論文

ファジィ推論を適用した広島カキの 鮮度判定システムの開発[†]

浜岡 尊^{*1} 佐々木 健^{*2}

広島カキのエラの呼吸活性(コハク酸デヒドロゲナーゼ活性、SDH)、カキ体液のpHおよびアンモニア濃度の三つの生化学的指標とファジィ推論法を用いて、鮮度の迅速かつ客観的な判定を試みた。SDH およびpHは生カキを保存中にすみやかに低下し、一方、アンモニア濃度は逆に上昇する傾向を認め、これらは鮮度低下と相関することが明かとなった。これらの指標をファジィ推論を適用して処理し、鮮度を0-100点満点で表示するシステムを作成した。得られた点数は熟練者の官能検査の結果とよく一致し(相関係数 $r=0.936$)、本手法が鮮度の客観的かつ迅速(15分間)な判定に適用しうることを認めた。また、従来我々が報告している相乗平均を用いる判定手法と比較しても、ファジィ推論を用いる方がより熟練者の経験則に近い判定が得られることを明かにした。

キーワード：カキ、鮮度判定、ファジィ推論、コハク酸デヒドロゲナーゼ活性

1. 緒言

生カキ(Oyster)のうち生食用のカキは、鮮度が味や舌ざわりに極めて密接に関係しており、新鮮なほど美味といわれる。最近のグルメ時代を反映して、生食用のカキが見直され、一般消費者の鮮度への関心も高まっている。

しかし、生カキの鮮度判定は技術的に容易でなく、現在も熟練者の経験的な判定により鮮度が決定され取引されており、一般消費者が低鮮度のおいしくないカキを高価で買わされることによるトラブルも少なくない。また、近年、熟練者の減少とともに、市場に出回るカキの鮮度もますます“あいまい”になってきており、おいしくない低鮮度のカキが出回る事で、消費者のカキ離れをも引き起こしているとも言われており、正確(客観的)

にかつ迅速に鮮度の判定が出来る手法の開発が望まれている。

一方、魚肉等の鮮度を判定するバイオセンサーや試験紙が市販されている¹⁻²⁾。これらは主として魚肉中に含まれる生体エネルギー源であるATP(アデノシン三リン酸)が保存期間中に分解し、イノシン酸やキサンチンに変換される事から、これらの成分比(K値)で鮮度を判定するものである。しかし、これらは魚肉等の死体肉については適用可能だが、生体試料である生カキは、ATPの再生機構が残存しており、K値による判定が容易ではない。

最近、角田らは^{3,4)}カキのエラのTTC染色反応(TTC, トリフェニルテトラゾリウム)が鮮度と密接に相関する事を報告しているが、分析に時間を要する事、熟練者の判定との関係が不明である事などの問題点も残されている。

本研究は、生カキの鮮度を客観的にかつ迅速に判定しうるシステムの開発を目的として、熟練者の判定に準拠し、生化学的な分析指標にファジィ推論を応用して鮮度判定を試み、若干の知見を得たので報告する⁵⁾。

[†] Development of a System for the Judgement of Freshness of Raw Oyster in Hiroshima District Using Fuzzy Reasoning

Takashi HAMAOKA and Ken SASAKI

^{*1} 広島電機大学 電子工学科

Department of Electronic Engineering, Hiroshima-Denki Institute of Technology

^{*2} 広島電機大学 化学教室

Chemistry Laboratory, Hiroshima-Denki Institute of Technology

2. システムの構成

最初に我々は熟練者(10年以上の養殖、販売の経験を持つプロ)の鮮度の判定手法の聞き取り調査を行った。その結果、(1)エラの色やツヤをみる。(2)肉の色やツヤを見る。(3)臭いを識別する。等に大別出来るようであった。他にカキの形態を見る、肉全体のヌルミを見る等の意見もあったが、総合的には上記三点にしばられるようであった。(図1)。

そこで、これら三点を鮮度指標とするにあたり、これらを定量的に把握する手段を種々検討した。

(1)については、角田ら⁴⁾が報告しているように、エラの呼吸活性をコハク酸デヒドロゲナーゼ活性(以下SDH活性)で評価し、これを鮮度の指標とする事に対応すると考えられる。

(2)については非常に“あいまい”な評価方法であるが、熟練者の中にはカキ体液のpHの低い場合は色や肉の張りも悪いという経験をもっている人も多く、また、鮮度低下とpHの低下は相関するという体験もあった。従って、容易に測定できるpHをひとつの指標と考えた。

(3)については、臭いが悪くなると体液のアンモニア濃度が増加する(腐敗する)という経験が多いので、アンモニア濃度の測定も鮮度の指標となりうると考えられる。

以上の3点を指標として、これにファジィ推論を適用して鮮度が総合的に判定できないかという事につき検討した。

3. 実験方法

3-1 カキ試料

カキは広島、呉、尾道地方のスーパー、魚屋等店頭から購入した市販品および養殖業者の筏から採取して直ちにパック詰めしたもの等約100点を試料とした。購入(採取)後1~2時間以内に以下の分析を行った。試料採取は、昭和63年から平成3年までの3年間にわたり実施した。生産年により鮮度と各化学的指標および熟練者による官能判定が変動することを考慮に入れたためである。

3-2 エラの呼吸活性

鮮度に相関すると言われるカキのエラの呼吸活性を、コハク酸デヒドロゲナーゼ(SDH)活性を測定することで評価した^{4,6)}。測定方法は、角田ら⁴⁾の報告に準じたが、この方法は発色操作(TTC染色)に2~3時間を要し、操作も煩雑で、現場で迅速に測定することが容易ではない。そこで、発色液組成や発色温度を種々改良してより簡便化し、測定が15~20分以内に完了するようにした。改良後のSDHの測定法は以下のごとく行った。

カキのエラ1.0gをハサミで切取り試験管(18×180mm)にいれ、あらかじめ予熱しておいた37℃のトリフェニルテトラゾリウムクロリド(TTC)発色溶液を10ml加え、37℃で15分間発色させ、その後、無水エタノール15mlを加え、ガラス棒で混合しつつエラを粉砕し、赤色化したテトラゾリウムフォーマゾンアルコール水溶液中に溶出させた。その後、ミリポア(0.45μm)で濾過

図1 カキの鮮度判定における熟練者のカンと生化学的指標との関係

し、濾液の吸光度(OD_{490})を測定した。 OD (Optical density)=1.0を1 U(unit)とした。1 Uはテトラゾリウムフォルマゾンの生成として、約 $40 \mu\text{g/ml}$ の濃度に相当する。

用いた TTC 発色溶液の組成は純水 100 ml 中に 0.4 g TTC, 0.1 g コハク酸ナトリウム, 2.84 g リン酸二ナトリウム および 2.34 g の NaCl を溶解したものである。

吸光度は、携帯用のハンディリーダー(宇部興産、UH-450 型)を用い、スーパー等の店頭でも容易に測定可能なように配慮した。

3-3 pH の測定

カキ体液の pH の測定はカード式 pH メータ(ホリバ、C-1)を用い、センサー部によく水を切ったカキを直接載せて、約 2~3 分後、指示の安定した時点で計測した。

3-4 アンモニアの測定

アンモニア(NH_4^+)はカキの体液にネスラー試薬(市販品、片山化学製)を一滴加え、比色法により標準色表と比較して体液のアンモニア濃度を計測した。

3-5 官能検査

10 年以上カキの養殖と販売経験をもつ熟練者 10 人に、それぞれ総合的に鮮度を判定してもらった。そして、非常に良、やや良、普通、やや悪、

悪、の 5 段階に分け、それぞれ 5、4、3、2、1 点を配点し、官能検査の成績とした。

以上の検査は通常、生カキの製品(パック)の中からランダムに 5 匹のカキを取り出し SDH, pH およびアンモニアを測定し、それぞれ 5 つの測定値のうち、近接(ほぼ同じ値を示す)した 3 つの値を平均してその製品の代表測定値とした。官能検査については、5 匹のカキを総合的に判断して 1 つの評価採点とした。

4. 生カキの保存と SDH, pH および アンモニアの変化

市販のカキをビニルパックに入れ密封して、0, 8 および 25°C で保存した場合の SDH, pH およびアンモニアの変化を図 2 に示す。SDH(図 2-a)は低温で保存するほど低下しにくい、 25°C で保存すると 4 日間で 0.8 U から 0.2 U まで急速に低下した。熟練者の話では、おおむね 0.2 U 以下のカキは鮮度が良くなく、生食は好ましくないとの意見であった。pH(図 2-b)も SDH と同様に 25°C の保存でしだいに低下する傾向を認め、4 日で 4.5 まで低下した。pH 5 以下では生食は好ましくないとの熟練者の意見であった。この pH の低下は、カキの自己分解による有機酸(酢酸、プロピオン酸、その他)の蓄積によるものと思われるが、現在のところ解明されていない。一方、アンモニアについては、逆に上昇する傾向を認め、 0°C と 8°C

図2 各保存温度におけるコハク酸デヒドロゲナーゼ(SDH, a)、pH(b)、およびアンモニア(NH_4^+ , c)の変動と保存期間

の保存ではあまり上昇しなかったが、25℃の保存では急速に上昇した。1 mg/l のアンモニア濃度では明かに異臭を認め生食には適さないとの意見であった。

以上のことから、SDH, pHをよびアンモニアが鮮度の指標として適用しうる可能性を認めた。また、熟練者の鮮度の感覚とある程度相関のあることを認めた。

5. 鮮度指標の分布

市販されている生食用のカキ鮮度指標(SDH, pH, アンモニア)の分布を調査した一例を図3に示す。これは昭和63年度、スーパーや魚店の店頭で購入したもののデータである。SDHは大部分0.2 U以上に、pHは5.0以上に、 NH_4^+ は0-0.05 mg/lにそれぞれ分布していることが明かとなった。また平成2年度は漁場の水温が夏から秋にかけて低く、カキの成長が遅く不作の年といわれたが、実際スーパー等店頭での鮮度指標の分布は図3と大差を認めなかった。これらの鮮度指標の分布が生産年度に無関係に、普遍性を有するものである事が示唆される。

また、SDHとpHおよびSDHとアンモニアの間には相関関係が認められず、SDHで鮮度をすべて代表し評価すること^{3,4)}が必ずしも妥当とは言えない可能性も認めた。例えば、カキを水揚げ後、塩素を含む滅菌水で洗浄を行うが、塩素が強すぎると、カキにダメージを与え、pHはあまり変化しないが、SDHが出荷後急速に低下する現象(結果的には低鮮度となりおいしくない)、あるいは、一般細菌が多い場合には、SDHは高く鮮度が高いようにみえるが、pHは低くアンモニアも少し検出され、ニオイがしておいしくない現象もよく見受けられる事と対応している。すなわち、鮮度は一つの指標ではなく、複数の指標から総合的に判定した方がより正確な推論が得られることを示唆している。

図3 魚屋およびスーパー店頭における生カキの鮮度指標の分布 (昭和63年度、30試料)

6. ファジィ推論による鮮度判定

我々はすでに SDH, pHおよびアンモニアの鮮度指標を用いて図4に示すごとく、pHおよびSDHをそれぞれの値に対応した0-100点のスコアに変換し、最終的にそれらの値を相乗平均して鮮度を総合判定する判定手法を報告している⁶⁾。アンモニアについては、腐っているものをチェックするだけにとどめ、1.0 mg/l以上の場合には異臭も強く感じられるので生食不可とし、それ以上の場合にのみSDHとpHで総合判定を下すようにした。相乗平均を用いたのは、経験的に熟練者の官能試験結果とよく対応することを認識していた事による。

本報では、これらを改良し、ファジィ推論^{7,8)}を応用して、メンバシップ関数に変換した。その結果を図5に示す。アンモニアについては分析データと鮮度との相関が明確となっているので、大ざっぱな三角型メンバシップ関数を配し、分析精度が鮮度に微妙な影響をもつSDHやpHについては図5に示す7つの三角型メンバシップ関数とした。

図4 相乗平均を用いる生カキの鮮度判定とその判定基準(文献6による判定手法)

そして、

IF $\text{NH}_4^+ = \text{S}$ and $\text{pH} = \text{NM}$ and $\text{SDH} = \text{NM}$
 THEN

$Fr = \text{NM}$

IF $\text{NH}_4^+ = \text{S}$ and $\text{pH} = \text{PB}$ and $\text{SDH} = \text{PB}$
 THEN

$Fr = \text{PB}$

ここで NH_4^+ はアンモニア濃度、SDH はコハク酸デヒドロゲナーゼ活性、 Fr は鮮度(Freshness)

となるよう、熟練者の経験則をもとにして後件部のファジイ規則を種々設定した。その規則について表1に示す。これはあくまで広島地区の熟練者の経験にもとづくもので、他の地域での規則は異なる可能性はある。さらに、管野の推論法¹⁷⁾に準じて、重みづけ平均を求め、これを0-100点の点数表示で鮮度が出力されるようにした。

表2に、昭和63年度、スーパーや魚屋の店頭で実際に売られている生食用および加熱調理用の生カキ6点に付き、熟練パネラー5人による官能検査(1~5点)の結果と、それらの生カキの相乗平均による評価(図4参照)およびファジイ推論による評価の結果をまとめて示す。カキ試料No4については、水揚げ後ただちに製品化(袋づめパック)したもので、官能検査結果も満点で、相乗平均法、

図5 ファジイ推論による生カキの鮮度判定のためのメンバーシップ関数

ファジィ推論法とも満点を示しよく一致している。試料6については、加熱調理用のやや古いものであるが、パネラーの官能検査結果はややばつており、ファジィ推論による判定は、相乗平均法よりも少し高い点となり、より熟練者の官能検査結果に近い点を示した。

この結果を散布図にまとめると図6のようになり、相乗平均法が相関係数 $r=0.829$ であるのに対し、ファジィ推論法では $r=0.936$ と極めて高い相関を示し、生カキの鮮度判定にファジィ推論法を応用することが有用であると示唆される。すなわち、熟練者にとってもややあいまいな鮮度判定が、ファジィ推論の応用により、相乗平均法のように一定の基準に当てはめて判断するよりも、判断基準がより平滑化されているために、このよ

うに高い相関関係が得られるものと考えられる。

次に、同様の試験を、未熟で不作といわれる平成2年度の生カキについても行った。それらの結果も表2にあわせて示すが、パネラー A-E は63年度の A-E とは全く別の熟練者グループである。試料10は買ってから4日、室温(15~20℃)に放置したもので、いずれも悪い評価を示した。試料12は、水揚げ後ただちに製品化されたものであり、いずれも高いスコアを示した。これらの結果を散布図にして図7に示す。この場合も、図6の結果同様、相乗平均法よりもファジィ推論を用いたほうが、相関係数が高く、評価法としてよりすぐれている事を示している。 $r=0.902$ は図6に示す $r=0.936$ と比較するとやや低いが、十分鮮度判定の目的は達せられるものと思われる。

表1 鮮度(Fr)判定のためのファジィ規則($\text{NH}_4^+=\text{S}$)

Fr		SDH							
		NB	NM	NS	ZO	PS	PM	PB	
PH	NB	NB	NB	NM	NM	NM	NB	NB	
	NM	NB	NM	NS	NS	NS	NM	NM	
	NS	NB	NM	NS	NS	NS	NS	NS	
	ZO	NM	NS	NS	ZO	PS	PS	PM	
	PS	NB	NS	PS	PS	PS	PM	PS	
	PM	NB	ZO	PS	PS	PS	PM	PM	
	PB	NB	ZO	PM	PM	PM	PB	PB	

SDH : コハク酸デヒドロゲナーゼ活性 ; Fr : 鮮度

表2 生カキの鮮度判定(相乗平均法およびファジィ推論法)と官能検査との比較

		生カキ試料(昭和63年度産)						生カキ試料(平成2年度産)					
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
パソコン判定													
相乗平均法	(点)	45	89	89	100	0	0	20	0	63	0	100	100
ファジィ推論法	(点)	12	80	84	100	21	9	40	9	22	0	75	100
官能検査													
パネラー	A (点)	1	4	5	5	2	2	3	3	3	1	4	5
	B (点)	1	4	5	5	2	2	4	4	2	1	4	5
	C (点)	2	3	4	5	2	3	4	3	3	1	4	5
	D (点)	2	3	4	5	2	2	4	1	3	1	5	5
	E (点)	2	4	5	5	1	1	3	3	2	1	5	5

1, 5 : 特選品 ; 4, 11, 12 : 水揚げ後ただちに製品化(パック) ; 10 : 購入後、4日室温にて放置後検査

図6 相乗平均法とファジィ推論法を用いたパソコンによる鮮度判定と官能検査の相関(昭和63年度)

図7 相乗平均法とファジイ推論法を用いたパソコンによる鮮度判定と官能検査の相関
(平成2年度)

しかも、昭和63年度と平成2年度の生育環境の異なる生カキについて、ともに本手法が適用する可能性を見いだしたことは、本手法、特にファジイ推論を応用した鮮度判定法が普遍的で客観的といえることを示唆しており興味深い。

最近、日本酒醸造業界で、熟練者が不足し、それを補う一つの試みとして、ファジイ推論を応用したファジイエキスパートシステムによる酒造技術⁹⁾も開発されている。カキ業界でも同様に近年熟練者が不足し、若者のカキ離れが進んでおり、本手法のように10~30年の経験にもとづく感覚がファジイ推論を応用することでたくみに表現することは意義あることと考えられる。

7. 結言と今後の課題

生カキの鮮度判定に際し、カキのエラのSDH活性の測定法を改良、簡便化し、さらに体液のpHおよびアンモニア濃度を加味した三つの生化学的指標を用い、これにファジイ推論を応用する事で鮮度を客観的にかつ迅速(15-20分)に評価することが可能となった。判定結果は100点満点で表示され、熟練者の官能検査とよく相関することが認められた。

尚、本手法は広島地方(広島、呉、尾道地区)の熟練者の経験を基にして、鮮度指標とメンバシ

ップ関数を定めたもので(エキスパートシステム)、本手法がただちに全国の生カキの鮮度判定に適用しうるとは限らない。したがって、現在、全国の生食用カキのSDH、pHおよびアンモニアの分布を調査し、熟練者の官能試験との関係を検討しており、今後は全国の生カキの鮮度判定に対処するようなシステムの開発を検討中である。また、本手法はSDH活性の測定にやや専門的技術を必要とし、所用時間もやや長いので、これを自動化し10分以内に判定が下せるように検討を行っている。

また、本手法は生カキばかりでなく他の貝類(赤貝等)鮮度判定に適用可能である。さらにアコヤ貝の活性評価に応用し、健全な真珠育成の為の管理手法としてもちいる事も可能で、今後、この方面の研究進展も期待される。

謝 辞

本研究を遂行するに当たり種々御教示頂きました広島県食品工業技術センター 角 隆興氏に深謝いたします。

また、本研究は財団法人マツダ財団および広島県産業技術振興機構の助成を得て行われたものであり、深謝いたします。

参 考 文 献

- (1) 野本、大野：鮮度測定用酵素センサーの測定精度と鮮魚商品のK値測定への応用、日本食品工業学会誌、Vol.34 No 9, pp 598-602(1987)
- (2) 軽部：バイオセンシング、啓学出版、pp 143-149(1988)
- (3) 角田、井上、青山、伊藤、立花、長谷部：テトラゾリウム塩を用いたカキの脱水素酵素の簡易比色定量法、食品衛生学会誌 Vol.26 No 3, pp 229-233(1985)
- (4) 角田、井上、青山、長谷部：テトラゾリウム塩を用いた貝類の脱水素酵素活性の簡易比色定量法の改良、食品衛生学会誌、Vol.27 No 5, pp 487-491(1986)
- (5) 浜岡、佐々木：ファジィ推論を応用した広島カキの鮮度判定、第一回ワークショップ 新分野へのファジィ応用、日本ファジィ学会、pp 14-15(1991)
- (6) 佐々木、浜岡：生カキの鮮度判定センサーシステムの開発、日本発酵工学会平成元年度大会講演要旨集、日本発酵工学会、pp 72(1989)
- (7) 菅野：ファジィ制御、pp 74-90、日刊工業新聞社(1988)
- (8) 寺野、浅居、菅野：応用ファジィシステム入門、pp 1-215、オーム社(1989)
- (9) 土屋、小泉、末成、手島、永井：広島杜氏のもろみ管理のファジィ規則化とファジィシミュレーターの構築、日本発酵工学会誌、Vol.68, No 2, pp 123-129(1990)

(1991年5月27日 受付)

[問い合わせ先]

〒739-03 広島市安芸区中野6丁目20-1
 広島電機大学化学教室
 佐々木 健
 ☎：082-893-0381(内線)2288
 ☎：082-893-3447

著 者 紹 介

浜岡 尊 (はまおか たかし)

広島電機大学 電子工学科

昭和24年名古屋大学電気工学科卒業、秋田大学鉱山学部助教授をへて日立製作所システム事業部勤務。昭和57年より広島電機大学電子工学科教授、現在電子工学科情報コース主任教授、工学博士、専門はシステム工学。

佐々木 健 (ささき けん)

広島電機大学 化学教室

昭和47年広島大学工学部発酵工学科卒業、辰馬本家酒造勤務後昭和50年より広島大学大学院工学研究科修士、博士課程終了(工業化学専攻)、55年より広島電機大学化学教室講師をへて現在助教授、工学博士、専門はバイオマス変換および水処理工学。