

鮮魚および肥育牛の目を用いた食品情報



こんどう・なおし
京都大学農学研究科修士課程農業工学専攻修了，岡山大学農学部助手，助教授，石井工業(株)，愛媛大学工学部教授等を経て，現在，京都大学農学研究科・生物センシング工学分野 教授・農業食料工学会会長。博士（農学）

近藤 直

● 1. はじめに ●

「目は口ほどにものを言う」ということわざは有名であるし，目の健康状態とルテイン，アントシアニン，各種ビタミン等の栄養との関係もよく知られている。京都大学農学研究科生物センシング工学研究室では，魚や牛の目をマシンビジョンや分光分析で簡便に検査し，その新鮮さや健康状態を計測する研究を行ってきた。縁あって本シリーズ「食品の非破壊評価技術」で，その概要を披露する機会を頂いたため，ここに紹介する。

● 2. 魚の鮮度計測 ●

水産物の品質に関しては現在までに多くの研究報告があり，その中でも魚の鮮度は最も重要であるため，これまでにいくつかの装置が開発されている。その代表的なものには，物理学的方法，化学的方法，細菌学的方法，組織学的方法があり，それらの多くは腐敗を目安にしている。その中でも K 値による判定はよく知られており，それは魚類の筋肉中のアデノシン三リン酸 (ATP) の分解過程を数値化したものである。しかし，その方法は実際に魚肉を採取することが必要であり，かつ作業に時間を要するため，実際の現場で全数検査することは困難である。そこで，非破壊で短時間計測可能な方法が望まれているが，まだ実用的に使

用可能な計測装置は開発されていない。調理現場では短時間で手間のかからない非破壊計測技術が望まれることより，マシンビジョンによる方法あるいは分光学的な方法がまず候補として挙げられる。ここでは，魚の目の構造変化および眼液の分光学的変化を中心に言及する。

2-1 K 値と魚の目の死後変化

K 値は斎藤 (1990) らによって提唱された鮮度指標¹⁾で，よく使用される魚の鮮度評価法の 1 つである。これは魚肉中の ATP 分解過程を指標化したもので，式 (1) で算出される。

$$K(\%) = \frac{HxR + Hx}{ATP + ADP + AMP + IMP + HxR + Hx} \times 100 \quad (1)$$

ここで，ADP はアデノシン二リン酸，AMP はアデノシン一リン酸，IMP はイノシン酸，HxR はイノシン，Hx はヒポキサンチンである。本報では，この K 値を鮮度の基準とする。

瞳孔の散大・収縮は瞳孔括約筋と瞳孔散大筋によって制御されているが，魚では括約筋の方が支配的であることが知られている。従って魚は死後，瞳孔括約筋が硬直し，瞳孔は収縮すると考えられる。また，虹彩にある色素胞は細胞内に色素物質を含んだ色素顆粒を有しており，この色素顆粒を中心に凝集させたり，外側へ拡散させたりすることでその色を変えられる (第 1 図)。色素胞の中でも特に黒色素胞の研究が進んでおり，Saima らに

よると黒色素胞の凝集・拡散は平滑筋細胞の収縮・弛緩のメカニズムと酷似している²⁾。よって虹彩表面に存在する黒色素胞の色素顆粒は、筋肉の死後硬直と同様のメカニズムで凝集すると考えられる。一方、筋肉細胞内のATPは死後硬直開始後に減少し、ATPの消失と共に解硬することから、瞳孔の収縮と黒色素胞の収縮はK値と関係があると考えられる³⁾。

また、眼球は眼液で満たされており、魚の死後、眼液中に血が混入したり、バクテリアによって性質が変化すると考えられる。そこでマシンビジョンで魚の目を画像入力して瞳孔および色素胞を観察すると同時に眼液の吸光度の変化を計測した。

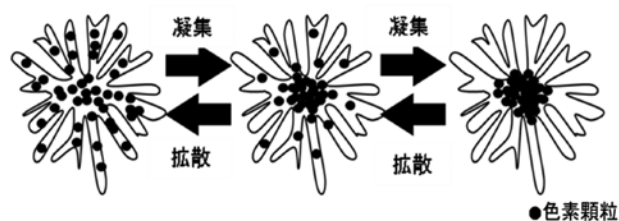
2-2 供試材料と画像入力装置

第2図には供試材料として用いた標準体長9.9～12.6 cmのウグイ (*Tribolodon hakonensis*) ならびに画像入力装置を示す。魚体の死後の乾燥による変化をできるだけ抑えて同じ条件で画像入力するため、温度は20℃または4℃、湿度95%で貯蔵した。また、画像入力時には供試魚の下にスポンジを敷き、塩化ビニル製の配管蓋を加工したもので魚を上から押さえ固定した。さらに、鏡面反射によるハレーションを防ぐため、光路に2枚の偏光フィルタを配置した。

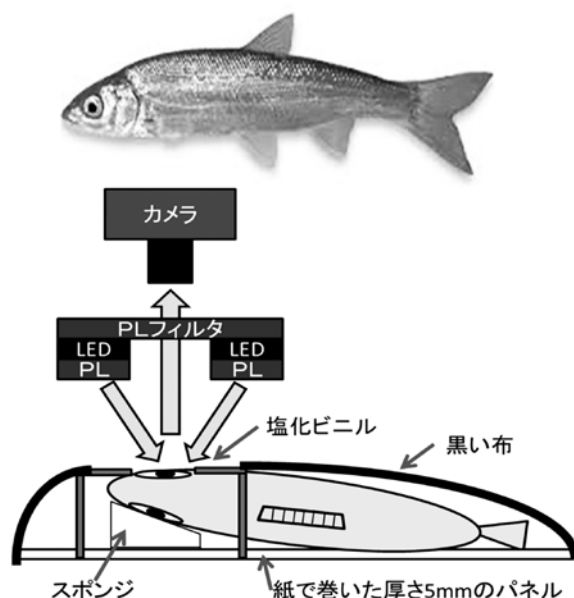
2-3 瞳孔および色素胞の変化

20℃で貯蔵した場合、死後直後から3時間は過半数のウグイの瞳孔が散大し、その後約24時間、瞳孔は収縮した(第3図)。4℃で貯蔵した場合、死後直後から3日間の間、瞳孔は収縮し、その後大きな変化は見られなかった。尾藤ら(1983)が死後硬直の指標として提案した硬直指数の死後経時変化⁴⁾によると、20℃では死後6時間に、4℃では死後1日に硬直し始めた。この結果から、20℃において死後直後から死後3時間まで瞳孔が収縮しなかったのは、死後硬直前の反応ではないかと考えられた。

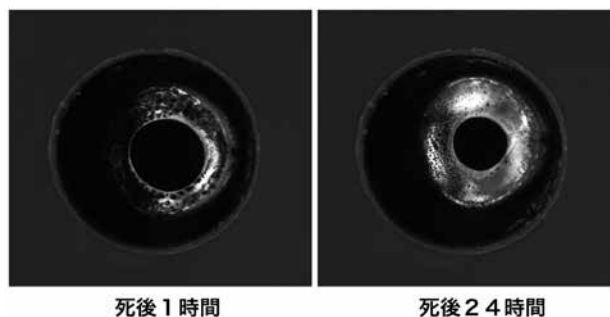
虹彩上の黒色素胞も同様に、20℃で貯蔵した場合、死後直後から3時間は拡散し、その後21時間



第1図 色素胞の運動

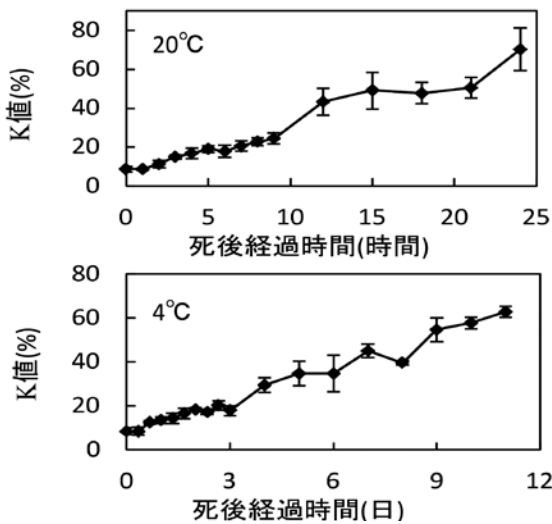


第2図 供試したウグイ (上) と画像入力装置 (下)

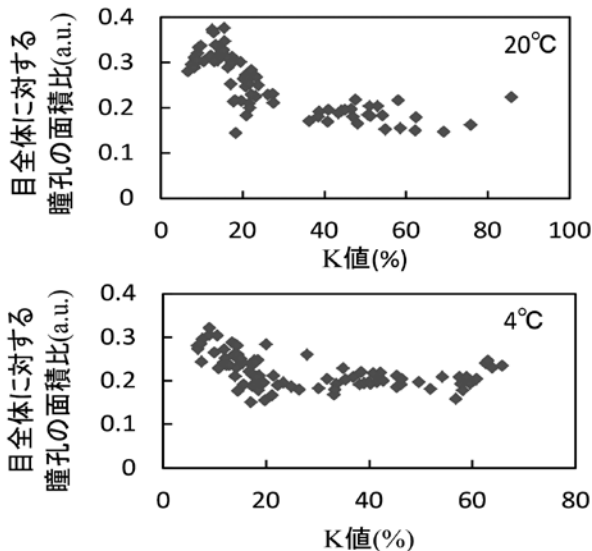


第3図 貯蔵温度 20℃における瞳孔および色素胞の変化 (カラー写真をHPに掲載 C066)

まで凝集する様子が観測された。第3図からも虹彩上の黒色素胞が少ないことがわかる。21時間から30時間までは大きな変化はなかったが、30時間頃から36時間にかけて、半数のウグイの黒色素胞が拡散した。また4℃で貯蔵した場合、死後直後から3日目まで収縮し、その後拡散した。この



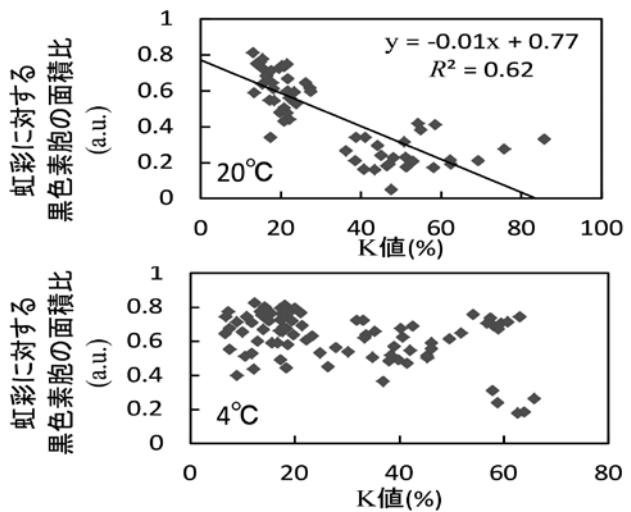
第4図 ウグイのK値の死後経時変化



第5図 ウグイの目全体に対する瞳孔の面積比

理由の1つとして20°Cに比べ4°Cでは時間経過と共に水分が減少し、虹彩の陥没が著しくなり、その表面積が増加したことが挙げられる。

第4図にはそれぞれの温度でのK値の変化を、第5図にはそのK値と目全体の面積に対する瞳孔の面積比との関係を示す。20°CではK値が0～30%の範囲である程度の負の相関があった ($R^2=0.51$) が、K値が30%以上になると瞳孔はそれ以上大きく収縮しないことがわかる。4°Cでも同様の傾向が観察され、K値が0～20%程度まではある程度の負の相関があった ($R^2=0.47$)。この期間



第6図 ウグイの虹彩に対する黒色素胞の面積比

は自己消化によってK値が増加する期間であり、小関ら (2006) の報告⁵⁾ によると筋肉細胞内のATPが消失する期間とされている。この時間帯はATPの消失により、瞳孔収縮が終了し、死後硬直が始まるときとも考えられる。

第6図にはK値と虹彩面積に対する黒色素胞の面積比との関係を示す。20°Cの条件では、瞳孔の結果と同様に死後3時間程度まで黒色素胞は拡散し、その後K値が60%程度になるまで収縮を続けた。死後3時間以降の範囲ではK値と負の相関があった ($R^2=0.71$)。4°Cの条件ではK値が40%にかけてやや減少したりその後若干増加したりしたが、60%付近では0.2と0.8付近に二極化する傾向が観察された。その原因として、バクテリアの増殖が20°Cに比べて低いK値で生じたため、前述したように虹彩が脆弱化して陥没し、形状による変化が起きたことが挙げられる³⁾。

2-4 眼液の吸光度の変化

古くから魚の眼球中の眼液と鮮度には深い関係があると言われていることより、紫外から可視領域においてその吸光度を調べ、K値と比較した。168尾のウグイから4尾ずつ選び、その両目から眼液を抽出し、気温20°C、湿度90%の環境下で、死後3時間おきに36時間まで波長250～600nmの領域の吸光度を計測した。その結果、第7図に

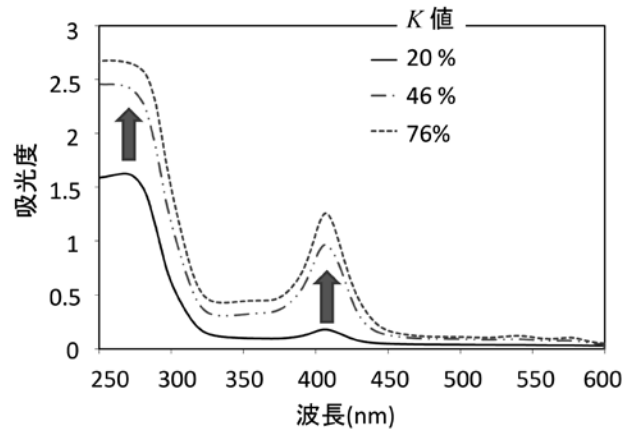
示すように、 K 値が経過時間と共に上昇するに従い、波長280 nm ならびに410 nm 付近の吸光度が急激に高くなった⁶⁾。

さらに蛍光分光光度計で測定したところ、**第8図**のように芳香族アミノ酸や尿酸による4つの蛍光ピークが確認できた。3時間ずつ貯蔵時間を変えたウグイを供試して経時変化を分析したところ、芳香族アミノ酸によると思われる蛍光強度は強弱を繰り返し複雑な挙動を示したのに対し、尿酸によると思われるピークは貯蔵18時間までは線形的に、それ以降は指数関数的に上昇し、それぞれ $R^2=0.90$, $R^2=0.96$ と高い相関を示した。

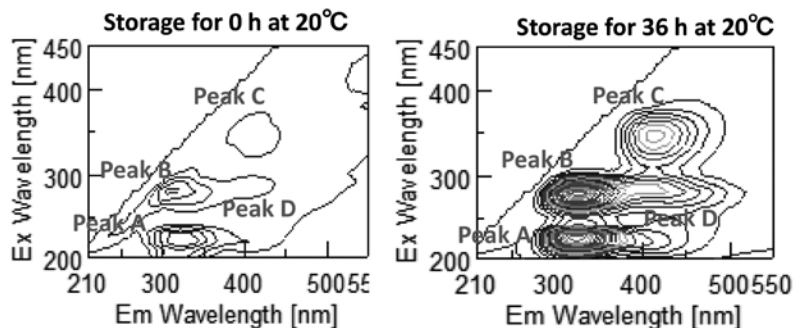
また HPLC で尿酸を定量したところ、貯蔵24時間後には開始直後の試料の10倍以上に増加していることが確かめられた。これらは細菌の影響によるものと考えられるが、眼液中の尿酸の蛍光は鮮度評価に有用であると考えられた⁷⁾。このように可視領域のマシンビジョンからの情報、眼液の紫外吸収、可視蛍光等の情報からも魚の変化を知ることがある程度可能で、 K 値とも相関を示したことから、それらを多変量解析やニューラルネットワーク等の手法で総合的に推定すると実用的に利用できるものになると予測された。

● 3. 肥育牛のセンシング ●

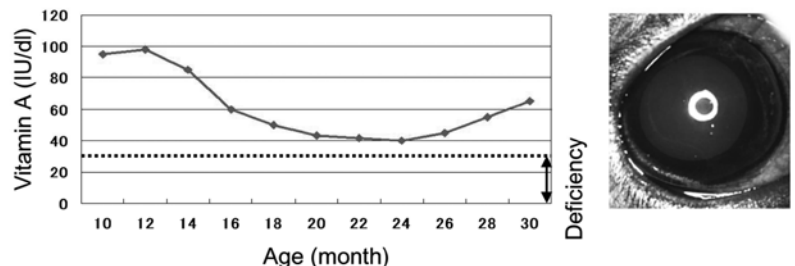
畜産においては、適切な給餌が最重要の課題であり、日本の肥育牛農家においては、霜降り肉等の高品質な牛肉生産のため、**第9図**のように月齢に応じた血中ビタミンA濃度を制御する給餌方法を採用している（以下ビタミンAをVit.Aと称する）。しかし、Vit.Aが適正に制御できないことも多く、Vit.Aが欠乏した場合には、食欲低下、筋肉水腫や失明等の欠乏症になることも少なくない。そのVit.A濃度モニタリングのための血液検査は各農家の労働力および金銭的負担、



第7図 ウグイの眼液の吸光度 (カラー写真をHPに掲載 C067)



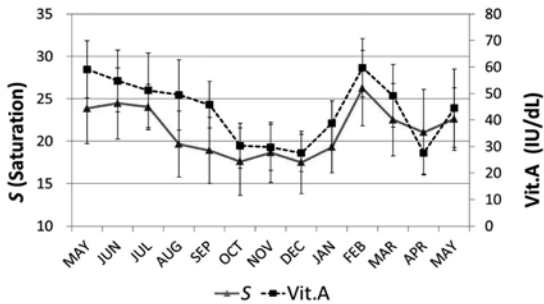
第8図 ウグイの眼液の蛍光ピーク (カラー写真をHPに掲載 C068)



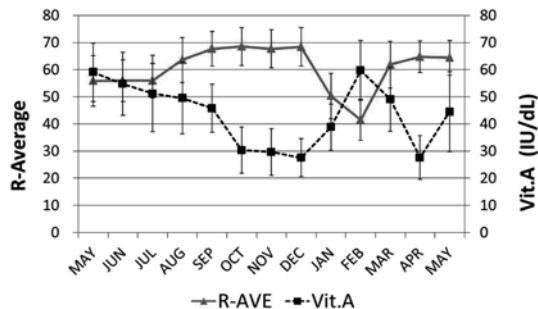
第9図 肥育牛のVit.A制御の一例と牛の瞳孔画像 (カラー写真をHPに掲載 C069)

牛へのストレス、検査時間等を考慮すると、実際的な解決方法とは言えない。そのため短時間で非侵襲なセンサが切望されているものの、現在まで実用的な装置は開発されてなく、肥育牛の目に光を照射し、10～12秒後の瞳孔反射速度（瞳孔収縮速度）を計測した報告⁸⁾のみに留まっている。

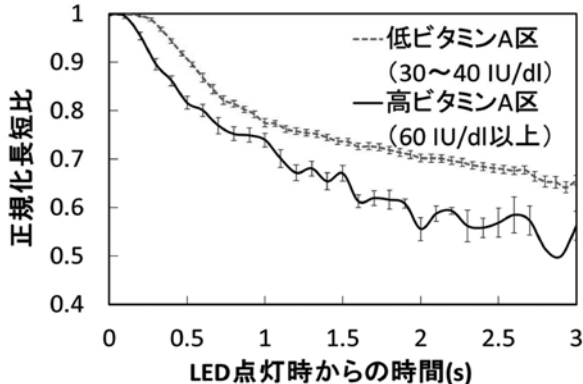
そこで、当研究室では肥育牛の瞳孔から得られる情報に基づいたVit.Aの推定装置の開発を最終目標とし、マシンビジョンを用いた研究を行ってい



第10図 彩度とビタミンAの推移



第11図 赤色成分とビタミンAの推移



第12図 光照射後の瞳孔の長径に対する短径の比⁹⁻¹³⁾。その画像から得られる特徴量は眼球表面での光反射強度、照射光が瞳孔を通過後、眼底の輝板で反射、散乱した色、および光照射後1秒程度間の瞳孔収縮スピードの3つである。参考までに、第9図(右)には、カメラに白色リングLEDを装着した計測装置で入力した肉牛の瞳孔画像の一例を示す。それを基に3つの特徴量を考察した結果の概要について記す。

3-1 眼球表面での光反射

第9図(右)のように、眼球表面ではリングLEDの鏡面反射が観測される。そのハレーション(白く抜けたリング状の部分)を取り除き、その周囲

の画素の彩度を取ると、第10図に示すようにVit.A濃度に追従する傾向が見られた(42頭の黒毛和種)。このとき、明度が高くなるほど白っぽくなり、彩度は低下することが観察されたため、Vit.A濃度と眼球表面での光反射強度の間には負の相関があることになる。この理由として、Vit.A濃度が低下すると眼球乾燥を引き起こし、眼球表面での散乱強度が増すことが挙げられる。

3-2 瞳孔の色

第11図にはVit.A濃度と瞳孔色の赤色成分の推移を示す。これよりVit.A濃度と赤色成分の値の間には高い負の相関があることがわかる。逆に、青成分の値には正の相関が見られた。これはVit.A濃度の高い牛は輝板(網膜の一部)の色が鮮やかな青色であるのに対して、Vit.A濃度が低下すると、白あるいは黄色っぽく変化し、視神経乳頭には赤色の浮腫が見られるようになることもあるためと考察された。

3-3 光照射後の瞳孔収縮

短時間で瞳孔収縮の反応を見るために、光照射後の収縮率を瞳孔の長径および短径の比で評価した。第12図には光照射後3秒間の正規化した長短比を示す。これより血中Vit.A濃度が低くなるにつれて収縮開始時間が遅くなり、長短比は低くならない傾向が示された。Vit.A濃度と収縮開始時間の間には相関係数 $r=-0.574$ が、 $0.4 \sim 0.6$ 秒で計測したときの瞳孔の長短比の変化量との間には $r=0.724$ が得られた¹⁴⁾。

本技術を実用化するにあたっては、個体識別した上でカメラにより頻繁にデータ計測し、継続的な変化を反映可能なモデルを作成し、その誤差や牛個体ごとのばらつきを補正したVit.A濃度の推定を行うことが必要である。これらのデータは、農家の収入に関係の深い肥育牛の品質と給餌を適正にコントロールするもので、血中Vit.A濃度のデータは精密肥育のために最重要のデータとなる。この他、体重、体温、環境(温度、湿度、日射量等)、行動等の計測データも含め蓄積することに

よって、肥育農家がそれぞれの牛のばらつきを把握し、最適な管理を可能とする情報化が望まれる。

●4. おわりに●

多様で複雑な生物を適切にセンシングすることは、作業の機械化、自動化を可能とすると同時に、正確な情報収集によって最適な作業、高品質、高収量生産を可能とする。特に目からの情報は他の部位と同等あるいはそれ以上に有用なデータを含んでいることも多い。水産、畜産において最も重要な作業は給餌であり、農業における施肥に対応しており、生産物の収量、品質、コスト、さらには農家の利益に直結する。しかし、生物はそれぞれがばらつきを有していることから、そのばらつ

きに応じた個体管理ならびにセンシングをすることが重要であり、多種多様な生物そのものの特性を理解することが将来の精密水産、精密畜産につながる。

光は非侵襲で迅速に計測可能であることから、今後生物を対象とした光センシングの手法はさらに利用が拡大すると予想される。近年、画像、分光技術は重要な基盤技術として安価になってきたが、精密な計測には適さない第一次産業の悪環境条件もある。今後は、高口バラスト性、高解像度、変動要因に対する調整機能等によって、それらの困難さや生物のばらつきを克服し、人の目ではとらえられない情報や現象を正確に蓄積可能なシステムの構築が「安心、安全な食」の確保のために望まれる。

参 考 文 献

- 1) 斎藤 恒行, 榎本 則行, 松吉 実 (1959), 魚類鮮度の一新判定法, 日本水産学会誌, **27**(9), 461-470
- 2) Saima S, Sharique A (2012), Melanophores: Smooth Muscle Cells in Disguise, Current Basic and Pathological Approaches to the Function of Muscle Cells and Tissues, Molecules to Humans, 133-158
- 3) 白瀧優莉 (2016) 目の画像を用いたウグイ(Tribolodon hakonensis)の鮮度評価, 2015年度京都大学農学研究科修士論文
- 4) 尾藤方通, 山田金次郎, 三雲泰子, 天野慶之 (1983), 魚の死後硬直に関する研究 - I. 改良 CUTTING 法による魚体の死後硬直の観察, 東海水研報, 109, 89-96
- 5) 小関美, 北上誠一, 加藤登, 新井一 (2006), 魚介類の死後直と鮮度(K値)の変化, Journal of The School of Marine Science and Technology, Tokai University, **4**(2), 31-46
- 6) Rahman, A, N. Kondo, Y. Ogawa, T. Suzuki, Y. Shirataki and Y. Wakita (2015) Prediction of K value for fish flesh based on ultraviolet-visible spectroscopy of fish eye fluid using partial least squares regression. Computers and Electronics in Agriculture **117**: 149-153
- 7) Liao Quihong (2017), Fluorescence Spectroscopy Prediction of Fish Freshness, 2017年度京都大学農学研究科修士論文
- 8) 松田敬一 (2008) 血中ビタミンA濃度の簡易推定法, 養牛の友 393:52-55
- 9) Noriko Takahashi, Naoshi Kondo, Nguyen Quoc Tuan, Shoichi Mano, Tomoo Shiigi, Hiroshi Shimizu, Moriyuki Fukushima, Fumiyuki Iwaki, Osamu Watanabe, Kazuyuki Fukuzono, Mamoru Nakano(2010), Serum Vitamin A Level Measurement in Slaughtered and Live Cattle Using Multispectral Imaging, EAEF **3**(2): 42-46
- 10) Noriko Takahashi, Naoshi Kondo, Osamu Watanabe, Moriyuki Fukushima, Fumiyuki Iwaki, Nguyen Quoc Tuan, Kazumi Yoshida, Tomoo Shiigi, Yuichi Ogawa, Kazuyuki Fukuzono and Mamoru Nakano (2011), Effects of Serum Vitamin A Level on Tapetum in Japanese Black Cattle Eye, EAEF **4**(4): 126 - 130
- 11) S. Han, N. Kondo, Y. Ogawa, S. Mano, Y. Takao, S. Tanigawa, M. Fukushima, O. Wawanabe, N. Kohama, H. T. Kim, T. Fujiura(2013), Estimation of Serum Vitamin A Level by Color Change of Pupil in Japanese Black Cattle. EAEF **6**(4) 177-183
- 12) Shinya Tanigawa, Naoshi Kondo, Yuichi Ogawa, Tateshi Fujiura, Han Shuqing, Yoshie Takao, Moriyuki Fukushima, Osamu Watanabe, Namiko Kohama (2011), The relationship between serum vitamin A level of Japanese black cattle and light reflection on the pupil ,IEEE/SICE International Symposium on System Intergration SII, CDROM Proceedings
- 13) 森迫龍也 (2015), 黒毛和種における精密畜産のための瞳孔画像自動入力装置の試作と評価, 2014年度京都大学農学研究科修士論文
- 14) 増本忠久 (2018), 自動撮影装置を用いた瞳孔収縮の計測による黒毛和種の血中ビタミンA濃度推定, 2017年度京都大学農学研究科修士論文