

퍼지 제어 시스템을 응용한 *Scutellaria baicalensis* G. 식물세포 배양공정

조진만, 최정우, 이원홍, 김익환*, 박영훈*
서강대학교 화학공학과, 생명공학연구소 생물공정그룹*

Application of Fuzzy Control System to *Scutellaria baicalensis* G. Plant Cell Culture

J. M. Cho, J. W. Choi, W. H. Lee, I. H. Kim* and Y. H. Park*
Department of Chemical Engineering, Sogang University
Biochem. Process Lab, Genetic Engineering Research Institute, KIST*

서론

식물세포 배양에 의한 유용 물질의 생산공정은 재래의 공정에 비해 많은 장점을 가지고 있으나 배양의 불안정성, 늦은 성장 그리고 낮은 생산성 등으로 인하여 상업화 실적이 미미한 형편이다. 본 연구는 대사산물인 flavonoid(baicalin, wogonin)가 항암제의 상승 작용을 하는 것으로 알려져 있는 황금(*Scutellaria baicalensis* G.) 세포[1]를 모델시스템으로하여 식물세포 배양공정의 생산성을 향상시키는 운전전략 구성 및 제어기술에 관한 것이다. 식물세포 배양공정에 의한 대사산물의 상업적 생산을 위해 세포 배양기가 이용되고 있으나 세포 배양기의 제어는 일반적인 발효공정과 같이 상태변수와 제어변수와의 관계를 간단한 함수로써 표현할 수가 없으며 예측을 난해하게 하는 요인이 존재하기 때문에 퍼지 제어 이론이 적용되기에 적합한 공정이라 할 수 있다[2]. 퍼지 제어기 구성에는 제어 시스템의 퍼지규칙 선정과 언어변수 조정 등이 필요하다. 일반적으로 이러한 작업은 공정 운전 전문가의 경험에 의해 이루어지지만 배양공정에 보다 적합한 퍼지 제어규칙을 구성하기 위하여 학습 알고리즘에 의한 자기구성 퍼지 제어기의 구성에 대한 연구가 진행되고 있다[3]. 다아원의 진화론을 적용한 유전 알고리즘은 이러한 자기구성 퍼지제어기를 구성하기 위해 사용될 수 있는 학습 알고리즘으로서 자연적 선택과 유전의 메카니즘을 바탕으로 하는 일종의 탐색 알고리즘이다. 유전 알고리즘은 제어규칙에 대한 제어성능을 적합도로써 측정하고 재생, 교배 그리고 돌연변이 등의 내부 유전연산자에 의해 보다 제어 성능이 향상된 퍼지 규칙들을 자동 생성시킬 수 있다[4].

본 연구에서는 *Scutellaria baicalensis* G. 식물세포의 회분식 배양실험 결과를 토대로 성립된 구조적 성장 모델을 현상모사하여 flavonoid 배당체 생산성 향상을 위한 유가식 운전의 최적 기질 농도 궤적을 수립하고, 이를 기초 퍼지제어기 및 유전 알고리즘에 의하여 구성된 자기구성 퍼지 제어기로 제어하고자 한다.

이론

유가식 배양기의 운전 전략

Scutellaria baicalensis G.의 회분식 배양 실험에서 측정된 기질의 농도와 세포의 성장 및 flavonoid 배당체 생산 관계를 바탕으로 제시된 구조적 식물세포 성장 모델을 이용하여 기질 농도와 세포의 성장 및 생산의 관계를 모사하여 유가식 배양을 위한 기질의 공급전략을 구성한다. 기질의 공급전략은 기질의 농도를 18g/L로 유지하여 배양의 전기간에 걸쳐 세포의 성장과 flavonoid 배당체의 생산을 유도하는 일단계 배양방법과 세포의 빠른 성장을 유도하는 일단계와 세포의 성장

을 낮은 수준으로 유지하면서 생산 물질의 생성에 초점을 맞추는 이단계로 구성하여 일정한 두 개의 glucose 농도(28g/L, 5g/L) 사이에서 한 번의 계단식 변화를 주는 이단계 배양방법의 두 가지 형태이다.

퍼지 제어기의 구현

Scutellaria baicalensis G. 식물세포의 유가식 배양공정에서 대사산물의 생성을 최대화하여 생산성을 향상시키는 기질 농도의 제어에, 본 연구팀에 의해 축적된 생물배양기 제어에 관한 경험과 지식으로 구성된 기초 퍼지제어기와 유전 알고리즘을 이용하여 퍼지규칙베이스를 최적화한 자기구성 퍼지제어기를 이용하였다. 유전 알고리즘에서는 개체군이라 불리는 데이터의 집단이 타당한 개체군을 선택해내는 역할을 수행하는 적합도에 의해서 한 세대에서 다음 세대로 바뀌어 가게 된다. 여기서 타당한 개체군은 최적의 기질 농도 궤적을 제어하기 위한 퍼지 제어기의 규칙 베이스로서 퍼지 규칙의 생성을 의미한다.

실험

모델식 수립을 위한 회분배양실험

Scutellaria baicalensis G. 식물세포의 구조적 성장 모델식 수립을 위한 회분 배양 실험에서는 지수 성장기 말기에 있는 세포의 생체중량으로 40g을 2L의 배양액이 들어있는 BIOFLO III 생물반응기(NEW BRUNSWICK SCIENTIFIC, 2.5L, USA)에 접종하여 배양하였으며 1일 1회씩 25mL의 배양을 sample port를 통하여 채취하여 기질의 농도, 세포중량의 측정 및 flavonoids 생성량 분석을 수행하였다.

유가식 배양의 퍼지 제어 실험

유가식 배양실험은 운전전략의 비교를 위해 자기구성 퍼지제어기를 적용하여 일단계와 이단계 배양방법에 대하여 수행되었으며 또한 구성된 제어기의 성능비교를 위하여 동일한 운전전략 즉, 이단계 배양방법에 대하여 기초 퍼지제어기와 자기구성 퍼지제어기를 적용하였다. Fig. 1은 유가식 배양의 퍼지제어 실험을 위한 장치 개략도이며 기질 저장조와 퍼지제어 규칙에 의해 동작하는 기질 공급용 구동 펌프가 장치되었다. 세포중량 및 flavonoids 생성량의 농도를 측정하기 위하여 1일 1회씩 25ml의 현탁을 sample port를 통하여 취하였으며 제어를 위한 기질 농도는 1일 4회씩 3ml의 현탁을 취하여 측정하였다.

결과 및 토론

퍼지제어규칙

Fig. 2(a),(b)는 자기 구성 퍼지제어기 구성을 위한 모사결과로서 각각 일단계 배양과 이단계 배양방법에서의 각 세대별 적합도를 나타낸 것이다. 일단계 배양방법과 이단계 배양방법에서 최대 적합도를 나타내는 27번째와 40번째 세대의 귀속도 함수와 퍼지제어 규칙이 *Scutellaria baicalensis* G. 식물세포의 유가식 배양공정의 일단계 배양 및 이단계 배양의 제어에 이용된다.

유가식 배양공정

Fig. 3(a), Fig. 4(a) 및 Fig. 5(a)는 각각 기초 퍼지제어기에 의한 일단계 배양, 자기 구성 퍼지 제어기에 의한 일단계 배양 및 이단계 배양에서의 기질 농도 제어 실험 결과를 나타낸다. 이단계 배양방법에서 제어설정치 즉 최적기질농도에 대한 기질 농도의 실험 측정치를 비교한 상대적합도는 자기구성 퍼지제어기를

적용한 결과가 기초퍼지 제어를 적용한 경우보다 높게 나타남을 알 수 있으며, 이로써 자기구성 퍼지제어기가 기초 퍼지제어기보다 향상된 제어성능을 보여줄 수 있다. 유전 알고리즘으로 구현한 자기 구성 퍼지제어기는 최적의 기질 농도 설정치에 대한 공정 변수 오차합을 줄임으로써 설정치에 수렴하도록하여 제어기 성능을 향상시켰다. Fig. 3(b), Fig. 4(b) 및 Fig. 5(b)는 각각의 배양공정에서 생산된 세포의 건조 중량과 flavonoid 배당체의 생산 실험 결과를 나타낸다. 이단계 배양방법이 일단계 배양방법에서보다 건조중량 및 flavonoid 배당체의 생산량 뿐만 아니라 생산성 및 생산 수득률면에서 높게 나타남을 알 수 있었다.

제안된 *Scutellaria baicalensis* G. 식물세포의 유가식 배양공정의 기질의 공급 전략 중, 이단계 배양방법은 일단계 배양방법에 비해 flavonoid 배당체의 생산을 향상시켜 주었으며 유전 알고리즘으로부터 자동 생성된 자기구성 퍼지제어기는 flavonoid 배당체의 생산을 최대화하기 위하여 설정된 기질의 농도 궤적을 성공적으로 제어하였다.

참고문헌

- [1] Seo, W. H., Park, Y. H, and Choe, T. B : *Plant Cell Reports*, 12 414(1993)
- [2] Postlethwaite, B. E.: *Chem. Eng. Res. Des.*, 67 267(1989)
- [3] Choi, J. W., Park, J. K., Lee, K. S. and Lee, W. H.: *Proceeding of First Asian Control Conference*, 305(1994)
- [4] Dejong, K.: *Machine Learning*, 3 121(1988)

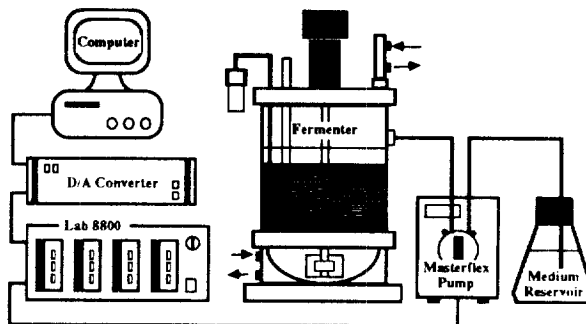


Fig.1 *Scutellaria baicalensis* G. plant cell fed-batch culture control system

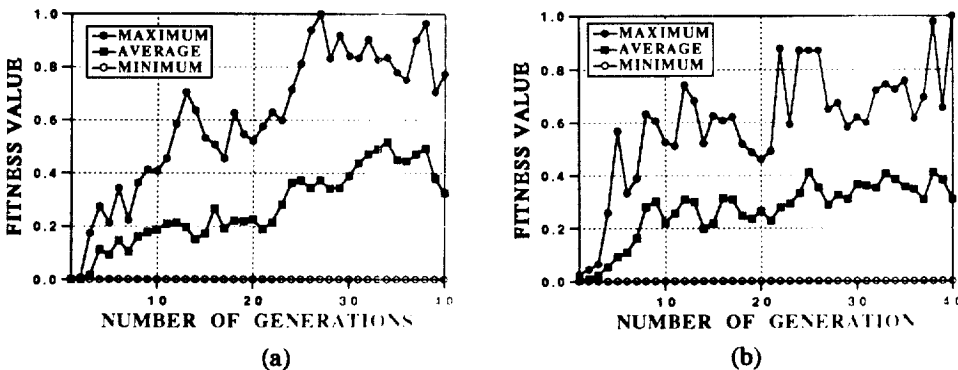
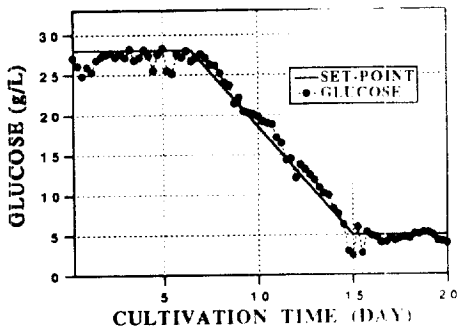
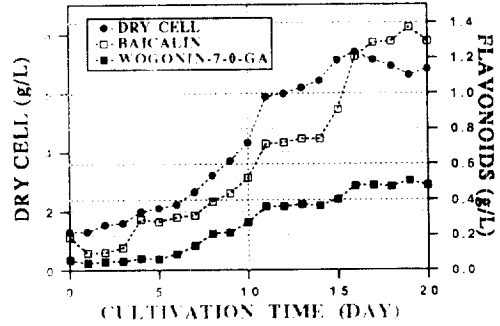


Fig.2 Self-organizing fuzzy logic controller fitness value of individual generation
 (a) one stage fed-batch culture (b) two stage fed-batch culture

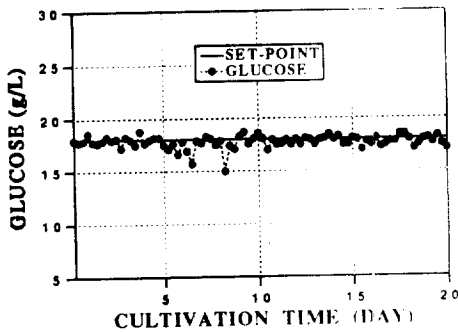


(a)

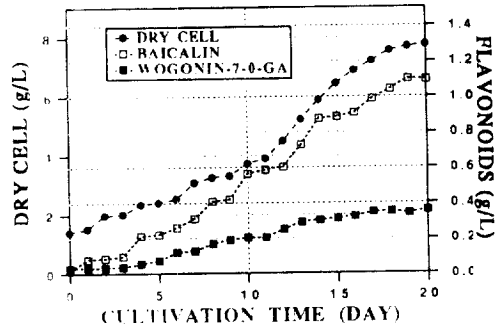


(b)

Fig.3 Simple fuzzy logic controller experiment results of two stage fed-batch culture
(a) glucose concentration (b) dry cell weight and flavonoids

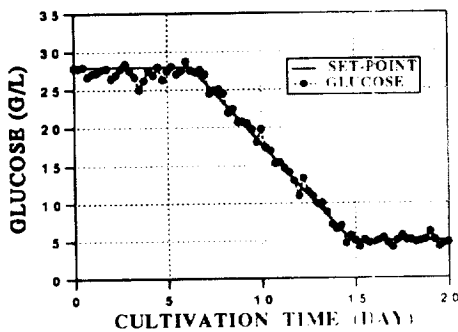


(a)

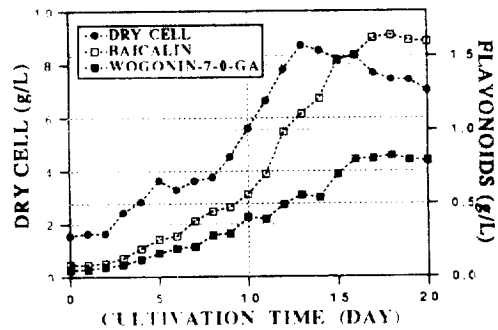


(b)

Fig.4 Self-organizing fuzzy logic controller experiment results of one stage fed-batch culture
(a) glucose concentration (b) dry cell weight and flavonoids



(a)



(b)

Fig.5 Self-organizing fuzzy logic controller experiment results of two stage fed-batch culture
(a) glucose concentration (b) dry cell weight and flavonoids