"> ○ 사료용 GMO 종자의 비의도적 방출에 기인하는 심각한 생태계 교란이 문제시됨에 따라 비정상적·비의도적 사료용 GMO 종자의 유포를 방지하기 위한 발아억제처리에 대한 엄격한 검사시스템이 필요함에도 불구하고 현재 사료용 GMO의 발아억제 유무를 신속하게 전수 검사할 수 있는 방법은 개발되어 있지 않음 ○ 국내에 사료용으로 수입되는 사료용 GMO 농산물 595만 5,000톤 중 옥수수가 97%인 577만 9,000톤을 차지하고 있으며, 또한 사료용으로 수입되는 옥수수의 99%이상이 GM종자이므로 옥수수 종자를 대상으로 본 연구를 수행함 ○ 비파괴 분광분석 측정기술로서 농산물의 정밀 비파괴측정에 활용도가 높은 첨단기술인 고속 초분광 영상기술을 활용하여 기존의 선별방법으로는 불가능했던 사료용 GMO 옥수수 종자의 발아억제 여부를 대량 전수 검사할 수 있는 핵심기술을 개발하고 측정시스템을 실용화 함 		
연구개발성과	<ul style="list-style-type: none"> ○ 정량적 성과: 본 연구에서는 사료용 GMO 발아억제 실시간 판정시스템을 초분광 SWIR 영상 기술을 활용하여 개발하고 성능을 검증하는 것을 목표로 당초 특허, 논문, 기술이전 등 총 16건을 목표로 하여, 특허출원 1건, SCI 논문 2편, 비SCI논문 3편, 교육지도 2건, 인력양성 4명 등 당초 목표를 상회하는 활발한 연구를 수행함. ○ 정성적 성과 <ul style="list-style-type: none"> 가. 초분광 SWIR을 이용한 판별 모델 개발 <ul style="list-style-type: none"> ○ 마이크로웨이브를 이용하여 종자별, 시간별, 입력전력세기별 비교 결과 1,000W, 40sec 이상의 노출로 효과적인 발아억제를 수행함 나. 초분광 SWIR을 이용한 판별 모델 개발 <ul style="list-style-type: none"> ○ 최적 파장을 찾기 위해 초분광 VIS/NIR과 SWIR 영상에서 획득한 스펙트럼으로 판별 모델을 PLS-DA를 이용하여 개발함. 성능향상을 위해 평균 정규화(mean norm), 최대 정규화(max norm), 부분 정규화(range norm), MSC, SNV, 1차/2차 미분 및 raw 데이터 등 8 종류의 전처리 효과를 비교한 결과 raw 데이터 SWIR을 활용한 모델이 황색(95.6%), 백색(95.6%) 및 자색(82.2%) 등 모든 품종에서 우수한 성능을 나타냄 ○ 초분광 영상을 이용한 옥수수 종자의 처리구 및 대조구의 판별을 위해 마스크 이미지는 50번째 밴드 이미지(1245 nm)를 이용함. ○ 실시간 판별 결과의 경우 13rpm (1.61cm/s), 30rpm (4.16cm/s) 및 50rpm (7.15cm/s)의 세 단계의 컨베이어벨트 속도별 판별 성능을 평가한 결과는 백색 종자의 경우 13rpm의 경우가 처리구 86.7% (26/30), 대조구 73.3% (22/30)의 우수한 성능을 보임. 자색 옥수수의 경우도 13rpm일 때 처리구 93.3%(28/30), 대조구 76.6%(23/30)로 가장 우수한 성능을 나타냄. 		

		코드번호	D-01			
연구개발성과의 활용계획 (기대효과)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 개발된 사료용 GMO 종자의 비파괴적 신속 전수 검사 시스템을 이용하여 신뢰도 높은 검역 및 안전한 사료용 GMO 종자 유통 기반이 확립되고, 엄격한 검수절차가 마련되며 결과 왜곡이 근본적으로 차단될 것으로 판단됨. 또한, GMO 종자의 생태계에 유출을 원천 차단함으로써 국내 자연생태환경의 교란 및 파괴를 미연에 방지함과 동시에 국민 보건 증진 및 자연생태환경 보전이 가능함 ○ GMO 종자 발아억제 여부 비파괴 검사 원천기술의 확보는 농산물 안전성 측정분야는 물론 식품, 의료, 제약분야 등의 실시간 검사기술 개발로도 응용이 가능함 ○ 해외에서도 아직 개발되지 않은 기술로서 국제특허 획득 및 기술표준화 추진이 가능함. 특히 국내 보급 실적을 바탕으로 미국, 중국 등 주요 국가 검역기관, 종자관리·보급기관 등을 중심으로 기술마케팅이 가능하리라 기대됨 ○ 세계 10대 종자기업을 중심으로 퇴화/이병 종자 검사용 품질관리장비로 판매가 가능할 것으로 기대됨 					
중심어 (5개 이내)	사료용 옥수수	GMO 종자	초분광 영상기술	현장용 검역시스템	비파괴검사	

5. 영문 요약문

< SUMMARY >

		코드번호	D-02		
Purpose& Contents	<ul style="list-style-type: none"> ○ It is necessary to develop a nondestructive, rapid and real-time total inspection system of the artificially aged GMO (genetic modified organism) corn ○ Most of the imported GMO agricultural products for animal feeding are corns which cover up 97%, 5,779,000 ton. Besides, over 99% among imported corn for animal feeding is genetically modified. ○ Thus, the objectives in this study are development of nondestructive and rapid total inspection system for discriminating genetically modified corn using hyperspectral imaging technology. 				
Results	<ul style="list-style-type: none"> ○ Quantitative results: We issued 1 patent, published 2 SCI journal papers and 3 non-SCI journal papers, educational direct 4 times, employment 2 people. ○ Qualitative results <ul style="list-style-type: none"> a. Development of GMO corn artificial ageing method using microwave <ul style="list-style-type: none"> • We conducted to artificial ageing GMO corn using microwave method based on 1KW and exposure time for 40 sec. b. Discriminant model of treated and non-treated corn seeds using hyperspectral SWIR imaging system <ul style="list-style-type: none"> • To find optimal bands for discriminant two group we compare two modalities VIS/NIR and SWIR hyperspectral imaging systems using PLS-DA. Eight pre-processing methods are applied to improve the classification accuracy and compared the figures. SWIR has better accuracy in yellow (95.6%), white (95.6%) and purple (82.2%) with raw spectra than VIS/NIR. • Mask image was used 50th image at 1245 nm that remove redundant background pixels • Real-time sorting technique shows that treated and non-treated discriminant results of white and purple corn are 86.7%(26/32), 73.3%(22/30) and 93.3%(28/30), 76.6%(23/30), respectively. 				
Expected Contribution	<ul style="list-style-type: none"> ○ It is expected that development of a reliable and secure delivery infrastructure of GM corn for feeding and total inspection system of corn seeds which can build up the secure inspection process. ○ To reduce the cost of time, money, man power for total inspection and conserve nature from GM seeds dispersion ○ Nondestructive sorting technique of GMO seeds treated and non-treated with microwave can be applied to safety inspection in agri-food, pharmaceutical biz, medical profession. ○ It can be issued abroad patents and expanded to foreign government inspection bureau or seed companies. 				
Keywords	corn for feeding	GMO seeds	Hyperspectral imaging technology	On-site inspection system	nondestructive

6. 영문목차

1. Overview of Research and Development	1
가. Objectives of R&D	1
나. Necessity of R&D	3
다. Scope of R&D	9
2. R&D status in domestic and abroad	13
가. Domestic R&D	13
나. Abroad R&D	14
3. Results and Discussion	16
가. Final objective of R&D	16
나. Detailed objectives of R&D	19
다. R&D methods and results	22
1) Development of hyperspectral SWIR rapid scanning	22
2) Artificial ageing technique	24
3) Nondestructive sorting technique	29
4) Evaluation real-time sorting system	59
5) Real-time nondestructive GMO corn seed total inspection system	62
4. Achievement and Contribution	90
가. Achievement of goals	90
나. Contribution to related parts	91
5. Plans for the practical use of results	93
6. International Science and Technology Information	95
7. Security Level of Research Results	95
8. Research Facilities	95
9. Safety Management of Lab.	96
10. Selected Research Achievements	98
11. Miscellaneous	98
12. References	99

7. 본문목차

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요	1
가. 연구개발 목적	1
나. 연구개발의 필요성	3
다. 연구개발 범위	9
2. 국내외 기술개발 현황	13
가. 국내 연구 현황	13
나. 국외 연구 현황	14
3. 연구수행 내용 및 결과	16
가. 연구개발의 최종목표 및 주요내용	16
나. 과제별(세부협동) 연구개발의 목표 및 내용	19
다. 연구 개발 수행 내용 및 결과	22
1) 초분광 SWIR 영상 고속 스캔기술 개발	22
2) 사료용 GMO 종자 발아억제 기술 개발	24
3) 사료용 GMO 종자 발아억제 비파괴 판별 기술 개발	29
4) 사료용 GMO 종자 발아억제 실시간 비파괴 판별기술 성능 검증	59
5) 사료용 GMO 종자 발아억제 전수판별시스템 실용화 연구	62
4. 목표달성도 및 관련분야 기여도	90
가. 목표달성도	90
나. 관련분야 기여도	91
5. 연구결과의 활용계획	93
6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보	95
7. 연구개발결과의 보안등급	95
8. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황	95
9. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적	96
10. 연구개발과제의 대표적 연구실적	98
11. 기타사항	98
12. 참고문헌	99

<별첨> 자체평가의견서

1. 연구개발과제의 개요

코드번호	D-03
------	------

가. 연구개발 목적

- 사료용 GMO (genetically modified organism, 유전자변형작물) 종자의 비의도적 방출로 인하여 심각한 생태계의 교란이 문제시 되고 있으며, 비정상적·비의도적 GMO 종자의 유포를 방지하기 위한 발아억제처리에 대한 엄격한 검사시스템이 필요함에도 불구하고 현재 사료용 GMO 종자의 발아억제 유무를 신속하게 전수 검사할 수 있는 방법은 개발되어 있지 않음
- 국내에 사료용으로 수입되는 GMO 농산물 595만 5,000톤 중, 옥수수가 97%인 577만 9,000톤을 차지하고 있으며, 또한 사료용으로 수입되는 옥수수의 99%이상이 GMO 종자임. 또한, 전 세계적으로 GMO 재배면적이 점차 증가하고 있어 비(非) GMO 곡물을 확보하기가 어렵다는 현실을 반영하기 위하여 옥수수 종자를 대상으로 본 연구를 수행함

표 1. 2011년 사료용 GMO 수입현황

(천톤, 천달러)

작물 년도	총계	총금액	옥수수		면실류		대두	
			물량	금액	물량	금액	물량	금액
2008	7,019	-	6,925	-	92	-	2	-
2009	5,908	1,274,190	5,810	1,243,550	98	30,606	-	-
2010	6,570	1,516,760	6,451	1,479,924	119	36,736	0.2	89
2011	5,978	1,898,582	5,847	1,860,170	130	38,275	0.5	132

출처: LMO 국가통합정보망

- 사료용 수입 GMO 곡물 중에서 옥수수는 절대적으로 많은 부분을 차지고 있으며(98%이상) 매년 수입 금액이 증가하고 있는 실정임
- 전 세계에서 GMO 작물의 수입을 가장 많이 하는 나라는 일본과 한국임. 일본은 주로 사료용 곡물을 수입하는 반면 한국의 경우 사료용은 수입량의 80%만 사료용임. 하지만, 수입되는 사료용 옥수수의 99% 이상이 GMO 종자이고, 국내 수입 사료용 GMO 옥수수는 2014년 한 해에만 800만톤을 넘어섰기 때문에 각별한 주의가 필요함(유전자변형 생물체에 관한 국가통합정보망)
- 현재 옥수수와 대두, 카놀라, 목화의 재배지 중 유전자변형작물의 경작지 비율은 1996년 170만 ha에서 1억3천400만 ha로 15년 여 만에 약 80%의 확대가 진행되었으며, 이는 세계 경작 농지의 9%에 해당함. 그중 옥수수는 가축 사료용으로만 4천백만7십 ha로서 약 7천만ha의 콩 다음으로 넓은 경작지를 가지고 있음(2010년 기준).



그림 3. 세계 GMO 시장 현황 (한겨레 인터넷, 2015.1.11.)

- 현재 전세계에서는 비의도적인 GMO 혼입을 막기 위해 표시제를 시행중이며, 일본 및 대만은 5%, EU는 0.9%, 한국은 3%인 반면, 미국은 미설정 되어 있음
- 유전자변형 옥수수는 육안으로 변형 여부를 판별하기 어렵기 때문에, 현재 분자생물학적 분석에 의존하고 있으나, 이는 많은 시간과 비용을 요구함
- 분자생물학적인 검사방법은 다음 두 가지로 대별됨
 - 하나는 도입된 유전자에 의해 생산된 단백질을 확인하는 방법과 도입유전자의 존재를 직접 확인하는 방법으로, 단백질 확인을 위해서 주로, 검사지 (lateral flow strip)와 효소면역학적 분석 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 방법이 있으며, 상기 방법들은 특정 단백질에 대한 항원, 항체 반응을 이용하여 진단하는 방법임
 - 비록 상기 진단법이 쉽고, 빠르게 검사 결과를 얻을 수 있는 신속진단법이지만 열을 가하는 가공식품의 경우 단백질 변성 및 파괴 등의 발생으로 검사에 한계가 있음
 - 최근 가장 널리 이용되고 있는 유전자변형작물 검출법은 유전자증폭반응 (polymerase chain reaction, PCR)법임. 수분 내에 도입한 유전자의 DNA를 증폭하여 분석할 수 있고, 유전자변형 원료의 첨가 유무도 판단이 가능함. 반면, 고가의 프라이머를 구입해야하고 운용을 위한 전문 인력이 반드시 필요함
- 본 연구는 비파괴 분광분석 측정기술로서 농산물의 정밀 비파괴측정에 활용도가 높은 첨단기술인 고속 초분광 영상기술을 활용하여 기존의 선별방법으로는 불가능하였던 사료용 GMO 옥수수 종자의 발아억제 여부를 대량 전수 검사할 수 있는 핵심기술을 개발함.

나. 연구개발의 필요성

1) 연구개발 대상의 중요성

① 전 세계적 GMO의 재배 면적 및 교역량 증가에 따른 사료용 GMO의 지속적인 국내 수입이 증가하고 있는 추세임

○ 유전자변형작물(GMO)은 인구증가 및 경지면적 감소로 인한 안정적 식량 및 사료 공급에 대한 필요성에 따라 세계적으로 확대되고 있는 추세이며, 우리나라도 2000년대 이후 곡물 자급률의 급격한 감소에 따른 수입의존도의 증가로 인해 다량의 GMO를 지속적으로 수입하고 있는 실정임

- 2012년 세계 GMO 작물의 재배면적은 처음 재배시기인 1996년에 비하여 100배 이상 증가한 1억 7030만 ha를 기록하였으며, 최근 미국, 브라질, 아르헨티나, 캐나다 등 주요 생산국에서 그 밖의 국가로 확산되어 생산국이 다변화되고 있는 추세임
- 2012년 기준 GMO 종자는 글로벌 종자시장 가치의 35% 이상인 148억 달러를 차지하고 있으며, 향후 지속적으로 증가하여 2015년도에 200억 달러로 증가할 것으로 예측됨
- 식량 부족 문제뿐만 아니라, 환경오염, 에너지 및 자원 고갈, 농가 소득 감소 등의 문제를 해결할 수 있는 대안으로 GMO 작물의 재배, 상업화 및 교역량은 빠르게 증가하고 있음

○ 국내에 사료용으로 수입되는 농산물의 대부분이 GMO 농산물로서 높은 수입 비중을 차지하고 있으며 지속적인 증가가 예상됨

- 2012년 기준 사료용 GMO의 수입량은 전체 GMO 수입량의 76%로 595만 5,000톤(18억 2천 7백만 달러)이며, 이중 옥수수가 577만 9,000톤(97%)을 차지하고 면실류가 14만 6000톤이었음. 사료용 GMO는 식용에 비해 상대적으로 거부감이 없어 연간 600만 톤 이상으로 수입이 증가할 것으로 전망됨
- 사료용으로 수입되는 옥수수의 경우 99% 이상이 유전자변형작물(GMO)임
- 2012년 기준 사료용 GMO 농산물의 수입은 미국에서 약 36%, 브라질에서 약 32%, 아르헨티나에서 약 15%를 수입했으며, 최근 호주, 파라과이 필리핀 등에서도 수입하는 등 전 세계적으로 수입국이 다변화되고 있는 추세임

② GMO의 수입 및 유통 확대에 따른 심각한 생태계교란 문제로 인해 수입 사료용 농산물의 GMO 종자 발아억제 여부 판별 필요

○ 우리나라는 2001년부터 국내에서 판매되는 GMO 농산물과 가공식품, 사료 등을 대상으로 유전자변형제품 표시제를 시행중이며, 특히 GMO를 ‘생태계교란야생동

식물'로 분류하여 지속적인 관리대상으로 지정하고 있음. 특히, 사료용 GMO 및 GMO 종자는 생태계에 유출될 경우 유전자 오염을 통해 생명체를 타고 확산되어 심각한 생태계교란의 원인이 될 수 있으므로 철저한 검사를 통해 사료용 농산물의 GMO 종자 발아억제 여부 판별이 필요함

○ 사료용 GMO 및 GMO 종자의 경우 국내에서 운반 또는 가공 과정에서 도로면이나 가공현장 주변에 비의도적으로 방출되어 낙곡이나 자생식물로 발견되는 사례가 증가하고 있어 심각한 생태계교란의 원인이 되며 종자산업 분쟁으로 인해 국가 및 농민의 손실을 야기할 수 있음

- 1999년 미국 뉴욕대학교에서 BT 옥수수의 독성이 뿌리를 통해 토양 속으로 스며들어 오염된 사례를 보고함
- 미국 퍼듀대학교에서는 유전자를 조작한 송사리(저패니즈 매다카) 60마리를 일반 송사리 6만 마리 사이에 풀어 두었을 때, 5세대 안에 전 개체가 멸종됨을 보고함
- 1999년 미국 옥수수재배업자협회에서 비유전자변형 곡물을 재배하는 재배농가들의 20종의 재래 씨옥수수를 검사해본 결과 유전자 변형된 종자가 45%에 달했음
- 2002년 그린피스는 유럽 내 옥수수 곡물의 15% 이상(약 100만 ha 이상)이 GMO 종자에 오염됐다고 보고함
- 캐나다에서는 GMO 종자가 다른 재배지로 전파되면서 자연 발아되어 종자의 로얄티 등의 문제가 법정소송으로까지 이어졌으며, 일본에서도 캐나다산 유채가 이동 중에 떨어지면서 자연 발아된 사례가 있음

○ GMO가 생태계에 배출되었을 기존 농약과 제초제에 내성을 가진 슈퍼 해충과 슈퍼 잡초의 비의도적 확산과 GMO의 섭취에 따른 동물 생태의 피해가 우려됨

- 영국에서는 GMO 시험 재배장에서 제초제 내성을 가진 '슈퍼잡초'가 나타난 것으로 밝혀져 GMO 재배를 금지해야 한다는 주장이 있음
- 프랑스의 유전자변형 옥수수 재배지에서 제초제 내성을 가진 명아주 한포기가 4년 후 10만 3000포기로 늘어남
- 호주 잡초 라이그라스(Ryegrass)는 몬산토사의 라운드업 제초에 대한 강력한 저항력으로 인해 권장량의 5배에도 견디어 내는 것으로 보고됨
- 1999년 미국에서 해충저항성 옥수수가 만들어내는 독소에 의해 옥수수를 재배하는 포장 근처의 잡초와 이를 먹이로 하는 곤충(제왕나비 애벌레)의 생육이 저해되거나 높은 치사율 보인다는 주장이 보고되었음

- 프랑스에서는 실험재배지에서 호르몬 생성 유전자 조작면의 꽃가루를 모으고 있던 꿀벌의 수명이 반으로 줄고 꽃가루 냄새를 구분하는 능력을 상실했다는 보고가 있음
- BT 살충 독소 생성 농작물의 즙을 빠는 진디를 먹이로 하는 풀잠자리의 유충이 절반가까이 사멸했으며, 진디를 먹는 다른 유익한 벌레도 죽었으며, 뿌리에 의한 독소로 인해 토양미생물과 지렁이 흙 속에 있는 유용생물을 사멸시킬 위험성이 있음
- 2002년 영국에서 T-25 유전자조작 옥수수를 먹인 닭이 일반 닭보다 2배 사망률을 보인다고 보고하였으며, 2006년에는 몬산토 사의 유전자조작 옥수수가 쥐의 간과 신장에 유독성 증세를 유발함을 쥐를 이용한 동물실험을 통해 보고함
- 2005년 러시아에서는 몬산토의 유전자조작 콩을 섞은 사료를 먹인 쥐의 사산율 및 태아 문제 발생 확률이 비유전자 조작 콩을 먹인 쥐에 비해 월등히 높음을 보고함

2) 연구개발의 필요성

① 사료용 GMO 종자의 발아억제 처리 유무는 수작업에 의한 파괴적인 확인 방법밖에 없어 비파괴적으로 전수 검사가 가능한 신기술 개발 필요

○ GMO에 의한 환경파괴 가능성에 대비하기 위한 환경안전성 확보기술은 생물학적 격리를 이용하여 화분에 의한 유전자 이동가능성을 원천적으로 차단하는 방법과 유전자 억제 기술을 이용하여 발아력이 억제된 종자를 생산하는 방법이 연구되었음

- 유전자 이동이 완벽하게 억제되지 않고, 대상 작물이 한정되어 있으며, 완벽한 억제를 위한 관련 유전적 정보가 미흡하며, 시간과 노동집약적인 특성으로 인해 대량으로 수입되는 GMO 종자에 대한 발아억제 방법으로는 적절치 않음

○ 이에 따라, 해외 및 국내에서는 전처리를 통하여 GMO 종자의 발아력을 억제함으로써 GMO의 유전적 전이에 대한 환경·생태적 문제를 제거하고자 하는 연구가 수행됨

- 대표적인 종자의 발아억제 유도 처리로는 열처리, 방사선 처리, DNA rendering, microwave 및 autoclave가 이용되고 있음
- 2008년 미국에서는 GMO 면실 종자에 대해 멸균수 처리를 통한 hydration이후 액화 질소를 통해 온도를 섭씨 -20도에서 -80도까지 낮춰줌으로써 종자의 발아력을 억제하는 방법이 제시되었음

- 국내에서는 2013년 농촌진흥청 연구사업으로 면실 종자의 발아억제를 위한 전처리 연구가 수행되었으며, 다양한 전처리 기법에 대한 연구를 바탕으로 대량으로 수입되는 사료용 GMO에 대한 최적 발아억제 방법을 제시함

○ 지속적인 사료용 GMO 종자의 수입으로 인해 GMO 종자의 생태환경 노출 위험성이 높아짐에 따라 GMO 발아력 제거 연구가 수행되기 시작하였고, 이를 기반으로 발아가능 사료용 GMO 종자의 환경유출에 대한 원천적인 차단을 위해서는 발아유무에 대한 검정 기술의 개발이 필요함

② 전처리 없이 신속·정확하게 대량으로 사료종자의 발아억제처리 여부를 판별하기 위해 비파괴 분광분석 및 영상 기술 등 융합 센싱 기술 적용 필요

○ 기존 방법의 문제점을 극복하고 사료용 GMO의 환경방출을 방지하기 위한 발아처리 유무를 비파괴적으로 신속하게 전수검사하기 위해 분광분석 영상 기술 등 비파괴적 정밀 판별기술이 적용되어야 함

- 초분광 영상기술은 대상물질의 원자결합 특성을 이용하여 화학 및 물리적 성질을 신속하게 비파괴 분석할 수 있는 방법으로, 최근 작물의 발아/비발아 검정기술 등에 활용될 수 있는 최적 후보기술로 인식되고 있음

- 초분광 근적외선 영상기술은 780-2,500 nm 파장대의 광을 이용하여 주로 C-H, O-H, N-H 등의 원자결합 특성을 측정할 수 있으며 대상물의 성분을 약 0.1% 이내까지 전처리 없이 정밀하게 분석이 가능함

- 영상이 배제된 분광분석기술 만으로는 대량의 시료를 동시에 측정할 수가 없음. 초분광 영상기술은 분자진동 스펙트럼을 실시간으로 측정을 하는 동시에 대상 시료의 넓은 면적을 한꺼번에 스캔하여 처리할 수 있는 첨단 기술로서 옥수수 등 사료용 종자의 대량 전수검사에 적합한 기술이라 할 수 있음

○ 본 연구에서는 농산물 비파괴 선별 기술로 활발한 연구가 진행되고 있는 초분광 영상기술을 활용하여 GMO 종자의 발아처리 유무를 비파괴적으로 고속 대량 전수검사 할 수 있는 실용화 기술을 개발하고자 함

3) 비파괴 GMO 종자 검사 기술 개발

○ GMO에 의한 환경파괴 가능성에 대비하기 위한 환경안전성 확보기술은 생물학적 격리를 이용하여 화분에 의한 유전자 이동가능성을 원천적으로 차단하는 방법과 유전자 억제 기술을 이용하여 발아력이 억제된 종자를 생산하는 방법이 연구되었음

- 유전자 이동이 완벽하게 억제되지 않고, 대상 작물이 한정되어 있으며, 완벽한 억제를 위한 관련 유전적 정보가 미흡하며, 시간과 노동집약적인 특성으로 인

해 대량으로 수입되는 GMO 종자에 대한 발아억제 방법으로는 적절치 않음

- 특히 종자의 경우 Living GMO (LMO)로 분류되어 2000년도에 UN산하 환경전문기구인 유엔환경계획(UNEP)이 제정한 생물다양성협약(CBD)인 바이오안전성에 대한 카르타헤나 의정서의 부속의정서로 캐나다 몬트리올에서 개최된 CBD에서 채택됨
- 유전자변형 생물체의 안전한 이동, 취급, 이용에 있어서 특히 국가간 이동에 초점을 맞추어 적절한 수준을 보장하게 함
- 우리나라는 2007년 143번째로 가입, 2008년 1월부터 LMO법이 시행됨
- 의정서의 주요 내용은 LMO의 수출입, 안전조치, 위해성평가 및 위해성 관리에 관한 내용을 담고 있음. 특히 위해성 관리항목에는 비의도적 환경방출 등의 관리에 관한 내용을 포함함. 국내에 유입되는 사료용 LMO의 경우 농산물품질관리원에서 국내 안전관리를 전담하게 됨

○ 이에 따라, 해외 및 국내에서는 전처리를 통하여 GMO 종자의 발아력을 억제함으로써 GMO의 유전적 전이에 대한 환경·생태적 문제를 제거하고자 하는 연구가 수행됨

- 대표적인 종자의 발아억제 유도 처리로는 열처리, 방사선 처리, DNA rendering, microwave 및 autoclave가 이용되고 있음
- 2008년 미국에서는 GMO 면실 종자에 대해 멸균수 처리를 통한 hydration이후 액화 질소를 통해 온도를 섭씨 -20도에서 -80도까지 낮춰줌으로써 종자의 발아력을 억제하는 방법이 제시되었음
- 1998년 미국 델타앤드파인랜드(Delta and Pine Land)社와 미 농무성 ARS에서는 식물유전자의 발현 억제 (USA특허 5723765)에 관한 특허를 등록하지만 실제 실용화는 이루어지지 않음
- 국내에서는 2013년 농촌진흥청 연구사업으로 면실 종자의 발아억제를 위한 전처리 연구가 수행되었으며, 다양한 전처리 기법에 대한 연구를 바탕으로 대량으로 수입되는 사료용 GMO에 대한 최적 발아억제 방법을 제시함
- 2004년 GMO 작물이 화분 비산 등에 의한 교잡이나 혼입 등 의도하지 않은 혼입을 완전히 봉쇄할 수 없는, 곧 생물다양성과는 양립할 수 없다는 연구 결과를 미국 전국 과학 아카데미에서 발표함
- 생물학적인 봉입(confinement)의 수단으로서 유전적인 이용을 제한하는 기술 (genetic use restriction technology, GURT), 종자발아를 억제하는 기술 (variety-GURT, V-GURT) 및 목적의 형질을 억제하는 기술(trait-GURT, T-GURT) 기술 등 15가지 방법이 연구되고 있지만 모두 실용화는 되지 않음

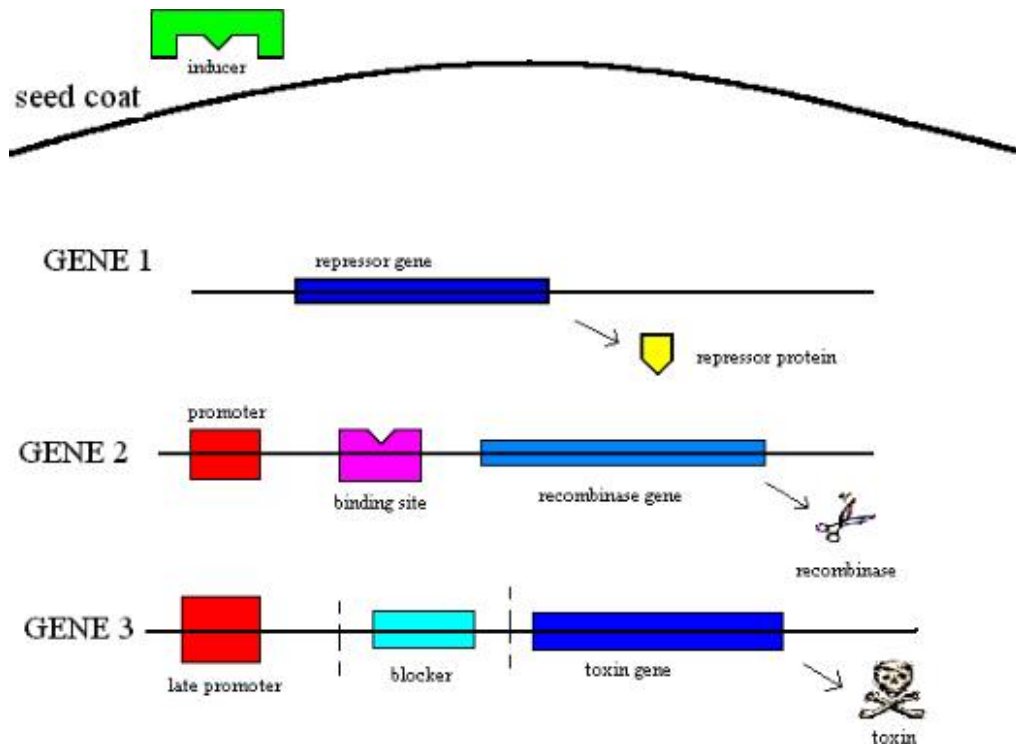


그림 4. 세 개의 유전자를 이용하여 GMO 유전자를 불활성화 시키는 터미네이터 방식 (<http://cls.casa.colostate.edu/transgeniccrops/terminator.html>)

- 그림 2는 유전자 조작 방식을 이용하여 종자의 배아를 불활성화 시키는 터미네이터 방식임. 종자 내부의 1번 유전자는 억제자(repressor)라고 불리며 억제 단백질을 생산해서 2번 유전자에 전달함. 2번 유전자는 프로모터(promoter)라는 이름으로 불리며, 재조합 단백질(recombinase protein)을 생산함. 3번 유전자는 후기 프로모터에 의해 독성물질을 분비하고 관리하는데 이 독성물질은 종자의 배아에 치명적임. 이 독성물질을 이용하여 종자를 불활성화하는 기작임
- 지속적인 사료용 GMO 종자의 수입으로 인해 GMO 종자의 생태환경 노출 위험성이 높아짐에 따라 GMO 발아력 제거 연구가 수행되기 시작하였고, 이를 기반으로 발아가능 사료용 GMO 종자의 환경유출에 대한 원천적인 차단을 위해서는 발아유무에 대한 검정 기술의 개발이 필요함
- 사료용·농업가공용 LMO 검정방법은 정성검정과 정량검정으로 나뉨
 - 정성검정: 해당 시료 내에 유전자변형생물체가 혼입되어 있는지의 여부를 판단. 현장에서는 간이속성 검사법이 사용되기도 하나, 주로 도입 유전자의 DNA를 증폭해서 유무를 판정하는 PCR법을 사용함
 - 정량검정: 해당 시료 내에 유전자변형생물체가 함유된 양을 검증하는 방식. 표준플라스미드 혹은 표준시료를 이용하여 실시간 정량 PCR (Real-time Quantitative PCR)법으로 분석함



그림 5. 국립농산물품질관리원에서 개발한 사료용 및 농업가공용 LMO 검정방법
(국립농산물품질관리원 누리집)

- 현행 국립농산물품질관리원에서 개발·시행중인 사료용 및 농업가공용 LMO 검정방법은 그림 3과 같음
- 해외의 분석법
 - 현재까지 세계적으로 통일된 공인 검사법은 확립되지 않았으며, 우리나라를 비롯해 EU, 일본 등 지역, 국가에 따라 독립적인 검사법을 정해 검사를 수행함
 - 유럽연합: 스위스-독일 방식을 공식 검사방법으로 채택하여, 정성 PCR법을 기반으로 수행함. 검사는 단순히 검출 혹은 불검출의 결과만을 제공하며, 정량검사에 대한 방법은 수립되어 있지 않은 상황임
 - 한국과 일본: 법규와 매뉴얼을 기반으로 PCR 증폭으로 정량 및 정성 분석을 수행함

다. 연구개발의 범위

- 본 연구에서는 근적외선 분광기술에 공간 정보를 융합한 첨단 초분광 영상기술을 활용하여 기존의 방법으로는 불가능하였던 사료용 GMO 옥수수 발아여부를 대량 전수 검사할 수 있는 기술을 개발함

가) 국내에 사료용으로 수입되는 GMO 농산물 595만 5,000톤 중 **옥수수가 97%인 577만 9,000톤을 차지**하고 있으며, 또한 사료용으로 수입되는 옥수수의 99% 이상이 GMO이므로 옥수수를 본 연구의 시료로 활용함

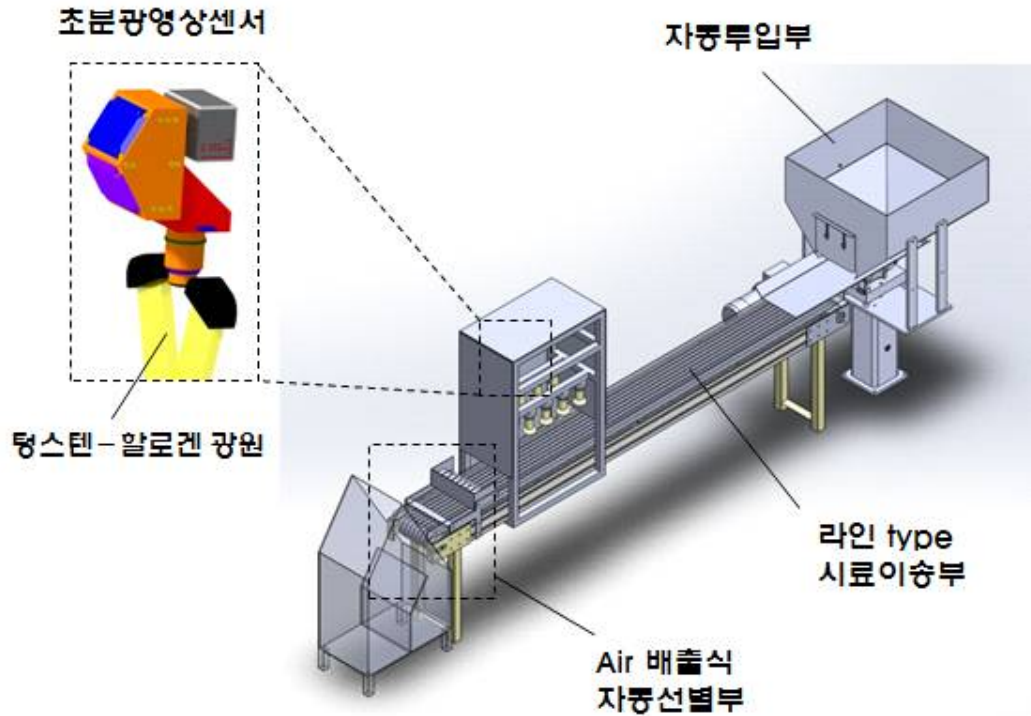


그림 6. 최종 시스템 개략도

< 시스템의 주요특징 >

- 시료 투입 → Auto positioning → 자동이송 → 초분광 영상측정 → 초분광 영상데이터의 스펙트럼 실시간 자동분석 → 발아여부 판별영상 Display → Air blow식 자동선별
- 초분광 반사광 영상 기반 측정으로 대량 실시간 측정 및 정밀 전수검사가 가능함

< 개발 기술의 정량적 목표 >

- 판별 정확도 : 발아여부 95% 이상(최대 98% 이상) 정확도 구현
- 판별 속도 : 10 cm × 10 cm 크기(종자 약 100개) 기준 5초 이내

나) 사료용 GMO 옥수수 종자의 발아유무의 비파괴적 신속 검정을 위한 초분광 가시광(Visible), 근적외선(NIR) 및 단파적외선(Short infra-Red, SWIR) 영상 분석 기술 개발

- 고속 초분광 영상획득을 위한 line-scan 초분광 Vis/NIR/SWIR 시스템 구축
 - 대상물의 물리·화학적 분석 정확성을 최적으로 수행할 수 있는 파장역역 분석을 위해 초분광 가시광 및 근적외선 영역 (400-1,000 nm)과 단파적외선 영역 (1,000-2,500 nm)을 동시에 활용할 수 있도록 시스템을 구성함

- 시스템 구성 : Spectrograph, CCD 및 MCT 카메라, 할로젠 램프
- 주요사양 : 검출파장 400~1,000 nm (EMCCD) 및 1,000~2,500 nm (MCT), Spectral Resolution 5~20 nm, 고속 영상프레임 (170 line/sec 이상)획득

- 파장별 영상 조합을 통한 최적 선별조건과 고속선별을 위한 초분광 영상 시스템 구축
- 가시광 및 근적외선 영역과 단파적외선 영역의 판별정확도 분석 후 최적 파장 영역 선정

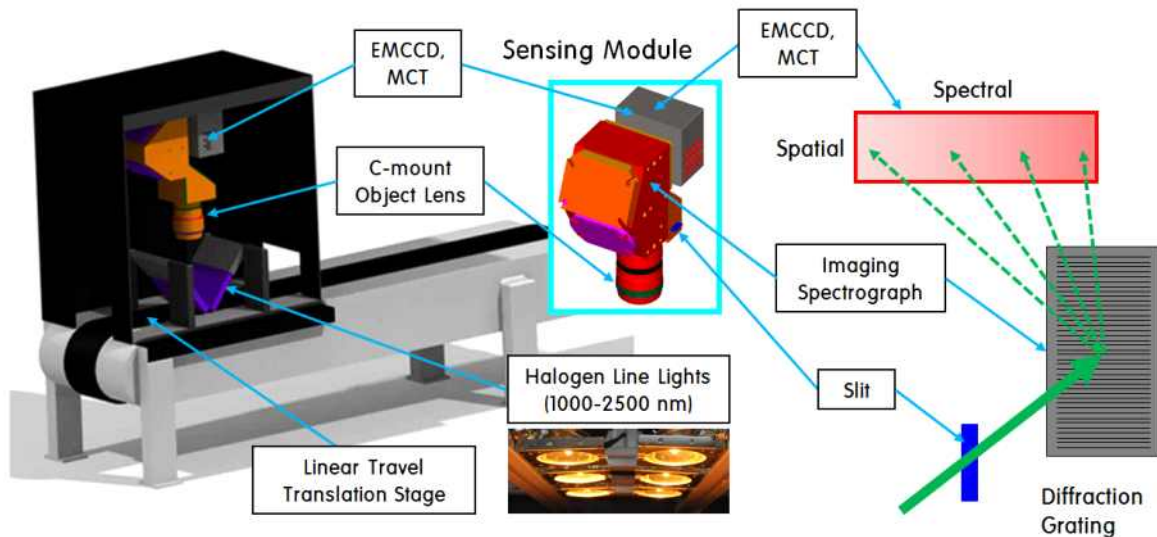


그림 5. Line-scan 방식 초분광 영상 시스템 개략도

○ 초분광 영상을 기반으로 한 GMO 옥수수 종자의 최적 선별을 위한 모델 개발

- 스펙트럼 분석을 통한 발아여부 관련 특정 분광정보 분석
- Partial least squares analysis (PLS), Principal component analysis (PCA), Canonical variate analysis (CVA) 등 통계적 모델과 Chemometrics를 이용한 GMO 발아억제 유도 처리 판별에 관한 정성 및 정량 분석 모델 개발
- Differentiation, Normalization, SNV, MSC 등 다양한 전처리 기법을 적용하여 시스템 및 환경요인의 의한 오차 보정
- 최신분류기와 Linear discriminant analysis (LDA), Support vector machine, Adaboosting 방법 등을 활용하여 개발된 모델의 정확도 향상 연구

다) GMO 옥수수 종자의 발아 유무의 실시간 검사가 가능한 **고속 비파괴 전수검사 시제품 개발**

- 개발된 판별 모델이 장착된 실시간 비파괴 자동 전수검정용 초분광 영상 시스템 개발
 - Line-scan 방식의 온라인 초분광 영상시스템 구축 및 종자 자동선별부 개발
 - 측정 속도 : 10 cm × 10 cm 기준(종자 약 100개), 5초 이내
- 실시간 GMO 옥수수 발아여부 판별 소프트웨어 개발
 - 옥수수 종자 자동인식 및 실시간 발아유무 선별 모델 적용을 위한 알고리즘 구축
 - 판별 모델을 활용한 GMO 옥수수 발아유무 판별결과 실시간 디스플레이
 - 시스템 사용자의 편의성을 고려한 GUI 소프트웨어 디자인

라) 개발된 시제품의 현장 실증 시험 및 실용화 검증

- GMO 옥수수 종자의 발아/비발아 시료를 무작위 선정 후 blind test를 이용하여 표준검사법(germination test)과 비교 후 예측 정확도 검증수행(n > 10,000)
- 완성된 시스템의 실제 현장 보급을 위한 현장 활용시연 및 현장 사용자를 위한 사용 매뉴얼 개발
 - 현장(검역원 등) 인력의 시스템 평가 수행과 실제 현장의 상황 정보(물량, 검역 시스템, 검역 시간 등)를 바탕으로 개발된 시스템의 현장 적용 시뮬레이션 수행
 - 시뮬레이션을 기반으로 시스템의 현장 적용 능력 분석 및 보급 전략이 포함된 현장 보급 모델 개발 및 시스템 운용 매뉴얼 개발

2. 국내외 기술개발 현황

코드번호

D-04

가. 국내 연구 현황

1) 국내 연구 현황

○ 분광분석기술을 이용한 농·식품의 품질 판정 연구

- 기존의 식품품질 측정법으로 사용되는 GC-MS, HPLC와 같은 이화학적 분석방법의 단점(파괴적인 이화학적 전처리 방법 및 장시간의 실험과 전문 인력에의 의존성)을 극복하기 위해 비파괴 신속 품질측정이 가능한 분광분석법에 대해 현재까지 국내에서 많은 연구가 수행되어 왔음
- 분자진동 측정의 대표적인 기술인 근적외선 분광기술은 1960년대부터 종자 비파괴 측정에 적용되기 시작하였음. 최근까지 곡물의 수분 및 단백질 등의 성분함량 측정, 곡물의 품종 분류, 종자 내부의 충해 여부진단 등에 관한 연구가 보고 되고 있음
- 임 등(2011)은 근적외선 분광법을 이용하여 콩과 이물질을 판별함으로써 식품 내 이물질의 검출 가능성을 보여 주었으며, 강 등(2009)은 참기름의 진위 판별에 근적외선을 활용함으로써 위조된 식품의 검출 가능성을 보여줌. 식품 성분함량을 근적외선 및 라만 분광을 이용하여 비파괴적으로 측정할 수 있는 기술개발에 관한 연구가 수행되어 왔음(김 등, 2005; 안 등, 2007; 이 등, 2009)

○ 초분광 영상 시스템을 이용한 농·식품의 품질 판정 연구

- 근적외선 분광분석법은 비파괴, 비접촉 및 신속 측정방법으로 위해식품 판별을 위한 강력한 대안기술로 활발히 연구되고 있으나, 대상물 전체면에 대한 공간적인 변이 정보가 배제된 평균개념의 측정방법이므로 식품 전체 또는 대량의 시료에 정밀한 품질 맵핑 및 동시 측정이 불가능하였음. 초분광 영상기술은 대상물의 평균적인 분광정보를 이용한 측정방법의 한계를 극복하여 세부영역의 분광정보를 측정할 수 있으며 여러 시료를 동시에 신속하게 측정이 가능하여 새로운 비파괴 측정방법의 하나로 인정받고 있음
- 국내에서 초분광 영상 시스템은 방울토마토의 내부 품질(김 등, 2011), 사과와 명(조 등, 2011), 배의 명(이 등, 2014) 등 농산물의 품질측정을 위한 기초 연구가 수행되었으며, 최근 종자 품질 및 활력에 관한 연구에도 적용되고 있음

○ 분광분석기술을 이용한 종자 검정 연구

- 근적외선 및 초분광 영상기술은 최근 채소작물의 발아 검정기술로 활용하려는 연구가 진행되고 있음. 호박과 오이(민 등, 2004), 박(민 등 2004), 옥수수(민 등,

2004)의 퇴화종자와 건건 종자의 판별에 근적외선을 이용하여 높은 정확도로 분석할 수 있음이 보고되었으며, 강 등(2012)는 근적외선을 이용하여 벼 품종의 비파괴적 판별 연구를 수행하였음

- 근적외선 영상기술(FT-NIR)을 이용하여 수박 종자의 발아여부 측정 연구(Lohumi 등, 2013)와 상추 종자의 비파괴 선별(안 등, 2012)에 관한 연구를 수행하였으며, 중적외선을 이용하여 온도 변화에 따른 상추의 발아력 측정(김 등, 2013)에 대한 연구가 수행되었음
- 배추 종자(안 등, 2012)와 오이 종자(모 등, 2013)의 발아력을 초분광 반사광 영상을 이용하여 측정하였으며, 무 종자의 발아여부 비파괴 판별(안 등, 2012)연구, 상추 종자의 활력 비파괴측정 기술 개발(안 등, 2012)에 초분광 영상 시스템이 이용되었음. 개별 시료를 각각 측정하여야 하는 근적외선 분광기술과는 달리 초분광 영상기술은 대량의 시료를 동시에 측정할 수 있는 장점이 있어 비파괴 전수검사 기술로서의 가치를 인정받고 있음. 채소종자의 발아력 검사에 대한 연구는 활발히 진행되고 있으나 옥수수 등 사료용 종자에 대한 연구는 아직 수행이 되고 있지 않은 실정임

2) 국외 연구 현황

○ 비파괴 농·식품의 품질 판정 연구를 위한 초분광 영상기술 활용

- 진보된 첨단 분광기술인 초분광 영상 기술을 이용한 식품품질 측정 연구가 점차로 활발해 지고 있음. 가공 전 원료 물질 내 존재하는 이물질의 검출, 식품 내 곰팡이의 판별, 식품의 주요 영양성분 함량 측정 등에 관한 기초 연구에 초분광 영상기술이 최근 응용되기 시작하였음. 초분광 영상기술은 기존의 분광분석법으로는 불가능하였던 대상물 전체 공간 영역에 대한 물리화학적 분석이 가능하며 대량의 시료를 동시에 신속하게 측정이 가능하다는 장점이 있음
- 초분광 영상기술은 광과장 및 원리에 따라 가시광 및 근적외선 영역(Visible/NIR, 400-1,000 nm), 단파적외선 영역(SWIR, 1,000-2,500 nm), 형광 및 라만 산란 방식으로 나눌 수 있음. 초분광 영상기술 중 가시광 및 근적외선과 형광 방식은 시스템 구성이 상대적으로 간단하면 경제적이라 연구가 가장 활발히 진행되어 왔음
- 가축 배설물에 감염된 사과와 멜론 검출(Vargas 등, 2005; Kim 등, 2007), 계육 표면의 내장 잔유물 검출(Cho 등, 2009), 피클의 내·외부 품질 평가 등에 이용되어 왔고(Diwan 등, 2010), 사과의 명 및 오염물 검출(EI Masry 등, 2009; Mehl 등, 2004), 딸기의 품질 예측(EI Masry 등, 2007), 소고기의 연화성 측정(Naganathan 등, 2008)등 식품의 안전 및 품질 평가에 관한 연구에 응용되고 있음

- 단파적외선 방식은 가시광 및 근적외선 영상보다 식품의 화학성분 분석 적용범위가 더욱 넓어 보다 정확하고 효율적인 품질 및 안전성 측정기술로 활용될 수 있음. 단파적외선 초분광 영상을 이용한 연구로는 충해밀의 검출(Singh et al, 2010) 과 밀의 alpha amylase 함량 예측(Xing et al, 2000) 등에 활용되었을 뿐 식품품질 측정에 관한 연구는 아직 연구 초기단계에 있음

○ 종자 비파괴 품질측정을 위한 초분광 근적외선 분석기술 활용

- 국외에서는 종자의 활력도 비파괴 측정과 관련해서는 내부 퇴화 및 공동에 의한 불량종자 등을 별할 수 있음이 보고되었으며(Soltani, 2003; Tigabu, 2003), 최근 해외에서 옥수수과 밀의 초기 발아여부(Koc, 2008), 상업용 옥수수 종자의 품종 판별(Zhang et al., 2012; Zhu et al., 2013), 진균 감염진단(Fiore, 2010), 충해여부(Singh, 2010), 효소 활성도(Xing, 2011) 등의 측정에 초분광 영상기술이 응용되었음
- 최근에는 밀 종자 품종 판별 및 발아 정도에 따른 특징 분석(Chen et al., 2014), 포도 종자 품종에 따른 성숙 단계의 특징을 통한 예측(Rodríguez-Pulido et al., 2013)에 근적외선 초분광 영상기술을 적용한 연구가 수행되었으며, Kong et al.(2013)은 초분광 영상기술과 다변량 데이터 분석을 이용하여 쌀의 재배품종을 확인할 수 있음을 보고하였음
- 최근의 연구 사례들은 종자 품종 판별, 이병 및 불량종자 검정, 종자 활성도 및 발아력, 발아 정도에 따른 특징에 대해 초분광 영상 기술이 정확한 분석법으로서 적용 가능성이 높음을 보고하였음. 따라서 GMO 종자의 발아 검정에 있어서 초분광 영상기술은 비파괴 센싱 기술 중 실용화를 위한 가장 가능성이 높은 기술로 활용될 수 있을 것으로 판단됨

3. 연구수행 내용 및 결과

코드번호	D-05
------	------

가. 연구개발의 최종목표 및 주요내용

1) 연구개발의 최종목표

본 연구에서는 비파괴 분광분석기술로 농산물 품질측정에 꾸준히 활용되어오고 있는 근적외선 분광기술에 공간 정보를 융합한 첨단 초분광 영상기술을 활용하여 기존의 방법으로는 불가능하였던 사료용 GMO 옥수수의 발아여부를 대량 전수 검사할 수 있는 기술을 개발하고 그 측정시스템을 실용화하고자 함

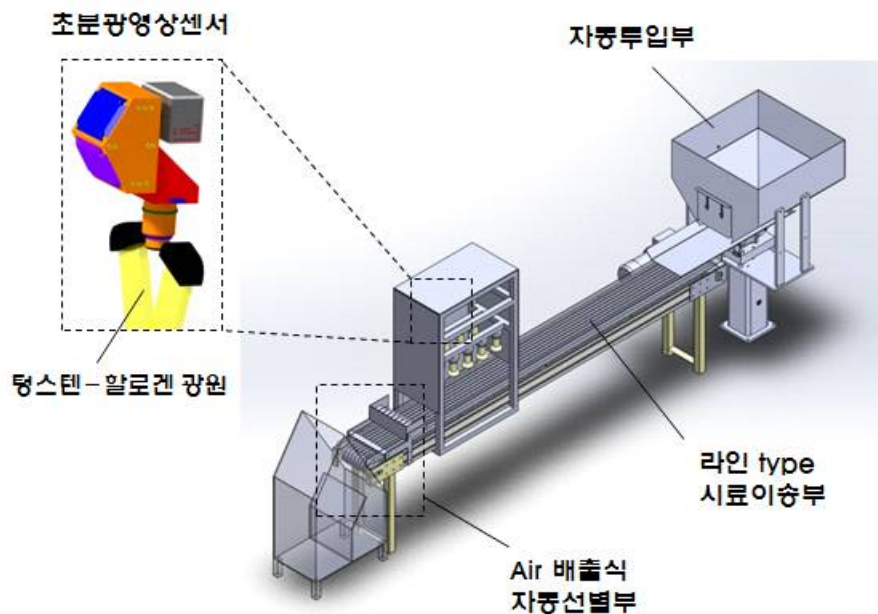


그림 8. 최종 시스템 개략도

< 시스템의 주요특징 >

- 시료 투입 → Auto positioning → 자동이송 → 초분광 영상측정 → 초분광 영상데이터의 스펙트럼 실시간 자동분석 → 발아여부 판별영상 Display → Air blow식 자동선별
- 초분광 반사광 영상 기반 측정으로 대량 실시간 측정 및 정밀 전수검사가 가능함

< 개발 기술의 정량적 목표 >

- 판별 정확도 : 발아여부 95% 이상(최대 98% 이상) 정확도 구현
- 판별 속도 : 10 cm × 10 cm 크기(종자 약 100개) 기준 5초 이내
- 이동 및 실내 사용이 편리한 콤팩트형 제작 : 전장 2 m 이내
- 이송 속도 편차: ±5% 이내

2) 연구 개발의 주요 내용

가) 국내에 사료용으로 수입되는 GMO 농산물 595만 5,000톤 중 **옥수수가 97%인 577만 9,000톤을 차지**하고 있으며, 또한 사료용으로 수입되는 옥수수의 99% 이상이 GMO이므로 옥수수를 본 연구의 시료로 활용함

나) 사료용 GMO 옥수수 종자의 발아유무의 비파괴적 신속 검정을 위한 **초분광 가시광(Visible), 근적외선(NIR) 및 단파적외선(Short infra-Red, SWIR) 영상 분석 기술 개발**

○ 고속 초분광 영상획득을 위한 line-scan 초분광 Vis/NIR/SWIR 시스템 구축

- 대상물의 물리·화학적 분석 정확성을 최적으로 수행할 수 있는 파장역역 분석을 위해 초분광 가시광 및 근적외선 영역 (400-1,000 nm)과 단파적외선 영역 (1,000-2,500 nm)을 동시에 활용할 수 있도록 시스템을 구성함

- 시스템 구성 : Spectrograph, CCD 및 MCT 카메라, 할로젠 램프
- 주요사양 : 검출파장 400~1,000 nm (EMCCD) 및 1,000~2,500 nm (MCT), Spectral Resolution 5~20 nm, 고속 영상프레임 (170 line/sec 이상)획득

- 파장별 영상 조합을 통한 최적 선별조건과 고속선별을 위한 초분광 영상 시스템 구축
- 가시광 및 근적외선 영역과 단파적외선 영역의 판별정확도 분석 후 최적 파장 영역 선정

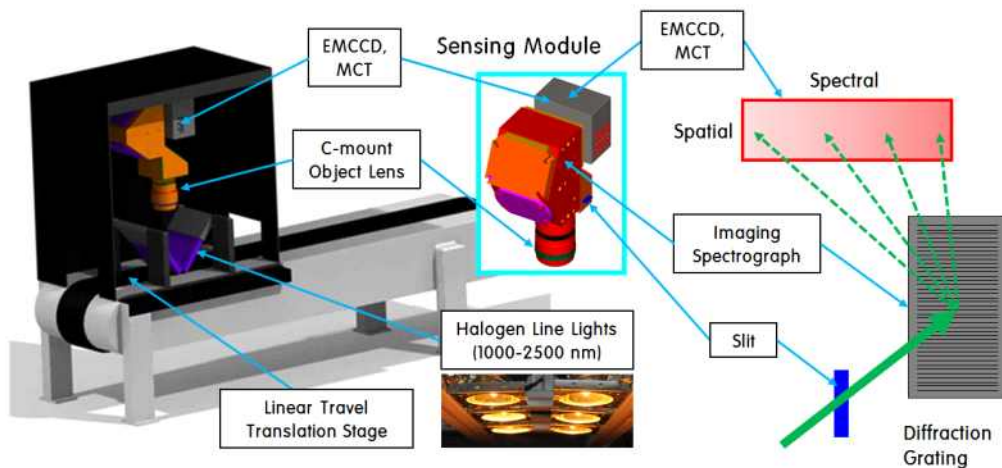


그림 9. 라인 스캔 방식 초분광 영상 시스템 개략도

○ 초분광 영상을 기반으로 한 GMO 옥수수 종자의 최적 선별을 위한 모델 개발

- 스펙트럼 분석을 통한 발아여부 관련 특정 분광정보 분석

- Partial least squares analysis (PLS), Principal component analysis (PCA), Canonical variate analysis (CVA) 등 통계적 모델과 Chemometrics를 이용한 GMO 발아억제 유도 처리 판별에 관한 정성 및 정량 분석 모델 개발
- Differentiation, Normalization, SNV, MSC 등 다양한 전처리 기법을 적용하여 시스템 및 환경요인의 의한 오차 보정
- 최신분류기와 Linear discriminant analysis (LDA), Support vector machine, Adaboosting 방법 등을 활용하여 개발된 모델의 정확도 향상 연구

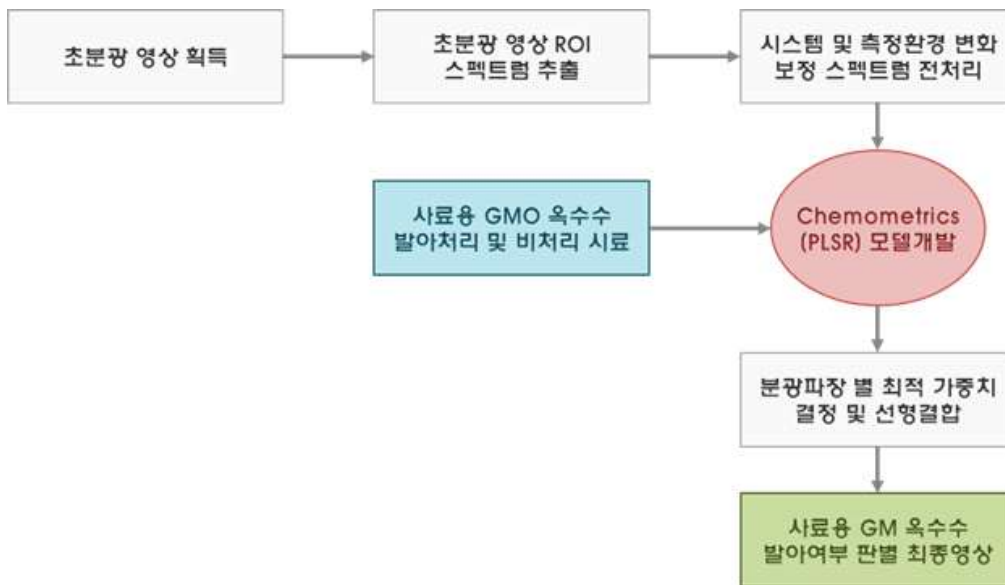


그림 10. 초분광 영상을 이용한 GMO 옥수수 발아여부 판별모델 개발 과정 개념도

다) GMO 옥수수 종자의 발아 유무의 실시간 검사가 가능한 고속 비파괴 전수검사 시제품 개발

- 개발된 판별 모델이 장착된 실시간 비파괴 자동 전수검정용 초분광 영상 시스템 개발
 - Line-scan 방식의 온라인 초분광 영상시스템 구축 및 종자 자동선별부 개발
 - 측정 속도 : 10 cm × 10 cm 기준(종자 약 100개), 5초 이내
- 실시간 GMO 옥수수 발아여부 판별 소프트웨어 개발
 - 옥수수 종자 자동인식 및 실시간 발아유무 선별 모델 적용을 위한 알고리즘 구축
 - 판별 모델을 활용한 GMO 옥수수 발아유무 판별결과 실시간 디스플레이

- 시스템 사용자의 편의성을 고려한 GUI 소프트웨어 디자인

라) 개발된 시제품의 **현장 실증 시험 및 실용화 검증**

- GMO 옥수수 종자의 발아/비발아 시료를 무작위 선정 후 blind test를 이용하여 표준검사법(germination test)과 비교 후 예측 정확도 검증수행(n > 10,000)
- 완성된 시스템의 실제 현장 보급을 위한 현장 활용시연 및 현장 사용자를 위한 사용 매뉴얼 개발
 - 현장(검역원 등) 인력의 시스템 평가 수행과 실제 현장의 상황 정보(물량, 검역 시스템, 검역 시간 등)를 바탕으로 개발된 시스템의 현장 적용 시뮬레이션 수행
 - 시뮬레이션을 기반으로 시스템의 현장 적용 능력 분석 및 보급 전략이 포함된 현장 보급 모델 개발 및 시스템 운용 매뉴얼 개발

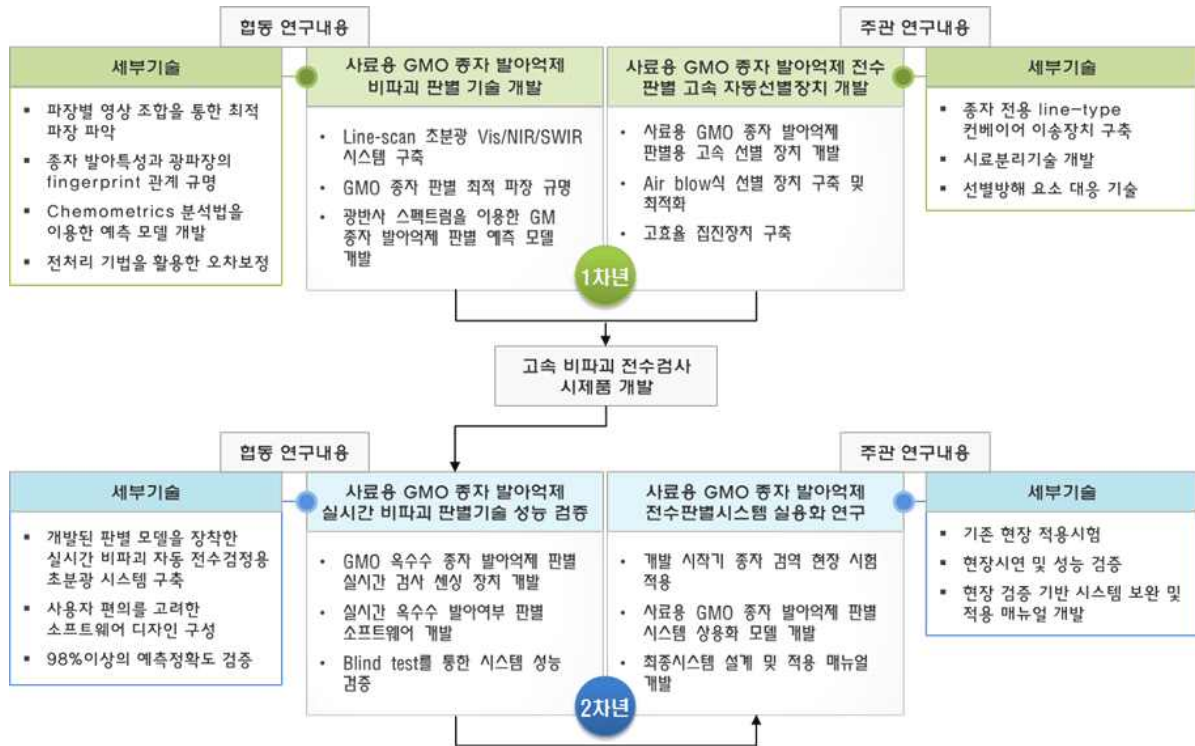


그림 11. 세부 연구 내용 및 연구 체계도

나. 과제별(세부-협동) 연구개발의 목표 및 내용

1) 주관기관: (주)생명과학기술

가) 최종목표

- 사료용 GMO 종자 발아억제 전수판별 고속 자동선별 시스템 개발 및 현장검증

나) 연구내용

○ 사료용 GMO 종자 발아억제 판별용 고속선별 장치 개발

- 종자 전용선별을 위한 line-type 컨베이어 이송 장치 구축
- 이동 중 종자의 탈락(튀는 현상) 최소화 장치설계

○ Air blow식 선별장치 구축 및 최적화

- 고속 선별용 air blow 장치 구축: 1000Hz(1초에 1000번 분사 가능)의 고속 air blow 장치를 이용하여 판별 결과에 따라 공기를 뿜어내어 선별 대상 종자를 분리하는 장치 구축
- 구축된 air blow 장비 테스트 및 종자 선별에 최적화된 air blow 장치 구축
- 다양한 크기·형태·무게 등을 고려한 시료분리기술 개발

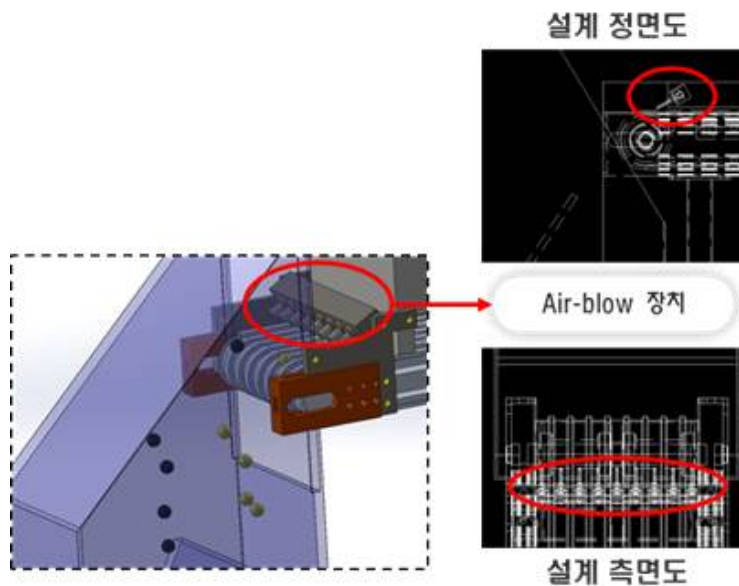


그림 12. 고속 선별용 air blow 장치 개략도 및 예상 설계도

○ 센서와 선별기기 인터페이스 구축

- 판별결과 영상과 air blow 장치를 연계하는 센싱-선별기 인터페이스 구축

○ 정밀 개체 공급 장치 구축

- 종자 개체의 line 별 공급 및 간격유지를 통해 센싱 및 배출이 용이한 개체 공급 장치 구축

○ 종자 검역 현장 시험 적용

- 검역 현장 적용시험(부산 검역소 협조)

- 개발시스템의 현장시연 및 성능검증(정확도, 사용자편의성, 공간효율성 등)
- 사료용 GMO 종자 발아억제 판별 시스템 상용화 모델 개발
 - 현장 검증 결과 feedback을 통한 시스템 보완(제품 완성도 향상)
 - 최종 설계 확정 및 Operation Manual 제작

2) 협동기관: 충남대학교

가) 최종목표

- 사료용 GMO 종자 발아억제 비파괴 판별기술 개발

나) 연구내용

- Line-scan 초분광 Vis/NIR/SWIR 시스템 구축 및 최적 파장영역 구명
 - ① On-line 측정을 위한 line-scan 방식의 초분광 영상시스템 구축
 - ② 파장대역 : 400-1,000 nm (Vis/NIR), 1,000-2,500 nm (SWIR)
 - ③ 센서 : Charge Coupled Device(CCD), HgCdTe(MCT sensor)
- 광반사 스펙트럼을 이용한 GMO 종자 발아억제 판별 예측 모델 개발
 - ① 발아억제 처리 종자 이화학적, 생물학적 특성과 광파장 fingerprint 관계 구명
 - ② Chemometrics 분석법을 이용한 예측 모델 개발
 - PLSR 등 모델개발 및 성능분석 (factor, R-square, root mean square error 등 비교 분석)
 - 시스템 및 환경요인의 의한 오차 보정 (미분, Normalization, SNV, MSC 등 전처리 기법 적용)
 - Linear discriminant analysis (LDA), Support vector machine, Adaboosting 방법 등의 최신 분류기를 활용한 개발된 모델의 정확도 향상
- GMO 옥수수 종자의 발아억제 판별 실시간 검사 센싱장치 개발
 - ① 개발된 판별 모델이 장착된 실시간 비파괴 자동 전수검정용 초분광 영상 시스템 구축
 - Line-scan 방식의 온라인 초분광 영상시스템 구축
 - 측정 속도 : 10 cm × 10 cm 기준(종자 약 100개), 5초 이내
 - ② 실시간 GMO 옥수수 발아여부 판별 소프트웨어 개발
 - 옥수수 종자 자동인식 및 실시간 발아유무 선별 모델 적용을 위한 알고리즘 구

축

- 관별 모델을 적용한 GMO 옥수수 발아유무 관별결과 실시간 디스플레이
 - 시스템 사용자의 편의성을 고려한 GUI 소프트웨어 디자인
- 개발시스템 센싱부 성능검증
- GMO 옥수수 종자의 발아/비발아 시료를 무작위 선정 후 blind test를 이용하여 예측 정확도 검증수행($n > 10,000$), 목표 정확도: 95% 이상 (최대 98% 이상)

다. 연구 개발 수행 내용 및 결과

1) 초분광 SWIR 영상 고속 스캔기술 개발

가) 초분광 SWIR 영상시스템

- 초분광 SWIR 영상시스템 구축에 사용된 개략도는 그림 11과 같다. 초분광 영상장치는 1,000 nm ~ 2,500 nm 영역의 단파적외선 영상을 획득할 수 있는 Mercury cadmium telluride sensor (MCT) 카메라(Xeva-2.5-320, Xenics, Belgium)와 Imaging spectrograph (SWIR, Headwall photonics, Fitchburg, MA, USA)를 이용하였으며 MCT 카메라 제원은 표 2와 같다.

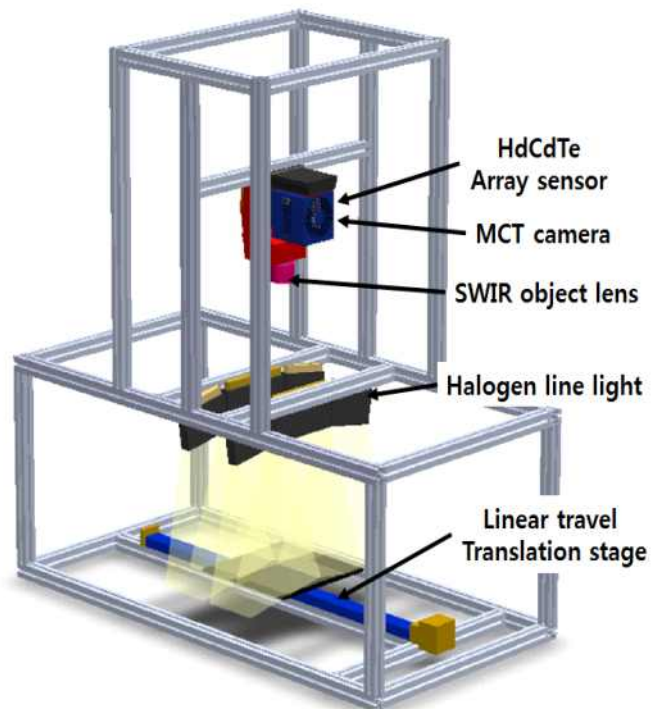


그림 13. Schematic of hyperspectral SWIR imaging system.

표 2. Specifications of the hyperspectral SWIR imaging system

Part	Item	Specification
Vision System	MCT sensor	Array Type : HgCdTe, Spectral band 850 nm ~ 2500 nm, #Pixels : 320 × 256, Pixel Pitch : 30 μm, Array Cooling : TE2, Pixel operability : >99%
	Imaging performance	Frame rate: Video rate : 100 Hz, Integration type : Snapshot, Exposure time range : 100 μsec up to 20 msec , Noise level : 9.3 AD counts, S/N ratio : 64 dB, A to D conversion resolution : 14 bit
	Lens	Focal length : 16 mm f/1.4 Optical interface : C-Mount, spectrograph fixation holes
	Interfaces	Camera control : USB 2.0, Image acquisition : CameraLink. Trigger : TTL levels, Graphical User Interface (GUI) : Xeneth Advanced
	Physical characteristics	Camera cooling : Forced convection cooling, Cool-down time : < 300 sec, Ambient operating temperature : 0 to 50 °C
	Lighting	100 W halogen lamp × 3 (2 Set)
	Slit	25 μm slit
	Vision controller	Quad core(2.4 GHz) CPU, 2 Gbyte main memory

- 초분광 영상을 라인스캔으로 획득하기 위해 시료 이송부에는 step motor를 장착하여 시료의 이송 속도를 조절 할 수 있도록 구성하였다. 초분광 SWIR 시스템의 광원은 할로겐램프를 사용하였다. 할로겐램프는 가시광에서 적외선 영역까지 폭넓은 스펙트럼을 가지고 있어 특수조명, 분석기기용 광원, 교정용 표준 광원, 계측기기용 광원 등 다양한 용도로 활용되고 있다. 할로겐램프는 수명이 끝날 때까지 파장의 변화가 거의 없으며 출력이 안정적이고, 취급이 용이하며, 가격이 저렴한 장점이 있다. 하지만 일반적인 할로겐램프는 1500 nm 이상에서 출력이 약하기 때문에 본 연구에서는 금으로 코팅된 반사경이 장착된 광원을 사용하였다. 광원은 6개의 100 W 할로겐램프를 optical fiber를 사용하여 측정 대상물에 광이 고르게 분포될 수 있도록 구성하였다. 그림 12는 구축하여 사용한 초분광 SWIR 영상시스템의 실제 모습이다.

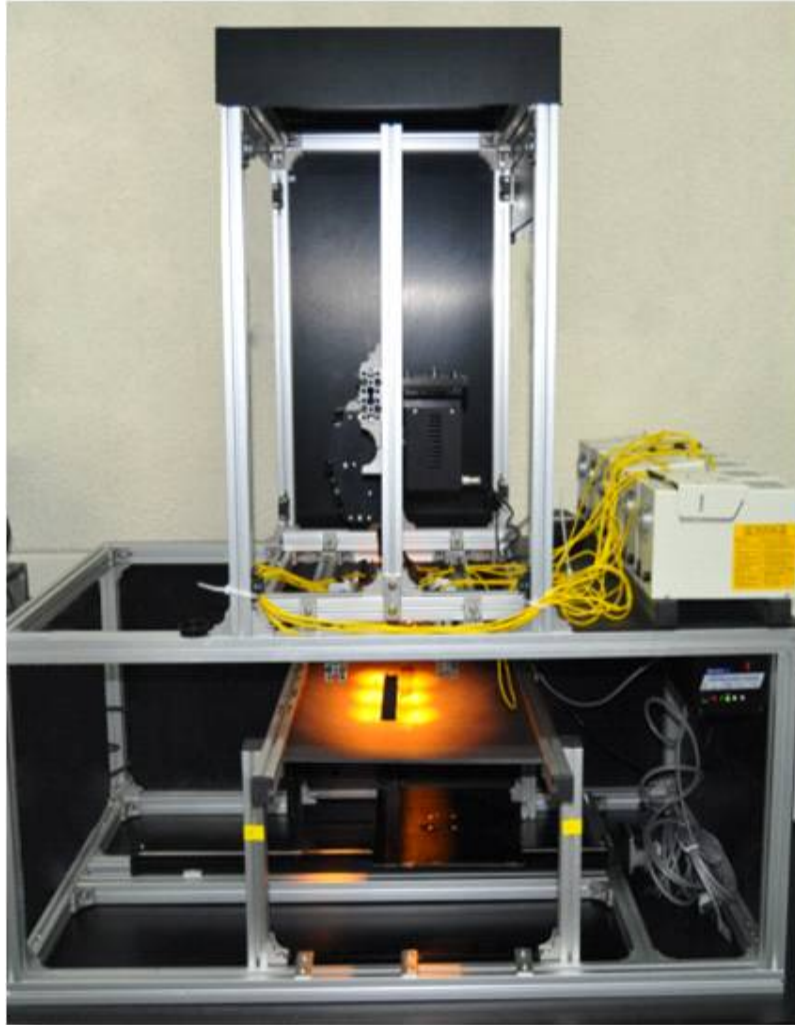


그림 14. Hyperspectral SWIR imaging system.

2) 사료용 GMO 종자 발아억제 기술 개발

가) 사료용 GMO 종자 발아억제를 위한 열처리 기술 개발

① 마이크로웨이브를 활용한 열처리

- 본 연구에서는 사료용 GMO 종자를 비접촉/비파괴 방식으로, 효과적으로 발아억제하기 위한 방법을 찾고 그 방법을 검증하였다.
- 우선 GMO 종자를 발아억제하는데 마이크로웨이브의 적정 세기를 구명하기 위해 여러 단계의 세기와 노출시간을 인가하였다. 종자 발아억제를 위한 실험 조건은 마이크로웨이브의 세기가 각각 400, 500, 600, 700, 800, 900 및 1,000 와트였으며, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 분 동안 인가하였다. 이때 사용한 오븐은 2450 MHz의 고용량을 실험에 사용하였으며, 305 × 305 × 205 mm의 챔버에 인가할 출력의 적정 세기를 조절하기 위해 제어박스를 설치하였다 (그림 13).

- 그림 13에서 보듯이 제어판을 이용하여 측정 시간과 수돗물이 든 비이커를 오븐 챔버에 넣고 시간을 측정하여 개발된 식을 이용하여 오븐의 출력을 계산하여 사용하였다.



그림 15. Experimental microwave oven

$$P_o = \frac{((m_w \times c_w) + (m_g \times c_g)) \times \Delta T}{t} \quad (\text{식1})$$

여기에서, m_w 는 수돗물의 질량 (1,000 g),

m_g 는 유리 비이커의 질량 (289.4 g),

c_w 는 수돗물의 비열량 (4.186 J/g°C),

c_g 는 유리 비이커의 비열량 (0.84 J/g°C),

ΔT 는 $T_2 - T_1$ 이며, t 는 히팅 시간 (s)을 나타낸다.

- 위의 실험 장치와 개발된 식(1)은 본 연구에 사용된 400, 500, 600, 700, 800, 900 및 1,000 와트의 인가 전력을 캘리브레이션하는데 사용하였다.
- 그림 14는 본 연구에 사용된 옥수수 종자를 색깔별로 정렬한 모습과 오븐에 넣어 발아억제하는 모습을 나타내었다. 각 건진 종자는 5% 이내의 수분함량을 가졌으며, 각 종자는 $105 \pm 1^\circ\text{C}$, 17h법을 이용하여 건물의 함수율을 측정하였다. 준비된 종

자를 정렬하고 (a), 오븐에 넣어서 건조한 후 (b), 건조된 종자는 수분의 흡수를 억제하기 위하여 polypropylene이 함유된 뚜껑이 있는 통에 보관하였다(c).



그림 16. Microwave corn ageing treatment sequence.

② 발아 검사

○ 건조 처리한 종자는 발아 검사를 통하여 처리의 효율을 평가하였다. 발아 테스트는 ISTA에서 제시한 BP법을 따라서 수행하였으며, 처리한 방식은 그림 15와 같다.

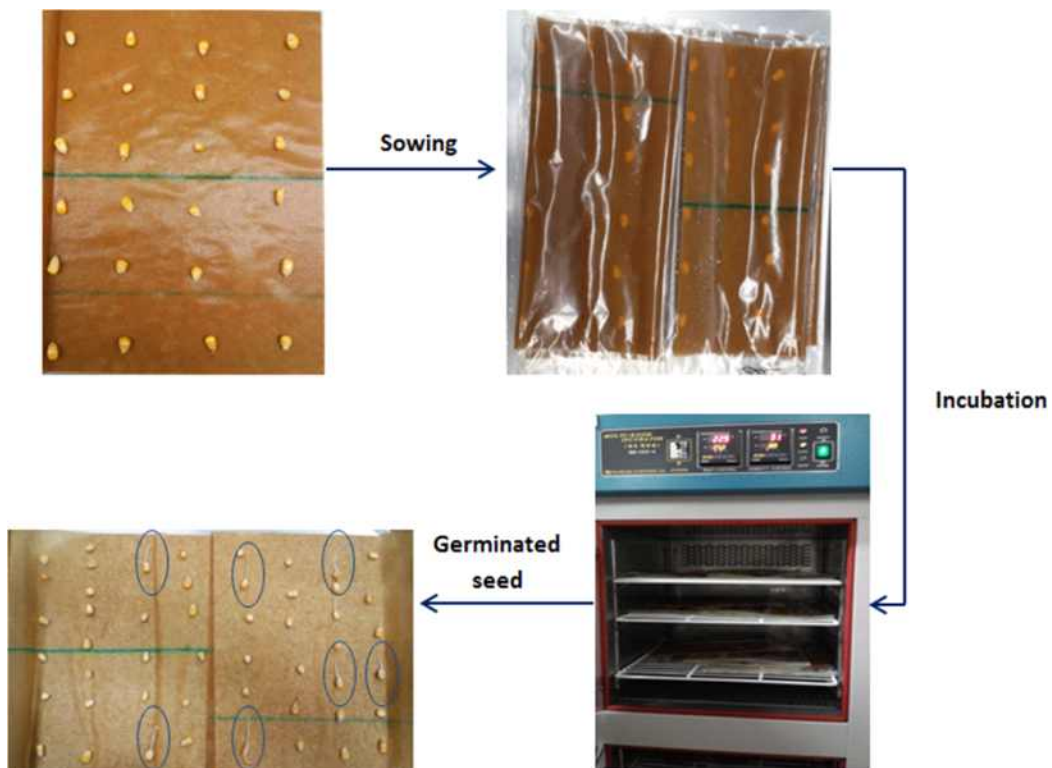


그림 17. Corn germination test sequence

- 열처리한 종자와 처리하지 않은 대조구 모두 발아 테스트를 수행하면서, 인가된 입력 전력에 따른 발아억제 효율을 비교하였다. 발아 검사는 국제종자검사협회의 방법에 따라 처리구와 대조구를 종이에 얹어서 조심스럽게 비닐 백에 넣었

다. 각 백에는 50 ml의 증류수를 공급하여 종자를 침지하면서 함수율 25%가 되도록 처리하였다.

- 종자를 넣어 둔 백을 온도 25°C, 상대습도 80%로 유지되는 종자발아기에 7일간 넣어 두었다. 발아를 위한 충분한 기간인 7일 후에 전체 종자대비 발아된 종자의 비율을 계산하였다. 발아의 판단은 종자에 적어도 2mm의 뿌리가 생긴 것을 발아가 된 것으로 판단하였으며, 반복은 2회 실시하였다.
- 그림 15에서 동그라미가 그려진 종자는 발아된 것으로 판단하고 인가된 전력대비 발아율을 판단하여 최적의 전력세기와 인가시간을 결정하였다.

○ 표 3은 인가된 전력세기별 발아억제 효율을 보여주고 있다.

표 3. Microwave input power versus output

Nom. P(Y)	Observed P(\hat{Y})	$e = \ \hat{Y} - Y\ $	Efficiency (%)
400	293.12	106.88	73.28
500	366.22	133.78	73.24
600	458.19	141.81	76.37
700	525.14	174.86	75.02
800	581.93	218.07	72.74
900	639.35	260.65	71.04
1000	714.19	285.81	71.42
		Av. Efficiency	73.3

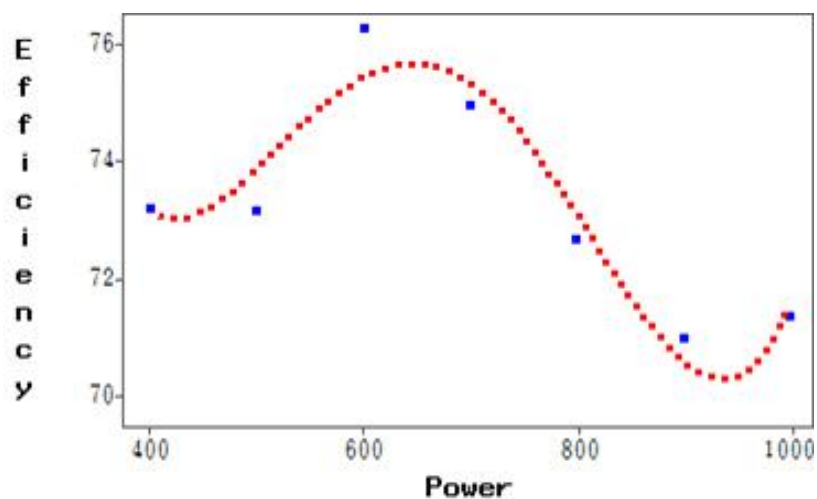


그림 18. Microwave power efficiency

- 그림 16은 표 38에서 보인 인가된 마이크로웨이브의 세기에 따른 효율성의 상관을 나타내었다. 그림에서 보듯이 기기의 효율은 600~700W에서 가장 큰 효율을 보였으며 (약 75~76%), 800W이후에 급격하게 하락하는 모양을 보였다. 400~1000W의 세기에 대한 효율은 평균 73.3%로 나타났다.

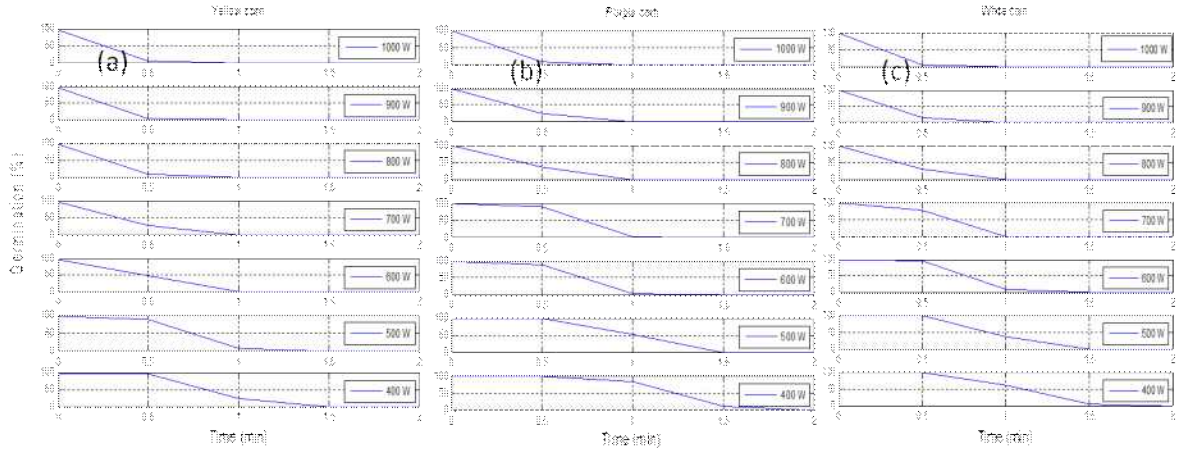


그림 19. Germination response to microwave heat treatment in corn kernels with different input powers and exposure times

- 그림 17은 시간별(0~2분), 세기별(400~1000와트), 종자별 발아율을 나타내고 있다. 세 종자 모두 열처리 시간에 따른 발아율의 저하가 유사한 모양새를 나타내고 있지만 개별적으로 살펴보면 황색 종자의 경우(a)가 자색(b)과 백색(c) 종자에 비해 같은 세기의 전력이 입력될 때 발아억제 시간에 빨리 도달하는 것을 볼 수 있다. 반면, 세 종자 모두 열처리 시간이 40초 이상인 경우 발아력이 영이 되는 것을 보여주었다. 게다가 종자의 물리적인 변형율은 60초 이후에 가장 높은 것으로 나타났다. 따라서 본 실험을 바탕으로 사료용 GMO 종자의 발아억제를 효과적으로 수행하기 위해 열처리 조건은 1000W의 세기로 40초 이상의 노출시간으로 정리할 수 있다.
- 그림 18에는 시간에 따른 종자별 발아율의 변화(a)와 물리적 변화율(b)을 나타내었다. 종자별 차이는 있지만 전체적으로 열처리 시간에 지수적으로 반비례하여 발아율이 떨어졌으며, 물리적 변화는 40초 이후부터 지수적으로 증가함을 알 수 있었다.

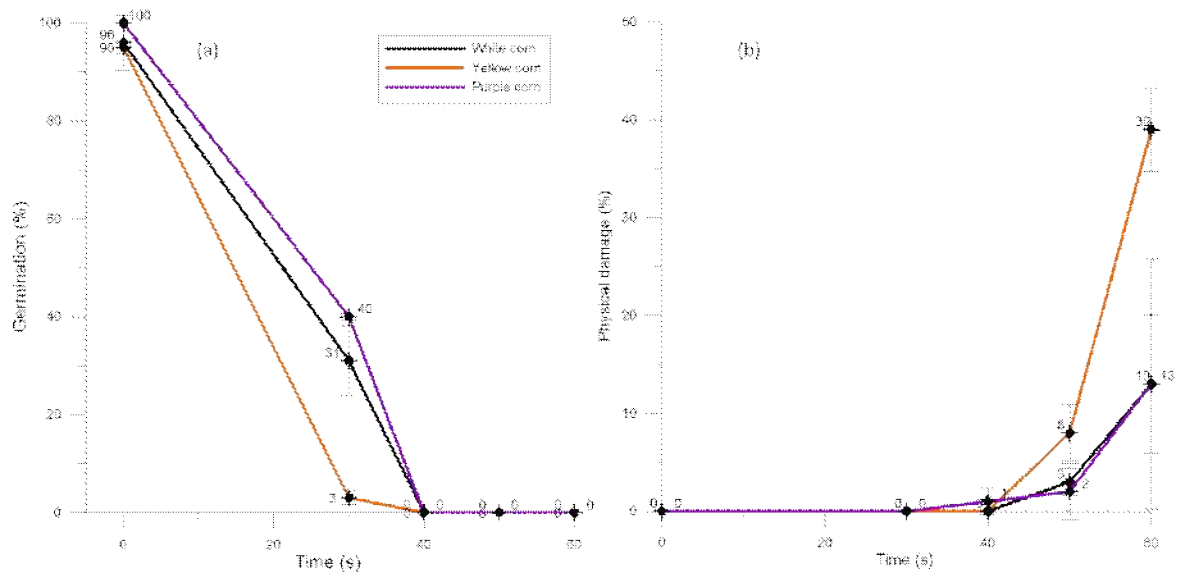


그림 20. Graph showing optimum conditions for microwave aging treatment of corn kernels.

3) 사료용 GMO 종자 발아억제 비파괴 판별 기술 개발

가) FT-NIR을 이용한 판별모델 개발

① 데이터 획득

○ 본 연구에서는 FT-NIR (Fourier transform near-infrared) 분광기(Antaris II FT-NIR analyzer, Thermo Scientific Co., USA)를 사용하여 세 종류의 옥수수 종자의 스펙트럼을 획득하고 판별 모델을 개발하였다. 각 종자 알갱이의 반사 신호를 획득하기 위해서 할로겐 램프를 이용한 근적외 분광시스템 중앙에 위치시키고, 옥수수 알갱이의 반사 신호를 획득하였다. 반사 스펙트럼을 획득하기 위해서는 세 종류의 옥수수의 열처리된 한 종자(처리구)와 처리하지 않은 종자(대조구) 모두를 4000~10,000 cm^{-1} (1000~2500 nm)의 파장대역에서 8 cm^{-1} 획득하였다.

② 데이터 분석

○ 세 종류의 종자별 데이터를 PCA를 이용하여 분석한 결과는 그림 19와 같았다.

○ 그림 19에는 FT-NIR으로 획득한 황색 옥수수의 처리구(빨강 ○)와 대조구(파랑 △)의 주성분분석 (PCA) 결과를 PC1과 PC2를 이용하여 score plot(a)을 보였으며, 이 분석의 결과를 3차원으로(b)으로 나타내었다. 처리된 종자와 일반 종자의 반사 스펙트럼의 주성분 분석 결과 두 그룹의 패턴 인식이 명확해 보인다. 이는 각 그룹에 속한 스펙트럼의 상관성이 높아서 다른 종자군과 판별이 용이해지는 것을 의미한다.

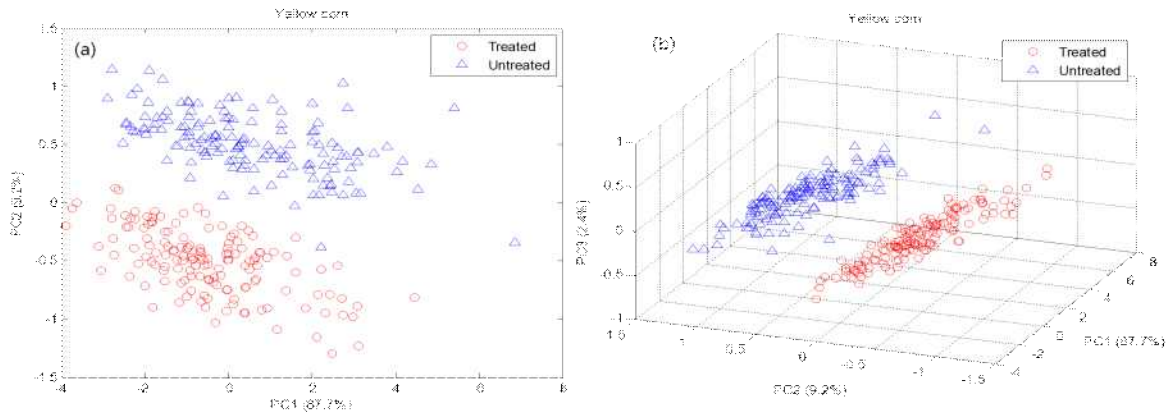


그림 21. PC score plots for viable and nonviable yellow corn seeds by FT-NIR test

- 그림 20에는 FT-NIR로 측정된 옥수수 종자의 주성분 분석한 결과 중 로딩벡터를 나타내었다. 주성분을 형성하는 로딩벡터는 주요 변수(FT-NIR 파장)를 나타내며 그림에서 빨강 선은 PC1, 파랑선은 PC2의 로딩벡터를 나타낸다.
- PC1은 1050, 1110, 1150 nm를 주요 파장으로 나타냈으며, PC2에서는 1134, 1146 및 1254 nm를 주요 파장으로 표시하였다. 그중에서 1150 nm는 제 일 주성분에서 두 처리군을 판별할 수 있는 가장 높은 상관관계를 나타내었으며, 제 이 주성분 중에서는 1134 nm가 가장 높은 상관을 보였다.

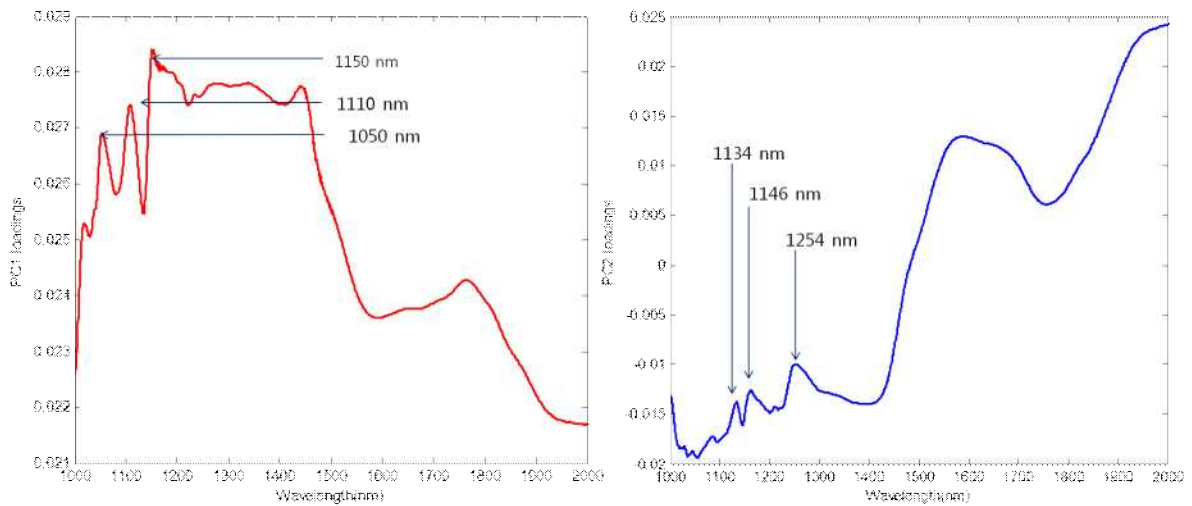


그림 22. PC1 and PC2 loadings of FT-NIR test.

- 위의 그림에서 나타난 분석 경향은 백색과 자색 종자에서도 유사한 결과를 나타내었으며, 이 결과를 바탕으로 처리 종자와 일반 종자의 판별을 위해서 PLS-DA를 이용하여 판별 모델을 개발하였다.

- 처리구와 대조구의 스펙트럼을 이용하여 판별 모델을 개발하기 위해서 두 그룹의 스펙트럼의 유사도를 판정하기 위하여 ANOVA분석을 수행하였다(표 4).

표 4. ANOVA between viable and nonviable corn seeds with FT-NIR spectroscopy

Source	SS	df	MS	F	Prob>F
Groups	0.131	1.00	0.131	94.533	1.38x10 ⁻¹⁹
Error	0.413	298.00	0.0014	-	-
Total	0.544	299.00	-	-	-

○ 그림 21은 처리구와 대조구의 평균 흡수 스펙트럼을 나타내었다. 파장 중에서 1050~1250 nm 구간은 탄수화물의 영역이다. 표 43은 분산분석의 결과를 나타내었으며, 5%의 통계적인 신뢰구간 내에서 F값을 나타내었다. 두 그룹 간 스펙트럼의 차이는 열처리를 통해 종자의 화학적 물리적 특성이 변형되었기 때문에 발생하는 것으로 판단된다. 마이크로웨이브를 이용한 열처리를 통해서 옥수수 종자의 전분, 단백질, 수분의 감소가 발생하게 되며, 이런 차이를 근적외 분광법을 이용하여 쉽게 판별할 수 있게 되었다.

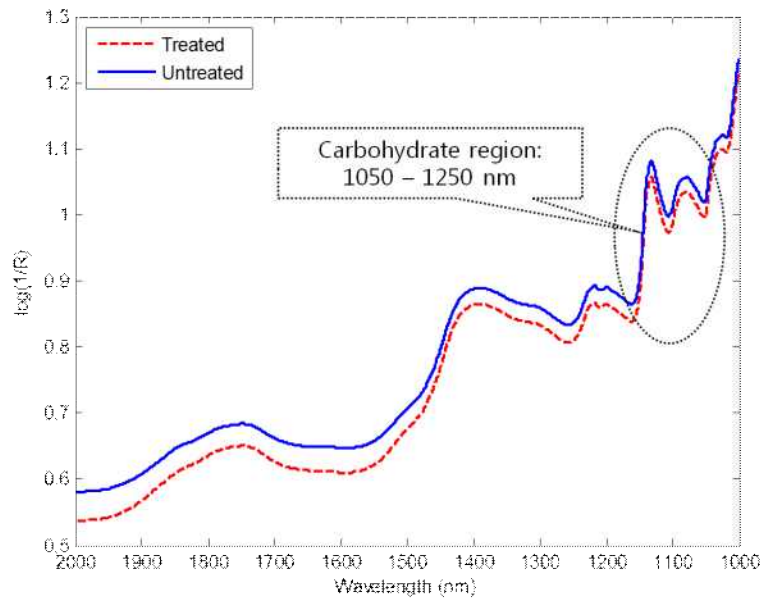


그림 23. Mean spectra of viable and nonviable corns.

③ 판별모델 개발

○ 그림 22는 두 그룹의 분광 스펙트럼의 PLS로 판별한 베타 곡선을 나타낸다. 베타 곡선은 1000~2000 nm에서 두 그룹을 판별할 수 있는 주요한 파장을 나타낸다.

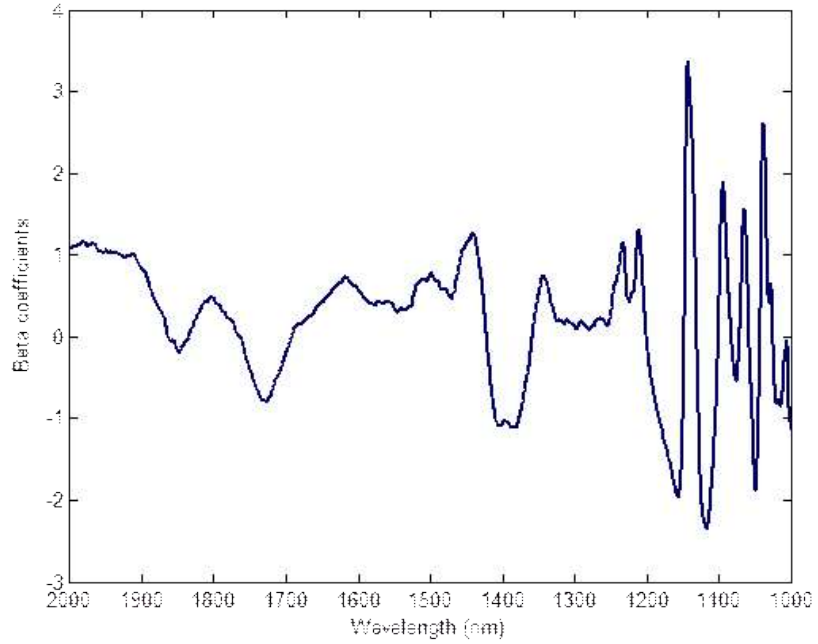


그림 24. Beta coefficient curve of PLS model.

- 베타 곡선에서 볼 수 있듯이 1000~1200 nm의 밴드가 높은 상관관을 나타내었다. 이를 이용하여 처리구와 대조구의 판별을 한 결과는 다음 그림 23에 나타내었다.

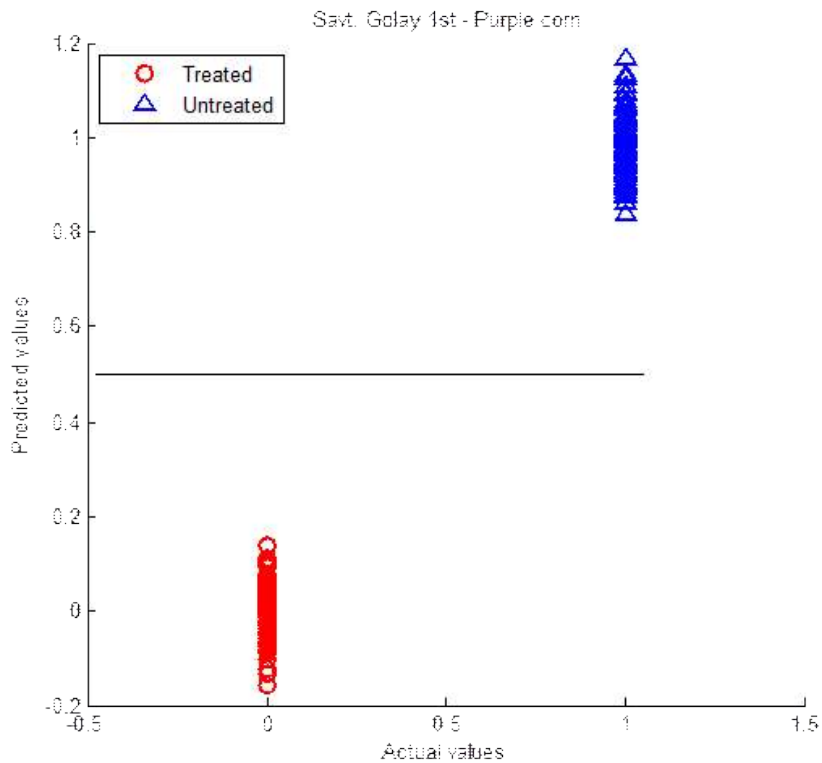


그림 25. 1st derivative based on Savitzky-Golay algorithm classification of treated and untreated corn seeds

- 판별 결과에서 자색 옥수수의 처리구(빨강 ○)와 대조구(파랑 △)는 문턱치 0.5를 기준으로 두 개의 그룹으로 명확하게 판별됨을 볼 수 있다.
- 노이즈 제거 등을 위해 사용한 전처리는 일차 미분이며, 전처리없이 판별한 것을 포함하여 총 여덟 가지의 전처리 효과를 비교하였다.
- 전처리 방법별 판별 결과는 표 5에 나타내었다. 종자별 스펙트럼의 분산은 종자의 색, 크기, 굴곡 및 모양에 따라 차이를 보였다. 2차 미분을 제외하고 대체로 고른 판별 결과를 나타내었으며 그중 부분 정규화(range normalization), 전처리없이 수행한 판별 결과가 가장 좋은 결과를 보였다. 특히 처리구의 판별성능(>95%)의 정확도는 옥수수과 밀의 선행연구와 유사한 결과를 보였다.
- 높은 정확도로 두 그룹을 판별할 수 있었던 근거는 정밀한 FT-NIR의 성능이 받아들여 판별하기에 적합한 정밀도와 성능을 나타냈기 때문인 것으로 판단된다.

표 5. Classification accuracy of PLS model with preprocessing methods on FT-NIR data

Total Accuracy (%) - FT-NIRS			
Calibration (n=210)	Yellow corn	White corn	Purple corn
Mean norm	100	99.5	99.1
Max. norm	100	100	100
Range norm	100	100	100
MSC	99.1	99.1	100
SNV	99.1	99.1	100
Savt. Golay_1 st	100	100	100
Savt. Golay_2 nd	100	100	94.8
Raw	99.5	100	100
Prediction (n=90)			
Mean norm	100	98.9	98.9
Max. norm	100	98.9	100
Range norm	100	100	100
MSC	100	97.8	100
SNV	100	97.8	100
Savt. Golay_1 st	100	98.9	94.4
Savt. Golay_2 nd	85.6	88.9	62.2
Raw	100	100	100

나) Raman을 이용한 판별모델 개발

① 데이터 획득

- 본 연구에서 Raman shift를 획득하기 위해 포터블 라만 기기 (i-Raman, BWTEK Inc., USA)를 사용하였으며, 각 종자의 단립을 측정하여 785 nm의 입력 레이저를 사용하였으며, 라만 쉬프트를 14 x 900 μm 의 CCD 디텍터로 측정하였다. 입력 광

원으로 785 nm의 파장을 사용한 이유는 백그라운드 및 샘플의 형광을 줄이기 위해서 선택하였다. 처리구와 대조구는 0-3500 cm^{-1} 의 파장대역을 4 cm^{-1} 의 정밀도를 가지고 8000 ms의 인테그레이션 시간동안 4회 스캔하고 그것의 평균을 분석에 이용하였다. 특히 측정된 780~1050 cm^{-1} 의 구간에서 950~1050 cm^{-1} 의 경우 상관 이 전혀 나타나지 않아 제외하고 분석은 780~950 cm^{-1} 의 밴드만을 사용하였다.

② 데이터 분석

- 세 종류의 종자별 데이터를 분석한 결과를 다음과 같이 나타내었다.
- 그림 24에는 Raman 기기로 획득한 황색 옥수수의 처리구(빨강 ○)와 대조구(파랑 △)의 주성분분석 (PCA) 결과를 PC1과 PC2를 이용하여 score plot(a)을 보였으며, 이 분석의 결과를 3차원으로(b)으로 나타내었다. 또한, 두 그룹의 라만 신호의 평균 스펙트럼과 처리된 종자와 일반 종자의 반사 스펙트럼의 주성분 분석 결과 두 그룹의 패턴 인식이 FT-NIR과 달리 명확해 보이지 않고 상당 부분 뒤섞여 있음을 발견하게 된다. 이는 약한 라만 신호의 특정 부분이 반영되어 종자의 박층 주변에서 흡수되어 주요 파장이 반영되지 않았을 가능성을 염두에 둘 수 있다. 다른 가능한 원인으로, 열처리된 종자의 최적상태를 처리하지 않은 일반 종자와의 미세한 차이를 약한 라만 신호로는 판별하기 어렵기 때문에 발생했을 가능성을 생각할 수 있다.

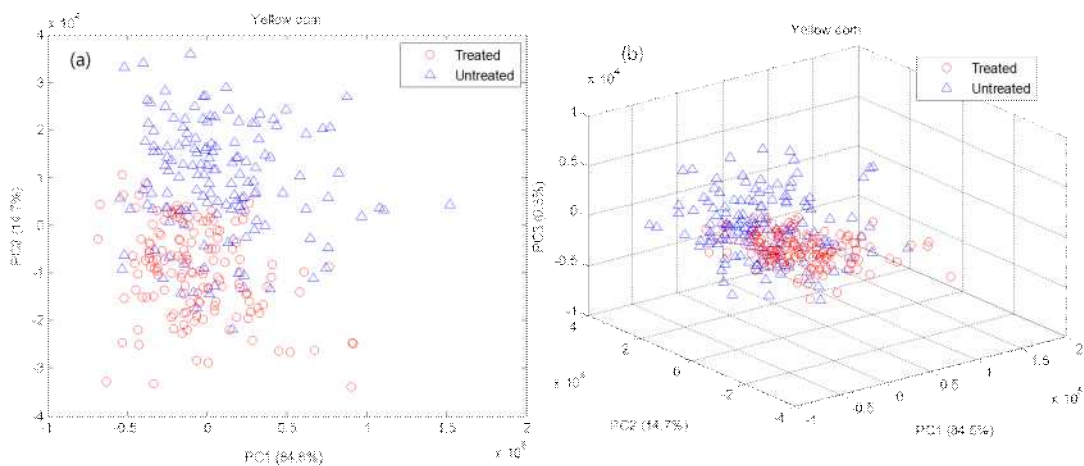


그림 26. PC score plots for viable and nonviable yellow corn seeds with Raman test.

- 처리구와 대조구의 Raman 신호의 판별 성능을 알아보기 위해 분산분석을 실행한 결과를 표 6에 나타내었다.
- 그림 25에는 두 그룹의 Raman shift의 평균 스펙트럼을 나타내었다. 790 cm^{-1} 와 897 cm^{-1} 에서 피크를 보였으며, 이는 1500~700 cm^{-1} 의 구간에서 탄수화물을 흡수대역을

발견했다는 Reis 등(2013)의 연구 결과와 관련이 있음을 알 수 있다. 또한, 950~700 cm^{-1} 의 진동 대역은 전분의 글리코사이드 결합과 상관이 있는 것으로 관찰되었다.

표 6. ANOVA by F-test on Raman test

Source	SS	df	MS	F	Prob>F
Groups	1,961.36	1.00	1,961.36	0.01	0.93
Error	81,225,618.59	298.00	272,569.19	-	-
Total	81,227,579.95	299.00	-	-	-

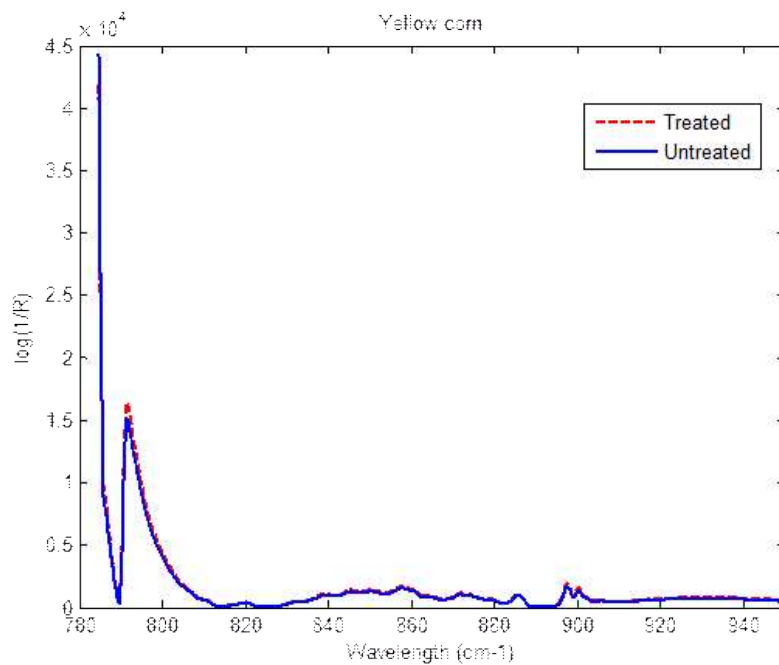


그림 27. Mean spectra of viable and nonviable corns.

③ 판별모델 개발

○ 처리구와 대조구의 종자별 판별모델은 PLS-DA를 이용하여 개발하였으며 사용된 베타 곡선을 그림 26에 나타내었다. 그림에서 동그라미 부분은 그림 25에서 발견한 피크 부분에 해당한다.

○ 각 전처리별 예측 성능을 비교한 결과는 표 7에 나타내었다.

- 표 7에서 볼 수 있듯이 처리된 종자의 품종별 판별 결과는 93~100%까지 다양하게 분포하고 있으며, 그중 MSC 전처리 결과가 평균 98.5%로 가장 높은 분포를 보였으며, SNV와 1차 미분도 좋은 판별 성능을 나타내었다. 하지만, 분산분석의 결과로 미루어보아 이 판별결과에는 한계가 있을 것으로 보인다.

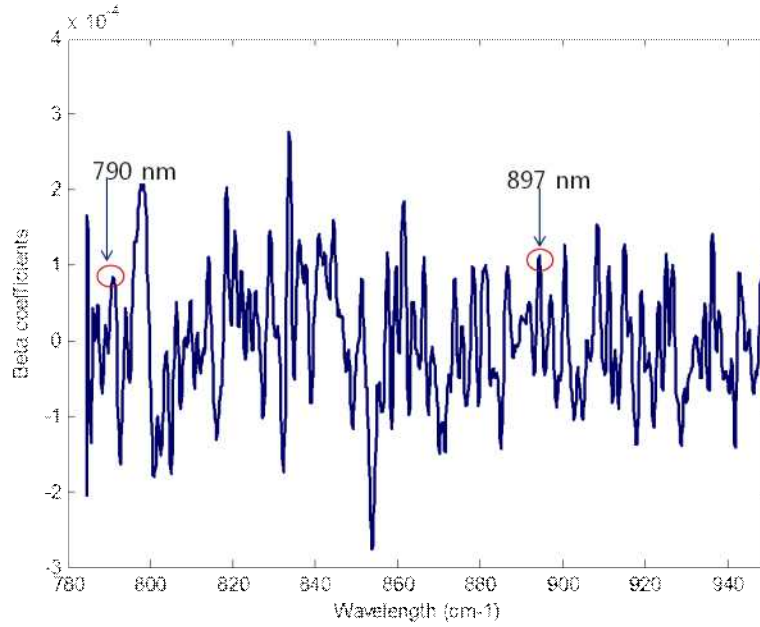


그림 28. Beta coefficient curve of PLS model.

표 7. Classification accuracy of PLS-DA with multiple preprocessing on Raman data

Total Accuracy (%) - Raman			
Calibration (n=105)	Yellow corn	White corn	Purple corn
Mean norm	100	100	100
Max. norm	100	100	100
Range norm	100	100	100
MSC	100	100	100
SNV	99.5	99.5	100
Savt. Golay_1 st	100	100	100
Savt. Golay_2 nd	100	99.5	100
Raw	99.5	100	100
Prediction (n=45)			
Mean norm	96.7	98.9	97.8
Max. norm	93.3	98.9	100
Range norm	93.3	98.9	100
MSC	98.9	98.9	98.9
SNV	98.9	98.9	97.8
Savt. Golay_1 st	98.9	100	98.9
Savt. Golay_2 nd	87.8	97.8	98.9
Raw	94.4	98.9	100

다) 결과 및 제안

- 본 연구에서 살펴보았듯이 FT-NIR과 Raman을 이용한 처리에서 FT-NIR은 처리구와 대조구의 스펙트럼의 차이가 안정적이고 판별 성능이 우수한 반면,

Raman 신호는 PCA 분석에서 나타났듯이 두 그룹 간의 차이가 크지 않았고 판별 분석의 결과에도 한계가 있을 것으로 예상되었다.

- 따라서 사료용 GMO 발아제한 종자의 실시간 전수검사에는 근적외선 대역을 사용하여 실시간으로 다양한 데이터를 획득할 수 있는 초분광 영상장치가 적합한 것을 알 수 있었다.

라) Line-scan 초분광 Vis/NIR/SWIR 시스템 구축 및 최적 파장영역 구명

① 이미지 보정 및 노이즈 제거

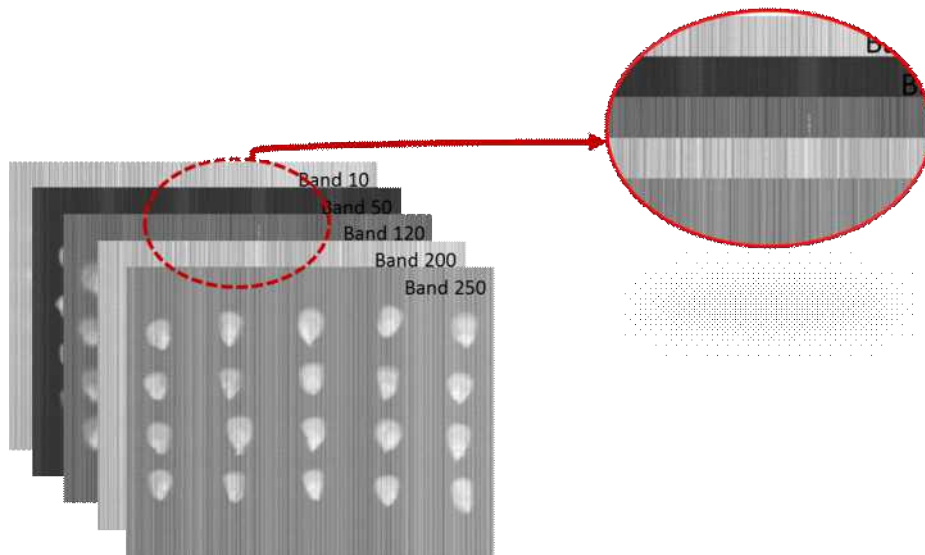


그림 29. 초분광 SWIR 영상의 밴드별 해상도

- 본 연구에서 사용하는 SWIR 초분광 영상시스템의 이미지 품질의 균일화를 위하여 off-line에서 종자를 측정 한 후 각 밴드별 영상 품질을 확인하였다(그림 27).
- 각 영상에서 정렬된 종자의 영상을 확인할 수 있지만 불필요한 많은 노이즈 또한 발견되고 있다. 이 노이즈들은 낮은 파장과 높은 파장 모두에서 확인이 되고 있으며, 거의 모든 이미지 라인에서도 발견되고 있다. 추정할 수 있는 원인으로는 카메라의 배드 픽셀, 형광으로 인한 스펙트럼, 혹은 그 외의 환경적인 영향으로 볼 수 있다.
- 카메라의 배드 픽셀의 경우 카메라를 변경하는 것으로 제거가 가능할 수 있으나 고가의 영상 장비를 쉽게 변경하기는 쉽지 않다. 환경적인 영향의 경우 실험 온도가 일정하지 않거나 고온의 환경에서는 스펙트럼의 변화가 발생한다. 이 경우에는 실험 환경의 온·습도 및 외기 유입 제어를 통해서 조절이 가능하다.

- 형광이 발생하는 경우 불필요한 파장의 경우 필터를 차용하거나 로패스 및 하이패스 필터를 적용하여 노이즈로 보이는 형광을 제어할 수 있다. 정규화 등의 스펙트럼 전처리 알고리즘을 적용하는 것도 다양한 노이즈를 제거하거나 줄이는 방식이다.
- 스펙트럼에서 노이즈를 제거하는 전처리 방식에는 다양한 방식이 사용되는데 주로 least square 방식을 차용하여 scattering correction에 사용되는 multiplicative scattering correction (MSC), standard normal variate (SNV) 등의 알고리즘이 있다.

$$X_i = a + b\overline{X}_j + e$$

여기에서, X_i 는 획득한 반사 스펙트럼, \overline{X}_j 는 이상적인 대표치(주로 평균 스펙트럼을 사용함)를 나타낸다.

MSC의 경우 $X_{MSC} = \frac{X_{ij} - a}{b}$ 로 계산이 가능하다.

SNV의 경우 $X_{SNV} = \frac{X_{ij} - \overline{X}_i}{SD}$ 에서 X_{ij} 는 파장 j에서 측정된 I번째 스펙트럼이며, \overline{X}_i 는 I번째 평균 스펙트럼을 나타낸다. SD는 스펙트럼의 분산을 나타낸다.

- 그림 28에서 볼 수 있듯이 이미지 전체에 영향을 주는 노이즈는 타겟 물질의 ROI에서 추출한 스펙트럼 정보에도 영향을 미치고 있다. 원하지 않는 노이즈를 제거하는 데에는 몇 가지 옵션을 사용할 수 있다.
- 먼저 평균, 평활화 필터를 사용해서 이미지에서 노이즈를 제거할 수 있고, 주파수의 조절을 위해서 notch 필터를 활용하여 고주파 패스 필터로 사용할 수 있다. 그 외에 image correction을 사용할 수 있다.
- 본 연구에서는 우선 노이즈를 제거하기 위해서 평활화를 실시하였다. 그림 28에서 보여주듯이 먼저 50번째 밴드 이미지 (1245 nm) 의 그레이 스케일 이미지를 이용하였다. 여기에 Savitzky-Golay 알고리즘의 평활화 기법을 사용하여 노이즈를 제거하고 블러한 이미지를 획득하였다.

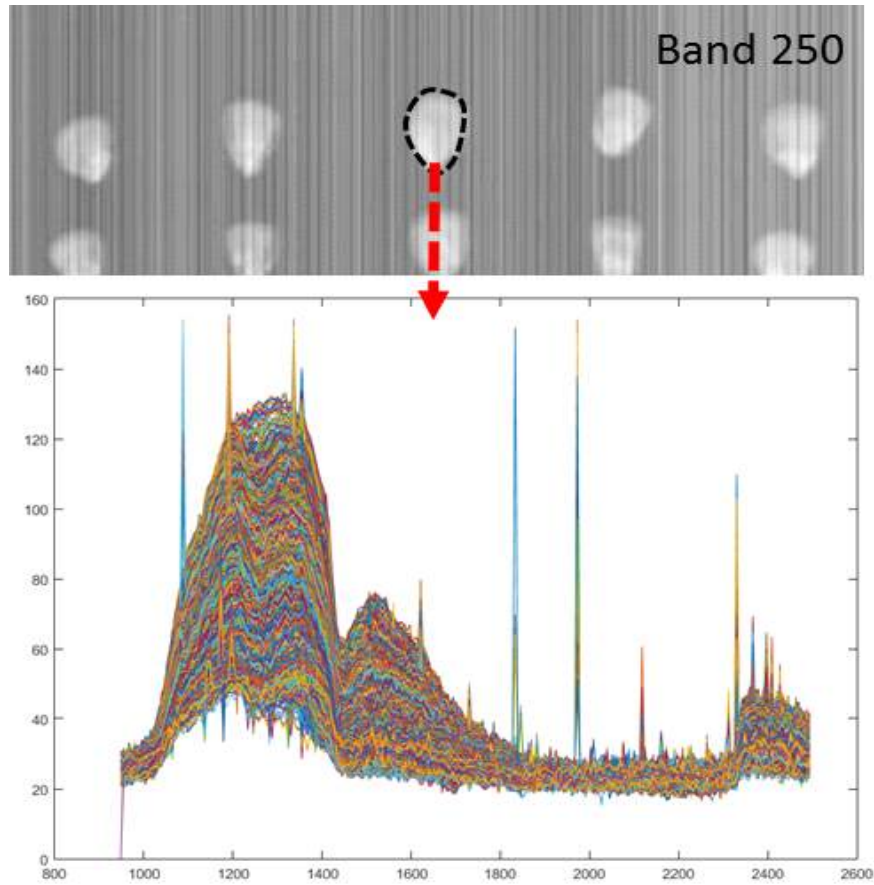


그림 30. 250번째 파장 이미지에서 추출한 옥수수 스펙트럼

- 그림 29에서는 전술한 평활화 적용 전·후의 이미지를 보여주고 있다. 평활화를 통해서 노이즈가 상당부분 해소되었지만 이미지가 흐릿한 블러 현상도 동시에 발생함을 볼 수 있다.

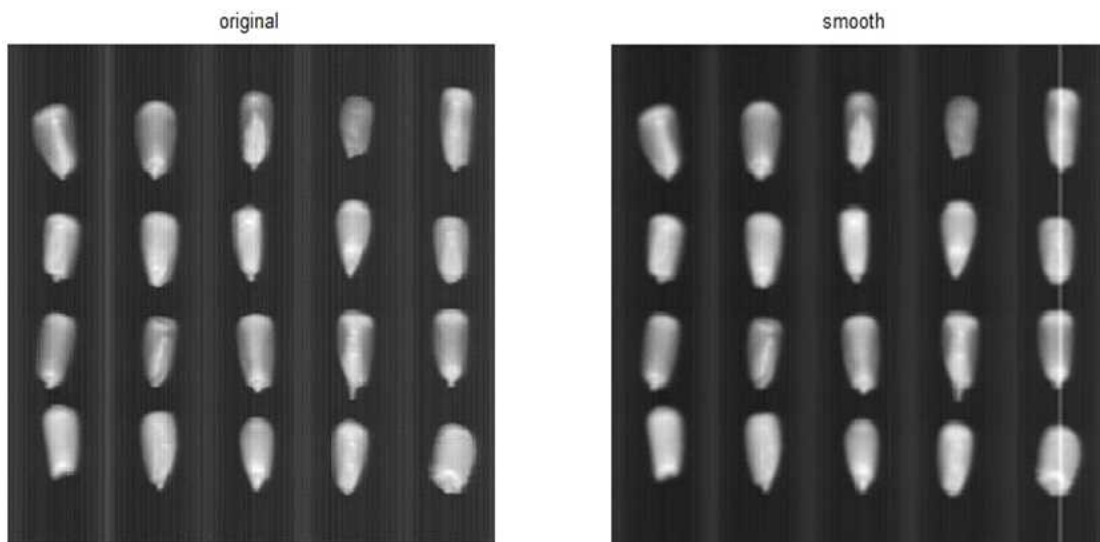


그림 31. 노이즈 제거 전 1245 nm (50번째 밴드) 이미지와 평활화 적용 이미지

○ 이 문제를 해결하기 위해 미디언필터를 적용하였다(그림 30).

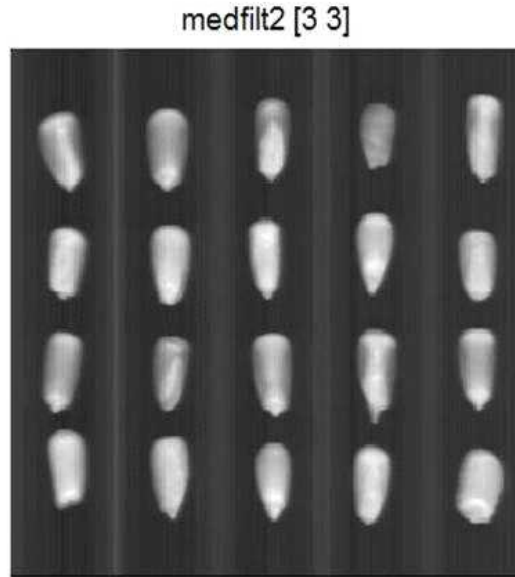


그림 32. 미디언 필터를 적용한 영상

○ 그림 30에서는 그림 29에 평활화를 적용해서 블러해진 영상에 미디언 필터 (3x3 필터)를 적용한 이미지를 보여주고 있다. 노이즈와 블러현상이 줄어든 훨씬 향상된 결과 이미지를 보여주고 있다.

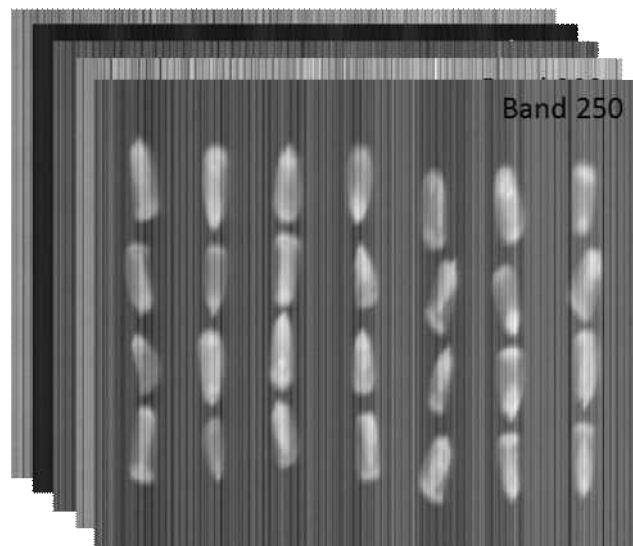


그림 33. 노이즈가 있는 원본 이미지

○ 본 연구에서는 미디언 필터 결과와 비교하기 위해 하이패스 필터를 사용한 결과도 사용하였다. 밴드-스탑 필터라고도 알려져있는 high pass notch filter는 필요 이상의 고주파 밴드를 제거하는 노이즈 제거 필터로서 다음 아래와 같은

방식으로 적용하였다(그림 31).

- 먼저 그림 31의 원본 이미지를 사용하여 푸리에 변환과 가우시안 하이 패스 노치 필터를 적용한다.
- 아래 그림 32에는 푸리에 변환이 적용된 이미지와 Gaussian high pass notch filter의 모습을 보여주고 있다.

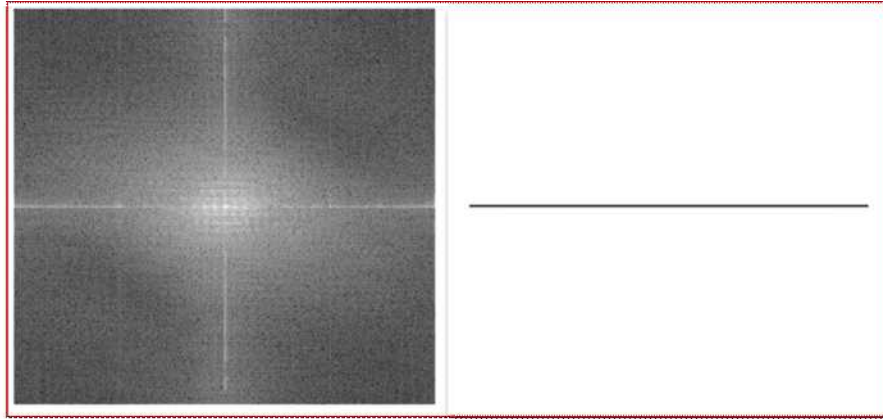


그림 34. Fourier transformed image 와 Gaussian high pass notch filter

- 그림 32에서 적용한 푸리에 변환을 이용하여 제거된 노이즈 영상은 그림 33에 나타내었다.

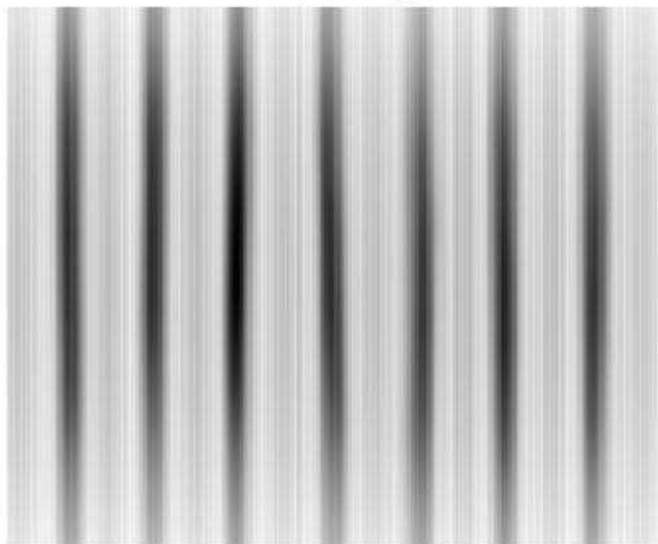


그림 35. 푸리에 필터로 제거된 노이즈 영상

- 두 개의 필터를 이용하여 주파수 필터를 수행한 결과 이미지는 다음과 같다 (그림 34).

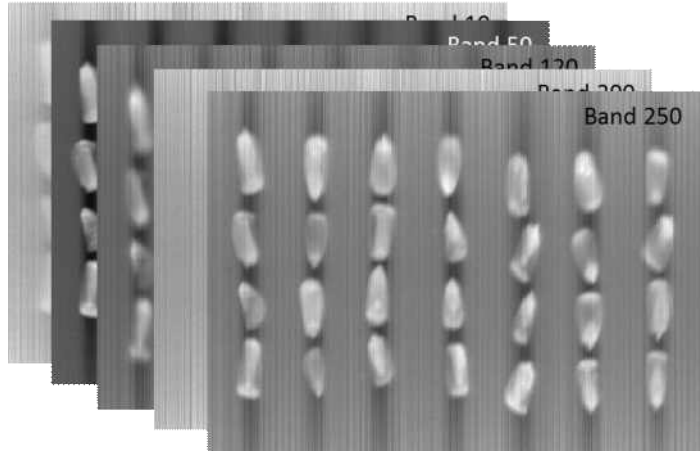


그림 36. 주파수 필터를 적용한 결과 이미지

- 그림 34의 노이즈를 가진 원본 이미지에 비해서 푸리에 변환과 high pass notch 필터를 적용한 그림 32의 결과 이미지는 상당한 차이를 보이고 있다.
 - 세로로 이어진 노이즈가 상당부분 제거되어 개별 옥수수 종자를 구분하기 용이해졌으며, ROI 형성을 위한 배경 제거에도 상당부분 향상을 기대할 수 있게 되었다. 반면, 3x3 미디언 필터를 적용한 그림 28의 결과 이미지에 비해 콘트라스트가 여전히 떨어지며, 노이즈가 많이 제거되었지만 여전히 스펙트럼 상에 많은 노이즈를 발견할 수 있다.

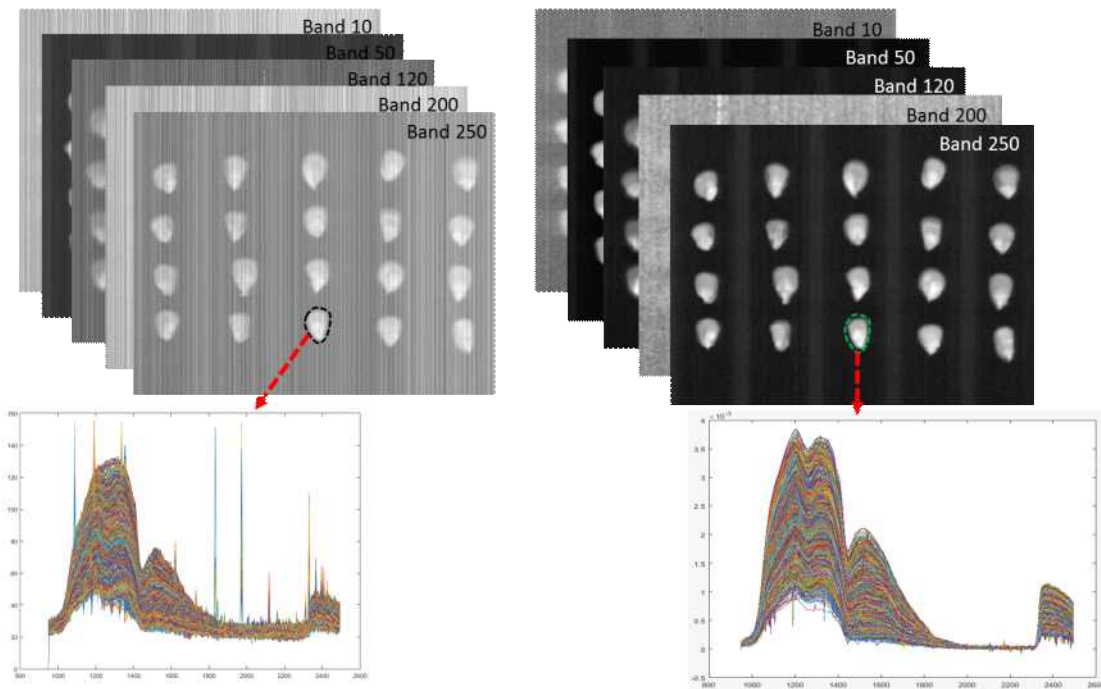


그림 37. 원본 영상과 이미지 보정 및 미디언 필터를 적용한 영상과 스펙트럼의 비교

- 이에 본 연구에서는 high pass notch 필터보다 이미지 보정과 미디언 필터의 적용이 더 적합한 것으로 판단하였다.
- 그림 35는 이미지 보정 전 250번째 밴드 이미지와 이미지 보정 및 미디언 필터를 적용한 결과 이미지에 사용한 옥수수 종자에서 추출한 반사 스펙트럼을 비교하였다. 보정 전에 노이즈로 인해 감춰진 1200, 1400 nm의 피크들이 노이즈 제거 후에 선명하게 나타난다. 또한 high pass notch 필터 적용보다 더 분명하게 노이즈가 제거된 것을 확인 할 수 있다.
- 본 연구에 적용된 이미지 정합방법(image correction)은 $\bar{X} = \frac{X - X_{dark}}{X_{white} - X_{dark}}$ 를 적용하였다. 여기에서, x 와 \bar{x} 는 각각 원본 데이터와 보정된 데이터를 나타낸다.
- ② 광반사 스펙트럼을 이용한 GMO 종자 발아억제 판별 예측모델 개발
- 노이즈 제거를 위해 개발된 미디언 필터와 이미지접합법을 적용한 이미지를 바탕으로 처리된 옥수수 종자와 비교군을 판별하기 위해 주성분 분석을 적용하였다.

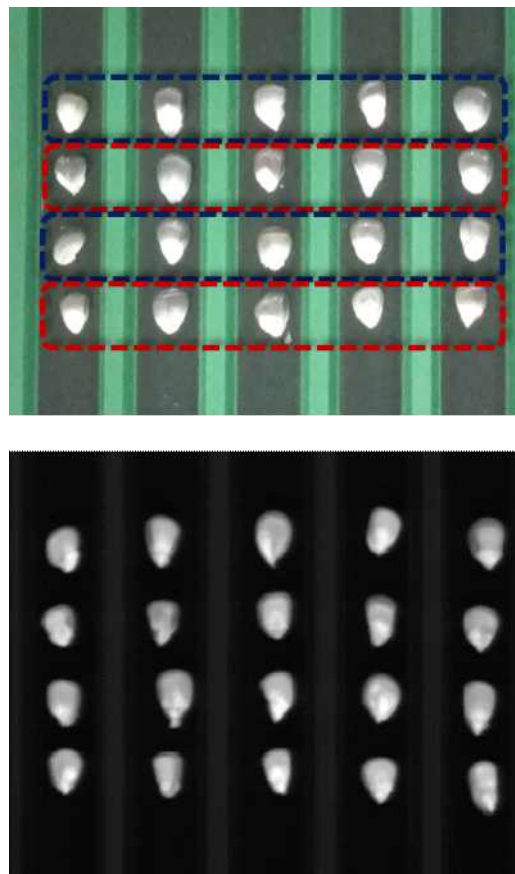


그림 38. RGB이미지와 보정된 1245 nm 이미지

- 그림 36에서는 원본 RGB이미지와 보정된 1245 nm의 gray scale이미지를 나타내고 있다. RGB이미지에서 파란 파선은 처리된 옥수수 종자를, 빨간 파선으로 처리한 10개의 종자는 비교 군을 나타내고 있다. 본 연구에서는 처리된 옥수수 종자를 검출하여 배출부에서 blow out되도록 희게 보이고 비교 군은 정상 종자로서 검게 처리되도록 할 예정이다.
- 먼저 주성분 분석한 영상 중에서 두 번째 주성분을 이용하여 처리 군과 비교 군을 판별한 영상은 다음과 같다(그림 37).

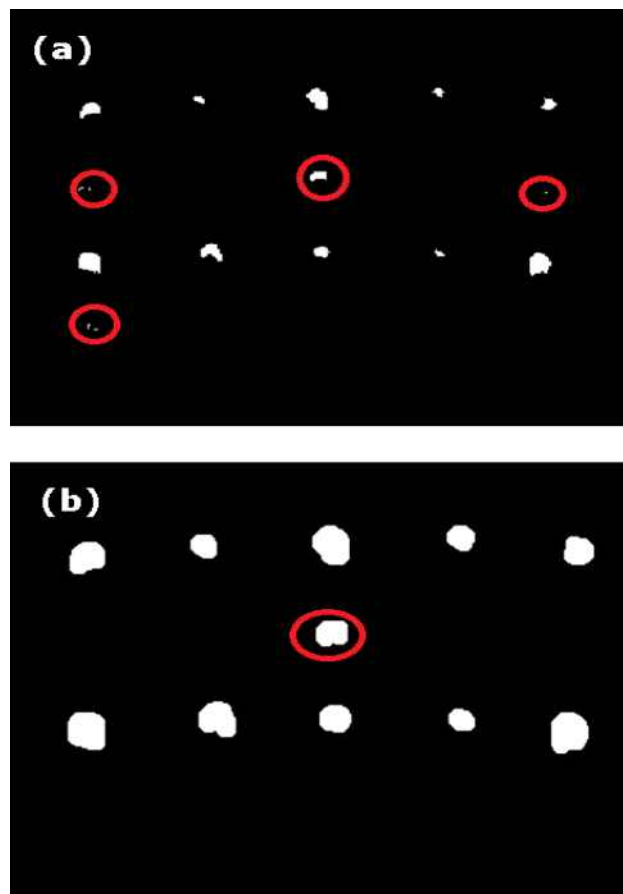


그림 39. PC2를 적용하여 처리 군과 비교 군을 판별한 결과 영상 (a). 결과를 선명하게 보이기 위해 이미지 프로세싱을 적용한 영상 (b)

- 그림 37에서는 PC2를 적용한 결과 영상을 나타내었다. 그림 36에서 파란 사각형은 처리 군을, 붉은 사각형은 비교 군을 나타내는데, 그림 37(a)에서 10개의 처리 군이 모두 검출되었음을 확인할 수 있다(처리 종자 100% 검출). 반면, 정상 종자인 두 번째와 세 번째 행에서는 검출되지 않아야 좋은 결과인데 모두 4개의 정상 종자가 판별되었다.

- 하지만, 판별 이미지의 균일한 결과를 보여주기 위해 적용한 이미지 프로세싱 (opening → dilation)의 결과 4개 중 1개만의 오판정 결과를 보여주고 있다. 이는 opening과 dilation을 거치면서 5개 화소치 이하의(적용한 필터의 크기에 따라 변경되는 값) 판별결과가 사라지는 효과를 나타낸다.
- 이에 반해 PLSR (partial least square regression) 을 적용한 결과 영상은 다음과 같다(그림 38).

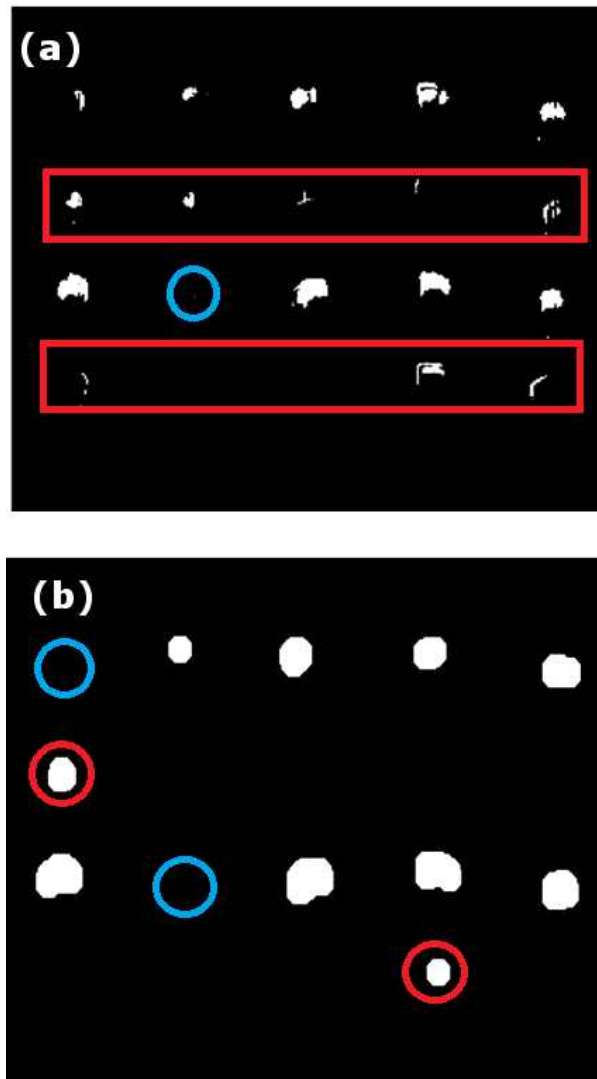


그림 40. PLSR 적용 결과 영상 (a)와 이미지 프로세싱 적용 결과 영상 (b)

- 그림 38에서는 대표적인 선형 판별방식인 PLSR의 적용 결과 영상을 보여주고 있다. 그림 38(a) 는 PLS 베타 값을 적용한 결과 영상을 나타내며 1, 3행은 처리 종자를 2, 4행은 정상 종자를 나타낸다. 하지만, PLSR 결과 영상에서 모두 검게 나타나야 할 정상 종자군에서 많은 결과의 오류를 발견할 수 있다. 이는

처리구인 1, 3 행에서도 마찬가지로 발견이 되는데 이는 과란 원으로 표현하였다.

- 그림 37에서와 같이 결과 이미지를 선명하게 보기 위하여 동일한 opening → dilation 모폴로지 알고리즘을 적용한 결과를 그림 38(b)에 나타내었다.
- 그림 38(a)에 비해 상당 부분의 오판별된 정상 종자의 판별 성능이 향상되었지만 처리 군의 오판별은 더 악화된 것을 확인 할 수 있다.
- PLSR은 입력 데이터인 X와 클래스 정보 Y에 관한 선형 상관관계 결과를 가지므로 다른 선형판별식에 비해 더 정확한 결과 영상을 보여주고 있다. 본 연구에서는 PLSR에 비해 Y정보로부터 독립적인 PCA로 판별한 결과가 더 좋았다. PLSR의 경우 80%의 정확도를 보인 반면, PCA의 경우 PC2를 사용한 결과 95%의 평균 판별율을 보였다 (이미지 프로세싱 적용 결과에 한해).

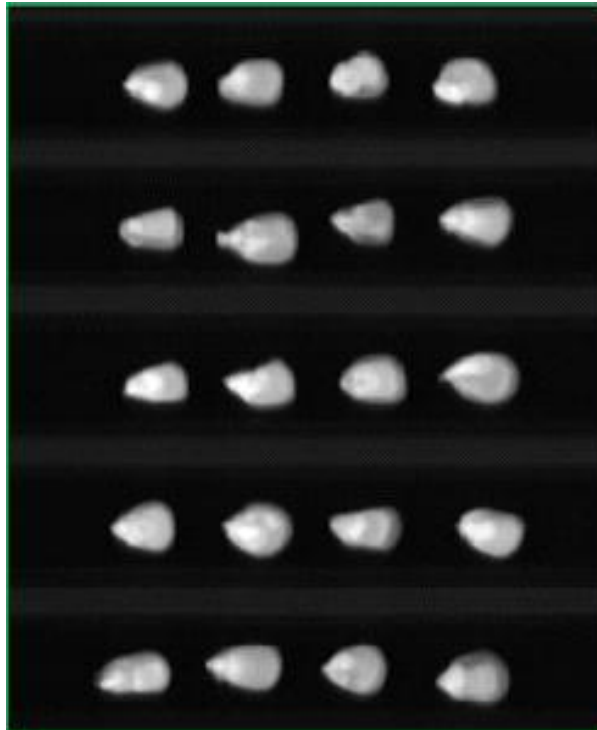


그림 41. 보정식을 이용하여 선명도가 높아진
1245 nm 그레이 스케일 이미지

- 그림 39에서는 온라인 시스템으로 촬영한 보라색 옥수수의 RGB 영상과 50번째 밴드인 1245 nm에서 획득한 그레이스케일 영상을 보여주고 있다. 위의 그레이스케일 영상을 보정하기 위해서 다음과 같이 오프라인 이미지에 사용한 미디안 필터 보정식을 사용하여 선명한 영상을 얻게 되었다.

- $\bar{X} = \frac{X - X_{dark}}{X_{white} - X_{dark}}$, 여기에서 X_{dark} 는 암흑 이미지의 값이며, X_{white} 는 반사판을 이용한 완전반사 이미지의 값이다. X 는 1245 nm의 영상이며, \bar{X} 는 보정된 영상 값을 나타낸다.
- 그림 40은 상기 보정식을 활용하여 1245 nm 그레이 스케일 이미지를 보정한 이후의 영상이다. 본 연구에서는 그레이 스케일 영상의 선명도를 부각시키기 위하여 white와 dark 이미지를 활용한 보정방식으로 영상의 선명도를 획득하여 사용하였다.

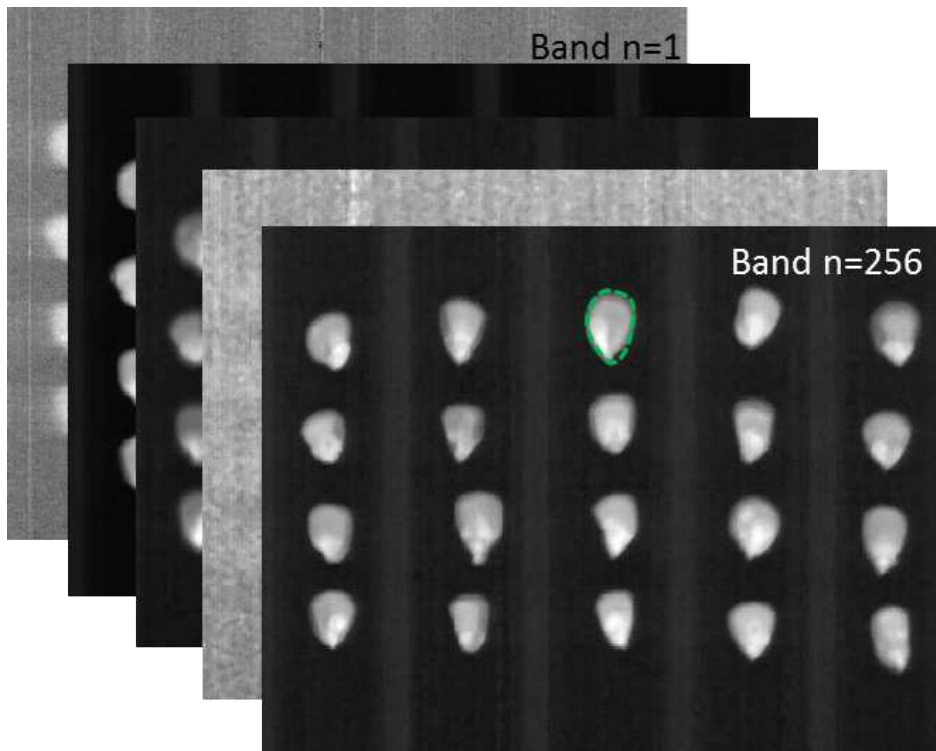


그림 42. 초분광 영상장치로 구성된 삼차원 영상 정보

- 초분광 영상은 동일한 표면 정보를 다양한 파장별로 획득하여 이미지 큐브를 구성하고 있다. RGB카메라는 단지 세 개의 칼라정보로 표면 정보를 설명하는데 비해 많은 스펙트럼 정보를 얻을 수 있다는 장점이 있다. 이는 한 번의 측정으로 한 지점의 스펙트럼 정보만 획득할 수 있는 분광기의 단점을 보완할 수 있다. 따라서 초분광 영상정보를 이용하면 원하는 위치에서 원하는 이미지를 획득할 수 있을 뿐 아니라 영상에서 원하는 위치의 분광정보도 획득할 수 있는 장점이 있다.
- 본 연구에서는 이미지 프로세싱을 활용하여 배경을 제거하고 옥수수 종자만을 선택하여 각 종자별 혹은 종자의 부위별 스펙트럼의 특징을 살펴보고 분석하여 판별 모델을 개발할 수 있었다.

○ 그림 41에서 보여주듯이 초분광 영상장치로 구성된 파장별 이미지를 이미지 큐브 혹은 삼차원 영상으로 구성해서 원하는 위치에서 스펙트럼을 획득할 수 있다.

- 그림 41에서는 옥수수 종자의 반사 스펙트럼을 1000 - 2400 nm의 SWIR 구간에서 나타내었다. 그림에서 볼 수 있듯이 1200 nm에서 반사 피크가 발견되었으며, 1300 nm 전반에 걸쳐서 평탄한 피크가 형성되고 있다.

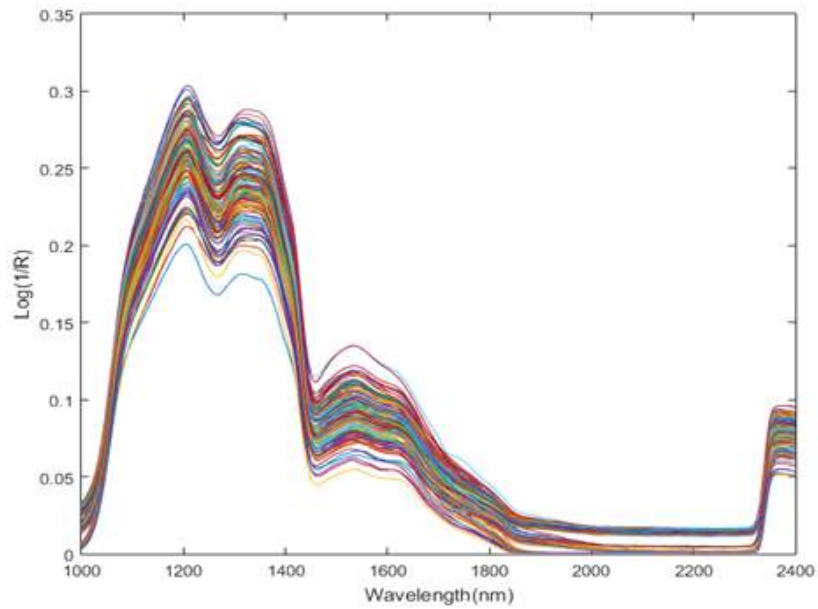


그림 43. 옥수수 종자의 반사 스펙트럼

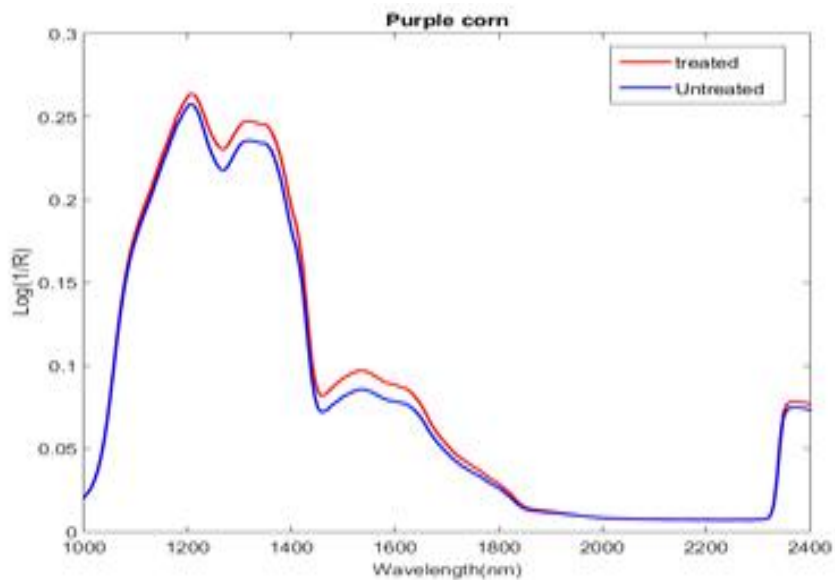


그림 44. 보라색 옥수수 종자의 반사 스펙트럼. 빨간색 선은 열처리한 불활성 종자. 파란색 선은 일반 종자

- 그림 42은 보라색 옥수수 종자의 처리 구와 비교 구의 평균 스펙트럼을 나타낸다. 두 처리 및 비교구 간의 스펙트럼 차이는 크지 않지만 1100-1300 nm 및 1500-1600 nm 사이의 구간에서 강도의 차이가 발견되었다.
- 그림 43에서는 흰 옥수수 종자의 평균 스펙트럼을 나타내었다. 그림 41과 유사한 스펙트럼의 모양을 나타내었으며, 두 평균치의 차이도 유사함을 알 수 있었다.

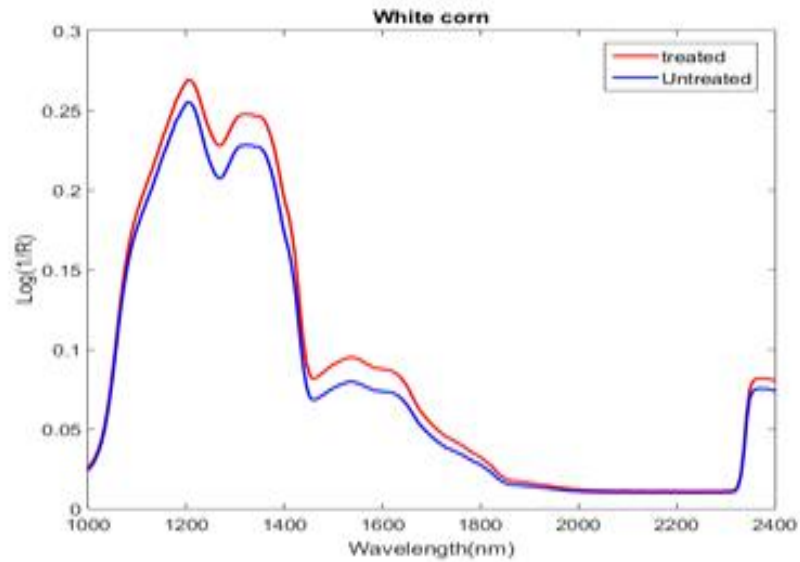


그림 45. 흰 옥수수 종자의 반사 스펙트럼. 빨간색 선은 열처리한 불활성 종자. 파란색 선은 일반 종자

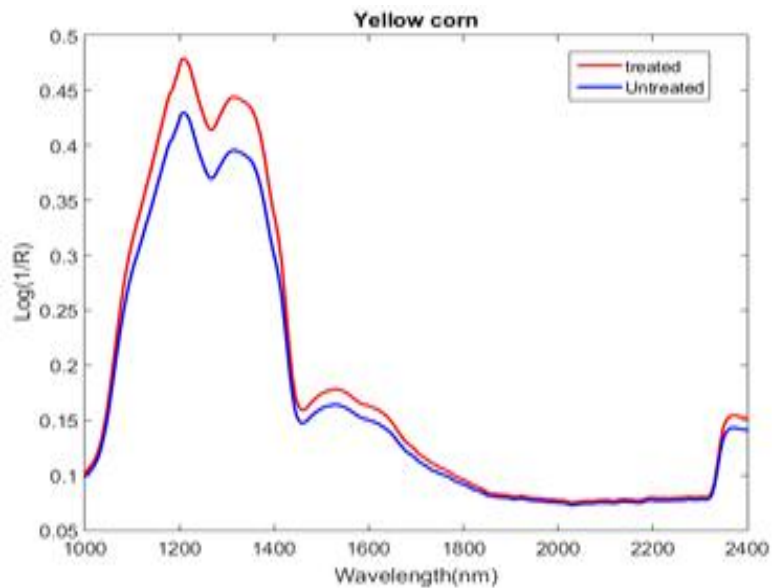


그림 46. 노란 옥수수 종자의 반사 스펙트럼. 빨간색 선은 열처리한 불활성 종자. 파란색 선은 일반 종자

- 그림 44에서는 노란 옥수수수의 평균 반사 스펙트럼을 나타내었다. 그림 43의 보라와 흰 옥수수 종자의 반사 스펙트럼과 유사한 모양을 나타내고 있음을 알 수 있다. 다만, 1200 - 1400 nm 사이의 파장에서 두 처리간의 반사도가 위의 두 종자의 평균값에(0.25-0.27) 비해 0.43-0.48로 향상되었음을 알 수 있다.
- 스펙트럼 분석에서는 두 그룹 간을 판별을 할 수 있는 가시적인 결과는 보이지 않았기 때문에, 두 처리 간 판별가능성을 보기 위하여 주성분처리분석을 수행하였다.

표 8. 각 색깔별 옥수수 종자의 PLS-DA를 기반으로 전처리 별 캘리브레이션 결과

	Preprocessing		Calibration (140 samples)			
	method	Treated	Non-treated	%Treated	%Non-treated	Overall %
Purple	MSC	58	57	82.8	81.4	82.1
	SNV	58	57	82.8	81.4	82.1
	Raw	54	52	77.1	74.2	75.7
White	MSC	68	57	85.0	95.0	89.2
	SNV	68	57	85.0	95.0	89.2
	Raw	62	53	77.5	88.3	82.1
Yellow	MSC	63	57	90.0	81.4	85.7
	SNV	63	57	90.0	81.4	85.7
	Raw	58	53	82.8	75.7	79.2

표 9. 각 색깔별 옥수수 종자의 PLS-DA를 기반으로 전처리 별 밸리데이션 결과

	Preprocessing		Validation (60 samples)			
	method	Treated	Non-treated	%Treated	%Non-treated	Overall %
Purple	MSC	24	24	80	80.0	80.0
	SNV	24	24	80	80.0	80.0
	Raw	20	21	66.6	70.0	68.3
White	MSC	29	24	90.6	85.7	88.3
	SNV	29	24	90.6	85.7	88.3
	Raw	23	22	71.8	78.5	75.0
Yellow	MSC	27	24	90.0	80.0	85.0
	SNV	27	24	90.0	80.0	85.0
	Raw	22	22	73.3	73.3	73.3

- 표 8과 9에서는 PLS-DA를 이용하여 판별한 결과를 전처리 별로 정리하였다. 전처리는 MSC와 SNV를 사용하였으며, 전처리를 적용하지 않는 것과 비교하였다. 모든 색깔별 옥수수 종자는 MSC와 SNV 전처리한 결과가 Raw데이터보다 좋은 판별 결과를 나타내었다. 가장 좋은 판별결과는 흰 옥수수 종자가 88.3%의 정확도를 보였다. 노란 종자와 보라 종자는 각각 85와 80%의 정확도를 보였다.

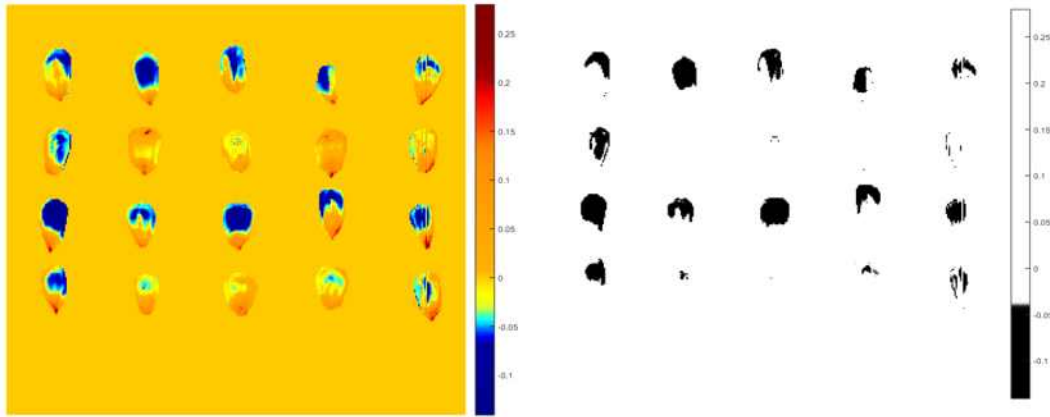


그림 47. 제 2주성분으로 구성한 종자의 판별 이미지

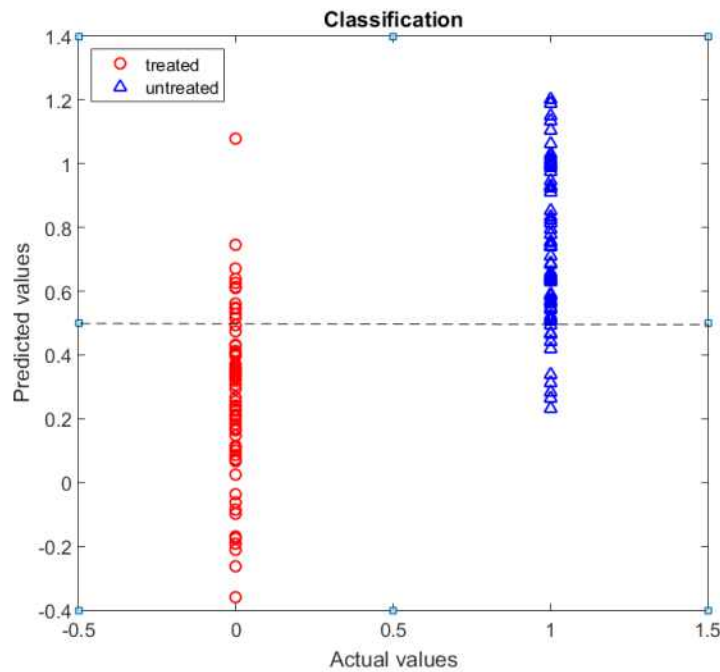


그림 48. Raw 데이터를 이용한 PLS-DA 판별 결과

- 그림 45는 PC2를 적용한 결과 이미지를 나타내고 있다. PC2에서 처리 구와 정상 종자는 최대 30%의 분산을 보였다. 반면, 각 색깔별, 추출 이미지별 주 성분 이미지의 값이 달라서 확일적으로 적용하기가 어려웠다. 주 성분 분석은

Y값에 독립적인 방식이고, 같은 데이터라 할지라도 주성분을 구하는 과정에서 각 주성분의 방향이 반대가 되는 등 데이터를 다루는데 상당한 주의가 요구된다. 따라서, 본 연구에서는 주성분 분석의 결과를 균등하게 하는 연구를 차후 연구 주제로 선정하고 계속 수행할 예정이다. 대신, 처리 군과 정상 군의 판별을 위해 다양한 판별식을 이용한 결과를 다음과 같이 정리하였다.

- 그림 46에서는 전처리를 하지 않은 데이터의 판별결과를 나타내었다. 문턱치 0.5를 이용하여 처리 종자(붉은 원)와 정상 종자(파란 삼각형)의 판별이 가능함을 보여주고 있다.
- 그림 47에서는 PLS-DA 판별 결과를 전처리 방식 중 SNV를 적용한 결과를 나타내었다. 판별 기준 0.5로 판별한 결과는 88%가 넘는 정확도를 보였다.

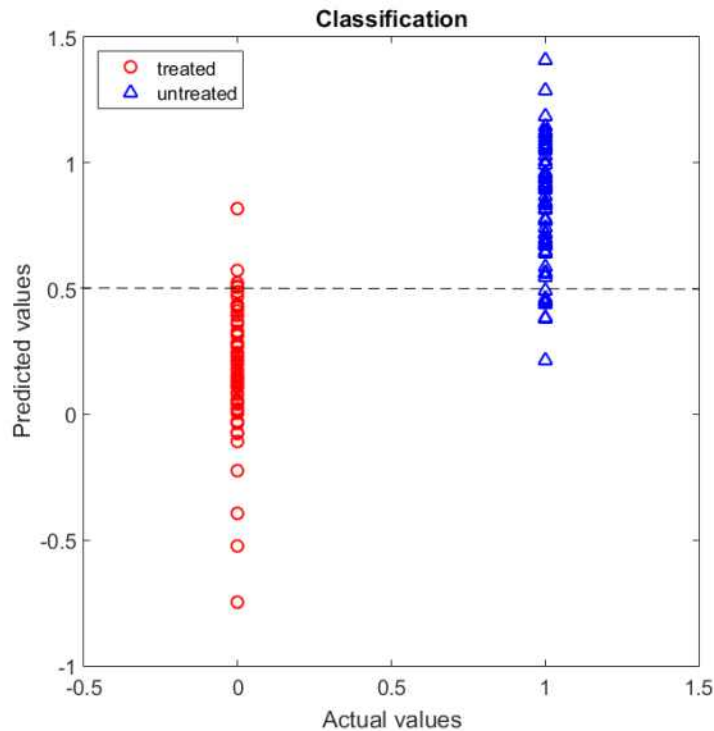


그림 49. SNV 전처리를 적용한 PLS-DA 판별 결과

- 그림 48은 주요파장(1200 nm 및 1400 nm)의 중요도를 반영한 beta coefficient의 결과를 백색 옥수수과 자색 옥수수 종자에서 공통적으로 발견됨을 알 수 있다. 이것으로 미루어보아 마이크로웨이브에 의한 인공적인 처리는 종자의 색과 무관하게 유사한 결과를 나타냄을 알 수 있다.
 - 그림에서 볼 수 있듯이 주요 파장인 1195-1220 nm는 전분의 CH, CH₂-와 관련된 C-H 이차 배음 (2nd overtone) 과 관련된 피크임을 알 수 있다.
 - 1400 - 1450 nm에서의 피크는 단백질 분자의 카르보닐기의 O-H 펼침의 1차 배

음대(기름, 전분, 및 수분과 관련됨)와 C=O 펼침의 3차 배음대와 연관이 있다.

- 이런 공통적인 과장이 주요 과장으로 선택되는 것에는 단백질의 변질(엔자임의 성숙), 전분의 수소화, 지질의 산화 등 여러 가능성을 염두에 둘 수 있다. 마이크로웨이브에 의한 인위적인 열처리 과정중에서 두 가지 이상의 현상이 복합적으로 발생하는 것도 배제할 수 없다.

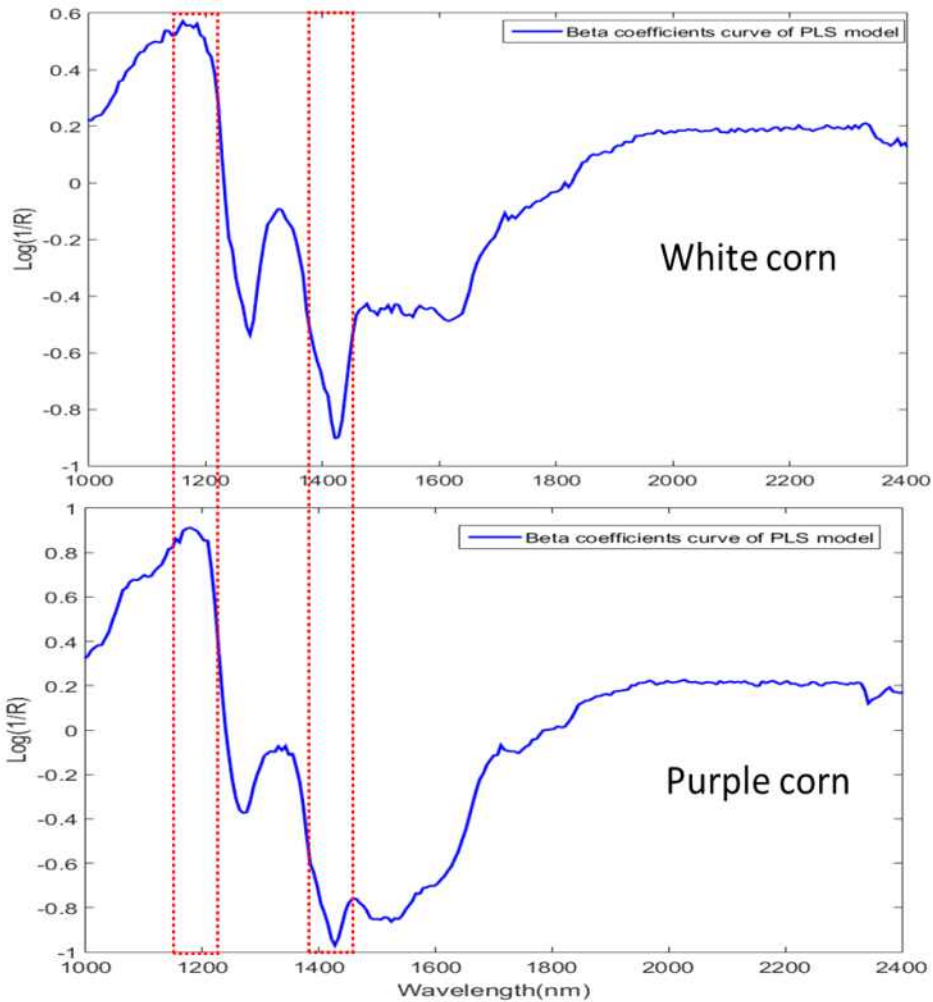


그림 50. Beta coefficient curve of PLS-DA in white and purple corn

- 그림 49에서는 백색 옥수수 종자의 PLS 결과 이미지를 나타내었다. 결과의 선명성을 더하기 위해서 판별에 사용한 1245 nm 이미지에서 판별을 위한 문턱치 0.16을 사용한 판별 결과를 푸른색으로 나타내고 선택된 화소치는 붉은색에 가까운 값으로 표현하였다. 종자들 간의 컨베이어 벨트를 나타내는 칸막이가 제거되고 판별결과를 좀더 알기 쉽게 표현할 수 있었지만 정성적인 판단은 쉽지 않아 보인다.

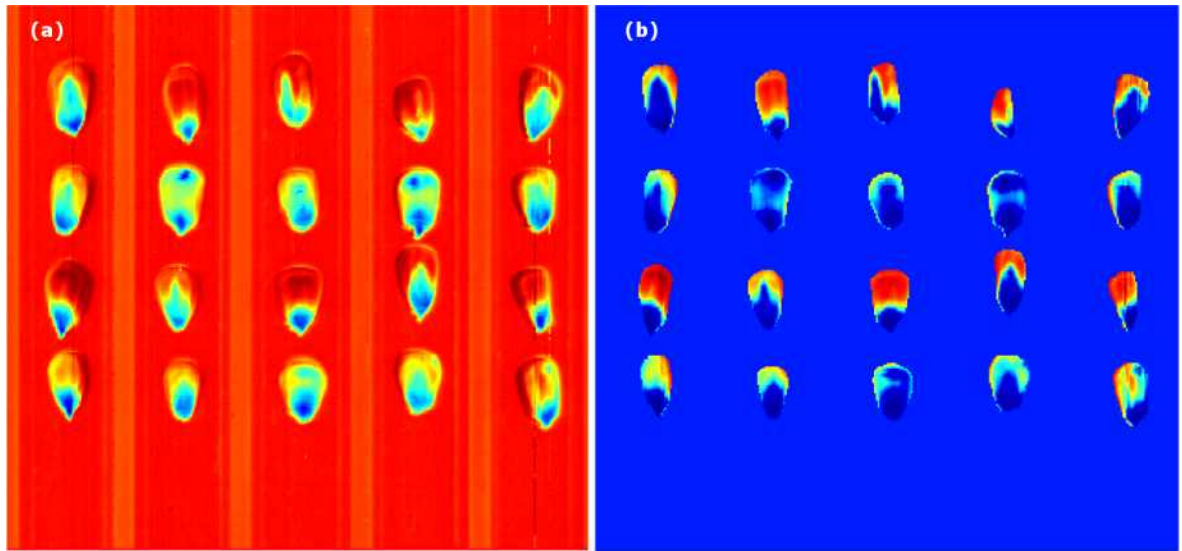


그림 51. 백색 옥수수 종자의 PLS image (a) 원본과 마스크를 적용한 결과 이미지 (b)

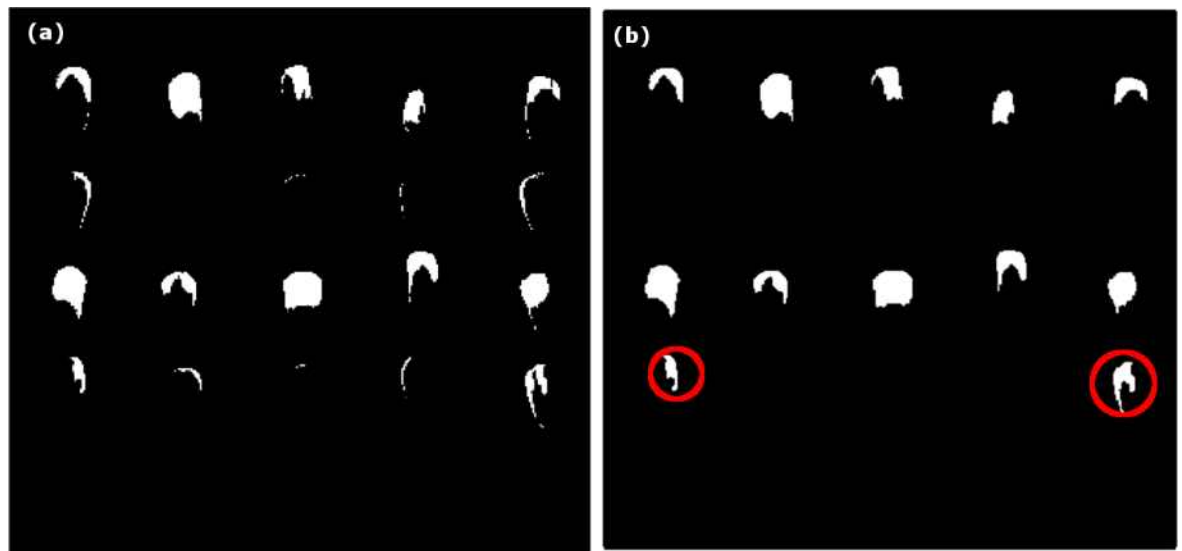


그림 52. 백색 옥수수 종자의 PLS 바이너리 이미지 원본 (a)과 모폴로지 필터 적용 이미지 (b)

- 칼라 이미지에 마스크를 적용하여 선명도를 획득할 수 있었지만 정성적인 판단에 어려움이 있어 이를 바이너리 이미지로 변환한 결과를 그림 50에 나타내었다.
- 그림 50(a)는 PLS를 적용한 결과 이미지의 원본이다. 1과 3행은 처리 종자로서 모두 선택되는 것이 가장 좋은 결과를 나타내며, 2와 4번째 행은 정상 종자로서 선택된 화소가 없는 것이 가장 좋은 결과를 나타낸다. 그러나 PLS 적용 결과는 정상 군에서도 아홉 개의 샘플에서 선택된 화소치가 발견되었으며, 그중 처리

종자와 판별하기 어려운 종자도 있다. 판별 결과의 성능을 향상시키기 위해 180 픽셀 이상되는 화소치를 남겨두는 opening과 closing을 적용하였고, 그 결과 영상을 그림 50(b)에 나타내었다. 그 결과 비정상적으로 판별한 2개의 정상 종자를 제외하고는 완벽하게 판별한 결과를 볼 수 있다.

③ VIS/NIR vs. SWIR 영상을 이용한 예측 성능 비교

- 파장 대역이 다른 두 영상장치의 성능을 비교하기 위해 동일한 종자를 이용하여 판별 결과를 비교하였다.
- 그림 51은 실험에 사용한 종자 고정용 판과 각 구멍에 담긴 종자의 배열을 나타낸다. 대각선별로 처리구(백색 ○)와 대조구(황색 ○)를 위치시켰다.

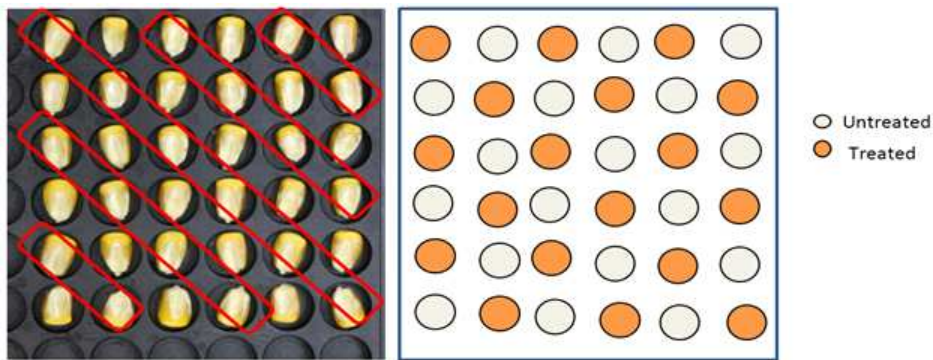


그림 53. Diagonal corn arrangement on seed plate

- 사용된 초분광 VIS/NIR 영상장치는 400-1000 nm의 파장대역에서 502x600 이미지와 128개의 파장을 획득할 수 있다. 판별 모델의 성능을 향상하고 최적의 전처리 방법을 찾기 위해 정규화, SNV, MSC, 1, 2차 미분 등 8개의 방법을 PLS-DA로 개발한 모델을 활용하여 비교하였다. 총 300개의 시료 중 70%는 calibration에, 나머지 30%는 validation에 사용하였다.

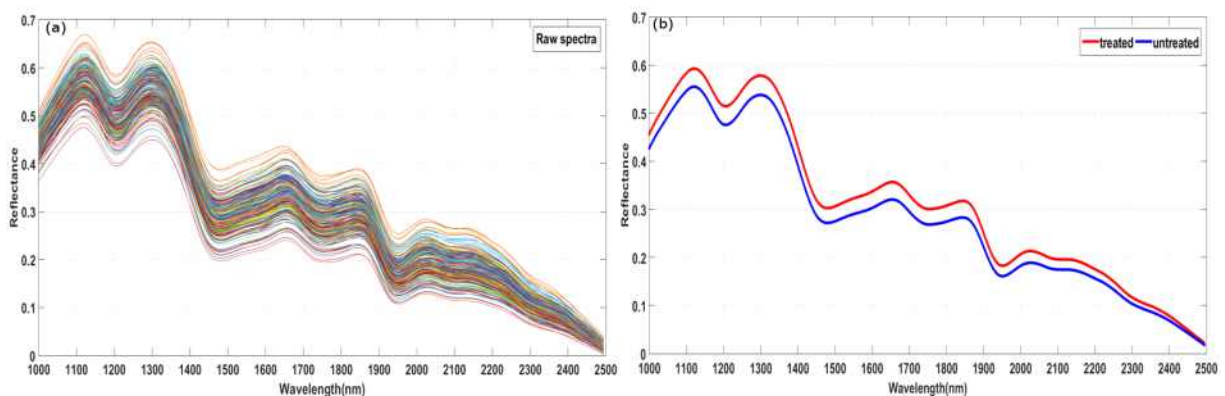


그림 54. SWIR raw spectra of corn. Raw spectra (a) and average spectra (b).

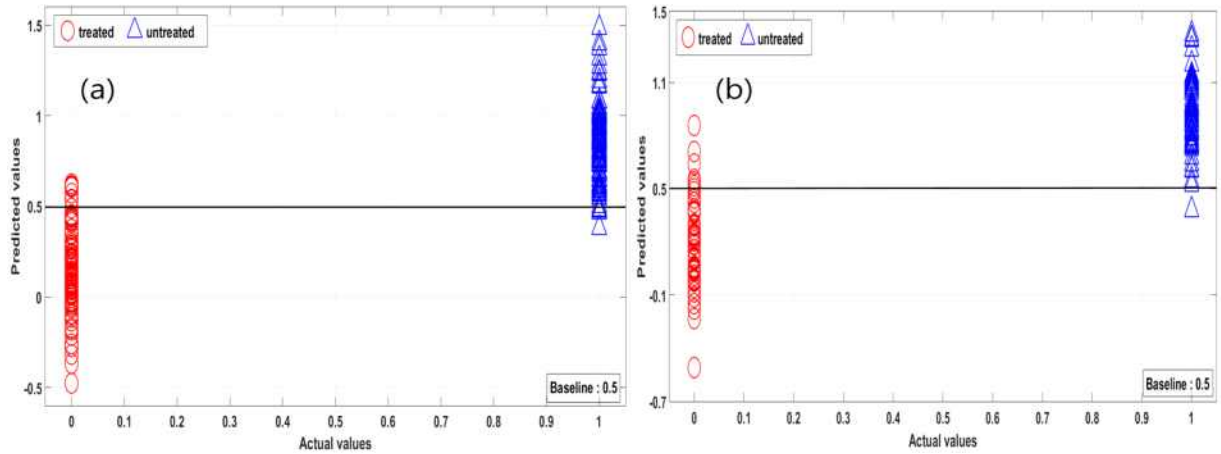


그림 55. PLS-DA classification plot for white corn. Calibration plot (a) and validation (b).

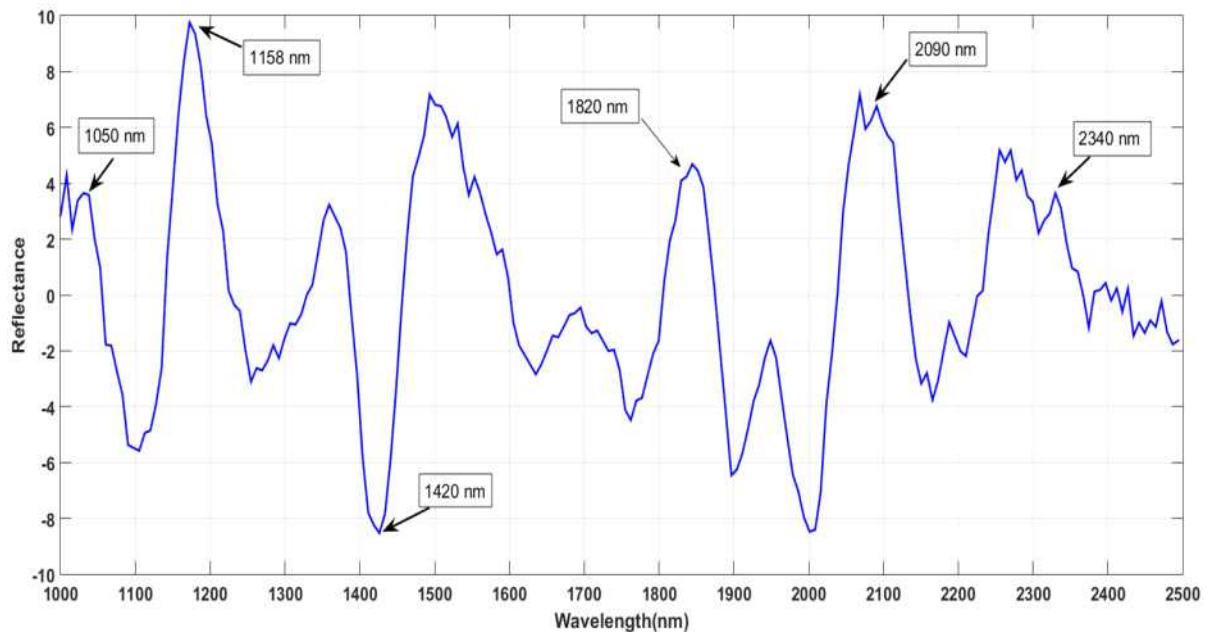


그림 56. Beta coefficient of white corn.

- 그림 52는 SWIR 영상에서 획득한 스펙트럼과 대조구 및 처리구의 평균 스펙트럼을 나타내고 있다. 두 그룹 간 평균 스펙트럼은 모양에서 차이가 없었다.
- PLS-DA로 판별한 결과를 그림 53에 나타내었다. 그림 53(a)는 calibration, 53(b)는 PLS-DA의 validation 결과를 0.5를 기준으로 판별한 결과를 나타내고 있다. 이 결과는 그림 54에 나타낸 SWIR 베타 곡선을 이용한 결과이며, 그림에서 보듯이 판별에 크게 영향을 준 주요 파장은 1050, 1158, 1420, 1820, 2090 및 2340 nm로서 이는 1400-1450 nm에서 O-H 스트레칭의 1차 배음 및 CONH₂의 아민 그룹의 N-H의 1차 배음과 연관이 있을 것으로 사료되었다.

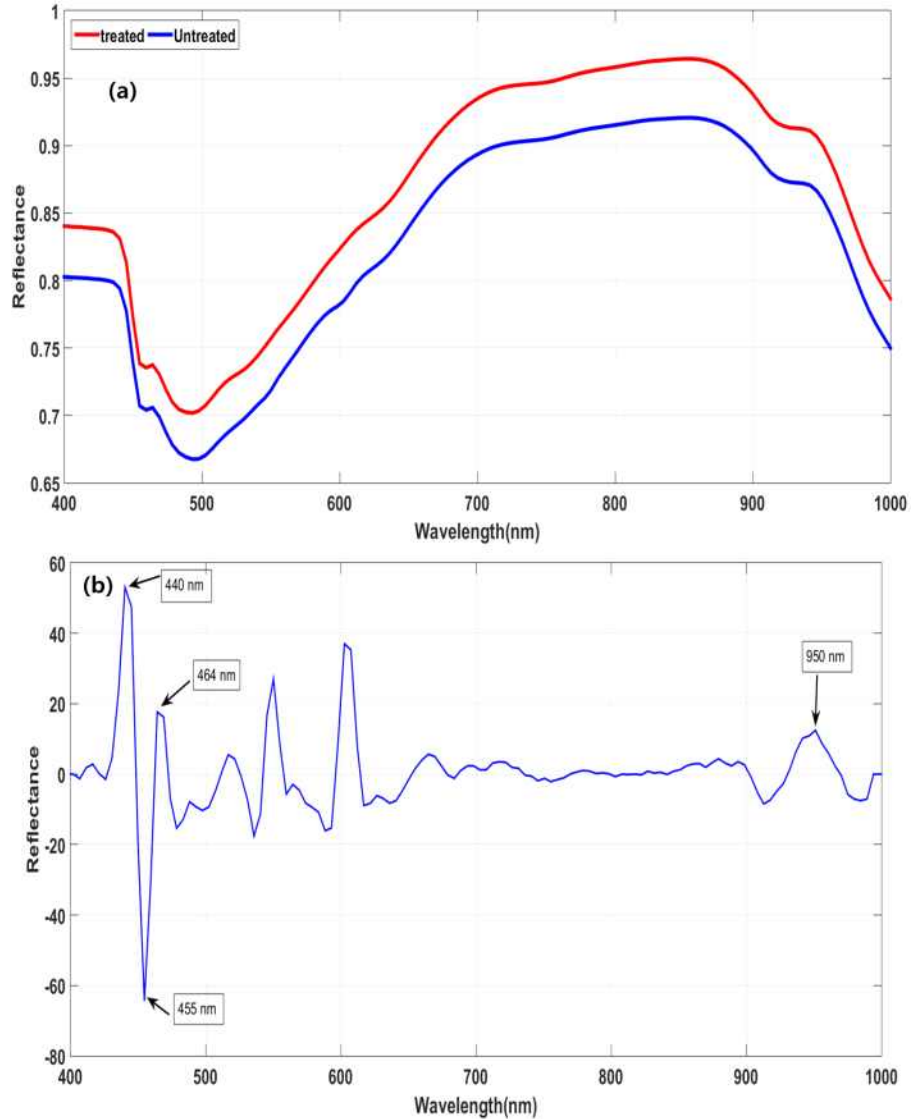


그림 57. Visible/NIR corn average spectra (a) and beta coefficient (b) of PLS-DA.

- 그림 55에는 VIS/NIR영상에서 획득한 두 그룹의 평균 스펙트럼과 베타 곡선을 나타내었다. 400-1000 nm의 대역에서 500 nm에서 반사가 가장 적었으며, 700-900 nm에서 큰 반사를 보였다. 반면, 판별에 상관이 높은 파장의 경우 440, 455, 464 및 950 nm로 나타났다.
- 위의 두 기기로부터 획득한 스펙트럼을 이용한 판별 성능을 전처리별로 비교한 결과를 표 10에 나타내었다.
 - 대부분의 전처리에서 SWIR의 판별성능이 VIS/NIR에 비해 높은 정확도를 보였으며, 특히 raw 데이터를 사용한 경우 세 품종 모두에서 안정적인 판별 성능을 보였다.
 - 이때의 성능은 황색 95.6%, 백색 95.6% 및 자색 82.2%의 정확도를 보였다.

표 10. Classification accuracy of PLS model with preprocessing methods on VIS/NIR and SWIR

Total Accuracy (%) – VIS NIR				Total accuracy (%) - SWIR		
Calibration (n=210)	Yellow corn	White corn	Purple corn	Yellow corn	White corn	Purple corn
Mean norm	70.5	83.3	59.5	94.8	95.2	88.6
Max. norm	71.9	87.1	60.5	94.8	95.7	88.6
Range norm	70.9	82.4	60.5	95.2	94.8	90.5
MSC	72.4	90.5	62.4	94.3	95.2	90.5
SNV	72.4	90.5	61.9	96.2	95.2	90.5
S-G_1 st	84.3	96.7	70	96.7	97.6	90
S-G_2 nd	85.7	96.2	66.2	94.3	94.8	61.9
Raw	84.3	84.8	57.6	94.3	97.6	84.3
Prediction (n=90)						
Mean norm	71.1	82.2	64.4	91.1	91.1	76.7
Max. norm	70	83.3	62.2	92.2	90	77.8
Range norm	73.3	81.1	62.2	92.2	92.2	72.2
MSC	81.1	85.6	67.8	94.4	91.1	77.8
SNV	81.1	85.6	66.7	94.4	91.1	77.8
S-G_1 st	88.9	94.4	74.4	92.2	83.3	77.8
S-G_1 st	91.1	95.6	68.9	88.9	80	58.9
Raw	87.8	81.1	64.4	95.6	95.6	82.2

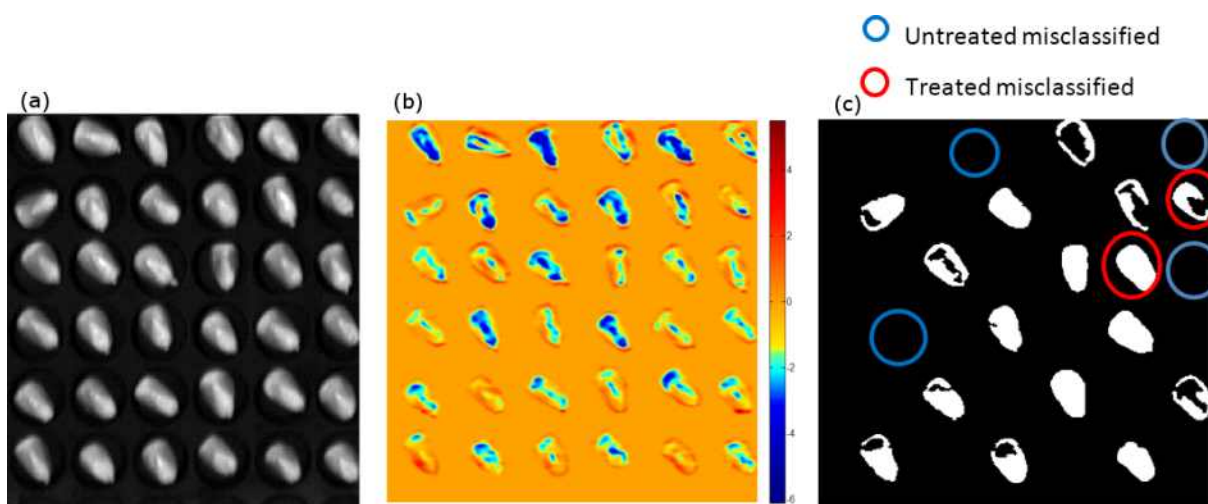


그림 58. SWIR hyperspectral image (a), PLS-DA image (b) and binary image (C).

4) 사료용 GMO 종자 발아억제 실시간 비파괴 판별기술 성능 검증

가) GMO 옥수수 종자의 발아억제 판별 실시간 검사 센싱장치 개발

- ① 개발된 판별 모델이 장착된 실시간 비파괴 자동 전수검정용 초분광 영상 시스템 구축
- 위에서 수행한 기초 연구를 바탕으로 온라인 사료용 GMO 옥수수 종자 발아 검정 시스템을 개발하였다(그림 57).
 - 오른쪽에 위치한 호퍼를 통해 판별할 옥수수 종자를 투입하고, 바이브레이터를 통과하면서 정렬된다. 개발된 판별시스템의 전장은 100 cm이며, 투입부 및 배출부 등을 포함한 전장은 240 cm이다. 이 길이는 변경이 가능하다.
 - 정렬된 종자는 8열로 설계된 컨베이어 벨트를 통해 이송된다. 이송 속도는 0.014m/s로 운영된다. 향후 속도 조절이 가능하도록 변경할 예정이다.
 - 이송된 종자를 100 와트의 할로젠 램프가 장착된 초분광 카메라 시스템으로 촬영한다. 초분광 영상시스템은 950-2500 nm의 파장과 320 x 256 의 영상을 갖추고 있으며, 촬영된 영상은 MCT센서로 감지한다. 개발된 선별 모델을 이용하여 슬레노이드와 블로어로 구성된 배출단에서 선별된 종자를 분리 배출한다.

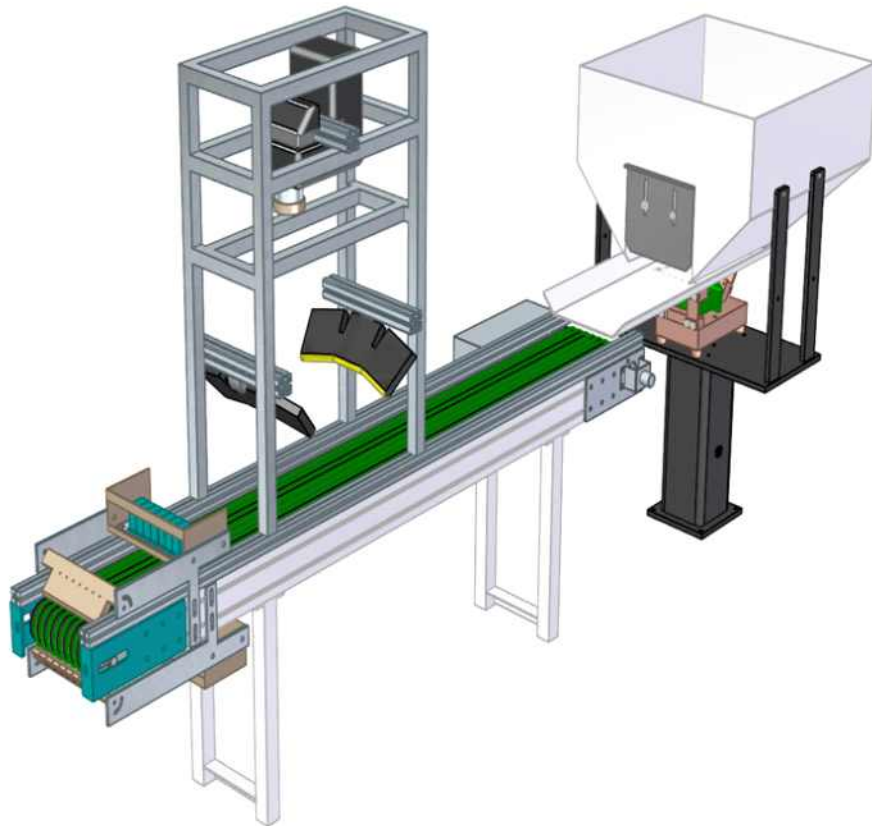


그림 59. SWIR 초분광 영상장치를 활용한 온라인 GMO 옥수수 종자 선별장치 개념도

- 그림 58은 그림 57의 설계도를 바탕으로 제작된 온라인 선별기의 모습이다. 투입구와 컨베이어벨트, 제어부, 촬영부 및 배출구로 구성되어 있으며, 본 연구에서는 마이크로웨이브를 이용하여 불활성화된 (treated) 종자의 판별을 실시하였으며, 이 데이터를 기반으로 판별모델을 개발하였다.

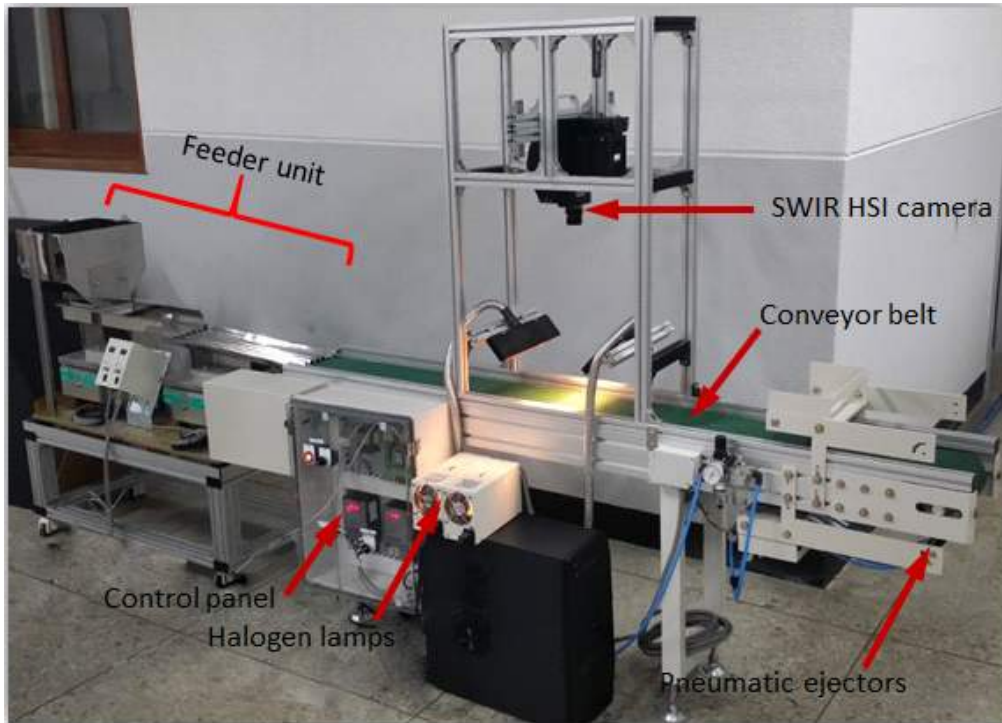


그림 60. 온라인 GMO 종자 선별 초분광 영상 시스템

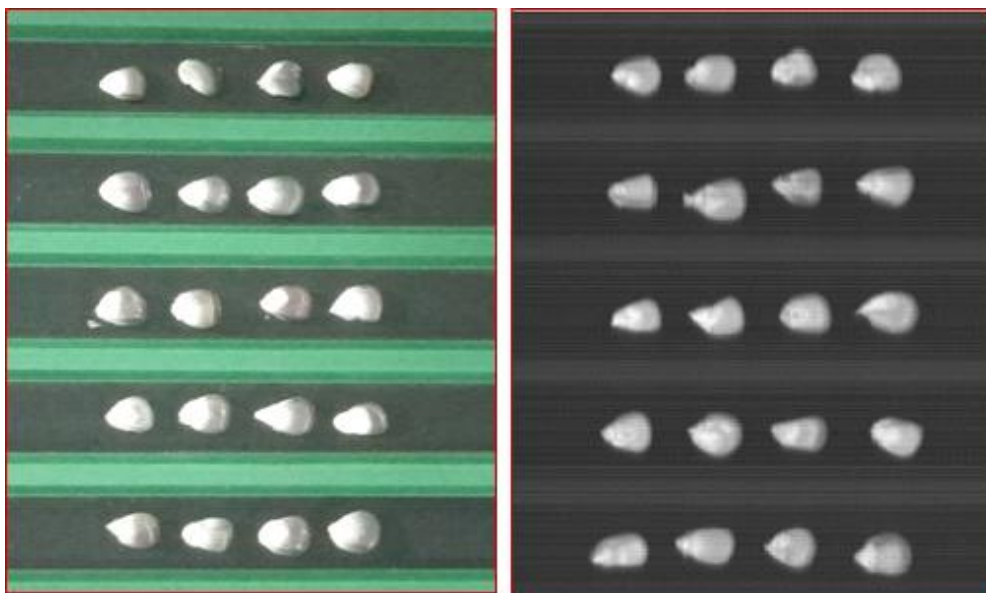


그림 61. 온라인 시스템에서 촬영한 옥수수 종자와 1245 nm 그레이 스케일로 변환한 영상

② 실시간 GMO 옥수수 발아여부 판별 소프트웨어 개발

- 초분광 SWIR 영상은 이송장치를 통해 시료를 이동시키며 측정하게 된다. 이때 할로겐램프 광원이 시료에 조사된 후 반사된 SWIR 신호를 MCT 카메라가 획득한다.
- 최적의 신호를 획득하기 위해 조절이 필요한 인자로는 cooling temperature, exposure time, AD Voltage values 이다. 하드웨어 인자들의 최적조건을 찾을 수 있도록 소프트웨어를 Matlab 소프트웨어를 이용하여 그림 60과 같이 개발하였다. 소프트웨어를 운영 방법 및 순서는 다음과 같다.



그림 62. Operation program for hyperspectral SWIR imaging system.

- ① Motor : Motorized stage driver와 computer간의 인터페이스 확인을 위한 버튼으로, 인터페이스가 성공하면 버튼은 녹색으로 바뀌게 된다.
- ② Camera : SWIR 카메라와 computer간의 인터페이스 확인을 위한 버튼으로, 인터페이스가 성공하면 버튼은 녹색으로 바뀌게 된다.
- ③ Scan : SWIR 영상의 획득을 시작하는 버튼으로 아래의 6 ~ 15번 항목의 변수를 입력한 후 실행해야 한다.
- ④ Abort : 기기의 작동을 멈출 수 있도록 설계하였다.
- ⑤ Close : 프로그램을 종료한다.
- ⑥ Focus : 실시간으로 SWIR 영상의 획득 시 화면에 보이는 영상의 크기 및 display 빈도를 결정할 수 있도록 개발하였다.

- ⑦ Imaging Data Acquisition : 최적의 SWIR 신호를 획득하기 위해 scan average 수, total scan 수, step size를 결정할 수 있도록 개발하였다.
- ⑧ Cooling : MCT sensor의 온도값을 설정하고, fan의 on/off를 조절할 수 있도록 개발하였다.
- ⑨ Save Data : 원하는 경로 및 데이터이름으로 저장할 수 있도록 개발하였다.
- ⑩ Exposure time : Exposure time을 micro sec 단위로 변경할 수 있도록 개발하였다.
- ⑪ AD voltages : MCT sensor의 감도는 AD voltage 값에 의해 결정된다. 0 ~ 4095 사이의 값으로 조절이 가능하도록 개발하였다.
- ⑫ Table : 시료 이송부의 초기 위치 및 속도를 결정할 수 있도록 개발하였다.
- ⑬ ⑭ Binning : SWIR 신호를 획득하는 MCT 센서의 크기는 320 × 256 size 이다. Binning 이란 인접한 센서 신호의 평균값을 나타내는 것으로 binning size가 증가하면 공간해상도는 줄어든다.
- ⑮ Bad pixel imaging making : MCT 센서는 3가지 종류의 bad pixel이 존재한다. Dead, bright, saturate pixle을 제거하고 위해 센서의 위치별 bad pixel이 존재하는 위치를 기억하고 새로운 값으로 센서값을 대체할 수 있도록 소프트웨어를 개발하였다.

5) 사료용 GMO 종자 발아억제 전수판별시스템 실용화 연구

가) 사료용 GMO 종자 발아억제 판별 시스템 상용화 모델 개발

① 광반사 스펙트럼의 위치별 차이 구명

- 본 절에서는 옥수수 알갱이의 전분(endosperm)부분과 배아(germ)부분의 스펙트럼을 비교하였다. 실시간 옥수수 종자 전수판별시스템 알고리즘을 종자의 위치나 종자의 투입 방향과 상관없이 적용 가능한지 파악하기 위해 다음과 같이 SWIR을 이용하여 각 부위의 부분적인 스펙트럼을 획득하여 분석하였다.

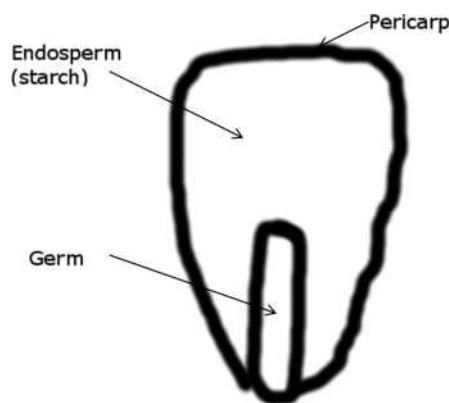


그림 63. Corn kernel diagram

- 그림 61에서는 초분광 영상에서 특정 부위의 스펙트럼을 획득하기 위해 사용한 옥수수 종자의 대략적인 모습을 나타내었다. 주로 전분으로 이루어진 배유(endosperm)부위와 기름 성분이 주를 이루는 배아(germ)부위를 나누어서 분석하였다. 가장 큰 부위를 차지하고 있을 뿐 아니라 구성 요소 차이가 가장 많이 나는 부분으로 스펙트럼을 차이도 클 것으로 예상되었다.
- 그림 62에는 옥수수 알갱이에 포함된 구성 성분과 간략한 그림을 나타내었다.

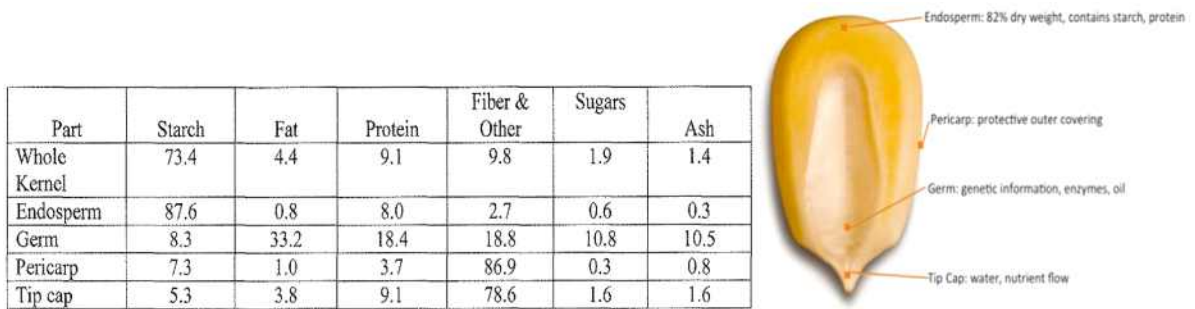


그림 64. Nutritional composition of corn kernel and each part's name (Bourg, 2006)

- 그림 63에는 황색 옥수수의 배유 부분의 흡수 스펙트럼을 나타내었으며, 그림 64에서는 황색 옥수수의 배아 부분의 흡수 스펙트럼을 나타내었다.

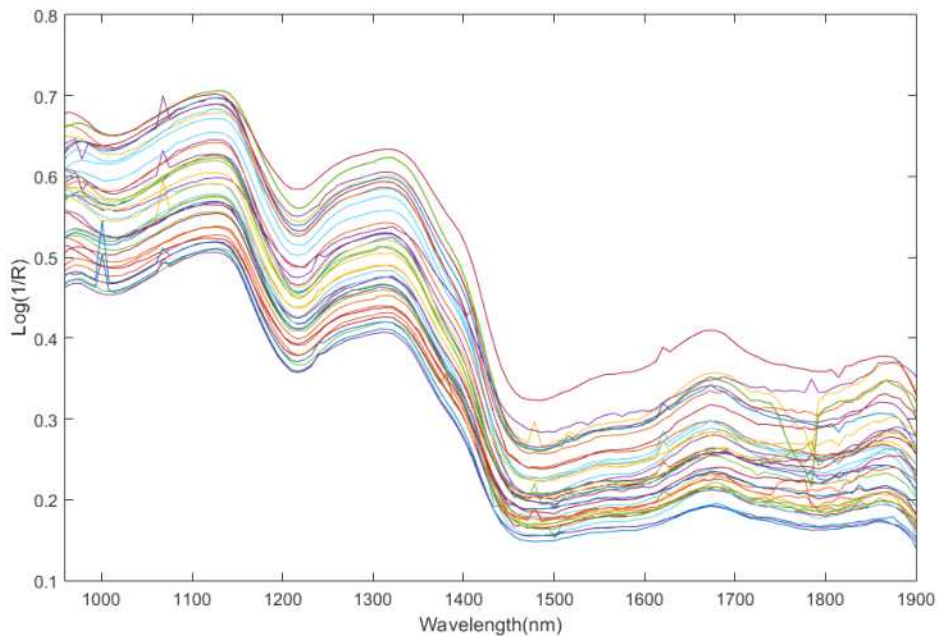


그림 65. Spectra of yellow corn endosperm part.

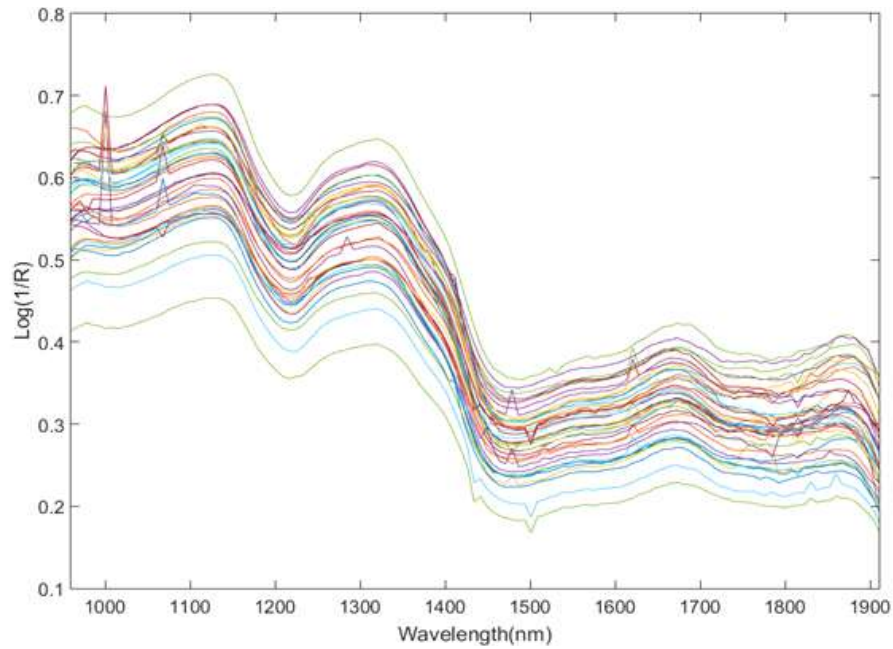


그림 66. Spectra of yellow corn germ part.

- 그림 65에서는 황색 옥수수의 배아 부분의 흡광도를 GMO처리 종자와 일반 종자별로 나타내었다. 그림 64와 유사한 흡광 피크를 보였으며, 두 처리별 종자의 흡광도도 차이를 보였다. 공통적으로 GMO 발아억제 열처리 종자의 평균 흡광도가 일반 종자보다 높게 나타났다.

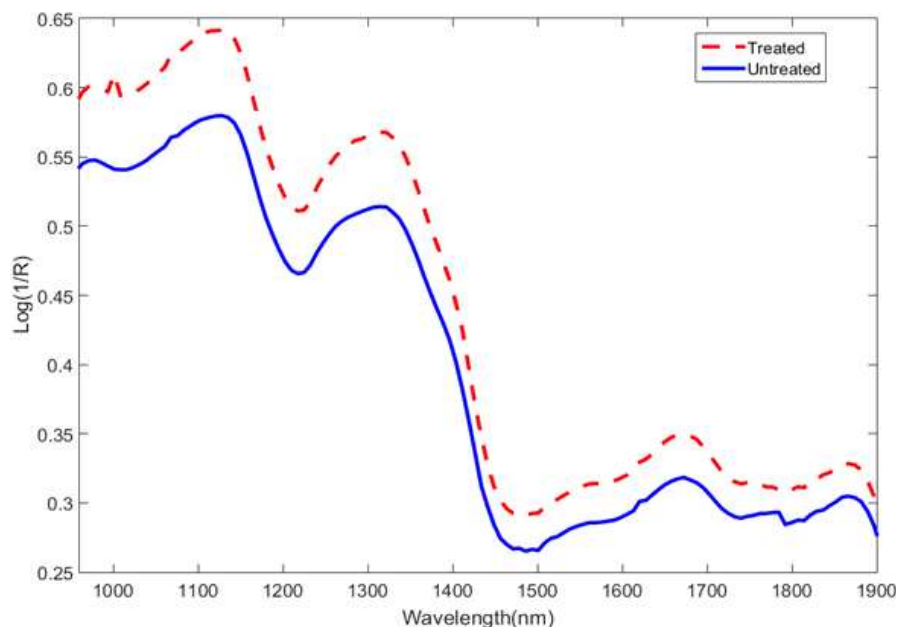


그림 67. Absorption spectra of GMO treated and untreated yellow corn germ part.

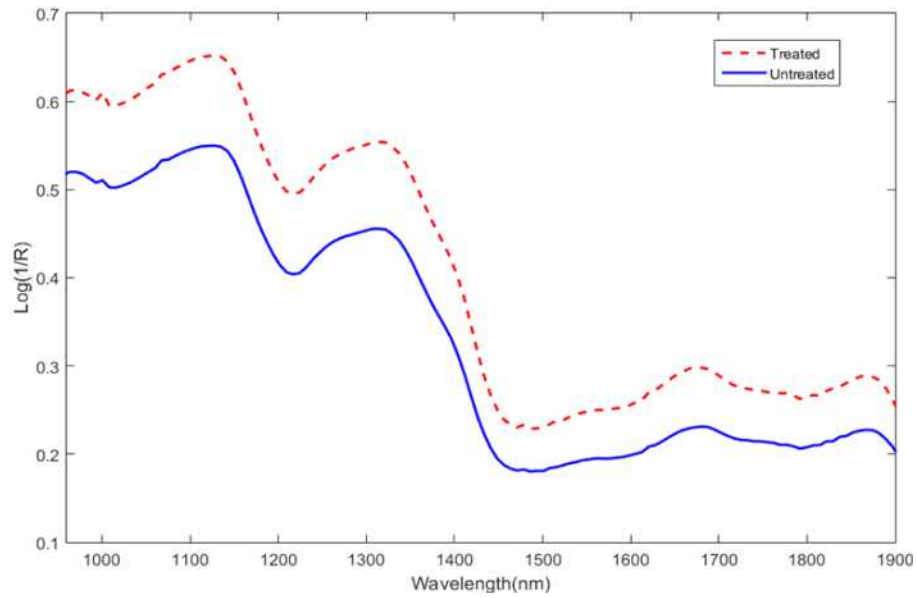


그림 68. Absorption spectra of GMO treated and untreated yellow corn endosperm part.

- 그림 66에는 GMO처리 종자와 일반 종자의 배유 부위의 흡수 스펙트럼을 나타내었다. 전체적인 흡광도의 패턴을 비슷한 모양을 나타내었다. 주로 1100, 1300, 1690 및 1890 nm부근에서 피크를 보이는 유사성을 나타내었지만, GMO 종자의 흡광 스펙트럼이 일반 종자에 비해 흡광도가 높은 차이를 보였다.

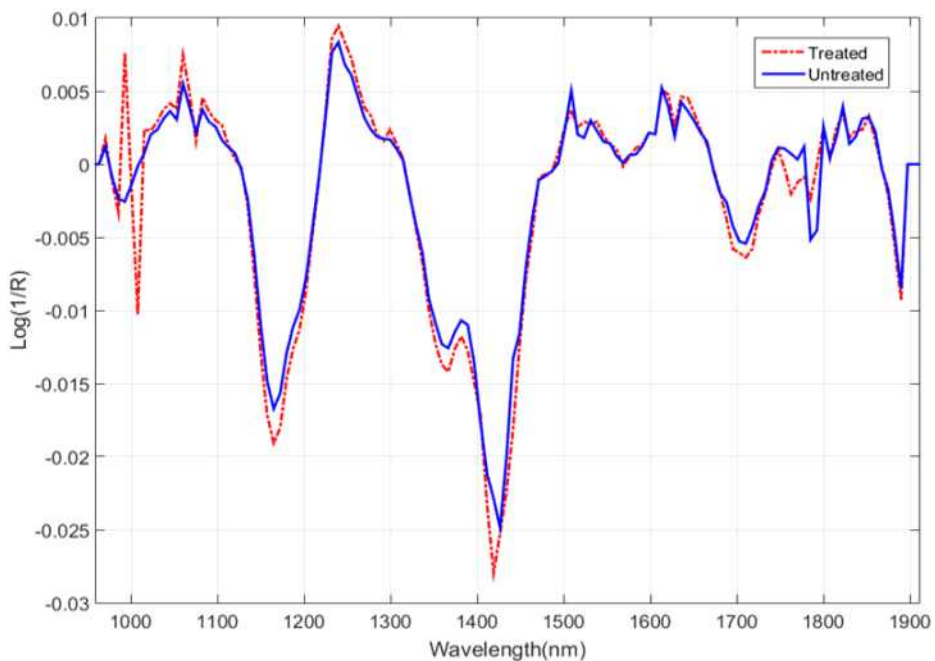


그림 69. 1st Derivative of absorption spectra of GMO treated and untreated yellow corn germ part.

○ 그림 67에는 황색 흡광 스펙트럼을 일차 미분하여 각 파장별 차이를 나타내고자 하였다. 1000, 1150, 1420, 1700 및 1750 nm에서 처리별 스펙트럼의 차이를 보였지만 명확한 판별 지점으로는 확인되지 않았다.

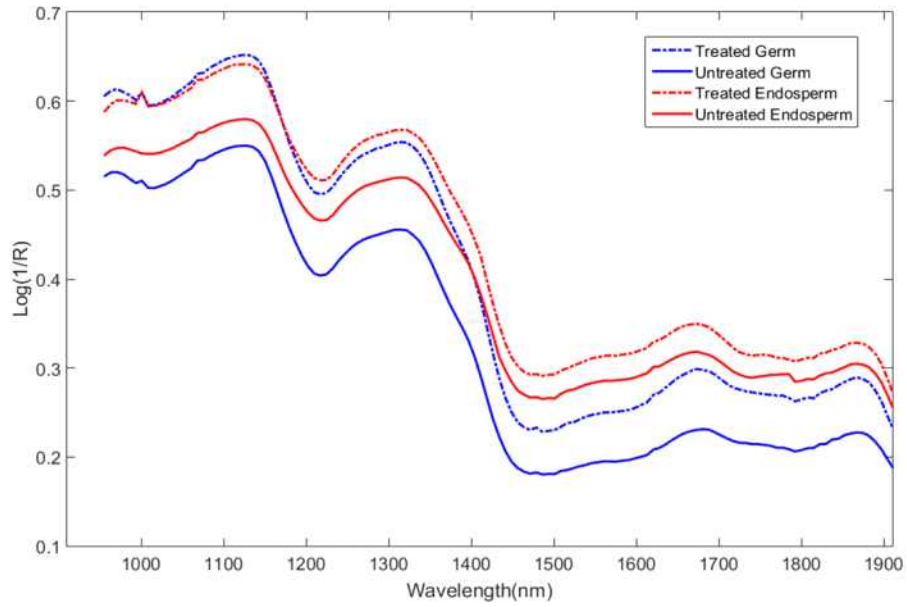


그림 70. Absorption spectra of GMO treated and untreated yellow corn germ part and endosperm part.

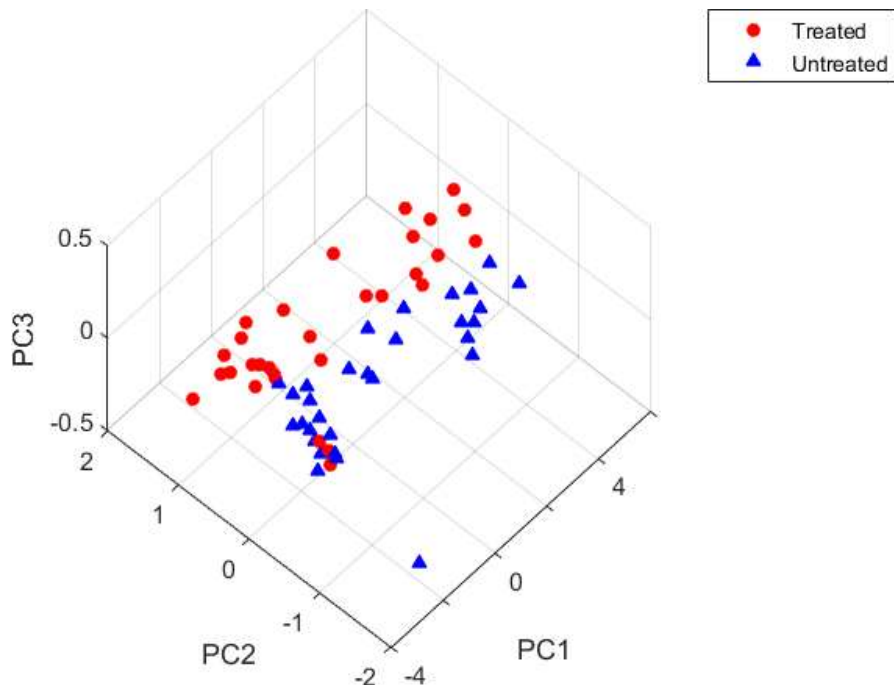


그림 71. PCA results of yellow corn endosperm part with GMO treated and untreated spectra.

- 그림 68에서는 황색 옥수수 종자의 배유 부위와 배아 부위의 각 처리별 평균 흡광 스펙트럼을 나타내었다. 파란 색, 빨간 색 선은 각각 일반 종자의 배아와 배유 흡광 스펙트럼을 나타내고, 점선은 각각 GMO처리 종자의 배아와 배유 부분의 흡광 스펙트럼을 나타낸다. 1000-1400nm 부근에는 일반 종자의 흡광도가 GMO처리 종자보다 큰 값을 나타내었고, 1400nm이후 파장에서는 두 처리 모두에서 배유 부분의 흡광도가 배아 부분보다 높게 나타났다.
- 그림 69에는 배유 부분의 스펙트럼을 PCA 분석한 결과를 나타내었다. PC1과 PC2의 도메인에서 두 개의 샘플 군이 서로 다른 군집을 보였다. 여기에서 빨간 원은 GMO처리군이며, 파란 삼각형은 일반군을 나타낸다.
- 각 부위별, 처리별 판별 정도를 알아보기 위해 전처리별 PLS-DA를 수행하였다(표 11, 12).

표 11. Calibration results of PLS-DA based on multiple pre-processing methods

	calibration					
	samples	Correct treated	Correct untreated	%Correct treated	%Correct untreated	over all %
mean norm	42	21	21	100	100	100
max norm	42	21	21	100	100	100
range norm	42	21	21	100	100	100
MSC	42	21	21	100	100	100
SNV	42	21	21	100	100	100
sg1	42	21	21	100	100	100
sg2	42	20	21	95.238	100	97.619
raw	42	21	21	100	100	100

표 12. Validation results of PLS-DA based on multiple pre-processing methods

	validation					
	samples	Correct treated	Correct untreated	%Correct treated	%Correct untreated	over all %
mean norm	18	8	8	88.889	88.889	88.889
max norm	18	8	8	88.889	88.889	88.889
range norm	18	8	9	88.889	100	94.444
MSC	18	8	8	88.889	88.889	88.889
SNV	18	8	6	88.889	66.667	77.778
sg1	18	9	8	100	88.889	94.444
sg2	18	8	8	88.889	88.889	88.889
raw	18	9	9	100	100	100

○ 표 66과 67은 백색 옥수수 종자의 측정 위치별 판별 결과를 PLS-DA를 이용하여 나타낸 것이다. 전처리를 하지 않은 raw 데이터를 포함하여 여덟 가지의 전처리에 따른 결과를 calibration(표 11)과 validation(표 12)으로 나누었으며, 그 중 raw 데이터를 이용한 PLS-DA가 가장 좋은 결과를 나타내었다.

- Calibration은 42개를 사용했으며, validation은 18개를 사용했다.

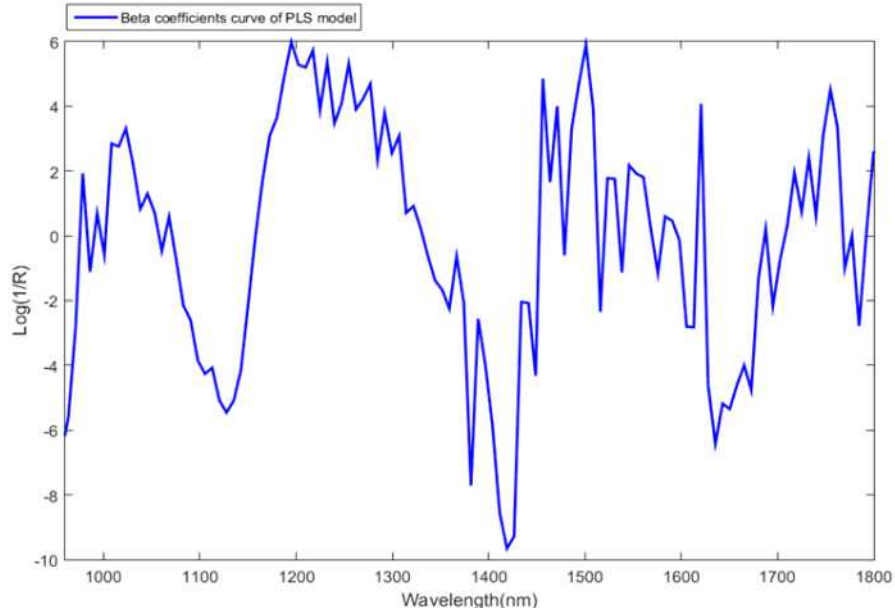


그림 72. Beta coefficient for PLS-DA model for yellow corn endosperm part.

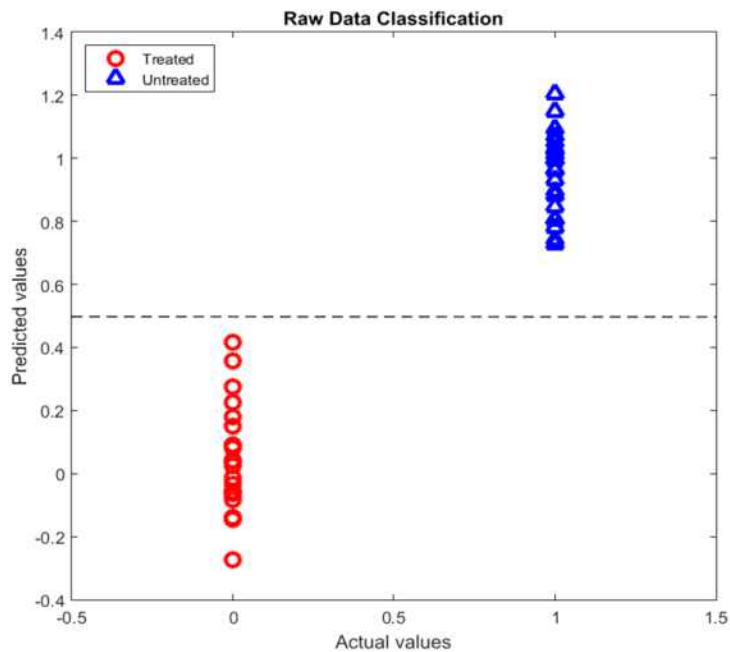


그림 73. Classification result of treated and untreated yellow corn endosperm part.

- 그림 70과 71에서는 배유 부위의 처리별 판별 결과를 이끌어낸 PLS 베타 곡선과 판별 결과를 나타내었다. 베타 곡선은 0보다 큰 값일수록 상관도가 커지는데 1200, 1400 및 1500nm 부근에서 큰 상관도를 보였다. 전처리를 사용하지 않은 raw 데이터를 PLS-DA로 0.5를 기준으로 판별한 결과는 그림 70에서 보는 바와 같다. 따라서 황색 종자의 경우 배유 부위는 처리별로 완벽하게 판별이 가능한 것을 알 수 있다.
- 그림 72는 황색 종자의 배아 부위를 처리별 판별에 사용한 PLS 베타 곡선이다. 그림 70에 비해 특징적인 피크는 보이지 않고 상대적으로 높은 파장인 1700nm 이후에서 높은 상관관계를 보였다.

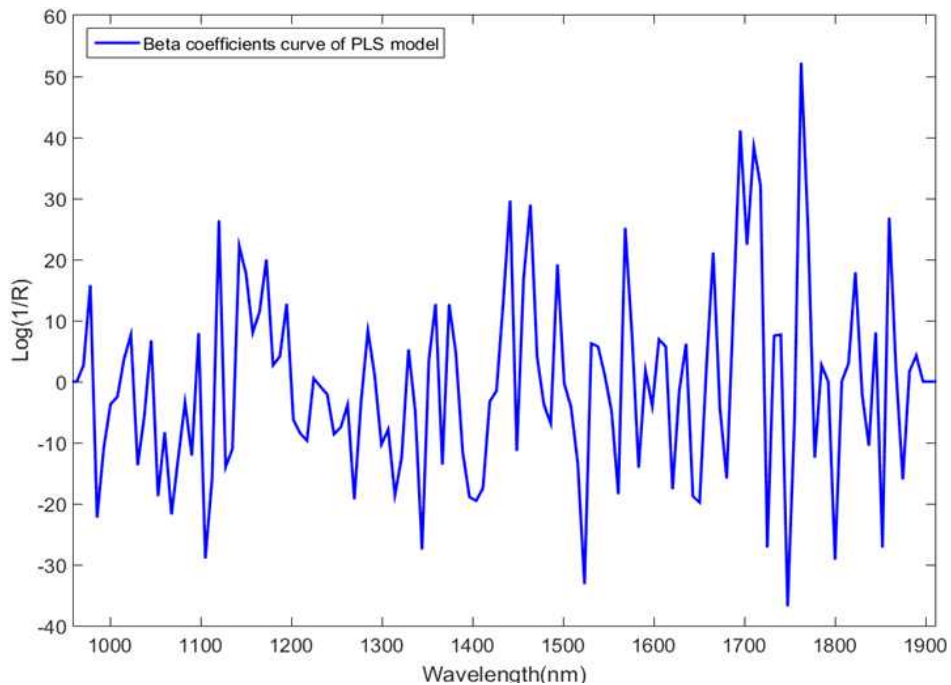


그림 74. Beta coefficient for PLS-DA model for yellow corn germ part.

표 13. Calibration results of PLS-DA based on multiple pre-processing methods for yellow corn germ part

	calibration					
	samples	Correct treated	Correct untreated	%Correct treated	%Correct untreated	over all %
mean norm	42	20	21	95.238	100	97.619
max norm	42	20	21	95.238	100	97.619
range norm	42	20	21	95.238	100	97.619
MSC	42	21	21	100	100	100
SNV	42	21	21	100	100	100
sg1	42	21	21	100	100	100
sg2	42	21	21	100	100	100
raw	42	21	21	100	100	100

표 14. Validation results of PLS-DA based on multiple pre-processing methods for yellow corn germ part

	validation					
	samples	Correct treated	Correct untreated	Correct treated (%)	Correct untreated(%)	over all (%)
mean norm	18	8	7	88.889	77.778	83.333
max norm	18	8	7	88.889	77.778	83.333
range norm	18	8	7	88.889	77.778	83.333
MSC	18	8	6	88.889	66.667	77.778
SNV	18	8	6	88.889	66.667	77.778
sg1	18	9	9	100	100	100
sg2	18	9	9	100	100	100
raw	18	9	7	100	77.778	88.889

○ 그림 70의 베타 곡선을 이용하여 판별한 결과를 표 13와 14에 나타내었다. 표 13에서와 같이 배아의 경우 1차 및 2차 미분을 이용한 전처리를 사용한 경우 가장 좋은 판별 결과를 나타내었다. 그중 1차 미분을 이용한 판별 결과를 나타내면 다음과 같다(그림 73).

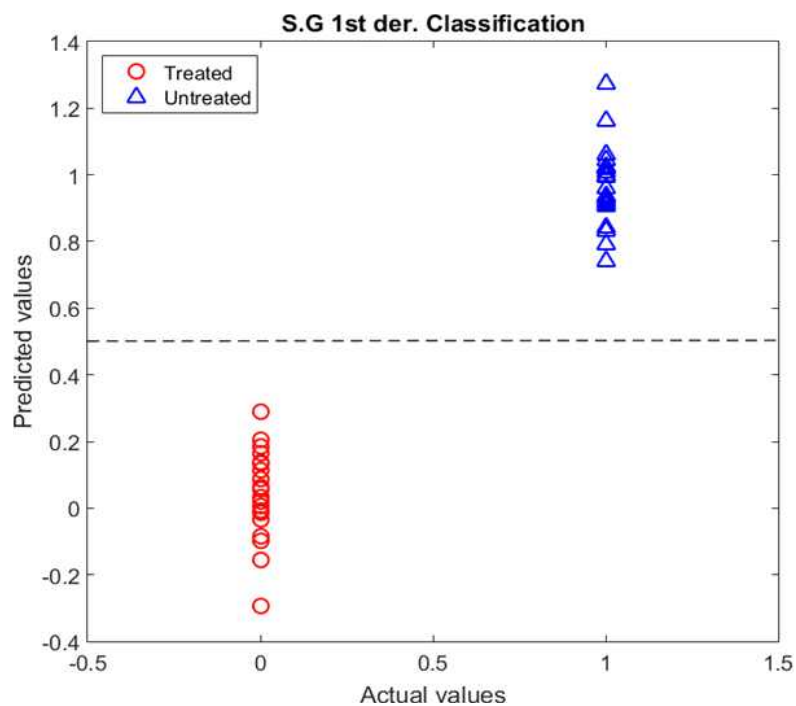


그림 75. Classification result of treated and untreated yellow corn germ part.

- 그림 73에는 일차 미분 전처리와 PLS를 이용하여 황색 옥수수 배아 부분의 스펙트럼을 GMO처리구와 일반 샘플의 판별결과를 나타내었다. 파란 삼각형은 일반 종자를 빨간 원은 처리 종자를 나타내며, 0.5를 기준으로 판별이 가능함을 알 수 있다.

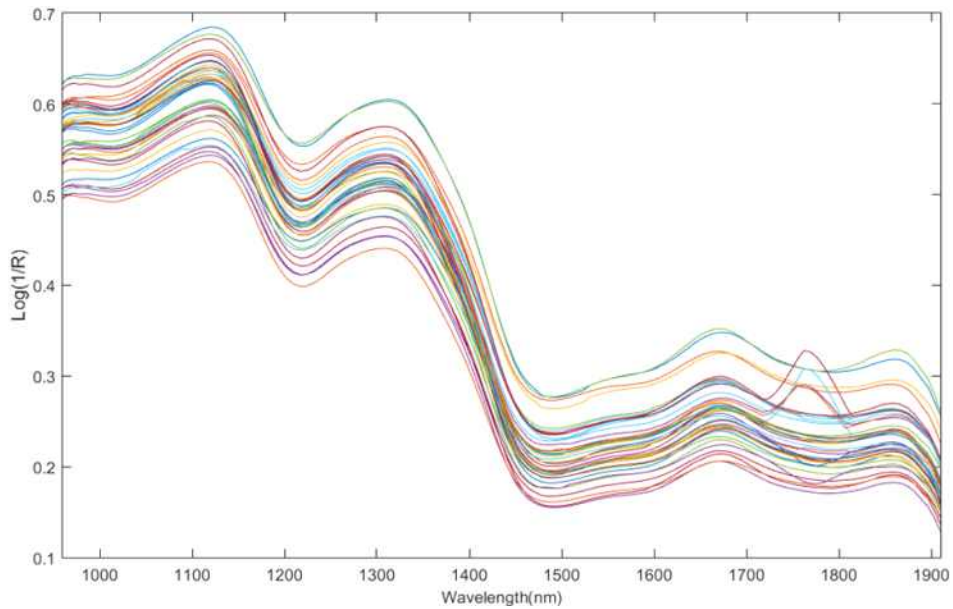


그림 76. Spectra of white corn endosperm part.

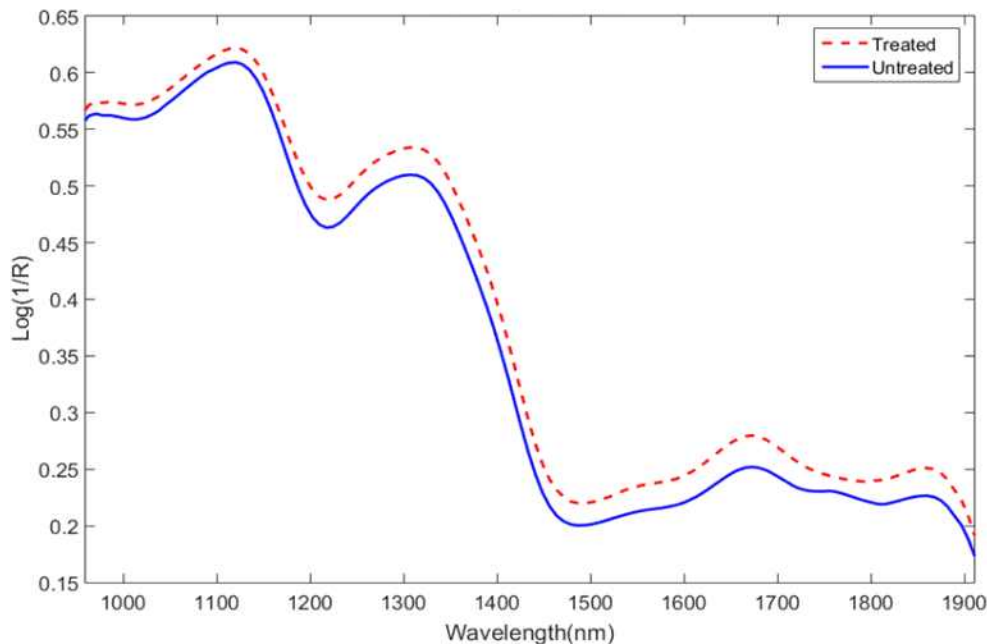


그림 77. Mean spectra of white corn endosperm part.

○ 그림 74, 75는 백색 옥수수의 배유 부분의 흡광도를 나타내었다. 1100, 1300, 1680 및 1880 nm에서 흡광 피크를 보였으며, 처리구와 대조구의 흡광도 크기의 차이가 황색 옥수수의 그래프에 비해 크지 않았다. 또한 1600 nm이후의 흡광 피크가 분명히 드러나지 않는 점도 차이가 있다.

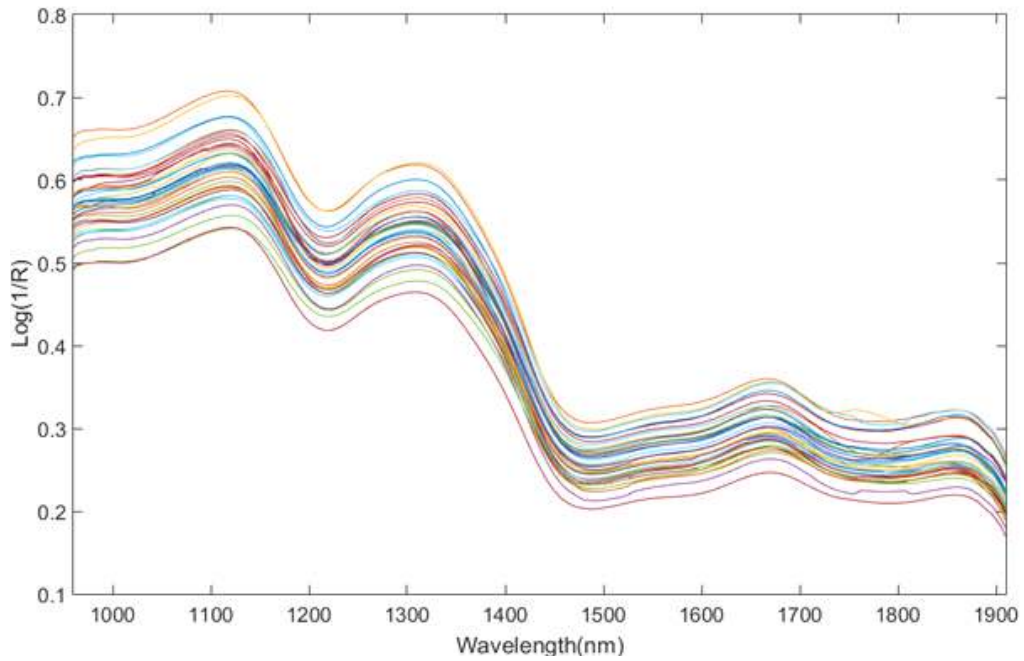


그림 78. Spectra of white corn germ part.

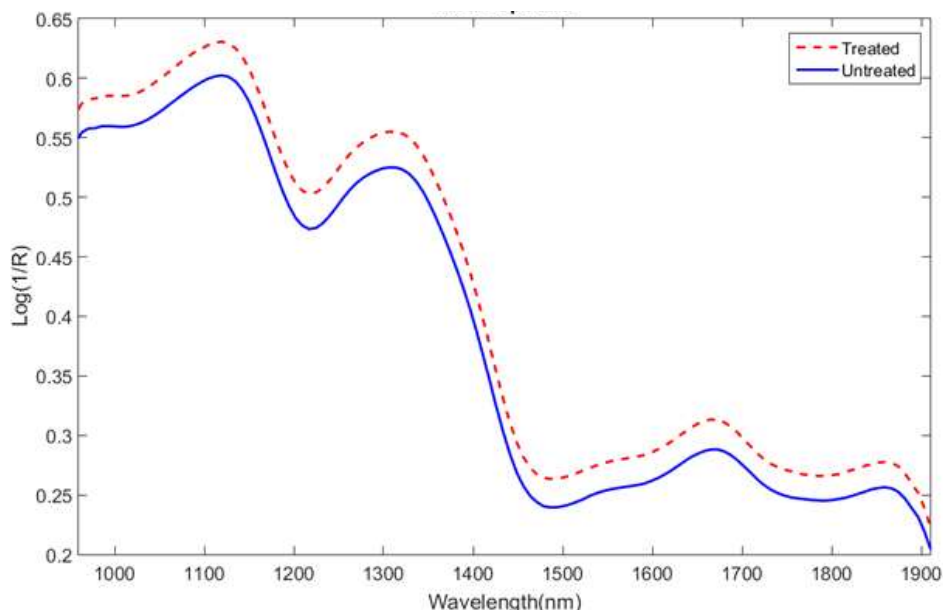


그림 79. Mean spectra of white corn germ part.

- 그림 76, 77에서는 백색 옥수수 종자의 배아 부위의 흡광 스펙트럼을 나타내었다. 처리구와 대조구의 흡광도의 차이가 0.05이상 나지 않음을 알 수 있다.
- 그림 78에서는 백색 옥수수 종자의 배아와 배유 부위의 흡광도를 나타내었다. 전 파장별로 대조구와 처리구의 차이가 나타나는 부분은 명확하지 않지만 1,400nm 이후에서 배유 부위와 배아 부위의 차이가 보인다.

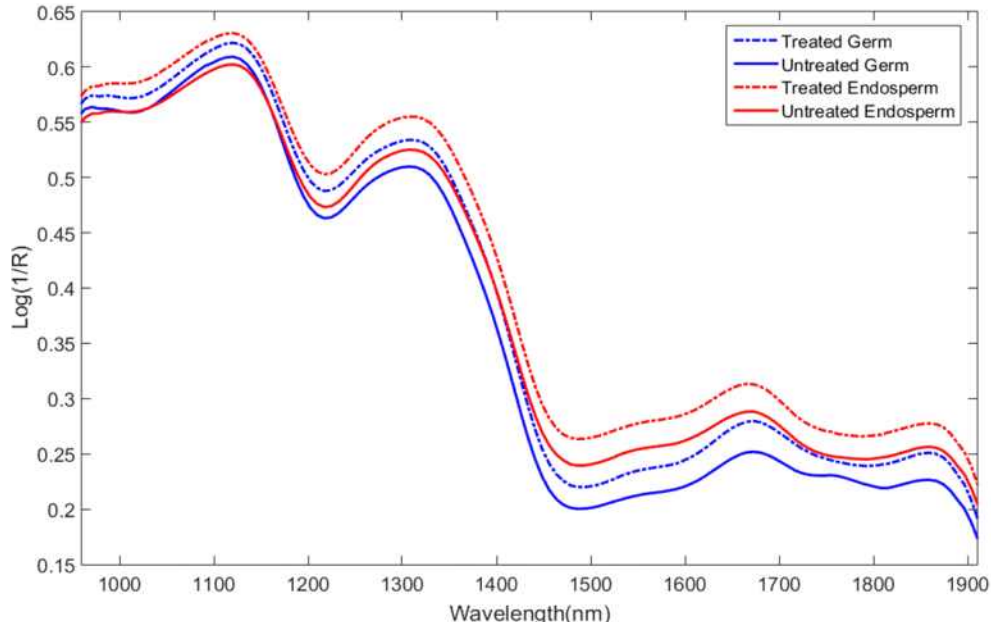


그림 80. Absorption spectra of GMO treated and untreated white corn germ part and endosperm part.

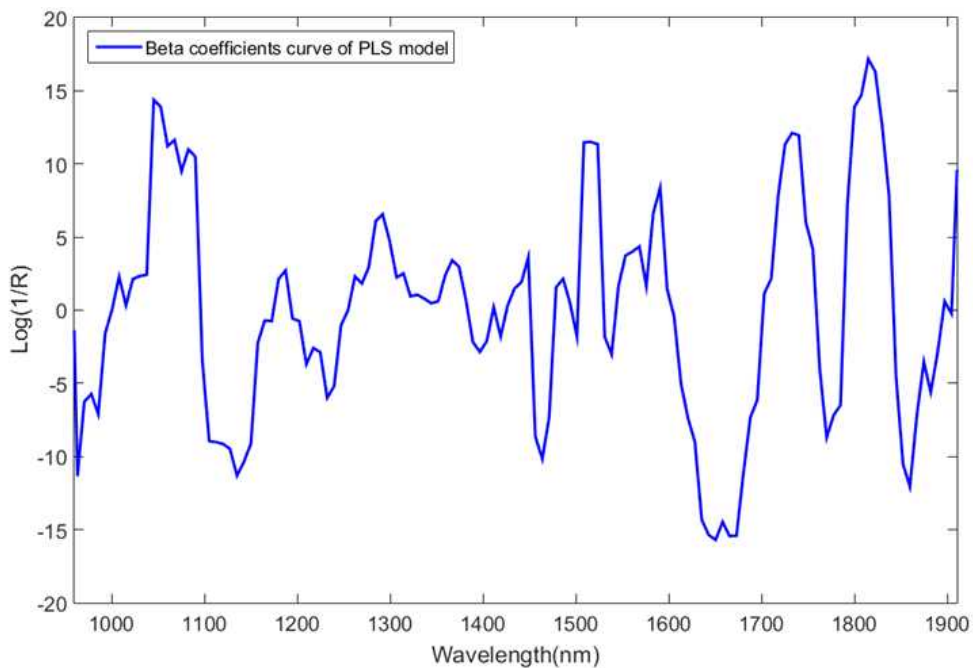


그림 81. Beta coefficient for PLS-DA model for white corn endosperm part

- 그림 79는 백색 옥수수 종자의 배유 부위의 스펙트럼을 이용하여 처리구와 대조구를 판별하는데 사용한 베타 인자를 나타내었다. 1050, 1500, 1660 1710 및 1800 nm 부위에서 높은 상관을 보였다.

표 15. Calibration results of PLS-DA based on multiple pre-processing methods for white corn endosperm part

	calibration					
	samples	Correct treated	Correct untreated	%Correct treated	%Correct untreated	over all %
mean norm	42	21	21	100	100	100
max norm	42	21	21	100	100	100
range norm	42	21	21	100	100	100
MSC	42	21	21	100	100	100
SNV	42	21	21	100	100	100
sg1	42	21	21	100	100	100
sg2	42	21	21	100	100	100
raw	42	21	21	100	100	100
smooth	42	21	21	100	100	100

표 16. Validation results of PLS-DA based on multiple pre-processing methods for white corn endosperm part

	validation					
	samples	Correct treated	Correct untreated	Correct treated (%)	Correct untreated(%)	over all (%)
mean norm	18	9	8	100	88.9	94.4
max norm	18	9	8	100	88.9	94.4
range norm	18	9	8	100	88.9	94.4
MSC	18	9	8	100	88.9	94.4
SNV	18	9	8	100	88.9	94.4
sg1	18	9	8	100	88.9	94.4
sg2	18	9	8	100	88.9	94.4
raw	18	9	8	100	88.9	94.4
smooth	18	9	9	100	100	100

- 표 15과 16은 백색 옥수수 종자의 배유 부위의 흡광 스펙트럼을 이용하여 처리구와 대조구를 판별한 결과를 나타내었다. 각 전처리별 calibration과 validation결과를 비교하였으며, 표 77에서 볼 수 있듯이 모든 전처리에서 동일한 결과를 나타내었다. 기존의 여덟 종류의 전처리로는 충분한 비교가 어려울 것으로 보여 아홉 번째 평활화를 추가하여 validation에서 비교하였다.
- 판별 결과를 나타낸 표 16에서는 평활화가 가장 좋은 결과를 보였다. 흡광도가 비록 전체 파장 1000-1900nm에 걸쳐 분명한 차이가 보이지 않았지만 PLS

를 이용한 판별에서는 분명한 차이를 보였으며, 그 결과를 그림으로 나타내면 다음과 같다(그림 80).

- 그림 80에는 백색 옥수수 배유 부위의 흡광도를 이용하여 처리구(빨강 ○)와 대조구(파랑 △)으로 나타내었으며, 0.5를 문턱치로 판별하였다.

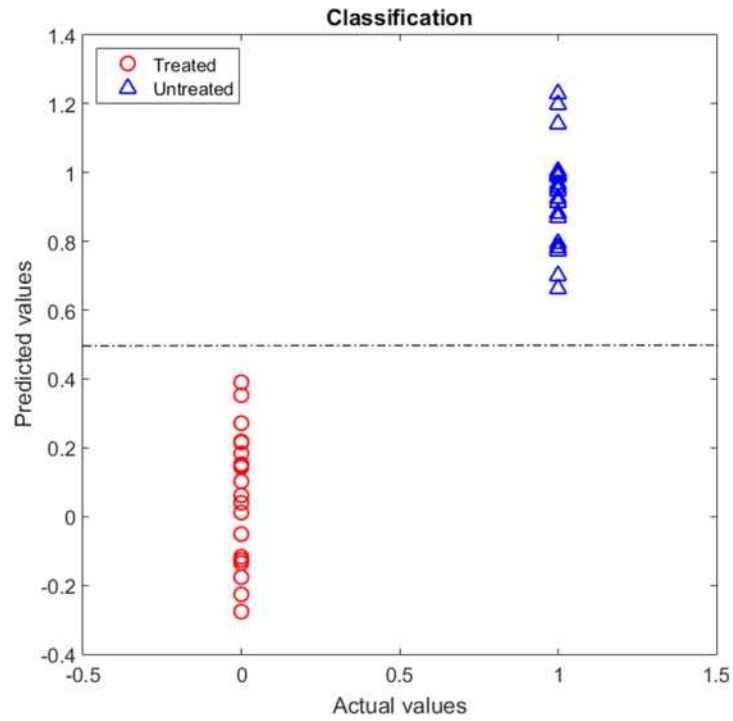


그림 82. Classification result of treated and untreated white corn endosperm part

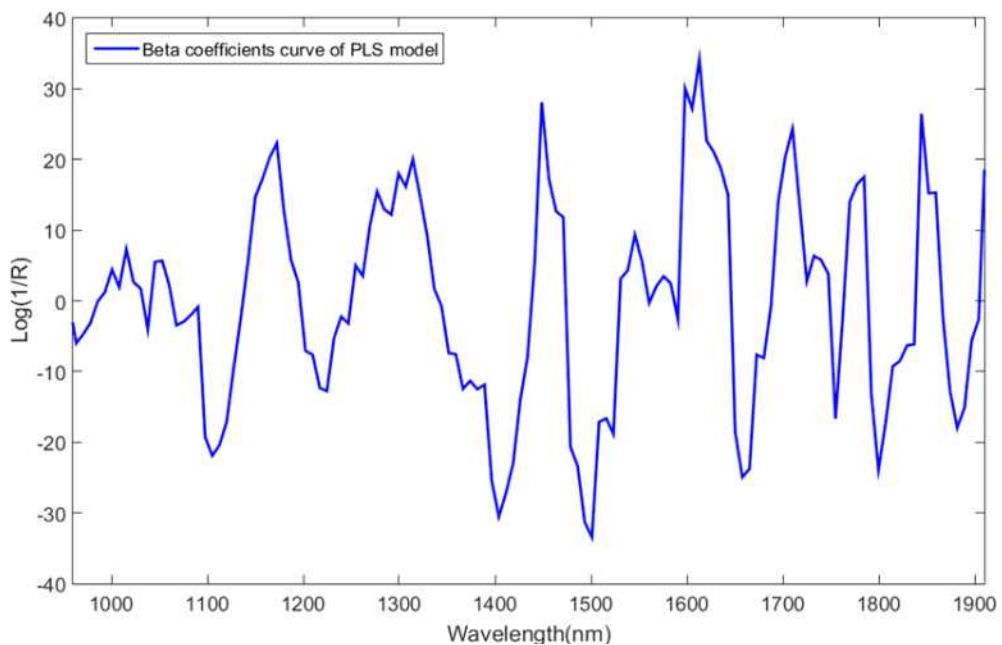


그림 83. Beta coefficient for PLS-DA model for white corn germ part.

표 17. Calibration results of PLS-DA based on multiple pre-processing methods for white corn germ part

	calibration					
	samples	Correct treated	Correct untreated	%Correct treated	%Correct untreated	over all %
mean norm	42	21	21	100	100	100
max norm	42	21	21	100	100	100
range norm	42	21	21	100	100	100
MSC	42	21	21	100	100	100
SNV	42	21	21	100	100	100
sg1	42	21	21	100	100	100
sg2	42	21	21	100	100	100
raw	42	21	21	100	100	100

표 18. Validation results of PLS-DA based on multiple pre-processing methods for white corn germ part

	validation					
	samples	Correct treated	Correct untreated	Correct treated (%)	Correct untreated(%)	over all (%)
mean norm	18	9	9	100	100	100
max norm	18	9	8	100	88.9	94.4
range norm	18	9	9	100	100	100
MSC	18	9	9	100	100	100
SNV	18	9	9	100	100	100
sg1	18	9	9	100	100	100
sg2	18	9	8	100	88.9	94.4
raw	18	9	9	100	100	100

- 그림 81에서는 백색 옥수수 배아 부위의 스펙트럼을 이용하여 처리구와 대조구의 판별을 위해 사용한 베타 인자를 나타내었다. 여러 파장에서 높은 상관율을 보였으며 그 중에서도 1400, 1450, 1500 및 1600 nm 부근에서 높은 상관율을 보였다.
- 표 17, 18은 PLS를 이용하여 판별한 결과를 나타내었다. 표 17에서는 모든 전처리가 동일한 결과를 나타내었으며, 표 18에서는 validation결과로서 평균 정규화(mean norm), 부분 정규화(range norm), MSC, SNV, 1차 미분 및 raw데이터 등이 좋은 결과를 나타내었다.
- 그중에 계산을 위한 비용이 가장 적은 raw데이터를 이용한 판별결과를 그림 82에 나타내었다.

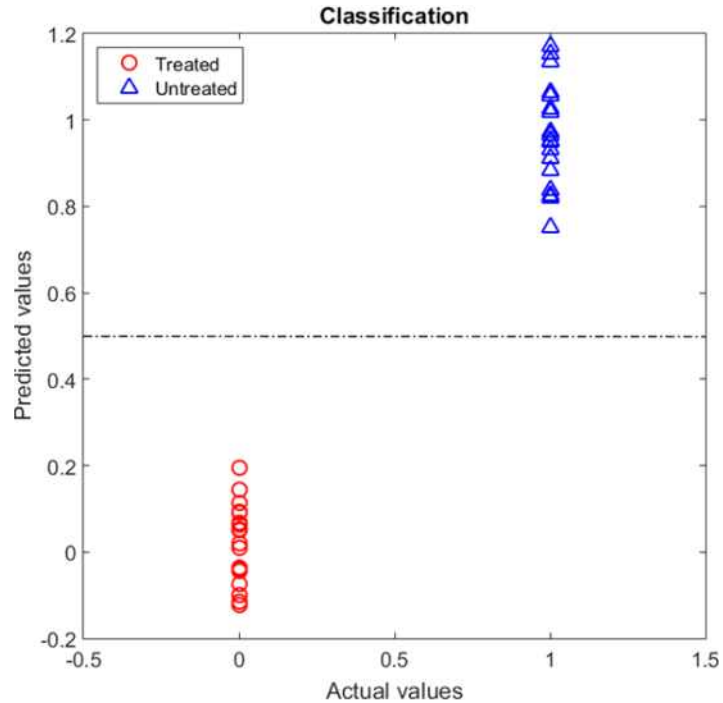


그림 84. Classification result of treated and untreated white corn germ part.

- 그림 82는 백색 옥수수 종자 배아 부위의 raw 데이터를 PLS를 이용하여 판별한 결과를 0.5를 기준으로 처리구(빨강 ○)와 대조구(파랑 △)의 분포를 나타낸다.
- 따라서 위의 스펙트럼을 이용한 판별 결과를 바탕으로 하여 다음과 같은 결과를 이끌어 낼 수 있다.
 - 배유 부위나 배아 부위 어느 부위를 이용하든지 처리구와 대조구의 판별이 가능하다. 또한, 여러 전처리를 사용하였지만 raw 데이터를 사용한 경우에 안정적으로 판별이 가능함을 알 수 있다. 1차 미분과 평활화 방법으로 가능한 경우도 있었지만 대체로 유사한 결과를 나타내었다.
 - 위의 연구 결과를 바탕으로 효과적인 실시간 판별연구를 위하여 배유 및 배아부분을 모두 포함한 전체 옥수수 종자에서 데이터를 이용하여 사용할 예정이다.

② 실시간 판별 시스템의 속도별 판별 결과

(1) 백색 옥수수 종자

- 위의 판별결과를 통하여 각 색깔별 처리구와 대조구의 실시간 판별 결과를 나타내었다. 컨베이어 벨트의 속도를 각각 13rpm (1.61cm/s), 30rpm (4.16cm/s) 및 50rpm (7.15cm/s)으로 다르게 지정하여 PLS를 이용한 판별모델로 판별한 결과

를 다음에 그림과 표로 나타내었다. 처리구 30개와 대조구 30를 다섯 개씩 한 줄로 나열하였고 번갈아 가면서 대조구-처리구의 종자를 배치하였다.

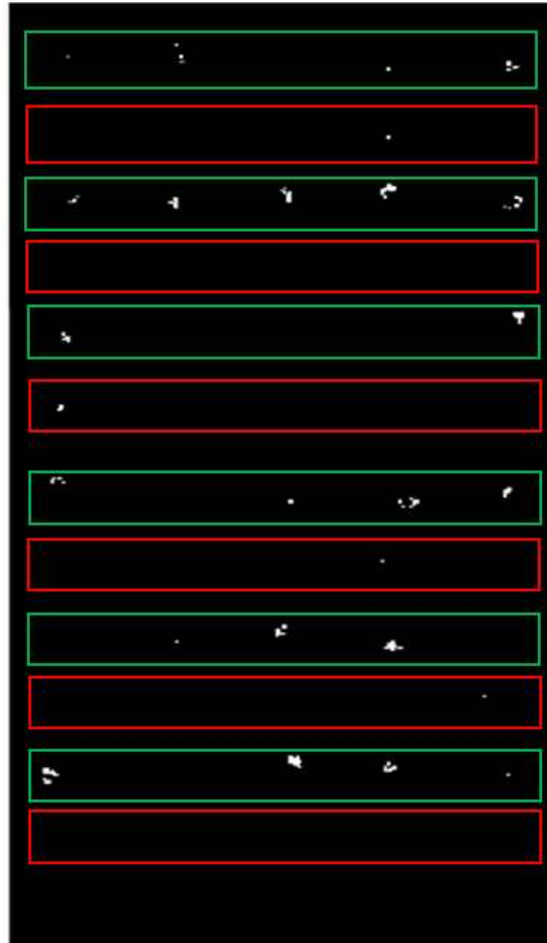


그림 85. Online sorting results of white corn based on PLS-DA with conveyor speed 13rpm (1.61cm/s).

표 19. Results of white corn based on PLS-DA with conveyor speed 13rpm (1.61cm/s)

Group	Correct	Misclassified
Non treated	4	1
Treated	4	1
Non treated	5	0
Treated	5	0
Non treated	2	3
Treated	4	1
Non treated	4	1
Treated	4	1
Non treated	3	2
Treated	4	1
Non treated	4	1
Treated	5	0
Total	48 (80%)	12 (20%)



그림 86. Online sorting results of white corn based on PLS-DA with conveyor speed 30rpm (4.16cm/s).

표 20. Results of white corn based on PLS-DA with conveyor speed 30rpm (4.16cm/s)

Group	Correct	Misclassified
Non treated	3	2
Treated	5	0
Non treated	5	0
Treated	5	0
Non treated	2	3
Treated	4	1
Non treated	3	2
Treated	4	1
Non treated	2	3
Treated	4	1
Non treated	3	2
Treated	3	2
Total	43 (71.7%)	17 (28.3%)

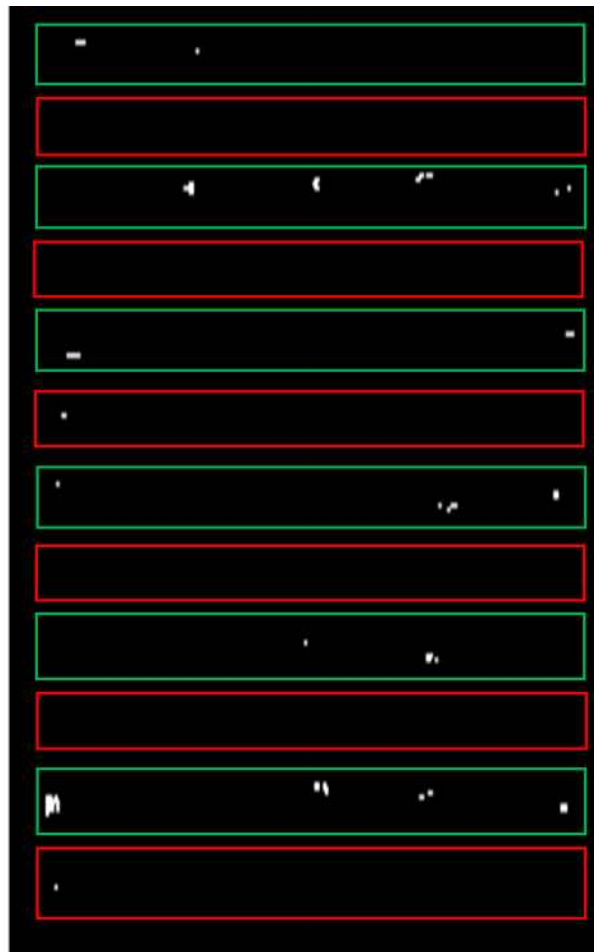


그림 87. Online sorting results of white corn based on PLS-DA with conveyor speed 50rpm (7.15cm/s).

표 21. Results of white corn based on PLS-DA with conveyor speed 50rpm (7.15cm/s)

Group	Correct	Misclassified
Non treated	2	3
Treated	5	0
Non treated	4	1
Treated	5	0
Non treated	2	3
Treated	4	1
Non treated	3	2
Treated	5	0
Non treated	2	3
Treated	5	0
Non treated	4	1
Treated	4	1
Total	45 (75%)	15(25%)

○ 그림 83-85와 표 19-21은 PLS 모델을 이용하여 실시간 판별결과를 나타낸다.

- 그림의 녹색 사각형과 적색 사각형은 대조구와 처리구의 배열을 나타낸다. 각 배열은 다섯 개의 종자를 가지고 있으며, 각 속도별로 판별한 결과가 흰색으로 표시되었다. 검은 바탕에서 녹색 사각형에서는 다섯 개 샘플중에 정상적으로 판별된 결과가 흰색으로 나타나며, 적색 사각형으로 구분된 처리구는 정상적으로 판별된 결과는 흰색이 보이지 않아야 한다.
- 그림 83에서는 13rpm (1.61cm/s)의 속도로 이송한 백색 종자의 초분광 SWIR 영상을 PLS 판별식으로 판별한 결과를 나타내었다. 그 결과는 표에 나타내었다. 처리구와 대조구 전체 60개 중 제대로 판별된 종자의 수는 48개이며 80%의 판별성능을 나타내었다. 이것을 각 샘플 군으로 나누어보면, 처리구의 경우 총 30개중 4개가 오판되어 86.7%의 판별 성능을 보였으며, 대조구의 경우 22개가 정상 판단되어 73.3%의 판별 성능을 보였다.
- 그림 84, 85는 각각 30rpm (4.16cm/s)과 50rpm (7.15cm/s)의 속도별 판별 결과를 나타내었다. 동일한 시료를 이용하여 각각의 이송속도별 판별결과는 처리구의 경우 83.3%, 93.3%로 속도가 높은 경우에 좋은 판별성능을 보였으나, 대조구의 경우 60%와 56.7%로 판별이 정상적으로 되었다고 보기 힘든 결과를 나타내었다. 이 결과는 30rpm이상의 이송속도로는 처리구를 대조구로부터 완벽하게 판별하기 힘든 결과를 나타내며, 13rpm에서 평균 80%의 판별성능을 보여 적용 가능성을 발견할 수 있었다.

(2) 자색 옥수수 종자

- 자색 옥수수 종자를 온라인 초분광 SWIR 영상 시스템을 이용하여 판별한 결과를 그림과 표로 나타내었다.
- 이송 속도는 각각 13rpm (1.61cm/s), 30rpm (4.16cm/s)과 50rpm (7.15cm/s)으로 컨베이어 벨트와 연결된 조절 장치를 이용하여 속도를 달리 하였다. 판별된 결과는 아두이노와 연결된 솔레노이드를 통하여 석선하도록 배출구를 제작하였다.



그림 88. Online sorting results of purple corn based on PLS-DA with conveyor speed 13rpm (1.61cm/s).

표 22. Results of purple corn based on PLS-DA with conveyor speed 13rpm (1.61cm/s)

Group	Correct	Misclassified
Non treated	4	1
Treated	5	0
Non treated	4	1
Treated	5	0
Non treated	3	2
Treated	3	2
Non treated	5	0
Treated	5	0
Non treated	4	1
Treated	5	0
Non treated	3	2
Treated	5	0
Total	51 (85%)	9(15%)

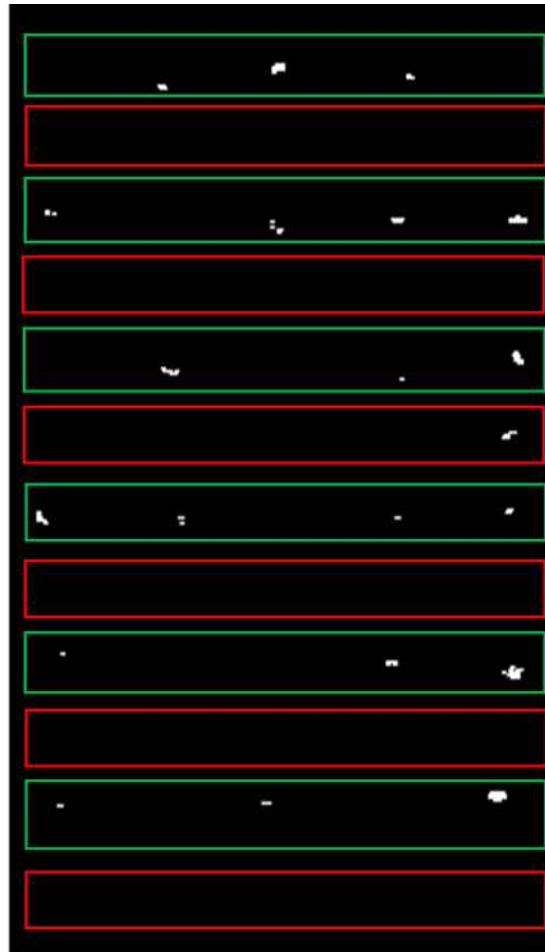


그림 89. Online sorting results of purple corn based on PLS-DA with conveyor speed 30rpm (4.16cm/s).

표 23. Results of purple corn based on PLS-DA with conveyor speed 30rpm (4.16cm/s)

Group	Correct	Misclassified
Non treated	3	2
Treated	5	0
Non treated	4	1
Treated	5	0
Non treated	3	2
Treated	4	1
Non treated	4	1
Treated	5	0
Non treated	3	2
Treated	5	0
Non treated	3	2
Treated	5	0
Total	49 (81.7%)	11 (18.3%)

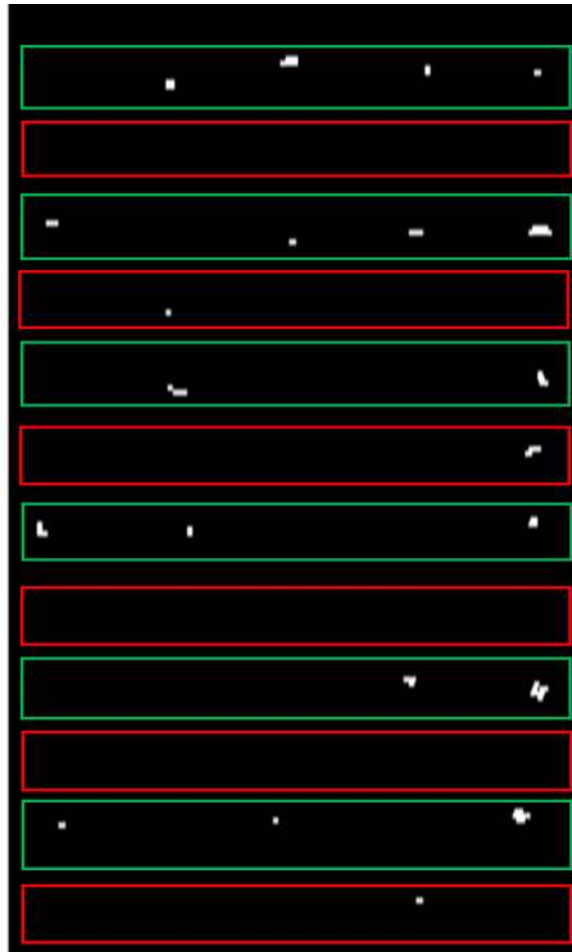


그림 90. Online sorting results of purple corn based on PLS-DA with conveyor speed 50rpm (7.15cm/s).

표 24. Results of purple corn based on PLS-DA with conveyor speed 50rpm (7.15cm/s)

Group	Correct	Misclassified
Non treated	4	1
Treated	5	0
Non treated	4	1
Treated	4	1
Non treated	2	3
Treated	4	1
Non treated	3	2
Treated	5	0
Non treated	2	3
Treated	5	0
Non treated	3	2
Treated	4	1
Total	45 (75%)	15 (25%)

○ 그림 86-88과 표 22-24은 PLS 모델을 이용하여 실시간 판별결과를 나타낸다.

- 그림의 녹색 사각형과 적색 사각형은 대조구와 처리구의 배열을 나타낸다. 각 배열은 다섯 개의 종자를 가지고 있으며, 각 속도별로 판별한 결과가 흰색으로 표시되었다. 검은 바탕에서 녹색 사각형에서는 다섯 개 샘플중에 정상적으로 판별된 결과가 흰색으로 나타나며, 적색 사각형으로 구분된 처리구는 정상적으로 판별된 결과는 흰색이 보이지 않아야 한다.
- 그림 86에서는 13rpm (1.61cm/s)의 속도로 이송한 자색 옥수수 종자의 초분광 SWIR 영상을 PLS 판별식으로 판별한 결과를 나타내었다. 그 결과는 표에 나타내었다. 처리구와 대조구 전체 60개 중 제대로 판별된 종자의 수는 51개이며 85%의 판별성능을 나타내었다. 이것을 각 샘플 군으로 나누어보면, 처리구의 경우 총 30개중 2개가 오판되어 93.3%의 판별 성능을 보였으며, 대조구의 경우 23개가 정상 판단되어 76.6%의 판별 성능을 보였다.
- 그림 87, 88은 각각 30rpm (4.16cm/s)과 50rpm (7.15cm/s)의 속도별 판별 결과를 나타내었다. 이는 초당 18(W) x 7(L) cm의 영상처리속도이며, 최대 49개의 옥수수 시료를 처리할 수 있는 속도이다. 동일한 시료를 이용하여 각각의 이송속도별 판별결과는 처리구의 경우 96.7%, 90.0%로 속도가 높은 경우에 좋은 판별성능을 보였으나, 대조구의 경우 66.7%와 60.0%로 처리구의 판별 성능에 비해 판별이 정상적으로 되었다고 보기 힘든 결과를 나타내었다. 이 결과는 30rpm이상의 이송속도로는 처리구를 대조구로부터 완벽하게 판별하기 힘든 결과를 나타내며, 13rpm에서 평균 85%의 판별성능을 보여 백색 옥수수 종자보다 5%포인트 더 향상된 결과를 보였으며, 실시간 판별 적용 가능성을 발견할 수 있었다.

(3) 종자 판별 성능 향상을 위한 추가 연구

- 위의 결과에서는 처리구와 대조구를 PLS로 판별한 결과를 나타내었고, 백색 및 자색 옥수수 종자의 판별 결과 모두 13rpm에서 가장 좋은 결과를 보였으며, 각각 80%, 85%로 판별 성능이 나타났다.
- 실시간 판별 시스템의 판별 성능을 향상시키기 위해서 다른 판별 방식을 적용해 보았다.
 - LDA를 이용하여 자색과 백색 종자의 대조군과 처리군을 판별하였으며 각각 95%와 96.7%의 판별 성능을 보였다.
 - 스펙트럼의 판별에서는 좋은 판별 성능을 보였지만 영상에 적용한 결과는 실시간 판별 시스템에 적용하기 어려운 성능을 보였다.
 - Kernel을 이용한 SVM을 적용하였다. 본 연구에서는 선형 커널을 이용하였으며 그 결과는 다음 그림 89에 나타내었다.

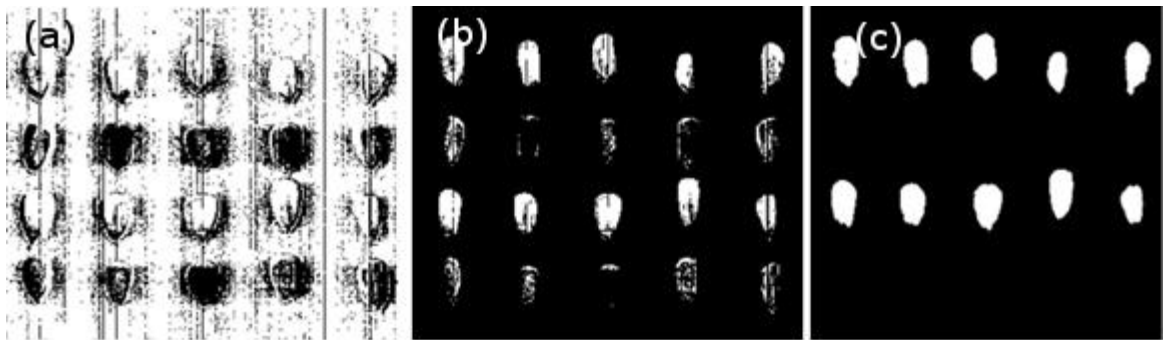


그림 91. Separation result of purple corn seeds using linear support vector machine (SVM).

- 그림 89에서는 선형 SVM을 이용하여 자색 옥수수 종자를 판별한 결과를 나타내었다. 우선 자색 옥수수 종자의 이미지에 선형 SVM을 적용하였으며(a), 노이즈를 제거하기 위해 마스크를 적용한 결과를 나타내었다(b).
- 판별 성능을 결과를 평활화하기 위해서 85픽셀의 면적을 판별하기 위해서 열림(opening) 방식을 적용하였다. 모폴로지 영상 분석법인 열림 후에 두 픽셀의 디스크 형태를 이용한 침식(dilation) 방식을 적용하였다.
- 결과는 그림 89(c)에 나타내었다. SVM을 적용한 결과 자색의 경우 98.3%, 백색의 옥수수 종자는 100%의 판별성능을 나타내었다.
- 이 알고리즘을 실시간 판별 시스템에 최적 판별방식으로 적용하기 위해서는 추가 연구가 필요할 것으로 판단된다.

(4) 종자의 배출구

- 위의 결과에서처럼 온라인 판별 시스템을 통하여 판별된 결과를 바탕으로 종자를 처리별로 선별하기 위해 배출구를 아두이노를 이용하여 솔레노이드를 제어하도록 제작하였다. 기존 배출구의 설계는 air-blow방식이었지만 온라인 시스템에는 suction방식을 도입하였으며 본 연구에 사용된 아두이노의 형식은 다음과 같다.
- 표 25는 사용된 아두이노의 형식을 나타내며, 그림 90은 온라인 판별 시스템의 컨트롤 박스에 설치한 아두이노를 나타내었다. 아두이노의 작동 방식은 다음과 같다.

표 25. Technical specification of Arduino

Micro controller	ATmega328P
Operating voltage	5V
Input voltage (recommended)	7-12V
Input voltage (limit)	6-20V
Digital I/O Pins	14(of which 6 provide PWM output)
PWM Digital I/O Pins	6
Analog input Pins	6
DC Current per I/O Pin	20 mA
DC Current for 3.3V Pin	50 mA
Flash Memory	32 KB (ATmega328P) of which 0.5KB used by bootloader
SRAM	2 KB (ATmega328P)
EEPROM	1 KB (ATmega328P)
Clock speed	16 MHz
Length	68.6 mm
Width	53.4 mm
Weight	25 g



그림 92. Embedded Arduino controller in the control box.

- 그림 91에는 종자의 영상획득과 판별의 결과를 하드웨어 상에 적용하는 과정을 나타내고 있다. 컨베이어 벨트에 정렬된 옥수수가 초분광 영상분석장치로 투입되고, 획득한 초분광 영상을 처리 후 판별식으로 각 종자별 판별 결과를 아두이노에 전달한다. 0과 1로 전달된 판별결과를 릴레이모듈에 연결된 솔레노이드에 전달한다. 우선 위의 전달 과정을 통해 신호 변조를 통해 판별식으로 판별된 종자는 펌프를 통해 최종적으로 선별된다. 솔레노이드를 통해 펌프를 작동시키면 대조구(정상종자)는 배출구들 통해서 선별되고, 처리구(GMO 처리종자)는 자유낙하하도록 배출구를 나누었다.

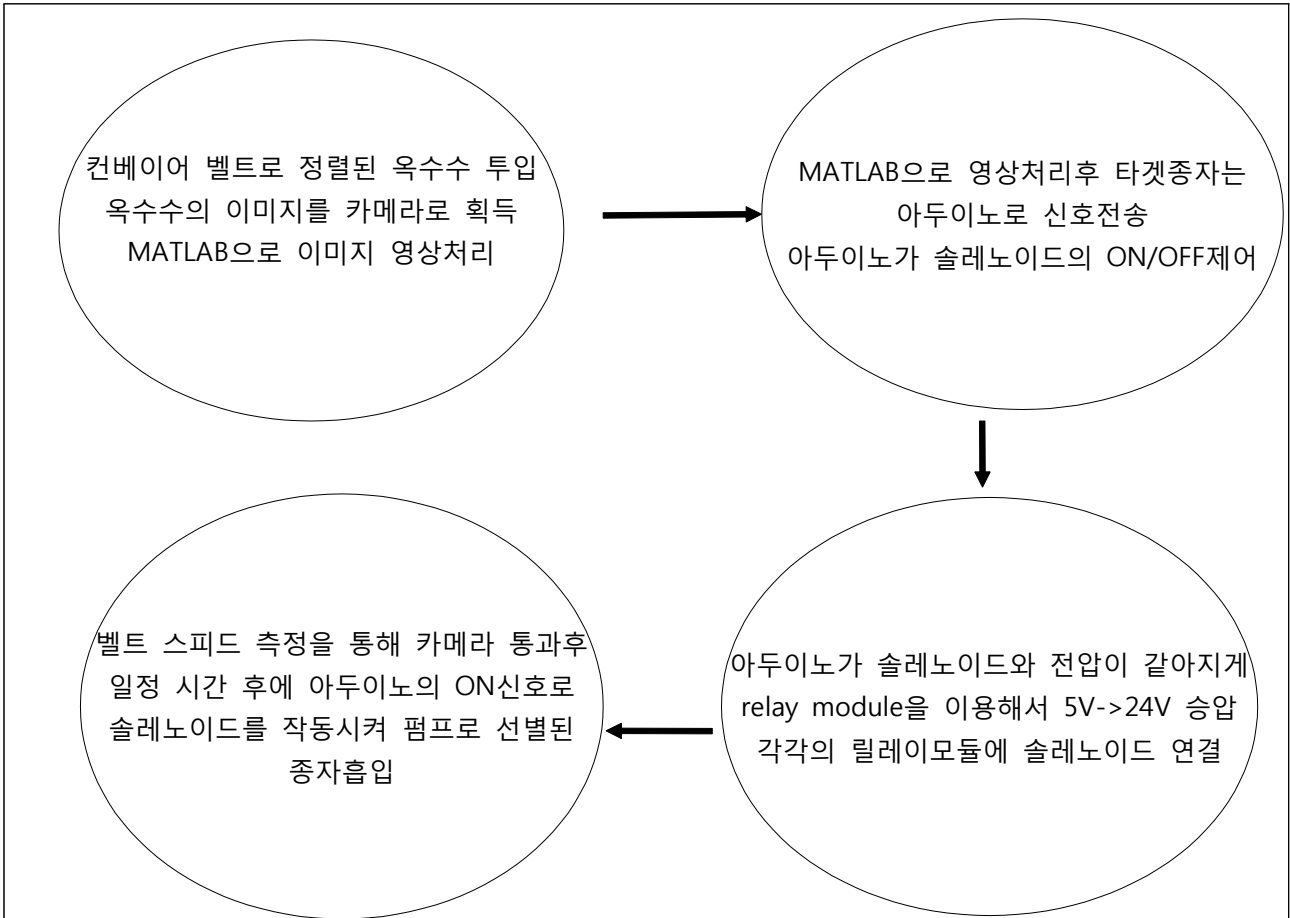


그림 93. Diagram of control output end using Arduino

- 그림 92에는 그림 91의 순서로 신호전달과정을 통해 판별된 종자를 펌프로 흡입하는 과정을 실제 시스템에 부착된 장비간의 전달과정을 나타내었다. 노란 선은 장비간 신호전달과정을 나타내며 마지막 청색 파이프를 통해서 선별 종자를 흡입하게 된다.
- 그림 92에는 판별 시스템의 사진과 신호 전달과정을 나타내었다. 아두이노에 전달된 신호는 릴레이모듈로 솔레노이드에 전달되고 펌프에 신호를 보내어 목표 종자를 파이프를 석선하여 최종 배출하게 된다. 컨베이어 벨트의 이송속도에 맞추어 최종판별결과가 아두이노에 전달될 수 있도록 이송속도의 모니터링을 계속 진행하게 된다.

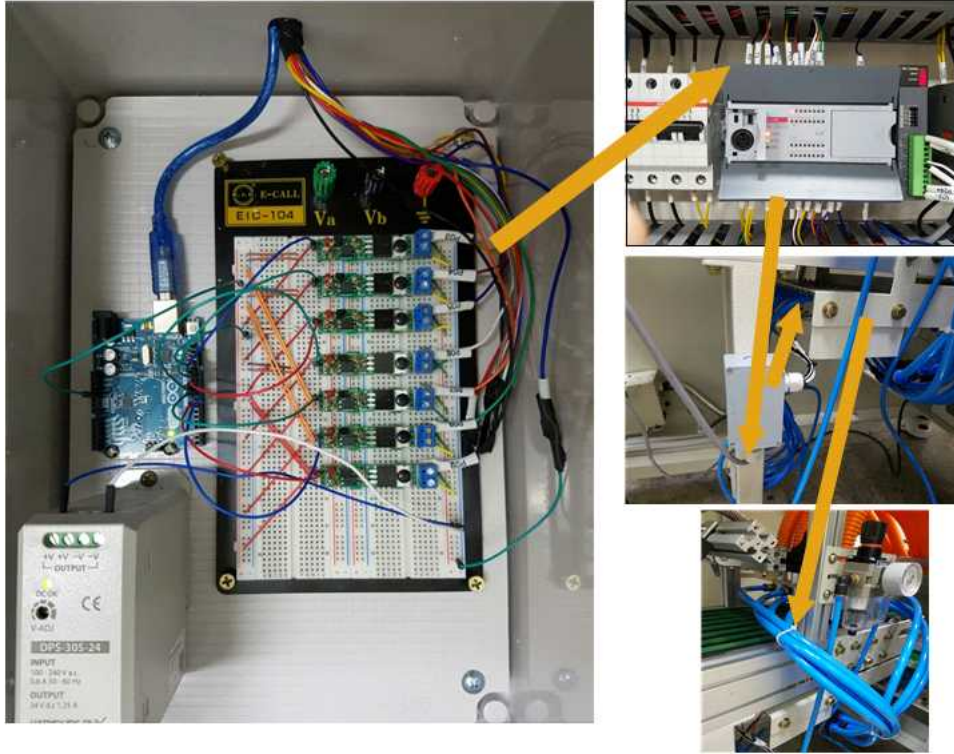


그림 94. Picture of output end control using Arduino

4. 목표달성도 및 관련분야 기여도

		코드번호	D-06
가. 목표달성도			
구분 (연도)	세부연구목표	연구개발의 내용	달성도
1차년도 (2014년)	사료용 GMO 종자 발아억제 판별용 고속선별 장치 개발	- 종자 전용선별을 위한 line-type 컨베이어 이송 장치 구축 - 이동 중 종자의 탈락(튀는 현상) 최소화 장치 설계	100
	Air blow식 선별장치 구축 및 최적화	- 고속 선별용 air blow 장치 구축 - 다양한 크기.형태.무게 등을 고려한 시료분리 기술 개발	100
	정밀 개체 공급 장치 구축	- 종자 개체의 line 별 공급 및 간격유지를 통해 센싱 및 배출이 용이한 개체 공급 장치 구축	100
	센서와 선별기기 인터페이스 구축	- 제어보드를 이용한 센싱부위와 선별부 연결	100
	시제품 개발 및 실증시험 추진	- 고속선별 장치와 분광분석 기술을 결합하여 시제품 개발 완료 - 개발된 시제품을 이용한 실증 시험 추진	100
	Line-scan 초분광 Vis/NIR/SWIR 시스템 구축 및 최적 파장영역 구명	- On-line 측정을 위한 line-scan 방식의 초분광 영상 시스템 구축 - 파장대역 : 400-1,000 nm (Vis/NIR), 1,000-2,500 nm (SWIR) - 센서 : Charge Coupled Device(CCD), HgCdTe	100
광반사 스펙트럼을 이용한 GMO 종자 발아억제 판별 예측 모델 개발	- 발아억제 처리 종자 이화학적, 생물학적 특성과 광파장 fingerprint 관계 구명 - Chemometrics 분석법 이용한 예측 모델 개발	100	
2차년도 (2015년)	개발 시작기 종자 검역 현장 시험 적용	- 기존 검역 현장 적용시험(부산 검역소) - 개발시스템의 현장시연 및 성능검증 (정확도, 사용자편의성, 공간효율성 등)	100
	사료용 GMO 종자 발아억제 판별 시스템 상용화 모델 개발	- 현장 검증 결과 Feedback을 통한 시스템 보완(제품 완성도 향상) - 최종 설계 확정 및 Operation Manual 제작	100
	GMO 옥수수 종자의 발아억제 판별 실시간 검사 센싱장치 개발	- 개발된 판별 모델이 장착된 실시간 비파괴 자동 전수검 정용 초분광 영상 시스템 구축 - 실시간 GMO 옥수수 발아여부 판별 소프트웨어 개발	100
	개발시스템 성능검증	- GMO 옥수수 종자의 발아/비발아 시료를 무작위 선 정 후 blind test를 이용하여 표준검사법과 비교한 후 예측 정확도 검증수행 (n>10,000), 목표 정확도: 95% (최대 98%) 이상	100

나. 관련분야 기여도

1) 기대효과

- 현재까지 개발되지 않았던 사료용 GMO 종자의 비파괴적 신속 전수 검사가 가능하게 됨으로서 신뢰도 높은 검역 및 안전한 사료용 GMO 종자 유통 기반이 확립됨
- 전수검사가 가능해 GMO 종자 유통에 대한 엄격한 검수절차가 마련되며 결과 왜곡이 근본적으로 차단됨
- GMO 종자의 생태계에 유출을 원천 차단함으로써 국내 자연생태환경의 교란 및 파괴를 미연에 방지함과 동시에 국민보건 증진 및 자연생태환경 보전이 가능함
- 고비용 검정기술을 현장 적용형 비파괴 신속검사기술로 대체하여 검정에 소요되는 시간, 비용, 인력을 대폭 절감할 수 있음
- GMO 종자 발아억제 여부 비파괴 검사 원천기술의 확보는 농산물 안전성 측정분야는 물론 식품, 의료, 제약분야 등의 실시간 검사기술 개발로도 응용이 가능함
- 농산물 안전에 대한 비파괴 측정기술의 수요는 국내뿐만 아니라 해외에서도 수요가 높으므로 사업화가 이루어질 경우 수출유망기술로 성장이 가능함

2) 상품화 및 사업화 가능성

가) 국내 종자 시장 현황

- 국내 농작물 종자산업은 약 1,400억원 규모로서 2000년 이래 시장 정체되어 있음
 - 종자산업 매출은 경기 변동에 큰 영향을 받지 않으며, 기업은 고부가가치 종자의 판매비중 확대와 해외 진출을 통해 성장을 이뤄야 함
- 6개의 대·중소기업을 포함하여 국내에는 819개의 종자 회사 존재하고 있음
 - 6개의 대·중소기업이 존재하며, 나머지는 영세하여 기술력을 가진 없는 소수에 불과하여 대부분 영농조합의 형태로 존재함
 - 외환위기 이후 국내 5대 종자 기업 중 4곳이 다국적 기업에 인수되며 국내 종자와 기술이 다국적 기업으로 넘어감

나) 진입 가능성 분석

- 본 연구를 통해 개발 예정이 기기는 GMO종자 발아 여부뿐만 아니라 일반 종

자의 이병·퇴화 검사에 활용할 수 있으므로, 검역소뿐만 아니라 종자관련 기업에 판매가 가능할 것으로 기대됨

○ 6개의 검역검사본부 지부

- 종자 검역의 필요성 증가로 인한 구입 가능성이 다분하며, 현재 10억 이상의 고가의 수입 선별기에 의존하므로 구매로 인한 수입대체 효과가 가능함

○ 6개의 대·중소기업

- 구입 능력 존재하며, 종자 폐기로 인한 막대한 손실로 인해 구입가능성이 높음
 - (주)농우바이오의 경우 종자 폐기 손실 연평균 30억이며, 2013년 당근 종자의 불량으로 인한 폐기 손실 발생으로 67억 손실 및 영업이익의 36.8% 감소함

○ 800여개의 소규모 종자기업

- 기술력 부재로 인해 종자 검정 기술 도입 가능성 존재하나, 영세 규모로 인하여 조합 단위의 구매 가능성이 높음
- 폐기 종자로 인한 손실의 지속적 감소를 통해 선별기 가격 보상 가능

5. 연구결과의 활용계획

코드번호

D-07

1) 연구 결과의 활용 가능성

- 본 연구에서 개발한 GMO 옥수수 종자의 실시간 SWIR초분광 영상을 이용한 판별기술로 다양한 농식품의 발아억제 및 품질판정에 활용이 가능할 것으로 보임.
- 특히, 지금까지 분광분석을 이용한 농식품 품질 측정 기술에 초분광 기술을 접목하여 기존의 단일 지점 스펙트럼으로만 측정하던 분광분석으로는 측정하기 어려웠던 대상체의 전체 면적에서 특정 부위만 선택적으로 신호를 추출하거나 전체 부위를 사용해야 판별성능을 담보할 수 있는 안전성 검사 등에 확대 적용이 가능할 것으로 보임.
- 또한, 현재까지는 수작업을 통하여 연구실에서만 가능하던 초분광 영상을 이용한 판별 시스템을 상용화하여 실시간으로 전수검사가 필요한 곳에 적용이 가능할 것으로 보임

2) 연구결과의 사업화 방안

가) 시장 분석

- 사료용 종자 시장의 지속적인 확대 및 국내 수입 증가에 따라 매우 큰 규모의 국내·해외 시장을 확보하고 있음
 - 2010년 기준 세계 종자산업 규모는 780억 달러 규모로 추정되며, 농작물이 450억 달러로 전체의 53%를 차지하며, 그중 곡물 및 사료가 83%를 차지함
 - 2012년 기준 사료용 GMO의 수입량은 전체 GMO 수입량의 76%로 595만 5,000톤(18억 2천 7백만 달러)이며, 연간 600만톤 이상 지속적으로 수입될 것으로 전망됨
 - 사료용 GMO 수입량 중 옥수수가 577만 9000톤(97%)을 차지하고 면실류가 14만 6000톤이었으며, 사료용으로 수입되는 옥수수의 경우 99% 이상이 GMO임
 - 2012년 기준 사료용 GMO 농산물의 수입은 미국에서 약 36%, 브라질에서 약 32%, 아르헨티나에서 약 15%를 수입했으며, 최근 호주, 파라과이 필리핀 등에서 수입하는 등 수입국이 다변화되고 있는 추세임

나) 표적시장 선정

- 우리나라는 GMO를 ‘생태계교란야생동식물’로 분류하여 지속적인 관리대상으로 지정하고 있으나, 지속적인 GMO의 수입 증가에도 불구하고 현재 GMO 종

자에 대한 신속하고 정확한 검정 기술이 없는 실정임

- 기술이 개발될 경우 종자검역(농림축산검역본부 및 5개 지역 검역소), 종자생산(국내 주요 기업), 종자보급(국립종자원, 및 지원, 농업기술원, 농업기술센터, 종자 유통기업) 등에서 활용이 가능할 것으로 기대되며 국내 수요자의 확보뿐만 아니라 해외 종자 생산 및 검역관련 기관에도 수출이 가능할 것으로 기대됨

다) 사업성 분석

- 분광기술을 이용한 GMO 종자 검사기술은 기존 기술과의 차별성 및 우위성을 바탕으로 종자의 검역·관리·보급뿐만 아니라 고품질 종자육종에도 적용 가능함
- 초분광 영상기술을 이용한 고속 대량 종자검사기술은 경쟁 제품과 경쟁기업이 없어 기존 기술을 대체하는 신규시장 개척이 가능할 것으로 기대됨
- 공인검사기관(실용화 재단)에 개발된 기기의 검증을 요청하여 공인기관의 검증결과 및 특허를 확보함

라) 국내시장 진입

- 종자 검역장비 시장을 기본으로 종자 품질관리 시장으로 확대해 나가고, 특허 기술로서 기술성과 경제성을 바탕으로 마케팅이 가능함
- 기존의 파괴적인 발아검정법을 대체할 수 있는 신규기술로서 시장 진입이 가능함
- GM 종자 발아유무를 판별할 수 있는 검정기술로서 종자기업 중심으로 판매 가능할 것으로 기대함

마) 해외시장 개척

- 해외에서도 아직 개발되지 않은 기술로서 국제특허 획득 및 기술표준화 추진이 가능함. 특히 국내 보급 실적을 바탕으로 미국, 중국 등 주요 국가 검역기관, 종자관리·보급기관 등을 중심으로 기술마케팅이 가능하리라 기대됨
- 세계 10대 종자기업을 중심으로 퇴화/이병 종자 검사용 품질관리장비로 판매가 가능할 것으로 기대됨

6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

	코드번호	D-08
<p>○ 본 연구에 사용된 작물인 옥수수는 품질에 영향을 미치는 요소가 다양한데 작물 생산 과정 중 가뭄, 병해충 및 기타 스트레스 요인 등이나 작물을 저장 중에 발생할 수 있는 요인인 균의 여부, 온습도 조건 중 14%이상의 습도나 25℃ 이상의 온도 혹은 수확 후 처리 과정 중에 발생할 수 있는 껍질의 손상, 열처리 중 발생할 수 있는 과열 현상 등이 있음 (Parde 등, 2002; Sadeghi 등, 2006; Reed 등, 2007)</p> <p>○ 퇴화된 옥수수 종자는 단백질, 전분 등이 정상 종자에 비해 감소하며, 그 차이를 분광분석법을 활용해 측정이 가능함. 특히 저장 중에 발생할 수 있는 단백질 효소 성분인 H+ATPase의 감소로 인한 발아 억제가 발생함 (Meulen 등, 2000; Sveinsdottir 등, 2009)</p> <p>○ 대상 농산물의 내부 물질을 측정하기 위해 사용하는 근적외선, 적외선, 라만, 가시 근적외, 단파근적외 및 NMR 등의 진동 분광법은 다양한 농산물의 품질 측정 및 분석을 위해서 가장 적합한 방식임 (Luo 등, 1999; Ferreira 등, 2014)</p> <p>○ Agelet (2012) 및 Wang (2001) 등은 인위적으로 발아억제 처리한 옥수수와 밀 종자를 근적외 분광법을 이용하여 정상 종자와 구분하였다고 보고함. 이들 연구는 개별 종자의 신호 획득으로 수행되었으며 전수검사에는 적합하지 않음</p>		

7. 연구개발결과의 보안등급

	코드번호	D-09
일반등급		

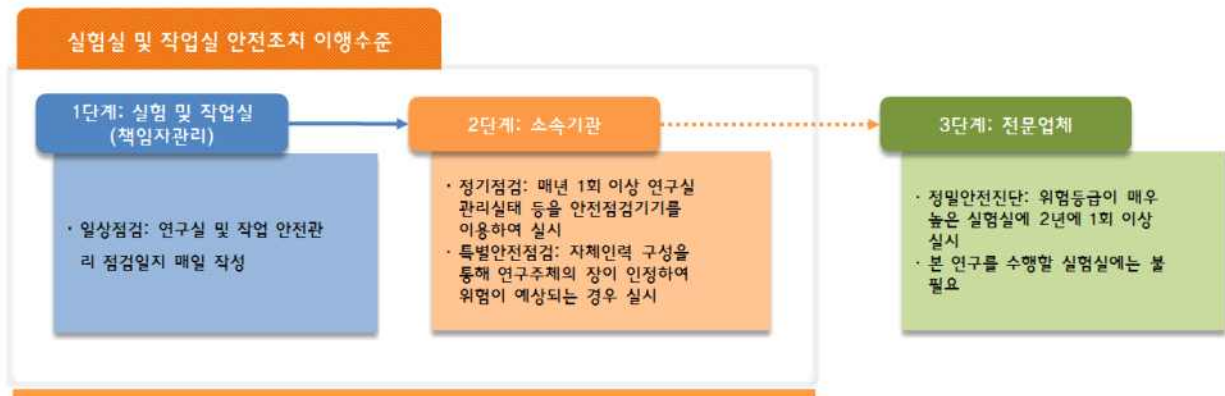
8. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

					코드번호	D-10			
구입 기관	연구시설/ 연구장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입 가격 (천원)	구입처 (전화번호)	비고 (설치 장소)	NTIS장비 등록번호	

9. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적

코드번호	D-11
------	------

1) 안전관리 점검체계



[안전관리 점검체계]

2) 안전관리 계획

- 연구실 및 작업실 안전 확보를 위한 안전점검
 - 안전점검 및 정밀안전진단 지원 및 기술지도, 안전장비 구축 등 환경개선 지원 등
- 연구작업 및 실험실 안전 취약분야의 발굴·제도 개선
 - 안전관리 실태조사 및 현장지도 점검 등을 실시하여 취약분야에 대한 개선·보완 조치
- 안전관리 교육활동 강화
 - 안전 인식 제고 및 안전문화 확산
 - 연구활동 종사자에 대한 연구실험실 안전의식 강화 및 안전관리 행동매뉴얼 작성·보급
 - 교육·훈련계획 수립을 통한 안전성 확보 및 사고예방
- 안전관리규정 작성
 - 안전관리조직체계 및 그 직무에 관한 사항
 - 연구실 및 작업실별 안전관리담당자의 지정 및 그 책임과 권한의 부여
 - 주기적 안전교육의 실시에 관한 사항
 - 안전표식의 설치 또는 부착
 - 사고발생시 긴급대처방안과 행동요령에 관한 사항

- 사고조사 및 후속대책 수립에 관한 사항
 - 안전관리위원회 구성·운영
 - 운영위원 섭외 및 임명
 - 안전점검 및 정밀안전진단계획의 수립, 시행세칙 심의, 업무보고 등
 - 연구실 사고피해에 대한 보험 마련보상방법 마련
 - 상해·사망에 대비하여 연구활동 종사자를 피보험자 및 수익자로 하는 보험에 가입
- 3) 연구 및 작업실 점검 계획(연구 안전환경 조성에 관한 법률 시행령 제7조 및 9조)
- 일상점검: 연구활동 종사자가 연구개발 활동에 사용되는 기계, 기구, 전기, 약품, 병원체 등의 보관상태 및 보호장비의 관리실태 등을 육안으로 실시하는 점검으로서 연구개발 활동을 시작하기 전에 매일 1회 실시 (연구실 안전관리 점검 일지 매일 작성)
 - 정기점검: 연구개발 활동에 사용되는 기계, 기구, 전기, 약품, 병원체 등의 보관상태 및 보호장비의 관리실태 등을 안전점검기기를 이용하여 실시하는 세부적인 점검으로서 매년 1회 이상 실시
 - 특별안전점검: 자체인력을 구성하여 폭발사고, 화재사고 등 연구활동 종사자의 안전에 치명적인 위협을 야기할 가능성이 있을 것으로 예상되는 경우에 실시하는 점검(연구주체의 장이 필요하다고 인정하는 경우에 실시)
 - 정밀안전진단: 외부전문기관을 통해 위험등급이 높은 연구실험실에 2년에 1회 이상 실시

10. 연구개발과제의 대표적 연구실적

번호	구분 (논문/ 특허/ 기타)	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지/ 특허등록국가	코드번호		D-12	
						Impact Factor	논문게재일 /특허등록일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/인 용횟수 등)
1	논문	A Review of Technologies for Detection and Measurement of Adulterants in Cereals and Their Products	충남대		Journal of Biosystems Engineering		2014.12	중복사사	
2	논문	가시광 및 근적외선 투과분광법을 이용한 감염 씨감자 온라인 선별시스템 개발	충남대		비파괴검사학 회지		2015.	중복사사	
3	논문	Effect of Microwave Heat Treatment on Inhibition of Corn Seed Germination	충남대		Journal of Biosystems Engineering		2015.09	단독사사	
4	논문	Comparative Nondestructive Measurement of Corn Seed Viability using Fourier Transform Near-Infrared (FT-NIR) and Raman	충남대		Sensors and Actuators B: Chemical	4.758	2016.03	중복사사	SCI
5	논문	High Speed Measurement of Corn Seed Viability Using Hyperspectral Imaging	충남대 USDA		Infrared Physics & Technology	1.588	2016.03	중복사사	SCI

11. 기타사항

코드번호		D-13
○		

12. 참고문헌

코드번호	D-14
<p>Albajes, R., Lumbierres, B., & Pons, X. (2009). Responsiveness of arthropod herbivores and their natural enemies to modified weed management in corn. <i>Environmental-Entomology</i> 38, 944-954.</p>	
<p>Beyenbach K.W., & Wieczorek, H. (2006). The V-type H⁺ ATPase: molecular structure and function, physiological roles and regulation. <i>Journal of Experimental Biology</i> 209, 577-589.</p>	
<p>Chrenkova, M., Sommer A., Ceresnakova, Z., Nitrayova, S., & Prostedna, M. (2002). Nutritional evaluation of genetically modified maize corn performed on rats. <i>Archiv Für Tierernd maiz</i> 56, 229-235.</p>	
<p>Domingo, J.L., & Bordonaba, J. G. (2011). A literature review on the safety assessment of genetically modified plants. <i>Environment International</i> 37, 734-742.</p>	
<p>Ellstrand, N.C., Prentice, H. C., & Hancock, J. F. (1999). Gene flow and introgression from domesticated plants into their wild relatives. <i>Annual Review of Ecology and Systematics</i> 30, 539-563.</p>	
<p>International Seed Testing Association. (1985). International rules for seed testing. <i>Seed Science and Technology</i> 13, 300-520.</p>	
<p>James, C. (2012). Global status of commercialized biotech/GM crops: 2012. ISAAA brief no. 44. Ithaca, New York, USA: ISAAA.</p>	
<p>Kim, C-G., Yi, H., Park, S., Yeon, J. E., Kim, D. Y., Kim, D. I., Lee, K-H., Lee, T. C., Park, I. S., Yoon, W. K., Jeong, S-C, & Kim, H. M. (2006). Monitoring the occurrence of genetically modified soybean and maize around cultivated fields and at a grain receiving port in Korea. <i>Journal of Plant Biology</i> 49, 218-223.</p>	
<p>Kim, G., Kim, G-H., Lohumi, S., Kang, J-S., & Cho, B-K. (2014). Viability estimation of pepper seeds using time-resolved photothermal signal characterization. <i>Infrared Physics & Technology</i> 67, 214-221.</p>	
<p>Khraisheh, M. A. M., Cooper, T. J. R., & Magee, T. R. A. (1997). Microwave and air drying I. Fundamental considerations and assumptions for the simplified thermal calculations of volumetric power absorption. <i>Journal of Food Engineering</i> 33, 207-219.</p>	
<p>Lee, B., Kim, C-G., Park, J.-Y., Park, K.W., Kim, H.-J., Yi, H., Jeong, S.C., Yoon, W. K., & Kim, H.M. (2009). Monitoring the occurrence of genetically modified soybean and maize in cultivated fields and along the transportation routes of the Incheon Port in South Korea. <i>Food Control</i> 20, 250-254.</p>	
<p>Meulen, R.M, Lamers G. E. M., Caspers, M. P. M., Heistek, J. C., deBoer, A. H., VanDuijn, B., & Wang, M. (2000). Effects of fusico-cin and gibberellic acid on the</p>	

- germination of embryos from dormant barley grains: roles of starch degradation and external pH. *Seed Science Research* 10, 171-82.
- Mollazade, K., Ahmadi, H., Korshidi, J., Mohtasebi, S. S., & Rajabipour, A. (2009). Some physical and mechanical properties of fennel seed (*Foeniculum vulgare*). *Journal of Agricultural Science*; DOI: 10.5539/jas.v1n1p66
- Park, K.W., Lee, B., Kim, C.-G, Kim, D. Y., Park, J.-Y., Ko, E-M., Jeong, S.-C., Choi, K.-H.,
- Yoon, W.K., & Kim, H.M. (2010). Monitoring the occurrence of genetically modified maize at a grain receiving port and along transportation routes in the Republic of Korea. *Food Control* 21, 456-461.
- Powles, S.B. (2008). Evolution in action: glyphosate-resistant weeds threaten world crops. *Outlooks on Pest Management* 19, 256-259.
- Swain, M.J., Spinassou, A., & Swain, M. V. L. (2007). A test procedure to characterize the heating performance of domestic microwave ovens. .
- Sveinsdóttir, H., Yan, F., Zhu, Y., Peiter-Volk, T., & Schubert, S. (2009). Seed ageing-induced inhibition of germination and post-germination root growth is related to lower activity of plasma membrane H⁺-ATPase in maize roots. *Journal of Plant Physiology* 166, 128-135.
- Van De Wiel, C. C. M., Groeneveld, R. M. W., Dolstra, O., Kok, E. J., Scholtens, I. M. J., Thissen, J. T. N. M., Smulders, M. J. M. & Lotz, L. A. P. (2009). Pollen-mediated gene flow in maize tested for coexistence of GM and non-GM crops in the Netherlands: effect of isolation distances between fields. *NJAS - Wageningen. Journal of Life Sciences* 56, 405-423.
- Vijayakumar, K.R., Martin, A., Gowda, L. R., & Prakash, V. (2009). Detection of genetically modified soya and maize: impact of heat processing. *Food Chemistry* 117, 514-521
- C. F. Ridenour, J. Xiong, and G. E. Maciel, 1996, Investigation of germination and aging in Moravian III barley grain by nuclear magnetic resonance, *Biophys J.* 70(1):511-31
- A. Del Fiorea, M. Reverberib, A. Ricellic, F. Pinzarid, S. Serrantie, A.A. Fabbrib, G. Bonifazie, C. Fanellib, 2010, Early detection of toxigenic fungi on maize by hyperspectral imaging analysis, *International Journal of Food Microbiology.* 144(1):64-71
- Tai-Gi Min and Woo-Sik Kang, 2008, Nondestructive Classification of Viable and Nonviable Radish (*Raphanus sativus* L.) Seeds Using Single Seed Near Infrared Spectroscopy, *Hort. Environ. Biotechnol.* 49(1):42-46
- Chandra B. Singha, Digvir S. Jayasa, Jitendra Paliwala, Noel D.G. Whiteb, 2010,

- Detection of midge-damaged wheat kernels using short-wave near-infrared hyperspectral and digital colour imaging, *Biosystems Engineering*. 105(3):380-387
- T.A. Lestander, Per C. Oden, 2002, Separation of viable and non-viable filled scots pine seeds by differentiating between drying rates using single seed near infrared transmittance spectroscopy, *Seed Science and Technology* 30(2):383-392
- 안치국, 모창연, 강점순, 조병관, 2012, 초분광 반사광 영상을 이용한 무종자의 발아와 불발아 비파괴 판별, *Journal of Biosystems Engineering*. 37(6):411-419
- H. Yao, Z. Hruska, R.L. Brown, T.E. Cleveland, 2006, Hyperspectral Bright Greenish-Yellow Fluorescence (BGYF) imaging of aflatoxin contaminated corn kernels, *Proceedings of SPIE – The International Society for Optical Engineering* p. 6381 art. no. 63810B
- C.B. Singh, D.S. Jayas, J. Paliwal, N.D.G. White, 2007, Fungal detection in wheat using near-infrared hyperspectral imaging, *Transactions of the ASABE*, 50(6):2171–2176
- H. Zhang, J. Paliwal, D.S. Jayas, N.D.G. White, 2007, Classification of fungal infected wheat kernels using near-infrared reflectance hyperspectral imaging and support vector machine, *Transactions of the ASABE*, 50(5):1779–1785
- S.R. Delwiche, I.C. Yang, M.S. Kim, 2009, Hyperspectral imaging for detection of black tip damage in wheat kernels, *Proceedings of SPIE – The International Society for Optical Engineering* 7315. art. no. 73150K
- J. Jin, L. Tang, Z. Hruska, H. Yao, 2009, Classification of toxigenic and atoxigenic strains of *Aspergillus flavus* with hyperspectral imaging, *Computers and Electronics in Agriculture*, 69(2):158–164
- S. H. Gordon, R.W. Jones, J.F. McClelland, D.T. Wicklow, R.V. Greene, 1999, Transient infrared spectroscopy for detection of toxigenic fungi in corn: potential for on-line evaluation, *J. Agric. Food Chem.*, 47:5267–5272
- N. Reis, A.S. Franca, L.S. Oliveira, Discrimination between roasted coffee, roasted corn and coffee husks by Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy, *LWT - Food Science and Technology*, 50 (2013) 715-722
- S. Majumdar, D.S. Jayas, 2000, Classification of cereal grains using machine vision: I. Morphology models, *Transactions of the ASAE*, 43(6):1669–1675
- Ravikanth, L. , Singh, C.B. , Jayas, D.S., 2016, Performance evaluation of a model for the classification of contaminants from wheat using near-infrared hyperspectral imaging, *Biosystems Engineering* 147:248-258
- S. Kaliramesh, V. Chelladurai, D.S. Jayas, K. Alagusundaram, N.D.G. White, P.G. Fields, 2013, Detection of infestation by *Callosobruchus maculatus* in mungbean using

- near-infrared hyperspectral imaging, *Journal of Stored Products Research*, 52:107–111
- J.A.F. Pierna, P. Vermeulen, O. Amand, A. Tossens, P. Dardenne, V. Baeten, 2012, NIR hyperspectral imaging spectroscopy and chemometrics for the detection of undesirable substances in food and feed, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 117:233–239
- J. Xing, S. Symons, D. Hatcher, M. Shahin, 2011, Comparison of short-wavelength infrared (SWIR) hyperspectral imaging system with an FT-NIR spectrophotometer for predicting alpha-amylase activities in individual Canadian Western Red Spring (CWRS) wheat kernels, *Biosystems Engineering*, 108(4):303–310
- Ph. Vermeulen, J.A.F. Pierna, H.P. Van Egmond, P. Dardenne, V. Baeten, 2011, Online detection and quantification of ergot bodies in cereals using infrared hyperspectral imaging, *Food Additives and Contaminants. Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment*, 29(2):232–240
- H. Buddenbaum, M. Steffens, 2012, The effect of spectral pretreatments on chemometrics analyses of soil profile using laboratory imaging spectroscopy, *Applied and Environmental Soil Science*, Article ID 274903 pp. 1–12
- L. Scudiero, and F.C. Morris, Field emission scanning electron and atomic force microscopy, and Raman and X-ray photoelectron spectroscopy characterization of near-isogenic soft and hard wheat kernels and corresponding flours, *Journal of Cereal Science*, 52 (2010) 136–142.
- R. M. Meulen, G.E.M. Lamers, M.P.M. Caspers, J.C. Heistek, A.H.deBoer, B.VanDuijn, et al., Effects of fusico-ccin and gibberellic acid on the germination of embryos from dormant barley grains: roles of starch degradation and external pH, *Seed Sci Res* 10 (2000) 171–82.
- H. Sveinsdo'ttir, F.Yan, Y.Zhu, T.Peiter-Volk., S.Schubert, Seed ageing-induced inhibition of germination and post-germination root growth is related to lower activity of plasma membrane H⁺-ATPase in maize roots, *Journal of plant physiology* 166(2009):128–135.

<별첨작성 양식>

[별첨 1]

연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 사료용 GMO 옥수수 발아억제 비파괴 검사기술 개발				
	(영문) Development of nondestructive inspection technology of inhibition of germination in feed GMO corns				
주관연구기관	(주)생명과학기술		주 관 연 구 책 임 자	(소속) (주)생명과학기술	
참 여 기 업	(주)생명과학기술			(성명) 김채주	
총연구개발비 (534,000천원)	계	534,000	총 연구 기간	2015.07.29. ~ 2016.07.28 (2년)	
	정부출연 연구개발비	400,000		총 인원	28
	기업부담금	134,000	총 참 연 구 원 수	내부인원	28
	연구기관부담금			외부인원	

■ 연구개발 목표 및 성과

- ✓ 사료용 GMO 종자의 비의도적 방출에 기인하는 심각한 생태계 교란이 문제시됨에 따라 비정상적·비의도적 사료용 GMO 종자의 유포를 방지하기 위한 발아억제처리에 대한 엄격한 검사시스템이 필요함에도 불구하고 현재 사료용 GMO의 발아억제 유무를 신속하게 전수 검사할 수 있는 방법은 개발되어 있지 않음
- ✓ 국내에 사료용으로 수입되는 사료용 GMO 농산물 595만 5,000톤 중 옥수수가 97%인 577만 9,000톤을 차지하고 있으며, 또한 사료용으로 수입되는 옥수수의 99%이상이 GM 종자이므로 옥수수 종자를 대상으로 본 연구를 수행함
- ✓ 비파괴 분광분석 측정기술로서 농산물의 정밀 비파괴측정에 활용도가 높은 첨단기술인 고속 초분광 영상기술을 활용하여 기존의 선별방법으로는 불가능했던 **사료용 GMO 옥수수 종자의 발아억제 여부를 대량 전수 검사할 수 있는 핵심기술을 개발하고 측정시스템을 실용화** 함

■ 연구내용 및 결과

가. GMO 종자 발아억제 기술 개발

- 마이크로웨이브를 이용하여 종자별, 시간별, 입력전력세기별 비교 결과 1,000W, 40sec 이상의 노출로 효과적인 발아억제를 수행함

나. 초분광 SWIR을 이용한 관별 모델 개발

- 초분광 영상을 이용한 옥수수 종자의 처리구 및 대조구의 관별을 위해 마스크 이미지는 50번째 밴드 이미지(1245 nm)를 이용함. 성능 향상을 위해 8가지 전처리 효과를 PLS-DA 모델을 이용하여 개발 및 비교한 결과 전처리를 수행하지 않은 raw 데이터의 경우가 황색(95.6%), 백색(95.6%) 및 자색(82.2%) 모두 우수한 성능을 나타냄
- 실시간 관별 결과의 경우 13rpm (1.61cm/s), 30rpm (4.16cm/s) 및 50rpm (7.15cm/s)의 세 단계의 컨베이어벨트 속도별 관별 성능을 평가한 결과는 백색 종자의 경우 13rpm의 경우가 처리구 86.7% (26/30), 대조구 73.3% (22/30)의 우수한 성능을 보임. 자색 옥수수의 경우도 13rpm일 때 처리구 93.3%(28/30), 대조구 76.6%(23/30)로 가장 우수한 성능을 나타냄.

■ 연구성과 활용실적 및 계획

1) 기대효과

- 현재까지 개발되지 않았던 사료용 GMO 종자의 비파괴적 신속 전수 검사가 가능하게 됨으로서 신뢰도 높은 검역 및 안전한 사료용 GMO 종자 유통 기반이 확립됨
- 전수검사가 가능해 GMO 종자 유통에 대한 엄격한 검수절차가 마련되며 결과 왜곡이 근본적으로 차단됨
- GMO 종자의 생태계에 유출을 원천 차단함으로써 국내 자연생태환경의 교란 및 파괴를 미연에 방지함과 동시에 국민보건 증진 및 자연생태환경 보전이 가능함
- 고비용 검정기술을 현장 적용형 비파괴 신속검사기술로 대체하여 검정에 소요되는 시간, 비용, 인력을 대폭 절감할 수 있음
- GMO 종자 발아억제 여부 비파괴 검사 원천기술의 확보는 농산물 안전성 측정분야는 물론 식품, 의료, 제약분야 등의 실시간 검사기술 개발로도 응용이 가능함
- 농산물 안전에 대한 비파괴 측정기술의 수요는 국내뿐만 해외에서도 수요가 높으므로 사업화가 이루어질 경우 수출유망기술로 성장이 가능함

2) 상품화 및 사업화 가능성

- 기술이 개발될 경우 종자검역(농림축산검역본부 및 5개 지역 검역소), 종자생산(국내 주요 기업), 종자보급(국립종자원, 및 지원, 농업기술원, 농업기술센터, 종자 유통기업) 등에서 활용이 가능할 것으로 기대됨
- 해외에서도 아직 개발되지 않은 기술로서 국제특허 획득 및 기술표준화 추진이 가능함. 특히 국내 보급 실적을 바탕으로 미국, 중국 등 주요 국가 검역기관, 종자관리·보급기관 등을 중심으로 기술마케팅이 가능하리라 기대됨
- 세계 10대 종자기업을 중심으로 퇴화/이병 종자 검사용 품질관리장비로 판매가 가능할 것으로 기대됨

자체평가의견서

1. 과제현황

			코드번호	D-15	
			과제번호	314034-2	
사업구분	첨단생산기술개발사업				
연구분야			과제구분	단위	
사업명	첨단생산기술개발사업			주관	
총괄과제	기재하지 않음		총괄책임자	기재하지 않음	
과제명	사료용 GMO 옥수수 발아억제 비파괴 검사기술 개발		과제유형	(기초,응용,개발)	
연구기관	(주)생명과기술		연구책임자	김채주	
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차년도	2014.07.29 ~ 2015.07.28	200,000,000	67,000,000	267,000,000
	2차년도	2015.07.29 ~ 2016.07.28	200,000,000	67,000,000	267,000,000
	3차년도				
	4차년도				
	5차년도				
	계		200,000,000	134,000,000	534,000,000
참여기업	(주)생명과기술				
상대국		상대국연구기관			

※ 총 연구기간이 5차년도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2016. 09. 08

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
(주)생명과기술	대표이사	김채주

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확약	
----	--

I. 연구개발실적

※ 다음 각 평가항목에 따라 자체평가한 등급 및 실적을 간략하게 기술(200자 이내)

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (우수)

본 연구는 초분광 SWIR영상시스템을 이용하여 발아억제 사료용 GMO 옥수수 종자의 비파괴 검사기술을 개발하고, 실시간 전수 조사를 수행할 수 있는 온라인 선별시스템 개발을 목표로 수행되었음.

실시간 초분광 SWIR영상시스템의 경우 옥수수 종자의 종류별 (백색, 황색, 자색), 온라인 투입 속도별 판별 결과를 바탕으로 최종 배출구에서 판별할 수 있으며 이를 이미지로 확인이 가능한 우수한 성능을 보임

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (우수)

1) 기술적 측면

- 현재까지 개발되지 않았던 사료용 GMO 종자의 비파괴적 신속 전수 검사가 가능하게 됨으로서 신뢰도 높은 검역 및 안전한 사료용 GMO 종자 유통 기반이 확립됨
- 전수검사가 가능해 GMO 종자 유통에 대한 엄격한 검수절차가 마련되며 결과 왜곡이 근본적으로 차단됨
- GMO 종자의 발아특성에 대한 체계적인 DB 확립이 가능하므로 GMO 종자에 대한 과학적 관리방안 제시가 가능함
- 세계 최고 수준의 실시간 신속 검사 기술 및 종자 및 GMO 품질관리 체계 확보가 가능하고, 기술 선진화를 통해 종자산업의 새로운 성장동력을 확보할 수 있음

2) 사회·경제적 측면

- 수입 GMO 종자에 대한 신속 전수검사가 가능하므로 GMO 종자 유통에 대한 국민의 신뢰가 향상됨
- GMO 종자의 생태계에 유출을 원천 차단함으로써 국내 자연생태환경의 교란 및 파괴를 미연에 방지함과 동시에 국민보건 증진 및 자연생태환경을 보전이 가능함
- 고비용 검정기술을 현장 적용형 비파괴 신속검사기술로 대체하여 검정에 소요되는 시간, 비용, 인력을 대폭 절감할 수 있음
- GMO 종자 발아억제 여부 비파괴 검사 원천기술의 확보는 농산물 안전성 측정분야는 물론 식품, 의료, 제약분야 등의 실시간 검사기술 개발로도 응용이 가능함
- 농산물 안전에 대한 비파괴 측정기술의 수요는 국내뿐만 해외에서도 매우 수요가 높으므로 사업화가 이루어질 경우 수출유망기술로 성장이 가능함

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (우수)

본 연구의 주관기업인 (주)생명과학기술은 농식품 품질판정 시스템 개발에 상당한 노하우와 사업적 역량을 갖춘 회사로서 머신비전 및 근적외분광 방식을 이용한 농산물 품질판정시스템에 전문성을 가진 기업임. 따라서, 본 연구를 통해서 획득한 실시간 초분광 SWIR영상시스템 기술을 활용하여 발아억제 처리된 사료용 GMO 옥수수 판별 및 관련 발아억제 처리된 농산물 판별 시장에서 사업적 역량을 발휘하여 국내외에서 무분별하게 유통 및 소비되는 불법 GMO 농산물 선별시장에서 블루오션을 발견할 수 있을 것으로 전망됨.

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (우수)

본 연구에서는 다양한 사료용 옥수수 종자별 GMO 발아억제 처리의 효과를 대조구와 판별할 수 있는 시스템을 개발하기 위해 판별 정확도를 95% (최대 98%이상)의 정확도를 목표로, 15rpm(), 30rpm(), 50rpm()의 속도별 판별 성능 시험을 수행함. 최적의 판별 알고리즘을 개발하기 위해 아홉 가지의 전처리와 다양한 다변량분석법을 비교하여 성능 검증을 수행함. 또한 배출부의 air blower와 air suction을 개발하여 최적 배출단을 형성함
또한, SCI 2편과 연구논문 3편, 특허 신청 등 목표대비 166%이상의 논문 발표를 통해 연구의 적합성 및 결과의 우수성을 많은 연구자들과 공유함

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (우수)

본 연구에서는 지식재산권 출원 1건, SCI 논문 2편, 비SCI 논문 3편을 발표하고, 2명의 신규인력 양성을 하는 등 166% 이상의 학술성과를 달성하는 우수한 성과를 보임

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
사료용 GMO 종자 발아억제 판별용 고속선별 장치 개발	10	100	종자 전용선별을 위한 line-type 컨베이어 이송 장치 구축 이동 중 종자의 탈락(튀는 현상) 최소화 장치 설계
Air blow식 선별장치 구축 및 최적화	10	100	고속 선별용 air blow 장치 구축 다양한 크기,형태,무게 등을 고려한 시료분리 기술 개발
정밀 개체 공급 장치 구축	10	100	종자 개체의 line 별 공급 및 간격유지를 통해 센싱 및 배출이 용이한 개체 공급 장치 구축
센서와 선별기기 인터페이스 구축	10	100	제어보드를 이용한 센싱부위와 선별부 연결
시제품 개발 및 실증시험 추진	15	100	고속선별 장치와 분광분석 기술을 결합하여 시제품 개발 완료 개발된 시제품을 이용한 실증 시험 추진
Line-scan 초분광 Vis/NIR/SWIR 시스템 구축 및 최적 파장영역 구명	5	100	On-line 측정을 위한 line-scan 방식의 초분광 영상시스템 구축
광반사 스펙트럼을 이용한 GMO 종자 발아억제 판별 예측 모델 개발	10	100	발아억제 처리 종자 이화학적, 생물학적 특성과 광파장 fingerprint 관계 구명 및 Chemometrics 분석법 이용한 예측 모델 개발
사료용 GMO 종자 발아억제 판별 시스템 상용화 모델 개발	10	100	현장 검증 결과 Feedback을 통한 시스템 보완(제품 완성도 향상)
GMO 옥수수 종자의 발아억제 판별 실시간 검사 센싱장치 개발	10	100	개발된 판별 모델이 장착된 실시간 비파괴 자동 전수검정용 초분광 영상 시스템 구축. 측정 속도 : 10 cm × 10 cm 기준(종자 약 100개), 5초 이내
개발시스템 성능검증	10	100	GMO 옥수수 종자의 발아/비발아 시료를 무작위 선정 후 blind test를 이용하여 표준검사법과 비교 한후 예측 정확도 검증수행(n > 10,000), 목표 정확도: 95%(최대 98%) 이상
합계	100점		

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

본 연구는 사료용 GMO 종자의 비의도적 방출을 사전에 막는 차원에서 실시하는 발아억제 처리의 유무를 비파괴적으로 전수 검사할 수 있는 최초의 시도였음. 본 연구는 비파괴 분광분석 측정기술로서 농산물의 정밀 비파괴측정에 활용도가 높은 첨단기술인 고속 초분광 영상기술을 활용하여 기존의 선별방법으로는 불가능하였던 사료용 GMO 옥수수 종자의 발아억제 처리 종자를 대량 전수 검사할 수 있는 핵심기술을 개발하고 실시간 전수검사를 할 수 있는 측정시스템을 개발하고 blind test를 수행함

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

- 사료용 GMO 발아억제 비파괴 검사 기술의 개발 여부
- 사료용 GMO 발아억제 비파괴 선별 장치의 개발 여부
- 사료용 GMO 발아억제처리 종자 판별용 고속선별 장치의 정확도, 이송 정밀도, 판별 정밀도, 편의성 및 안전도 점검
- 옥수수 종자의 무작위 투입을 통한 시스템 성능검증 (blind test) 여부

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

1. 추가 연구의 필요성

본 연구를 통해서 개발된 실시간 초분광 SWIR영상 사료용 GMO 종자 발아억제 판별시스템은 열처리를 통한 발아억제 처리 후에 대조구와의 판별에서 스펙트럼을 이용한 연구에서 좋은 성능을 보임. 반면, 실시간 판별 성능 검증의 결과 이미지를 이용한 처리별 판별 성능 향상을 위해 적용한 다양한 전처리의 시스템 적용 및 선형 SVM의 시스템 적용을 위한 추가 연구가 필요할 것으로 사료됨

2. 타 연구에의 응용

본 연구에서 사료용 GMO 옥수수를 발아억제하기 위해 개발한 오븐의 전력세기를 측정할 수 있는 방정식을 이용하여 효과적인 농산물 발아억제 및 열처리 기술에 활용 가능함.

또한, 실시간 SWIR 초분광 영상 기술을 활용하여 현재 분광분석에 의존하는 농식품의 비파괴 품질 분석을 초분광 영상기술로 대체하거나, 농식품의 안전성 검사를 위한 정밀 분석에 적용이 가능할 것으로 판단됨.

IV. 보안성 검토

○ 연구책임자의 보안성 검토의견, 연구기관 자체의 보안성 검토결과를 기재함

※ 보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

1. 연구책임자의 의견

--

2. 연구기관 자체의 검토결과

--

[별첨 3]

연구성과 활용계획서

1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input type="checkbox"/> 자유응모과제 <input checked="" type="checkbox"/> 지정공모과제	분 야		
연구과제명	사료용 GMO 옥수수 발아억제 비파괴 검사기술 개발			
주관연구기관	(주)생명과학기술	주관연구책임자	김채주	
연구개발비	정부출연 연구개발비	기업부담금	연구기관부담금	총연구개발비
	400,000	134,000		534,000
연구개발기간	2014.07.29 ~ 2016.07.28 (2년)			
주요활용유형	<input type="checkbox"/> 산업체이전 <input type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input checked="" type="checkbox"/> 기타(특허, 논문)) <input type="checkbox"/> 미활용 (사유:)			

2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
사료용 GMO 종자 발아억제 판별용 고속선별 장치 목표 정확도: 95%(최대 98%) 이상	성능 향상을 위해 8가지 전처리 효과를 PLS-DA 모델을 이용하여 개발 및 비교한 결과 전처리를 수행하지 않은 raw 데이터의 경우가 황색(95.6%), 백색(95.6%) 및 자색(82.2%) 모두 우수한 성능을 나타냄
GMO 옥수수 종자의 발아억제 판별 실시간 검사 센싱장치 개발	실시간 판별 결과의 경우 13rpm (1.61cm/s), 30rpm (4.16cm/s) 및 50rpm (7.15cm/s)의 세 단계의 컨베이어벨트 속도별 판별 성능을 평가한 결과는 백색 종자의 경우 13rpm의 경우가 처리구 86.7% (26/30), 대조구 73.3% (22/30)의 우수한 성능을 보임. 자색 옥수수의 경우도 13rpm일 때 처리구 93.3%(28/30), 대조구 76.6%(23/30)로 가장 우수한 성능을 나타냄.
10 cm × 10 cm 기준(종자 약 100개), 5초 이내	10 cm × 10 cm 기준(종자 약 100개), 5초 이내 판별이 가능함
GMO 옥수수 종자의 발아/비발아 시료를 무작위 선정 후 blind test를 이용하여 표준검사법과 비교한 후 예측 정확도 검증수행(n > 10,000)	GMO 옥수수 종자의 발아/비발아 시료를 무작위 선정 후 blind test를 이용하여 표준검사법과 비교한 후 예측 정확도 검증수행(n > 10,000) 함

* 결과에 대한 의견 첨부 가능

3. 연구목표 대비 성과

성과목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특허 출원	특허 등록	품종 등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용 창출	투자유치		논문		학술 발표			정책 활용	홍보 전시	
											SC I	비 SC I							
최종목표	2	2		1							1	2		2	4	1			
연구기간내 달성실적	2										2	3		2	4	1	1		
달성율(%)	100	0		0							200	150		100	100	100	-		

4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	사료용 GMO 종자 발아억제 전수판별시스템 실용화 기술
②	사료용 GMO 종자 발아억제 실시간 비파괴 판별기술

5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개량	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장애로 해결	정책 자료	기타
①의 기술		v				v				
②의 기술				v						

* 각 해당란에 v 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	고비용 검정기술을 현장 적용형 비파괴 신속검사기술로 대체하여 검정에 소요되는 시간, 비용, 인력을 대폭 절감할 수 있으며, 세계 10대 종자기업을 중심으로 퇴화/이병 종자 검사용 품질관리장비로 판매가 가능할 것으로 기대됨
②의 기술	GMO 종자 발아억제 여부 비파괴 검사 원천기술의 확보는 농산물 안전성 측정분야는 물론 식품, 의료, 제약분야 등의 실시간 검사기술 개발로도 응용이 가능함

7. 연구종료 후 성과창출 계획

성과목표	사업화지표										연구기반지표							
	지식 재산권			기술실시 (이전)		사업화					기술인증	학술성과		교육지도	인력양성	정책 활용·홍보		기타 (타 연구활용등)
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용 창출	투자유치		논문				학술발표	정책 활용	
											SC I	비 SC I						
최종목표	2	2		1							1	2		2	4	1		
연구기간 내 달성실적	2											2	3		2	4	1	1
연구종료 후 성과창출 계획		2		1							1							

8. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함)

핵심기술명 ¹⁾			
이전형태	<input type="checkbox"/> 무상 <input type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	천원
이전방식 ²⁾	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타()		
이전소요기간		실용화예상시기 ³⁾	
기술이전시 선행조건 ⁴⁾			

- 1) 핵심기술이 2개 이상일 경우에는 각 핵심기술별로 위의 표를 별도로 작성
- 2) 전용실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 다른 1인에게 독점적으로 허락한 권리
통상실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 제3자에게 중복적으로 허락한 권리
- 3) 실용화예상시기 : 상품화인 경우 상품의 최초 출시 시기, 공정개선인 경우 공정개선 완료시기 등
- 4) 기술 이전 시 선행요건 : 기술실시계약을 체결하기 위한 제반 사전협의사항(기술지도, 설비 및 장비 등 기술이전 전에 실시기업에서 갖추어야 할 조건을 기재)

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 첨단생산기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 첨단생산기술개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.