

다구찌 방법을 이용한 세포배양의 최적조건 결정
-The Parameter Optimization Decision of Cell Culture
Using Taguchi Method-
(사례연구를 중심으로)

김 진욱*
Kim, Jin-Wook
박 명규**
Park, Myeong-Kyu
김 용범***
Kim, Yong-Bum
김 복만****
Kim, Bok-Man
조 용욱*****
Cho, Yong-Wook

Abstract

A study to analyze and solve problems of a biochemical process experiment has presented in this paper. We have taken Taguchi's parameter design approach, specifically orthogonal array, and determined the optimal levels of the selected variables through analysis of the experimental results using S/N ratio.

1. 서론

다구찌 기법(Taguchi Method)은 기계, 화학, 전기·전자 등 산업전반에 걸친 모든 실험계획에 적용시킬 수 있는 최적화 설계 기법이다. 본 연구에서는 품질 문제 해결을 위해 다구찌가 제안한 기본 전략을 생화학 실험에서 행하고 있는 기존의 실험에 도입하여 직교배열에 의한 실험계획과 S/N비를 바탕으로 한 파라미터 설계(Parameter Design) 방법을 통해 더욱 효율적인 실험이 될 수 있도록 연구하고자 한다.

본 연구에서는 기존의 여러 실험에서 발생하는 문제점을 해결하기 위해 다구찌 기법을 적용하여 대상 실험의 수행시간과 비용을 최소화시키고, 그 분석에 있어서도 기존의 방법보다 더욱 효율적인 최적조건을 도출할 수 있도록 하는 것을 목적으로 하고 있다. 또한, 효율적인 실험의 수행을 위해 본 연구에서는 다음과 같이 3가지로 분류하여 최적조건을 도출에 이용하고자 한다.

- (1) 직교배열표를 사용한 효율적인 실험계획을 통해 기존의 실험횟수보다 월등히 적은 실험횟수(기존 실험의 1024회 실험을 64회의 실험으로)를 가지고도 최적조건을 도출할 수 있게 한다.
- (2) S/N비를 중심으로 한 통계적 데이터 분석을 사용하여 기존의 데이터 분석방법보다 효율적인 결과를 얻을 수 있게 한다.

* 명지대학교 산업공학과 석사과정
** 명지대학교 산업공학과 교수
*** 명지대학교 산업기술연구소 책임연구원
**** 울산대학교 산업공학과 교수
***** 명지대학교 산업공학과 박사과정

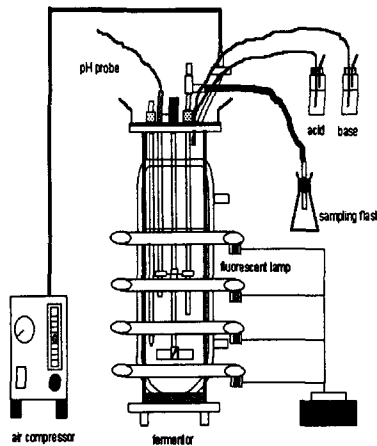
(3) 잡음인자(noise factor)들을 실험 내에 포함시켜 기존의 실험에서 얻을 수 없었던 최적 조건을 도출하여 잡음에 둔감한 인자를 발견해냄으로써 강건설계(Robust Design)가 될 수 있게 한다.

2. 실험의 적용환경 구축

2.1 기존실험의 고찰

Carotenoids는 탄소와 수소만으로 구성된 탄화수소인 Carotene과 이들의 유도체인 xanthophylls로 구성된다. 이중 β -carotene은 provitamin 활성, 항산화 및 광보호 활성을 지니고 있으며, 식품 첨가제와 착색 물질로 널리 이용되고 있다. 본 연구는 Carotenoids 대량 생산에 요구되는 세포 대량배양의 최적 환경조건을 찾기 위해 nutrient의 농도 변화, shaking의 유무, pH량의 변화, 빛의 파장의 변화에 대한 실험 결과를 분석하여 최적조건을 찾는 것이다.

2.2 실험에 사용된 세포 배양기



(그림 2-1) 세포배양기

2.3 직교배열표에 대한 인자의 배치

제어인자에 대한 배치가 이루어질 때 A인자는 nutrient의 농축 농도에 따라 4개의 수준, B인자는 shaking의 유무에 따라 2개의 수준, C인자는 pH량에 따라 4개의 수준, D인자는 빛의 파장에 대한 실험결과를 얻기 위해서 빛의 파장이 다른 Blue와 White 2개의 수준으로 나눈다. 이와 같은 4개의 제어인자와 그 각각의 수준은 <표 1>과 같다.

<표 1> 제어인자와 인자의 수준

제어인자	수 준			
	1	2	3	4
A. nutrient의 농도	1×	3×	5×	10×
B. shaking의 유무	○	×	-	-
C. pH량	7.5	8.0	8.5	9.0
D. 빛의 파장	Blue	White	-	-

기존의 실험에서는 온도와 빛의 강도에 대한 제어가 불가능하다고 판단하여 온도를 25℃에 고정시켜 놓고 빛의 강도가 Low인 상태에서만 실험을 수행하였다. 그러나 본 연구에서는 다양한 환경에서의 실험을 위해 에어컨의 자동온도 조절장치를 사용하여 온도를 25℃와 30℃로 나

누고, 빛의 강도는 사용 형광등의 수를 조절하여 Low와 High로 나누는 실험을 통해 이들 잡음인자가 실험에 어느정도 영향을 끼치게 되는지를 파악코자 한다. 또한 온도와 빛의 강도에 대한 교호작용이 실험결과에 어느정도 영향을 미칠 수 있다는 전제하에 두 인자간의 교호작용도 잡음인자에 포함시켰다. 잡음인자 각각의 수준은 <표 2>와 같다.

<표 2> 잡음인자와 인자의 수준

잡음인자	수준	
	1	2
E. 온도	25℃	30℃
F. 빛의 세기	Low	High
G. E×F	-	-

한편, 4개의 제어인자를 직교배열표에 할당하기 위해 L16 직교배열표를 사용하여 내측배열에 배치시켰고, 잡음인자는 L4 직교배열표를 사용하여 외측배열에 배치시켰다.

L16 직교배열에 의한 내측배열의 직교배열표는 <표 3>과 같이 제시된다.

<표 3> 제어인자의 직교배열표

실험 번호	열번호															실험조건
	A	e	C	C	e	e	C	A	A	e	e	B	e	D	e	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	$A_1B_1C_1D_1$
2	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	$A_4B_2C_1D_2$
3	1	1	1	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2	2	2	$A_1B_2C_2D_2$
4	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	$A_4B_1C_2D_1$
5	1	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2	$A_1B_1C_3D_2$
6	1	2	2	1	1	2	2	2	2	1	1	2	2	1	1	$A_4B_2C_3D_1$
7	1	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2	2	2	1	1	$A_1B_2C_4D_1$
8	1	2	2	2	2	1	1	2	2	1	1	1	1	2	2	$A_4B_1C_4D_2$
9	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	$A_2B_1C_3D_1$
10	2	1	2	1	2	1	2	2	1	2	1	2	1	2	1	$A_2B_2C_3D_2$
11	2	1	2	2	1	2	1	1	2	1	2	2	1	2	1	$A_3B_1C_4D_1$
12	2	1	2	2	1	2	1	2	1	2	1	1	2	1	2	$A_2B_1C_1D_2$
13	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2	1	$A_3B_2C_1D_1$
14	2	2	1	1	2	2	1	2	1	1	2	2	1	1	2	$A_2B_2C_2D_1$
15	2	2	1	2	1	1	2	1	2	2	1	2	1	1	2	$A_3B_1C_2D_2$
16	2	2	1	2	1	1	2	2	1	1	2	1	2	2	1	

3. 실험결과의 분석 및 확인실험

3.1 실험의 설계

S/N비를 이용한 실험결과를 얻기 위하여 $L_{16}(2^{15})$ 에 제어인자를, $L_4(2^3)$ 에 잡음인자를 배치하고, 잡음인자들의 4개 수준조합에서 각각 2회씩 반복 측정하여 배양된 세포의 수에 대한 데이터를 부록 <표 1>에 제시하였다. 본 실험은 망대특성에 대한 실험이므로 배양된 세포의 수를 최대화 시키는 제어인자들의 수준을 찾는 것이 목적이다. 한편, 4개의 수준조합에서 각각 2회씩의 측정을 반복한 이유는 측정된 데이터에 대한 정확성을 높이기 위함이다.

3.2 실험결과의 분석

3.2.1 S/N비 분석

부록 <표 4>에 대한 S/N비 분산분석의 결과는 <표 5>와 같다.

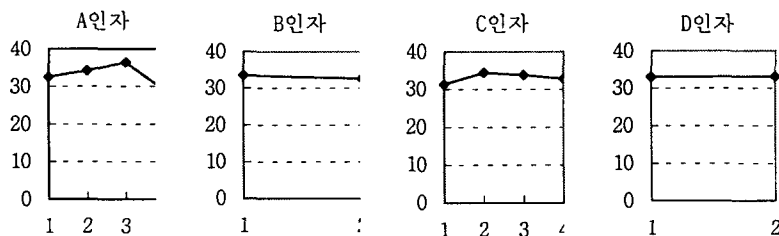
분산분석 결과 $\alpha = 0.05$ 에서 A(영양소의 농축농도)가 가장 유의하고, B(shaking)는 유의하기는 하나 유의성은 아주 작으며, C(pH)는 A보다는 작지만 유의한 인자임을 알 수 있다. 또한 D(빛의 파장)는 실험에 미치는 영향이 거의 없는 유의하지 않은 인자임을 알 수 있다. 각 인자의 수준에 대한 평균 S/N비 값은 <그림 1>과 같다.

<표 4> 실험결과와 S/N비의 값

인자 배치	A	B	C	D	1	2	3	4	실험#	수준		인자 배치	
										1	2		
인자	nutrient	Shaking	pH	light	1	1	2	2	1	25℃	30℃	E	
수	1	1×	○	7.5	Blue	1	2	1	2	2	Low	High	F
	2	3×	×	8.0	White								
	3	5×	-	8.5	-								
	4	10×	-	9.0	-								
실험#	1	2	3	4	세포배양 data(양대특성)							$SN = -10 \log \left[\frac{1}{8} \sum_{j=1}^8 \frac{1}{y_{ij}^2} \right]$	
1	1	1	1	1	20	36	50	52	40	36	66	61	31.29
2	4	2	1	2	17	13	27	27	20	19	45	46	26.39
3	1	2	2	2	34	28	61	57	46	40	72	68	32.77
4	4	1	2	1	25	25	48	42	39	35	54	52	30.97
5	1	1	3	2	38	33	68	66	52	44	77	72	33.83
6	4	2	3	1	23	23	43	47	29	34	54	54	30.27
7	1	2	4	1	34	27	55	63	45	36	72	65	32.48
8	4	1	4	2	19	19	44	35	29	25	52	50	28.84
9	2	1	3	1	45	42	85	84	48	55	98	85	35.32
10	3	2	3	2	43	45	87	87	67	65	104	93	36.09
11	2	2	4	2	39	38	70	73	48	48	77	81	34.36
12	3	1	4	1	50	38	86	84	57	58	92	97	35.60
13	2	1	1	2	29	34	65	56	51	39	73	71	32.96
14	3	2	1	1	41	36	77	67	50	49	87	74	34.42
15	2	2	2	1	40	37	69	69	52	42	75	83	34.20
16	3	1	2	2	73	73	125	118	93	88	139	121	39.60

<표 5> S/N비를 이용한 분산분석표

요인	SS	ϕ	V	F_0
A	113.67	3	37.89	37.89**
B	3.45	1	3.45	3.45*
C	22.79	3	7.59	7.59*
D	0.006	1	0.006	0.006
e	7.024	7	1	
T	146.94	15		

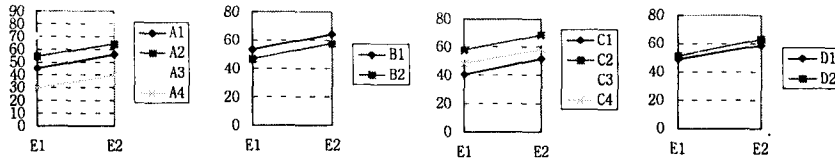


<그림 2> 각 인자수준에 대한 평균 S/N비의 값

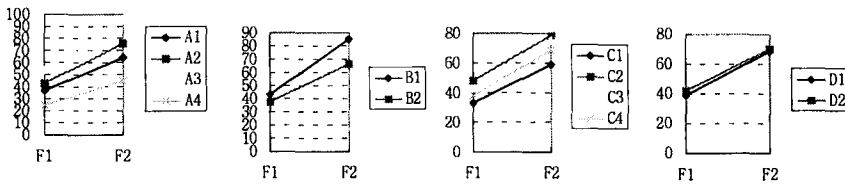
3.2.2 제어인자와 잡음인자간의 민감도 분석 결과

본 연구에서는 잡음인자 수준의 변화(환경의 변화)에 민감하지 않은 제어인자의 수준을 찾기 위한 민감도 분석을 실시 하였다. <그림 2>와 <그림 3>은 제어인자에 대한 E(온도)와 F(빛의

강도)의 효과에 대해 도시 한 것이다.



<그림 2> 제어인자에 대한 온도변화의 민감도 분석



<그림 3> 제어인자에 대한 빛의 강도 변화의 민감도 분석

분산분석 결과와 마찬가지로 잡음인자인 온도는 실험에 유의한 영향을 미치게 되며, 온도가 25℃에서 30℃로 증가함에 따라 모든 제어인자들은 세포배양을 최대로 할 수 있는 조건으로 진행하고 있음을 알 수 있다. 또한 직선의 기울기가 각각의 제어인자 수준에 대해 거의 일정하게 제시되는 것으로 보아 모든 제어인자들이 온도의 변화에 대한 영향을 유사하게 받고 있다는 것을 알 수 있다. 제어인자 각각의 수준에 대한 잡음인자 F(빛의 강도)의 변화의 영향도 온도변화의 효과와 거의 같음을 알 수 있다.

3.2.3 잡음인자에 대한 분산분석

<표 4>의 잡음인자에 대한 분산분석 결과는 <표 6>과 같다.

<표 6> 잡음인자에 대한 분산분석

요인	SS	ϕ	V	F_0
E	114.59	1	114.59	301.5
F	882.38	1	882.38	2322.05
e	0.38	1	0.38	
T	997.35	3		

분산분석 결과 온도와 빛의 강도가 실험에 미치는 영향은 크며, 빛의 강도에 대한 효과는 더욱 크게 나타난다. 또한 온도와 빛의 강도간에 교호작용(E×F)은 유의하지 않은 것으로 제시되므로 오차항에 풀링 시켰다.

3.3 최적조건의 결정과 확인실험

분산분석 결과 D는 유의하지 않은 인자로 결정되었기 때문에 세포배양을 최대로 할 수 있는 최적조건은 A₃B₁C₂이다. 따라서 최적수준에 대한 점추정치는 다음과 같다.

$$\begin{aligned} \widehat{\mu}(A_3B_1C_2) &= \overline{A_3} + \overline{B_1} + \overline{C_2} - 2\overline{T} \\ &= 38.19\text{db} \end{aligned}$$

위의 실험결과를 기초로 제어인자의 수준이 $A_3B_1C_2$ 이고, 잡음인자의 수준이 E_2F_2 인 상태에서 10번의 실험을 행하여 각각의 실험에 대해 두 번의 측정을 반복한 확인실험의 결과를 <표 7>에 제시하였다.

확인실험 결과 최적조건 일 때의 S/N비 값인 38.19db과 비교할 경우 거의 비슷한 크기의 S/N비 값을 얻을 수 있었고, 배양된 세포의 수가 최적조건인 상태에서 연속적으로 크게 나타나는 것을 알 수 있다. 이러한 결과로 볼 때 실험결과 분석을 통해 추정된 최적조건은 실험실 환경 속에서 세포를 가장 많이 배양시킬 수 있는 최적의 조건임이 확인되었다.

<표 7> 확인실험의 데이터와 S/N비의 값

	확인실험 결과		S/N비
1	121	133	$-10 \log \left[\frac{1}{20} \sum_{i=1}^{20} \frac{1}{y_i^2} \right]$ $= 42.28$
2	139	131	
3	140	142	
4	98	120	
5	136	130	
6	137	138	
7	122	128	
8	128	134	
9	148	137	
10	130	142	

4. 결론

본 연구에서는 기존의 생화학 실험에서 수행하고 있는 미세세포의 대량배양에 필요한 최적환경의 조건을 구하기 위해 다구찌 기법의 적용을 제안 하였다. 직교배열표를 사용하여 실험횟수를 줄이고, 기존의 실험에서 적용시키지 못했던 온도와 빛의 강도의 효과를 잡음인자로 사용함으로써 얻게되는 효과적인 실험결과를 도출해 내기위한 방법을 연구하였다.

다구찌 기법을 적용한 결과 적은 실험횟수로 최적조건을 도출해 낼 수 있었고, 기존의 실험에서 고려되지 않았던 잡음의 효과가 실험결과에 상당히 유의한 영향을 미치는 것으로 나타났다. 다구찌 기법의 도입으로 기존의 생화학 실험에 대한 실험계획과 실험결과 분석의 측면에 있어서 매우 큰 효과와 부수적으로 경제적인 효과도 얻을 수가 있었다.

실험결과를 요약하면 다음과 같다.

- (1) 제어인자에 대한 S/N비 분석결과 영양소의 농축농도가 실험에 미치는 영향이 상당히 크며, shaking과 pH량은 실험에 영향을 미치기는 하지만 그 영향력은 아주 작은 정도이며 빛의 파장은 실험에 미치는 영향이 거의 없다.
- (2) 제어인자에 대한 평균 분산분석결과 역시 S/N비 분석결과와 같다.
- (3) 제어인자가 잡음인자에 의해 받는 영향을 분석한 결과 각각의 제어인자는 잡음인자인 온도와 빛의 강도의 변화에 대해 거의 비슷한 정도로 영향을 받고 있다.
- (4) 잡음인자에 대한 분산분석 결과 예상한 바와 같이 온도와 빛의 강도는 실험에 미치는 영향이 상당히 큰 인자이며, 두 가지 잡음인자중 온도보다 빛의 강도가 더 큰 영향이 있다.
- (5) 세포의 대량배양을 위한 최적조건을 추정하여 확인실험을 해 본 결과 영양소 농축의 결과

는 5배가 최적이고, shaking이 있어야 되며, pH량이 8.5인 조건에서 세포배양이 최대로 된다.

위의 (1)에서 (5)의 실험결과를 통해 주어진 실험여건 하에서 세포배양의 최적조건을 실험결과의 분석을 통해 구할 수 있었고, 세포배양 실험을 통해 예측하지 못했던 잡음(온도, 빛의 강도)의 효과를 얻을 수 있었다.

참고문헌

- [1] 박성현, 다구찌 방법을 중심으로 한 응용실험계획법, 영지문화사, pp. 177.
- [2] 한국공업표준협회(역), "품질평가를 위한 SN비", 한국공업표준협회, pp. 10-20, 1991.
- [3] 권해익, "오프라인 품질관리 파라미터설계에 관한 연구", 계명 대학교, 박사학위논문, pp. 14-17, 1995.
- [4] 박성현, 다구찌 방법을 중심으로 한 응용실험계획법, 영지문화사, pp. 93-94.
- [5] Phadke Madhav S., Quality Engineering Using Robust Design, pp. 23-24, 1989.
- [6] Phadke, M. S., Quality Engineering Using Robust Design, New Jersey : Prentice-Hall, pp. 67-113, 1989.
- [7] K. C. Kapur, and G. chen, "Signal-to-Noise Development for Quality Engineering", Quality and Reliability Engineering International, Vol.4, pp. 133-141, 1988.
- [8] Taguchi, G and Wu, Y., "Introduction to Off-Line Quality Control", Central Japan Quality Control Association, pp. 1-48, 1985.
- [9] S. Moghsoodloo, "The Exact Relation of Taguchi Signal-to-Noise Ratio to His Quality Loss Function", Journal of Quality Technology, Vol.22, pp. 55-67, 1990.
- [10] B. J. Yum, and S. W. Ko, "On Parameter Design Optimization Procedures", Quality and Reliability Engineering International, Vol.7, pp. 39-46, 1991.
- [11] Fowlkes, W. Y. and Creveling, C. M., Engineering Methods for Robust Product Design, Addison-Wesley Publishing Company, pp. 33-88, 1995.