(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년05월30일
(11) 등록번호 10-1738312
(24) 등록일자 2017년05월15일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
*G01N 21/31* (2006.01) *G06T 7/00* (2017.01)
*H04N 19/13* (2014.01)
(52) CPC특허분류
*G01N 21/3103* (2013.01)
*G01N 33/0098* (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-0122842
(22) 출원일자 2016년09월26일
심사청구일자 2016년09월26일
(56) 선행기술조사문헌
Ambrose, Ashabahebwa., et al. Development of inspection technology for feed corn viability using spectral measurement, 충남대학교, 2015.(2015.08.31.)*
KANDPAL, Lalit Mohan, et al. Short wave infrared (SWIR) hyperspectral imaging technique for examination of aflatoxin B 1 (AFB 1) on corn kernels. Food Control, 2015, 51: 171-176.(2014.11.22.)*
SINGH, C. B., et al. Detection of insect-damaged wheat kernels using near-infrared hyperspectral imaging. Journal of Stored Products Research, 2009, 45.3: 151-158.(2009.12.31.)*
KR1020140070955 A
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
**충남대학교산학협력단**
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
(72) 발명자
**조병관**
대전광역시 유성구 학하로 33 103동 701호 (계산동,학하리슈빌학의뜰아파트)
**서영욱**
전라북도 전주시 덕진구 출판로 69 호반606-1204
*(뒷면에 계속)*
(74) 대리인
**이충한**

전체 청구항 수 : 총 5 항 심사관 : 조병주

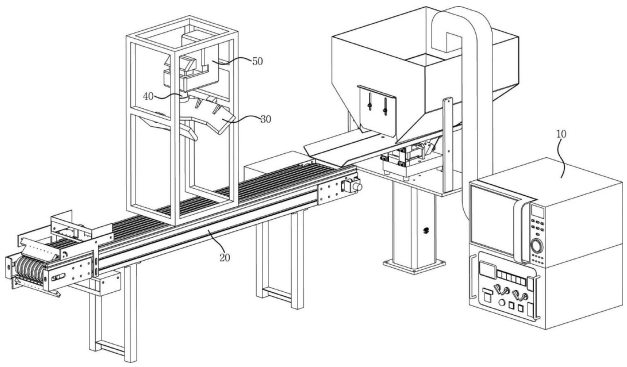
(54) 발명의 명칭 **발아억제 처리된 유전자 변형 옥수수 종자 비파괴 판별시스템**

## (57) 요 약

본 발명은 유전자 변형 옥수수 종자 발아억제 처리 및 비파괴 판별시스템에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 유전자 변형 옥수수 종자의 발아억제 발현여부를 실시간으로 전수판별하기 위한 시스템에 관한 것으로서, 특히 유전자 변형 옥수수 종자의 물리·화학적 분석 정확성을 최적으로 수행할 수 있는 파장영역 분석을 위해 초분광 영

(뒷면에 계속)

## 대 표 도



상시스템을 적용하고, 영상의 노이즈를 제거하기 위한 이미지 정합방법(image correction)으로 평활화 및 미디엄 필터를 적용함으로써, 발아억제 발현여부의 정확성을 향상시킨 유전자 변형 옥수수 종자 발아억제 처리 및 비파괴 판별시스템에 관한 것이다.

이를 위하여, 본 발명에 따른 시스템은 유전자 변형 옥수수 종자의 발아억제 처리부; 상기 발아억제 처리된 옥수수 종자를 이송하는 시료 이송부; 상기 시료 이송부에 조명을 투사하고 광량 조절이 가능한 광원부; 상기 광원에서의 광이 투사된 종자를 촬영하는 촬영부; 상기 촬영부에서 촬영된 종자 영상에 대해 3D 하이퍼큐브(hypercube)로 처리하는 영상 처리부;를 포함하되, 상기 영상 처리부는 촬영부로부터 입수된 영상에 평활화 필터를 사용하여 노이즈를 제거하고 흐릿한 이미지를 획득한 후, 획득된 흐릿한 이미지에 미디엄 필터를 사용하여 선명한 이미지를 얻는 이미지 정합방법(image correction)을 실시하고, 정합된 이미지 영상을 부분 최소자승법(PLS-DA)을 통해 형성된 베타곡선과 병합하여 PLS 영상을 생성하고, PLS 영상을 이진화 한 후, 이진화된 PLS 영상을 모폴로지 필터(MAO: Morph area opening)를 통해 후처리하는 것을 특징으로 한다.

(52) CPC특허분류
*G06T 7/0016* (2013.01)
*H04N 19/13* (2015.01)
*G06T 2207/10036* (2013.01)

(72) 발명자
**배형진**
대전광역시 동구 홍룡로71번길 10 2층 (가양동)

**박은수**
대전광역시 중구 문화로94번길 44 302호 (산성동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 314034-2
부처명 농림수산식품부
연구관리전문기관 (주)생명과 기술
연구사업명 첨단생산기술개발사업
연구과제명 사료용 GMO 옥수수 발아억제 비파괴 검사기술 개발
기 여 율 1/1
주관기관 (주)생명과 기술
연구기간 2014.07.29 ~ 2016.07.28
공지예외적용 : 있음

# 명 세 서

## 청구범위

### 청구항 1

열처리를 통해 유전자 변형 옥수수 종자의 발아를 억제하는 발아억제 처리부;

상기 발아억제 처리된 옥수수 종자를 이송하는 시료 이송부;

상기 시료 이송부에 조명을 투사하고 광량 조절이 가능한 광원부;

상기 광원에서의 광이 투사된 종자를 촬영하는 촬영부;

상기 촬영부에서 촬영된 종자 영상에 대해 3D 하이퍼큐브(hypercube)로 처리하는 영상 처리부;를 포함하되,

상기 영상 처리부는 촬영부로부터 이송되는 종자에 대해 라인스캔방식으로 분광 스펙트럼을 획득하고, 상기 분광 스펙트럼은 단파 적외선 영역 중 1000nm ~ 2500nm의 반사 스펙트럼에 대해 SNV(standard normal variate)방법을 사용하여 전처리하고, 평활화 필터를 사용하여 노이즈를 제거하고 흐릿한 이미지를 획득한 후, 획득된 흐릿한 이미지에 미디엄 필터를 사용하여 선명한 이미지를 얻는 이미지 정합방법(image correction)을 실시하고, 정합된 이미지 영상을 부분 최소자승법(PLS-DA)을 통해 형성된 베타곡선과 병합하여 PLS 영상을 생성하고, PLS 영상을 이진화 한 후, 이진화된 PLS 영상을 180 픽셀 이상되는 화소치를 남겨두는 opening과 closing을 적용한 모폴로지 필터(MAO: Morph area opening)를 통해 후처리하는 것을 통해 유전자 변형 옥수수 종자 발아억제 발현 여부를 판별하는 것을 특징으로 하는 발아억제 처리된 유전자 변형 옥수수 종자 비파괴 판별시스템.

### 청구항 2

청구항 1에 있어서,

상기 광원은 금으로 코팅된 반사경이 장착된 100 W 텅스텐-할로겐램프 6개이고,

상기 램프는 각각 광섬유(optical fiber)를 통하여 측정 대상물에 광을 조사하는 것을 특징으로 하는 발아억제 처리된 유전자 변형 옥수수 종자 비파괴 판별시스템.

### 청구항 3

청구항 1에 있어서,

상기 미디엄 필터는 흐릿한 이미지를 N by N 구역으로 구획한 후, 구획된 구역 내의 픽셀값의 합을 평균하여 평균값을 구한 후 해당 구역의 각 픽셀값에 평균값을 대체하는 것을 특징으로 하는 발아억제 처리된 유전자 변형 옥수수 종자 비파괴 판별시스템.

### 청구항 4

청구항 1에 있어서,

상기 발아억제 처리부는 마이크로웨이브 오븐이며,

상기 열처리 세기는 $P_o = \frac{((m_w \times c_w) + (m_g \times c_g)) \times \Delta T}{t}$ 에 의해 결정되는 것을 특징으로 하는 발아억제 처리된 유전자 변형 옥수수 종자 비파괴 판별시스템.

여기에서, $m_w$는 수돗물의 질량,

$m_s$는 유리 비이커의 질량,

$c_w$는 수돗물의 비열량,

$c_g$는 유리 비이커의 비열량,

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

**청구항 5**

청구항 4에 있어서,

상기 열처리 조건은 1000W의 세기로 40초 ~ 50초의 노출시간인 것을 특징으로 하는 발아억제 처리된 유전자 변형 옥수수 종자 비파괴 판별시스템.

## 발명의 설명

### 기 술 분 야

[0001] 본 발명은 유전자 변형 옥수수 종자 발아억제 처리 및 비파괴 판별시스템에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 유전자 변형 옥수수 종자의 발아억제를 열처리를 통해 실시하고, 발아억제 발현여부를 실시간으로 전수판별할 수 있도록 유전자 변형 옥수수 종자의 물리·화학적 분석 정확성을 최적으로 수행할 수 있는 파장영역의 분석에 초분광 영상시스템을 적용하고, 영상의 노이즈를 제거하기 위한 이미지 정합방법(Image correction)으로 평활화 및 미디엄 필터를 적용함으로써, 유전자 변형 옥수수 종자의 발아억제 및 발아억제 발현여부의 정확성을 향상시킨 유전자 변형 옥수수 종자 발아억제 처리 및 비파괴 판별시스템에 관한 것이다.

### 배 경 기 술

[0002] 주지하는 바와 같이 유전자변형작물(GMO genetically modified organism)이란 유전자 변형 농산물로서 일반적으로 생산량 증대 또는 유통 · 가공상의 편의를 위하여 유전공학기술을 이용, 기존의 육종방법으로는 나타날 수 없는 형질이나 유전자를 지니도록 개발된 농산물을 말한다.

[0003] 따라서, 유전자변형작물 (이하 GMO라 칭함)은 인구증가 및 경지면적 감소로 인한 안정적 식량 및 사료 공급에 대한 필요성에 따라 세계적으로 확대되고 있는 추세이며, 국내도 2000년대 이후 곡물 자급률의 급격한 감소에 따른 수입의존도의 증가로 인해 다량의 GMO를 지속적으로 수입하고 있는 실정이다.

[0004] 특히, 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 있는데, 사료용 GMO는 식용에 비해 상대적으로 거부감이 없어 연간 600만 톤 이상으로 수입이 증가할 것으로 전망된다.

[0005] 그런데, 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, 이처럼 GMO가 생태계에 배출되었을 기존 농약과 제초제에 내성을 가진 슈퍼 해충과 슈퍼 잡초의 비의도적 확산과 GMO의 섭취에 따른 동물 생태의 피해가 우려되는 실정이다.

[0006] 그러나, 유전자변형 옥수수는 육안으로 변형 여부를 판별하기 어렵기 때문에, 현재 분자생물학적 분석에 의존하고 있는데, 이러한 분자생물학적인 검사방법으로는 다음 두 가지로 대별된다.

[0007] 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 방법으로서, 비록 상기 진단법이 쉽고, 빠르게 검사 결과를 얻을 수 있는 신속진단법이지만 열을 가하는 가공식품의 경우 단백질 변성 및 파괴 등의 발생으로 검사에 한계가 있다.

[0008] 한편, 최근 가장 널리 이용되고 있는 유전자변형작물 검출법은 유전자증폭반응(polymerase chain reaction,

PCR)법으로서, 수분 내에 도입한 유전자의 DNA를 증폭하여 분석할 수 있고, 유전자변형 원료의 첨가 유무도 판단이 가능하나, 고가의 프라임을 구입해야 하고 운용을 위한 전문 인력이 반드시 필요한 단점이 있다.

[0009] 따라서, 비정상적·비의도적 GMO 종자의 유포를 방지하기 위한 발아억제 처리 및 발현에 대해 대량 전수 검정할 수 있는 비파괴적 검사시스템의 필요성이 대두되고 있다.

## 선행기술문헌

### 특허문헌

[0010] (특허문헌 0001) 선행문헌 1: 대한민국 등록특허공보 10-1619031호

(특허문헌 0002) 선행문헌 2: 대한민국 등록특허공보 10-1498096호

(특허문헌 0003) 선행문헌 3: 대한민국 등록특허공보 10-1341815호

(특허문헌 0004) 선행문헌 4: 일본 공개특허공보 2004132706호

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0011] 본 발명은 상기와 같은 문제를 해결하기 위하여 안출된 것으로, 본 발명에 따른 유전자 변형 옥수수 종자 발아억제 처리 및 비파괴 판별시스템은 저렴한 비용으로 물성의 변화 없이 대량의 옥수수 종자의 발아가 억제되도록 처리하는 방안을 제시하고, 제시된 방안을 통해 처리된 종자의 발아억제 발현 여부를 실시간으로 전수 검사할 수 있도록 하되, 특히 발아억제 발현 여부의 정확도를 높이고 판별정확도 향상시킬 수 있는 시스템을 구성하는 것을 과제로 한다.

[0012] 또한, 옥수수 종자의 특성상 자색, 황색 및 백색의 다양한 색상을 갖고 있을 뿐만 아니라 건조의 정도에 따라 표면거칠기가 상이하여 광반사의 반사도가 달라지는 특성을 고려하여 영상의 노이즈를 제거하기 위한 이미지 정합방법(image correction)을 제공하는 것을 과제로 한다.

[0013] 또한, 판별시스템의 이송부를 통해 이송되는 옥수수 종자가 정확하게 누운 상태(옥수수 종자의 납작면이 이송부에 접한 상태)가 아닌 세워진 상태(옥수수 종자의 측면이 이송부에 접한 상태)로 이송되더라도 이를 판별할 수 있는 방법을 제공하는 것을 과제로 한다.

### 과제의 해결 수단

[0014] 상기 목적을 달성하기 위한 본 발명에 따른 유전자 변형 옥수수 종자 발아억제 처리 및 비파괴 판별시스템은 유전자 변형 옥수수 종자의 발아억제 처리부; 상기 발아억제 처리된 옥수수 종자를 이송하는 시료 이송부; 상기 시료 이송부에 조명을 투사하고 광량 조절이 가능한 광원부; 상기 광원에서의 광이 투사된 종자를 촬영하는 촬영부; 상기 촬영부에서 촬영된 종자 영상에 대해 3D 하이퍼큐브(hypercube)로 처리하는 영상 처리부;를 포함하되, 상기 영상 처리부는 촬영부로부터 입수된 영상에 평활화 필터를 사용하여 노이즈를 제거하고 흐릿한 이미지를 획득한 후, 획득된 흐릿한 이미지에 미디엄 필터를 사용하여 선명한 이미지를 얻는 이미지 정합방법(image correction)을 실시하고, 정합된 이미지 영상을 부분 최소자승법(PLS-DA)을 통해 형성된 베타곡선과 병합하여 PLS 영상을 생성하고, PLS 영상을 이진화 한 후, 이진화된 PLS 영상을 모폴로지 필터(MAO: Morph area opening)를 통해 후처리하는 것을 특징으로 한다.

[0015] 또한, 상기 광원은 금으로 코팅된 반사경이 장착된 100 W 텅스텐-할로겐램프 6개이고, 상기 램프는 각각 광섬유(optical fiber)를 통하여 측정 대상물에 광을 조사하는 것을 특징으로 한다.

[0016] 또한, 상기 미디엄 필터는 흐릿한 이미지를 N by N 구역으로 구획한 후, 구획된 구역 내의 픽셀값의 합을 평균하여 평균값을 구한 후 해당 구역의 각 픽셀값에 평균값을 대체하는 것을 특징으로 한다.

[0017] 또한, 상기 발아억제 처리부는 마이크로웨이브 오븐이며, 상기 열처리 세기는 $P_o = \frac{((m_w \times c_w) + (m_g \times c_g)) \times \Delta T}{t}$ 에 의해 결정되는 것을 특징으로 한다.

[0018] 여기에서, $m_w$는 수돗물의 질량, $m_g$는 유리 비이커의 질량, $c_w$는 수돗물의 비열량, $c_g$는 유리 비이커의 비열량, $\Delta T$는 $T_2 - T_1$이며, t는 히팅 시간(s)을 나타낸다.

[0019] 또한, 상기 열처리 조건은 1000W의 세기로 40초 ~ 50초의 노출시간인 것을 특징으로한다.

## 발명의 효과

[0020] 상기와 같은 특징을 갖는 본 발명에 따른 유전자 변형 옥수수 종자 발아억제 처리 및 비파괴 판별시스템은 마이크로웨이브 오븐을 채택함으로써 저렴한 비용으로 종자의 발아억제를 실시할 수 있고, 초분광 단파적외선(short wave infrared, SWIR, 이하 SWIR라 칭함) 영상 고속 스캔 시스템을 채택함으로써 유전자 변형 옥수수 종자(이하 GMO 옥수수 종자라 칭함) 발아억제의 판별 정확도를 높이는 효과가 있다.

[0021] 또한, GMO 옥수수 종자의 특성상 자색, 황색 및 백색의 다양한 색상을 갖고 있을 뿐만 아니라 건조의 정도에 따라 표면거칠기가 상이하여 광반사의 반사도가 달라지는 특성을 고려하여 초분광 영상의 이미지 정합방법(image correction)을 평활화 이후에 미디엄 필터를 적용함으로써 SWIR 초분광 영상시스템의 이미지 품질 균일화되는 효과가 있다.

[0022] 또한, 옥수수 종자의 형태적 특성으로 인해 판별시스템의 이송부를 통해 이송되는 옥수수 종자가 정확하게 누운 상태(옥수수 종자의 납작면이 이송부에 접한 상태)가 아닌 세워진 상태(옥수수 종자의 측면이 이송부에 접한 상태)로 이송되더라도 이를 기구적 설계가 아닌 평활화 이후에 미디엄 필터를 적용한 초분광 영상의 이미지 정합방법(image correction)을 적용함으로써 판별의 정확도 및 제작비용을 감소시키는 효과가 있다.

## 도면의 간단한 설명

[0023] 도 1은 실험용 발아억제 처리부 설치 모습

도 2는 실험용 발아억제 처리부를 통한 옥수수 시료처리 절차 모습

도 3은 실험용 발아억제 처리부의 옥수수 발아처리 절차를 나타내는 사진

도 4는 실험용 발아억제 처리부의 마이크로파 전력 효율 그래프

도 5는 실험용 발아억제 처리부의 입력 전력별 노출 시간에 대한 종자별 발아율을 나타내는 그래프

도 6은 시간에 따른 종자별 발아율의 변화(a)와 물리적 변화율(b)을 표시하는 그래프.

도 7은 본 발명에 따른 시스템의 모식도

도 8은 영상 처리부에서의 판별 흐름도

도 9는 이미지 정합을 이용하여 획득한 a)에 미디언 필터 (3x3 필터)를 적용한 b) 이미지

도 10은 옥수수 종자의 반사 스펙트럼

도 11은 각 색별 옥수수 종자의 반사 스펙트럼

도 12는 Raw 데이터를 이용한 PLS-DA 판별 결과

도 13은 SNV 전처리를 적용한 PLS-DA 판별 결과

도 14는 흰색 및 자색 옥수수에 대한 주요파장(1200 nm 및 1400 nm)의 중요도를 반영한 beta coefficient의 결과

도 15는 (a) 백색 옥수수 종자의 PLS image 원본과 (b) 마스크를 적용한 결과 이미지

도 16은 (a) 백색 옥수수 종자의 PLS 바이너리 이미지 원본과 (b) 모폴로지 필터 적용 이미지

## 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0024] 본 발명에서 사용되는 용어는 가능한 현재 널리 사용되는 일반적인 용어를 선택하였으나, 특정한 경우는 출원인이 임의로 선정한 용어도 있는데 이 경우에는 단순한 용어의 명칭이 아닌 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용에 기재되거나 사용된 의미를 고려하여 그 의미가 파악되어야 할 것이다.

[0025] 이하, 첨부도면을 참조하여 본 발명의 바람직한 실시예를 상세히 설명하기로 한다. 본 발명을 설명함에 있어 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 소지가 있는 구성에 대해서는 그 상세한 설명은 생략하기로 한다.

[0026] 본 발명에 따른 유전자 변형 옥수수 종자 발아억제 처리 및 비파괴 판별시스템은 열처리를 통해 GMO 옥수수 종자의 발아를 억제하도록 시스템을 구성하며, 초분광 가시광 및 근적외선 영역 (400-1,000 nm)과 단파 적외선 영역(1,000-2,500 nm) 중 단파 적외선 분광분석 기술을 적용하여 GMO 옥수수 종자와 발아억제 처리된 GMO 옥수수 종자의 반사 스펙트럼의 차이를 부분 최소자승법을 이용하고 발아억제 처리된 종자의 물리적.화학적 변화를 확인하여 선별에 활용한다.

[0027] 즉, 본 발명은 GMO 옥수수 종자의 발아억제를 열처리를 통하여 실시함으로써 발아억제 비용이 저렴하고, 발아억제 처리된 GMO 옥수수 종자의 내부의 물리적.화학적 변화를 비파괴적으로 판별할 수 있으므로, 대량 측정을 실시간으로 판별할 수 있게 된다.

[0028] 이를 위하여, 본 시스템은 유전자 변형 옥수수 종자의 발아억제 처리부(10); 상기 발아억제 처리된 옥수수 종자를 이송하는 시료 이송부(20); 상기 시료 이송부에 조명을 투사하고 광량 조절이 가능한 광원(30); 상기 광원에서의 광이 투사된 수박종자를 촬영하는 촬영부(40); 상기 촬영부에서 촬영된 수박종자 영상에 대해 3D 하이퍼큐브(hypercube)로 처리하는 영상 처리부(50); 상기 영상 처리부에서의 3D 하이퍼큐브에 대해 스펙트럼 정보를 분석하는 데이터 분석부(60)를 포함한다.

[0029] 상기 발아억제 처리부(10)는 유전자 변형 옥수수 종자의 발아를 억제하기 위한 열처리를 하는 구성으로서, 통상의 마이크로웨이브 오븐을 적용한다.

[0030] 본 발명에서는 사료용 GMO 종자를 비접촉/비파괴 방식으로, 효과적으로 발아억제하기 위한 방법으로 마이크로웨이브를 활용한 열처리를 기술적 사상으로 하되, 통상적으로 옥수수 종자에 열처리를 과도하게 할 경우 팝콘이 되고, 열처리를 미비하게 할 경우 발아가 발생하므로 그 방법을 검증하였다.

[0031] 먼저, 마이크로웨이브를 활용한 열처리에 있어,

[0032] 도 1을 참조하면, 우선 GMO 종자를 발아억제 하는데 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.

[0033] 열처리 세기, 즉 인가 전력은 개발된 아래 식(1)에 의하여 결정되도록 하였다.

[0034] $$P_o = \frac{((m_w \times c_w) + (m_g \times c_g)) \times \Delta T}{t}$$ ---- 식(1)

[0035] 여기에서, $m_w$는 수돗물의 질량 (1,000 g),

[0036] $m_g$는 유리 비이커의 질량 (289.4 g),

[0037] $c_w$는 수돗물의 비열량 (4.186 J/g/℃),

[0038] $c_g$는 유리 비이커의 비열량 (0.84 J/g/℃),

[0039] $\Delta T$는 $T_2 - T_1$이며, $t$는 히팅 시간 (s)을 나타낸다.

[0040] 위의 실험 장치와 개발된 식(1)은 본 연구에 사용된 400, 500, 600, 700, 800, 900 및 1,000 와트의 인가 전력을 검증하는데 사용하였다.

[0041] 도 2는 본 연구에 사용된 옥수수 종자를 색깔별로 정렬한 모습과 오븐에 넣어 발아를 억제하는 모습을 나타내었다. 각 건전 종자는 5% 이내의 수분함량을 가졌으며, 각 종자는 105±1℃, 17h법을 이용하여 건물의 함수율을 측정하였다. 준비된 종자를 정렬하고 (a), 오븐에 넣어서 건조한 후 (b), 건조된 종자는 수분의 흡수를 억제하기 위하여 polypropylene이 함유된 뚜껑이 있는 통에 보관하였다(c).

[0042] 이어서, 발아 검사에 있어,

[0043] 도 3을 참조하면, 건조 처리한 종자는 발아 검사를 통하여 처리의 효율을 평가하였다. 발아 테스트는 ISTA에서 제시한 BP법을 따라서 수행하였다.

[0044] 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 넣었다. 각 백에는 50 ㎖의 증류수를 공급하여 종자를 침지하면서 함수율 25%가 되도록 처리하였다.

[0045] 종자를 넣어 둔 백을 온도 25℃, 상대습도 80%로 유지되는 종자발아기에 7일간 넣어 두었다. 발아를 위한 충분한 기간인 7일 후에 전체 종자대비 발아된 종자의 비율을 계산하였다. 발아의 판단은 종자에 적어도 2㎜의 뿌리가 생긴 것을 발아가 된 것으로 판단하였으며, 반복은 2회 실시하였다.

[0046] 도 3에서, 동그라미가 그려진 종자는 발아된 것으로 판단하고 인가된 전력대비 발아율을 판단하여 최적의 전력세기와 인가시간을 결정하였다.

[0047] 표 1은 인가된 전력세기별 발아억제 효율을 보여주고 있다.

[0048] 본 발명에서 사용되는 용어는 가능한 현재 널리 사용되는 일반적인 용어를 선택하였으나, 특정한 경우는 출원인이 임의로 선정한 용어도 있는데 이 경우에는 단순한 용어의 명칭이 아닌 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용에 기재되거나 사용된 의미를 고려하여 그 의미가 파악되어야 할 것이다.

[0049] 이하, 첨부도면을 참조하여 본 발명의 바람직한 실시예를 상세히 설명하기로 한다. 본 발명을 설명함에 있어 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 소지가 있는 구성에 대해서는 그 상세한 설명은 생략하기로 한다.

[0050] 본 발명에 따른 유전자 변형 옥수수 종자 발아억제 처리 및 비파괴 판별시스템은 열처리를 통해 GMO 옥수수 종자의 발아를 억제하도록 시스템을 구성하며, 초분광 가시광 및 근적외선 영역 (400-1,000 nm)과 단파 적외선 영역(1,000-2,500 nm) 중 단파 적외선 분광분석 기술을 적용하여 GMO 옥수수 종자와 발아억제 처리된 GMO 옥수수 종자의 반사 스펙트럼의 차이를 부분 최소자승법을 이용하고 발아억제 처리된 종자의 물리적.화학적 변화를 확인하여 선별에 활용한다.

[0051] 즉, 본 발명은 GMO 옥수수 종자의 발아억제를 열처리를 통하여 실시함으로써 발아억제 비용이 저렴하고, 발아억제 처리된 GMO 옥수수 종자의 내부의 물리적.화학적 변화를 비파괴적으로 판별할 수 있으므로, 대량 측정을 실시간으로 판별할 수 있게 된다.

[0052] 이를 위하여, 본 시스템은 유전자 변형 옥수수 종자의 발아억제 처리부(10); 상기 발아억제 처리된 옥수수 종자를 이송하는 시료 이송부(20); 상기 시료 이송부에 조명을 투사하고 광량 조절이 가능한 광원(30); 상기 광원에서의 광이 투사된 수박종자를 촬영하는 촬영부(40); 상기 촬영부에서 촬영된 수박종자 영상에 대해 3D 하이퍼큐브(hypercube)로 처리하는 영상 처리부(50); 상기 영상 처리부에서의 3D 하이퍼큐브에 대해 스펙트럼 정보를 분석하는 데이터 분석부(60)를 포함한다.

[0053] 상기 발아억제 처리부(10)는 유전자 변형 옥수수 종자의 발아를 억제하기 위한 열처리를 하는 구성으로서, 통상의 마이크로웨이브 오븐을 적용한다.

[0054] 본 발명에서는 사료용 GMO 종자를 비접촉/비파괴 방식으로, 효과적으로 발아억제하기 위한 방법으로 마이크로웨이브를 활용한 열처리를 기술적 사상으로 하되, 통상적으로 옥수수 종자에 열처리를 과도하게 할 경우 팝콘이 되고, 열처리를 미비하게 할 경우 발아가 발생하므로 그 방법을 검증하였다.

[0055] 먼저, 마이크로웨이브를 활용한 열처리에 있어,

[0056] 도 1을 참조하면, 우선 GMO 종자를 발아억제 하는데 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 ㎜의 챔버에 인가할 출력의 적정 세기를 조절하기 위해 제어박스를 설치하였다.

[0057] 열처리 세기, 즉 인가 전력은 개발된 아래 식(1)에 의하여 결정되도록 하였다.

[0058] $$P_o = \frac{((m_w \times c_w) + (m_g \times c_g)) \times \Delta T}{t} \quad \text{----} \quad \text{식(1)}$$

[0059] 여기에서, $m_w$는 수돗물의 질량 (1,000 g),

[0060] $m_g$는 유리 비이커의 질량 (289.4 g),

[0061] $c_w$는 수돗물의 비열량 (4.186 J/g/℃),

[0062] $c_g$는 유리 비이커의 비열량 (0.84 J/g/℃),

[0063] $\Delta T$는 $T_2 - T_1$이며, 는 히팅 시간 (s)을 나타낸다.

[0064] 위의 실험 장치와 개발된 식(1)은 본 연구에 사용된 400, 500, 600, 700, 800, 900 및 1,000 와트의 인가 전력을 검증하는데 사용하였다.

[0065] 도 2는 본 연구에 사용된 옥수수 종자를 색깔별로 정렬한 모습과 오븐에 넣어 발아를 억제하는 모습을 나타내었다. 각 건전 종자는 5% 이내의 수분함량을 가졌으며, 각 종자는 105±1℃, 17h법을 이용하여 건물의 함수율을 측정하였다. 준비된 종자를 정렬하고 (a), 오븐에 넣어서 건조한 후 (b), 건조된 종자는 수분의 흡수를 억제하기 위하여 polypropylene이 함유된 뚜껑이 있는 통에 보관하였다(c).

[0066] 이어서, 발아 검사에 있어,

[0067] 도 3을 참조하면, 건조 처리한 종자는 발아 검사를 통하여 처리의 효율을 평가하였다. 발아 테스트는 ISTA에서 제시한 BP법을 따라서 수행하였다.

[0068] 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 넣었다. 각 백에는 50 ㎖의 증류수를 공급하여 종자를 침지하면서 함수율 25%가 되도록 처리하였다.

[0069] 종자를 넣어 둔 백을 온도 25℃, 상대습도 80%로 유지되는 종자발아기에 7일간 넣어 두었다. 발아를 위한 충분한 기간인 7일 후에 전체 종자대비 발아된 종자의 비율을 계산하였다. 발아의 판단은 종자에 적어도 2㎜의 뿌리가 생긴 것을 발아가 된 것으로 판단하였으며, 반복은 2회 실시하였다.

[0070] 도 3에서, 동그라미가 그려진 종자는 발아된 것으로 판단하고 인가된 전력대비 발아율을 판단하여 최적의 전력세기와 인가시간을 결정하였다.

[0071] 표 1은 인가된 전력세기별 발아억제 효율을 나타낸다.

표 1

[0072]

| Nom. P(Y) | Observed P() | 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 |

[0073] 도 4는 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.

[0074] 도 5는 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 나타났고, 40초 전에는 변형이 무시할 만하다. 따라서 본 실험을 바탕으로

사료용 GMO 종자의 발아억제를 효과적으로 수행하기 위해 열처리 조건은 1000W의 세기로 40초 이상의 노출시간으로 정리할 수 있다.

[0075] 도 6에는 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.

[0076] 이를 통해 열처리 조건은 1000W의 세기로 40초 ~ 50초의 노출시간이 발아율과 물리적 변화율의 임계적 의의를 갖는 것임을 알 수 있다.

[0077] 한편, 상기 시료이송부(20)는 도 7에 도시된 바와 같이, 수박종자가 탑재된 플레이트, 상기 플레이트를 일정한 간격으로 이동시키는 스텝 모터, 상기 스텝 모터를 구동하는 구동 드라이버를 포함한다.

[0078] 상기 광원부(30)는 텅스텐-할로겐램프로서, 할로겐램프는 가시광에서 적외선 영역까지 폭넓은 스펙트럼을 가지고 있어 특수조명, 분석기기용 광원, 교정용 표준 광원, 계측기기용 광원 등 다양한 용도로 활용되고 있다.

[0079] 할로겐램프는 수명이 끝날 때까지 파장의 변화가 거의 없으며 출력이 안정적이고, 취급이 용이하며, 가격이 저렴한 장점이 있으나, 일반적인 할로겐램프는 1500 nm 이상에서 출력이 약하기 때문에 본 발명에서는 금으로 코팅된 반사경이 장착된 광원을 사용하였으며, 광원은 6개의 100W급 할로겐램프를 광섬유(optical fiber)를 사용하여 측정 대상물에 광이 고르게 분포될 수 있도록 구성하였다.

[0080] 상기 촬영부(40)는 SWIR(Short wave infrared) 렌즈를 구비한 MCT(HgCdTe) 카메라를 구비한다.

[0081] 본 발명에 적용되는 SWIR(NIR)은 'short wave infrared'의 약자로 가시광선(visible)[0055] 보다는 파장이 길고 중적외선(MID-IR)보다는 파장이 짧은 1000 ~ 1700nm(또는 750 ~ 2500nm)의 파장 대역을 말한다. SWIR 영역의 특징은 물질의 분자진동 현상이 (-CH, -OH, -NH 작용기) 결합대(combination band)와 배음대(overtone band)의 형태로 나타난다는 것이다. 이는 물질의 화학적 구조에 따라 서로 다른 형태의 흡수현상을 나타내므로 측정하고자 하는 물질의 정성 및 정량분석이 가능하게 한다. 특히, SWIR 영역은 농식품 분야에서 이물질의 검출이나 품질판정 등 다양한 형태로 적용되어 왔다.

[0082] 상기 영상 처리부(50)는 카메라 렌즈에 투사된 영상에 대해 1차원 영상정보를 생성하는 슬릿, 상기 1차원 정보를 2차원 영상정보로 변환하는 영상 분광기(imaging spectrograph)를 포함한다.

[0083] 즉, 상기 카메라에서 촬영된 초분광 영상은 각 파장별 연속적으로 획득된 영상이며, 렌즈에 투사된 영상이 슬릿을 통과하면서 1차원 정보가 되고, 초점 조절이 가능한 C-Mount 렌즈가 구비된 영상 분광기에 의해 각 파장별로 분광이 생성되며 1차원 정보가 분광정보를 포함한 2차원 정보로 변환된다.

[0084] 이러한 영상들은 3D 하이퍼큐브(hypercube)라는 대용량 정보를 구성하게 되며 2차원의 영상 정보와 각 픽셀 별 스펙트럼 정보를 동시에 가지게 된다. 따라서 본 발명에 적용되는 초분광 영상 기술은 분광에 영상을 융합한 기술로 기존의 분광기술이 대상물 전체의 분광정보를 제공하는 것과는 달리 대상물 세부공간 영역에 대한 미세 영역별 분광정보를 제공하므로, 대상물의 공간영역별 물리, 화학적 분석이 가능하다.

[0085] 이에 대한 구체적인 내용은 본 발명인이 한국 특허등록번호 10-1619031호(세균감염 수박종자의 선별을 위한 단파 적외선 초분광 영상 시스템 및 선별 방법)에서 밝힌 바가 있으므로 더 이상의 언급은 생략한다.

[0086] 본 발명에서 상기 영상 처리부(50)는, 도 8을 참조하면, 상기 획득된 초분광영상이 잡음이 다수 포함되어 있으므로 촬영부로부터 입수된 영상에 평활화 필터를 사용하여 노이즈를 제거하고 흐릿한 이미지를 획득한 후, 획득된 흐릿한 이미지에 미디엄 필터를 사용하여 선명한 이미지를 얻는 이미지 정합방법(image correction)을 실시하고, 정합된 이미지 영상을 부분 최소자승법(PLS-DA :Partial Least Squares-Discriminant Analysis)을 통해 형성된 베타곡선과 병합하여 PLS 영상을 생성하고, PLS 영상을 이진화한 후 이진화된 PLS(Partial Least Squares)영상을 모폴로지 필터(MAO: Morph area opening)를 통해 후처리하는 것을 특징으로 한다.

[0087] 이는 GMO 옥수수 종자의 특성상 자색, 황색 및 백색의 다양한 색상을 갖고 있을 뿐만 아니라 건조의 정도에 따라 표면거칠기가 상이하여 광반사의 반사도가 달라지는 특성을 고려하여 초분광 영상의 이미지 정합방법(image correction)을 평활화 이후에 미디엄 필터를 적용함으로써 SWIR 초분광 영상시스템의 이미지 품질 균일화되도록 하기 위함이다.

[0088] 또한, 옥수수 종자의 형태적 특성으로 인해 판별시스템의 이송부를 통해 이송되는 옥수수 종자가 정확하게 누운 상태(옥수수 종자의 납작면이 이송부에 접한 상태)가 아닌 세워진 상태(옥수수 종자의 측면이 이송부에 접한 상

태)로 이송되더라도 이를 기구적 설계가 아닌 평활화 이후에 미디엄 필터를 적용한 초분광 영상의 이미지 정합 방법(image correction)을 통해 판별함으로써 판별의 정확도 및 제작비용을 감소시키기 위함이다.

[0089] 구체적으로 살펴보면, 초분광 영상은 빛을 조사한 후 대상체에 반사되는 빛을 MCT 센서에 서 인식하여 영상화시키는데, 광량의 세기와 주위 온도, 센서의 물리적인 오류 등으로 인하여 MCT에서 인식되는 값이 오차가 발생한다.

[0090] 본 발명에서는 이를 해결하기 위한 이미지 정합방법(image correction)으로서, 먼저 평활화 필터를 사용하여 노이즈를 제거하고 흐릿한 이미지를 획득하였는데, 이는 반사율이 99.9%인 teflon white board에 광을 조사하여 반사되는 값($X_{white}$ )을 최대 반사율로 설정하고 최소를 암상태 촬영값( $X_{dark}$ )이에 따른 샘플의 반사율을 구하는 것이다.

[0091] 본 발명에 적용된 평활화 필터는 $\overline{X}= \frac{X - X_{dark}}{X_{white} - X_{dar}}$ 를 채택한다.

[0092] 여기에서, $X$와 $\overline{X}$는 각각 원본 데이터와 보정된 데이터를 나타낸다.

[0093] 이어서, 획득된 흐릿한 이미지에 잡음을 제거하기 위해 미디엄 필터를 사용하여 선명한 이미지를 얻는다.

[0094] 여기서, 미디엄 필터는 흐릿한 이미지를 N by N 구역으로 구획한 후, 구획된 구역 내의 픽셀값의 합을 평균하여 평균값을 구한 후 해당 구역의 각 픽셀값에 평균값을 대체하는 것이다.

[0095] 도 9을 참조하면, b)에서는 이미지 정합을 이용하여 획득한 a)에 미디언 필터 (3x3 필터)를 적용한 이미지를 보여주고 있다. 노이즈와 흐릿한 상이 줄어든 훨씬 향상된 결과 이미지를 보여주고 있다.

[0096] 한편, 본 발명에서는 종자의 발아억제 발현 여부 판별을 위해 옥수수 종자로부터 획득된 초분광 영상 데이터는 영상 보정과정을 거쳐 종자 하나에 해당하는 스펙트럼 정보를 추출하고, 각각 추출한 정보는 발아 억제된, 즉 열처리한 불활성 종자가 갖는 스펙트럼 정보와 발아 가능한, 즉 일반 종자가 갖는 스펙트럼 정보의 차이를 구분하기 위해 부분 최소자승법(PLS-DA :Partial Least Squares-Discriminant Analysis)을 이용하여 모델을 개발하였다.

[0097] 도 10은 옥수수 종자의 반사 스펙트럼을 1000-2400 nm의 SWIR 구간에서 나타내는 그래프로서, 초분광 영상장치로 구성한 파장별 이미지를 이미지 큐브 혹은 삼차원 영상으로 구성해서 원하는 위치에서 스펙트럼을 획득할 수 있는데, 1200 nm에서 반사 피크가 발견되었으며, 1300 nm 전반에 걸쳐서 평탄한 피크가 형성되고 있다.

[0098] 도 11의 a)는 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. 여기서 빨간색 선은 열처리한 불활성 종자. 파란색 선은 일반 종자이다.

[0099] 도 11의 b)는 흰 옥수수 종자의 평균 스펙트럼을 나타내었다. 도 11의 a)와 유사한 스펙트럼의 모양을 나타내었으며, 두 평균치의 차이도 유사함을 알 수 있었다. 여기서 빨간색 선은 열처리한 불활성 종자. 파란색 선은 일반 종자이다.

[0100] 도 11의 c)는 노란 옥수수의 평균 반사 스펙트럼을 나타내었다. 도 11의 a)와 b)의 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. 여기서 빨간색 선은 열처리한 불활성 종자. 파란색 선은 일반 종자이다.

[0101] 개발된 모델은 초분광 영상에 적용되어 종자의 판별에 이용될 수 있도록 획득된 스펙트럼에 대해 스펙트럼 전처리를 실행한다.

[0102] 스펙트럼 정보는 동일한 샘플을 반복적으로 측정할 때에도 광의 세기, 센서의 감도, 주변 온도의 차이 등의 여러 가지 변수로 인해 데이터가 변한다. 따라서, 수학적인 방법을 이용하여 획득한 원본 스펙트럼 정보의 처리가 필수적이다.

[0103] 본 발명에서는 통상 8가지의 전처리 방법 중 MSC(multiplicative scatter correction), SNV(standard normal variate 방법을 사용하고 원본 데이터와 비교 분석하였다.

[0104] 표 2는 각 색깔별 옥수수 종자의 PLS-DA를 기반으로 전처리 별 캘리브레이션 결과를 나타낸다.

표 2

[0105]

| | Preprocessing method | Calibration (140 samples) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 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 |

[0106] 표 3. 각 색깔별 옥수수 종자의 PLS-DA를 기반으로 전처리 별 밸리데이션 결과를 나타낸다.

표 3

[0107]

| | Preprocessing method | Validation (60 samples) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 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 |

[0108] 위 표2, 표3에서는 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.

[0109] 도 12는 전처리를 하지 않은 데이터의 판별결과를 나타내고 있는데, 문턱치 0.5를 이용하여 처리 종자(붉은 원)와 정상 종자(파란 삼각형)의 판별이 가능함을 보여주고 있다.

[0110] 도 13은 PLS-DA 판별 결과를 전처리 방식 중 SNV를 적용한 결과를 나타내고 있는데, 판별 기준 0.5로 판별한 결과는 88%가 넘는 정확도를 보였다.

[0111] 도 14는 주요파장(1200 nm 및 1400 nm)의 중요도를 반영한 beta coefficient의 결과를 백색 옥수수와 자색 옥수수 종자에서 공통적으로 발견됨을 나타내는 그래프로서, 이것으로 미루어보아 마이크로웨이브에 의한 인공적인 처리는 종자의 색과 무관하게 유사한 결과를 나타냄을 알 수 있고, 주요 파장인 1195-1220 nm는 전분의 CH, CH2-와 관련된 C-H 이차 배음 (2nd overtone) 과 관련된 피크임을 알 수 있다.

[0112] 1400-1450 nm에서의 피크는 단백질 분자의 카르보닐기의 O-H 펼침의 1차 배음대(기름, 전분, 및 수분과 관련됨)와 C==O 펼침의 3차 배음대와 연관이 있으며, 이런 공통적인 파장이 주요 파장으로 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.

[0113] 이렇듯, 부분 최소자승법(PLS-DA: Partial Least Squares-Discriminant Analysis)을 통해 형성된 베타곡선은 초분광 영상에 병합되어 종자의 판별을 위한 PLS 영상이 생성된다.

[0114] 도 15는 백색 옥수수 종자의 PLS 결과 이미지로서, 결과의 선명성을 더하기 위해서 판별에 사용한 1245 nm 이미지에서 판별을 위한 문턱치 0.16을 사용한 판별 결과를 푸른색으로 나타내고 선택된 화소치는 붉은색에 가까운 값으로 나타낸다. 종자들 간의 컨베이어 벨트를 나타내는 칸막이가 제거되고 판별결과를 좀더 알기 쉽게 표현할 수 있었지만 정성적인 판단은 쉽지 않다.

[0115] 칼라 이미지에 마스크를 적용하여 선명도를 획득할 수 있었지만 정성적인 판단에 어려움이 있어 이를 바이너리 이미지로 변환한다.

[0116] 그림 15(a)는 PLS를 적용한 결과 이미지의 원본으로서, 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, 그 중 처리 종자와 판별하기 어려운 종자도 있어, 판별 결과의 성능을 향상시키기 위해 모폴로지 필터(MAO: Morph area opening), 즉 180 픽셀 이상되는 화소치를 남겨두는 opening과 closing을 적용하였고, 그 결과 영상이 도 16 (b)에 도시된다. 그 결과 비정상적으로 판별한 2개의 정상 종자를 제외하고는 완벽하게 판별한 결과를 볼 수 있다.

[0117] 이상의 설명은 본 발명을 예시적으로 설명한 것이고, 명세서에 게시된 실시예는 본 발명의 기술사상을 한정하기 위한 것이 아니라 설명하기 위한 것이므로 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 본 발명의 기술사상을 벗어나지 않는 범위에서 다양한 수정 및 변형이 가능할 것이다. 그러므로 본 발명의 보호범위는 청구범위에 기재된 사항에 의해 해석되고, 그와 균등한 범위 내에 있는 기술적 사항도 본 발명의 권리범위에 포함되는 것으로 해석되어야 할 것이다.

## 부호의 설명

[0118] 10: 발아억제 처리부 20: 시료 이송부

30: 광원부 40: 촬영부

50: 영상 처리부

## 도면

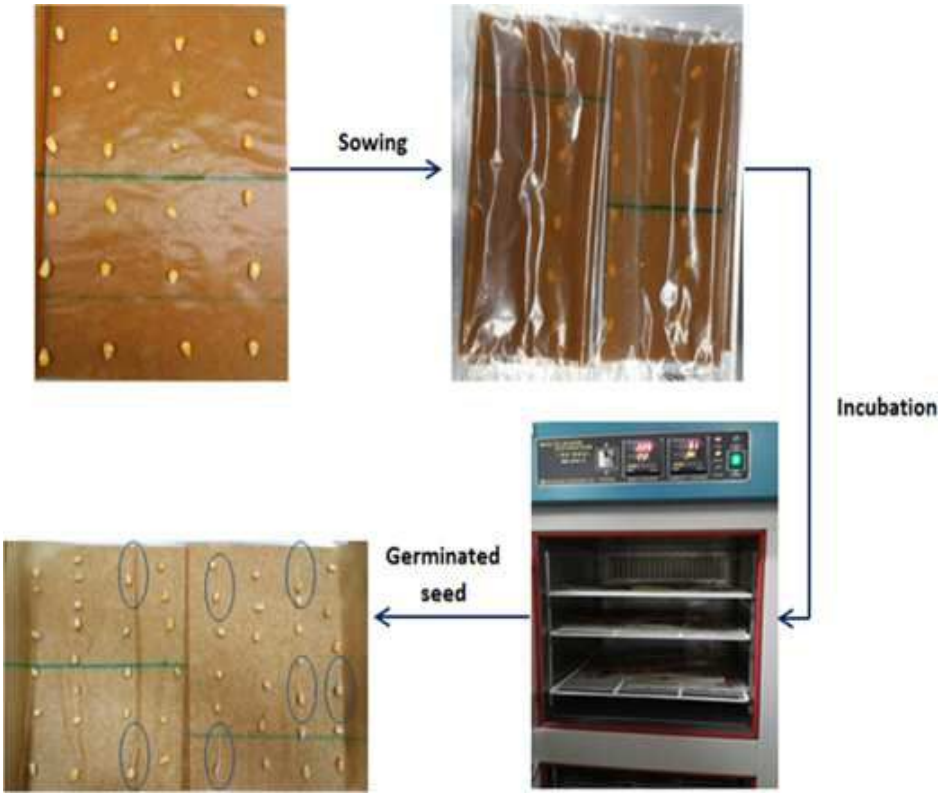
### 도면1



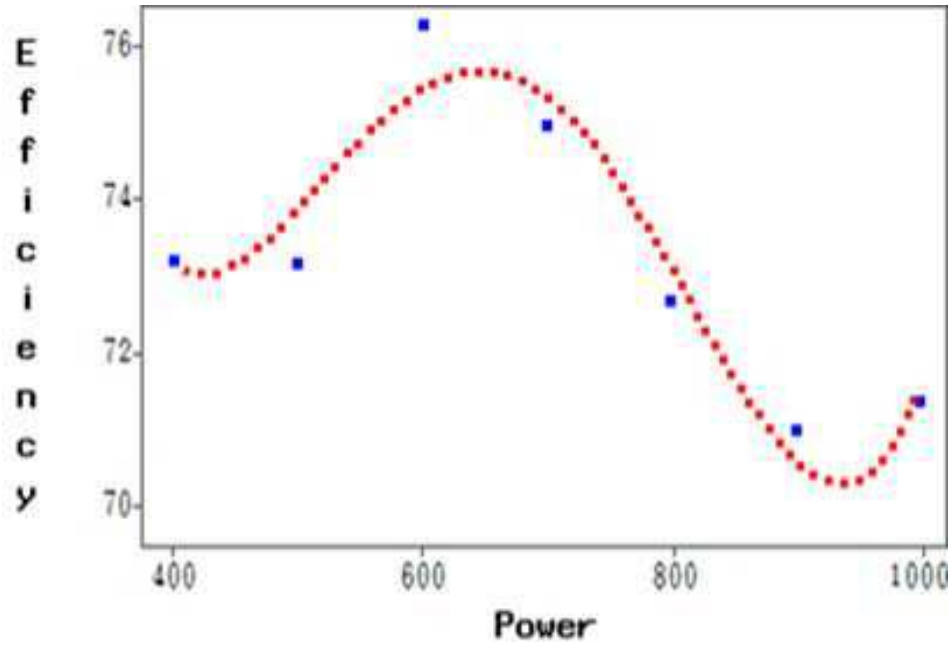
도면2



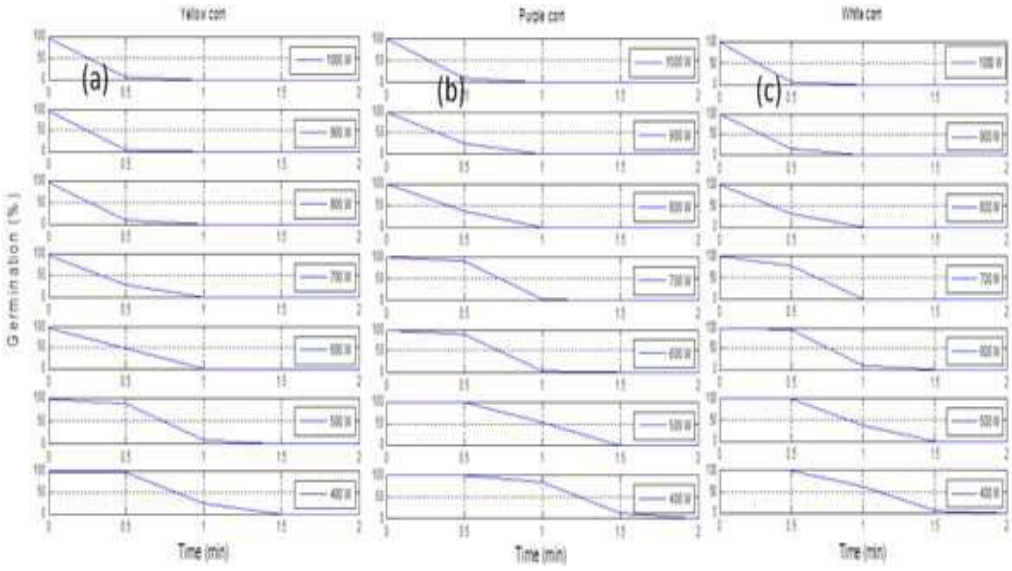

도면3



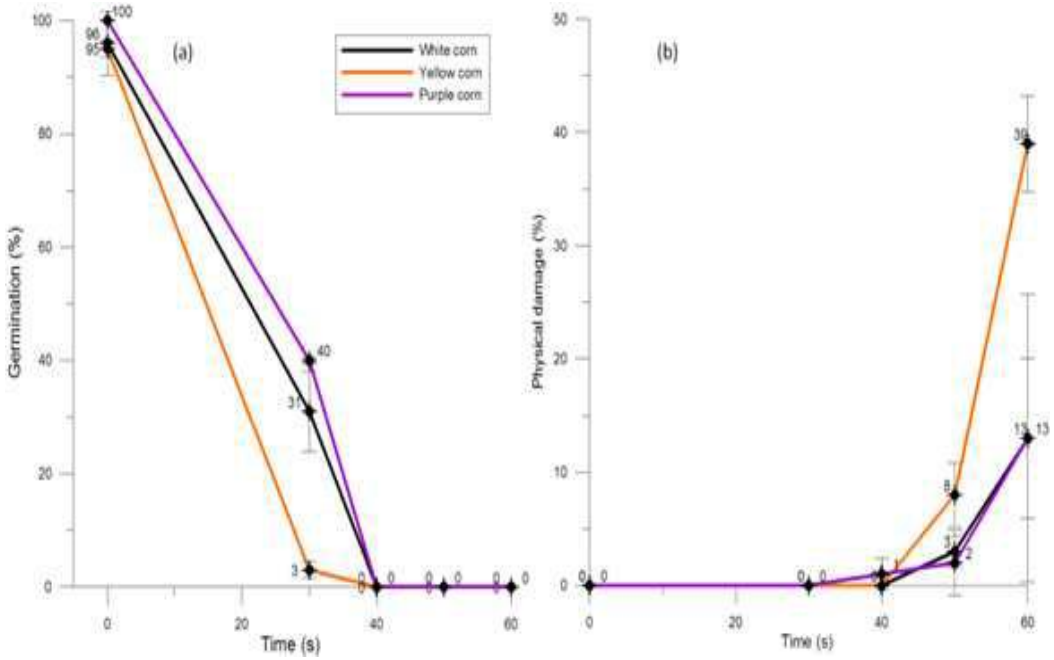
도면4


Efficiency
76
74
72
70
400
600
800
1000
Power

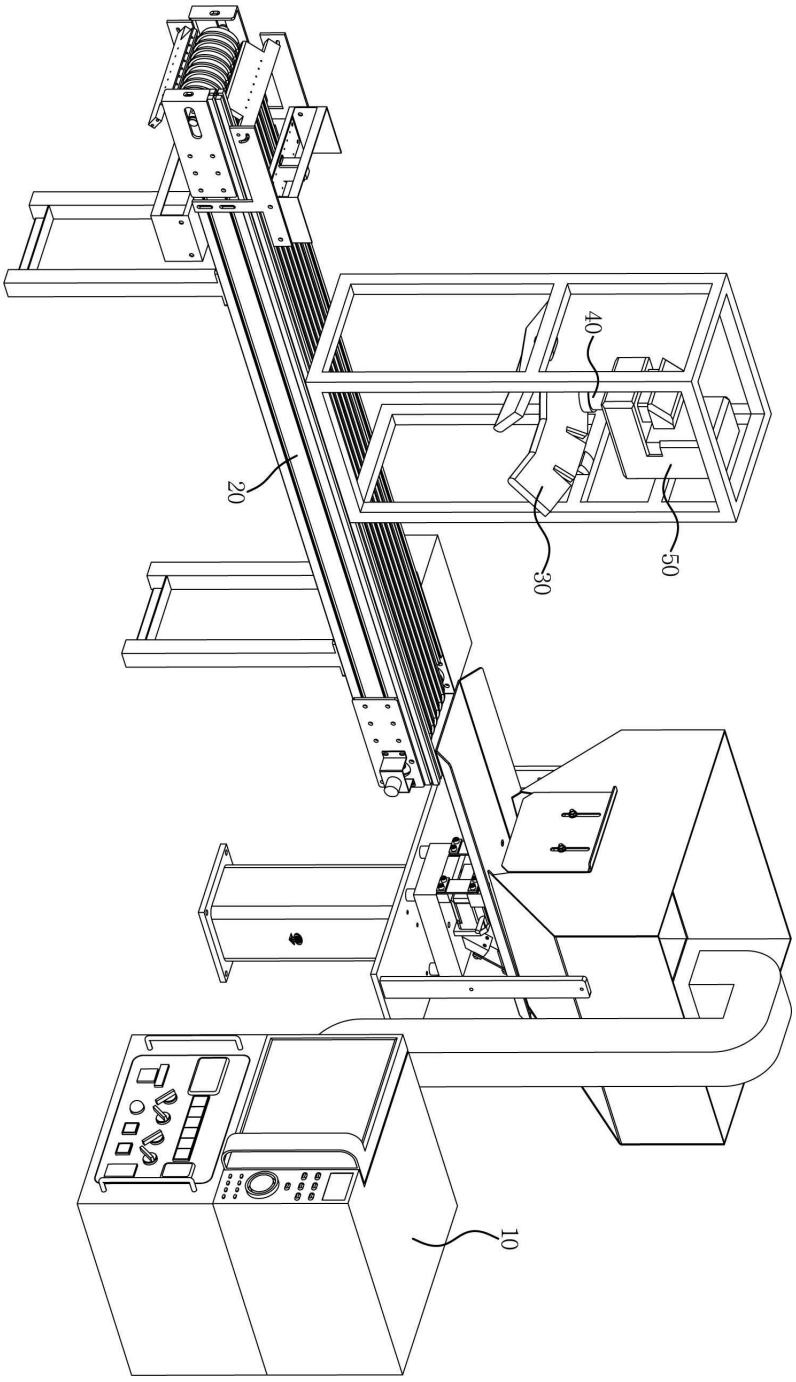
도면5


(a)
(b)
(c)
Germination (%)
Time (min)

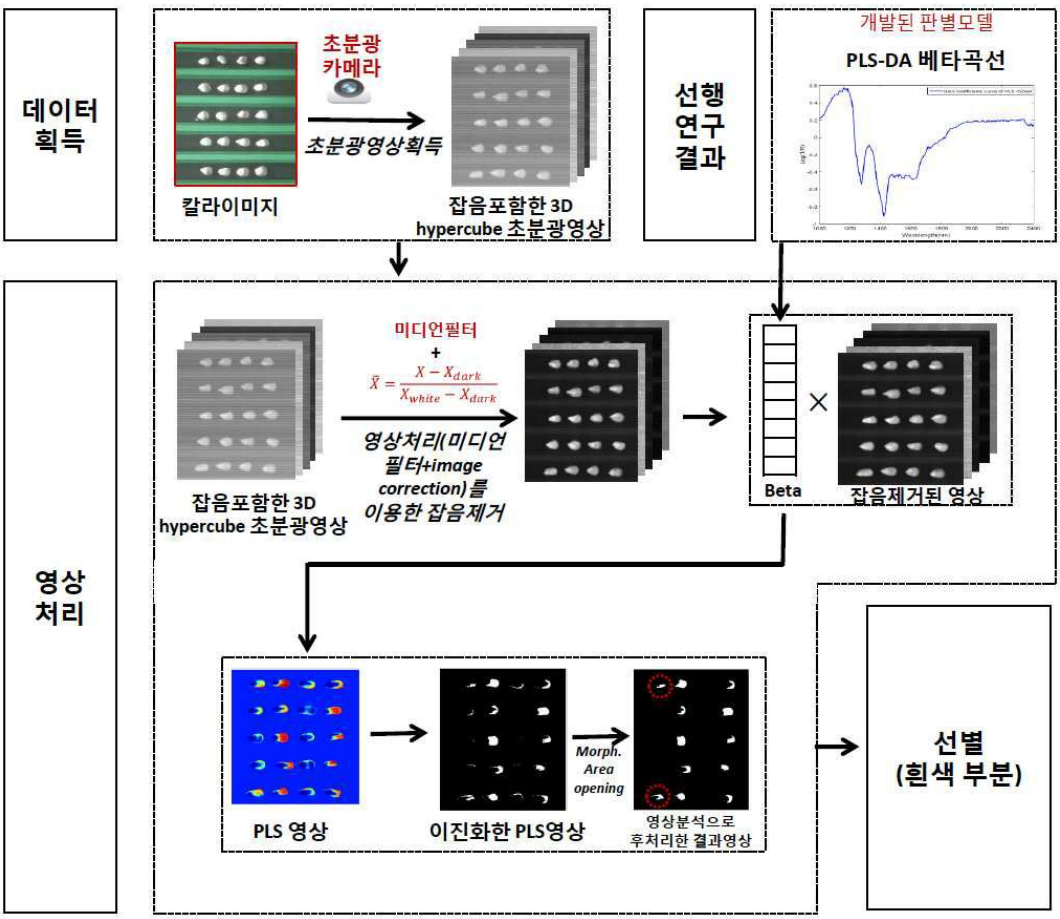
도면6


(a)
White corn
Yellow corn
Purple corn
Germination (%)
Time (s)
(b)
Physical damage (%)
Time (s)

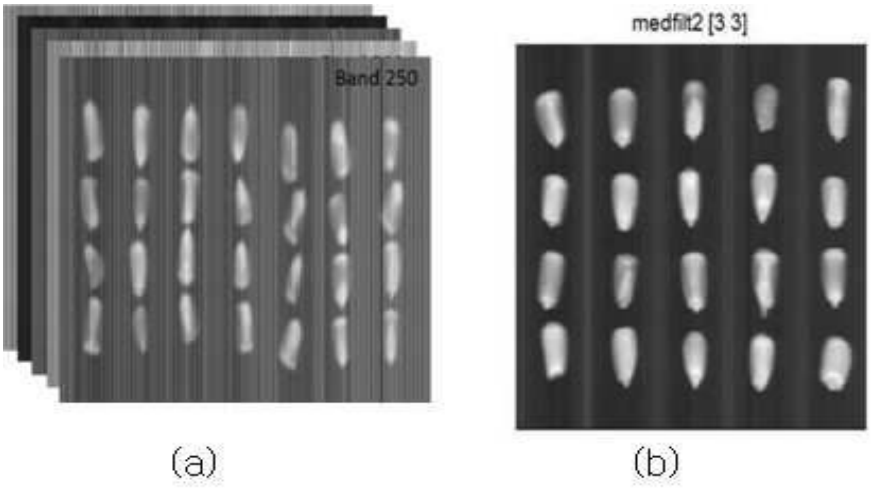
도면7



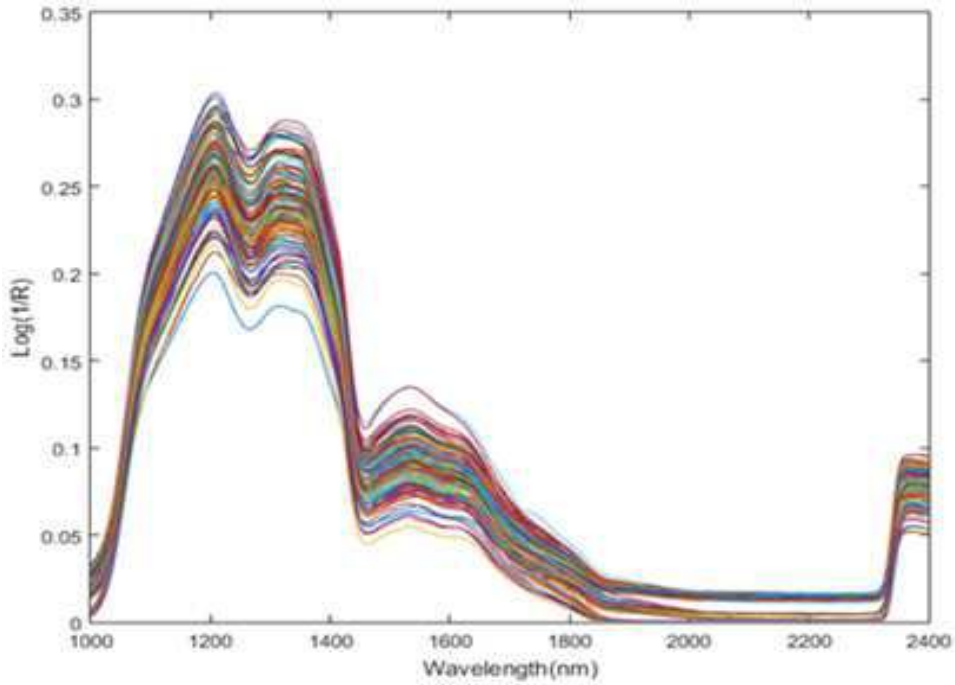
도면8


데이터 획득
초분광 카메라
초분광영상획득
칼라이미지
잡음포함한 3D hypercube 초분광영상
선행 연구 결과
개발된 판별모델
PLS-DA 베타곡선
영상 처리
미디언필터
+
$\bar{X} = \frac{X - X_{dark}}{X_{white} - X_{dark}}$
영상처리(미디언 필터+image correction)를 이용한 잡음제거
잡음포함한 3D hypercube 초분광영상
Beta
잡음제거된 영상
Morph. Area opening
PLS 영상
이진화한 PLS영상
영상분석으로 후처리한 결과영상
선별 (흰색 부분)

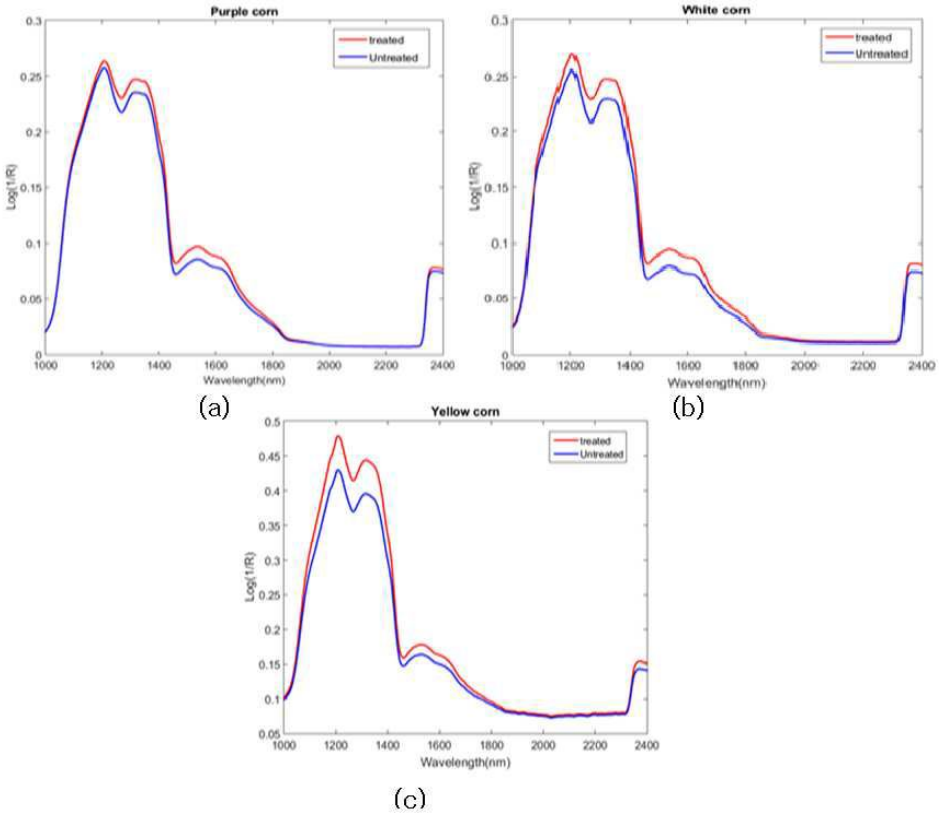
도면9


Band 250
medfilt2 [3 3]
(a)
(b)

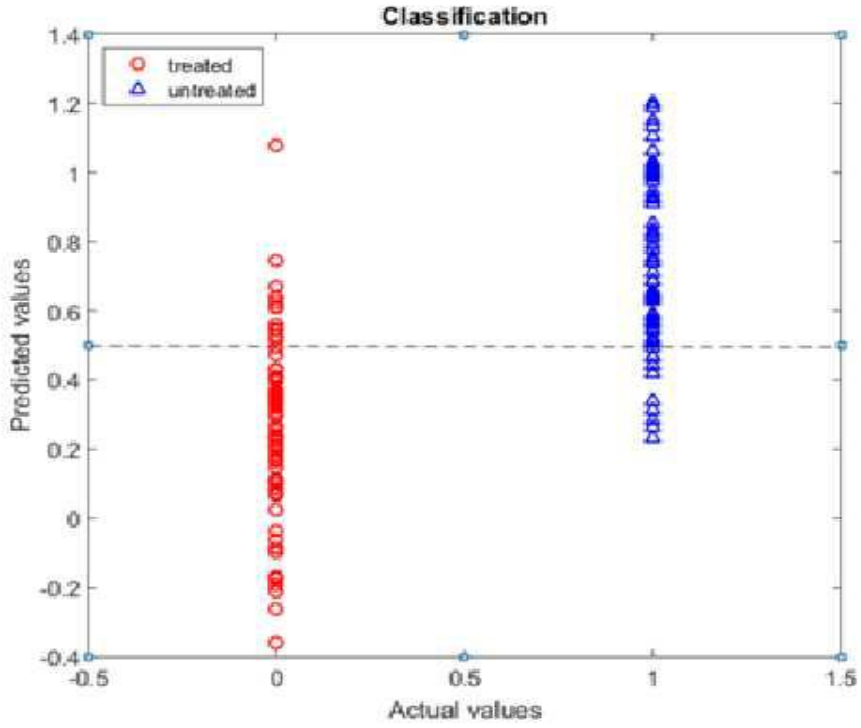
도면10


Log(1/R)
Wavelength(nm)

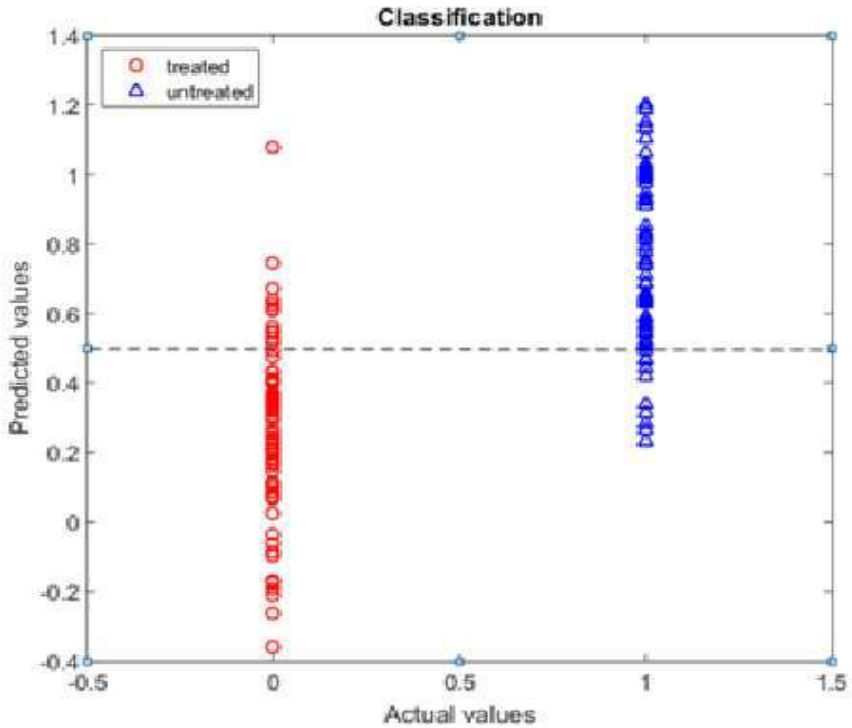
도면11


Purple corn
White corn
Yellow corn
treated
Untreated
Log(1/R)
Wavelength(nm)
(a)
(b)
(c)

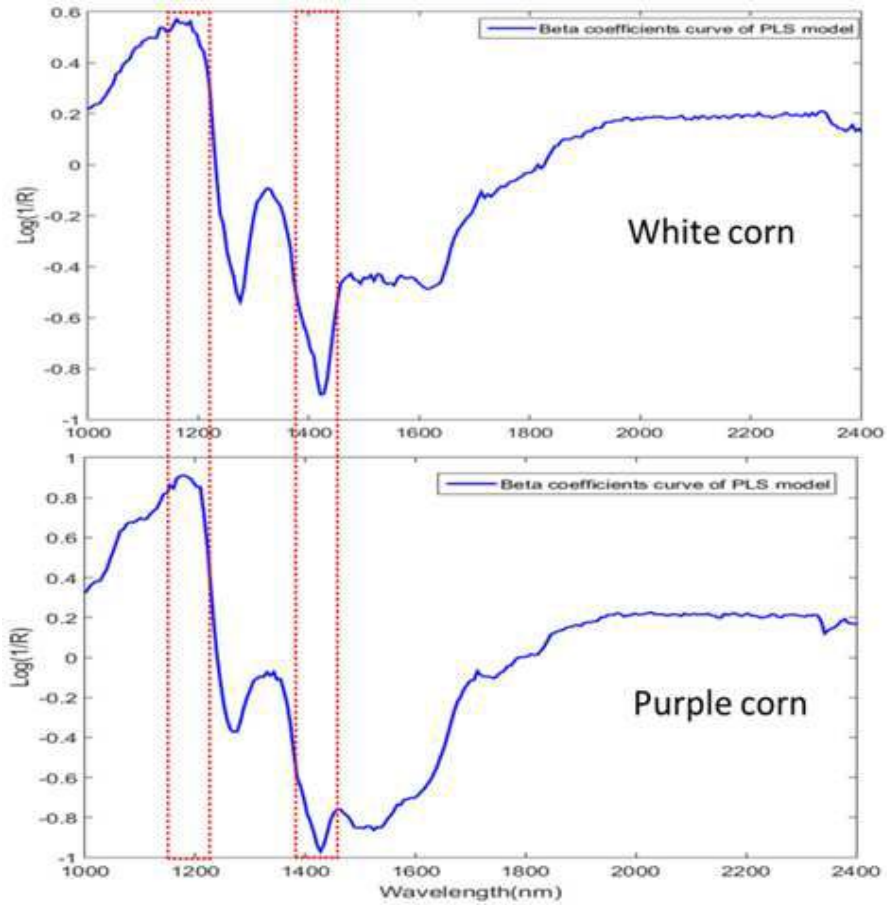
도면12


Classification
treated
untreated
Predicted values
Actual values
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
-0.2
-0.4
-0.5
0
0.5
1
1.5

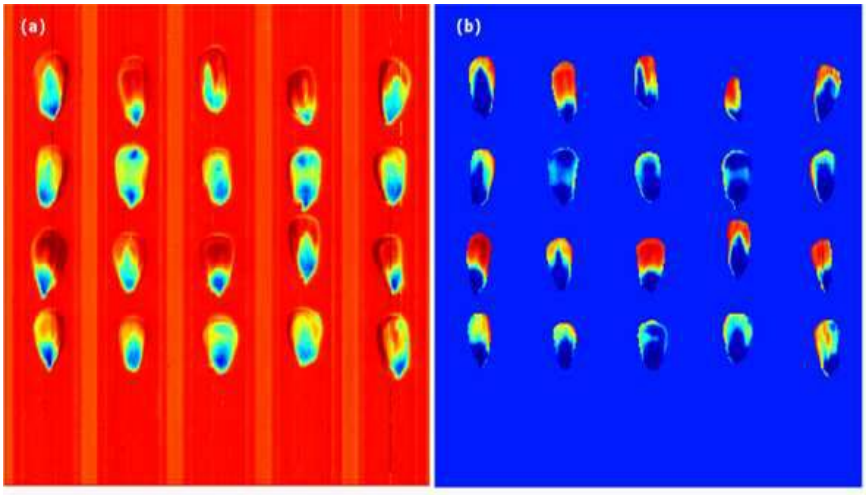
도면13


Classification
treated
untreated
Predicted values
Actual values
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
-0.2
-0.4
-0.5
0
0.5
1
1.5

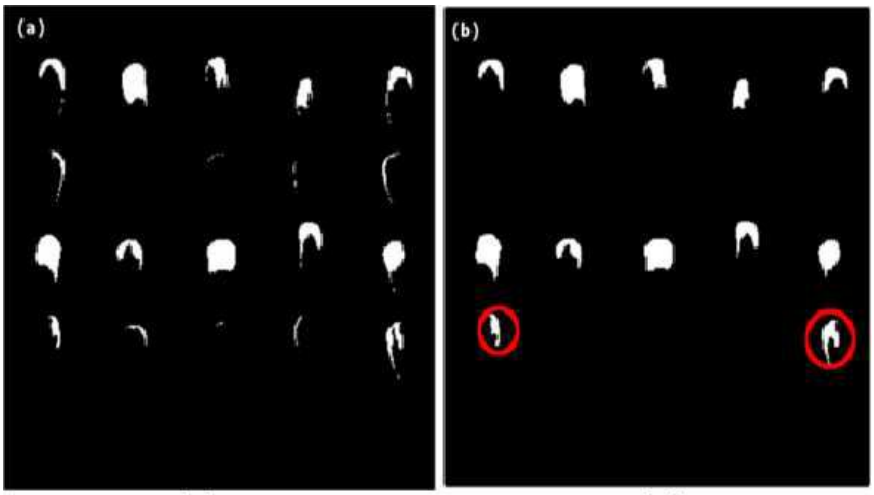
도면14


Beta coefficients curve of PLS model
White corn
Log(1/R)
Beta coefficients curve of PLS model
Purple corn
Log(1/R)
Wavelength(nm)

도면15


(a)
(b)
(a)
(b)

도면16




(a) (b)

【심사관 직권보정사항】

【직권보정 1】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 제1 내지 5항의 그 말미

【변경전】

유전자 변형 옥수수 종자 발아억제 처리 및 비파괴 판별시스템

【변경후】

발아억제 처리된 유전자 변형 옥수수 종자 비파괴 판별시스템