

Title	清酒発酵プロセスにおける官能特性の最適化制御
Author(s)	松浦, 一雄
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3110224">https://doi.org/10.11501/3110224</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

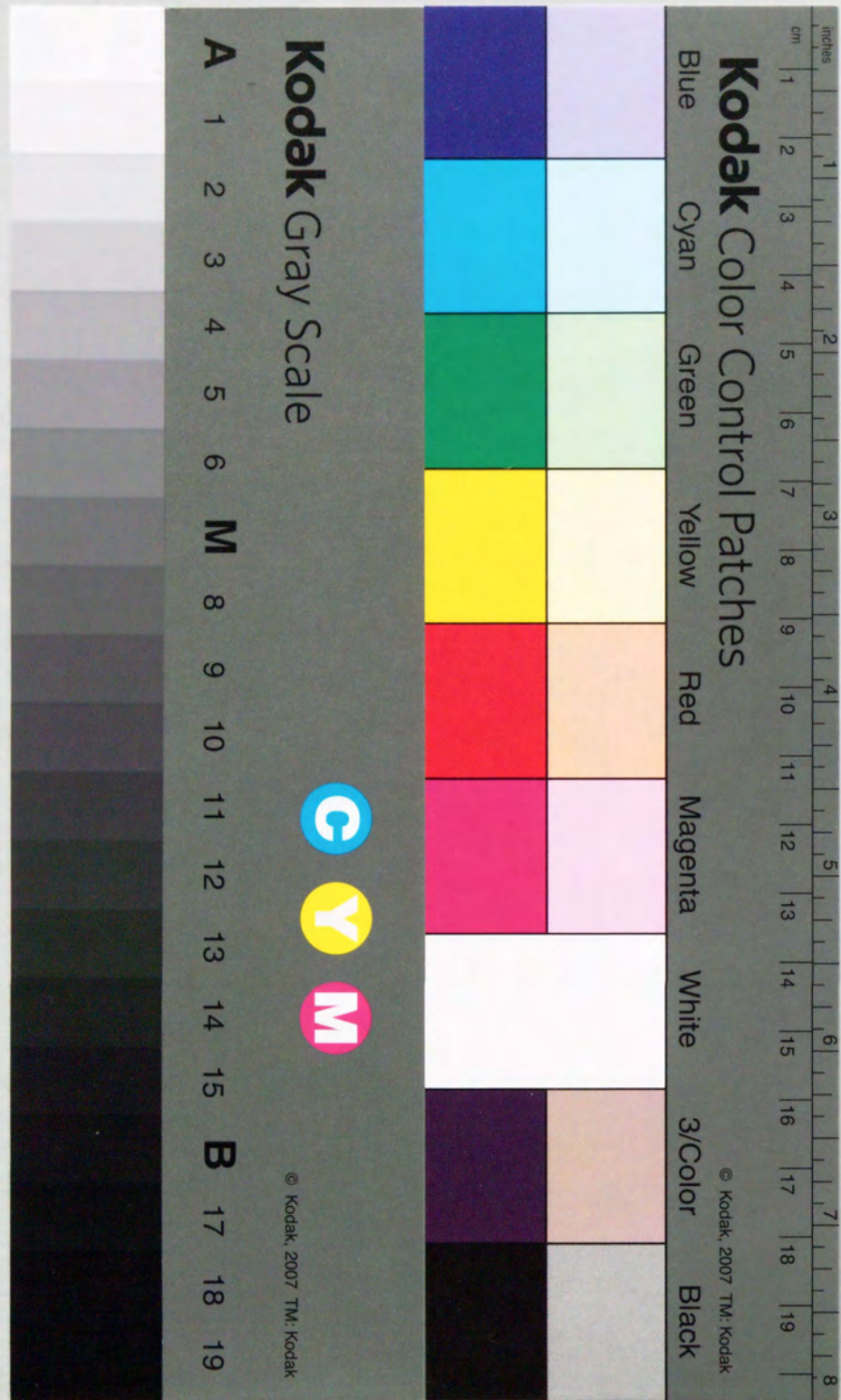
Osaka University



# 清酒発酵プロセスにおける 官能特性の最適化制御

1995年

松 浦 一 雄





①

清酒発酵プロセスにおける  
官能特性の最適化制御

1995年

松浦一雄



目次

序論

はじめに -----1  
既往の研究 -----4  
1)制御目標の変遷 -----4  
2)清酒の制御に導入された制御手法および計測技術 -----7  
3)新しい操作手段 -----8  
本論文の構成 -----8

第一章 糖化液を用いた酢酸イソアミル生成のための最適温度制御

1. 1 はじめに -----13  
1. 2 実験材料および方法 -----13  
1. 2. 1 使用菌株 -----13  
1. 2. 2 前培養および発酵条件 -----14  
1. 2. 3 糖化液の調整方法 -----14  
1. 2. 4 分析 -----14  
1. 2. 5 データ解析 -----14  
1. 3 結果と考察 -----15  
1. 3. 1 香気成分の経時変化 -----15  
1. 3. 2 酢酸イソアミルとイソアミルアルコール生成の動力学モデル -----17  
1. 3. 3 酢酸イソアミル生成のシミュレーション -----18  
1. 3. 4 酢酸イソアミル生成の制御戦略 -----21  
1. 3. 5 酢酸イソアミルの最適制御実験 -----24  
1. 4 結論 -----24  
第一章の記号表 -----26

第二章 超音波照射による酵母増殖とエステル生成の促進

2. 1 はじめに -----27  
2. 2 実験材料及び方法 -----27  
2. 2. 1 使用菌株 -----27

2. 2. 2 前培養および使用培地 -----28  
2. 2. 3 酵母の固定化方法 -----28  
2. 2. 4 分析 -----28  
2. 2. 5 超音波振動子および発酵槽 -----28  
2. 2. 6 超音波強度の測定 -----29  
2. 3 結果と考察 -----30  
2. 3. 1 超音波照射による溶存二酸化炭素濃度の減少 -----30  
2. 3. 2 酵母増殖に及ぼす超音波照射の効果 -----31  
2. 3. 3 発酵に及ぼす超音波照射の効果 -----33  
2. 3. 4 酢酸イソアミル生成に及ぼす溶存二酸化炭素濃度の影響 -----33  
2. 3. 5 ビール、ワイン、清酒発酵工程への応用 -----36  
2. 3. 6 酢酸イソアミル生成の最適温度制御への応用 -----37  
2. 4 結論 -----38  
第二章の記号表 -----39

第三章 発酵速度軌道制御による清酒発酵プロセスのオンライン制御

3. 1 はじめに -----40  
3. 2 実験材料および方法 -----41  
3. 2. 1 発酵速度軌道制御 -----41  
3. 2. 2 使用菌株、仕込配合および分析方法 -----43  
3. 2. 3 制御装置 -----43  
3. 3 実験結果 -----44  
3. 3. 1 シミュレーションモデルによる検証 -----44  
3. 3. 2 制御結果 -----46  
3. 4 考察 -----48  
3. 4. 1 本制御方法が成功するための条件 -----48  
3. 4. 2 本制御方法の利点および欠点 -----50  
3. 5 結論 -----51  
第三章の記号表 -----52

第四章 Dempster-Shafer's 測度による清酒中微量成分からの官能評価の推定

4. 1 はじめに -----53  
4. 2 実験材料および実験方法 -----53



4. 2. 1	啤酒サンプルの調製	53
4. 2. 2	官能評価 (啤酒評価)	55
4. 2. 3	啤酒パネラーの選定	55
4. 2. 4	分析	56
4. 2. 5	計算環境	56
4. 3	学習モデル	56
4. 3. 1	重回帰モデル	56
4. 3. 2	ニューラルネットワーク	56
4. 3. 3	Dempster-Shafer's 測度の官能評価への適用	57
4. 3. 4	遺伝的アルゴリズムによる基本確率の割り付けの学習	66
4. 4	結果及び考察	67
4. 4. 1	遺伝的アルゴリズムによるDSの学習曲線	67
4. 4. 2	各モデルにおける学習及び予測能力	68
4. 4. 3	ニューラルネットワークの学習及び予測能力	69
4. 4. 4	DSにおける分布の自由度とGAにおける世代	71
4. 4. 5	清酒発酵プロセスにおける官能評価の推定	73
4. 5	結論	75
	第四章の記号表	75

第五章 遺伝的アルゴリズムを用いたバイオプロセスにおける最適軌道算出

5. 1	はじめに	77
5. 2	実験方法	78
5. 2. 1	最適化問題と二点境界値問題	78
5. 2. 2	使用計算機	79
5. 2. 3	遺伝的アルゴリズム	80
5. 2. 4	中間値突然変異	84
5. 3	結果と考察	85
5. 3. 1	中間値突然変異の効果	85
5. 3. 2	転座の効果と欠点	87
5. 3. 3	二点境界値問題の解	88
5. 3. 4	計算時間	90
5. 3. 5	遺伝的アルゴリズムの問題点	90
5. 3. 6	遺伝的アルゴリズムを用いた発酵速度軌道算出の決定戦略	91
5. 4	結論	91

第五章の記号表	92
---------	----

第六章 遺伝的アルゴリズムによるファジィルールの獲得と清酒発酵プロセスの官能特性の最適化制御

6. 1	はじめに	94
6. 2	実験方法	95
6. 2. 1	仕込み	95
6. 2. 2	制御戦略	96
6. 2. 3	GAによるファジィルールの抽出	96
6. 2. 4	メンバーシップ関数のスケジューリング	99
6. 2. 5	ファジィ推論を用いたシミュレーション	100
6. 2. 6	最適化計算	102
6. 2. 7	フェーズ分割によるルールの分散化学習	103
6. 2. 8	官能評価をシミュレートする微分方程式	104
6. 3	結果と考察	106
6. 3. 1	ファジィ推論によるシミュレーション結果	106
6. 3. 2	メンバーシップ関数のスケジューリングの効果	107
6. 3. 3	最適制御結果	108
6. 3. 4	最適化制御結果	109
6. 3. 5	成分分析値と官能評価	110
6. 4	結論	112
	第六章の記号表	112

総括	114
----	-----

APPENDIX	119
----------	-----

引用文献	120
------	-----

本論文に関する報告	127
-----------	-----

その他の報告	128
--------	-----

謝辞	129
----	-----



序論

はじめに

本章では、清酒の醸造工程が抱える労務問題、そして近年の研究事例を整理することによって、本研究の背景および清酒醸造プロセスにおける制御の問題点を明らかにする。

清酒発酵プロセスの自動制御に関する研究は、主として杜氏と呼ばれる酒造専従者の高齢化と後継者不足をその背景として開始された。杜氏は、清酒製造工程の全てにわたり、その知識と経験によってプロセスを管理してきた。杜氏は農閑期の農家を主体とした季節労働者によって構成されている。Fig. 1は、農家人口の推移を表しているが、その杜氏の供給母体である農家そのものが減少し続けている<sup>1)</sup>。これに伴って、Fig. 2を見ると明らかなように、杜氏および杜氏組合の組合員年齢は上昇を続けている<sup>1)</sup>。また、杜氏を含む季節従業員総数もFig. 3のごとく、減少の一途をたどっている<sup>1)</sup>。このように、杜氏の後継者不足は清酒業界全体の深刻な問題となっている。

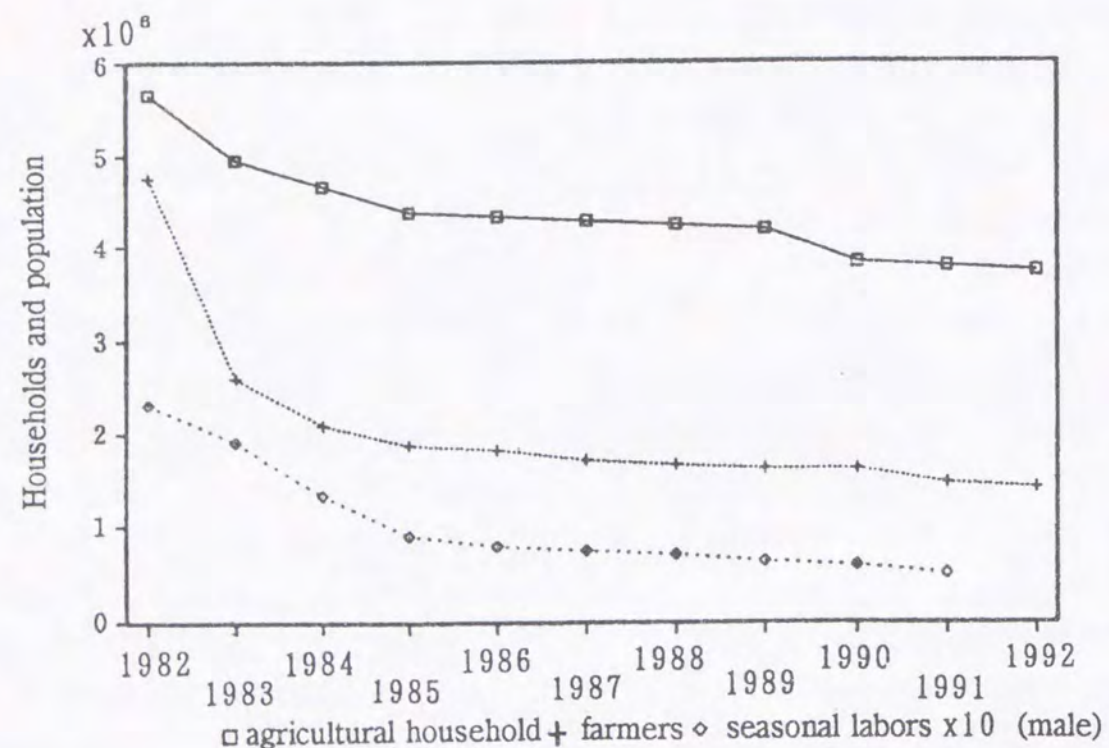


Fig. 1 Change of agricultural population. <sup>1)</sup>

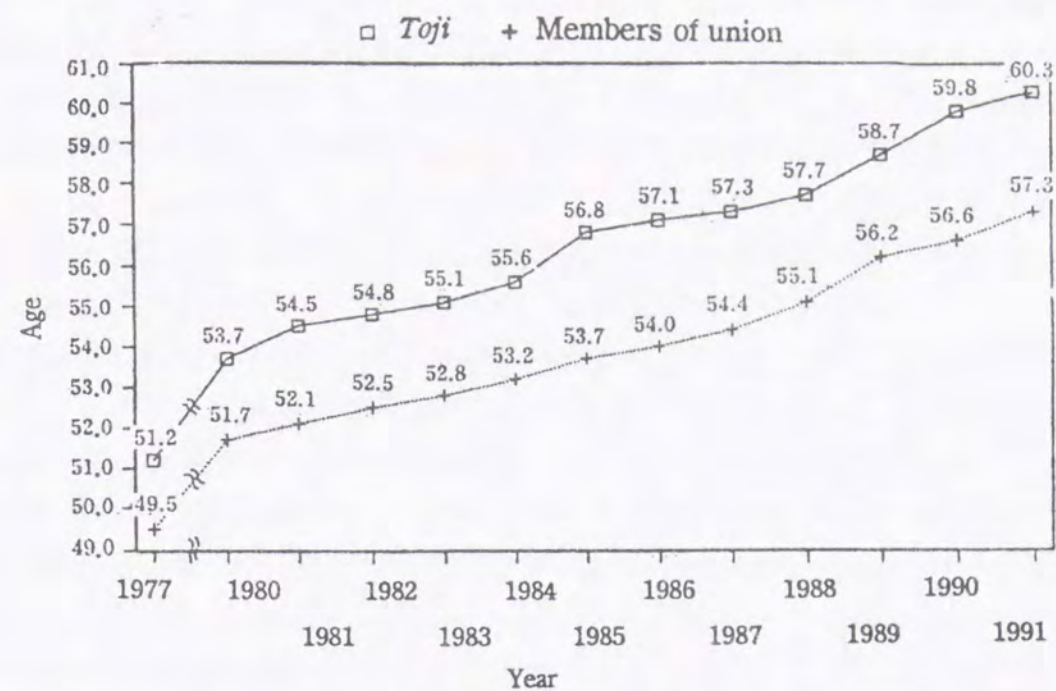


Fig. 2 Change of ages of members in the Toji union of Japan. <sup>1)</sup>

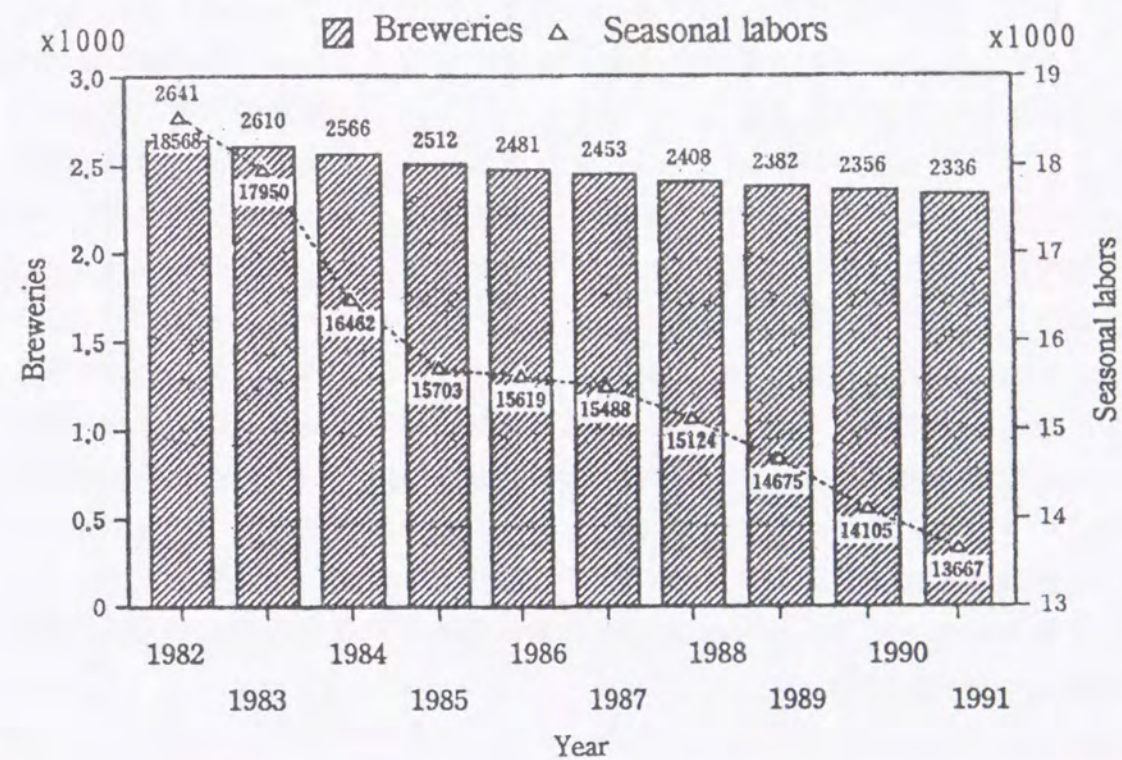


Fig. 3 Change of the number of breweries and seasonal labors. <sup>1)</sup>



一方、大手中堅製造者の比率が高まり (Fig. 3)、このことが多くの清酒製造業者には経営的に無理と考えられていた製造設備へのかなりの資本投下を可能とするようになってきた。しかし、平成4年度の国税庁の調査<sup>2)</sup>では、導入の比較的容易な精米および調合工程へのコンピューター導入の割合は、大手製造場 (2,000 KJ以上) でさえそれぞれ 30% および 45% 程度であった。発酵工程あるいは製麹工程へのコンピューター導入は更に立ち後れていると考えられる。

さらに、平成4年度の日本酒造組合中央会による酒造労務の現況調査<sup>3)</sup>によれば、酒造従業員の1カ月当たりの平均休日数は、僅か 2.6 日となっている。これは、旧来の清酒製造が冬季に集中して行われることから来るもので、その製造期には仕込計画が極めて逼迫している。Fig. 2 で見たように、杜氏の高齢化が進んでいることは述べたが、60 才を越す高齢者の1カ月当たりの休日が3日に満たないのである。さらに、「おやっさん」と呼ばれる杜氏の長ともなればさらに多忙である。清酒の「手作り指向」は、これらの人々によって支えられているのである。この路線は、もう10年と維持できないであろう。このような状況の下で、自社員を育成することによって熟練者を確保し、年間を通じて製造することが当然の帰結となる。以上のように、省人化、省力化を目指して、まず清酒の発酵工程へのコンピューター制御の導入が要請されていた。

しかし、多くの研究者によって、様々な制御手法が試みられてきたにも関わらず、清酒発酵工程の制御の成否の議論が依然としてやまない理由は、結局嗜好品が持つ測定不能な成分の存在によるところが大きい。すなわち、従来の制御に見られるように、アルコール濃度や日本酒度 (ボーメと同義、比重の指標) を発酵終了時点で目標値に制御するのみでは、品質を制御することにはならない。官能評価に影響を及ぼす何らかの指標も制御しなければならないのであろう。杜氏の高度な「手造り」の技に近づくためには、人間が持つ目、耳、鼻、舌、手ざわり (およびカン) などのセンサー情報を、一つでも多く機械的センサーで模倣するか、あるいは少ない情報から推論することになる。ところが、清酒の製造に許容されるコストや清酒の多品種少量化の傾向を見れば、多くのオンラインセンサーを一つのタンクに装備するわけには行かない。また、依然として味や香りを直接測定するセンサーは高価であったり、開発途上にある。現実的なシステムを考えるならば、液体クロマトグラフィーやガスクロマトグラフィーによる味や香りを代表する成分濃度から官能評価 (喇酒評価) を推定することとなる。

著者は、以上のような清酒製造業者がおかれた問題を解決し、現在得られるセンサー情報を使用して、官能評価を推定し、能動的に管理する方法について検討した。

## 既往の研究

以下、既往の研究を、清酒の発酵プロセスにおける制御目標の変遷、研究あるいは応用されてきた制御手法、そして研究されてきた制御手段の3項目に焦点を絞って概観する。

### 1) 制御目標の変遷

清酒発酵工程を制御対象としてとらえる視点は、1960年代から既に見られた。汎用のコンピューターが入手困難であったため、能動的に制御を実行するところまでには至らなかったが、清酒の発酵工程を数学モデルとして表現しようとする試みは多い。鈴木らの酵母の増殖に関する研究<sup>4-8)</sup>、永谷のエタノール生成を推定する方法に関する研究<sup>9)</sup>、高松らのアルコール発酵に関する動力学的研究<sup>10)</sup>などがある。また、永谷は蒸し米基質の糖化溶解機作に関する研究<sup>11)</sup>、清酒醪仕込初期における温度制御戦略についての考察<sup>12)</sup>を速度論をもとに行っている。Nanbaら<sup>13)</sup>は清酒のアルコール発酵において、低温長期醪によって20 V/V%という高濃度に達することに着目し、積算エタノールモデルという新しい概念の数式モデルを提案した。清酒の発酵工程は、米の溶解、糖化、酵母の増殖および発酵が同時並行的に進行するプロセスであるが、布川らはその諸酵素の特性や役割を総合的に速度論的に解析している<sup>14)</sup>。岩野は、これを受けて溶解率を指標とするオフライン制御アルゴリズム<sup>15)</sup>を提示した。また、著者らはこのアルゴリズムを改良し生産レベルで実施した<sup>6)</sup>。

これら十数年のモデル化への研究の後、汎用コンピューターの登場によって制御の実用化も含めた研究が行われ始めた。

#### 1)-1 初期の制御目標

ここで示す研究例は主に発酵プロセスの制御である。清酒を特徴づける味や香りのほとんどがこの発酵プロセスで形成される。

Fig. 4 に示すように、これまでの清酒の制御目標は、アルコール濃度や日本酒度と呼ばれる比重の指標であった。清酒の発酵工程では、蒸米と麴中のデンプンが麴中の酵素によって溶かされながらグルコースが生成し、同時に酵母がグルコースをアルコールに変えている。したがって、アルコール濃度と日本酒度は必ずしも、連動して振る舞うとは限らないため、温度のみを操作することによってそれら为目标値に制御することさえ大きな困難を伴うものであった。加えて、清酒醪は、溶けた



米と発生した二酸化炭素ガスを含む非常に粘性の高い状態にあるため、温度の制御性能が極めて悪く、かつアルコール濃度の応答遅れも非常に長い。その発酵期間は1カ月に及び、プロセスの最初と最後では挙動が激変する非線形性の強いプロセスである。初期の報告<sup>17-19)</sup>に見られる制御目標は主としてこれらアルコール濃度と比重を目標とするものであった。

しかし、この制御目標では、当然清酒中の微量でありながら人間の官能に影響を及ぼす成分の挙動はまったく考慮されていないので、もっと微量な成分にも着目して制御目標に含めるべきだという議論が湧き上がった。さらに、清酒の持つ神秘性を無視して制御手法を導入しようとするれば、製造現場での伝統的な技能集団（杜氏）の反発は避けられないものであった。

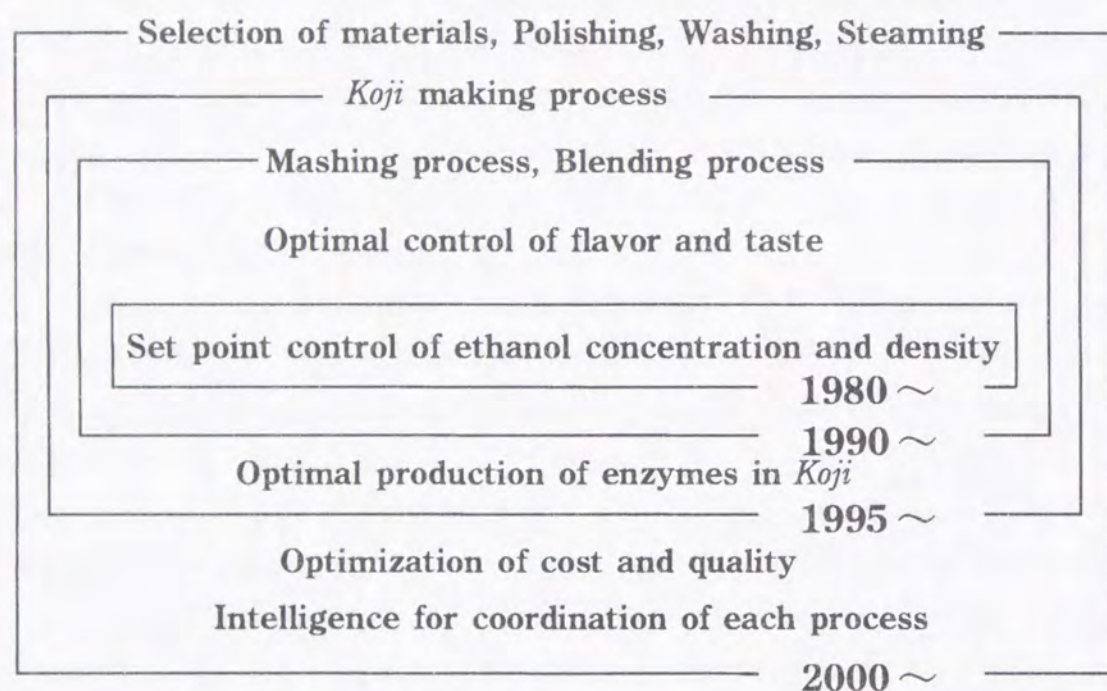


Fig. 4 Progress of the control objects in Sake brewing.

#### 1)-2 後味の制御

大石ら<sup>20, 21)</sup>は、ピルビン酸が、その濃度が高い場合に後味に影響を及ぼすこと、またアルコール添加時にピルビン酸が多いとアセトアルデヒド臭（青臭）を発生させることに着目し、アルコール濃度に加えてピルビン酸を低く押さえることを制御

目標に加えた。ファジィ制御を用い、ピルビン酸を低く押さえることによって嫌みのない軽快な清酒が醸造可能となった。その制御は、液化液と呼ばれるあらかじめ発酵前に酵素製剤で米を溶解する（融米造り）仕込方法による発酵工程に適用された。

この液化液は熱伝導性が良く、アルコールと比重の関係が簡単に推測できるため前述の清酒が持つ多くの問題を解決している。

製造方法自体が新しいために、制御手法を持ち込むことに抵抗が小さいこともあったであろうが、見逃されがちであるのは、土屋ら<sup>22, 23)</sup>、大石ら<sup>20, 21)</sup>の成功はファジィ制御の導入に当たり、製造現場にいる技能集団を納得させる論拠を持っていたことである。すなわち、技能集団の持つノウハウをファジィ制御のプロダクションルールとして保存する、標準化することであった。

#### 1)-3 香りの制御

清酒の品質は味のみならず、香りも重要な要素である。広常ら<sup>24)</sup>は、糖化液（液化液をさらに酵素製剤でグルコースレベルにまで糖化したもの）を用いて、固定化酵母を充填したバイオリアクターによる酒類開発を行ってきた。このバイオリアクターによれば従来の酒造りの期間の10分の1の期間で清酒の製造が可能であり、原料糖化液を供給するだけで連続的に清酒が生産される。

この連続発酵プロセスは、固定化酵母を充填したリアクターとその前に置いた半回分発酵槽からなる。この半回分発酵槽はリアクターへの原料供給槽としての役割と、発酵液の雑菌汚染を防ぐという役割を合わせ持っている。原料糖化液は一日に一度この半回分発酵槽に供給されるが、制御する立場から見れば、その原料投入は系を非常に不安定なものとする。著者は、この連続発酵システムを速度論的に解析し<sup>25)</sup>、二酸化炭素ガスの発生速度を計測し、アルコール濃度を推定する機能<sup>26)</sup>を持たせ、さらに安定して生成酒を得るためにファジィ制御を導入した<sup>27)</sup>。また、固定化酵母を使用しない、多段水平流型バイオリアクターを開発し、実験室規模での実証試験を行い、固定化酵母充填型リアクターよりも高いアルコール生産性を示すことを報告した<sup>28)</sup>。

さらに、商品のコンセプトを満たすために、酒中の香りを増やすための制御が要求された。特に、酢酸イソアミルは清酒に華やかな印象を与える。そこで、第一章で述べるように、発酵終了時点の酢酸イソアミルを最大に生成するような温度軌道を求め、これがアルコール濃度の目標値制御と酢酸イソアミルの最適制御を同時に満たすことが確認された。



## 2) 清酒製造プロセスの運転操作に導入された制御手法および計測技術

柴田は、アルコール生成と二酸化炭素発生量が化学量論的に比例関係にあることに着目して、二酸化炭素ガスの発生量から清酒中のアルコール濃度を推定する手法を検討した<sup>30)</sup>。また、工業規模の屋外タンク深槽部の挙動や温度変動などを調査した<sup>31)</sup>。中川らは、導電率の計測によってアミノ酸と糖類および酸度のバランスを知る指標となりうることを示唆した<sup>32)</sup>。将来的には、味覚センサー<sup>33)</sup>などの感覚器官模倣型のセンサーが安価になれば、清酒の製造プロセスにおいて活発に使用されると予想される。

アルコール濃度と比重を制御目標としていた頃には、適応制御が盛んに使用されていた。その目的のためには、清酒の発酵プロセスを記述する数学モデルが必要となる。しかし、強い非線形性そして長期的な予測が必要とされることを理由としてAR(Autoregressive)モデルに代表される統計的線形モデルはほとんど使用されなかった。

杉本ら<sup>17), 33-37)</sup>は米の溶解、麴の溶解、発酵液相の変化、グルコースの生成およびアルコールの生成をシミュレートするモデルを相互作用を考慮しながら作り上げた。得られたモデルは6つの常微分方程式からなる複雑なものであった。ところが、オンライン測定可能な状態量はアルコール濃度のみであったため、どの式を適応的に再同定すればよいかという問題が生じた。杉本らは当時のミニコンの計算速度を考慮して、各式に0.95, 1.00, 1.05の係数を掛け、全ての組み合わせの中からプロセスの状態と最も良く一致する組み合わせを選択するという方法で解決した<sup>38)</sup>。

佐藤ら<sup>19), 38)</sup>のアプローチはセンサー情報を増やすことから始められた。研究の結果、アルコール濃度のオンライン測定のためにガスクロマトグラフィーを使用したチューピングセンサー法<sup>39)</sup>や超音波を利用したシングアラウンド法<sup>40)</sup>、そして円筒濾紙を利用したオンラインサンプリング装置<sup>41)</sup>などが開発された。ここで清酒発酵プロセスの制御における一つの問題がある。清酒は現在高付加価値商品と言うわけではなく、かつ多品種少量生産で発酵タンクが運用されるので各タンクは比較的小規模である。このため、高価なセンサーを全てに計装するわけには行かないことである。したがって、これらの高価なセンサーは生産性の高い大規模なタンクか、付加価値の高い吟醸酒などに適用されることになる。

土屋ら<sup>22), 23)</sup>は、ファジィ制御を初めて清酒発酵プロセスに導入した。特徴的なことは、プロセスが持つ時変性に対応するためにメンバーシップ関数を逐次変化させたものを用意しておくことである。

さらに内藤ら<sup>42)</sup>は、このシステムにおけるプロダクションルールの構築に当たり、

ルールの自動抽出機能を持たせた。内藤らは入力変数に対応した超立体的なメンバーシップ関数を導入し、ルールに多分木構造を持たせて各ルールのマッチ度を計算することによって自動抽出を行っている。

大石ら<sup>20), 21)</sup>は、杜氏が温度操作に当たって長期的な視点で判断していることに着目し、発酵終了時点のアルコール濃度の予測値をファジィ推論に盛り込むことで短期的なノイズに強い制御を実現した。加えて、多層型ニューラルネットワークと従来の微分方程式を使用する長期予測を併用して、発酵の早さを早期に検出推論する機能を盛り込んでいる。さらに、メンバーシップ関数を、入力値に対する感度を指標として、適応的にチューニングする機能を持たせた。

## 3) 新しい操作手段

酒類の発酵工程では、物理的な手段としては、唯一温度の操作のみで品質が制御されてきた。容易に理解できるように、操作手段が増えればプロセスの制約下での自由度が増す。これまでには、ビール発酵において発酵タンク内の圧力を操作する方法<sup>43)</sup>がある。酒類熟成工程においては、松下の超音波を適用した研究<sup>44)</sup>がある。

清酒の発酵工程において、永谷らは、酵素剤の添加による米の溶解速度の促進について<sup>45)</sup>、佐藤、近藤らは $\alpha$ 米の添加による日本酒度の操作について報告している<sup>46)</sup>。経験的には発酵中の醪に水を添加する「追い水」が醪のキレに影響を及ぼすことも知られており、慣習的に実施されている。

以上概観してきたように、アルコールの生成という側面からのアプローチがほとんどであり、品質もしくは官能評価に影響を及ぼす因子の制御という観点から制御に取り組んだ研究はほとんどないと言ってよい。

この様な状況のもとに、本研究は官能評価を推定、予測する方法論を構築し、これを最適化問題の枠組みの中で扱うことを意図した。以下、本論文の構成を説明する。

## 本論文の構成

本論文では、清酒の発酵プロセスの非線形性、不安定性を勘案した上で、「いかに官能的に評価の高い清酒を得るか」という問題に取り組んだものである。これまでに既往の研究を概観することによって、本研究の目的を達成するためには次の問題点を解決すべきであることがわかった。



- 1) そもそも温度のみを制御することによって、官能評価に影響を及ぼす因子を制御することが可能であるか否かを明らかにすること。
- 2) 制御の自由度を増すために、操作手段を増やす必要があること。
- 3) 測定可能な成分濃度から、官能評価を予測することができる数理的な手段を構築すること。
- 4) 従来から重要な制御目標であった、アルコール濃度や日本酒度の設定値を達成しながら、かつ官能に影響を及ぼす因子を最適に制御することができること。
- 5) 実用を考慮した場合、計算速度が速くロバストな最適化手法が必要であること。
- 6) 発酵プロセスの状態変数と、操作変数間のダイナミクスのモデル化を自動化し、オペレータの負担を軽減する必要があること。
- 7) 過去の運転データからもたらされる知識を活用しながら、適応的な能力を合わせ持つ制御系を構築すること。

本論文は、各種分析機器から得られる濃度情報から実際にその酒を啗酒した時の評点を推論するデンプスター・シャッフアー測度と、遺伝的アルゴリズムによってルールが自動抽出されるファジィ推論を用いた官能評価およびアルコール生成測度の時系列推定モデル、および遺伝的アルゴリズムによる温度操作量の最適化部分から構成されている。各章の研究の中での位置づけを、Fig. 5に示した。

第一章では、糖化液を用いた単行発酵において、発酵終了時点で酒の香りに好ましい印象を与える酢酸イソアミル濃度を最大にする温度戦略の探索方法を述べる。最適温度戦略を求めるために、まず、酵母の増殖、アルコール生成および酢酸イソアミルの生成速度式を構築する。また、得られた速度式をもとに、発酵終了時点の酢酸イソアミル濃度が最大になる温度パターンをダイナミックプログラミングによって決定する方法を示す。得られた温度パターンをもとに最適制御を実行するに当たり、発酵プロセス運転に含まれる不確定性を考慮して、その温度パターンから求めたアルコール生成速度軌道を制御することによって、確実に酢酸イソアミルの最適生成が可能であることを示す。単行発酵においてはアルコール生成速度の積分値がアルコール濃度であるから、その速度軌道を制御することによって発酵終了時点のアルコール濃度設定値が充足される。

第一章では単行発酵での結果を示しているが、実際の清酒製造法である並行複発酵を対象とする、第三章以降で示す官能評価の最適化制御を構成する手順の基本概

念が示されているともいえる。すなわち、第三章以降でも発酵速度の軌道制御が有効であり、第四章で推定する官能評価が酢酸イソアミル濃度、第五章における発酵速度軌道制御がアルコール生成速度の軌道制御、そしてプロセスモデルを記述するための第六章で述べるファジィシミュレータが速度式に該当する。

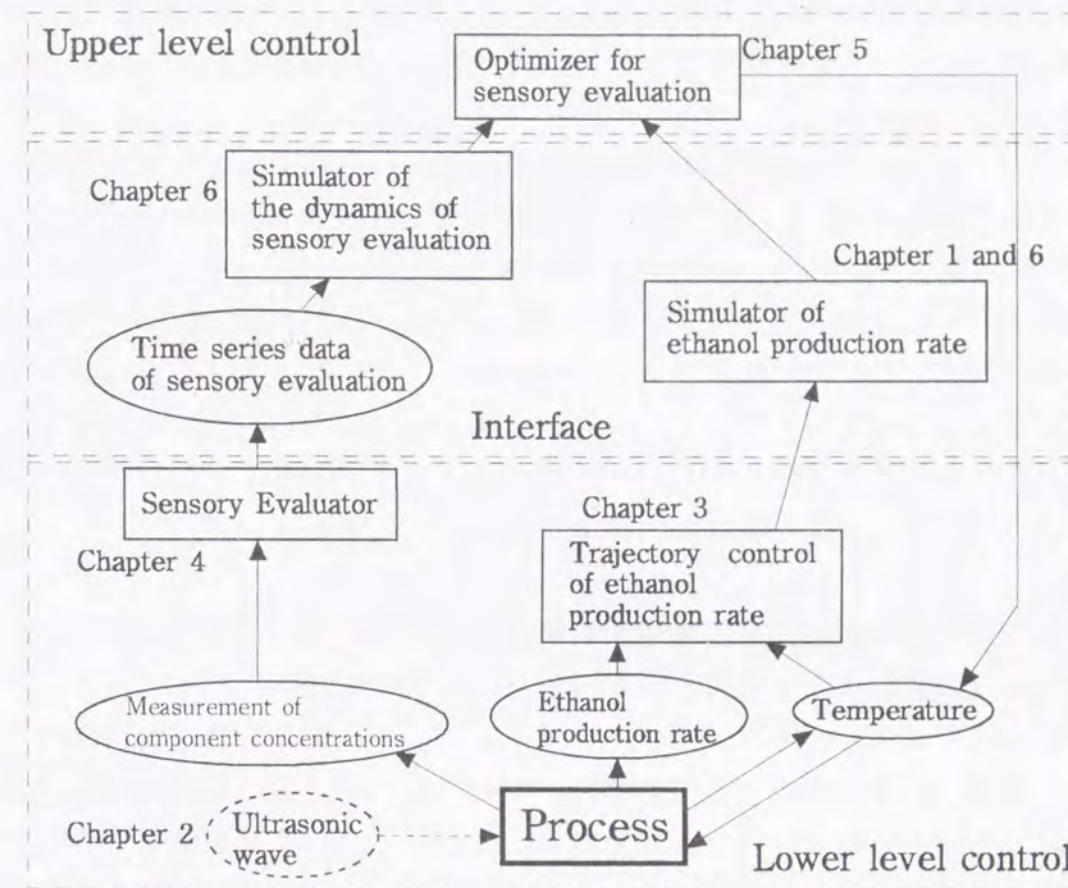


Fig. 5 Structure of research and positioning of each chapter.

第二章では、単行発酵における新たな操作手段として、微弱な超音波照射が有効であることを示す。従来から、静置発酵を行わせる単行発酵では酵母が生産した二酸化炭素が過度に発酵液中に溶存することによって、酵母増殖、エステル生成などを強く阻害することが知られていた<sup>48)</sup>。本章では、超音波によってその溶存レベルが低下し、酵母への阻害が低減することによって、酵母増殖が促進し、エステル生成能が増強されることを示す。さらに、第一章で示す最適温度制御と組み合わせることによってその効果が更に大きくなることを示す。

第三章では、第一章で行ったアルコール生成速度軌道制御（発酵速度軌道制御）



が清酒醪の並行複発酵においても有効であることを示す。杉本らが構築した清酒醪のシステム方程式を用いて、発酵速度軌道制御によって酵素濃度や酵母濃度の初期値が多少変動しても発酵終了時点のアルコール濃度及び日本酒度を所定の値に制御可能であることをシミュレーション実験によって証明する。また、実際の仕込実験を行い、酵素濃度及び酵母濃度の初期条件を種々変化させても、発酵速度軌道制御によって所定のアルコール濃度及び日本酒度に誘導できることを示す。

第四章では、官能評価の最適化制御を実現するに当たり、測定可能な微量成分13種の濃度から官能評価を予測することが可能な手順を構築する。その目的のために、デンプスター・シャッファー測度を採用する。デンプスター・シャッファー測度においては、ファジィネスを示す「基本確率の要素への割り付け」（第四章参照）を自動的に決定する方法がなかったが、第四章では遺伝的アルゴリズムが有効であることを示す。デンプスター・シャッファー測度が感覚的、感性的な事象を扱うことに優れていることを主張し、バックプロパゲーション法を用いる三層ニューラルネットワークと比較して、優れた予測能力を示すことを示す。

第五章では、操作変数である温度の時間軌道を最適化する方法について述べる。第四章で構築した官能評価の予測モデルを使用して得た官能評価のダイナミクスと、操作変数の間の関係を第六章で示すファジィシミュレーターで表現しておくことによって、温度の軌道が決まれば発酵開始から終了までの官能評価の履歴が予想可能となるが、発酵終了時点の官能評価値が最小（最良）となる温度軌道を算出するための方法論を構築する。ここではその最適化方法として遺伝的アルゴリズムを採用する。その最適化手法を確立するために、第五章では、微分方程式によって記述されたプロセスを対象として検討を加えた。具体的には、第一章の酢酸イソアミル最大化問題を例題として取り上げ、遺伝的アルゴリズムにおけるパラメータ調整に関する知見を得、新たな遺伝的オペレーターを導入し、発酵プロセス一般における遺伝的アルゴリズム適応の有用性を論じる。

第六章では、第四章で示すデンプスター・シャッファー測度によって推定された官能評価の時系列データ、およびアルコール生成速度の時系列データを、過去の温度時間軌道から推定するためのファジィシミュレーターを提出する。この時、学習データと推定データとの誤差が減少するように、ファジィルールを遺伝的アルゴリズムによって抽出させる方法を開発した。次いで、第五章で示した最適化手法によって、発酵終了時点の官能評価が最小になる温度軌道を算出し、これをファジィシミュレーターでアルコール生成速度軌道に換算し、第三章で示した発酵速度軌道制御

を実行することによって発酵終了時点の官能評価が優れたものとなることを示す。さらに、プロセスパラメータ変動に対応できる機能を持たせるために、ファジィシミュレーターのオンラインルール自動抽出を、シミュレータの推定値が実測アルコール生成速度データに適応するように実行させ、発酵終了時点の官能評価が最良になる温度軌道をオンラインで再計算させる最適化制御を行い、優れた品質の吟醸酒を得ることができることを示す。

以上のように本論文では、清酒の品質制御という目標に立ったとき、プロセス全体の制御系が新しい操作手段の開発や清酒のアルコール濃度の制御という比較的下位の制御手法から、官能評価の推定、予測および最適化という上位の制御手法の開発までを含む階層的な制御構造を持つよう構成されている。



## 第一章 糖化液を用いた酢酸イソアミル生成のための最適温度制御

### 1. 1 はじめに

アルコール類、糖類、有機酸、アミノ酸および各種香気成分等の数多くの成分が、清酒の官能評価に影響を及ぼすことが知られている。また、それらの成分の比率や相互作用は、非常に重要な因子である。酢酸イソアミル、カプロン酸エチル、そしてその他のエステル類は、その増加が品質向上のために望ましい成分として注目されている。酢酸イソアミル生成酵素の精製<sup>19, 50)</sup>、それらエステル類の生成反応に対する阻害物質や促進物質に関する研究<sup>51, 52)</sup>が盛んに行われ、高いエステル生成能を持つ酵母がこれらの情報に基づき遺伝的研究によって育種されている<sup>53)</sup>。

しかし、清酒醸造において、ある種の成分の生成能力が高い酵母菌株が入手可能であったとしても、十分にその能力を引き出しあるいは他の成分とのバランスを考慮した制御技術がなければ得られる清酒の品質は確保できないであろう。

嗜好品としての清酒の研究において、幾つかの効果的な制御技術に関する報告がエタノール濃度や比重を目的変数として行われてきた<sup>18, 20, 22, 27)</sup>。しかしながら、香気成分生成に関する実験データおよび動力学的知見に基づいた最適制御に関する報告はほとんどみられない。ビール醸造においては、酢酸イソアミル生成粗酵素に関する動力学的研究<sup>54)</sup>が行われてはいるが、理論的あるいは実験的な最適温度条件に関する考察が立ち後れていた。この様な実状を背景として、高品質の清酒醸造においてエステル生成を促進する能動的な制御技術の確立が望まれていた。

清酒の発酵プロセスにおいて実際上操作可能な唯一の手段は温度であるので、まず最初に、温度に関する戦略を確立するためのモデル実験として、様々な定温条件において糖化液を用いた回分発酵プロセスにおける香気成分の変化を測定した。次いで、その糖化液を用いたプロセスにおける酢酸イソアミル生成のための最適温度軌道を算出した。最後に、その最適温度軌道を実行することによって、実際に酢酸イソアミル濃度が高く算出されることを実験的に確認した。

### 1. 2 実験材料および方法

#### 1. 2. 1 使用菌株

日本醸造協会配布の協会7号酵母(*Saccharomyces cerevisiae* K-7)の泡無し変異株協会701号を使用した。

#### 1. 2. 2 前培養および発酵条件

前培養は300 mlのエrlenmeyerフラスコに100 mlのYEPD-mediumを入れ、30°Cにて24時間浸透培養した。YEPD-medium (pH 5.4)は、1 lの蒸留水中50 gのglucose、5 gのKH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、2 gのMgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O、5 gのyeast extract、そして10 gのPolypeptonからなる。発酵実験は10、15、20、25および30°Cの定温条件にて1 lの糖化液を用いて静置条件で行った。初発菌体濃度は、2.5×10<sup>7</sup> cells/mlとした。酵母増殖を促進させるために、セライト No.503 (Wako Pure Chem. Ind., Ltd., Osaka)を1 g/l-medium加えた<sup>55)</sup>。

#### 1. 2. 3 糖化液の調整方法

糖化液<sup>56)</sup>は次のように調整した。1 kgの精米を2.5 lの濾過水に浸漬し、ミキサーで粉碎した。粉碎した米のホモジネートに1.4 gのCaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O、0.4 gのコクゲン(液化酵素: 大和化成、大阪)および0.2 gのプロテアーゼアマノ(天野製薬、名古屋)を加え、50°Cで4時間液化した。次いで、97°Cで5分間酵素を失活させた。液化後の溶液に0.2 kgの米麴および0.6 gグルコアミラーゼアマノ(天野製薬)を加え、更に14時間57°Cにて糖化した。糖化の後、その溶液を圧搾濾過し、活性炭を加え、再度濾過した。最終的に乳酸にてpHを4.0に調整して糖化液とした。

#### 1. 2. 4 分析

酵母菌体濃度(g/l)は、660 nmの吸光度から算出した。乾燥菌体(*S. cerevisiae* K-701)重量あたりの吸光度の比率は4.48であった。エタノール濃度はガスクロマトグラフィ(日立、東京)を用いてFID検出器で測定した。エステルおよび高級アルコールの濃度は、別のガスクロマトグラフィ(日立)を用いてヘッドスペース法<sup>57)</sup>により測定した。

#### 1. 2. 5 データ解析

非線形最小自乗法<sup>58)</sup>を用い、Nanbaらの方法<sup>13)</sup>に従って、状態変数の変化速度および比速度を算出した。



### 1. 3 結果と考察

#### 1. 3. 1 香気成分の経時変化

様々な定温条件における酵母増殖、エタノール生成イソアミルアルコールおよび酢酸イソアミル生成の経時変化を Fig.6に示した。また、発酵終了時点（アルコール濃度約 80 g/l）の低沸点香気成分の濃度を Table 1に示した。酵母増殖は25℃より30℃においてより阻害されていた。しかし、両温度におけるアルコールの生成速度はほぼ同程度であった。図には示していないが、アセトアルデヒドはそれぞれの温度条件において発酵の初期に急速に生成した。その後、その濃度は15-30℃の条件においては等しく10-20 ppmまで減少した。一方、10℃の条件では38.0 ppmが残された。アセトアルデヒドの残留は「青臭」として感知され、好ましくない香りとされる。酢酸エチル、イソブタノールおよびイソアミルアルコールの濃度は温度が低いほど低かった。酢酸イソアミルの発酵終了時の最高濃度は20℃において

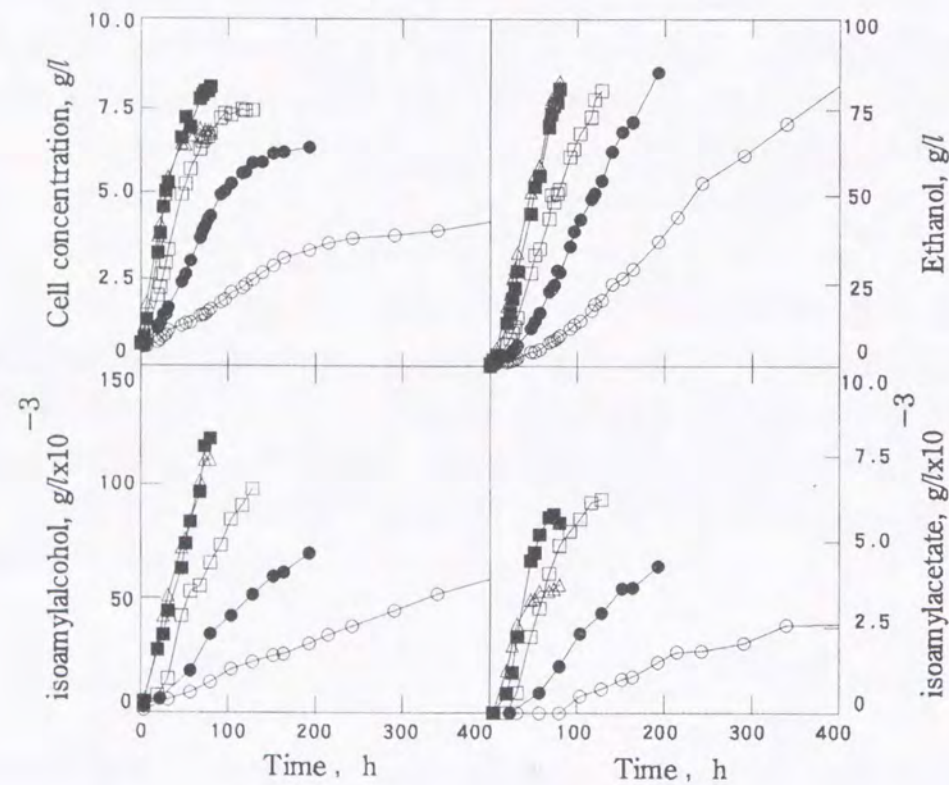


Fig. 6 The time courses of sake fermentation at various isothermal conditions.  
 Symbols: ○, 10 °C ; ●, 15 °C ; □, 20 °C ; ■, 25 °C ; △, 30 °C .

Table 1 Chemical analyses of sake fermented at various temperatures

	(g/l)				
Temperature(°C)	10	15	20	25	30
Cell	4.18	6.35	7.38	8.06	6.78
Ethanol	83.7	86.8	81.3	81.7	84.1
Acetaldehyde(x10 <sup>-3</sup> )	38.0	16.2	13.2	15.6	20.4
Ethylacetate(x10 <sup>-3</sup> )	8.5	22.9	33.1	37.4	42.5
Isobutanol(x10 <sup>-3</sup> )	9.9	10.3	22.0	35.8	49.7
Isoamylalcohol(x10 <sup>-3</sup> )	57.4	68.5	96.5	118.3	109.3
Isoamylacetate(x10 <sup>-3</sup> )	2.5	4.2	6.1	5.5	3.7
Ethylcaproate(x10 <sup>-3</sup> )	0.6	0.7	0.6	0.5	0.3
E/A ratio <sup>a</sup> (x10 <sup>-2</sup> )	4.4	6.1	6.3	4.6	3.4

a: E/A ratio is defined as the ratio of isoamylacetate to isoamyl alcohol.

得られた。20℃以下の温度においては、酢酸イソアミルの生成は発酵期間を通して非常に緩慢であった。20℃以上の条件においては、発酵初期ではその生成速度はより低い温度条件よりも早いが、発酵の後期にはその速度はより遅くなるのが観察された。酢酸イソアミルが25-30℃においては分解あるいは気相中に散逸していると考えられた。これらの結果は、酢酸イソアミル合成酵素、アルコールアセチルトランスフェラーゼ (AATase) 酵素反応速度の温度依存性に類似していた。Yoshioka *et al*<sup>19)</sup>は、AATaseの粗精製標品を用いてその最大の比活性を示す温度が25-30℃であると報告している。Minetoki *et al*<sup>20)</sup>は、完全精製標品を用いて温度の影響を調べたところ、5℃以上において失活が起こり、その最大比活性を示す温度は25℃であるとしている。柳内ら<sup>21)</sup>は、発酵中の清酒酵母の酢酸イソアミル分解活性が発酵温度の上昇と共に増大することを確認している。これらの報告と Fig. 6における結果は、次のことを示唆している。低い温度(10-20℃)においては、AATaseの失活と酢酸イソアミルの分解は小さいけれども、AATase活性もまた小さい。温度がより高い場合には、AATaseの失活速度および酢酸イソアミルの分解速度が速く、そして酢酸イソアミル生成速度は発酵の後期において抑制される。

カブロン酸エチルにおける傾向もまた酢酸イソアミルの場合に類似していた。その最高濃度は15℃において観察された。これらの結果は、エステル生成において温



度時間軌道の選択によって、最終濃度が変化することを示唆している。

### 1. 3. 2 酢酸イソアミルとイソアミルアルコール生成の動力学モデル

香気生成のための動力学モデルを構築するにあたり、より簡潔な表現が望ましく、酢酸イソアミルの基質としてのイソアミルアルコールおよび酢酸イソアミル生成速度は、オンライン計測が容易なエタノール濃度あるいはエタノール生成速度と関係づけられるのが望ましい。

Fig.7は、イソアミルアルコール濃度をエタノール濃度に対してプロットしたものである。その良好な線形関係は、エタノールに対するイソアミルアルコールの収率が発酵を通じて一定であり、その収率が温度の上昇とともに上昇する (Table 2) ことを示している。すなわち、

$$dIAO/dt = Y_{IAO/P} dP/dt \quad (1-1)$$

ここで、 $IAO$  はイソアミルアルコール濃度 (g/l)、 $P$  はエタノール濃度 (g/l)、 $t$  は時間 (h)、そして  $Y_{IAO/P}$  はエタノールに対するイソアミルアルコールの収率 (-) であり発酵温度の関数である。

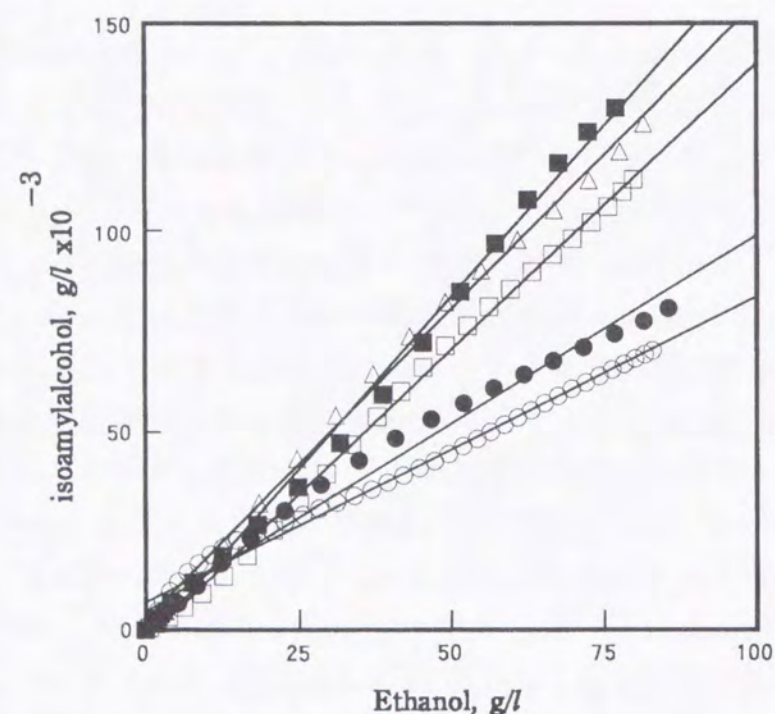


Fig. 7 The relationship between isoamylalcohol and ethanol formation.  
Symbols: ○, 10 °C ; ●, 15 °C ; □, 20 °C ; ■, 25 °C ; △, 30 °C .

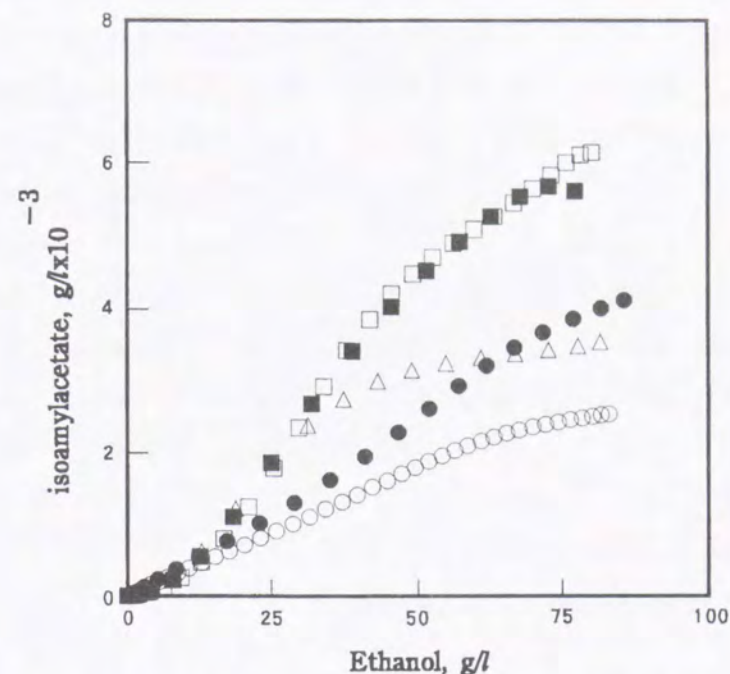


Fig. 8 The relationship between isoamylacetate and ethanol formation.  
Symbols: ○, 10 °C ; ●, 15 °C ; □, 20 °C ; ■, 25 °C ; △, 30 °C .

酢酸イソアミル濃度も同様にエタノール濃度に対してプロットした (Fig. 8)。その全体的な収率は一定ではなく、その見かけの収率は発酵の進行に伴い低下した。その最大の理由は酢酸イソアミルの分解であると考えられた。すなわち、より高い温度においては、その収率は発酵後期に大きく減少している。それゆえ、酢酸イソアミル生成速度は、エタノール生成に比例する生成項とその時点の酢酸イソアミル濃度に比例する分解項二つの項の和として表現した。

$$dIAAC/dt = Y_{IAAC/P} dP/dt - K_1 IAAC \quad (1-2)$$

ここで、 $IAAC$  は酢酸イソアミル濃度 (g/l)、 $Y_{IAAC/P}$  はエタノール生成に対する酢酸イソアミルの正味の収率 (-) として  $K_1$  は分解定数である。

### 1. 3. 3 酢酸イソアミル生成のシミュレーション

シミュレーションを実行する前に、酵母の増殖とエタノールの生成速度式を同定しなければならない。

Lee<sup>9)</sup> は増殖速度は次の式で表現できるとしている。

$$dX/dt = \mu_m (1 - X/X_m) X \quad (1-3)$$

ここで、 $\mu_m$  および  $X_m$  は、それぞれ  $\mu$  と  $X$  の最大値である。Table 2 に示すよう



Table 2 Parameters in Eqs.(1-1)-(1-4) obtained from experimental data

$T$ (°C)	$\mu_m$ (h <sup>-1</sup> )	$X_m$ (g l <sup>-1</sup> )	$\beta$ (h <sup>-1</sup> )	$K_2$ (lg <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> ) (x10 <sup>5</sup> )	$Y_{IAO/P}$ (-) (x10 <sup>4</sup> )	$Y_{IAAC/P}$ (-) (x10 <sup>5</sup> )	$K_1$ (h <sup>-1</sup> ) (x10 <sup>6</sup> )
10	0.0183	3.97	0.0733	3.60	6.20	4.28	1.02
15	0.0420	6.20	0.111	7.86	7.68	5.40	1.30
20	0.0707	7.47	0.149	13.3	11.8	9.06	5.11
25	0.104	7.43	0.187	17.0	13.6	12.0	14.1
30	0.143	6.51	0.225	21.3	12.9	9.89	2.48

$\alpha$  was 1.974 independent of temperature.

Table 3 The thermal coefficients of polynomials,  $C_i$ , for the parameters in Table 1

Dimension	$\mu_m$	$X_m$	$\beta_0$	$K_2$
n	2	3	1	1
0	-0.0146151	-3.79303	-0.0026	-5.204E-5
1	2.30681E-3	0.993331	0.007588	8.908E-6
2	9.80168E-5	-0.0216816	-	-

Dimension	$Y_{IAO/P}$	$Y_{IAAC/P}$	$K_1$
n	3	3	4
0	1.79855E-3	2.56905E-4	-2.13323E-5
1	-2.73623E-4	-4.46395E-5	6.33498E-6
2	1.89911E-5	2.83033E-6	-6.37895E-7
3	-3.48082E-7	-5.05913E-8	2.62212E-8
4	-	-	-3.42943E-10

These coefficients were calculated from the following polynomial equation by the least square method:  $\mu_m = C_0 + C_1 \cdot T + C_2 \cdot T^2 + \dots + C_n \cdot T^n$ , where  $C_0 - C_n$  is the coefficient,  $T$  is temperature, and  $n$  is the maximum dimension for the parameter, which was determined appropriately.

に、*S. cerevisiae* K-701に関するこれらの値は温度に影響を受けた。

Nanba<sup>13)</sup>はエタノール回分発酵における比速度がエタノール濃度の積算値によって阻害を受けるモデルを提案している。本論文では、次に示したそのモデルを採用した。

$$dP/dt = \{\alpha\mu + \beta \exp(-K_2 \int_0^t P dt)\} X \quad (1-4)$$

ここで、定数 $\beta$ と $K_2$ は温度によって影響を受けた (Table 2)。 $\alpha$ は増殖に連動する定数である。これらの定数への温度の影響を表現するためにアレーニウス式がしばしば用いられるが、本実験値を十分説明することはできなかった。そこで、それらの定数は、温度を独立変数とする線形多項式近似によって近似した。その多項式中の係数のリストを Table 3 にまとめた。

糖化液を用いた清酒の発酵における香気生成のシミュレーションは、上記のように同定した動力学モデル (式(1-1)-(1-4)) を用いて実行した。結果の一例として、温度15°C一定、初発グルコース濃度220 g/lとし、Runge-Kutta-Gill法を用いシミュレーションを実行した結果を Fig.9 に示した。図から提案した動力学モデルは発酵のパターンを十分にシミュレートできることが確認された。

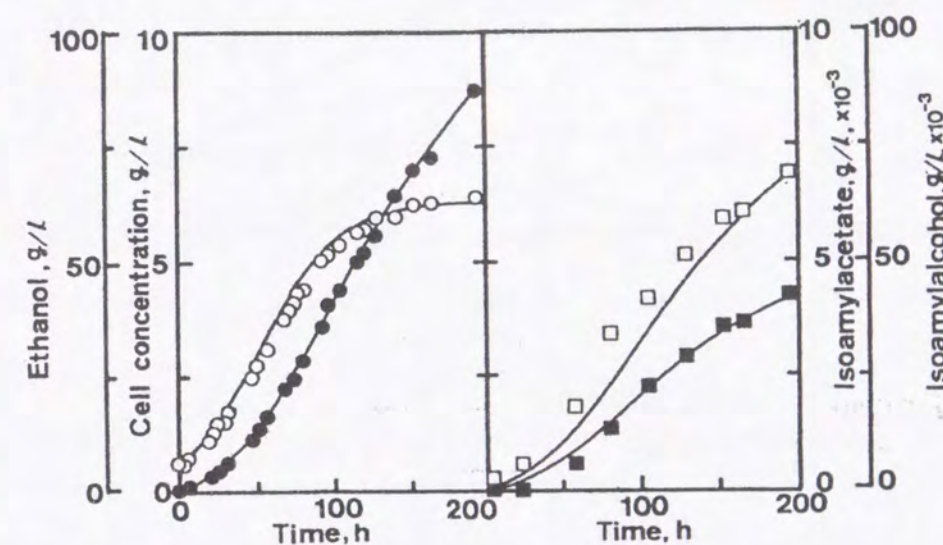


Fig. 9 Simulation results.

Symbols: ○, cell concentration; ●, ethanol; □, isoamylalcohol; ■, isoamylacetate. These symbols are the values measured at isothermal conditions (15 °C). Lines indicate the calculation.



### 1. 3. 4 酢酸イソアミル生成の制御戦略

エステル濃度を測定するための容易に利用可能なオンラインセンサーは開発されていない。発酵タンクのヘッドスペース部のガス組成を検出するために、ガスクロマトグラフィーを使用した報告が知られているが<sup>61)</sup>、そのガス透過性膜を利用する検出システムは、攪拌、発酵温度、エタノールやエキス濃度のような多くの因子によって影響を受けることが知られている。このような状況を考慮に入れると、醸造においても温度の最適軌道制御<sup>62)</sup>を採用することが妥当であると考えられた。

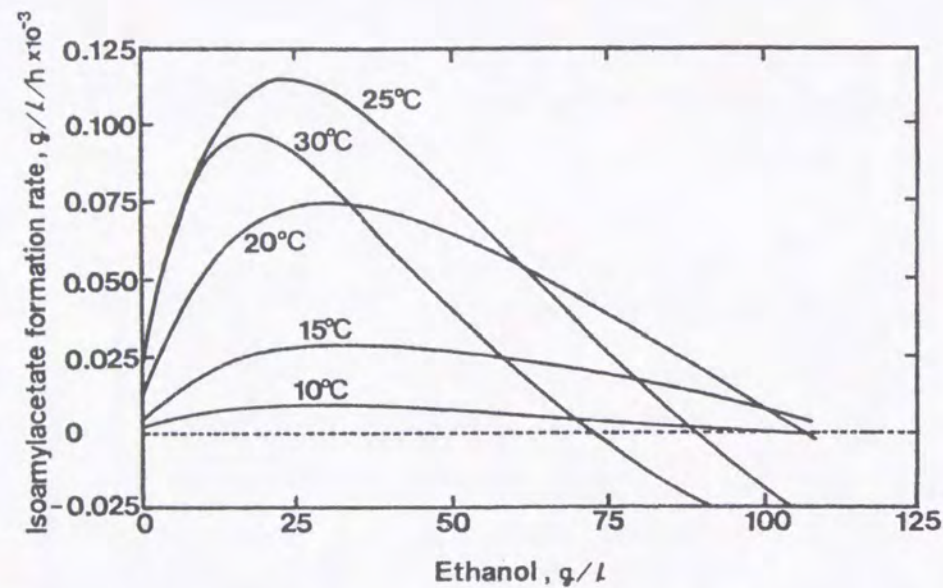


Fig. 10 Simulation results of isoamylacetate formation rate at various isothermal conditions.

Fig. 10は、式(1-2)~(1-4)を使用して、10、15、20、25および30°Cにおけるエタノール生成量に対する酢酸イソアミル生成速度のシミュレーション結果を示したものである。この時、初発酵母濃度は220 g/lとし、エタノール濃度が110 g/lとなるまで計算した。Fig. 10において、酢酸イソアミル生成速度のピークが観察された後、その生成速度は発酵の進行とともに減少し、高温条件においては酢酸イソ

アミルの生成速度は分解（速度が負）に転じた。この特徴は温度によって異なっていた。高温条件においては、その速度のピークは高いけれども、分解もまた大きくなっていった。一方で、低い温度においては、そのピークは低いものの、エタノールが十分に生成された発酵の後期においてもその速度は正の値を保っていた。

上記の議論に続き、発酵終了時点において酢酸イソアミル生成を最大にするための温度軌道を算出した。最適化手法としてベルマンのダイナミックプログラミングを使用した。Kishimoto<sup>63)</sup>はこの方法をグルタミン酸発酵のオンライン最適化計算に適用している。

目的関数  $J$  は、次に定義するように、発酵終了時点の酢酸イソアミル濃度とした。

$$J = \text{IAAC}_f - \text{IAAC}_0 \quad (1-5)$$

$$= \sum_{k=0}^{N-1} f_k(\mathbf{X}_k, T_k)$$

$$f_k(\mathbf{X}_k, T_k) = \int_{t_k}^{t_{k+1}} (d\text{IAAC}/dt) dt \quad (1-6)$$

ここで、 $\mathbf{X}_k$  は菌体、エタノールおよび酢酸イソアミル濃度の状態ベクトル、 $T_k$  は刻み時間  $[t_k, t_{k+1}]$  のあいだ一定の温度、そして  $N$  は発酵終了から開始までを分割した段の数である。

さらに、関数  $H(\mathbf{X}_i, t_i)$  を、時間  $t_i$  において初期状態が  $\mathbf{X}_i$  である時の、目的関数  $J$  の制約付き最大化関数とする。

$$H(\mathbf{X}_i, t_i) = \max_{T_{\text{lower}} \leq T_k \leq T_{\text{upper}}} \sum_{k=i}^{N-1} f_k(\mathbf{X}_k, T_k) \quad i=0, 1, 2, \dots, N-1 \quad (1-7)$$

ダイナミックプログラミングの再帰方程式は、

$$H(\mathbf{X}_i, t_i) = \max_{T_{\text{lower}} \leq T_i \leq T_{\text{upper}}} \{f_i(\mathbf{X}_i, T_i) + H(\mathbf{X}_{i+1}, t_{i+1})\} \quad (1-8)$$

その再帰方程式は、 $t_i = 140\text{h}$ 、 $N = 140$ 、 $T_{\text{lower}} = 10^\circ\text{C}$ 、 $T_{\text{upper}} = 30^\circ\text{C}$ 、温度幅  $1^\circ\text{C}$ 、初発酵母濃度 = 0.2 g/l、初発グルコース濃度 = 220 g/l の条件のもとに、最終時間から後ろ向きに解かれた。その温度に関する最適軌道の計算結果は、Fig. 11中の実線として示した。エタノール生成速度は式(1-4)を用いて同時に計算した。Fig. 11中点線は、発酵開始時間から前向きに酢酸イソアミルの生成速度が最大になるように温度を決定した場合の計算結果である。温度の刻み幅は  $0.5^\circ\text{C}$  とした。その二つの温度軌道およびエタノール生成速度の軌道はほとんど同じものであった。

最適値確認のため、ダイナミックプログラミングによって計算された最適温度軌道と定温条件による場合を、酢酸イソアミル生成について比較した。結果を Fig. 12 に示した。最適温度軌道に沿って計算された酢酸イソアミル濃度は、10、15、20、



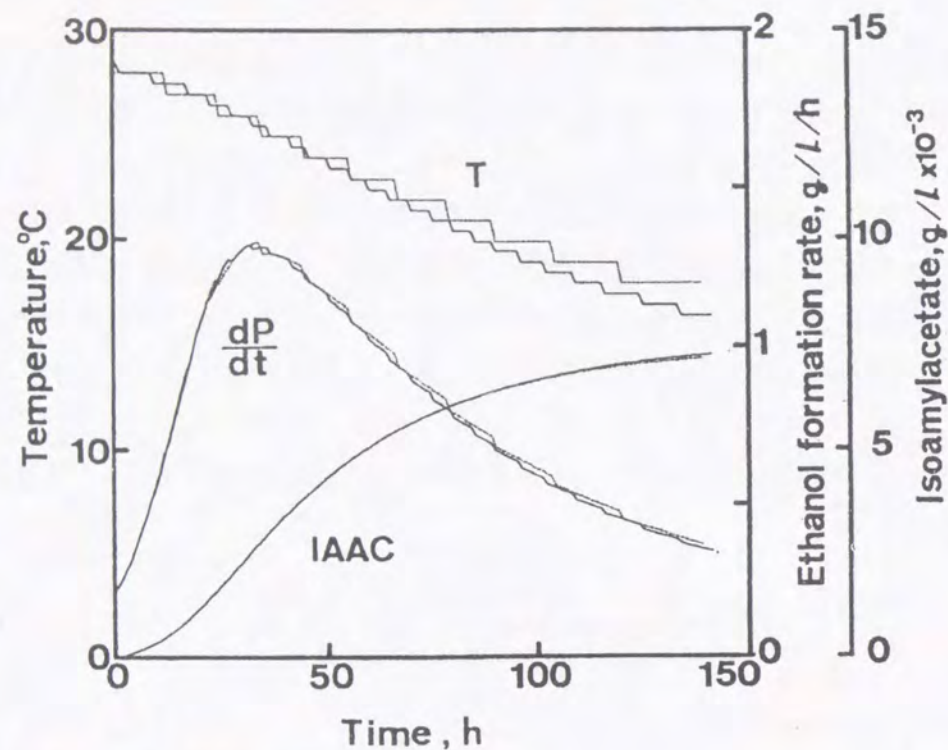


Fig. 11 Calculation results of optimal trajectory.

Solid line indicates the result that was determined by Dynamic Programming. Dotted line indicates the result that was calculated forward from the initial time by employing the temperature to maximize the instantaneous isoamylacetate formation rate.

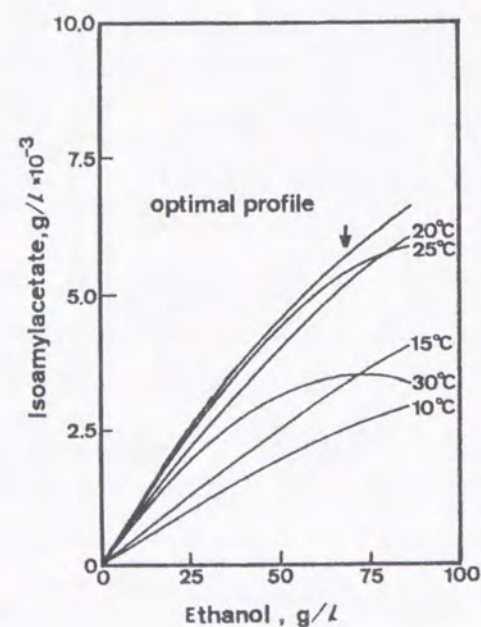


Fig. 12 Time courses of isoamylacetate concentrations at optimal temperature trajectory in Fig. 11 and isothermal conditions.

25および30°Cの全ての定温条件よりも高く生成されるであろうことが示唆された。

以上の結果、酵母増殖を促し、高い酢酸イソアミル生成速度を獲得するために、発酵の初期においては温度を高く設定し、次いで、酢酸イソアミルの生成速度を維持するために次第に温度を低下させるべきであることがわかった。この温度制御戦略は、清酒発酵工程の温度操作の伝統的規範の一つである「前高後低」に合致している。

### 1. 3. 5 酢酸イソアミルの最適制御実験

本章の最後に、実際に白米糖化液を用いて最適制御試験を行った。実験は2.6 l容ジャーフェーマンターに糖化液1.8 lを仕込み、行った。Fig. 13は、発酵時間を180時間とし、ダイナミックプログラミングを用いて算出した最適温度軌道を実現したとき得られるべきシミュレーションでのエタノールの生成速度軌道を実験的に実現しようとした結果である。その実現方法は、第三章発酵速度軌道制御に示した。ただし、その制御方法では、第三章で述べるように、二酸化炭素ガスの発生速度を計測しているため、発酵を開始してから糖化液中に二酸化炭素ガスが充満しガスの発生を検出するまでに数時間を必要とする。そのため、Fig. 13中に示した10時間のラグ期間、温度設定値を変更させないこととし、初発の発酵温度は20°Cとした。

その結果、糖化液を用いた制御試験において、エタノール濃度は終了時点の目標値と実測値の差は0.13 %v/vであり、エタノール濃度の制御も問題なく完遂された。さらに酢酸イソアミル濃度は制御において9.6 ppmに達し、これは定温条件において最高値を示した20°C一定条件における値6.1 ppmの1.6倍であった。また、制御の結果得られた酒を、10、15、20、25および30°C一定条件で仕込んで得られた酒とともに、パネラー6名による唎酒試験において比較した。その結果、香りに関する評価は、酢酸イソアミルが最も多く、カプロン酸エチルが定温発酵の最高値の60%上昇した、最適制御により得られた酒が最も優れていた。しかし一方で、味に関する評価は、10°Cおよび15°C定温条件により得られた酒と比較して必ずしも優れているとは言えず、味をも考慮した最適制御が必要であることが示唆された。

本実験結果により、作成した動力学モデルおよび最適制御システムが、酢酸イソアミルの最大生産において有効であることが実験的に証明された。

### 1. 4 結論

清酒の香りにおいて大きく寄与する酢酸イソアミルの最大生成を、糖化液を用い



て試みた。エタノールの生成に比例する酢酸イソアミル生成項と、温度およびその時点の酢酸イソアミル濃度に依存する一次の分解項を持つモデルによって、酢酸イソアミルの消長を良好に説明することができた。発酵終了時点の酢酸イソアミル濃度を目的関数として、これを最大になるようにダイナミックプログラミングを使用して最適温度軌道および最適エタノール生成速度軌道を求めた。得られたエタノール生成速度軌道に、二酸化炭素ガス生成速度から換算したエタノール生成速度推定値を追従させるように温度を操作したところ、発酵終了時点の酢酸イソアミル濃度を定温条件の最大値の1.6倍に高めることができた。またこの時、制御の結果得られた酒は、酎酒試験において香りの評価が最も良好であった。しかし、清酒の官能評価は香りに影響を与える物質の量のみでは一意的に決定されないため、味に関わる物質をも考慮した最適制御システムを構築する必要があると判断された。

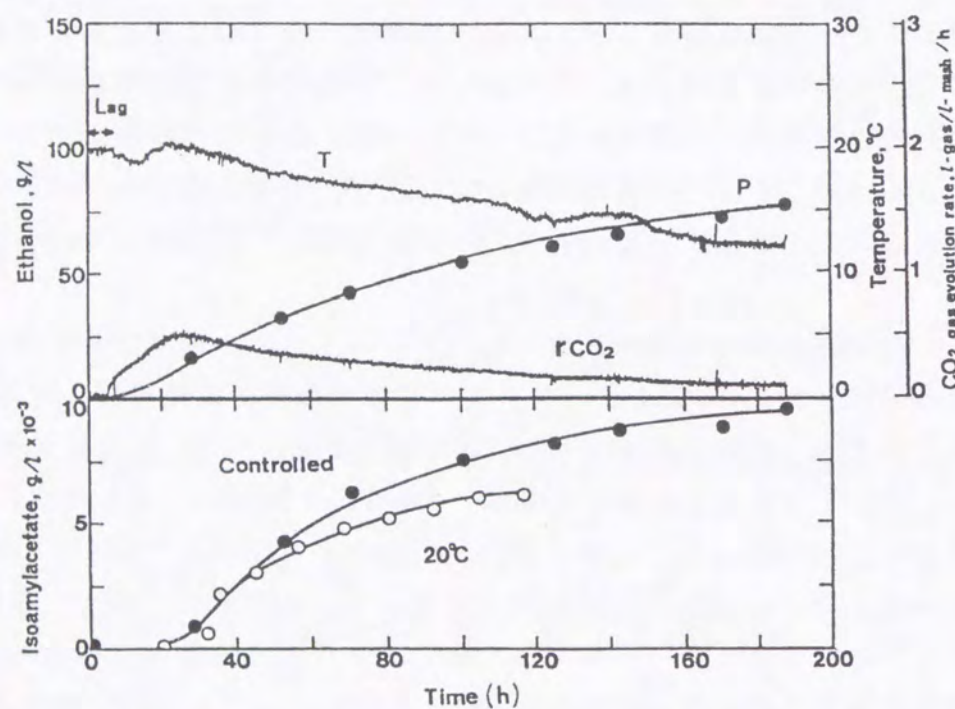


Fig. 13 A result of control of the single stage fermentation process.

The saccharified rice solution was fermented. This trajectory of ethanol production rate for the maximum production of isoamylacetate was calculated by Dynamic Programming. The trajectory was translated to the trajectory of  $CO_2$  evolution rate and indicated by  $CO_2$  evolution rate as the solid line. T, temperature; P, ethanol concentration;  $r_{CO_2}$ ,  $CO_2$  evolution rate. Symbols ●, controlled; ○, isothermal condition at 20 °C.

第一章の記号表

- $f$  :defined by Eq.(1-6), g-isoamylacetate/l
  - $H$  :constrained maximum function defined by Eq.(1-7), g-isoamylacetate/l
  - $IAAC$  :isoamylacetate concentration, g/l
  - $IAO$  :isoamylalcohol concentration, g/l
  - $J$  :objective function defined by Eq.(1-5), g-isoamylacetate/l
  - $K_1, K_2$  :constant
  - $N$  :number of stages, -
  - $P$  :ethanol concentration, g/l
  - $t$  :fermentation time, h
  - $X$  :cell concentration, g/l
  - $X$  :state vector( $X, P, IAAC$ )
  - $Y_{IAAC/P}$  :yield of isoamylacetate to ethanol, -
  - $Y_{IAO/P}$  :yield of isoamylalcohol to ethanol, -
  - $\alpha$  :growth associated constant, 1/h
  - $\beta$  :specific rate of non-growth associated ethanol production, 1/h
  - $\mu$  :specific growth rate, 1/h
- subscripts
- f :final
  - $i, k$  :stage number
  - O :initial



## 第二章 超音波照射による酵母増殖とエステル生成の促進

### 2. 1 はじめに

第一章において述べたように、清酒中の官能評価は様々な物質に影響を受け、酢酸イソアミルの最大生成のみでは香りの評価を高めることはできるが、総合的な評価を改善することは容易ではなかった。また、温度以外の操作変数を探索する必要性が強く要望されていたことから、超音波照射の発酵プロセスへの適用を意図した。発酵プロセスにおける操作手段を増やすことによって、発酵の速度の制御に加えて品質の制御の自由度もまた増加させることが期待できる。

ビール、ワインそして清酒の発酵期間中に酵母によって作り出される、酢酸イソアミルを始めとするエステル類等の様々な物質は、アルコール飲料の香りに強く影響を与える。発酵期間中酒類の品質を制御するための主な手段は、温度を操作することである。醸造において報告されている他の操作手段は、空気の吹き込み<sup>64)</sup>やタンクヘッドスペース部の圧力の操作<sup>63)</sup>があげられる。しかしながら、これらの技術はもろみ中の酸度の上昇や酵母増殖の遅延等の影響もまた引き起こす。

エタノール発酵においては、酵母増殖や *Saccharomyces cerevisiae* によって生成されるエステル類の生成が溶存二酸化炭素 ( $\text{DCO}_2$ ) の増加によって阻害または調節を受けることが既に報告されている<sup>48, 65, 66)</sup>。それゆえに、 $\text{DCO}_2$  レベルの減少は酵母増殖やエステル生成を促進させるであろうことが予想される。そこで、超音波照射は溶液中に溶け込んだ気体を脱気させる作用があることから、酵母増殖やエステル生成に対する  $\text{DCO}_2$  の阻害作用を低減させることが期待できる。

アルコール飲料の製造への超音波照射の適用は幾つか報告されているが、いずれも熟成工程に関するもののみであった<sup>44)</sup>。本論文では、超音波照射をワイン、ビールおよび清酒の発酵プロセス制御へ適用することを念頭におき、検討した。

### 2. 2 実験材料及び方法

#### 2. 2. 1 使用菌株

ワインおよびビール酵母として *S. cerevisiae* C-2324 および *S. cerevisiae* B-2015 をそれぞれ使用した。清酒の発酵においては、泡無し酵母 *S. cerevisiae* Kyokai-701 を使用した。

#### 2. 2. 2 前培養および使用培地

YEPD 培地および糖化液の調製は第一章に記載した方法に従った<sup>67)</sup>。前培養においては、酵母を  $2 \times 10^7$  cells/ml の濃度になるように、YEPD 培地 1,300 ml (初発グルコース濃度 50 g/l) に接種し、300 rpm で攪拌しながら、17時間 30°C で培養し、遠心集菌した。糖化液中の還元糖濃度は、228 g/l であった。ワインの発酵に使用したぶどう果汁 Semillon (Washington Frontier Juice, Inc., Washington, USA) 中の還元糖濃度は、196 g/l であった。麦芽液の調製は次のように行った。83 g の濃縮麦芽液 ("NB" Japan Co. Ltd., Tokyo)、38 g のグルコースおよび 3 g のホップを 1 l の濾過水に加えた。それらの混合物を三分間湯浴中で蒸煮し、0.45  $\mu$  m のメンブレンフィルターで濾過した。以上のように調製した麦芽液の還元糖濃度は、101 g/l であった。

#### 2. 2. 3 酵母の固定化方法

固定化酵母は、アルギン酸ナトリウム (30 g/l) と  $\text{CaCl}_2$  (20 g/l) から調製した。前培養後の固定化酵母中菌体濃度は、95 g/l となった。

#### 2. 2. 4 分析

発酵の進行の程度を定量するために、発酵液から発生する  $\text{CO}_2$  ガスの総量を重量減少量として電子天秤 (Shimadzu, Kyoto) によって測定した。発酵液中の  $\text{DCO}_2$  濃度は Heard<sup>68)</sup> の方法により推定した。 $\text{DCO}_2$  の量は、0°C、1気圧の1リットル発酵液に溶存している  $\text{CO}_2$  のモル量として定義した。 $\text{CO}_2$  発生速度はマスフローメーター (Kojima Seisakusho, Kyoto) を使用して測定した。高級アルコール類、エステル類、エタノールの濃度および菌体濃度は第一章に記載した方法によって測定した<sup>67)</sup>。総酸度およびアミノ酸度は、10 ml 発酵液に対する 0.1N-NaOH の滴定量として定義した。アミノ酸度はフォルモール滴定法にて測定した。

#### 2. 2. 5 超音波振動子および発酵槽

超音波振動子とジャーフェーマンターの概要を Fig. 14 に示した。 $\text{CO}_2$  発生速度は、マスフローメーターによって測定し、コンピューター (PC9801RX21, NEC Corp., Tokyo) に A/D コンバーター (Contec Co. Ltd., Osaka) を介して入力した。温度センサーにより測定した温度データは、コントローラー (Able Co. Ltd., Tokyo) に取り込み、



RS-232C を介してコンピューターと通信した。発酵液中の温度は上記コンピューターとリンクさせたコントローラーによって制御した。

超音波振動子は発酵槽の底部に装着した (Fig. 14)。その振動子は、ガラスエポキシ樹脂と銀電極プレートに挟み込んだ PZT セラミックプレートから構成されている。超音波の平均出力および振動数は、それぞれ  $30 \text{ mW/cm}^2$  および  $43 \text{ kHz}$  である。PZT セラミックプレートの直径は  $5 \text{ cm}$  であり、その総出力は  $590 \text{ mW}$  となる。

照射の強度は、発酵液 1 リットルあたりの強度 ( $\text{mW}$ ) として定義した。本超音波の条件下では、キャビテーションの発生は観察されなかった。

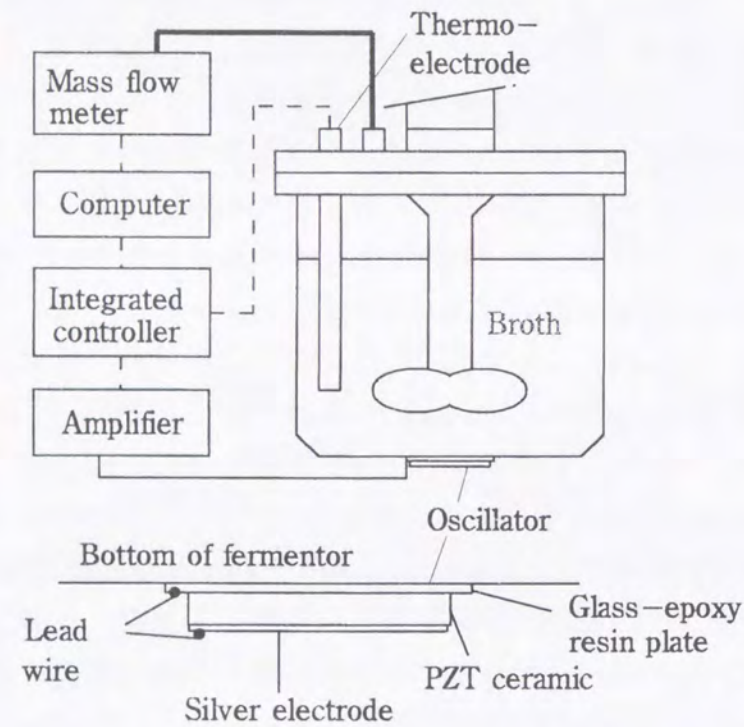


Fig. 14 Ultrasonic irradiation device and fermentor.

## 2. 2. 6 超音波強度の測定

超音波音圧の発酵槽内の垂直方向の分布は、室温にて 1 リットルの蒸留水を満たした状態で発酵槽中央部にてオシログラフを用いて測定した。超音波強度測定用の PZT セラミックセンサーは  $3 \times 3 \text{ mm}$ 、厚さ  $0.3 \text{ mm}$  である。超音波音圧は、超音波強度が  $590 \text{ mW/l-broth}$  であるときの、オシログラフ上に観察される電圧の強度の相対値として表現した。

## 2. 3 結果と考察

### 2. 3. 1 超音波照射による溶存二酸化炭素濃度の減少

超音波照射による発酵液からの  $\text{DCO}_2$  および  $\text{CO}_2$  発生速度の経時的变化を Fig. 15 に示した。この時の超音波強度は、 $454 \text{ mW/l-broth}$  であった。超音波の照射とほぼ同時に、発酵液の発泡と  $\text{CO}_2$  発生が観察された。そして、発酵液中の  $\text{DCO}_2$  が減少した。本実験条件においては、発酵液中の  $\text{DCO}_2$  の減少は 20 - 30 分以内に急速に起こることが確認された。

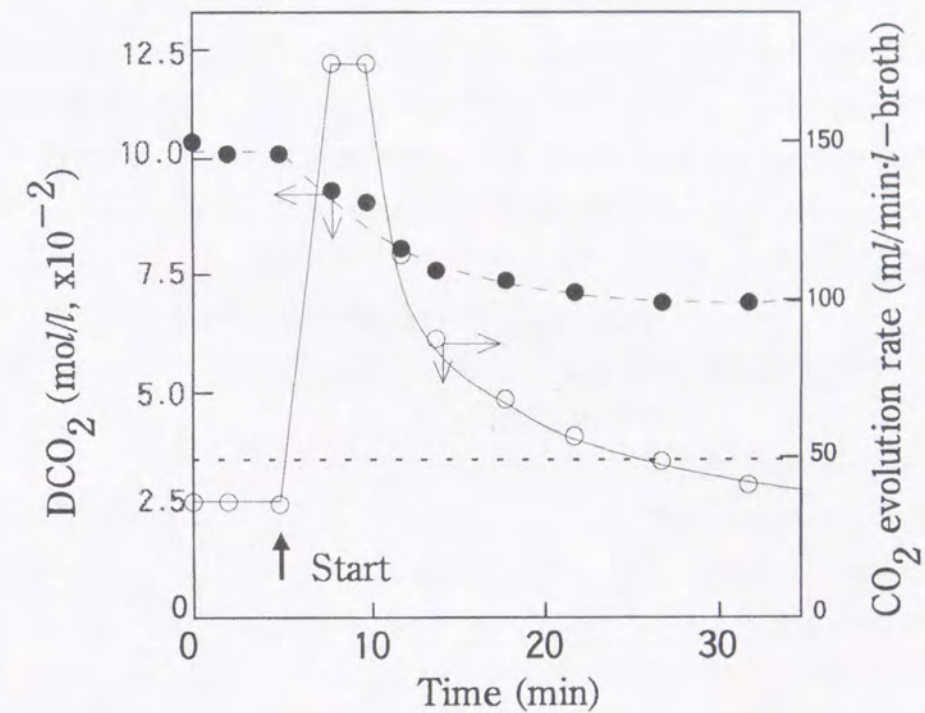


Fig. 15 Decrease in  $\text{DCO}_2$  and discharge of  $\text{CO}_2$  from broth by ultrasonic irradiation.

Preculture was inoculated into  $1300 \text{ ml}$  YEPD-medium; initial cell density was  $2 \times 10^7 \text{ cells/ml}$ , the broth was incubated at  $20^\circ \text{C}$  for 24 h with agitation at 200 rpm. One hour after agitation was stopped, ultrasonic irradiation was begun (arrow). Symbols: ●,  $\text{DCO}_2$ ; ○,  $\text{CO}_2$  evolution rate. Dotted line indicates the experimental value of  $\text{CO}_2$  saturation.

キャビテーションの発生が観察されなかったので、 $\text{DCO}_2$  の減少は、本実験の微弱な超音波による振動により生ずるものであると考えられる。したがって、 $\text{DCO}_2$  は Fig. 15 中点線で示した、ブンゼン吸収係数 ( $0.03897 \text{ mol/l}$ ) の飽和値以下には低減できないであろうと考えられる。



### 2. 3. 2 酵母増殖に及ぼす超音波照射の効果

酵母増殖に及ぼす超音波照射の影響を調査するために、発酵液容量を変化させた次の実験を行った。超音波振動子 (Fig.14) を 2l ビーカーの底部に装着し、YEPD 培地 (50, 100, 200, 500, および 1000 ml) をそれぞれの容量加えた。発酵液容量あたりの超音波強度は Fig.16 に示している。初発酵母濃度は、 $2 \times 10^7$  cells/ml とし、初発酵グルコース濃度は、220 g/l とした。DCO<sub>2</sub> および酵母濃度を、25 °C、54 時間後に測定し、Fig.16 に示した。超音波は培養を通して連続的に照射した。コントロール実験として、超音波照射しない培養を並行して行った。図中 S/V (cm<sup>-1</sup>) は、発酵液容量 (V, cm<sup>3</sup>) に対する発酵槽底面積 (S, cm<sup>2</sup>) として定義される。著者は、前報において<sup>2,8)</sup>呼吸欠損株が静置培養された場合、培養後の酵母濃度は S/V 値の上昇に従って、飽和曲線に沿って増加することを報告している。今回の実験においても、超音波無照射の場合には同様の傾向を示し、酵母濃度は DCO<sub>2</sub> の増加とともに減少した (Fig. 16)。したがって、その曲線は酵母増殖が DCO<sub>2</sub> の増加によって阻害されることを示唆している。

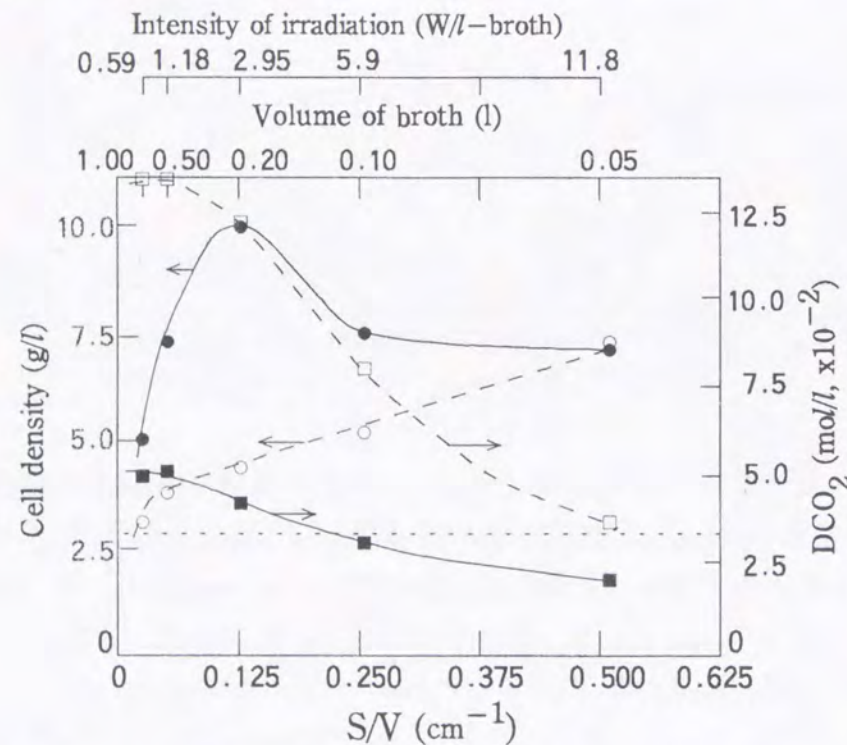


Fig. 16 Effects of broth volume on cell growth by ultrasonic wave irradiation.

S/V indicates the ratio of bottom area (25 cm<sup>2</sup>) to broth volume (50, 100, 200, 500, and 1,000 ml). Symbols: ○●, cell density; □■, DCO<sub>2</sub>. Solid lines and dashed lines indicate results with and without irradiation, respectively. Dotted line are the same as Fig. 15.

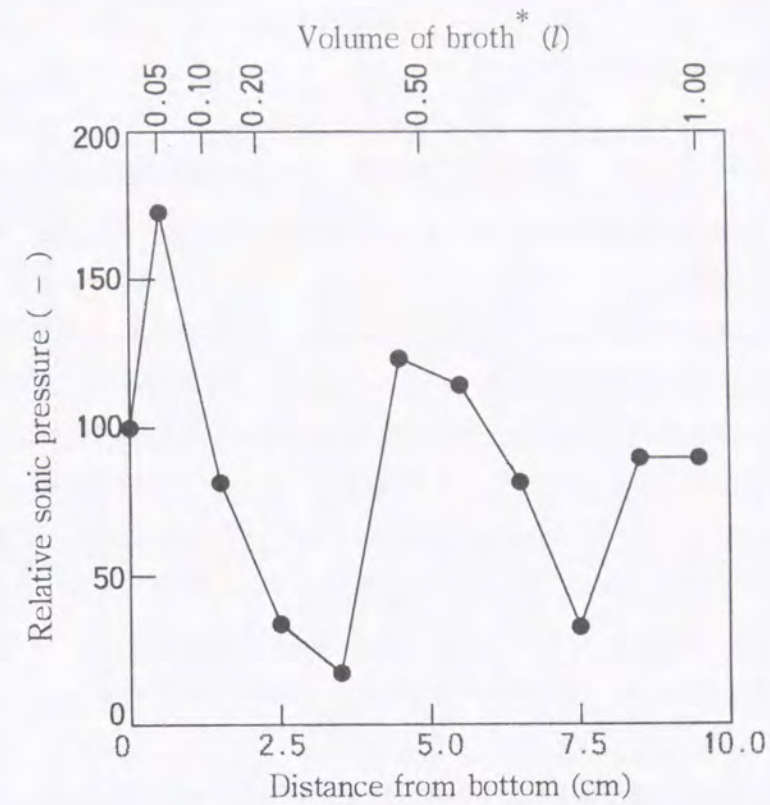


Fig. 17 Distribution of sonic pressure.

The measured values were plotted as relative values. The value above the ultrasonic oscillator was defined as 100%.

一方、超音波照射の場合、S/V の上昇に伴って DCO<sub>2</sub> 濃度は減少したが、酵母濃度と DCO<sub>2</sub> の間の関係は単純に比例的ではなかった。照射した場合の酵母濃度は、S/V=0.125 cm<sup>-1</sup>において無照射の場合のその二倍となった、しかし S/V=0.50 cm<sup>-1</sup>においてはほぼ等しいものであった。発酵液液量に対する超音波の最適な強度が存在し、2950 mW/l-broth であることがわかった。そのビーカーの中央部における超音波音圧の分布を測定した。観察されたデータを Fig.17 に示した。これらの結果から、次の考察を行った。(i) 超音波強度が発酵液液量に対して過剰である場合には、超音波は酵母増殖に負の影響を与えるのではないか。(ii) ぼんやりした定在波が観察され、その波のピークが次第に減衰していることがわかる (Fig.17)。平面状に照射された音波が直角に入射した時、入射波と反射波とが重なり合って、進行しない音波ができる、これを定在波という。この波は収縮と拡張を行う波であるが、これらのいずれかは酵母増殖に影響を与えるかもしれない。Fig.16 において超音波照射した場合の酵母濃度にピークが存在する理由として、定在波の 1/2 波長 (1 波長 5 cm 程度と観察される) 以上の距離がない場合には、酵母へ音圧がかかりすぎ、不活性化されていることが推察される。



### 2. 3. 3 発酵に及ぼす超音波照射の効果

これまでに述べてきたように、超音波の照射は、全体的には酵母増殖に対して促進的に働くことがわかった。次に、エタノール生成において超音波の影響があるか否かを調べた。

固定化酵母 10ml を 11.7g/l の Yeast Carbon Base (Difco) および 200 g/l のグルコースからなる培地に加えた。培養は 25℃ にて行った。ここで、超音波照射による酵母増殖を避けるために、固定化酵母を用い、窒素源フリーの培地を使用した。発生した CO<sub>2</sub> と DCO<sub>2</sub> のデータを Table 4 に示した。その結果、超音波照射した場合の DCO<sub>2</sub> 濃度は超音波無照射の場合より低く推移したにも関わらず、超音波照射は CO<sub>2</sub> 生成量（エタノール生成と化学量論的に比例関係にある）には影響を与えなかった。

Norton と Krauss<sup>65)</sup> は、酵母によるエタノール生成が DCO<sub>2</sub> の 4 気圧下においても影響のないことを報告している。本実験の結果もその報告に合致した。

Table 4 Effect of ultrasonic irradiation on ethanol production by immobilized yeasts

		Incubation (h)		
		21	47	142
No irradiation	DCO <sub>2</sub> (mol/l, x10 <sup>-2</sup> )	8.50	8.77	5.04
	Evolved CO <sub>2</sub> (g)	4.4	12.3	34.6
Irradiation	DCO <sub>2</sub> (mol/l, x10 <sup>-2</sup> )	4.72	4.07	3.63
	Evolved CO <sub>2</sub> (g)	4.7	13.1	35.8

### 2. 3. 4 酢酸イソアミル生成に及ぼす溶存二酸化炭素濃度の影響

エステル生成に及ぼす、DCO<sub>2</sub> および超音波照射の影響を調べた。初発グルコース濃度 100 g/l の YEPD 培地 1300 ml に、28 g（湿重量）の菌体を接種した。無攪拌状態で 20 ml/min. の通気速度で純窒素あるいは炭酸ガスを通気した。培養は 20℃ 一定にて行った。あわせて超音波照射および無照射における通気無しの実験も行った。照射強度は、454 mW/l-broth とした。DCO<sub>2</sub> 測定値および酢酸イソアミル濃度を Fig. 18 に示した。菌体、エタノール、酢酸イソアミル濃度の最大値を Table 5 に示

した。窒素ガスを通気した場合、超音波照射と無照射の間で、イソアミルアルコールにわずかな違いが見られた以外に差異は見られなかった。炭酸ガスを通気した場合、超音波照射したときの酵母増殖と酢酸イソアミル濃度の最大値は、無照射の場合よりも大きかった。照射した場合の最終の酢酸イソアミル濃度は、無照射した場合の 1.16 倍であった。超音波照射および無照射の場合の最大の DCO<sub>2</sub> の測定値は炭酸ガス通気においては同じであったが (Table 5) 照射した発酵液中の DCO<sub>2</sub> レベルは無照射したものよりよりわずかに低く推移した (Fig. 18, □■)。以上より、酵母増殖、イソアミルアルコール及び酢酸イソアミル濃度における違いは DCO<sub>2</sub> レベルの違いが一つの原因であることがわかる。20℃、1 気圧における水への二酸化炭素のブンゼン吸収係数は、0.03897 (mol/l) であるので、炭酸ガス通気の場合の DCO<sub>2</sub> レベルは、Fig. 18 中点線で示したブンゼン吸収係数の実験値よりわずかに高く推移していた。超音波照射も通気も無い場合の DCO<sub>2</sub> レベルは、ブンゼン吸収係数の約二倍に達し、そして超音波照射した場合においても 1.5 倍であった。窒素ガスを通気した場合には、DCO<sub>2</sub> は発酵期間を通じて常にブンゼン吸収係数を下回っていた。DCO<sub>2</sub> レベルにおけるこの違いは、明らかに分析値の違いの原因となっている。超音波照射した場合の酢酸イソアミル濃度は、照射しない場合の 1.46 倍となった。

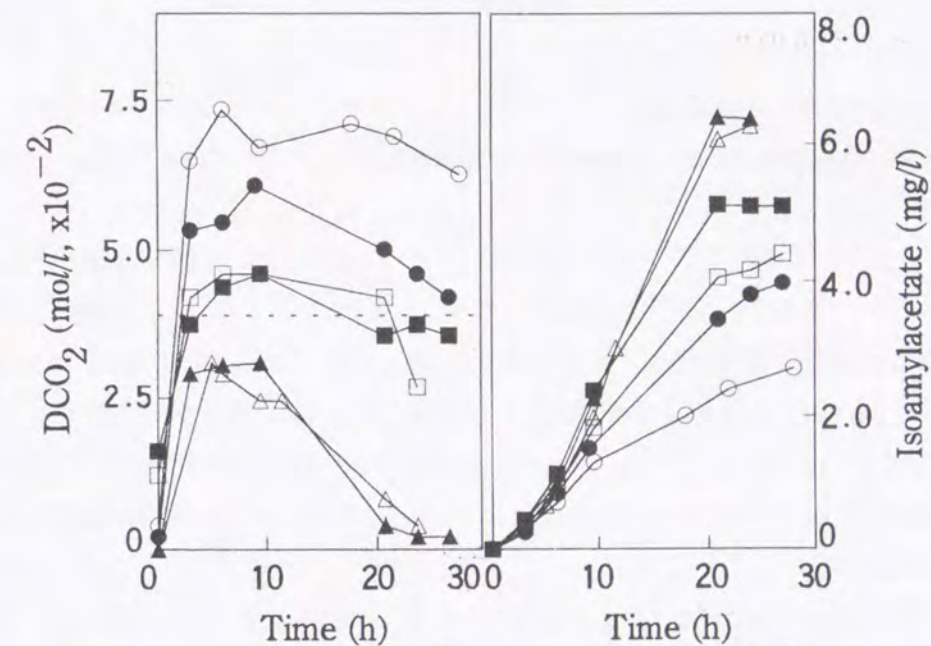


Fig. 18. Effect of ultrasonic irradiation on DCO<sub>2</sub> and isoamylacetate formation. Symbols: ○□△, no irradiation; ●■▲, irradiation; ○●, no gas ventilation; □■, CO<sub>2</sub> gas ventilation; △▲, N<sub>2</sub> gas ventilation. Dotted line is the same as in Fig. 15.



Table 5 Maximum values in fermentations under different gas ventilation and ultrasonic irradiation conditions

	Ventilation			Ultrasonic irradiation		
	N <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	no ventilation	+	-	-
Cell concentration (g/l)	8.97	8.97	9.15	7.09	9.66	7.61
Ethanol (g/l) <sup>a</sup>	43.4	41.8	42.6	44.2	42.6	38.7
DCO <sub>2</sub> (mol/l x 10 <sup>-2</sup> )	3.10	3.10	4.60	4.60	6.07	7.32
Isoamylalcohol (mg/l)	145.7	134.7	140.4	118.1	87.7	66.3
Isoamylacetate (mg/l)	6.43	6.33	5.12	4.42	3.98	2.73
+/- <sup>b</sup>	1.02		1.16		1.46	

a Values after 22 h incubation.

b Ratio of isoamylacetate with ultrasonic irradiation to that without irradiation.

窒素ガス通気の結果において、イソアミルアルコールの濃度がわずかに異なっていたこと以外、さしたる差異も認められなかったことから、酵母細胞に及ぼした超音波の効果は DCO<sub>2</sub> 飽和値以下に DCO<sub>2</sub> を保った場合にはごくわずかであったことが示唆される。Fig. 16 の結果を考慮に入れると、酵母増殖だけでなく、エタノールおよびエステル類、高級アルコール類の生成を、超音波照射による DCO<sub>2</sub> 濃度の低下が加速させたことが明らかである。その他の成分の生成への影響も、更に検討する必要がある。

Jones と Greenfield<sup>48)</sup> は、菌体合成とピルビン酸からアセチル Co-A への代謝が特に CO<sub>2</sub> によって阻害されることを報告している。本研究においても、エタノールの生成は阻害されなかったものの、酵母増殖や酢酸イソアミル生成そしてその基質であるところのアセチル Co-A やイソアミルアルコールの生成が二酸化炭素によって阻害を受けていることが確認された。結局、エタノール生成は酵母菌体への DCO<sub>2</sub> の阻害効果が超音波照射によって低減されることから結果として促進される

と考えられる。

### 2. 3. 5 ビール、ワイン、清酒発酵工程への応用

次いで、超音波照射の効果を実際の醸造原料を用いて確認した。ぶどう果汁、麦汁および糖化液の容量はそれぞれ 1.5、1.0、および 0.8 リットルである。この時の発酵液あたりの超音波強度は、393、590、そして 738mW/l-broth である。発酵は 15℃で行なった。

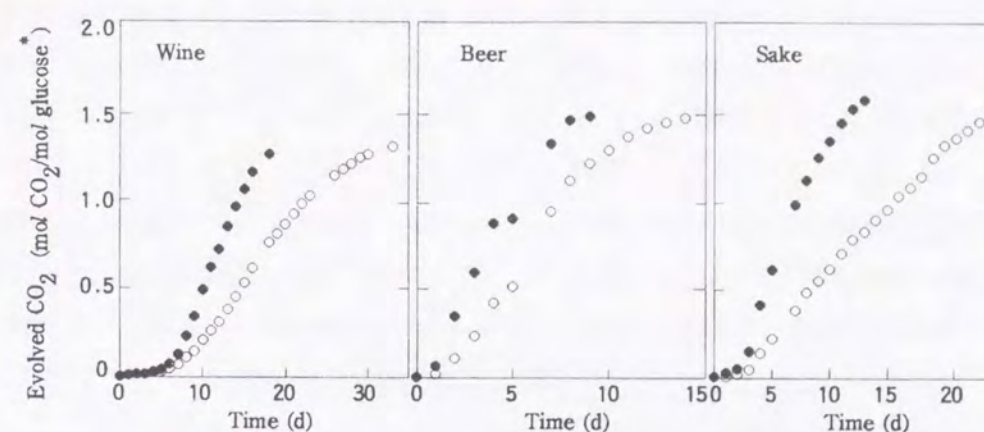


Fig. 19 Reduction of fermentation periods in wine, beer, and sake by ultrasonic irradiation.

Sake was brewed from saccharified rice solution. Evolved CO<sub>2</sub> was defined as the molar amount of evolved CO<sub>2</sub> to the molar amount of initial glucose.

Symbols: ○, no irradiation; ●, irradiation.

発酵液からの炭酸ガス発生量の推移を Fig. 19 にプロットした。超音波照射した発酵液の炭酸ガス発生速度は、全ての場合において超音波照射しない場合に比べて早かった。所定の炭酸ガス発生量に到達するために要した発酵日数は、超音波照射した場合しない場合に比べて、ワイン、ビールおよび清酒に関してそれぞれ 60%、64% そして 50% 短縮されていた。発酵後の分析値を、Table 6 に示した。二つの大きな傾向が観察された。(i) ワインおよびビールにおいて総酸度の上昇が超音波照射によって抑制されたこと。(ii) アミノ酸の消費が、ワインおよび清酒において促進されていたこと。加えて、エステル類および高級アルコール類の生成が照射によって促進された。しかし、カプロン酸エチルの生成には影響を与えなかった。上記の超音波照射による影響の程度の違いは、酵母菌株や醸造原料の違いからもたらされるものであると考察される。しかし、照射における酵母濃度無照射のそれよりも



Table 6 Chemical analyses of wine, beer, and sake

	Wine		Beer		Sake <sup>a</sup>	
	Ultrasonic irradiation					
	+	-	+	-	+	-
Intensity (mW/l)	393	0	590	0	738	0
Total acidity (m)	8.95	9.30	3.10	3.30	4.30	4.30
Amino acidity (m)	0.30	0.60	0.30	0.30	0.45	1.00
Acetoaldehyde (mg/l)	14.5	18.4	6.4	9.3	42.4	30.5
Isobutanol (mg/l)	36.7	14.9	7.1	3.0	5.7	7.4
Isoamylalcohol (mg/l)	123.9	95.1	90.2	54.4	72.6	70.5
Isoamylacetate (mg/l)	0.8	0.1	N.D. <sup>b</sup>	N.D.	3.3	1.9
Ethylcaproate (mg/l)	0.3	0.2	0.1	trace	0.8	0.8

a Made from saccharified rice solution.

b Not detected.

高くなっていることを考えれば、アミノ酸の消費や香気成分の生成が照射により説明されるのは納得されるが、総酸度の減少が何によるものかは今後の検討の余地がある。

### 2. 3. 6 酢酸イソアミル生成の最適温度制御への応用

第一章で導出した酢酸イソアミル生成のための最適温度軌道制御<sup>67)</sup>と超音波照射を組み合わせて制御実験を実施した。醸造原料を用いた場合上記のように実験データが変動する可能性があるので再現性良く超音波の効果を見るために、初発グルコース濃度 220 g/l の 1300 ml の YEPD 培地を発酵原料とした。発酵液は、200 rpm で穏やかに攪拌した。超音波は発酵期間を通して常に 454 mW/l-broth の強度で照射した。第一章で求めたように、最適温度軌道に対応するエタノール生成速度軌道をあらかじめ計算しておき、二酸化炭素発生速度から推定されるエタノール生成速度が目標軌道に追従するように温度を操作する、第三章で述べる発酵速度軌道制御を用いて制御を行った。その制御の結果得られた発酵液の香気成分分析結果を Table 7 に示し

た。

その結果、温度最適制御のみによって、定温条件における酢酸イソアミル最高値を観察した 20 °C の場合と比較して、1.71 倍の酢酸イソアミルが生成した。加えて、温度最適制御と超音波照射を組み合わせることによって、2.51 倍の酢酸イソアミルが生成した。また、アセトアルデヒド生成が、温度制御と超音波照射によって抑制される傾向が観察された。その他のエステル類や高級アルコール類の生成もまた最適制御、加えて最適制御と超音波の組み合わせによって促進された。

本研究によって得られた知見は、超音波照射がワイン、ビールそして糖化液を用いた清酒の発酵工程において発酵速度やエステル生成、また酸度やアミノ酸度の新たな効果的制御手段となりうることを示唆している。さらに、アルコール発酵の品質の多様性を温度と超音波を組み合わせることによって拡張することのできる可能性がある。

Table 7 Effects of ultrasonic irradiation on isoamylacetate formation under the optimal trajectory condition of ethanol production rate (mg/l)

	20 °C <sup>a</sup>	Optimal trajectory	Optimal trajectory + ultrasonic irradiation
Acetoaldehyde	20.4	15.0 (0.74) <sup>b</sup>	10.2 (0.50)
Ethylacetate	15.0	19.2 (1.28)	26.7 (1.78)
Isobutanol	16.6	19.5 (1.17)	24.1 (1.45)
Ethylbutylate	0.17	0.27(1.59)	0.31(1.82)
Isoamylalcohol	117.2	154.3 (1.32)	165.5 (1.41)
Isoamylacetate	5.58	9.55(1.71)	14.01(2.51)
Ethylcaproate	1.18	1.27(1.08)	1.46 (1.24)

a Fermented in isothermal conditions throughout the fermentation period.

b The ratio of concentration to that of 20 °C .

### 2. 4 結論

酒類の発酵工程においては温度がほとんど唯一の操作手段であるが、温度以外の操作手段を開発する目的から超音波照射について検討した。その結果以下の知見を得た。超音波照射によって発酵液中の溶存二酸化炭素 (DCO<sub>2</sub>) 濃度を低減させるこ



とができ、 $\text{DCO}_2$ 低下によって酵母増殖、エステル生成等が促進された。発酵液あたりの超音波強度には最適値が存在し、1lあたり3W程度が適当であった。窒素ガスを通気しながら超音波照射の影響を調べたところ、超音波を照射しない場合と比べほとんど差異がないことから、超音波による酵母増殖やエステル生成の促進の効果は $\text{DCO}_2$ の低減によって大部分がもたらされていると考えられた。固定化酵母を用いた非増殖系の実験によって、超音波の効果はエタノール生成には寄与しないことが確認された。実際の醸造原料を用いて超音波の効果を確認したところ、酵母増殖の増大によって発酵が促進され、エステル類や高級アルコール類の生成が高くなり、アミノ酸度や酸度が低く抑えられる傾向があることが観察された。したがって、醸造工程において、味と香りを制御するための手段となることが示唆された。さらに、第一章で述べた最適温度制御と超音波照射を組み合わせることによって、酢酸イソアミルの生成を定温条件の最高値の2.5倍に高めることが可能となった。

実用的には、液状の原料を用いる場合には超音波の伝播において優れているため、超音波振動子をタンク底部に装着すれば、溶存二酸化炭素濃度低下を生じさせることは簡単である。

## 第二章の記号表

$\text{DCO}_2$ : dissolved carbon dioxide, mol/l

S : area of bottom of fermentor,  $\text{cm}^2$

V : volume of broth, l

## 第三章 発酵速度軌道制御による清酒発酵プロセスのオンライン制御

### 3.1 はじめに

第一章および第二章で示してきた方法論および結果は、特に液状化された原料を用いてなされてきたものであり、従来工法の清酒醪に適用するにはさらに詳細な討論が必要である。特に清酒発酵工程において重要な制御変数であるエタノール濃度<sup>6, 11)</sup>を、発酵終了時点で目標値に制御するという点に焦点を絞って、本章をまとめた。

清酒発酵工程に関する制御の試みは、Sugimotoらの報告<sup>1, 2)</sup>を始めとして幾つか提案されてきた。これらの報告は、主としてアルコール濃度や日本酒度(比重)を発酵終了時点で目標値に一致させることをその目的としている。それらを二つに大別することができる。第一は、清酒醪の動的な特性を数式モデルに基づき速度論的に把握するものである。まず、速度式中のパラメーターを実測値によって推定する。次いで、発酵終了時点のアルコール濃度等を速度式を解くことによって予測し、適応制御によって予測値と目標値の偏差を小さくするために温度を操作するものであった<sup>1, 6, 11, 19, 20)</sup>。第二は、速度式の代わりに温度とアルコール濃度等の入出力関係をファジィ推論によって表現するものである。アルコール濃度やポーメ(日本酒度と同義)の予定の参照軌道を用意して、その参照軌道と測定値の偏差を小さくするような温度操作を行うものである<sup>20, 22, 27)</sup>。

前者の制御手段においては、清酒醪の特性であるところの蒸米の溶解、グルコースの生成そしてアルコールの生成という反応機作を忠実に把握してモデル化し、そのモデルをそのまま制御のための内部関数にするものであった。一方ファジィ制御においては、アルコール濃度や比重の状態量から温度操作量を出力するという入出力関係をメンバーシップ関数とファジィルールによって近似させようとする視点に立ち、醪進行の現在の状態、アルコール濃度やポーメの切れを参照値に矯正させようとするものであった。

これらの制御方法はおおむねその目的を達成しているが、システムの柔軟さ、簡単さの観点から、次のような問題点が存在するように思われる。適応制御においては、実測値に過度に適応して、液化仕込において大石が指摘しているような温度のフレが生じること<sup>6, 11)</sup>、ファジィ制御においては仕込みの条件(酵母や米の品種)が

脚注) 以降、エタノール濃度をアルコール濃度とすることがあるが、清酒の管理においては無機的な響きのあるエタノールという言葉が避けられる傾向があるので、本章ではアルコール濃度を特に使用する。



異なればメンバーシップ関数やルールを調整し直さなければならないことなどである。

著者らはここに、非常に簡単に実現可能なオンライン制御方法を提案する。その原理は、アルコールの生成速度をあらかじめ計算しておいた軌道に一致するように制御すればアルコール生成量はアルコール生成速度の積分値であるから、必ずあらかじめ求めておいた生成量が達成されるというものである。ただし、通常どおり原料処理、酒母の調製が行われた場合の話であり、そうでない場合の対処方法については言及していない。

この制御方法は原エキス分の変化しない単行発酵（第一章参照）や液化仕込みのみならず、並行複発酵においても適用可能であることを示す。布川は発酵中期以降グルコアミラーゼ活性がアルコール発酵の律速となること<sup>14)</sup>、Sugimotoらはグルコース生成がアルコール発酵を制限し、かつ、発酵第二フェーズにおいて米の溶解がグルコース生成を制限するであろうこと<sup>15)</sup>を推察している。著者らはこの点に着目し、アルコール生成速度のみを監視することで清酒醪の制御が可能となることを示す。

### 3. 2 実験材料および方法

#### 3. 2. 1 発酵速度軌道制御

発酵期間中、原エキスの変化しない単行発酵や液化仕込みにおいては、液量の変化が起こらない、あるいは微少であるので、アルコール生成速度の軌道に対して忠実にこれを実現すればアルコール濃度はアルコール生成速度を積分したものであるから、あらかじめ計算した目標値が得られる。

一方、清酒、焼酎、味噌および醤油の発酵プロセスは周知の通り並行複発酵と呼ばれる複雑なプロセスである。すなわち、原料穀物の液化、糖化とアルコール発酵が同時進行するために液相部の容積は常に変化する。このため上記単行発酵のようにアルコール生成量を制御したとしても、液相量が変動するのでアルコール濃度が必ずしも設定値になるか否かは保証されない。したがって、アルコール生成速度軌道の算出にあたっては溶解とアルコール生成の両者を考慮する必要がある。並行複発酵においては次のようにアルコール生成速度軌道を算出した。

アルコール生成速度軌道算出の手順を Fig. 20 に示した。著者らは2つの方法を用いた。一つは過去の仕込条件の似たいくつかの結果をデータベースから検索し、アルコール濃度と液量の時系列からアルコール生成量の時系列を作成する。これを最小自乗法により近似し、得られた関数を微分することによってアルコール生成速度

軌道を求めた。液量と溶解率は日本酒度とアルコール濃度、そして投入した米、麹および水の量から算出した<sup>11)</sup>。本法を制御実験に用いた。

第二はアルコール濃度と溶解率の時系列をそれぞれの速度式によって最小自乗近似する。この時、パラメーター推定のためにはシンプレックス法を用いた。各パラメーターが推定された後、温度時系列を速度式に与えてアルコール濃度、液量を算出し、これらからアルコール生成速度軌道を計算した。この時発酵終了時点のアルコール濃度、日本酒度は速度式の計算結果から算出できるので、その値が十分であれば、その軌道を採用し、十分でなければ別の温度時系列を与えて計算を繰り返した。本法により求めたアルコール生成速度軌道を用いる発酵速度軌道制御の方法によって発酵終了時点に所定のアルコール濃度が得られることを、シミュレーションモデルによって証明した。ここで問題としているのは、アルコール濃度が目標値どおりに制御された場合に、米の溶解が目標値通りに制御できるか否か、またその逆ができるか否かということが問われている。温度のみを操作することによって、アルコールの生成と米の溶解を同時に制御できなければならないのである。

制御にあたっては、アルコール生成速度を測定しなければならないが、アルコール発酵においては二酸化炭素発生速度を計測することで十分代用可能であることが報告されている<sup>26, 30, 37)</sup>。したがって、アルコール発生速度は、化学量論的に二酸化炭素発生速度と比例関係にあると仮定して、

$$\frac{dP}{dt} = K r_{CO_2} \quad (3-1)$$

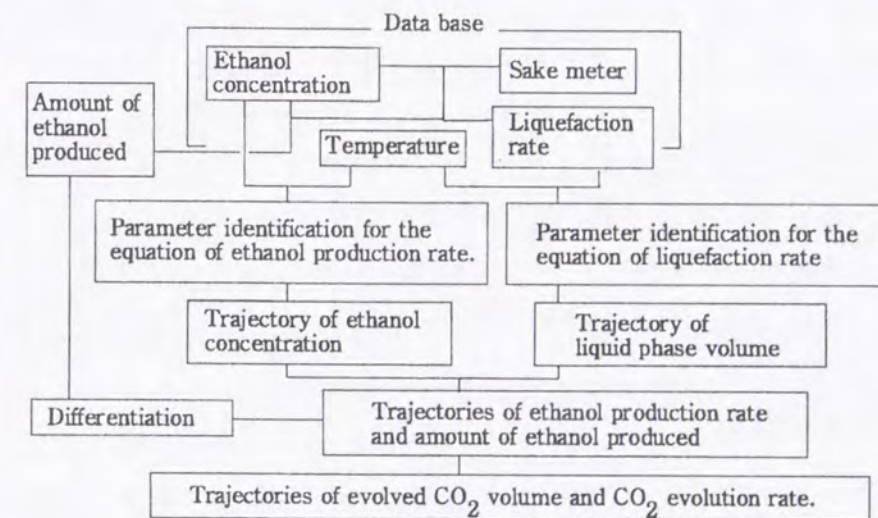


Fig. 20 Calculation procedure of trajectories of the ethanol production rate and the amount of ethanol produced.



ここで、 $P$ はアルコール生成量(g)、 $K$ はアルコール生成と二酸化炭素の生成が化学量論的に比例関係にあると仮定したときの、発生した二酸化炭素の単位体積あたりのアルコール生成量(g-ethanol/l-CO<sub>2</sub>)、 $r_{CO_2}$ は二酸化炭素発生速度(l-CO<sub>2</sub>/h)、そして $t$ は時間(h)である。

また、アルコール生成量は上式を積分することによって算出することができる。

$$P = P_0 + K \int_0^t r_{CO_2} dt \quad (3-2)$$

ここで、 $P_0$ は制御開始時のアルコール生成量である。

制御は、計算された二酸化炭素発生速度軌道に対して計測値が一致するように比例制御にて温度を操作した。アルコール生成量をその計算軌道に一致させるために、誤差その他の原因で、(3-2)式のように二酸化炭素総発生量から求めたアルコール生成量が目標軌道に一致しない場合には、二酸化炭素発生量の測定値と目標値の差の100分の1を1制御サイクルの二酸化炭素発生速度目標値に加味して、二酸化炭素生成速度と生成量が常に目標軌道と一致するように制御した。

### 3. 2. 2 使用菌株、仕込配合および分析方法

日本醸造協会配布の *Saccharomyces cerevisiae* Kyokai-701 を用いた。

仕込配合は Table 8 に示した。二段仕込、三日踊りとした。麴は常法どおり調製したが、制御試験においては故意に同じ調製区分の麴を使用しなかった。したがって酵素力価もばらついていた。使用した米は1992年産の多用途利用米(精米歩合80%)、八重黄金(82%)、金南風(70, 72%)を用いた。水麴における初発酵母濃度は  $2 \times 10^7$  cells/ml を標準とした。初発酵素活性の条件を高くした仕込においては、 $\alpha$ -amylase としてアミラーゼK(天野製薬)および glucoamylase としてグルコアミラーゼアミノ(天野製薬)をそれぞれ用い、初添から添加した。初発酵素活性を低くした仕込みにおいては初添の麴の一部を熱失活させた。

アルコール濃度はガスクロマトグラフ(日立 063 型)により、日本酒度は比重計(京都電子工業、DA-310)により測定した。グルコースは酵素法により測定した。

### 3. 2. 3 制御装置

制御装置は、水槽および温度調節するためのヒーターとクーラー、そして電磁弁、温度センサー、インターフェースボードおよびパソコンから構成された。二酸化炭素発生速度を計測するために、マスフローメーター(小島製作所)を用いた。

Table 8 Proportions of materials for sake mashing

		Feed				Total
		1st (mizu-koji)	2nd (soe)	3rd (naka)	4th (tome)	
Total amount of rice	(g)	40	200	0	560	800
Steamed rice	(g)	0	80	0	560	640
Rice koji	(g)	40	120	0	0	160
Water	(ml)	240	720	0	160	1120

### 3. 3 実験結果

#### 3. 3. 1 シミュレーションモデルによる検証

本発酵速度軌道制御が、並行複発酵においてどれだけの性能を持つものであるのかを検討するために、シミュレーションによる制御試験を行った。シミュレーションモデルとして、杉本らが報告しているモデル<sup>33-36)</sup>を用いた。本モデルは、液相容量の算出、全糖濃度の算出、蒸米の溶解、難溶性および易溶性の麴の溶解、グルコースの生成、菌体増殖およびアルコールの生成速度式から構成されており、清酒の並行複発酵を詳細にモデル化している。パラメータは藤田、杉本らの文献<sup>18, 33-36)</sup>に従い、方法の項で述べた仕込配合で行った。

シミュレーションは刻み時間1時間として行い、上記の発酵速度軌道制御により温度を操作した。アルコール生成速度軌道は適当な温度時系列を与えてあらかじめ計算したシミュレーション結果とした。

Table 9はシミュレーションの初期値を変化させた時の、 $\alpha$ -amylase と glucoamylase、および初発菌体濃度の値を示している。Run1-1の条件を標準とし、酵素活性のばらつきは、ほぼ製造現場のそれと等しくした。アルコール生成速度軌道を求めた条件は Run1-1 に示したものとし、それ以降の制御シミュレーションは Run1-1 のアルコール生成速度結果を制御目標軌道とした。



Table 9 Initial conditions for simulation

Run	$\alpha$ -amylase (U/g-rice)	Glucoamylase (U/g-rice)	Initial cell conc. ( $\times 10^7$ cells/ml)
1-1	140	40	2
1-2	180	40	2
1-3	100	40	2
1-4	140	30	2
1-5	140	50	2
1-6	140	40	1
1-7	140	40	4
1-8	180	50	4
1-9	100	30	1

結果を Fig. 21 に示した。Fig. 21 には明示しなかったが、制御されたアルコール濃度はいずれの実験条件においてもほとんど同じ軌道上を変化した。アルコール生成速度の制御結果は刻み時間が1時間と長いために、大きな過渡応答が観察されるが、発酵後期には安定した。この過渡応答はシミュレーションの刻み時間を短くすると小さくなると考えられる。また、発酵終了時点の米の溶解率はいずれも Run1-1 の結果と一致した。この時、温度についてのシミュレーション結果に着目してみると、酵母濃度には余り影響されず、留後数日で同じ温度レベルで推移していた。glucoamylase 濃度に対する温度操作結果において、発酵後半にその影響が小さくなっているが、目標通りのアルコール生成速度軌道を実現するために、発酵初期に温度操作量に大きな違いが見られた。このことから、清酒醪においてはグルコースの消長がプロセス全体の速度を決定づける重要な因子であることがわかる。温度の変動は、グルコース濃度が0.5%程度に収まることによってしだいに解消した。 $\alpha$ -amylase 濃度の変化において、温度の違いは発酵終了まで継続された。このシミュレーション結果は杉本が考察したように、発酵後期において米の溶解がグルコース生成の律速となること<sup>14, 15)</sup>によると考えられる。いずれにしても、本発酵速度軌道制御によってアルコール濃度および溶解率の制御の可能性が示唆された。

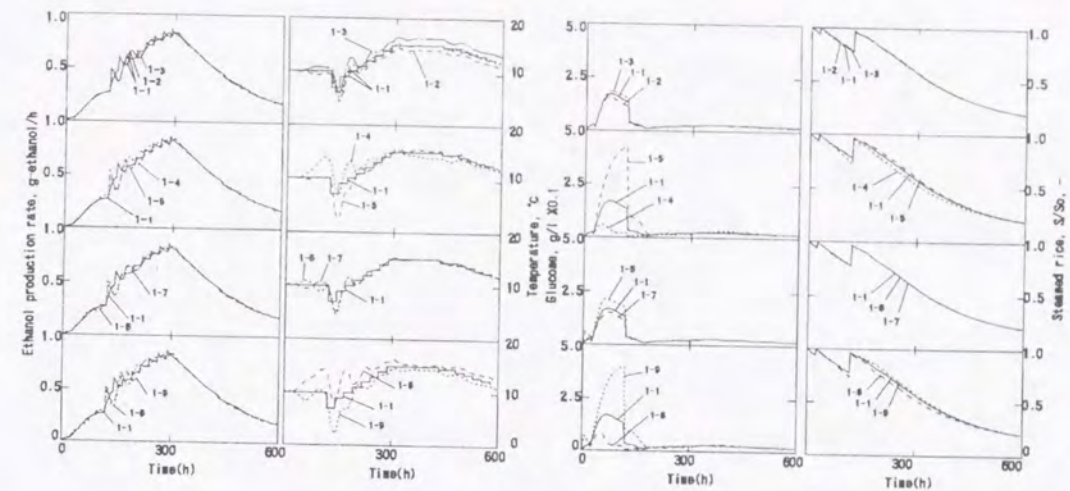


Fig. 21 Simulation results for trajectory control of ethanol production rate. The numbers in figure indicate the initial conditions in table 9. The trajectories of ethanol production rate were the simulation results of ethanol production rate in Run 1-1.

### 3. 3. 2 制御結果

次に、実際に制御実験を行った場合の結果を示す。既に報告されている制御例は、原ら<sup>7)</sup>が行ったファジィ制御において麴と酒母を変えた例があるが、いずれも同じ米の品種、菌株、菌体濃度、酵素力価に関して行われたものがほとんどであると思われる。ここでは、米の品種、麴のロット、菌体濃度、酵素力価を様々に変化させた、これまでの報告と比べて非常に過酷な条件の下で制御実験を実行した。製造現場における酵素活性のばらつきは、その標準偏差で評価すると、 $\alpha$ -amylase の場合 57 U/g-白米 (平均値の30%)、glucoamylase の場合 8.7 U/g-白米 (平均値の25%)であった。上槽は留後16日目とし、仕込配合は Table 8 に従った。

Table 10 に実験条件および上槽時点のアルコール濃度と日本酒度の分析結果を示した。初発酵母の比率、 $\alpha$ -amylase、glucoamylase はそれぞれ  $2 \times 10^7$  cells/ml、180 U/g-白米、35 U/g-白米を標準として採用した。制約条件として温度の操作範囲を、7°C - 20°C までとした。Run2-2 ~ Run2-10 において使用したアルコール生成速度の目標軌道は、あらかじめ適当な温度時系列を与え、実験条件を Run2-1 と同様にして行った時に観察された仕込結果のアルコール生成速度を直接最小自乗近似することによって求めた。制御結果全てにおけるアルコール濃度と日本酒度の平均値と標準偏差を併せて示した。その結果、アルコール濃度の標準偏差は 0.16 v/v%、日本酒度の標準偏差は 2.75 であり、かなりの精度であるといえる。一連の結果の中



Table 10 Experimental conditions and control results

Run	Variety of rice	Degree of polishing (%)	Initial cell ( $\times 10^7$ cells/ml)	$\alpha$ -amylase (U/g)	Glucosyl- $\alpha$ -amylase (U/g)	Alcohol (V/V%)	Sake meter (-)
2-1	ND <sup>1)</sup>	80	1	180	35	18.7	+7.5
2-2	ND	80	2	144	28	18.7	+4.8
2-3	ND	80	2	180	44	18.5	+6.9
2-4	ND	80	2	180	70	18.7	-1.2
2-5	ND	80	2	144	28	18.9	+3.6
2-6	Yaekogane	82	2	234	35	18.5	+2.0
2-7	Yaekogane	82	2	180	35	18.9	+4.5
2-8	Kinmaze	70	4	180	35	18.8	+6.8
2-9	Kinmaze	72	2	234	35	18.4	+0.2
2-10	Kinmaze	72	2	234	40	18.6	+4.6
Mean						18.67	+3.97
SD						0.16	+2.75
Mean <sup>2)</sup>						18.67	+4.54
SD <sup>2)</sup>						0.16	+2.14

1) Not defined. This rice was supplied from government.

2) Without a result of Run2-4.

で、glucoamylase 力価が突出して高い70 U/g-白米の Run2-4 の制御結果においては日本酒度が切れ残っており、布川が指摘しているように glucoamylase 力価が55 U/g-白米以上になる場合<sup>14)</sup>には、グルコースの制限によるアルコール発酵の律速が解除され、本制御方法によっては制御し得ないことが示唆された。しかし、通常の製麴操作によっては glucoamylase 力価がこのレベルまで達することは無いと言って良く、実質上問題ないと思われる。Run2-4 の制御結果を除いて標準偏差を計算したところ、日本酒度において2.14であり、これらの過酷な条件の中での制御結果であるから、かなり高精度であると言えるのではないだろうか。

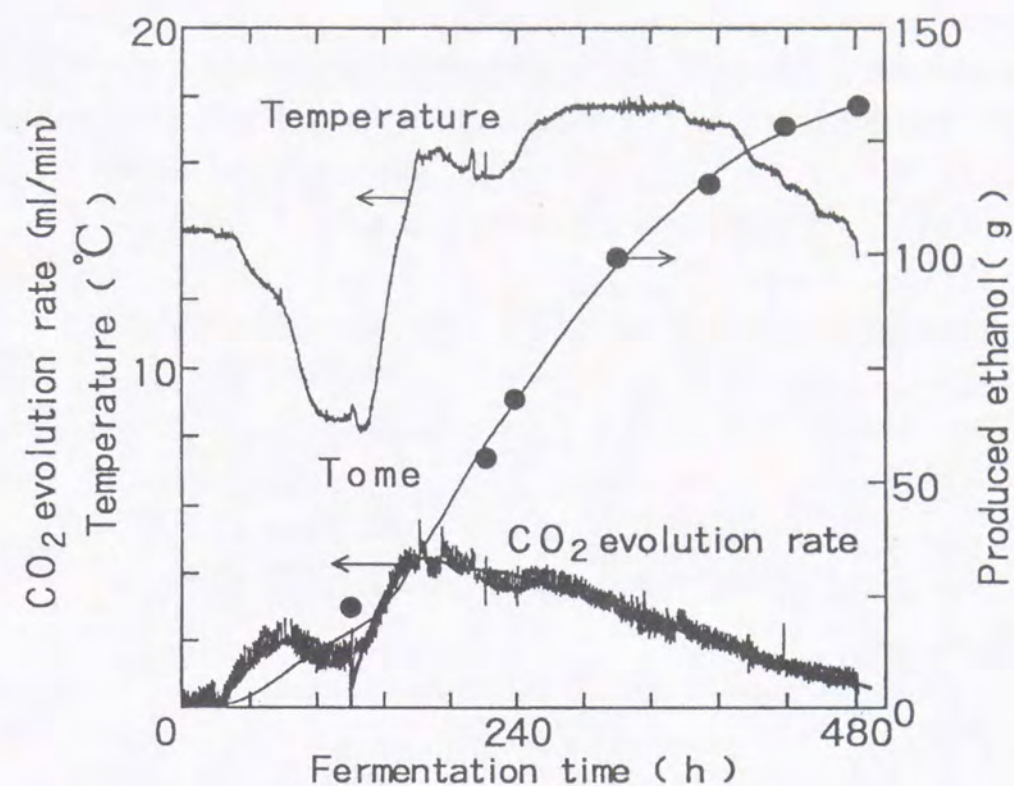


Fig. 22 A control result on the sake mashing process. The condition was that of Run 2-10. The trajectory of CO<sub>2</sub> evolution rate was indicated by the control result of CO<sub>2</sub> evolution rate.

Fig. 22に Run 2-10 の制御の経過を示した。これは典型的な制御結果の一つである。図中の●はアルコール濃度と日本酒度、および仕込配合から求めたアルコール生成量(アルコール濃度×液量)を示しているが、二酸化炭素発生速度から求めたアルコール生成量と良く一致していた。また、二酸化炭素発生速度は軌道に対して精度良く制御されていた。温度経過は全期間を通してなめらかに推移した。ただ、留直後の吸水による急激な蒸米の膨張から二酸化炭素の放出が閉塞傾向にあったために、少しオーバーシュートが見られた。その点以外は経験的な規範に照らし合わせても、十分妥当な温度経過であった。

### 3. 4 考察

#### 3. 4. 1 本制御方法が成功するための条件

本制御方法が当初の目的を達成する為には次の二つの制約を満たしていなければならない。



1) glucoamylase 力価が55 U/g- 白米以下であること。

2) ガス流速計の指示とアルコール生成速度の関係がある程度所与であること。

第一の点は本制御方法が布川<sup>14)</sup>、Sugimoto ら<sup>18)</sup>が示したアルコール発酵のグルコース濃度に基づいていることによる。Fig. 23に制御結果 Table 10の中から抜粋したいくつかのグルコース濃度の経時変化を示してある。

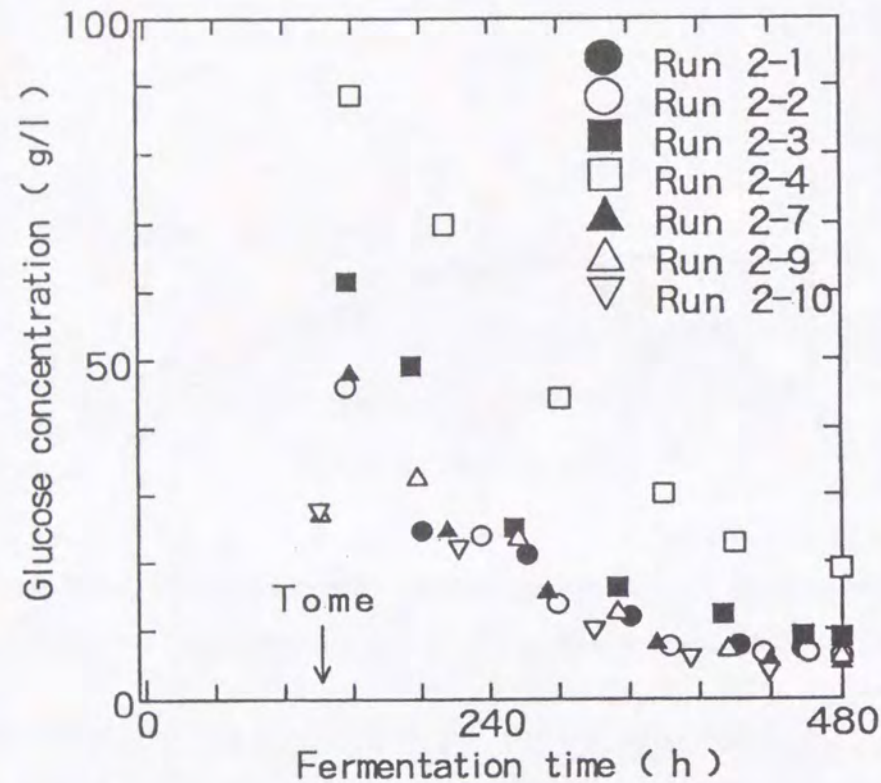


Fig. 23 The time courses of glucose concentration. Symbols ●, Run 2-1; ○, Run 2-2; ■, Run 2-3; □, Run 2-4; ▲, Run 2-7; △, Run 2-9; ▽, Run 2-10. These initial conditions are indicated in table 10.

Fig. 23から明らかなように、glucoamylase 活性の高い Run2-4 の濃度のみが高く、杉本の示したグルコース制限のかかる第二フェーズがほとんど見られないことが分かる。この様に、本発酵速度軌道制御が成功するためには、グルコース制限が発酵中期以降生じる必要があることが実験的にも確かめられた。すなわち、蒸米の溶解とグルコース生成、そしてアルコール発酵が独立して勝手気ままに振る舞うならばアルコール濃度と日本酒度の組み合わせは無数に存在しうることになり、温度のみを操作するだけではいかなる制御方法も無力であると考えられる。

第二の点はガス流速計をアルコール生成速度計測のために用いる場合の制約条件である。(3-1)式に示したように、二酸化炭素ガスの単位容量あたりに何単位のア

ルコールが生成するかを正確に知る必要がある。これは制御前にあらかじめガス流速を計測し、分析値と共に解析すれば知ることができる。また、制御中に分析値を与えてその係数を補正することも可能である<sup>26)</sup>。

### 3. 4. 2 本制御方法の利点および欠点

本発酵速度軌道制御の利点および欠点を Table 11にまとめた。本制御方法は上記のように、アルコール生成速度軌道が得られたならば制御中に行う演算はPI制御による温度操作量の決定に関するもののみであり、計算時間も短く、非常に小容量のメモリーを持つハードしか必要としない、例えば近年進歩の著しいシーケンサーやプログラマブルコントローラーと言った汎用の制御機器を用いて構築することも可能である。これまでに行われてきた適応制御においては比較的多くの繰り返し

Table 11 Advantages and disadvantages of the control method presented here

	Adaptive control <sup>18, 19, 69)</sup>	Fuzzy control <sup>21, 22, 70)</sup>	Presented method
Monitoring	Alcohol conc., Density	Alcohol conc., Density	CO <sub>2</sub> evolution rate
Parameter identification	Easy	Difficult	Easy
Simplicity in maintenance	High	Less	High
Volume of calculation	Big	Small	Small
Necessary memory	Small	Big	Small
Control cycle	Hours	Hours	Minutes
Starting point of control	After 3 days	After 3 days	Start of process
On-line sensing	Available	Available	Available
Constraint	Not specified	Not specified	Glucoamylase activity
Robustness	Normal	High	High
Costs	Normal	High	Low



計算を避けがたく、ファジィ制御においては専用の推論用のハードが必要であったり、大きなプログラムを作り込まなければならなかった。これに対して、本制御方法は複数のアルコール生成速度軌道を銘柄ごとに用意しておくだけで制御システムが構築可能であり、その軌道は過去の実績データを元にして容易に算出することができる。

一方欠点は、現在のところアルコール生成速度の代替としてのCO<sub>2</sub>生成速度を鋭敏に計測できるのがガス流速計だけであるということである。ガス流速計は安価であるが、水分を含むガスに対して精度が保証されないという問題がある。このため、ガス流速計に二酸化炭素ガスを導く前に、水分を除去する必要がある。しかし、ガス流速を測定することは酵母の活性を総括的に直接的に知るという点では非常に優れている。また、制御動作に対する応答の早さという面からすると、アルコール生成速度にまず応答が現れ、アルコール濃度に反映されるわけであるから、アルコール濃度を直接制御するよりも温度操作に対する応答が早く、過度な操作量を出力する危険性が減ることになると考えられる。さらに、醗後半の米の溶解が律速プロセス全体の律速要因になることから、発酵終了時点において目標の原料利用率を保証することにもなる。

### 3. 5 結論

本章では、特に清酒醗のアルコール濃度の目標値制御について検討した。本章で提案した発酵速度軌道制御は、優れた品質を持った酒が醸造できたときのアルコール生成速度軌道をもとにして、最小自乗近似によって決定しておいたアルコール生成速度軌道に、二酸化炭素ガス発生速度から推定されるアルコール発生速度を追従させるために温度を操作するものである。本方法の有効性を速度式を用いたシミュレーションモデル、および酵素力価、酵母初期濃度あるいは米の品種等を変化させた実験により検討したところ、発酵終了時点のアルコール濃度を十分な精度で制御できることが確認できた。本方法を用いれば、高度な制御方法を必要とすることなく、アルコール濃度の目標値制御を達成することができるため、装置の計装を簡素にすることができるので、他品種少量生産に適していると思われた。さらに、本制御方法が成功するための条件を考察したところ、アルコール発生速度を二酸化炭素発生速度から推定するための換算係数の同定が所与である必要があること、および、麴由来の glucoamylase 活性が 55 U/g- 白米という条件を満たすことであった。

### 第三章の記号表

$K$ : Yield of ethanol to evolved CO<sub>2</sub>, g-ethanol/l-CO<sub>2</sub>

$P$ : amount of produced ethanol, g

$r_{CO_2}$ : CO<sub>2</sub> evolution rate, l-CO<sub>2</sub>/h

$t$ : time, h



#### 第四章 Dempster-Shafer's 測度による清酒中微量成分からの官能評価の推定

##### 4. 1 はじめに

一般的に、清酒の発酵、調合そして品質管理プロセスは、最終的には官能評価によって管理されてきた。ガスクロマトグラフィや光学分析機器の示す指標と飲料や食品の官能評価との間の関係を表現することが試みられてきた<sup>75-77)</sup>。もしそのような関係が数学的なモデルによって表現できるならば、飲料や食品の味や香りを決定することに応用することができるであろう<sup>77)</sup>。この関係を表現するためのモデルとして多変量解析やニューラルネットワークが用いられてきた<sup>78)</sup>。しかしながら、多変量解析は多重共線性という問題を持つのみならず、入出力データの非線形な関係を表現できないことは良く知られている。一方で、ニューラルネットワークは高い学習能力を持ち、非線形な関係を表現できる。ところが、我々はニューラルネットワークによって提供される知識構造を容易には理解することはできない。なぜなら、ニューラルネットワークは、ただ結合荷重係数の符号と大きさを示すのみであるからである。そこで、著者は上記の関係を Dempster-Shafer 測度 (DS)<sup>79)</sup> によって記述することを試みた。DS はファジィ理論の一種とみなされ、図式化されたルールによって知識構造の理解を容易にしている。ところが、そのファジィネスを表現している基本確率の分布をどのように決定するかという問題を持っていた<sup>79)</sup>。本項では、データの入出力間の関係をより良く説明するように遺伝的アルゴリズム<sup>80)</sup>を用いてその分布を発見することを試みた。そして、その官能評価推定の能力について、Dempster-Shafer 測度、ニューラルネットワークおよび重回帰モデルを比較した。

##### 4. 2 実験材料および実験方法

###### 4. 2. 1 唎酒サンプルの調製

イオン交換樹脂 ICR-II (オルガノ、東京) 80 g を、1 l の原酒に加え、4 時間室温にて攪拌した。イオン交換樹脂を濾過して除き、活性炭 (和光、大阪) を添加した後室温にて 2 時間放置した。最後に 0.45  $\mu$ m のメンブランフィルターにて活性炭を除いた。この時点で、処理した酒中にアミノ酸、有機酸及びエステル類は検出されなかった。一方、高級アルコール類は 30% が残存していた。無機塩が存在しないと味覚細胞への刺激が小さくなるので、その酒に、NaCl 0.15g、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.06 g、そして CaHPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.06 g を添加した。

上記の手順により処理された酒に、12種の成分を添加し105個の唎酒サンプルを調製した。その内、65個のサンプルは、乱数によって決定した成分濃度となるように調製した。その他の40サンプルにおいては、意図的に官能評価が良い、あるいは悪い酒を作るために、成分の濃度を経験によって決定した。様々な濃度のサンプルを調製するために添加した成分とその濃度の範囲を Table 12 に示した。総酸度は6酒の有機酸濃度の合計値として計算し、官能予測モデルへの入力値として加えた。

入力データの分布は Fig. 24 に図示した。モデル学習のためのデータは、85サンプルであり、残りの20サンプルはモデルの予測能力の評価のための未学習データである。これらの濃度データは、それぞれの最大の濃度で割ることによって正規化した。有機酸の濃度分布において、4~5個のサンプルの濃度がその他のものより比較的高くなっていた。イソブタノールとイソアミルアルコールは、Table 12にあるようにイオン交換樹脂による処理では取り除けなかったため、それらの低濃度サンプルは存在しない。また、予測のための未学習データの分布は、学習データの分布に一致していることがわかる。

Table 12. Components of the input variables and their concentrations

Component	Concentration	
	Low	High
Amino acid mix. (m/l) <sup>a</sup>	0	2.0
Lactic acid (m/l) <sup>b</sup>	0	0.8
Acetic acid (m/l) <sup>b</sup>	0	0.8
Pyruvic acid (m/l) <sup>b</sup>	0	0.9
Malic acid (m/l) <sup>b</sup>	0	0.7
Citric acid (m/l) <sup>b</sup>	0	1.0
Succinic acid (m/l) <sup>b</sup>	0	0.7
Total acidity (m/l) <sup>b</sup>	0.8	2.4
Ethyl acetate (ppm)	0	206
Isobutyl alcohol (ppm)	15.3	125
Isoamyl alcohol (ppm)	57.6	243
Isoamyl acetate (ppm)	0	9.9
Ethyl caproate (ppm)	0	3.0

a: Amino acidity, titration with 0.1N NaOH per 10 ml sample.

b: Titration with 0.1 N NaOH per 10 ml sample.



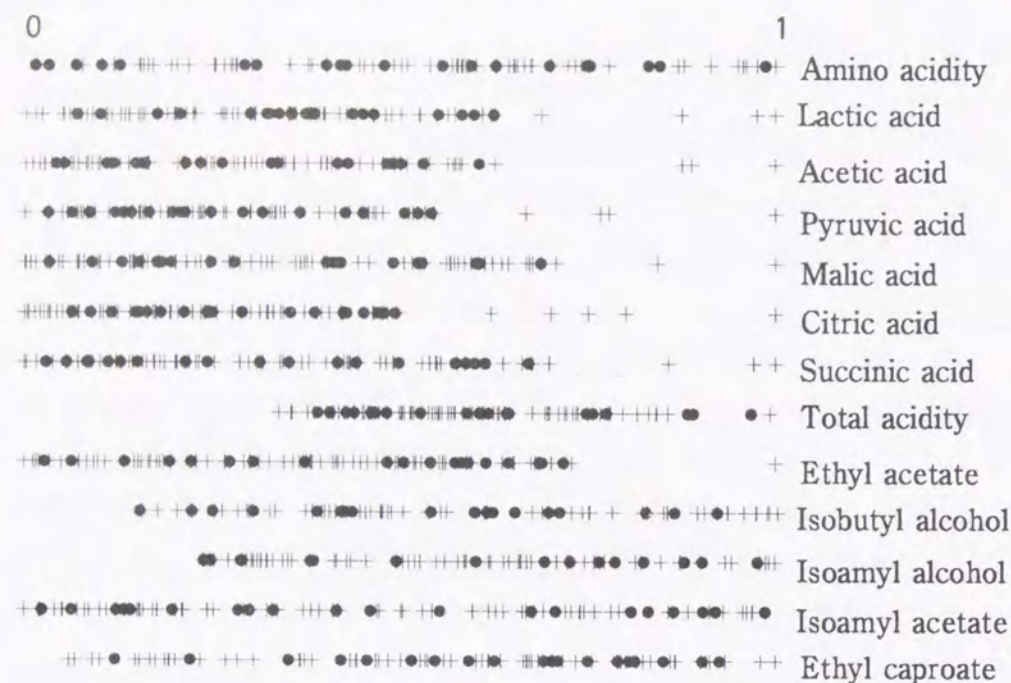


Fig. 24 Distribution of the data for learning and the data for prediction. Each model learned the data + (known data) and was evaluated in terms of its faculty for prediction by cross validation using the data ● (unknown data).

#### 4. 2. 2 官能評価 (啤酒評価)

官能評価のためのパネルの人数は、11名であった。評点の段階は次のように定義した。すばらしい 1、良い 2、普通 3、良くない 4、および悪い 5とした。予備試験によって上記11名のパネルが平均的に3(普通)と評価した標準のサンプルを、常に評価が未知のサンプル5個と共に官能評価試験に供した。1名のパネルが啤酒するのは1日にその5サンプルのみとした。パネルは、その標準サンプルの評価を常に3として固定し、その他のサンプルは標準サンプルに対する相対値として評価した。

#### 4. 2. 3 啤酒パネラーの選定

数理的モデルによる解析対象としてのパネルは、清酒に対する嗜好の普遍性、再現性そして一般性を要求されねばならない。これらの要求を満たすために、パネル構成員の全ての官能評価データが主成分分析によって処理された。パネル選定のための基準は、そのパネルが第一主成分において最も大きな因子負荷量を示すこととした。その時、第一主成分の寄与率は34%であった。そして選別されたパネルの

因子負荷量は0.784であった。選別されたパネルの官能評価結果は、重回帰分析によって官能評価と成分濃度の間の相関係数を測定したところ、最も高い相関係数を示した。

#### 4. 2. 4 分析

高級アルコール及びエステル類、総酸度およびアミノ酸度の濃度は第一章<sup>67)</sup>および第二章に述べた方法<sup>81)</sup>によって測定した。有機酸の濃度は、HPLC(島津製作所、京都)にて測定した。その検出器は電気伝導度計であった。

#### 4. 2. 5 計算環境

Dempster-Shafer 測度、遺伝的アルゴリズムおよびニューラルネットワークのプログラムはC言語(TURBO C)にて記述した。使用した計算機は、PC486GR(EPSON)であった。

#### 4. 3 学習モデル

##### 4. 3. 1 重回帰モデル

次の一般的な線形モデルを使用した。

$$Y = a_1 X_1 + a_2 X_2 + \dots + a_{13} X_{13} + e \quad (4-1)$$

ここで、Yは啤酒結果の推定値であり、aは係数、eは残差および切片、Xは独立変数であり正規化された13の成分濃度である。重回帰分析では独立変数同志が高い相関を示す場合、しばしば多重共線性が生じる。しかし、今回のサンプルは6割が乱数によって決定されたものであり、意図的に濃度決定したサンプルについても変数間の相関がないよう留意した。このため本実験においては多重共線性を考慮する必要はなく、重回帰分析にとって非常に好都合なデータであったといえる。以後重回帰分析を便宜的にMRAと略記する。

##### 4. 3. 2 ニューラルネットワーク

三層ニューラルネットワークを、バックプロパゲーション法によって学習させた。出力方法を変えたものを2種類用意した。一つは、正規化した13の成分濃度を入力層の13のユニットへ入力し、官能評価として1つの出力ユニットから0-1の



間のアナログ量を出力するものであった (Fig. 25.)。中間層のユニット数は種々変え、教師信号は啤酒評価値 (最大値は5、4、2、2に示した) の正規化値とした。応答関数はシグモイド関数とした。これを便宜的に ABP と略記する。

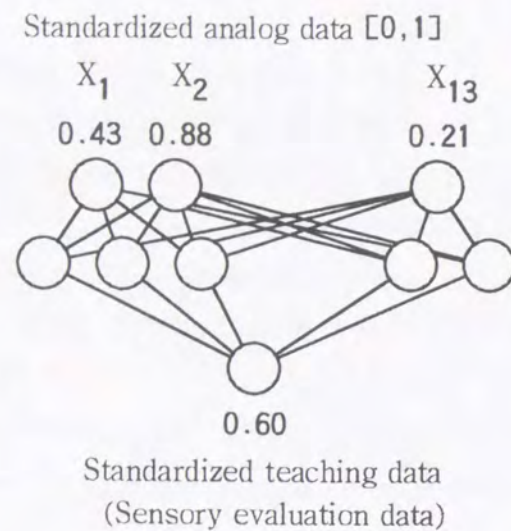


Fig. 25. Back propagation model with the analog output in the output layer. The analog input data of the standardized concentrations of the 13 components shown in Table 12 were inputted. The teaching and output data were both analog values.

第二のものは、入力方法は ABP と同様であるが、出力ユニットを5つ持ち、それぞれが啤酒評価値 1~5 に対応するように、0, 1 のデジタル量として出力するものであった。そして各出力ユニットからの出力値の重心をとって啤酒評価推定値とした。その他の条件は ABP と同様にした。中間層のユニット数は種々変えた。これを便宜的に DBP と略記する。

#### 4. 3. 3 Dempster-Shafer's 測度の官能評価への適用

官能評価にたいする Dempster-Shafer 測度 (DS) の適用をより理解するために、次の例を示す。

きき酒パネラーが、ある一つのサンプルを評価する場合、評価が「好き」および「嫌い」の二種類にのみ分かれる場合を考える。この場合、次の質問をする。

「このサンプルが好ましいならば○ をしてください。」

好ましさの確率  $P_1$  は、そのサンプルを好ましいと答えた人数をパネルの総数で除した値として計算することができる。一方で、嫌いな確率  $P_2$  は、Fig. 26 に示すように、加法性の定理から余事象  $P_2 = 1 - P_1$  として計算することができる。しかしながら、そのサンプルが好ましいと答えなかったパネルの基準は様々であるに違いない。例えば、1) 嫌いである、2) 好きではないが、確信がない、そして 3) まだ判断ができない、等である。

パネルがそのサンプルを少なくとも好ましいとする確率は、計算することができる。しかしながら、嫌いである確率を、好ましい確率の余事象として簡単に計算してしまう訳にはいかないことが直感的に理解される。すなわち、より多くの情報が与えられたならば、好きか嫌いかを明確に判断するという、「判断猶予」のパネルが含まれているわけである。このような概念を従来の Bayes の確率理論では表現できなかった。

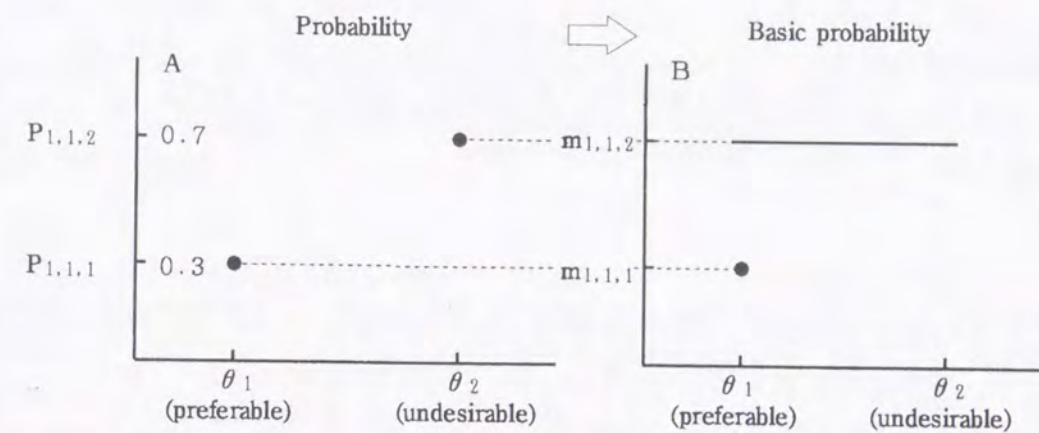


Fig. 26 Basic probability of Dempster-Shafer's measure.  
Abscissa shows the elements of sensory evaluations.

Fig. 26 は上記の議論を図示したものである。従来の確率理論に基づくならば、好ましいそして嫌いな確率は Fig. 26A の様に与えられる。一方で、DS によれば、余事象である嫌いな確率は、Fig. 26B に示すように、好ましい及び嫌いな要素の両方に割り付けることができる。つまり、もしより多くの情報がそのサンプルについて与えられるならば、嫌いである確率の一部は好ましい要素あるいはいずれかの要素へより確からしく割り付けることができることを示している。ここで用いた「割り付ける」という表現は、従来の確率  $P$  から、基本確率  $m$  への拡張であり、ある確率の量 ( $P$ ) は、 $m$  においても等しいが、幾つかの要素  $\theta$  に同時に属することができる



るわけである。Fig. 26においては、例えば好きか嫌いかわれかである基本確率  $m_{1,1,2}$  が 0.7 である、というような場合である。ここで、添字 1,1,2 は、それぞれ成分 1 が少ないというメンバーシップ関数 1 に属する基本確率の 2 番目の要素「嫌い」を表現している。

DS において、確率  $P(\theta_1)$  は要素  $\theta_1$  の全ての点に沿って自由に動くことができる、基本確率  $m(\theta_1)$  として再定義される。後の説明において、それは基本確率の割り付けとして定義されている。DS はまた二つの確率、上界確率（楽観的評価）と下界確率（悲観的評価）を取り扱う。上界確率は、好ましい要素  $\theta_1$  を含む基本確率の和、 $m_{1,1,1}(\{\theta_1\}) + m_{1,1,2}(\{\theta_1, \theta_2\})$ 、として定義される。下界確率は、好ましい要素  $\theta_1$  に閉じこめられた基本確率の和、 $m_{1,1,1}(\{\theta_1\})$ 、である。Fig. 26B の例では上界確率 1.0、下界確率 0.3 である。

以降、1) 啤酒実験から得られるデータをもとにして基本確率を計算する方法と、2) あるサンプルの濃度が入力された場合に行う啤酒評価の推論方法について具体的に説明する。

#### 1) 基本確率の計算方法

確率の計算方法を一般的に示せば、次のように計算することができる。

$$P_{1,j,k} = \sum_{n=1}^n Z / \sum_{n=1}^n \mu_{h,i,j} \quad (4-2)$$

$Z$  は便宜的な変数であり、要素  $\theta_k$  の値によって次式によって決定される。

$$\text{IF } T_n = \theta_k \text{ THEN } Z = \mu_{h,i,j}, \text{ IF } T_n \neq \theta_k \text{ THEN } Z = 0$$

ここで、添字  $h, i, j$  および  $k$  は、それぞれ、サンプル、成分、メンバーシップ関数及び要素のカウント用変数を示している。一組の基本確率の数は、メンバーシップ関数の数と等しい。 $\mu$  はメンバーシップ関数 (low, normal or high) のグレードを示している。 $\theta$  は要素 (preferable および undesirable) であり、 $T$  は官能評価値 (教師データ) である。 $n$  はサンプルの数であり、 $P$  はメンバーシップ関数のグレードから計算された確率である。それは、 $i$  番目の成分における  $j$  番目のメンバーシップ関数における官能評価の要素  $\theta_k$  を示すサンプルのグレードの和をサンプルデータのグレードの総和によって除したものである。

Ng and Abramson<sup>79)</sup>によれば、DS における問題点は、ある基本確率の他の要素への理論的な割り付け方法が無いことである、と指摘している。例えば、大塚<sup>82)</sup>は人間が経験によって試行錯誤的に決定するとしており、清水<sup>107)</sup>は可能性測度に基づいて行うとしている。本章で我々はこの分布を入出力データに基づいて、遺伝的アルゴリズムによって、入出力関係をより正確に表現することのできる基本確率の各

要素への割り付けを発見させることとした (4.3.4)。

議論を簡単にするために、変数の規模を小さくして具体的に説明する。サンプル、成分、メンバーシップ関数および要素数 (官能評価値の数、preferable or undesirable) をそれぞれ、5、2、3 そして 2 とした。実際の計算においては、それぞれ 85、13、5 及び 5 とした。正規化したサンプルデータをカテゴリ化するためのメンバーシップ関数を Fig. 27 に示した。範囲 A および B は同じデータ数となるように分割されている<sup>83)</sup>。

まず、Fig. 26A に示すように確率が計算される。Fig. 26A 及び 26B 中の要素  $\theta_1$  及び  $\theta_2$  は、官能評価の要素「好ましい」及び「嫌い」に対応している。一方、Fig. 27 に示した例において、パネルは  $h=1$  のサンプルを好ましい ( $\theta_1$ ) として、また  $h=2 \sim 5$  のサンプルを嫌い ( $\theta_2$ ) として評価した。 $j=1$  におけるメンバーシップ関数のグレード  $\mu_{1,1,1} \sim \mu_{5,1,1}$  は、Fig. 27 に示すグレードと正規化された濃度の間の直線関係から計算した。式 (4-2) における分母は  $\mu_{1,1,1}$  から  $\mu_{5,1,1}$  の和であり、分子は評価「好き」( $\theta_1$ ) を持つグレードの和である。すなわち、  
 $\text{IF } T_n = \theta_k \text{ THEN } Z = \mu_{h,i,j}, \text{ IF } T_n \neq \theta_k \text{ THEN } Z = 0$

$$\sum_{n=1}^n Z = \mu_{1,1,1}$$

したがって、Fig. 26 において、好ましい確率  $P_{1,1,1}$  及び嫌いな確率  $P_{1,1,2}$  は次のように計算した。

$$P_{1,1,1} = \mu_{1,1,1} / (\mu_{1,1,1} + \mu_{2,1,1} + \mu_{3,1,1} + \mu_{4,1,1} + \mu_{5,1,1})$$

$$P_{1,1,2} = (\mu_{2,1,1} + \mu_{3,1,1} + \mu_{4,1,1} + \mu_{5,1,1})$$

$$/ (\mu_{1,1,1} + \mu_{2,1,1} + \mu_{3,1,1} + \mu_{4,1,1} + \mu_{5,1,1})$$

同様に、他の成分におけるメンバーシップ関数についての確率も計算した。上記の方法を用いて計算した確率  $P_{i,j,k}$  は、Fig. 26B に示すように、DS の基本確率  $m_{i,j,k}$  へと拡張した ( $P_{i,j,k}$  と  $m_{i,j,k}$  の持つ確率の値は同じ、要素への割り付け方が違う)。DS におけるある要素の基本確率は、Fig. 26B に示した  $m_{1,1,2}$  のように他の要素へも属することが可能である。

注) これは特定のメンバーシップ関数のみへの偏った学習を避けることを意図している。一組の基本確率の一つのメンバーシップ関数に対応している。したがって、それぞれのメンバーシップ関数に属するサンプルの濃度データが均一であれば、後で示す基本確率の計算処理の負荷が均一になり、結果として高い学習性能を示すようになる。一組の基本確率 (一つのメンバーシップ関数) の処理能力、学習能力は限られているので、それぞれのメンバーシップ関数が同数のサンプルを分担したときに最も学習能力や感度が増すわけである。



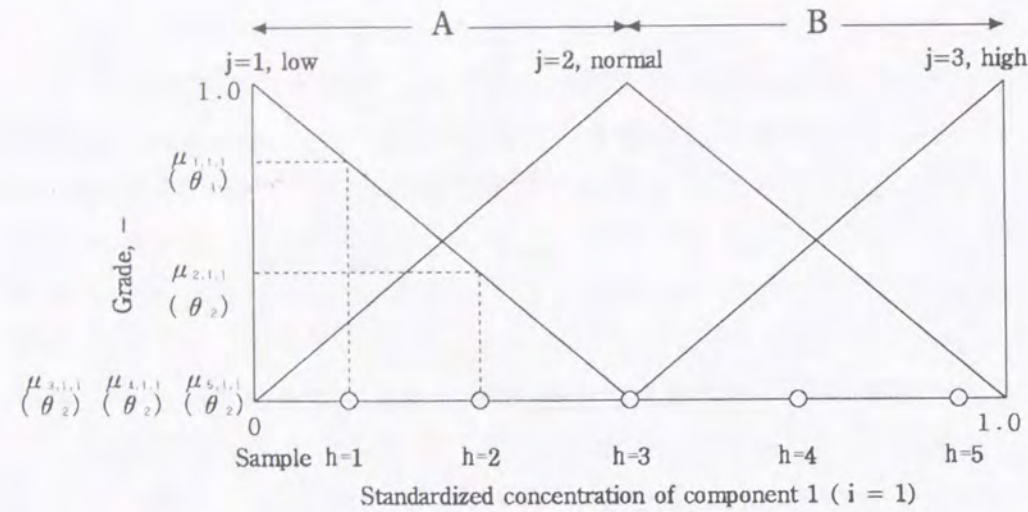


Fig. 27. Membership function for categorizing standardized data.

2) 推論方法

1) では、唎酒評価とそのサンプルの成分濃度から計算する確率の計算方法を示した。この項では、あるサンプルの成分濃度が入力された場合の唎酒評価の推論方法を示す。

推論部は二段階に構成されている。最初のステップは、基本確率の成分内の統合である。次のステップは、第一のステップで統合された基本確率の成分間の統合である。

第一のステップは次のように説明される。

それぞれの成分においてそれぞれのメンバーシップ関数のグレードを計算した後、ある成分において  $M_1$  個のメンバーシップ関数における  $M_1$  組の基本確率から、一組の基本確率が次式によって再生成される。

$$m'_{1,k} = \frac{\sum_{j=1}^{M_1} m_{1,j,k} \mu_{h,i,j}}{\sum_{j=1}^{M_1} \sum_{i=1}^{M_2} m_{1,j,k} \mu_{h,i,j}} \quad (4-3)$$

ここで、 $m'$  は成分内の統合後の基本確率であり、 $m$  は成分内の統合前の基本確率である。基本確率  $m$  の値は、確率  $P$  の量に等しい。しかし、 $m$  は  $P$  と異なり他の要素へも割り付けられる。基本確率  $m$  の割り付けは遺伝的アルゴリズムによって決定される。添字、 $h, i, j$  および  $k$  はそれぞれサンプル、成分、メンバーシップ関数および要素のカウント用変数である。 $M_1$  および  $M_2$  はそれぞれメンバーシップ関数及び要素の数である。 $m_{1,j,k}$  は  $\mu_{h,i,j}$  から式(4-2)を使用して  $P_{1,j,k}$  として計算される。式(4-3)の分母は、それぞれの成分におけるグレードによって重み

付けされた全ての基本確率の総和であり、それぞれの要素に属する基本確率を正規化する。基本確率割り付けの成分内の統合は、次に示すように実行される。

$$d'_{1,k,1} = \max_j \{d_{1,j,k,1}\} \quad (\mu_{h,i,j} > 0) \quad (4-4)$$

ここで、 $d$  および  $d'$  は統合前後の基本確率の割り付けの状態を示す。それらは、値1もしくは0を持ち、それぞれ各要素への割り付けの有無を示している。添字  $l$  は、 $k$  番目の要素に属する基本確率の  $l$  番目の要素への割り付けを説明するためのものである。例えば Table 13 において、最初の成分の二番目のメンバーシップ関数の第一の要素  $\theta_1$  に属する基本確率 ( $m_{1,2,1}$ ) の第二の要素  $\theta_2$  への割り付け ( $d_{1,2,1,2}$ ) は1である。したがって、Fig. 28 において、基本確率  $m_{1,2,1}$  は要素  $\theta_1$  と  $\theta_2$  の両方に割り付けている。次いで、もし  $\mu_{h,i,j}$  の値が正であるならば、 $\max$  演算が実行される。 $\mu_{h,i,j}$  の値が0である場合、 $d_{1,j,k,1}$  が1であろうとも  $d_{1,j,k,1}$  はその計算において無視される。この第一のステップにおいて、基本確率間の統合に Dempster の結合規則は使用しなかった。なぜなら、その結合に関する計算過程が非常に多いからである。

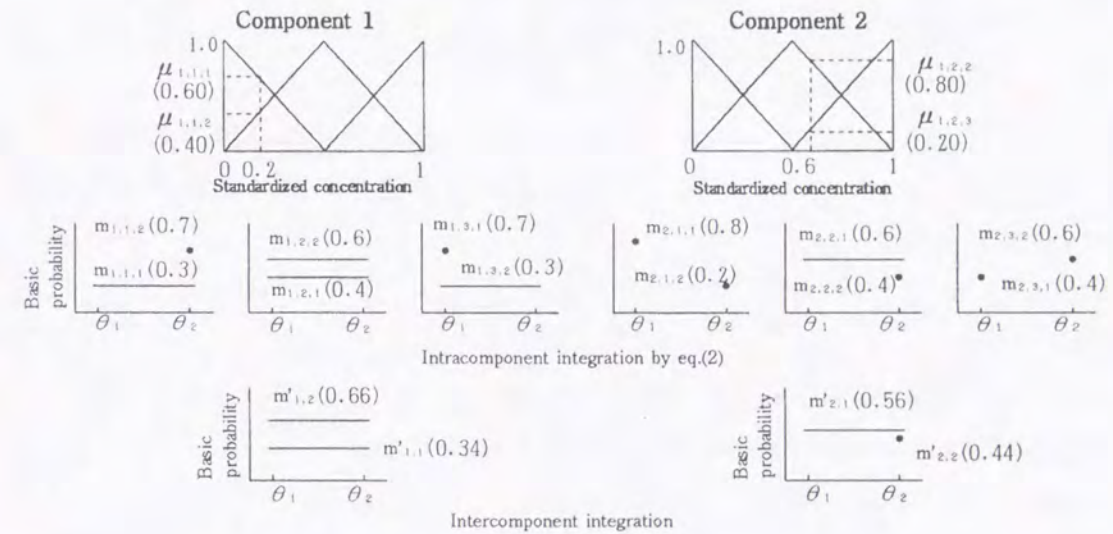


Fig. 28. Calculation process to infer output data in DS.  $\theta_1$  and  $\theta_2$  indicate the elements, acceptable and unacceptable, respectively. This calculation process is also shown in Table 13.

第二のステップを以下に説明する。

基本確率の再生成の後、それらは成分間で Dempster の結合規則を用いて統合された。この時点ではまだ、各基本確率は各要素ごとの確率を示しているわけではないので、最後に官能評価の推論値を計算するために、各要素の下界確率の重心をと



った。下界確率を採用する理由は、各要素が起こりうる確率を厳しく見るという立場であり、重心を取るの各要素ごとに求められた確率をもとに、最も確からしい起こりそうな要素を決定する必要があるからである。

Dempster の結合規則の適用にあつては、統合される基本確率が相互に独立した証拠に基づいて推論されていることが要求されるが、その独立性は本論文では考慮しなかった。

ここで、再び具体例で説明する。Table 13 と Fig. 28 は、ある二つの成分濃度（正規化値）が入力され、統合前の基本確率の割り付けが Fig. 28 のように既に与えられている場合の計算プロセスを示している。Table 13 は Fig. 28 と同様の計算過程を示している。

#### STEP 1.

それぞれのメンバーシップ関数のグレードを計算する。議論を簡単にするために、メンバーシップ関数における universes of discourses を 0.5 で分割したものを考える。メンバーシップ関数のグレードは、成分 1 において 0.6、0.4 および 0 と計算され、成分 2 において 0、0.8 および 0.2 と計算された。

#### STEP 2.

それぞれの成分内での統合は、入力部において計算された基本確率の値とその割り付けを使って計算される。成分内の統合の後の基本確率の値は、次のように式 (4-3) を用いて計算される。

$$m'_{1,1} = (m_{1,1,1} \mu_{1,1,1} + m_{1,2,1} \mu_{1,1,2} + m_{1,3,1} \mu_{1,1,3}) / \{(m_{1,1,1} \mu_{1,1,1} + m_{1,2,1} \mu_{1,1,2} + m_{1,3,1} \mu_{1,1,3}) + (m_{1,1,2} \mu_{1,1,1} + m_{1,2,2} \mu_{1,1,2} + m_{1,3,2} \mu_{1,1,3})\} \\ = (0.3 \times 0.6 + 0.4 \times 0.4 + 0.7 \times 0) / (0.34 + 0.66) = 0.34 / 1.0 = 0.34$$

$$m'_{1,2} = (m_{1,1,2} \mu_{1,1,1} + m_{1,2,2} \mu_{1,1,2} + m_{1,3,2} \mu_{1,1,3}) / \{(m_{1,1,1} \mu_{1,1,1} + m_{1,2,1} \mu_{1,1,2} + m_{1,3,1} \mu_{1,1,3}) + (m_{1,1,2} \mu_{1,1,1} + m_{1,2,2} \mu_{1,1,2} + m_{1,3,2} \mu_{1,1,3})\} \\ = (0.7 \times 0.6 + 0.6 \times 0.4 + 0.3 \times 0) / (0.34 + 0.66) = 0.66 / 1.0 = 0.66$$

$$m'_{2,1} = (m_{2,1,1} \mu_{1,2,1} + m_{2,2,1} \mu_{1,2,2} + m_{2,3,1} \mu_{1,2,3}) / \{(m_{2,1,1} \mu_{1,2,1} + m_{2,2,1} \mu_{1,2,2} + m_{2,3,1} \mu_{1,2,3}) + (m_{2,1,2} \mu_{1,2,1} + m_{2,2,2} \mu_{1,2,2} + m_{2,3,2} \mu_{1,2,3})\} \\ = (0.8 \times 0 + 0.6 \times 0.8 + 0.4 \times 0.2) / (0.56 + 0.44) = 0.56 / 1.0 = 0.56$$

$$m'_{2,2} = (m_{2,1,2} \mu_{1,2,1} + m_{2,2,2} \mu_{1,2,2} + m_{2,3,2} \mu_{1,2,3}) / \{(m_{2,1,1} \mu_{1,2,1} + m_{2,2,1} \mu_{1,2,2} + m_{2,3,1} \mu_{1,2,3}) + (m_{2,1,2} \mu_{1,2,1} + m_{2,2,2} \mu_{1,2,2} + m_{2,3,2} \mu_{1,2,3})\}$$

$$(m_{2,1,2} \mu_{1,2,1} + m_{2,2,2} \mu_{1,2,2} + m_{2,3,2} \mu_{1,2,3}) \\ = (0.2 \times 0 + 0.4 \times 0.8 + 0.6 \times 0.2) / (0.56 + 0.44) = 0.44 / 1.0 = 0.44$$

成分内の統合の後の基本確率の割り付けは、式 (4-4) を用いて計算される。例えば、成分内の統合後の成分 1 の割り付け  $d'_{1,1,1}$  は、それぞれのメンバーシップ関数における基本確率の割り付け  $d_{1,1,1,1}$ 、 $d_{1,2,1,1}$  および  $d_{1,3,1,1}$ 、そして  $\mu_{1,1,3} = 0$  であることに注意して  $d'_{1,1,1} = 1$  と計算される。成分内統合の後の基本確率の値とその分布は、Table 13 および Fig. 28 に示した。

#### STEP 3.

続いて、成分内統合の基本確率は、Dempster の結合規則 (Appendix) を使って、成分間で統合が実行される。Fig. 29 はその結合規則の理解の一助になると思われる。

Component 1	$m'_{1,1}(\{\theta_1, \theta_2\})$ 0.34	$\{\theta_1, \theta_2\}$ 0.1904	$\{\theta_2\}$ 0.1496
	$m'_{1,2}(\{\theta_1, \theta_2\})$ 0.66	$\{\theta_1, \theta_2\}$ 0.3696	$\{\theta_2\}$ 0.2904
		0.56	0.44
		$m'_{2,1}(\{\theta_1, \theta_2\})$	$m'_{2,2}(\{\theta_2\})$
		Component 2	

Fig. 29. Dempster's rule of combination for basic probabilities.

今、それぞれの成分における基本確率の値が、 $m'_{1,1}(\{\theta_1, \theta_2\}) = 0.34$ 、 $m'_{1,2}(\{\theta_1, \theta_2\}) = 0.66$ 、 $m'_{2,1}(\{\theta_1, \theta_2\}) = 0.56$  そして  $m'_{2,2}(\{\theta_2\}) = 0.44$  である。基本確率が含まれている要素は、括弧  $\{\}$  内に示されている。統合後の基本確率を  $m''$  で示すと、次のように計算される。

$$m''(\{\theta_1, \theta_2\}) = [m'_{1,1}(\{\theta_1, \theta_2\})m'_{2,1}(\{\theta_1, \theta_2\}) + m'_{1,2}(\{\theta_1, \theta_2\})m'_{2,1}(\{\theta_1, \theta_2\})] / 1.0 = 0.1904 + 0.3696 = 0.56$$



Table 13 A calculation process using Dempster-Shafer's measure.

Sub-Variables and assignments		1		2		3	
Level	Symbol script	1	2	1	2	1	2
Sample Component	h	0.20	0.60	0.80	0.20		
Membership function	j	0.60	0.40	0	0.20		
Basic probability	k	0.3	0.7	0.4	0.6	0.2	0.8
Assignment	m	1	2	1	2	1	2
	d	1	1	0	1	1	1

After intracomponent integration		Variables and assignments	
Level	Symbol script	1	2
Component	i	1	2
Basic probability	k	0.34	0.66
Assignment	m'	1	2
	d'	1	1

After intercomponent integration		Sub-Variables and assignments	
Level	Symbol script	k	1 2
Basic probability	m''	0.56	0.44
Assignment	d''	1	1
Lower probability		0	0.44
Upper probability		0.56	1.00

$$m''(\{\theta_2\}) = [m'_{1,1}(\{\theta_1, \theta_2\})m'_{2,2}(\{\theta_2\}) +$$

$$m'_{1,2}(\{\theta_1, \theta_2\})m'_{2,2}(\{\theta_2\})] / 1.0 = 0.1496 + 0.2904 = 0.44$$

成分1と成分2の結合が計算される場合、要素 $\theta_1$ にのみ捉えられている基本確率はない (Fig. 29)。上界及び下界確率は Table 13 に示すように計算される。最後に、下界確率の重心は、要素1=「好き」、要素2=「嫌い」を用いて計算され  $(1 \times 0.0 + 2 \times 0.44) / (0.0 + 0.44) = 2$ 、結果としてそのサンプルは「嫌い」であることが推論されている。

#### 4. 3. 4 遺伝的アルゴリズムによる基本確率の割り付けの学習

成分濃度とその喇酒評価値の既知な入出力データをもとにして、基本確率の割り付け (ある基本確率の各要素への帰属) を学習する方法について以下に示した。Fig. 30 に示したように、ある成分のメンバーシップ関数に対応する基本確率の一組ごとに、その割り付けを2進数でコーディングした。割り付ける要素には1を、させない要素には0とした。これらの基本確率の二進表現の列を、各要素における基本確率、メンバーシップ関数、そして成分の順につなぎあわせて一本の染色体とした。本研究では、要素数5、その分布が5けた、メンバーシップ関数の数が5で、成分数が13であるから、 $5 \times 5 \times 5 \times 13 = 1625$  けたの二進数が一つの染色体となっている (Fig. 30 参照)。この染色体を Simple GA によって、適応度の計算、選択複製、交差、突然変異を繰り返し、より適応度の高い基本確率の分布を発見させることとした。このとき適応度は次の式によった。

$$f = 100r - 50 \text{abs}(1 - s) \quad (4-5)$$

ここで  $f$  は適応度であり、 $r$  は喇酒評価値の実際のパネルによる実測値と Dempster-Shafer 測度による成分濃度からの推定値の間の一次の最小自乗法による相関係数であり、 $s$  はその直線の傾きである。 $\text{abs}()$  は絶対値を得るための関数を示す。この式は、相関係数と傾きを1に近づけることを意図しており、係数は経験的に決定した。すなわち、式 (4-5) は教師データと推論値との間の共分散を最大化させようとい意図している。遺伝的アルゴリズム (次章で詳しく論じる) における条件は、染色体20、交叉確率0.9の一点交叉、突然変異の確率は0.6の一点突然変異とした。基本確率の分布の初期条件は、元々その基本確率が属している要素のみへの割り付けとした。さらに、割り付けのさせ方は、飛び飛びのものを許さず、基本的に隣あった分布しか許さなかった。なぜなら、パネルの嗜好は、常識的に連続していると考えられるからである。これらの制約は、GAによる交叉の操作によって発生する新たな配列に対しても考慮された。したがって、要素数5つの場合、基本確率の割り



付けは次の 15 とおりとなる。

$$\{ "10000", "01000", "00100", "00010", "00001", "11000", "01100", "00110", "00011", "11100", "01110", "00111", "11110", "01111", "11111" \} \quad (4-6)$$

ここで、上記の二進表記は、Fig. 30 に示すように  $\theta_1, \dots, \theta_5$  の順番に、分布させる (1)、させない (0) を意味している。また、突然変異を起こさせるときも、同様にこの 15 通りのいずれかを選択し、置き換えた。また、割り付けの制約として、基本確率が元々属していた、その基本確率が計算された要素 (例えばある成分の濃度がメンバーシップ関数によって normal であると分類されたときのそのサンプルの喇酒評点が 3 である確率が計算されたときの、その喇酒評点) は必ず含むように割り付けを決定した。

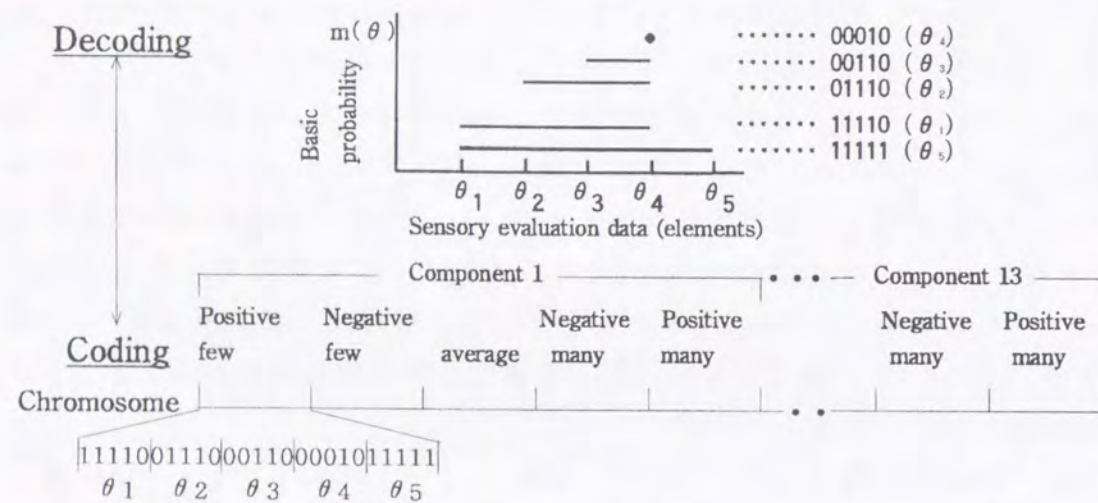


Fig. 30. Coding and decoding procedure on the learning of assignments of basic probabilities by genetic algorithm.

#### 4. 4 結果及び考察

##### 4. 4. 1 遺伝的アルゴリズムによる DS の学習曲線

Fig. 31 に GA による DS の基本確率割り付けの学習曲線を示した。学習開始時の基本確率の分布の状態は、元々基本確率が求められた要素のみへの割り付けとした (4. 3. 4 にて説明)。これは、ベイズの確率理論にほぼ等しいと言える。このため、学習開始時に既にかなり良い値を示していた。これを GA によって学習させ

たところ、式 (4-6) に示したいずれかの割り付けの状態に置き換えられることによって適応度が上昇した。つまり学習データと教師データの間の相関係数と傾きが 1 に近づいた。学習の傾向としては、最初の 10 世代程度の間急上昇し、以後緩やかに学習が進んだ。

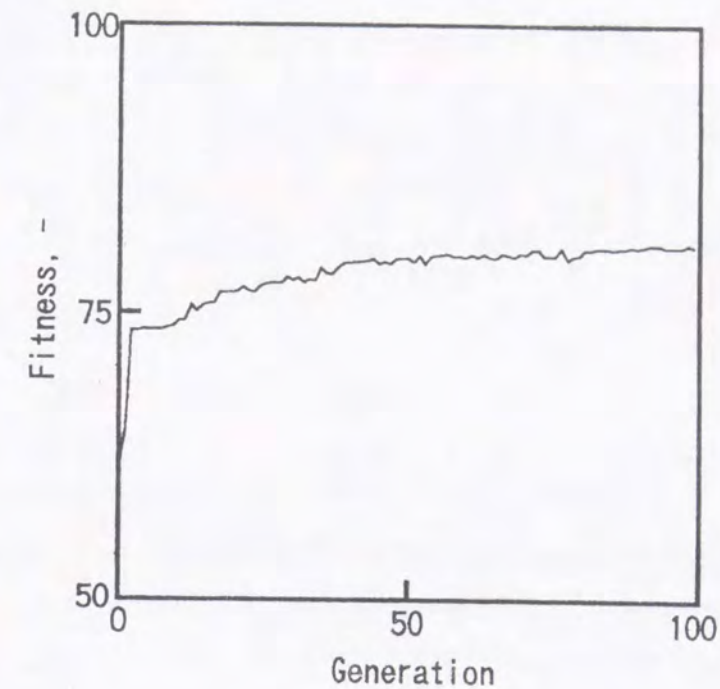


Fig. 31 A learning curve. Fitness was calculated using Eq. (4-5).

##### 4. 4. 2 各モデルにおける学習及び予測能力

Table 14 は MRA、ABP、DBP および DS の学習と予測の能力を要約したものである。表中の数字は、それぞれのサンプルに関する官能評価の教師データと推定値の間の平均誤差を示している。5つの官能評価値を判別するためには誤差 0.5 で 50% の推定精度があるといえる。また、様々な条件下においてサンプルデータグループを学習させたときの学習誤差と、それぞれの条件下で得られた予測誤差は、別の条件下で得られた値の最高値を示している。例えば、ニューラルネットにおいては、最小の学習誤差が得られたときの結合荷重係数と、最小の予測誤差が得られたときの結合荷重係数は異なるものである。

既に学習したデータを精度良く再現する能力に関しては ABP と DBP が優れており、ついで DS であり、官能評価値を判別するには十分な精度であった。MRA が最も悪かった。



学習に供さなかった未知のデータを予測する能力においては DS と DBP が同等であり、ついで ABP であり、MRA が最も悪かった。ABP については 4-40 の中間層ユニット数について予測能力を調べてみたが、Table 14 に示した値以上によい値は得られなかった。

Table 14. Mean values of error between estimated data and measured data on the various learning models

	MRA	ABP	DBP	DS+GA
Learning error (n=85)	0.48	0.13	0.07	0.29
Prediction error (n=20)	0.57	0.53	0.48	0.48

MRA, Multiple regression analysis; ABP, analog back propagation; DBP, digital back propagation; DS+GA, Dempster-Shafer's measure and genetic algorithm. Learning error indicates the mean value of estimation error of learned data. Prediction error indicates the mean value of estimation error of unlearned data.

#### 4. 4. 3 ニューラルネットワークの学習及び予測能力

Table 14 に示した ABP および DBP の学習および予測能力が、いかにして得られたかを示したものが Table 15 および Table 16 である。Table 15 および Table 16 には様々な学習回数と中間層ユニット数における学習および予測誤差を計算したものである。ニューラルネットワークの学習において、その中間層のユニット数と学習回数をどのくらいにすべきかということがしばしば問題となる。

バイナリ出力をさせる多層型ネットワークの中間層ユニット数については、栗田<sup>83)</sup>によって情報量基準 AIC の適用が提案されている。しかしこれは、最尤推定量が得られるように十分学習が行われた場合を仮定している。さらに、現在、ABP、DBP あるいは DS を客観的に比較することのできる方法は知られていない。本研究においては、モデルの能力は、クロスバリデーション<sup>84)</sup>を適用して予測誤差の比較

Table 15. Learning results in ABP

Learning (times)	No. of hidden units						
	5	10	15	20	25	30	40
200	0.53	0.50	0.48	0.48	0.47	0.47	0.47
	0.53	0.53	0.54	0.54	0.55	0.55	0.56
400	0.47	0.47	0.47	0.47	0.47	0.47	0.47
	0.58	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57
600	0.46	0.46	0.47	0.47	0.47	0.47	0.47
	0.58	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57
800	0.46	0.46	0.46	0.47	0.47	0.47	0.47
	0.58	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57
1000	0.46	0.46	0.46	0.46	0.47	0.47	0.47
	0.58	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57
10000	0.20	0.17	0.18	0.15	0.19	0.13	0.19
	0.84	0.95	0.83	0.79	0.81	0.69	0.75

Upper part, mean of learning error;  
Lower part, mean of prediction error.

Table 16. Learning results in DBP

Learning (times)	No. of hidden units				
	2	4	6	8	10
200	0.51	0.49	0.47	0.42	0.47
	0.67	0.64	0.62	0.62	0.62
400	0.45	0.40	0.37	0.35	0.37
	0.64	0.63	0.63	0.61	0.64
600	0.42	0.31	0.32	0.31	0.30
	0.64	0.67	0.62	0.53	0.61
800	0.38	0.28	0.28	0.25	0.25
	0.65	0.69	0.56	0.49	0.52
1000	0.34	0.26	0.25	0.21	0.20
	0.64	0.70	0.50	0.48	0.53
10000	0.21	0.20	0.15	0.07	0.14
	0.73	0.59	0.61	0.56	0.54

Upper part, mean of learning error;  
Lower part, mean of prediction error.



によって評価した。すなわち、今回のように標本データを2つのグループに分け、一つを学習に供し、もう一方をモデルの予測精度を測定するために用いる。

Table 15 および Table 16 に示すように、確かに学習は中間層ユニット数が多いほど、また学習回数が増すほど進む傾向にあった。しかし、最も低い予測誤差を示したのは DBP においてユニット数 8、学習回数 1000、ABP においてユニット数 10、学習回数 200 においてであった。それ以上に中間層ユニット数が増えたり学習回数が増した場合、予測誤差はかえって悪くなる傾向にあり、過学習が観察された。ここで、過学習とは学習回数が増えるにつれて学習誤差は減少するが、予測誤差が増加してしまうことをいっている。したがって、NN における官能評価推定モデルとして ABP および DBP に関してそれぞれ最小の予測誤差が得られた中間層ユニット数、および学習回数によって得られた結合荷重係数を採用することとした。

#### 4. 4. 4 DSにおける分布の「自由度」とGAにおける世代

Table 14 における DS の結果の履歴について以下に述べる。情報量基準 AIC や MDLP<sup>8,9)</sup> はいずれもモデルの精度が同じ程度であれば、そのモデルの記述長、すなわちパラメータ数は少ない方がよいという考え方に基づいている。そこで、基本確率の割り付けのさせ方にさらに制限を設けて学習を試みてみた。その分布の制限を分布の「自由度」と呼ぶならば、「自由度」0 は元々その基本確率が属していた焦点要素のみへの分布であり、学習の余地はない。この割り付けは学習の開始時点の状態である。「自由度」1 をその要素の両隣の要素までは分布を許し、「自由度」2 を2つ先の要素まで、「自由度」3 を3つ、「自由度」5 の場合今回使用する最大の要素数5の全てに分布を許すように定義付け、学習を行わせた。これらの割り付けは、やはり式(4-6)の集合の中のいずれかから選択された。ここで言う「自由度」は  $t$ -分布や  $\chi^2$  自乗分布で言うところの自由度とは何等関係のないことを付け加えておく。

各「自由度」における学習の過程が Table 17 であり、上段に未知データに対する予測誤差、下段は学習データの学習誤差を示している。DS の場合、学習の前からかなりその能力は高く、ベイズの確率を求めるだけでも MRA の数値を上回っている。しかし、学習が進むにつれて学習誤差は小さくなるものの、予測誤差が増加する、すなわち汎化性が低下する傾向にあった。これは、BP 法において見られたのと同様に、学習データの中に含まれるノイズ、すなわちここではパネルの誤りや迷いを過度に学習した、過学習によると考えられる。つまり、パネルの誤りや迷いを排除して、パネルの持つ大局的な経験則なりルール、判断基準と呼べるべきものを獲得する必要があることを示唆している。では、いつ学習を終了すれば良いかとい

うことが問題となる。もし我々が情報量基準の適用を考慮するならば、尤度を計算するための確率密度関数が必要となるけれども、DS の尤度を計算するための方法は一般に知られていない。したがって、現状ではクロスバリデーションによって判断するのが適当であると思われる。確率密度関数は、ここでは、デンプスターの統合規則や下界確率計算の関数がこれに相当すると考えられる。最終的に得られる下界確率が各要素において0あるいは1の出力をする確率として定義できると考えられる。しかしいずれにしても、情報量基準におけるパラメータ数を算定するための合理的手段が無い場合、クロスバリデーションを用いることとした。

様々な「自由度」のもとに学習させた結果、「自由度」2の時に世代数20世代の時点で予測誤差平均値の最小値、0.48 が得られ、この値は Table 14 に示したように、DBP と同様の精度であった。この時の学習誤差は0.42であった。Fig. 31 に示したように学習自体は20世代においてかなり進行しているといえる。各「自由度」

Table 17. Learning results of Dempster-Shafer's measure using genetic algorithm

Generation	Degree of freedom of assignment <sup>a</sup>				
	0	1	2	3	4
0	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48
	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48
10	-	-	0.45	0.44	0.44
	-	-	0.53	0.56	0.54
20	-	0.43	0.42	0.42	0.44
	-	0.56	0.48	0.60	0.56
30	-	-	0.42	0.41	0.44
	-	-	0.49	0.58	0.57
40	-	0.41	0.41	0.41	0.43
	-	0.66	0.49	0.58	0.56
50	-	0.39	0.41	0.41	0.43
	-	0.65	0.51	0.55	0.56
100	-	0.37	0.40	0.41	0.39
	-	0.67	0.52	0.58	0.55
150	-	0.37	0.39	0.41	0.39
	-	0.66	0.54	0.62	0.55
200	-	0.37	-	0.40	0.38
	-	0.66	-	0.56	0.55

Upper part, mean of learning error;  
Lower part, mean of prediction error.  
a, See text.



ごとにその学習の履歴を見てみると、「自由度」の大きい「自由度」3、4の場合、基本確率の割り付けの総数が当然ながらしだいに大きくなった。これは学習データを説明するために、余分な割り付けが増えていることを意味している。記述長を最小化することを考え、基本確率の割り付け数をあまり増やさずに学習誤差を減らす方向へ学習を指向させるようにGAの適応度を定義づければ良いと考えられるが、我々はまだ成功していない。

DSの第二の特徴は、学習の開始時点ですでに高い能力を示していることであった。学習の開始は各基本確率の焦点要素のみへの分布としており、メンバーシップ関数でカテゴリ化する以外はベイズの確率論にほぼ等しいと言える。このことはDSの能力を最低限保証する。加えて、真に近い基本確率の割り付けが得られているならば、学習データが増加した場合、ニューラルネットワークにおいては最初から学習をやり直しさせなければならないのに対して、DSにおいては基本確率さえ計算すれば学習を継続して行えることができる利点を持っているといえる。

#### 4. 4. 5 清酒発酵プロセスにおける官能評価の推定

吟醸酒の発酵プロセスにおいて様々な温度条件のもとで経時的に測定された各時点の成分濃度から、MRA、ABP、DBP及びDSによって官能評価の経時変化を計算した。その成分はTable 12に示したものである。その計算結果をFig. 32に示した。各モデルの比較は、発酵醪が進行中の合理的な官能評価の比較がないので人間の感性に訴えるしかないが、ヒューリスティックなルールは存在し、これと照らし合わせることで各モデルを評価した。

DSにおいて用いたモデルは「自由度」2、世代数20の時のものを用いた。Fig. 32Aに示すように、DSの結果に特徴的であるのは温度の低い実験条件(7, 10℃)の醪初期に官能評価が良い方(値の低い方)に推移することであった。これらの条件下では、有機酸やアミノ酸の上昇の前にカプロン酸エチルのようなエステル類の上昇が観察され、このことから官能評価が良くなることが推察されるが、DSの結果はこれと一致していた。有機酸やアミノ酸は、一般に官能評価を悪くし、エステル類は良くするので上記の減少は官能評価が良好になっていることを示している。次に、温度の比較的高い区分(10-14℃)においては後半ピルビン酸や酢酸の低下と共に官能評価が良くなることが推察されるが、DSはこのことも十分予測できたといえるであろう。ピルビン酸や酢酸は官能評価に悪い影響を及ぼすことで知られている。この様に、DSは経験的な法則に合致した結果であった。

一方、ABPにおいては後半の官能評価減少の傾向は観察されたが、前半の傾向

は観察されなかった。ABPの予測精度がDSより低いことと考えると、DSのほうが優れていると思われた。

Fig. 32Bに示すように、MRAにおいては単調増加し、線形モデルとしての限界がうかがえる結果であった。

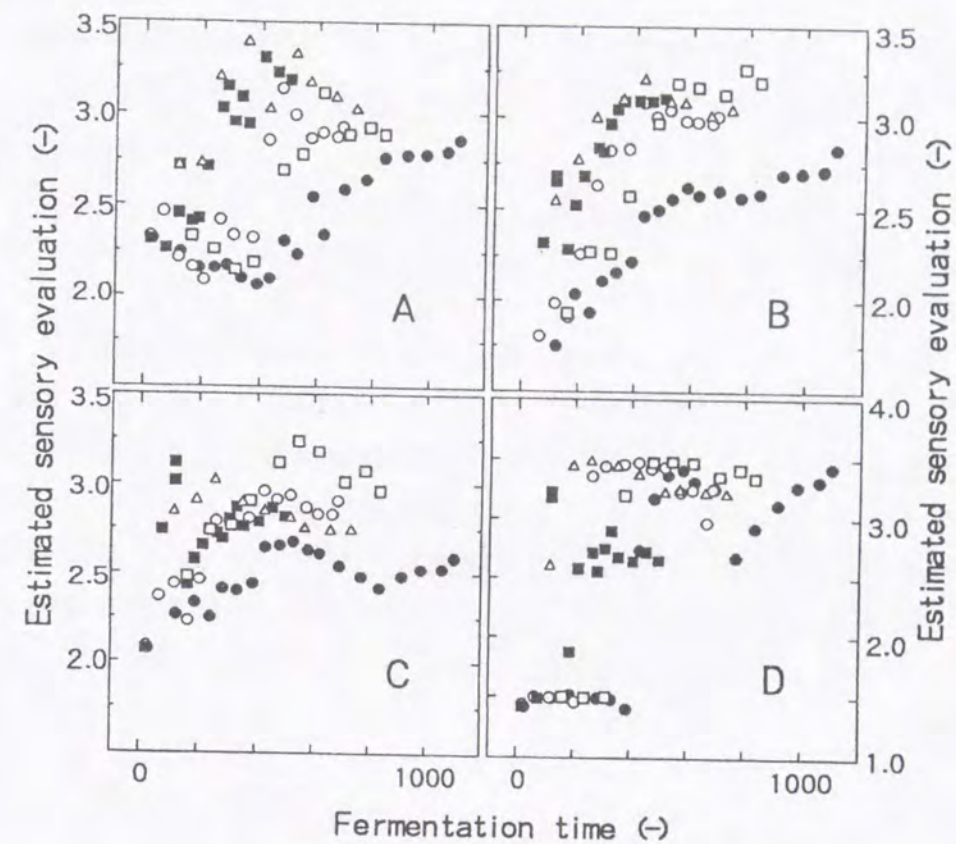


Fig. 32. Estimation results of the sensory evaluation from the time series of 13 component concentrations. A, Dempster-Shafer's measure; B, multiple regression analysis; C, analog back propagation; D, digital back propagation. Symbols: ●, 7℃; ○, 10℃; ■, 14℃; □ and △ are the results when the fermentation temperature was changed between 7℃ and 13℃.

最後にDBPであるが評価1.5から2.5へ、あるいは3.5への飛躍が観察され、上述のようなヒューリスティックなルールには合致しないばかりか、何らかのモデルの問題を示唆していた。この原因としてはデジタルな出力ユニットを持つネットワークで連続量を扱う場合には、大きなオフセット値に調整される傾向があることによってユニットの発火が特定のユニットにのみ起こるため、問題があるのかもしれない。

また、DSにおいては入力値をメンバーシップ関数である程度補間しているが、



NNにおいては入力層の各ユニット間では補間が保証されているわけではなく、特にデジタル出力を行わせる場合には、入力層や中間層のユニットの出力は0か1かの2値になりやすいので、各成分の緩やかな変化をとらえることができなかつたと思われる。このため、Fig. 32Dに見られたような時系列における断絶が観察されたと思われる。

以上のことから、我々は上記の清酒プロセスモデルにおける官能評価推定値の予測ような連続量の扱いに関してはデンプスター・シャッファー測度が優れていると考えた。

#### 4.5 結論

本章においては、発酵中の官能評価の推移を各成分濃度から推定するために Dempster-Shafer 測度による官能評価を用いた。これによって、第六章において述べるように、温度やアルコール生成速度と官能評価の発酵液中での動特性との関係を知ることができるようになる。ついで、その関係を用いることによって、発酵終了時点で官能評価が最適（最小）となる温度軌道およびアルコール生成速度軌道を第五章で述べる最適化計算方法によって知ることができる。最終的に、最適制御においては得られたアルコール生成速度軌道の制御を実現すれば、本論文の目的を遂げることができる。

#### 第四章の記号表

$Y$ : sensory evaluation value calculated by multiple regression analysis

$a$ : coefficient

$X$ : standardized component concentration

$e$ : residual and intercept

$P$ : probability

$\theta$ : element that indicates sensory evaluation

$m$ : basic probability in Dempster-Shafer's measure

$T$ : teaching data (sensory evaluation value)

$\mu$ : grade of membership function

$h, i, j, k$  and  $l$ : counter variables of sample, components, membership functions, elements, and assignments, respectively

$n$ : number of samples

$M_1$ : number of membership functions

$M_2$ : number of elements

$m'$ : basic probability reproduced after intracomponent integration

$m''$ : basic probability after intercomponent integration by Dempster's rule

$d$ : assignment of basic probability

$d'$ : assignment of basic probability after intracomponent integration

$d''$ : assignment of basic probability after intercomponent integration

$f$ : fitness of genetic algorithm

$r$ : correlation coefficient between the observed and estimated data

$s$ : slope between the observed and estimated data

$Z$ : a variable



## 第五章 遺伝的アルゴリズムを用いたバイオプロセスにおける最適軌道算出

### 5.1 はじめに

第一章において、酢酸イソアミル生成量を最大化するために、ダイナミックプログラミングを用いたが、第六章に述べる不連続な関数からなるモデルを用いた最適化問題を取り扱うことができ、かつ高速に最適化することができる手法として遺伝的アルゴリズムに着目した。本章では、清酒醸造を含めたバイオプロセスの最適化問題に対して、遺伝的アルゴリズムを適用するために検討を行った。

発酵生産物を経済的に作るには、できるだけ合理的で最適な設計、運転をする必要がある。これら発酵プロセスの最適化問題においてグリーンの定理、最大原理、ダイナミックプログラミング、シンプレックス法など、いくつかの方法が用いられてきた。また、パラメータ変動に対処するため、発酵期間中に同定変更したパラメータを用いて、その度ごとに最適化計算を行なう Kishimoto らの示した方法<sup>8)</sup>が報告されている。このようにオンラインで最適化計算を行なわせようとした場合、最適化計算が高速であることが望まれる。Kishimoto らはダイナミックプログラミングを用いて、関数再帰方程式を最終時点から順に解いていき、計算範囲内での全ての状態点において、その時点から最終培養時点までに生産されるグルタミン酸量の最大値を培養開始前にあらかじめ計算しておき、培養期間中において実測データが示す状態点にその時点の計算された最適軌道上の状態点を入れ換えた後、次の計算時点までの最適政策ならびに最適な培養経過を計算させるようにし、実測値に対応させながら最適化計算の高速化を計っている。

ところが、この方法ではあらかじめ計算しなければならない状態点の範囲は膨大な量であるし、繁雑である。状態点を記憶させておく大きなメモリも必要である。望ましくは、一つのプログラムで、プロセスの構造を記述したモデルがあり、また培養期間中に得られた実測値から高速に最適化計算が可能な方法があれば良い。加えて最近プロセスの状態を記述するために、ファジィ理論<sup>9)</sup>やニューラルネットワーク<sup>10)</sup>を使用した例が増えているが、これら不連続で複雑な関数においても最適化計算が可能であることが望まれる。

そこで我々は、近年、組合せ最適化問題において威力を発揮することが示されている遺伝的アルゴリズムに着目して、前記の条件を満たす最適化アルゴリズムとなりうるかどうかを検討した。すなわち、遺伝的アルゴリズムによる発酵プロセスの最適軌道算出への適用可能性、および適用に際しての問題点とその発酵プロセスに適した改良を試みた。

遺伝的アルゴリズムは組合せ最適化問題の解を求めるのに主として用いられ、プラントオペレーションにおいて、操作時間、コスト等を最小にするジョブショップスケジューリング問題<sup>11)</sup>やフローショップスケジューリング問題<sup>12)</sup>、アミノ酸配列の中から目的の配列を検索する問題<sup>13)</sup>、多層ニューラルネットワークの重み係数を決定すること<sup>14)</sup>などに応用されている。今回我々が対象とした汎関数の最適化も、組合せ最適化問題の一種として考えればこの方法が適用できると考えられた。

### 5.2 実験方法

#### 5.2.1 最適化問題と二点境界値問題

汎関数の最適化問題は、状態ベクトルを  $X$ 、操作変数のベクトルを  $u$  としたとき、プロセスの状態が次の常微分方程式、

$$\begin{aligned} \frac{dX_i}{dt} &= f_i(X, u) \quad (i = 1, 2, \dots, N) \\ X_i(t_0) &= a_i \quad (a_i: \text{const.}) \end{aligned} \quad (5-1)$$

で表されたとき、評価関数の一般形として、

$$J = \int f_0(X, u) d\tau \quad (5-2)$$

を最大または最小にするいわゆる変分問題として定式化できる<sup>15)</sup>。以下に本報告で取り組んだ3つの問題について示した。

#### 1) 半回分培養におけるグルタチオン生産量を最大にする問題

グルコースを単一炭素源とする半回分培養において、清水ら<sup>16)</sup>は次のような生成モデルを報告している。菌体増殖は、

$$\frac{d(Vx)}{dt} = \mu Vx \quad (5-3)$$

で示され、 $V$  は培養体積 ( $l$ )、 $x$  は菌体濃度 ( $g/l$ )、 $\mu$  は比増殖速度 ( $h^{-1}$ ) である。

また、菌体内グルタチオン含量は生産と増殖による希釈の差、

$$\frac{dp}{dt} = \rho_0 - \mu p \quad (5-4)$$

で示され、ここで  $p$  は菌体内グルタチオン含量 ( $mg-GSH/g-cell$ ) であり、 $\rho_0$  はグルタチオン比生産速度 ( $mg-GSH/g-cell \cdot h$ ) である。このとき、グルタチオン比生産速度  $\rho_0$  は  $\mu$  によって次の式により示される。

$$\begin{aligned} \rho_0 &= 11.7836 \mu \quad (0 \leq \mu \leq 0.2932 \text{ h}^{-1}) \\ \rho_0 &= 6.3585 - 9.9025 \mu \quad (0.2932 \leq \mu \text{ h}^{-1}) \end{aligned} \quad (5-5)$$

この関係は、グルタチオン比生産速度が最大となる比増殖速度  $\mu_0$  を頂点とした、二



つの比増殖速度の一次式で表されている。

また、グルタチオン総量  $pVx$  の変化は、

$$d(pVx)/dt = \rho_0 Vx \quad (5-6)$$

と与えられる。したがって、以上のように定式化されたモデルを用いて、発酵終了時点で評価関数、

$$J_1 = pVx(t) \quad (5-7)$$

を最大にする比増殖速度軌道を求めるのがここで考える問題である。

### 2) 二点境界値問題<sup>92)</sup>

この問題は発酵終了時点で菌体内グルタチオン濃度を設定値にしつつ、これを束縛条件として (5-7) 式で示される評価関数を最大にする比増殖速度軌道を求めるものである。

### 3) 清酒中の酢酸イソアミル濃度を最大にする問題<sup>97)</sup>

糖化液を用いた清酒の仕込において、発酵終了時点で酢酸イソアミルを最大にする温度軌道を求める問題である。菌体増殖は Lee らのモデル<sup>90)</sup>、

$$dx/dt = \mu_m (1 - x/x_m)x \quad (5-8)$$

とした。ここで、 $\mu_m$ 、 $x_m$  は  $\mu$  と  $x$  のそれぞれ最大値であり定数である。アルコール生成は南波らの積算エタノールモデル<sup>13)</sup>にて、

$$dP/dt = \alpha dx/dt + \beta \exp(-kd \int Pd \tau)x \quad (5-9)$$

ここで、 $P$  はエタノール濃度 (g/l)、 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $kd$  は定数である。

酢酸イソアミル濃度は、

$$dIAA/dt = Y_{IAA/P} dP/dt - kd' IAA \quad (5-10)$$

として示される。ここで、 $IAA$  は酢酸イソアミル濃度 (g/l)、 $Y_{IAA/P}$  はエタノールに対する酢酸イソアミル収率 (g-IAA/g-ethanol) であり、 $kd'$  は分解係数 ( $h^{-1}$ ) である。パラメータ  $\mu_m$ 、 $x_m$ 、 $\beta$ 、 $kd$ 、 $Y_{IAA/P}$ 、 $kd'$  は前報に示したように温度に影響を受けたので、温度を説明変数とする多項式で表した<sup>97)</sup>。(5-8)-(5-10) 式は、発酵初期には温度が高いほど酢酸イソアミル生成速度は大きくなるが、発酵後期に酢酸イソアミル分解速度も大であり、温度が低い方が酢酸イソアミルが保存されることを示している。評価関数は発酵終了時点の酢酸イソアミル濃度である。

$$J_2 = IAA(t) \quad (5-11)$$

## 5. 2. 2 使用計算機

今回作成したプログラムは Turbo-C (Ver.2.0、ポーランド社) で構築し、エプソン 486GR を用いて計算した。

## 5. 2. 3 遺伝的アルゴリズム

遺伝的アルゴリズム<sup>90)</sup> (遺伝アルゴリズムとも呼ばれる) は生物学者が生物の進化適応をシミュレーションするために発展させてきたものを Holland ら<sup>95)</sup> が体系づけたもので、生物の世代交代、染色体の交叉、突然変異、個体の選択という過程を模した操作を行なうことにより、より環境に適応した個体を発見していく方法である。個体の持つ遺伝情報を我々の問題における軌道の組み合わせととれば、組み合わせの進化、すなわち最適解の探索が行える。またここで言う環境とは、我々が問題に課した束縛条件や評価関数のなんらかの尺度である。Fig. 33 にそのアルゴリズムの概略を示した。これは Simple GA と呼ばれるものであり、コーディング、適応度の計算、選択複製、交叉、突然変異の各ステップからなる。

Fig. 33 に沿って操作手続きを以下に示した。

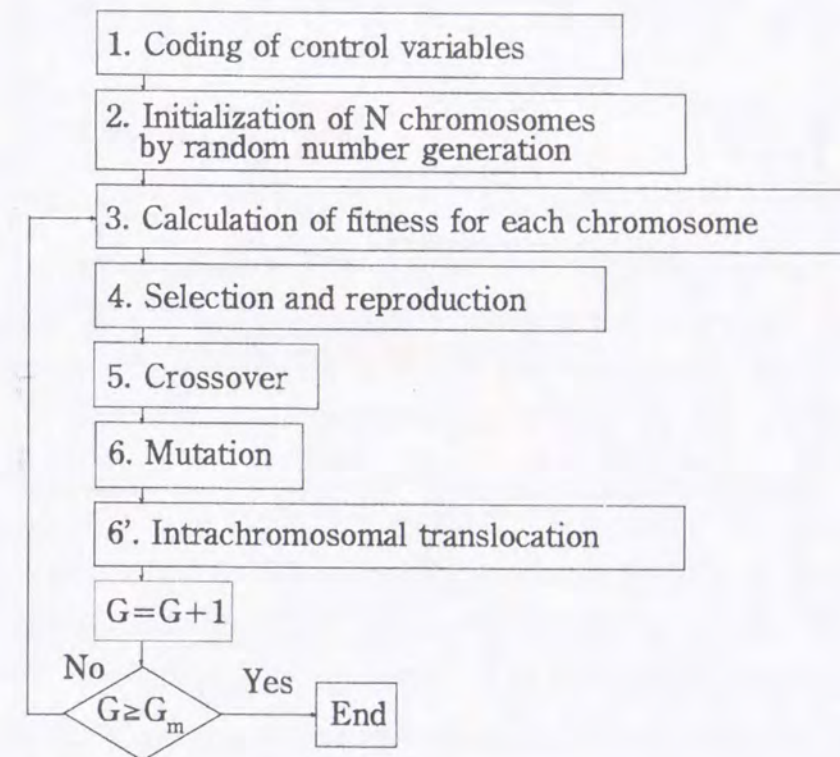


Fig. 33 Calculation procedure by Genetic Algorithm.



### 1) コーディング

Fig. 34 に示すように発酵開始  $t_0$  から  $t_f$  までを  $M$  分割し、各々の段における決定されるべき操作量  $u_i (i=0, 1, \dots, M-1)$  のとりうる離散的な数値を格納した配列のカウント用変数を遺伝子としてコーディングし、これを各段ごとに繋ぎ合わせて染色体とした。このとき、グルタチオン問題では政策  $u_i$  として  $\mu$  の時系列を決めることとし、 $\mu_0$  を含む離散的な  $\mu_{\min}$  から  $\mu_{\max}$  までの値を 20 個、酢酸イソアミル問題においては操作温度の時系列を決めることとし、 $10^\circ\text{C}$  から  $30^\circ\text{C}$  までの  $1^\circ\text{C}$  おきの 21 個の値を各々用意した。

厳密に最適値を求めるのであれば操作変数を 2 進数等でコーディングし、任意の実数を扱うべきであるが、ここでは実用を考慮して、早く解の近傍に到達することを優先させて操作変数は離散値にのみ限定し近似解を得ることを目的とした。結果を見ても判るように、今回の問題では離散値のみを使用しても充分正確な解答が得られた。むしろ微生物反応の不確定性を考慮した場合、厳密に求めすぎても得られる利得は労力に比してごくわずかであると考えられる。

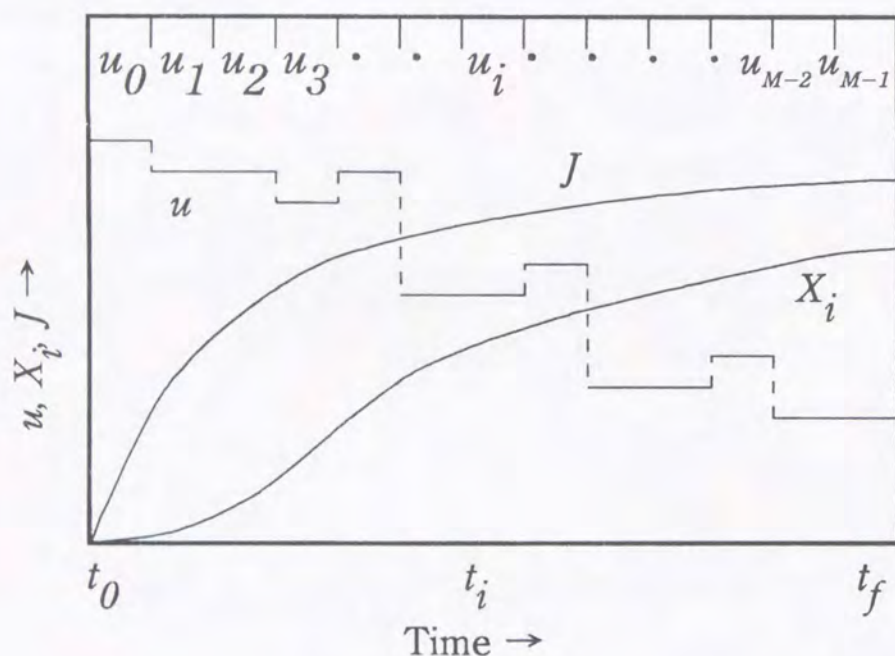


Fig. 34 Method of coding control variables. The fermentation time from  $t_0$  to  $t_f$  was divided into  $M$  stages. Discrete data ( $u_i$ ) of control variables were initialized by the generation of random numbers and chromosomes as genes were made from the data set of  $\{u_i\}$ . The chromosomes were altered by the genetic algorithm, that is, by decoding the control variables and substitution in the model, and the fitness of individual chromosomes was evaluated.

### 2) 初期値

初期値は乱数を用いて決定した。このとき、異なる染色体（ここでは政策  $u_i$  の配列）を 20 個用意し、後の操作を行なった。遺伝的アルゴリズムの利点の一つは、この染色体の数だけ解空間を多点探索できることである<sup>93)</sup>。

以降、個体 (individual) と染色体 (chromosome) はほぼ同様の意味であるが、個体と染色体の関係は、染色体がコードしている遺伝子を交差させたり突然変異させたりし、染色体が表現型に翻訳されて政策  $u_i$  の配列を持つ個体となる。

### 3) 適応度の計算

グルタチオン、酢酸イソアミルの濃度を最大にする問題では、評価関数 (5-7)、(5-11) 式をそのまま用いた。二点境界値問題では、我々は次のように適応度  $f_1$ 、 $f_2$  を定義した。

$$f_{1, G} = J_{1, G} - (J_{1, G-1, \max} / \epsilon_{G-1, \min}) (G/G_{\max}) \epsilon_G \quad (5-12)$$

$$f_{2, G} = J_{1, G} - C \epsilon_G \quad (5-13)$$

ただし、

$$\epsilon_G = |p(t)_G - p_f| \quad (5-14)$$

$$J_{1, G} = pVx(t)_G \quad (5-15)$$

ここで、 $\epsilon$  は発酵終了時点のグルタチオン含量  $p(t)$  のその設定値  $p_f$  に対する誤差であり、 $J_1$  は評価関数である。 $f_1$  は第一の適応度であり評価関数から誤差に世代数（繰り返し計算の回数） $G$  とその最大値  $G_m$ 、および前の世代の  $J_1$  の最大値  $J_{1, G-1, \max}$  と  $\epsilon$  の最小値  $\epsilon_{G-1, \min}$  の比率を乗じてペナルティを課している。また下添字  $G$  は世代数  $G$  での値を意味する。(5-13) 式のみでは係数  $C$  の値が小さすぎると誤差量  $\epsilon$  を無視する傾向にあり、 $C$  の値が大きすぎると  $J_1$  のより高い値が得られにくい傾向にあった。そこで、最初世代数が小さいときは (5-12) 式第二項はほとんど無視され、評価関数  $J_1$  のみに支配されることにより  $J_1$  に対する最適解を求めようとするが、世代を経るにつれて緩やかに束縛条件  $\epsilon$  を満たすように  $J_1$  と  $\epsilon$  の値が等しくなるように前の世代の結果をフィードバックさせている。このスケジューリングによって  $\epsilon$  最小化の拘束のもとに  $J_1$  の最適化を安全に行うことを意図した。 $f_2$  は第二の適応度であり、パラメータ  $C$  は固定して与えた。 $f_2$  を全世代を通じた絶対的な評価基準とした。

### 4) 選択複製

まず個体群の中で最も高い適応度の 95% 以下の適応度を示す個体の適応度は強制的に適応度を 0 とし、複製させないこととした。すなわち、



$$f_i' = f_i - 0.95f_{max}$$

ただし

$$f_i' < 0 \text{ ならば } f_i' = 0 \quad (5-16)$$

さらに、通常ルーレットルールと呼ばれる次式に基づいて複製個数を決定した。ある個体の複製個数  $n$  は、

$$n = Nf_i' / \sum f_i' \quad (5-17)$$

により得られる。 $N$ は全個体数であり、 $f_i'$ は*i*番目の個体の(5-16)式による淘汰後の適応度である。(5-17)式は適応度の総和における各個体の適応度の占める割合に応じて  $n$  個だけ次の世代へその複製を残すことを示している。 $n$ は当然整数値でなければならないので、(5-17)式の右辺の小数点以下を四捨五入した。二点境界値問題においては  $f_1$  を使用して(5-16)、(5-17)式から複製個数を求め、 $f_2$ に基づいて絶対的に優れた個体を必ず個体群の中に入れることとした。過去に一度適応度を計算した個体ではあるが、この後行う交叉、突然変異の操作により別の遺伝子を持つようになる可能性が高く、良い遺伝子を系の中に保存する効果も期待できる。

#### 5) 交叉

交叉を行なわせる前に、複製を行なった後の各染色体について、親の異なるもの2つずつのペアを作り、乱数を発生させて交叉を開始する位置(遺伝子座)の遺伝子を決定し、それ以降の同じ位置の遺伝子を互いに交換する操作が交叉である。たとえば、

操作変数の配列のカウンタ用変数が遺伝子となっているので、次の二つの染色体について、

chromosome 1: 2 5 7 3 | 1 2 5 4 6

chromosome 2: 8 7 9 5 | 3 7 5 2 1

点線の箇所て交叉が起こった場合、二つの染色体は

chromosome 1: 2 5 7 3 | 3 7 5 2 1

chromosome 2: 8 7 9 5 | 1 2 5 4 6

と書き換えられる。この操作の意味は、染色体群の組み合わせの多様性を増すことにある<sup>80)</sup>。交叉はある確率  $P_{crossover}$  のもとに行なう。

#### 6) 突然変異

ある確率  $P_{mutation}$  のもとに染色体を選択し、その染色体上のある遺伝子座を同様に乱数により決定する。そして、その遺伝子を別のコードを持った遺伝子に置き換える。たとえば、上記染色体1の下線部に突然変異が起こった場合、

chromosome 1: 2 5 7 3 3 7 5 2 1

乱数によって選ばれた新しい値に置き換えられる。

chromosome 1: 2 5 7 5 3 7 5 2 1

突然変異は常に解空間をランダムに探索することにより、局所解に陥ることを防いでいる<sup>80)</sup>。これを後述する変異と区別するためランダム突然変異と名付けておく。

#### 6') 転座

通常転座はあまり用いられないようであるが、今回グルタチオンの問題<sup>81)</sup>に用いた。ここでは、連続した3つの遺伝子を乱数により選びだし、これを別に選びだした同じ染色体上の連続する3つの遺伝子とそっくり入れ換えてしまう操作である。

chromosome 1: 3 6 4 6 2 7 2 1 9

下線部分を入れ換えて、

chromosome 1: 3 2 1 9 2 7 6 4 6

この操作も染色体群の多様性を増す<sup>84)</sup>。

ここまでの操作を行なった後、再び適応度を計算し、計算を繰り返す。この一連の計算過程を一世代と呼ぶ。

### 5. 2. 4 中間値突然変異

通常発酵プロセスの制御においては、急激にその環境を変化させる回数はあまり多くない。境界値制御や例えば温度感受性プロモーターのスイッチをオンオフする操作があるが、従来の経験上は多くて二度程度であり、それ以外では一定値をとらせたり、連続した操作を行なわせることが多い。そこで、操作が連続して生ずることを意図して、ある遺伝子を乱数によって選びだし、その両隣の遺伝子が持つ比増殖速度あるいは温度の中間の値になるような変異をあわせて行った。これを中間値突然変異と名付けた。

たとえば、

chromosome 1: 3 6 4 6 2 7 2 1 9

下線部の遺伝子が乱数により選択されたとき、

chromosome 1: 3 6 4 3 2 7 2 1 9

のように操作し、両隣の平均値をとり小数点以下を切り上げて新しい遺伝子とした。



### 5. 3 結果と考察

#### 5. 3. 1 中間値突然変異の効果

グルタチオン総生産量を最大にする問題及びその二点境界値問題は、最大原理により既にその最適軌道が算出されている。最大原理による前者の軌道は、Fig.36に点線で示した Bang-Bang 型になることが解っている<sup>92)</sup>が、これを遺伝的アルゴリズムにより解いた。Fig. 35は最大原理による評価関数値を100として、その相対値の計算経過を示している。Fig.35中の数字は遺伝子(段)数を10としたときの、確率  $P_{\text{mutation}}$  の下に行う中間値突然変異の数であり、中間値突然変異とランダムな突然変異が必ず合計して10個になるように変異させている。このとき、初発菌体濃度は1g/l、初発グルタチオン含量は5.24 g-GSH/g-cell、終了時間は10時間、 $\mu_{\text{max}}=0.42$ 、 $\mu_c=0.2932$ 、 $\mu_{\text{min}}=0.05$  ( $\text{h}^{-1}$ )とし、文献<sup>92)</sup>に従った。式(5-3)-(5-6)の解はRunge-Kutta-Gill法を用いて解き、ステップ幅は0.5hとした。また最初遺伝的アルゴリズムにおいて転座は行わなかった。交差確率は  $P_{\text{cross}}=0.5$ 、変異確率  $P_{\text{mutation}}=0.5$ としたが、これらの確率は予備的な試行計算により決定した。一般的には交叉確率は1に近く、変異確率は0.1以下にしている例が多い。

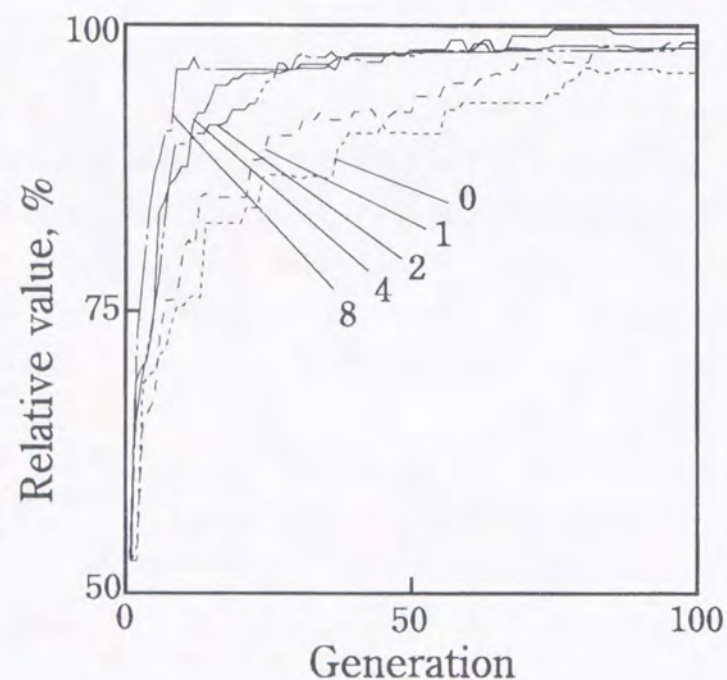


Fig. 35 Effect of intrachromosomal mutation by intermediate value on the optimization procedure. The problem of the maximization of total glutathione production was solved at various numbers of intrachromosomal mutation by intermediate values indicated in the figure. The value of the objective function by MP was taken as 100%.

突然変異はボルツマンマシンにおけるシミュレーテッドアニーリングのように、局所解に落ち込むことを防ぐためにある程度誤差が増大することを許し、許容誤差を少しでも小さくすることで、最適解を求める考えに近い<sup>94)</sup>と言われるが、突然変異の確率が高すぎるとかえって良い遺伝子が失われる可能性が高くなるとされる。

Fig. 35の結果は中間値突然変異の数が増えるのに従って、より早く解が求まる傾向にあった。ただし、その数が8になると、100%に近づいた付近でかえって良い情報が失われる傾向にあった。これは境界値から境界値へのシャープな切り替えが発見されにくく、もしくは発見されても失われ易くなっていると思われる。いずれにしても、中間値突然変異をある程度多く起こさせた方が良いということは、この変異により良い遺伝子の小さなまとまり、Hollandの言うビルディングブロック<sup>95)</sup>が得られ易くなっているためと考えられた。

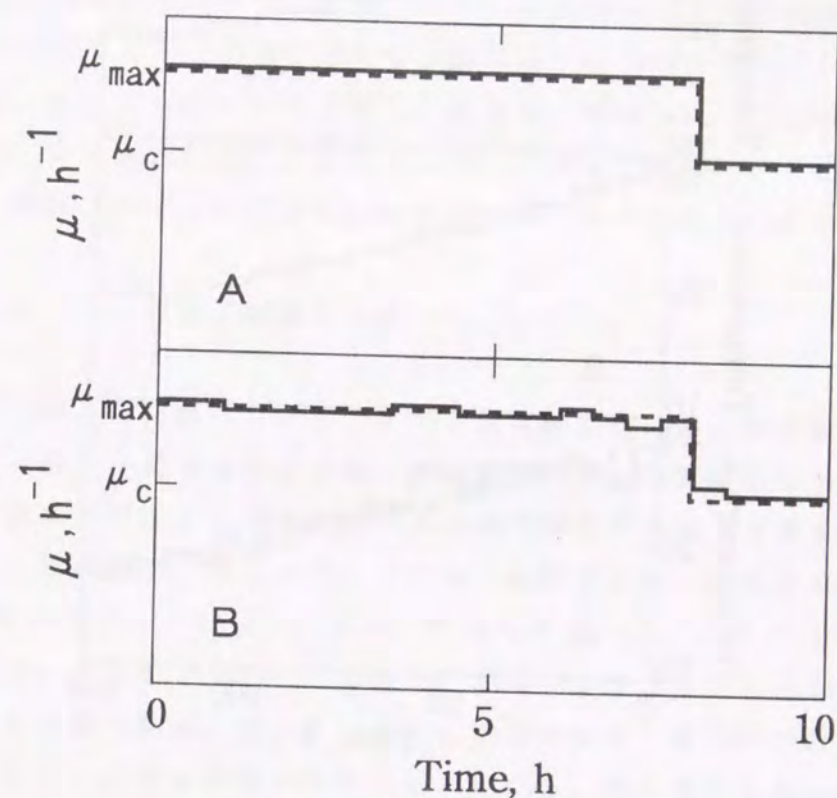


Fig. 36 Effect of intrachromosomal translocation on the optimization procedure. Dotted lines indicate results by MP. Solid line A shows the result by the genetic algorithm with translocation, and solid line B without translocation.



### 5. 3. 2 転座の効果と欠点

転座の有効性を、まずグルタチオン総生産量を最大にする問題<sup>22)</sup>を対象として論じた。Fig. 36に転座を行かせた結果(A)と、行かせない結果(B)を示した。いずれも中間値突然変異の数は4であり、転座を行わせる確率は0.25とした。その他のパラメータはFig.35と同様とした。最大原理においては、 $\mu_{max}$ から $\mu_c$ への切り替え時間は7.95時間後であるが、転座を行かせた場合8時間後に切り替えており、ほとんど完全な解が得られた。一方転座を行かせなかった場合には、ほぼ

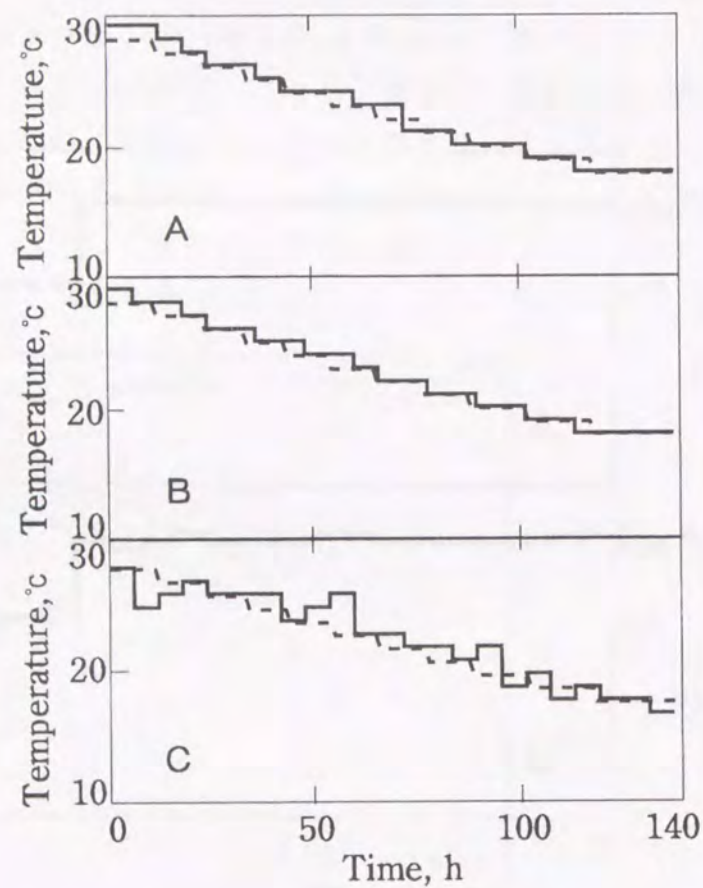


Fig. 37 Effect of intrachromosomal translocation on the maximization of isoamylacetate. Dotted lines indicate results by dynamic programming (DP). Solid lines show the results by the genetic algorithm: A, with translocation and intrachromosomal mutation by intermediate value; B, with intrachromosomal mutation by intermediate value and without translocation; and C, without both mutation by intermediate value and translocation.

正しい解が得られているが、比増殖速度の軌道が上下しており、一つの染色体上で遺伝子の対を交換する転座の有効性が確認された。しかし、これはある期間一定値を取らせるという解の構造によるものであることが充分予想される。

そこで、Fig.37に糖化液を用いた清酒の醸造において酢酸イソアミル濃度を最大にする温度軌道を求める問題の計算結果を示した。Aは転座と中間値突然変異を行かせたもの。Bは中間値突然変異のみ、Cは転座のみを行かせている。このときの計算条件は中間値突然変異数4、200世代学習させたもので、その他のパラメータはFig. 35と同様である。菌体数の初期値は $0.446 \text{ g}/(2 \times 10^7 \text{ cells/ml})$ 、エタノール、酢酸イソアミル濃度の初期値は0とし、発酵終了時間は138時間とした。Fig. 37中、点線は同様の問題をダイナミックプログラミングにより解いた軌道である<sup>23)</sup>。Fig. 37に示した結果のごとく、中間値突然変異を起こさせたもの(A, B)は、ほぼ正しい結果が得られているのに対し、転座のみ(C)では温度の上下が大きく、充分とは言えなかった。このように、酢酸イソアミルの最適化問題においては、転座の効果は余り無く、解がほぼ得られているのは中間値突然変異に負うところが大きい。ある点で対称な軌道を持たない解では、むしろ逆効果になることが容易に理解される。したがって、転座は解の構造を充分吟味した上でなければ使用にあたり注意を要すると思われた。これに対して、中間値突然変異はある程度連続した解であれば、発酵プロセスの最適化に非常に有効であると考えられた。

### 5. 3. 3. 二点境界値問題の解

発酵終了時点で菌体内グルタチオン含量を設定値にし、その束縛条件のもとにグルタチオン総生産量を最大にする二点境界値問題の計算結果を示した。まず、束縛条件を考慮した適応度を式(5-13)の $f_2$ のみで評価する場合を考えた。ここで、パラメータCは固定した値をとり、この値の影響をみた。結果をFig.38に示した。世代数は500であり、中間値突然変異、転座などのパラメータはFig.36. Aの場合と同様とした。Cの値が小さいときには、誤差量 $\epsilon$ をまったく考慮しておらず、最大化問題と同様の結果となっている。Cの値を大きくするにつれてその拘束条件が厳しくなり、正確な結果が得られた。しかし、Cの値が大きい場合には誤差量を小さくしようとして、グルタチオン総生産量 $J_1$ の値を無視する傾向にあり、転座や中間置突然変異を行かせなかったときには、正しい結果が容易に得られなかった。

次に、式(5-12)-(5-15)を用い、第一の適応度 $f_1$ により複製個数を(5-16)式により決定し、第二の適応度 $f_2$ により全世代を通して最も高い適応度を示す個体を必ず残すようにした場合に得られた結果をFig.39に示した。この時、Cの値を100と



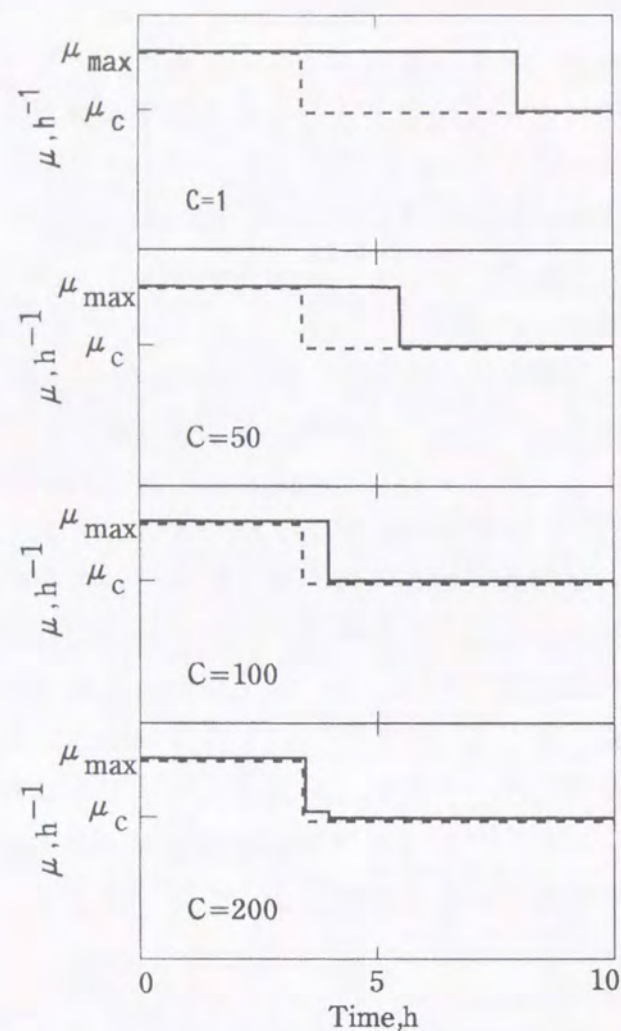


Fig. 38 Calculation results of two-point boundary value problem of GSH production. Dotted lines indicate results by MP. Solid lines indicate the results by GA, in which fitness was defined as  $f=J_1-C \epsilon$ , where  $C$  was fixed at the values indicated in the figure. Mutation by intermediate value and translocation were employed in this calculation.

した。この結果 Fig.38 に比較して、より正しい結果に近づいていることがわかる。このような段階的な適応度による評価が好ましいことがわかった。

この二点境界値問題は酒類の発酵工程においても非常に重要な意味を持っている。酒類の発酵はエタノールの生成量あるいは濃度を重要な指標とするが、二点境界値問題を解くことにより、エタノール濃度（生成量）を発酵終了時点で目標とする設定値にして、かつ他の成分、官能に影響を及ぼす酢酸イソアミルやその他の香気成分、有機酸の濃度等を最適に生成させるような軌道を計算することが考えられる。

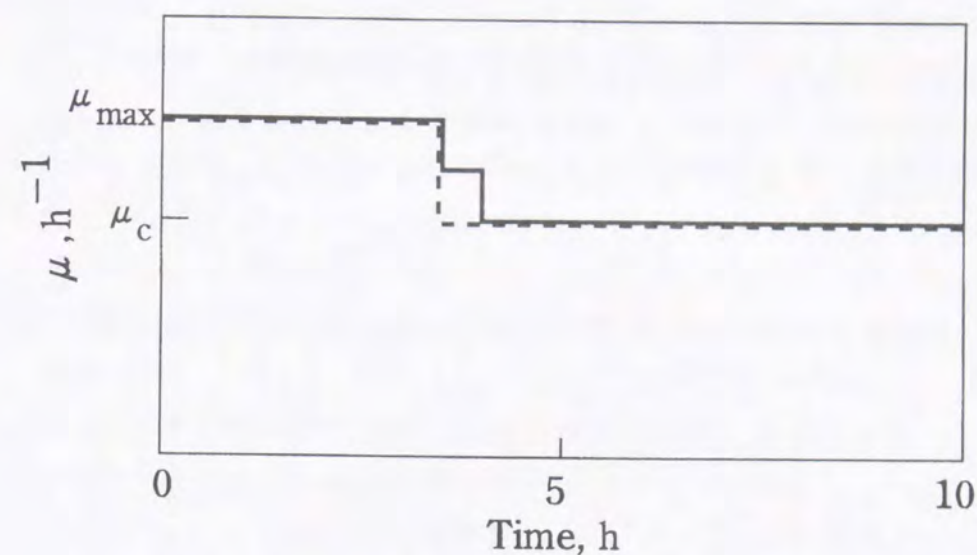


Fig. 39 Calculation results of two-point boundary value problem of GSH production. Solid and dotted lines have the same indications as those in figure 5-6. Fitness was defined by eqs. (5-12)-(5-15).

#### 5. 3. 4 計算時間

今回使用した言語はCであり、インテル社の486CPUに487の数値演算プロセッサを装着した環境で計算したが、グルタチオンの最適化問題で約30秒、二点境界値問題で約3分、酢酸イソアミルの最適化問題で1分強であった。処理系とハードウェアの違いもあるが、実用範囲内であり、オンラインにおける最適化計算を行わせるに充分短時間であった。

#### 5. 3. 5 遺伝的アルゴリズムの問題点

一つは、コーディングの問題であり、利用者の主観やセンスに迫るところが大きく、やり方は様々である。今回の問題でも操作変数の配列のカウント用変数を符号なし整数値としてそのままコーディングしたが、他に2進数やグレーコードも考えられる。第二に、パラメーターの数が多いことである。交差、変異の確率や計算の打ち切り世代数、淘汰するとき足切りを行うならその値もそうであり、問題ごとに検討されなければならない。<sup>93)</sup>

今回対象とした問題はいずれも既に結果が求められ、実験的に確認されているも



のであったが、パラメーター決定は厳密な予備的計算を行った訳ではなく、いずれの問題でも意図的に共通した値とした。未知のプロセスにおいて、オンラインで計算する前に段数を少なくして試行的に計算して解の構造を把握しておくことは可能であり、遺伝的アルゴリズムは、かなりの普遍性を持つものであると思われた。また、今回対象としたいずれの問題も実験的にその最適性が実証されていることをつけ加えておく。

### 5. 3. 6 遺伝的アルゴリズムを用いた発酵速度軌道算出の決定戦略

第三章にて述べた発酵速度軌道の算出手順は、過去の醗経過を再現するための方策であった。しかし、清酒醗のコンピューター制御の最終目的は、いかにして同じ品質の酒を造り出すかではなく、いかに品質の良い酒を得るかという問いに答えることである。著者らはこの目的を達成するために、次のような発酵速度軌道算出手順を用いた<sup>72)</sup>。

- 1) 清酒中の微量成分から官能評価を推定する<sup>73)</sup>。
- 2) 官能評価推定値とアルコール生成速度の温度に対する応答特性をモデル化する<sup>72)</sup>。
- 3) 2) で同定したアルコール生成速度と官能評価の動特性を表現するモデルを用いて、発酵終了時点で官能評価が最適になるような温度軌道を最適化計算によって算出する<sup>74)</sup>。
- 4) アルコール生成を記述するモデルに 3) で求めた温度軌道を与えてアルコール生成速度軌道を算出する。

普通酒のように発酵期間が制限されている場合には、発酵終了時点のアルコール取得量を制約として加え、二点境界値問題として遺伝的アルゴリズムによって最適化計算を行う<sup>74)</sup>。以上、官能評価の推定とその推定値のシミュレーションモデルが正しく同定されたならば、発酵速度軌道制御によって官能評価の最適制御が完遂される。

### 5. 4 結論

1. 遺伝的アルゴリズムにより、発酵プロセスの最適軌道算出を試みた。半回分培養におけるグルタチオン総生産量を最大にする問題と、その発酵終了時点で菌体内グルタチオン含量を設定値にする束縛条件のもとに総生産量を最大化する二点境界値問題、糖化液を用いた清酒の発酵プロセスにおいて発酵終了時点の酢酸イソアミル濃度を最大にする問題を解き、遺伝的アルゴリズムの実用性を検討した。

2. グルタチオンの問題の最大原理による結果と酢酸イソアミルの問題のダイナミックプログラミングによる結果に対して、遺伝的アルゴリズムではいずれもほぼ同様の軌道が実用的時間内に算出できた。

3. 遺伝的アルゴリズムにおいて、ある遺伝子の持つ制御変数を、両隣の遺伝子の持つ制御変数の中間値にさせる中間値突然変異を導入したところ、計算時間が短縮され、我々が提案した中間値突然変異が発酵プロセスの最適化において有効であることが示唆された。グルタチオンの問題では転座という一つの染色体上で遺伝子対を入れ換える操作を行ったことにより、より正しい結果が得られた。しかし、転座は酢酸イソアミルの問題ではかえって逆効果であった。

### 第五章の記号表

- $C$  : coefficients, -  
 $f_i$  : function represented relation between state vector and control variable vector  
 $f_1, f_2, f_j$  : fitness, -  
 $G$  : generation, -  
 $IAA$  : isoamylacetate concentration, g-IAA/l-sake  
 $J$  : objective function  
 $J_1$  : objective function on optimization procedure of glutathion, g-GSH  
 $J_2$  : objective function on optimization procedure of isoamylacetate, g-isoamylacetate/l  
 $M$  : number of stage, -  
 $n$  : number of reproduced individuals, -  
 $N$  : number of total individual, -  
 $p$  : glutathion concentration in cell, g-GSH/g-cell  
 $P$  : ethanol concentration in sake, g/l  
 $t$  : time, h  
 $u$  : control variable  
 $V$  : volume of broth on fed-batch culture, l  
 $x$  : cell concentration, g/l  
 $X$  : state vector  
 $\alpha, \beta, 0, k_a, k_d', Y_{IAAP}$  : constants  
 $\varepsilon$  : error between the calculated glutathion concentration in yeast and the set value, g-GSH/g-cell  
 $\mu$  : specific growth rate, h<sup>-1</sup>



$\mu_o$  : optimum specific growth rate for maximum specific glutathion production rate,  $h^{-1}$

$\rho_o$  : specific glutathion production rate,  $g\text{-GSH}/g\text{-cell}\cdot h^{-1}$

<subscripts>

$i, j$  : counter variable

$0$  : initial

$f$  : final

$max, m$  : maximum

$min$  : minimum

## 第六章 遺伝的アルゴリズムによるファジィルールの獲得と 清酒発酵プロセスの官能特性の最適化制御

### 6.1 はじめに

バイオプロセスの制御において、最適制御を実現するためにはプロセスの動特性を記述した何らかのモデルが必要となる。そのモデルに要求される機能は、発酵終了時点の状態を予測することであったり、現在の発酵状態に適応することができることである。しかしながら、一旦そのモデルが現在の状態に適応してしまえば、もしそのモデルが発酵フェーズごとに分割されてい無いかぎり、予測のための基準もまた変化してしまうであろう。バイオプロセスの強い非線形性や不安定性を考慮に入れば、その基準の変化は悪い予測結果をもたらすと思われる。したがって、過去の多くの経験を通して得られたデータベースに基づいて、離散的なモデルでもって発酵フェーズを分割して取り扱うことが考えられる。上記の考察から、岸本ら<sup>6,3)</sup>は、データベースに基づく重回帰モデルを用いた統計的モデルを提案している。Konstantinov と Yoshida<sup>9,6), 9,7)</sup>は、発酵プロセスのフェーズ分割と、分割したフェーズへの制御基準の割り付けを報告している。

清酒の発酵プロセスは、発酵液が気固液の混然となった物性であるために、操作に対する応答が極端に遅く、かつ発酵の初期と後期ではその挙動が激変する非線形なプロセスである。発酵液の物性のために、また、製品の付加価値を考慮すれば高度なセンサーを装備することはできない。以上のような理由によって、アルコール濃度や比重の制御技術<sup>18), 20), 22)</sup>は進歩したものの、官能評価の制御はほとんど報告されていない。幾つかの報告<sup>20), 22)</sup>では、エキスパートの制御法策をファジィ推論によって構築することによって最適制御を行わせているが、プロセスの変動に対する適応的な機能を持たず、またエキスパートの持つ最善の策をルールとして構築し得たかを測定する手段はなんら提出されていない。そこで我々は、本章において、官能評価の挙動をアルコール生成速度および温度から推論し、発酵終了時点の官能評価<sup>7,3)</sup>を最適化する制御システムを提案する。

吟醸酒の発酵プロセスは800時間を超える。したがって、いかに長期の予測を行うかが制御の成否を決定すると考えられる。長期的な予測を行い、発酵プロセスの系全体を通して操作を最適化するためには、系全体を記述するための何らかのモデルが必要である。しかしながら、従来のように微分方程式を用いて適応系を構築した場合、観測された値はプロセスの一部について得られているだけであるにも関



ならず、パラメーターの変更によってモデルが系全体にわたって更新されてしまう。したがって、もしモデルの構築が不適當であったり、長期にわたって観測値にノイズが含まれているような場合には、プロセス後半における予測値は妥当性を欠き、最適化計算を行ったとしても、より最適な値が得られていることは保証されない。

上記の問題を解決するために、KonstantinovとYoshidaら<sup>90, 97)</sup>が提案したフェーズ分割の考えを導入した。さらに次のような議論を制御システムに反映させた。エキスパートはプロセス途中で、頭の中に構築した制御ルールの全てを作りなおすわけではないであろう。現時点あるいはそれ以前のプロセスに関するルールのみを、プロセスの挙動に即した形に修正して、将来の挙動の予測はそれまでに得られた経験を利用するのであって、個々のプロセスごとに将来のプロセス挙動のルールを作り替えるわけではない。すなわち、ファジィ推論におけるプロダクションルールを各フェーズごとに用意し、各フェーズごとに計測値をもとにルールの一部のみを適応させた。この時、現在時刻が含まれるフェーズに帰属するルールのみを遺伝的アルゴリズムによって学習させ、将来の発酵フェーズに帰属するルールは変更しなかった。そして、変更されたルールを含めてプロセス全体を通して最適化計算を行った。我々は、構築したシステムによって吟醸酒の発酵プロセスにおける官能評価の最適化制御を試みた。

## 6. 2 実験方法

### 6. 2. 1 仕込み

掛米、麴米ともに50%精米歩合の山田錦を用いた。酵母菌株は *Saccharomyces*

Table 18. Proportion of materials for sake mashing

	Mizu koji	Soe	Tome	Total
Rice (g)	40	200	560	800
for steaming rice	0	80	560	640
for koji	40	120	0	160
Water (ml)	240	720	160	1120
Lactic acid (ml)	0.5	-	-	0.5

*cerevisiae* K-9を用いた。総米800g、麴歩合20%、汲み水歩合140%とした。蒸米は添時および留時に加える2段仕込みとした。踊期間は3日とした。

仕込み配合をTable 18に示した。初発酵母濃度は $2 \times 10^8$  cells/mlとした。麴米は定法通り調製したものを $-20^\circ\text{C}$ にて保存し、同じものを供した。蒸し米は洗米、吸水時間を15分とし、毎回同様の条件にて行った。

### 6. 2. 2 制御戦略

これまでの章でそれぞれ述べてきたことを、もう一度まとめた。清酒の官能特性の最適制御に関してFig. 40に示すような制御戦略を立てた。それらは、4つの要素から構成されている。

第一に、アルコール濃度の制御方策<sup>98)</sup>に関することである。清酒醸造においては米の溶解とアルコール発酵が同時並行的に進行するために、アルコール濃度と比重をともに目標値に制御することが要求される。第三章において、アルコール生成速度を二酸化炭素発生速度から推定することによって、アルコール生成速度を軌道通りに制御すれば上記の目的が達成されることを示した。

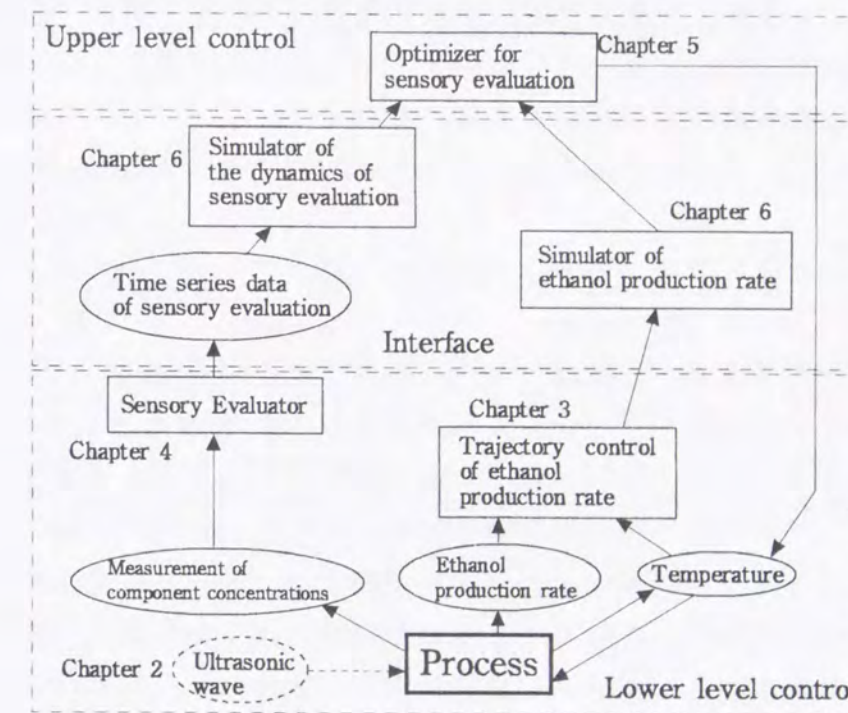


Fig. 40. Optimization strategies for sake mashing process.

第二に、清酒の官能評価を客観的に定量的に取り扱うために、清酒中の成分濃度から官能評価を推定するモデルを作成した。この目的のために、第四章で説明した、



Dempster-Shafer 測度<sup>73)</sup>を用いた。

第三に、本章で報告するファジィシミュレータである。官能評価の推移及びアルコール生成速度の推移を計測可能な状態量をもとにシミュレートすることのできるモデルを提案する。

第四に、官能評価とアルコール生成速度のシミュレータを用いて、発酵終了時点で官能評価を最適にする温度軌道およびアルコール生成速度軌道を求める最適化計算過程である。オンライン最適化計算において、計算されたエタノール生成速度の最適軌道は、Fig. 40 に示すように第一の要素である発酵速度軌道制御に受け渡された。

第二章において示したように、超音波照射が新たな操作変数となり、液状の発酵原料を用いる場合にはその効果は大きく、発酵期間が短縮され、エステル生成が促進された。しかし、蒸米を含んだ従来の清酒発酵工程に適用した場合には、超音波の蒸米や二酸化炭素の気泡への吸収が大きく、効果は小さかった。したがって、この章においては超音波照射は行わなかった。

本章においては、最適制御と最適化制御を次のように定義した。最適制御は、発酵終了時点で官能評価を最小にするように、あらかじめ決定したエタノール生成速度の軌道を実現する制御である。一方、最適化制御は発酵終了時点の官能評価を最小化するように、オンラインで計算したエタノール生成速度の新しい軌道で古い軌道を取り替え、これを実現する制御である。それぞれ、エタノール生成速度の軌道が決定されれば、第一の要素である発酵速度軌道制御によって実現された。

### 6. 2. 3 GAによるファジィルールの抽出

ファジィ推論として水本らが報告した代数積加算重心法<sup>99)</sup>を用いた。従来用いてこられた Mamdani と Assilian<sup>100)</sup>によって提案された Min-Max 重心法では、特に後件部の統合過程において、より小さなグレードを持つルールはより大きな帰属度を持つルールによって無視されてしまいがちであった<sup>99)</sup>。従って、GA<sup>101)</sup>によってファジィルールの発見的に抽出しようとする場合に、ルールの変更に対して推論の変化が鈍くなり、教師データに対する学習の収束が遅くなる傾向が観察された<sup>102)</sup>。以上のような理由から、ルールの変更に対して敏感な<sup>102)</sup>代数積加算重心法を採用した。

ファジィルールの GA の染色体上へのコーディングは、Fig. 41 に示すように行われた。ファジィルールの前件部および後件部における言語ラベル (Big, Middle と Small) は、Fig. 41 に示すように染色体上に直列に連結された。そしてそれらに続いて、前件部の言語ラベルの示している成分名 (ここでは温度、積算温度、アルコール生

成速度およびアルコール生成量) をコード化して連結させた。実際のプログラムにおいては、言語ラベルや成分名は整数によって表現した。以上の前件部、後件部のラベルそして成分名の並びを一セットとして、同様の順番でルールの数だけ一本の染色体上に連結させた。

染色体が定義された後、それから染色体を複製させ、複製させた染色体の一部 (遺伝子) を乱数によって決定した他の遺伝子に置き換えた (変異)。ここで、遺伝子とはファジィルールの言語ラベルや成分名をコード化したものである。変異させた染色体は、染色体の評価、複製、変異および交叉という一連の手順を持つシンプル GA によって操作した。複製、変異および交叉は、それぞれ、ルーレットルール、一点変異および一点交叉<sup>80)</sup>を用いた。変異と交叉の位置 (遺伝子座) は乱数の発生により決定した。変異と交叉の確率は、それぞれ 0.9 および 1.0 とした。ただし、変異の確率は染色体に一カ所の変異が起こる確率を示している。染色体の総数は 20 とした。

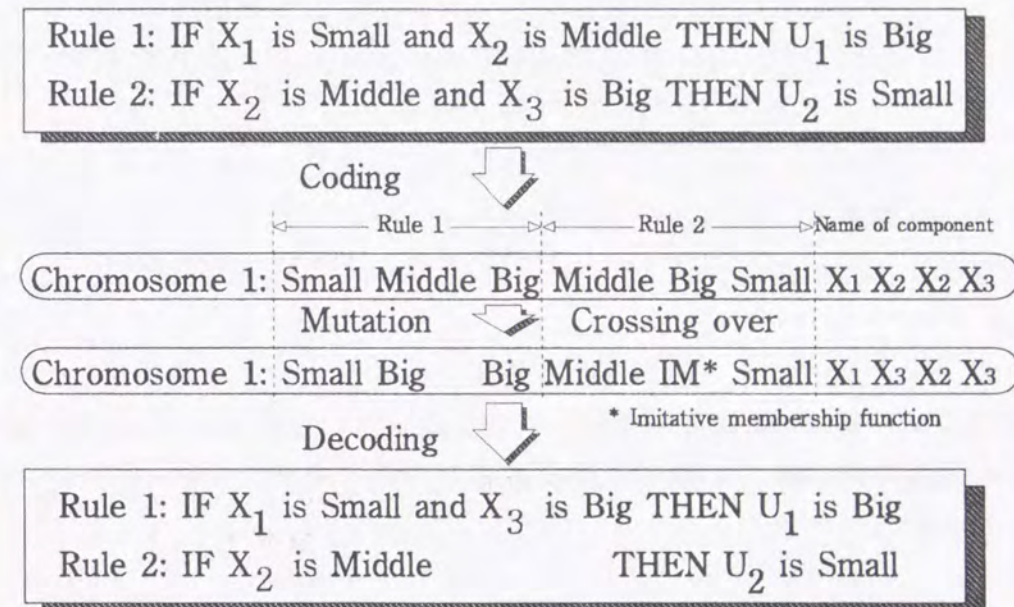


Fig. 41. A coding method of fuzzy rules in GA.  $X_{1-3}$  indicate the state variables such as the temperature, the accumulated temperature, the ethanol production rate and the amount of ethanol.  $U_{1,2}$  indicate the output to calculate the ethanol production rate and sensory evaluation.

それぞれの染色体の評価は、GA の適応度として得られる。本章では、適応度は次式のように、教師データとファジィシミュレータの推論値の間の誤差関数として定義した。



$$f_i = 1 / \sum (J_e - J_a)^2 \quad (6-1)$$

ここで、 $f_i$  はファジィルール抽出のための適応度、 $J_e$  および  $J_a$  は、ファジィシミュレータにより予測された官能評価、および酒中の成分濃度から Dempster-Shafer 測度によって推論された官能評価（教師データ）を示している。すなわち、ファジィシミュレータが官能評価の推移を表現することができるようになることを意図している。6. 2. 5 で示すように教師データがエタノール生成速度である時、 $J_e$  はファジィシミュレータの推論値であり、 $J_a$  はエタノール生成速度の計測値である。ファジィルール抽出は、教師データとシミュレートされたデータの間の誤差が減少するように（式 (6-1) の適応度が増加するように）実行された。

本章では更に、Fig. 41 に示すように新たに仮想的メンバーシップ関数を導入した。仮想的メンバーシップ関数は、前件部のみに用いられ、成分名の一つとして取り扱われる。仮想的メンバーシップ関数がファジィルールとしてデコードされたとき、その仮想的メンバーシップ関数を持つ前件部の言語ラベルは前件部の統合計算において無視される。つまり、仮想的メンバーシップ関数のグレードはいかなる入力に対しても適合度 1 を持つ。この仮想的メンバーシップ関数の導入によって、前件部のラベル（成分）の数は、教師データに適應するように自由に選択されるようになる。

しかし、ここで各ルール間で前件部における言語ラベルの数が異なるという事態が発生する。この場合、前件部の言語ラベル一つ当たりの重みが異なってくる。そこで、ラベルの重みが次の式によって等しくされなければならない<sup>99)</sup>。

$$h'_i = h_i^{m/n} \quad (6-2)$$

ここで、 $h_i$  は  $i$  番目のルールにおける前件部の代数積をとった後のグレードであり、 $h'_i$  は重みを等化させた後のグレードである。 $m$  は仮想的メンバーシップ関数を含めない場合の前件部の命題（言語ラベル）の数であり、 $n$  は  $i$  番目のルールにおける命題の数である。

#### 6. 2. 4 メンバーシップ関数のスケジューリング

Shi と Shimizu<sup>100)</sup>、および Oishi ら<sup>20)</sup> は、メンバーシップ関数の幅を適応的に調整することによって、応答を敏感にさせ、学習の精度を向上させる方法について報告している。これらはいずれも各メンバーシップ関数の応答が高くなるように、データ入力が高くなる場合には関数の傾斜を急にして、粗な場合には傾斜を緩くしていると解釈することができる。

この目的のために、本章ではメンバーシップ関数のスケジューリングを提案する。言い換えれば、メンバーシップ関数の応答性を良くするために時間の進行とともに

メンバーシップ関数の幅を調整することである。

各メンバーシップ関数は、Fig. 42 に示すようにあらかじめ決定しておいた軌道に沿って調整される。メンバーシップ関数の幅は、過去の制御の時系列データをもとにして、入力データが混み合っている場合には狭く、入力データが粗な場合には広くされる。入力データの定義域の軸に対するメンバーシップ関数の切片は、

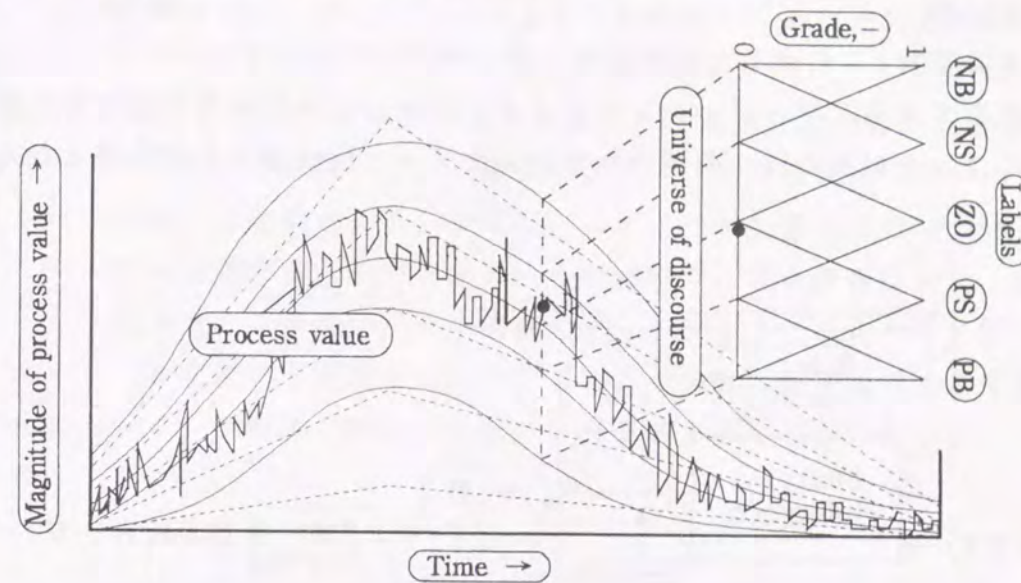


Fig. 42. Schematic representation of scheduling of the membership functions.

Solid lines show the trajectories of solution by differential equations. Dotted lines show the trajectories of solution by first order linear equations.

Fig. 42 中、点線に示すような一次式に沿って、あるいは、6. 2. 8 に示す酵母増殖（式 6-5）とエタノール生成（式 6-6）の微分方程式の解（Fig. 42 中実線）に沿って調整される。それらの軌道は、入力データの定義域の軸が時間とともに変化するイメージとして定義される。スケジューリングの軌道は、教師データとファジィシミュレータの推論値の間の誤差が小さくなるように 2~3 回の試行錯誤によって決定された。

#### 6. 2. 5 ファジィ推論を用いたシミュレーション

ファジィ推論を使用して、エタノール生成速度および官能評価をシミュレートするための方法を Fig. 43 に示した。官能評価値は、温度、積算温度、エタノール生成速度およびエタノール生成量から推論した。ファジィ推論への全ての入力値は、最大値で割ることによって正規化した。積算温度 ( $\sum T$ ) は、毎時間 (h) 温度を積算



することによって計算した。エタノール生成速度は、CO<sub>2</sub>ガス発生速度から推定された。エタノール生成量は、生成速度の積分値として得ることができる。ファジィ推論からの出力は、エタノール生成速度 ( $dP/dt$ ) あるいは官能評価 ( $J$ ) の時間当たり ( $\Delta t$ ) の変化量である。すなわち、ファジィシュミレータによる官能評価値は次式のように計算した。

$$J_{t+\Delta t} = J_t + U_t \quad (6-3)$$

ここで、 $J_t$  は時間  $t$  における官能評価値、 $U_t$  は時間  $t$  におけるファジィシュミレータからの出力である。ファジィシュミレータがエタノール生成の予測ために使用される場合には、その出力は一時間当たりのエタノール生成速度の変化量となる。

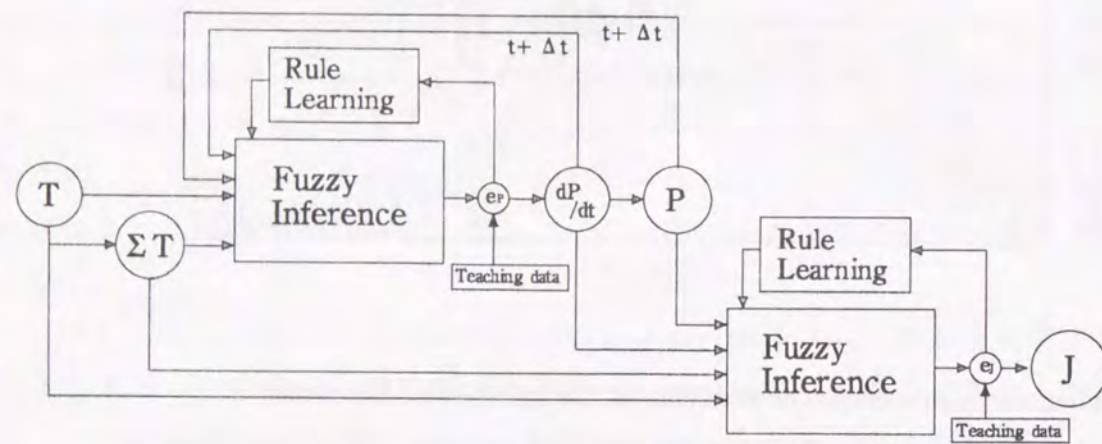


Fig. 43. Fuzzy simulators for ethanol production rate and sensory evaluation.  
Symbols:  $t$ , time(h);  $T$ , temperature;  $P$ , amount of produced ethanol;  $e_P$ , errors of  $dP/dt$ ;  $e_J$ , errors of  $J$ ;  $J$ , estimated sensory evaluation.  $T$ ,  $P$  and  $J$  were standardized by division by the maximum values.

次に、ファジィシュミレータの全体の構成を説明する。まず、アルコール生成速度を第一のファジィ推論によって計算する。この時の教師データは、実際のアルコール生成速度およびアルコール生成量である。推論されたアルコール生成速度及び生成量を、自己回帰的に一単位時間後の入力値として用いた。発酵開始から終了までの式(6-1)の値が、一つの染色体の評価(適応度)として定義された。GAによるファジィルールの組み替えによって、教師データと推論値の誤差が十分減少した後(式(6-1)の適応度の増加の後)、そのファジィシュミレータは、シミュレーションあるいは最適化計算のために用いた。

官能評価推論値は第二のファジィ推論によって計算された。この時、温度、積算温度、および第一の推論によって計算されたアルコール生成速度およびアルコール

生成量を入力値として推論を実行した。この際の教師データは、過去の制御結果における13種類の成分濃度(第四章 Table 12)のオフライン分析結果から Dempster-Shafer 測度によって推論された官能評価推定値とした。

上記二つのファジィシュミレータによって、一旦エタノール生成量と官能評価の初期値、および温度の軌道が得られたならば、エタノール生成速度と官能評価を予測しうる。官能評価およびエタノール生成速度の初期値は、それぞれ 2.3 および 0 とした。

発酵開始から終了までの温度軌道が得られたなら、積算温度の時系列を積算値として計算することができる。次いで、一期先のエタノール生成速度は第一のファジィシュミレータによって推論される。すると、エタノール生成速度の積分値としてエタノール生成量を計算することができる。その時点で、官能評価は温度、積算温度、エタノール生成速度およびエタノール生成量を入力することによって、第二のファジィシュミレータを用いて推論することができる。発酵の最後までこの手順を繰り返すことによって、発酵終了時点の官能評価を予測することができる。

#### 6. 2. 6 最適化計算

最適制御および最適化制御における最適化計算は、Fig. 43 に示した既に学習済みのファジィシュミレータを用いて実行した。第五章に示した GA を用いた最適化手法<sup>104)</sup>を適用した。GA の一つの染色体は離散的な温度軌道から構成されている。その一段の刻み時間は 24 時間とした。実際のプログラムにおいては、整数としてコードされた。積算値は染色体からデコードされた離散適温度の積算値として計算した。エタノール生成速度および官能評価は、発酵終了時点まで二つのファジィシュミレータによって予測された。GA では適応度がより大きな染色体を複製させて行くので、この場合の GA の適応度は、次式のように発酵終了時点の官能評価の逆数として定義した。

$$f_2 = 1/J_f \quad (6-4)$$

ここで、 $f_2$  は官能評価の最適化における GA の適応度を示している。 $J_f$  は発酵終了時点の官能評価である。6. 2. 3 の項で述べたシンプル GA によって 200 世代の繰り返し計算を行った後の最大の適応度(最小の官能評価、感応評価は小さいほど優れている)をもつ染色体を、温度の最適軌道として採用した。また、エタノール生成速度の軌道は、第一のファジィシュミレータの出力として得られる。

オンライン最適化計算を行う場合には、実際のプロセスの温度とアルコール生成速度およびその生成量の関係に、第一のシュミレータにおけるファジィルールが適応するように、オンライン測定されたデータを用いて、第一のファジィルールの



部分を組み換えた。実測値に適応した新たなルールが得られた後、上記の最適化計算をオンラインにて再計算させた。この適応-最適化計算は1日に1度行った。

### 6. 2. 7 フェーズ分割によるルールの分散化学習

ファジィシミュレータのオンライン学習において、全体のプロセスをシミュレートするための全てのルールが適応計算に供されるならば、過去における多くのデータ（温度、エタノール濃度、エタノール生成速度、Table 19に示すような成分濃度そして官能評価など）を含むデータベースを通して抽出されたルールは、現在の制御のわずかな期間に測定された、ほんの少しのデータによって変更されてしまう。しかし、我々はここで、ファジィルールの適応的学習によって次に示す二つの目的を同時に達成したいと考えている。

- 1) プロセスの変動に適応すること
- 2) 過去の経験を効果的に活用すること。

例えば、Fig. 44中の点線は、全てのルールが学習された後の典型的な曲線を示している。未来のフェーズにおける時系列は、最初のフェーズと現在のフェーズにおける測定値(●)によって変化したルールを用いて予測される。と同時に、我々は繰り返し培養して得られた過去のデータを通して獲得してきた未来のフェーズに関する知識を捨てることとなる。本章では、Fig. 44に示すような上記のジレンマを解消するために各発酵フェーズに対応したファジィルールの分散化した学習を提案する。

適応計算（オンラインルール学習）は、Fig. 44中の矢印によって示された現在の時間を含むフェーズのみにおいて実行されるべきである。つまり、そのフェーズにおいて、Fig. 44の枠で囲まれたルール的一部分のみが、適応的に変更されるべきである。ファジィルール抽出において、ルールの一部のみが染色体にコーディングされ、6. 2. 3に示したシンプルGA（染色体の長さにおいて異なる）によって操作された。あるフェーズにおいて、デコードされたファジィルールは、GAによって操作されなかった他のルールを含めて推論に使用された。あるフェーズのシミュレートにはそのフェーズに属するルールのみを用いてシミュレートした。

この方法によって、上記のジレンマは解決されるはずである。蓄積されたデータベースを現在の制御においても有効に利用し、かつ適応的な学習によって新しい知識を獲得することができるようになる。オンライン最適化計算は、オンラインルール抽出後、新しく獲得されたルールと古いルールの両方を用いて実行される。

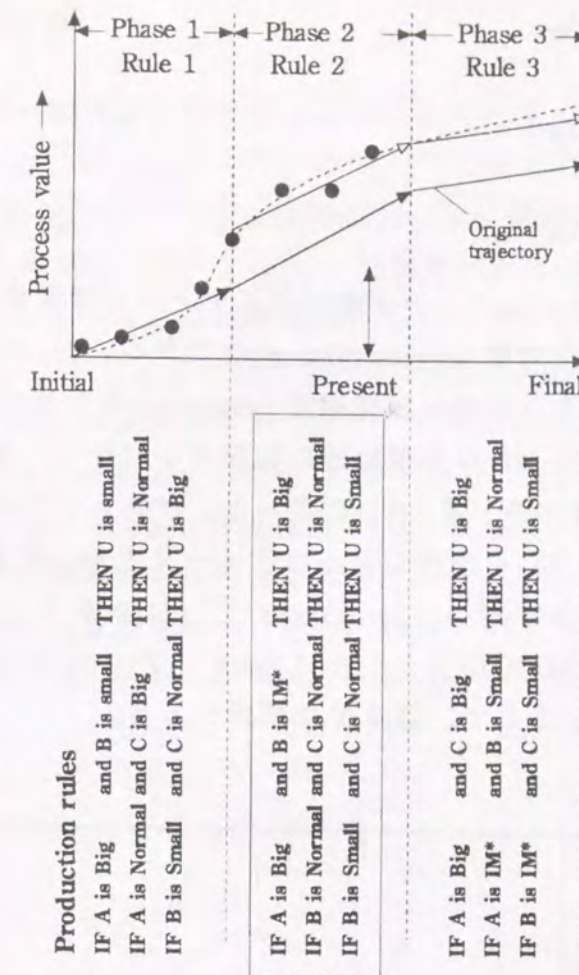


Fig. 44. Schema of decentralized learning of fuzzy rules.

The dotted line shows a typical curve after learning of all rules. Solid lines with black and white arrows illustrate the time courses simulated before and after adaptation of rules, respectively. Only a part of rules in frame corresponding to phase were operated by GA. Arrow indicates the present time. \* IM is explained in Fig. 42.

### 6. 2. 8 官能評価をシミュレートする微分方程式

微分方程式を用いた最適制御実験を、ファジィシミュレータの効果を確認するために行った。エタノール生成速度ならびに官能評価は、ファジィシミュレータの代わりに微分方程式によって予測された。最適制御の場合、最適化計算は6. 2. 6に示したGAを用いた方法によって実行した。酵母増殖、エタノール生産および官能評価の変化を表現する連立微分方程式を次のように構築した。

$$\frac{dx}{dt} = \mu_m \left(1 - \frac{x}{x_m}\right) x \quad (6-5)$$



$$\frac{dP}{dt} = \alpha \frac{dx}{dt} + \beta \exp(-k_1 \int_0^t P dt) x \quad (6-6)$$

$$\frac{dJ}{dt} = -k_2 \frac{dP}{dt} \quad (P < 47.3 \text{ g/l})$$

$$\frac{dJ}{dt} = k_3 \frac{dP}{dt} - k_4 J \quad (P \geq 47.3 \text{ g/l}) \quad (6-7)$$

ここで、 $x$  は菌体濃度 (g/kg-rice)、 $P$  は醪中のエタノール濃度および米の溶解率から計算されるエタノール生成量 (g-ethanol/kg-rice) である。 $\mu_m$  および  $x_m$  は、それぞれ最大比増殖速度 ( $\text{h}^{-1}$ ) および最大菌体濃度 (g/kg-rice) を示している。 $\alpha$  は、増殖連動係数であり、 $\beta$  および  $k_{1-4}$  は発酵温度に依存するパラメーターである。 $\mu_m$ ,  $x_m$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$  および  $k_1$  は前報 (第一章) <sup>67)</sup> に従った。パラメーターの修正が必要な場合には、シンプレックス法 <sup>106)</sup> を使用した。パラメーター  $k_{2-4}$  は本章でシンプレックス法を用いて同定したものであり、 $k_2 = 2.31 \times 10^{-6} T + 6.32 \times 10^{-3}$  ( $T \leq 10^\circ \text{C}$ ) もしくは  $k_2 = -1.98 \times 10^{-3} T + 0.0262$  ( $T > 10^\circ \text{C}$ )、 $k_3 = 1.16 \times 10^{-3} T + 9.09 \times 10^{-3}$  および  $k_4 = 2.14 \times 10^{-4} T - 1.37 \times 10^{-3}$  であった。ここで、温度  $T$  は摂氏である。

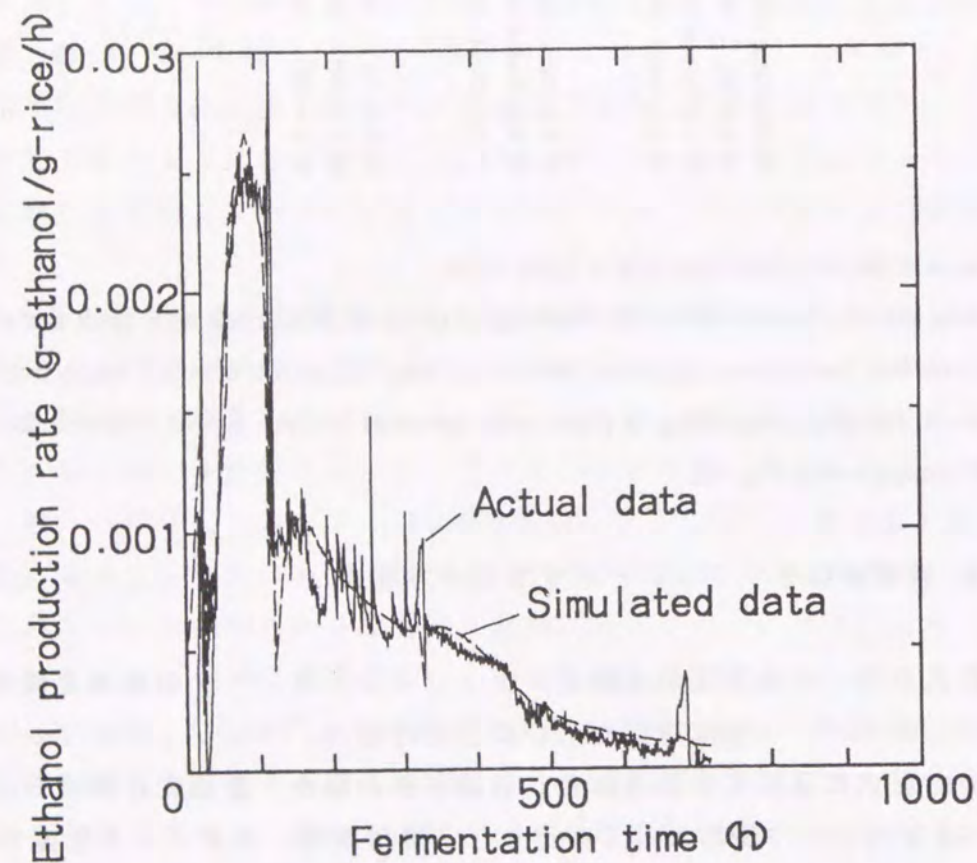


Fig. 45. Simulation results of the ethanol production rate using the first fuzzy simulator.

## 6. 3 結果と考察

### 6. 3. 1 ファジィ推論によるシミュレーション結果

Fig. 45 および Fig. 46 にアルコール生成速度および官能評価のファジィ推論によるシミュレーション結果を示した。これらは 10 通りの制御結果を学習させた後のルールによる、シミュレーション結果である。

その結果、エタノール生成速度の実測値あるいは Dempster-Shafer 測度による官能評価推定値の時系列データを良好にシミュレートさせることが可能となった。この時、各ファジィ推論に用いたルールの数は 40 であり、Fig. 42 に示すような 5 つの言語ラベルを持つメンバーシップ関数を用いた。また、GA における染色体数は 20 とし、100 世代後に得られた染色体を最適なルールとして選択した。メンバーシップ関数は Fig. 42 に示す一次の式に沿って調整した。

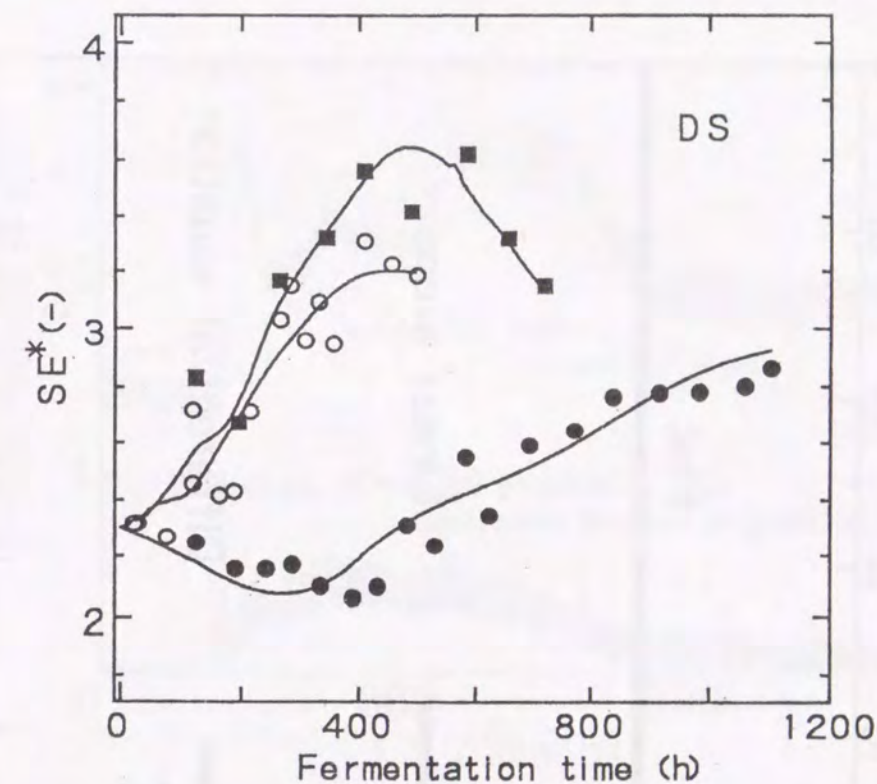


Fig. 46 Simulation results of the sensory evaluation using the second fuzzy simulator.

Symbols show the sensory evaluations estimated by Dempster-Shafer's measure (DS) from 13 kinds of component concentrations in fermenting sake at Run 1 (●), Run 3 (○) and Run 6 (■) indicated in Table 19. Lines show the simulation results by algebraic product and sum fuzzy simulator learned by genetic algorithm.



### 6. 3. 2 メンバシップ関数のスケジューリングの効果

Fig. 47にメンバシップ関数のスケジューリングの効果を示した。"Flat"は、発酵開始から終了まで同じ位置に等間隔にメンバシップ関数が定義された場合の結果である。この時のアルコール生成速度の教師データと推論値の間の誤差を1として、その他の条件における誤差を相対値で示した。

"Linear slope"は、Fig. 42中、点線で示すように、メンバシップ関数をエタノール生成速度のトレンドに沿って、直線的にスケジューリングさせたときの結果である。"Differential equation"は、Fig. 42中、実線で示すように、メンバシップ関数を微分方程式(6-5)および(6-6)によって得られるシミュレーション結果に沿ってスケジューリングさせた結果である。微分方程式によるシミュレーション結果は、式中のパラメータ( $\mu_m, \beta$ )を変化させることによって、Fig. 42に示すように実測値のトレンドに沿って計算した。

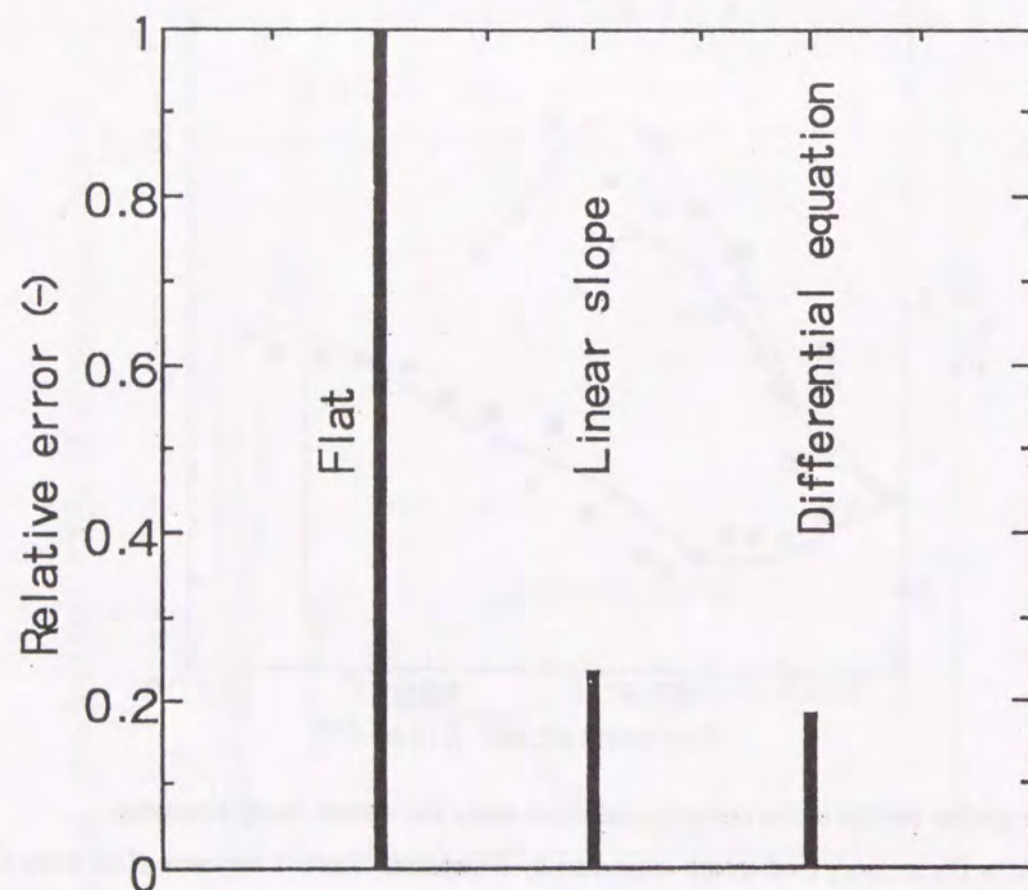


Fig. 47. Effect of scheduling of membership functions.

"Flat", "Linear slope" and "Differential equation" are explained in text.

"Differential equation"の誤差は、"Linear slope"のそれよりわずかに小さかった。しかし、"Differential equation"の効果は計算量に見合ったものではなかった。"Differential equation"における計算量は、酵母増殖(eq. 6-5)とエタノール生成(eq. 6-6)を計算するための微分方程式の数に依存している。一方"Linear slope"の計算量は、Fig. 42に示すような一次式にのみ依存している。"Differential equation"の効果は、"Differential equation"の計算量の負荷を考慮する場合、小さいと結論づけることができる。この様な理由から、本実験では"Linear slope"を採用することとした。

### 6. 3. 3 最適制御結果

最適制御の結果をFig. 48に示した。エタノール生成速度の最適軌道は、あらかじめ学習させておいたファジィシミュレータ(Fig. 43)を用いて、制御前にGAにより最適化計算を行った結果得られたものである。

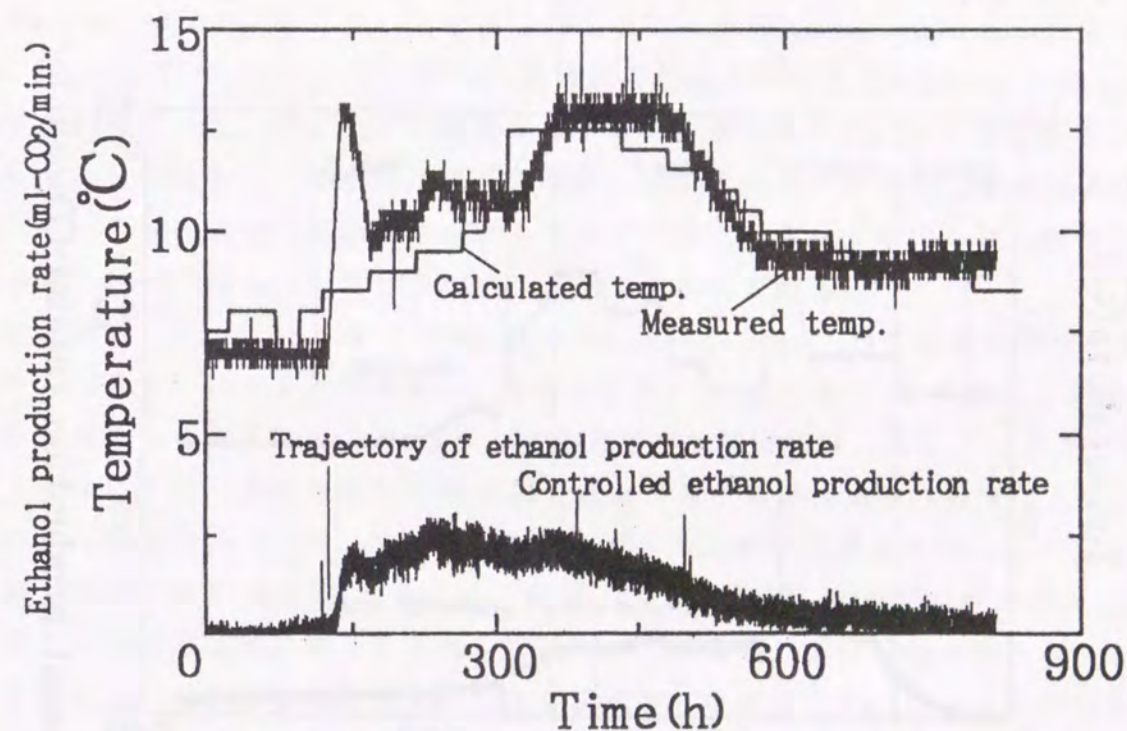


Fig. 48. Time courses of experiment by optimal control of sensory evaluation.

計算されたアルコール生成速度軌道に、測定された二酸化炭素発生速度から推定されるアルコール生成速度が一致するように温度を操作したものである。その結果、温度経過は山形の良い経過を示した。その経過はエキスパートによって操作された温度経過と傾向が一致していた。したがって、13種の成分濃度から得られる官



能評価を最適にすることを指向させることによって、吟醸酒のプロセスを制御するためのエキスパートの知識やルールを獲得することができたことを示している。

しかしながら、あらかじめ計算された温度の最適軌道と、アルコール生成速度軌道を実現して得られた温度結果との間には若干の隔たりがあった。これは、蒸米の水分含量や酵母の前培養状態の違いなどの初期条件のわずかな変動によってもたらされるプロセスの変動に、制御システムが対応できていないことが原因であると考えられた。そこで次に、温度とアルコール生成速度の関係を示すファジィルールを、実際の発酵状態にオンラインで適応させることを試みた。

#### 6. 3. 4 最適化制御結果

オンライン最適化制御の結果を Fig. 49 に示した。図にはフェーズをどのように分割したかを点線にて描き込んである。

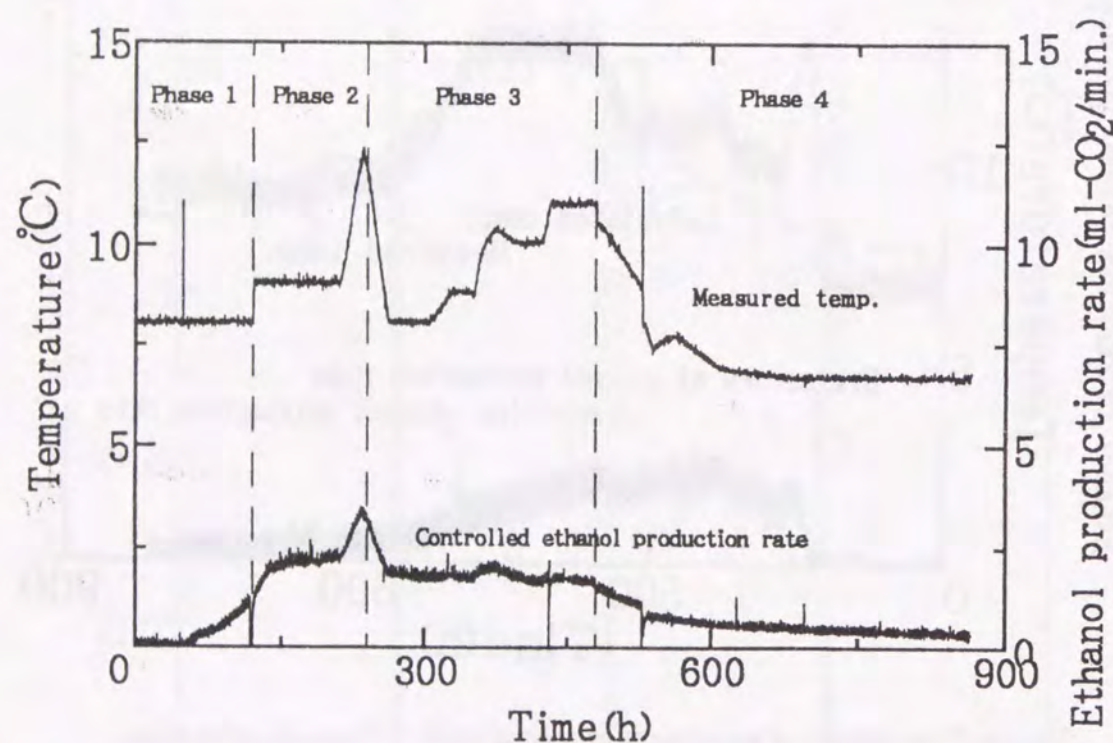


Fig. 49. Time courses of experiment by optimizing control of sensory evaluation.

エタノール生成速度の軌道は、ファジィルールの分散化学習と GA によるオンライン最適化計算によって算出した。フェーズの切り替わりによって操作温度の変

動が観察された。このため、フェーズの切り替わり時点を他のファジィ推論等で認識させる必要性はあるものの、発酵開始後 200 時間前後に温度上昇が観察される以外は、エキスパートによる温度操作経過および Fig. 48 の温度経過と傾向が同じであった。つまり、分散化学習によるファジィルールの適応は、エキスパートによる温度操作の管理基準に合致した知識を獲得したことが、Fig. 49 の実験によって確認された。

#### 6. 3. 5 成分分析値と官能評価

Table 19 に発酵終了後の酒中のアルコール濃度、日本酒度、グルコース濃度および MRA<sup>73)</sup> および DS<sup>73)</sup> により官能評価を推論するために用いたアミノ酸、有機酸、香気成分などの 13 種の成分分析値を示した。Dempster-Shafer's measure (DS) および重回帰モデル (MRA) による推論結果は定法通り 5 点法による総合的酎酒評価を表し、値が 1 に近い程良い酒であることを意味している。

Run1~3 はそれぞれ、7、10 および 13°C 一定温度における仕込み結果であり、Run8 は北本らによって示された経験的に最適な温度軌道を実行して得られた場合の結果である。Run12,13 は最適制御による結果であり Fig. 48 の制御結果の例は Run 12 のものである。Run 14 は最適化制御の結果である。その他の制御結果はアルコール生成および官能評価の推移をファジィシミュレータの代わりに微分方程式 (6-5) ~ (6-7) によって記述した場合の最適制御結果である。

その結果、Run12, 13 において Dempster-Shafer's measure (DS) および重回帰モデル (MRA) による推論結果は、Run 7 を除いて Run 1 から 11 の結果より優れた水準にあることがわかる。Run1 における官能評価推定値は、DS、MRA ともに優れてはいるが、発酵時間が 1100 時間を超えてもそのアルコール濃度は 13% 台であり、微量成分のバランスは良いがアルコールの規格を満たしていない。一方、最適化制御の結果 (Run 14) をみると、酸度、アミノ酸度、ピルビン酸などの酒の味を重くする成分は低く押さえられ、酢酸イソアミルやカプロン酸エチルなどの華やかで好ましい印象を与える香気成分は最高水準に生成されていた。またその官能評価推定値 (DS、MRA) は全ての制御実験の中で最小値を示した。

Run 8 ~ 14 の酒を酎酒試験に供したところ、パネラー 7 名中 4 名が最適化制御 (Run 14) に最高点を付け、2 名が最適制御 (Run 12 あるいは 13) に最高点を付け、実際の官能評価も最適制御あるいは最適化制御による酒を支持した。

今後はオンラインサンプリング装置を介した液クロマトグラフィや味覚センサー、香りセンサーなどを利用することによって、官能評価をオンライン適応-最適化計算をさせる制御実験なども行っていきたい。



Table 19 Component concentrations and the estimated sensory evaluations

RUN	ALC (v/v%)	NS (-)	GLU (g/l)	TA (ml)	AA (ml)	LAC (mg/l)	ACA (mg/l)	MAL (mg/l)	CIT (mg/l)	PYR (mg/l)	SUC (mg/l)	ACT (mg/l)	IBO (mg/l)	IAO (mg/l)	IAA (mg/l)	ECP (mg/l)	DS	MRA
1	13.84	-27.7	52.6	1.60	1.50	426	18	424	129	6	410	36.9	0	70.4	1.05	1.83	2.86	2.75
2	16.99	-8.3	21.8	1.80	1.40	493	22	514	121	109	422	34.5	12.9	103.8	1.83	0.82	2.93	3.03
3	17.86	16.6	7.4	2.10	1.30	607	4	563	141	133	367	10.5	24.4	119.7	2.17	1.38	3.18	3.06
4	12.59	-31.2	46.6	2.30	1.20	415	2	596	112	275	388	44.8	0	63.4	1.16	1.65	2.89	3.15
5	18.11	16.7	11.7	2.20	1.40	555	5	538	102	103	397	8.7	22.5	118.8	3.75	1.54	3.02	2.94
6	18.16	10.7	14.4	2.30	1.40	479	5	675	89	135	430	16	14.1	105.6	3.01	1.62	3.15	3.10
7	18.24	9.5	9.2	2.25	1.40	468	3	598	89	143	393	15	17.6	99.4	2.05	1.31	2.67	2.93
8	16.8	-1.0	18.4	2.20	1.50	471	2	643	99	174	397	20.9	11.5	83.1	2.23	1.59	3.07	3.02
9	19.68	21.9	7.9	1.85	1.20	612	26	399	122	2	469	14	53	154.5	2.34	0.9	3.64	3.05
10	19.39	21.8	6.7	1.70	0.90	524	45	313	108	16	446	12.2	53	154	2.34	0.72	3.74	3.00
11	19.84	22.1	9.5	1.85	1.45	560	47	329	119	18	488	21.4	69.5	166.1	1.93	0.36	3.68	2.95
12	15.43	-16.9	29.4	1.90	0.90	457	41	217	91	108	454	15.7	28.9	105.1	2.37	1.22	2.79	2.96
13	17.04	-10.3	21.0	2.00	0.95	506	18	314	97	27	453	14	32.8	116.6	2.72	1.56	2.84	2.90
14	16.70	-9.1	13.4	1.80	1.00	433	16	332	116	20	350	8.5	24.8	97.6	3.48	2.3	2.63	2.63

ALC, Alcohol; NS, Sake meter; Glu, Glucose; TA, Total acidity; AA, Amino acidity; LAC, Lactate; ACA, Acetate; MAL, Malate; CIT, Citrate; PYR, Pyruvate; SUC, Succinate; ACT, Acetylacetate; IBO, Isobutanol; IAO, Isoamylalcohol; IAA, Isoamylacetate; ECP, Ethylcaproate; DS, Sensory evaluation by Dempster-Shafer's measure; MRA, Sensory evaluation by multiple regression analysis.

## 6. 4 結論

本章では、ファジィ推論からなる発酵プロセスのシュミレーション方法を提案した。この、シュミレーションモデルは、遺伝的アルゴリズムによってファジィルールを獲得する学習能力を持つ。このファジィシュミレータによって、発酵プロセスの状態変数を予測することを試みた。また、この時に使用するメンバーシップ関数を、過去の制御データの時系列を用いることによって、時間の進行とともにメンバーシップ関数の幅をスケジューリングした軌跡に沿って調整する手法について提案した。さらに、このシュミレーションモデルに適応能力を持たせるために、ファジィルールを分割した各発酵フェーズごとに用意しておき、それぞれの発酵フェーズに応じてファジィルールを分散化して学習を行わせる方法論を提示した。

吟醸酒の発酵プロセスを対象として、提案した上記の手法の有効性を実験的に確認した。その結果、そのファジィルールが官能評価やエタノール生成速度のようなプロセスの状態変数を良好にシミュレート可能であること。メンバーシップ関数のスケジューリング調整は、そのシュミレータの学習能力を向上させるのに役立つこと。ファジィルールの分散化学習によって、そのシュミレータに適応的な能力を付与することができたことが確認された。

また、最適制御あるいは最適化制御によって得られた吟醸酒が優れた品質を持つものであることがわかった。

## 第六章の記号表

- ep*: error between simulated ethanol formation rate and observed ethanol formation rate, -  
*er*: error between simulated sensory evaluation and sensory evaluation inferred by DS, -  
*fi*: fitness of GA in fuzzy rule extraction, -  
*fz*: fitness of GA in optimization, -  
*hi*: grade calculated by algebraic product operation in precondition of *i*th rule, -  
*Je*: sensory evaluation simulated by fuzzy simulator, -  
*Ja*: sensory evaluation estimated by DS, -  
*ki-4*: coefficients in eqs. 6-6 and 6-7  
*m*: number of propositions in precondition of fuzzy rule, -  
*n*: number of propositions except for imitative membership function, -  
*P*: standardized amount of ethanol produced, -  
*T*: standardized temperature, -



$t$ : time, h

$U$ : output from fuzzy inference, -

$X$ : input to fuzzy inference, -

$x$ : cell density, g/kg-rice

$x_m$ : maximum cell density, g/kg-rice

$\alpha$ : growth associated constant, g-ethanol/g-cell

$\beta$ : maximum specific ethanol production rate non-associated to growth, g-ethanol/g-cell/h

$\mu_m$ : maximum specific growth rate, h<sup>-1</sup>

## 総括

酒造専従者の不足を背景とした清酒の自動制御において、官能評価を制御対象とした研究は報告されていなかった。そこで本研究では、清酒発酵プロセスの制御にあたり、発酵終了時点の官能評価値を最適に制御することを目的とした。この目的を達成するにあたり、以下のような達成目標を明確化し、これらを解決することとした。

- 1) 官能評価値に影響を及ぼす因子の操作が可能であること
- 2) 制御の自由度を増すために、操作手段を増やすこと
- 3) 測定可能な成分濃度から、官能評価値を予測すること
- 4) 従来から重要な制御目標であった、アルコール濃度や日本酒度の設定値を達成しながら、かつ官能に影響を及ぼす因子を最適に制御すること
- 5) 計算速度が速くロバストな最適化手法を導入すること
- 6) 発酵プロセスの状態変数と、操作変数間のダイナミクスをモデル化を自動化すること
- 7) 過去の運転データからもたらされる知識を活用しながら、適応的な能力を合わせ持つ制御系を構築すること

これらの達成目標について、下記のごとき結果を得た。

清酒の香りの評価において大きく寄与する酢酸イソアミルの最適生成を、糖化液を用いて試みた。エタノールの生成に比例する酢酸イソアミル生成項と、温度およびその時点の酢酸イソアミル濃度に依存する一次の分解項を持つモデルによって、酢酸イソアミルの消長を良好に説明することができた。発酵終了時点の酢酸イソアミル濃度を目的関数として、これが最大になるようにダイナミックプログラミングを使用して最適温度軌道および最適エタノール生成速度軌道を求めた。得られたエタノール生成速度軌道に、二酸化炭素ガス生成速度から換算したエタノール生成速度推定値を追従させるように温度を操作したところ、発酵終了時点の酢酸イソアミル濃度を定温条件の最大値の1.6倍に高めることができた。またこの時、制御の結果得られた酒は、唎酒試験において香りの評価が最も良好であった。

その結果から、官能評価に影響を及ぼす因子を温度の操作によって制御することができる可能性が示唆された。

酒類の発酵工程においては温度がほとんど唯一の操作手段であるが、温度以外の操作手段を開発する目的から超音波照射について検討した。その結果以下の知見を



得た。超音波照射によって発酵液中の溶存二酸化炭素(DCO<sub>2</sub>)濃度を低減することができるが、DCO<sub>2</sub>低下によって酵母増殖、エステル生成等が促進された。発酵液あたりの超音波強度には最適値が存在し、1lあたり3W程度が適当であった。窒素ガスを通気しながら超音波照射の影響を調べたところ、超音波を照射しない場合と比べほとんど差異がないことから、超音波による酵母増殖やエステル生成の促進の効果はDCO<sub>2</sub>の低減によって大部分がもたらされていると考えられた。実際の醸造原料を用いて超音波の効果を確認したところ、酵母増殖の増大によって発酵が促進され、エステル類や高級アルコール類の生成が高くなり、アミノ酸度や酸度が低く抑えられる傾向があることが観察された。上記最適温度制御と超音波照射を組み合わせることによって、酢酸イソアミルの生成を定温条件の最高値の2.5倍に高めることが可能となった。以上の結果、発酵プロセスに新たな操作手段を導入することができた。しかし、蒸米を用いる清酒醪への適用においては、まだ改良の必要があると考えられる。ただ糖化液、ワインやビールなどの液状原料を用いる工程に適用する場合、超音波照射手段は有用であり、温度と共に官能評価最適化のために組み込むことができるであろう。

清酒醪のアルコール濃度の目標値制御について研究した。提案した発酵速度軌道制御は、あらかじめ決定しておいたアルコール生成速度軌道に、二酸化炭素ガス発生速度から推定されるアルコール発生速度を追従させるように温度を操作するものである。本方法の有効性を速度式を用いたシミュレーションモデル、および酵素力価、酵母初期濃度あるいは米の品種等を変化させた制御試験で確認したところ、発酵終了時点のアルコール濃度を十分な精度で制御できることが検証できた。本方法を用いれば、高度な制御方法を必要とすることなく、アルコール濃度の目標値制御を達成することができるため、装置の計装を簡素にすることができるので、多品種少量生産に適していると思われた。さらに、本制御方法が成功するための条件を考察したところ、アルコール発生速度を二酸化炭素発生速度から推定するための換算係数の同定が所与である必要があること、および、麴由来のglucoamylase活性が55 U/g-白米以下という条件を満たすことであった。この研究によって、官能に影響を及ぼす因子を最適にするための発酵速度軌道を決定すれば、官能評価を最適に制御しつつ、アルコール濃度や日本酒度を所定の量に制御することができるようになった。

清酒中の成分濃度から官能評価を客観的に知るために、エキスパートが行った官能評価を数理的に解析することを試みた。この目的のもとに、次のモデルを比較した。遺伝的アルゴリズム(GA)を用いてDempster-Shafer測度(DS)の基本確率の各要

素への分布を学習させた。GAの適応度はDS出力値と教師データの誤差を減ずるように定義した。本モデルを重回帰モデル(MRA)、アナログ出力のバックプロパゲーション法(ABP)およびデジタル出力のBP法(DBP)と比較した。13種の成分濃度を入力し、そのときの喇酒評価値を出力値とした。既知の入出力関係をより良く学習する能力はDBP、ABP、DSそしてMRAの順に優れていた。一方、未知データを予測させる予測能力をクロスバリデーション法を用いて比較したところ、DSとDBPが同等であり、ABPそしてMRAの順に優れていた。吟醸酒発酵プロセスにおける有機酸、エステル類、高級アルコール類およびアミノ酸などの13種類の成分濃度の時系列データを得、上記モデルにより喇酒評価値の時系列データを得たところ、MRAは単調増加し、DBPはあるデータ域に偏った、飛び飛びの出力であった。DSとABPは成分の消長から判断される喇酒評価値の推移を良く表現したが、予測能力を考えあわせると、DSが最も優れていると判断された。

実用的な時間以内で発酵プロセスの最適化問題を解くために、遺伝的アルゴリズムの導入を試みた。方法論の確立のため、半回分培養におけるグルタチオン総生産量を最大にする問題と、その発酵終了時点で菌体内グルタチオン含量を設定値にする束縛条件のもとに総生産量を最大化する二点境界値問題、および糖化液を用いた清酒の発酵プロセスにおいて発酵終了時点の酢酸イソアミル濃度を最大にする問題を解き、遺伝的アルゴリズムの実用性を検討した。その結果、グルタチオンの問題の最大原理による結果と酢酸イソアミルの問題のダイナミックプログラミングによる結果に対して、遺伝的アルゴリズムではいずれもほぼ同様の軌道が実用的時間内に算出できた。遺伝的アルゴリズムにおいて、ある遺伝子の持つ制御変数を、両隣の遺伝子の持つ制御変数の中間値にさせる中間値突然変異を導入したところ、計算時間が短縮され、提案した中間値突然変異が発酵プロセスの最適化において有効であることが示唆された。この結果、清酒発酵プロセスの最適化において、オンライン計算も可能な最適化手法を導入することが可能となった。

状態変数と操作変数間のダイナミクスのモデル化を自動化するために、ファジィ推論からなる発酵プロセスのシュミレーション方法を提案した。この、シュミレーションモデルは、遺伝的アルゴリズムによってファジィルールを獲得する学習能力を持つ。このファジィシュミレータによって、発酵プロセスの状態変数を予測することを試みた。また、この時に使用するメンバーシップ関数の幅を、過去の制御データの時系列を用いることによって、時間の進行とともにスケジューリングした軌跡に沿って調整する手法を提案した。さらに、このシュミレーションモデルに適応能力を持たせるために、ファジィルールの分散化学習を行わせる方法論を提示した。



吟醸酒の発酵プロセスを対象として、提案した上記の手法の有効性を確認した。その結果、そのファジィルールが官能評価やエタノール生成速度のようなプロセスの状態変数を良好にシミュレーションすることが可能であること。メンバーシップ関数のスケジューリング調整は、そのシミュレータの学習能力を向上させるのに役立つこと。ファジィルールの分散化学習によって、そのシミュレータに適応的な能力を付与することができたことが確認された。これによって、過去の運転データからもたらされる知識を活用しながら、適応的な能力を合わせ持つ制御系を構築することが可能となった。

最後に、本研究の成果を応用し、実験的な発酵を行ったところ、最適制御あるいはオンライン最適化計算にもとづく最適化制御によって得られた吟醸酒は、酢酸イソアミルやカプロン酸エチルなどの香気成分が多く、アミノ酸度や酸度が低くなった、優れた品質を持つものであることがわかった。また、成分濃度から官能評価値を推定するための手法として構築した Dempster-Shafer 測度および重回帰モデルによって推定した官能評価値も、最も優れた酒であることを裏付けた。さらに、本論文で提案した枠組みを用いて決められた温度戦略は、エキスパートが行う温度戦略と大略一致したものであった。

本研究は、清酒の製造プロセスのみならず、他の酒類の発酵プロセスやバイオプロセスにおいても有効であると考えられる。

しかし Fig.4 に示したように、清酒の製造工程は発酵工程からのみなるものではない。原料の吟味、精米、浸漬、蒸し、製麴、上槽、調合など、多くの工程から構成されている上流のプロセスの影響が後のプロセスに影響を及ぼす、複雑な工程である。特に製麴工程は発酵工程に強く影響を及ぼす重要なプロセスである。したがって、将来的には小泉<sup>29)</sup>が示したような、一連のプロセスを同時に監視する知能化された制御が望まれている。そこでは、各プロセスを如何に最適化するかといった、戦術レベルの知能化ではなく、製品の持つ戦略上の位置づけ、コストが問われる商品かそれとも品質を差別化する商品であるのか、を知った上で各プロセスの整合性をとりながら、多目的な最適化問題を解く必要があるであろう。

例えば、「清酒醪中のアミノ酸濃度が高い。それは、製麴工程でプロテアーゼが高くなったからである。それは、製麴温度が低かったために生じた。あるいは、原料米の蛋白質含量が高かったためである。したがって、製麴工程の温度履歴を上昇させると共に、原料米の精米歩合を下げなければならない。」と言った推論である。これを実現させるためには工学、農学、農芸化学分野の清酒に関する研究を、系統立てて整理する必要があると考えられる。現在あまり研究が進んでいないが、将来

の方向として重要であろう。

著者は、全ての清酒製造工程の改良、改善に向けて今後努力していきたいと考えている。



APPENDIX

Dempster-Shafer 測度<sup>7,8)</sup>

主観的な不確かさを表現する上で、ベイズの確率理論の使用に関する主な批判は、無知量 (ignorance) を取り扱う効果的な方法が無いことに対するものであった。すなわち、加法性の規則

$$P(A) + P(\bar{A}) = 1.$$

の故に、ベイズの理論は信用の欠如 (lack of belief) と不信用 (disbelief) を区別できないとすることである。

Dempster は下界および上界確率と名付けた有用な概念を提出した。Shafer はさらに Dempster の理論を再定義した。

ある基本確率  $m(A_i)$  は、部分集合  $A_i$  に捉えられてはいるけれども  $A_i$  の各点を自由に動くことのできる半可動確率質量 (a semimobile probability mass) として可視化することができる。これは、Fig. 26B のように示すことができる。Fig. 26B において、 $\theta$  は全体集合  $A_0$  における要素である。特に、 $A_i$  は、 $m(A_i) > 0$  を満たすならば、焦点要素 (focal element) と呼ばれる。下界確率  $P_*(A_i)$  および上界確率  $P^*(A_i)$  は次のように定義される。

$$P_*(A_i) = \sum_{A_j \subseteq A_i} m(A_j)$$

$$P^*(A_i) = 1 - P_*(\bar{A}_i) = 1 - \sum_{A_j \subseteq \bar{A}_i} m(A_j)$$

ここで、

$$m(\phi) = 0$$

$$\sum_{A_i \subseteq A_0} m(A_i) = 1$$

つまり、下界確率は、部分集合  $A_i$  に捉えられた基本確率の和である。また、基本確率が、ある一つの要素のみに割り付けられている場合には、ベイズ確率に等しくなる。

もし、 $m_1$  と  $m_2$  がそれぞれ独立な証拠から推論された基本確率であるならば、次に示す、Dempster の結合規則によって  $m_1$  と  $m_2$  を結合させ、新たな基本確率を得ることができる。

$$m(A_k) = \sum_{A_1 \cap A_2 = A_k} m_1(A_{11}) m_2(A_{2j}) / \{1 - \sum_{A_1 \cap A_2 = \phi} m_1(A_{11}) m_2(A_{2j})\} \quad (A_k \neq \phi).$$

引用文献

- 1) 国税庁鑑定企画官室：新酒造システムについて (I), 醸協, 89, 513-523 (1994).
- 2) 国税庁鑑定企画官室・各国税局鑑定官室：平成4酒造年度清酒製造業者設備・機械調査結果について, 醸協, 89, 106-118 (1994).
- 3) 畑富士夫：日本酒業界における酒造労務の現況について - 平成・3BY 操業者分の現況調査集計結果の概要 -, 醸協, 87, 844-848 (1992).
- 4) 鈴木昭紀、永谷正治、薄井敏明、菅間誠之助：酵母の増殖に関する速度論的研究 (第1報) 清酒酵母の温度特性, 醸協, 67, 362-366 (1972).
- 5) 鈴木昭紀、西谷尚道、志垣邦雄、椎木敏：酵母の増殖に関する速度論的研究 (第2報) 各種醸造酵母の温度特性, 醸協, 67, 367-369 (1972).
- 6) 鈴木昭紀、西谷尚道、志垣邦雄：酵母の増殖に関する速度論的研究 (第3報) アルコール存在下における酵母の増殖特性, 醸協, 67, 370-372 (1972).
- 7) 鈴木昭紀、西谷尚道、志垣邦雄：酵母の増殖に関する速度論的研究 (第4報) アルコールによる増殖阻害におよぼす温度の影響, 醸協, 67, 445-448 (1972).
- 8) 鈴木昭紀、西谷尚道、志垣邦雄：酵母の増殖に関する速度論的研究 (第5報) アルコール濃度と菌体収量の関係について, 醸協, 67, 449-452 (1972).
- 9) 永谷正治：酵母増殖曲線からエタノール生成曲線を推定する方法, 醸工, 51, 205-208 (1973).
- 10) 高松智、吉田敏臣、上田隆蔵、田口久治：清酒酵母によるアルコール醗酵に関する動力学的研究, 52, 190-195 (1974).
- 11) 永谷正治、水谷行夫、難波康之祐：清酒醗中の基質糖化溶解速度に関する研究, 醸工, 51, 178-182 (1973).
- 12) 永谷正治：清酒醗初期における温度制御, 醸工, 51, 473-478 (1973).
- 13) Nanba, A., Nishizawa, Y., Tsuchiya, Y., and Nagai, S.: Kinetic analysis for batch ethanol fermentation of *Saccharomyces cerevisiae*. J. Ferment. Technol., 65, 277-283 (1987).
- 14) 布川弥太郎：清酒醸造における諸酵素の役割, 58, 391-398 (1980).
- 15) 岩野君夫：清酒醗の溶解シミュレーションプログラムの作成について、私信。
- 16) 松浦一雄、山田浩、仲田富士男、小川通継、本馬健光、布川弥太郎：清酒醗のプロセス制御, 日本農芸化学会大会講演要旨集, p435 (1989).
- 17) 杉本芳範、藤田栄信：清酒醗のプロセス制御, 醗酵工学, 65-3, 199/215 (1987).
- 18) Sugimoto, Y., Tanaka, N., Furukawa, A., Watanabe, K., Yoshida, T., and Taguchi, H.: Adaptive Control Strategies for the Mashing Process in Sake Brewing, 64-3, 187/197 (1986).
- 19) 佐藤和夫、近藤恭一：清酒醗の計測と制御, 67-3, 195/204 (1989).
- 20) Oishi, K., Tominaga, M., Kawato, A., Abe, Y., Imayasu, S., and Nanba, A.: Application of



Fuzzy Control theory to the Sake Brewing Process, 72-2, 115/121(1991).

- 21) Oishi, K., Tominaga, M., Kawato, A., and Imayasu, S.: Analysis of the State Characteristics of Sake Brewing with a Neural Network, 73-2, 153/158(1992).
- 22) 土屋義信, 小泉淳一, 成末和夫, 手島義春, 永井史郎: 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, 醱酵工学, 68-2, 123/129 (1990).
- 23) 成末和夫, 土屋義信, 手島義春, 小泉淳一, 永井史郎: ファジィ制御法を用いた清酒醸造試験, 醱酵工学, 68-2, 131/136(1990).
- 24) 広常正人, 仲田富士男, 浜地正昭, 本馬健光: 固定化酵母を用いた米糖化液の連続発酵, 醸協, 82-8, 582/586(1987).
- 25) 松浦一雄, 広常正人, 仲田富士男, 浜地正昭: 清酒の連続発酵に関する動力学的研究, 醱酵工学, 69, 345-354 (1991).
- 26) 松浦一雄, 広常正人, 仲田富士男, 浜地正昭: 連続発酵における質量流量計を使用したアルコール濃度のオンライン測定, 醱酵工学, 69, 355-362 (1991).
- 27) 松浦一雄, 広常正人, 仲田富士男, 浜地正昭: 清酒の連続発酵におけるオンライン制御, 醱酵工学, 69, 455-461(1991).
- 28) 松浦一雄, 広常正人, 浜地正昭: 多段水平流型バイオリアクターを用いた清酒の連続醸造, 醱酵工学, 70, 17-23 (1992).
- 29) 小泉淳一: 清酒醸造の知能化, BIO INDUSTRY, 10-1, 37/39(1993).
- 30) 柴田正人: ガスメーターを利用したアルコール発酵管理, 醱酵工学, 57, 445-452 (1979).
- 31) 柴田正人, 徳村治彦, 深谷伊和雄, 大倉鎮夫, 山田鍾美, 秋田利彦: 工業規模の清酒深槽発酵試験, 醱酵工学, 57, 459-466 (1979).
- 32) 中川秀幸, 加藤肇一, 中嶋實, 久保直哉: 清酒分析への導電率計の応用, 醸協, 89, 162-164 (1994).
- 33) 藤田栄信, 杉本芳範, 田中伸哉, 吉田敏臣, 田口久治: 清酒醪プロセスにおける蒸し米の溶解, 醱酵工学, 61, 331-339 (1983).
- 34) 藤田栄信, 杉本芳範, 田中伸哉, 吉田敏臣, 田口久治: 清酒醪プロセスにおける麴の溶解, 醱酵工学, 62, 63-72 (1984).
- 35) 杉本芳範, 田中伸哉, 吉川彰久, 渡辺和夫, 吉田敏臣, 田口久治: 清酒醪プロセスにおけるグルコース生成と醗状態変化のシミュレーション, 日本醱酵工学会大会講演要旨集, p46 (1984).
- 36) 田中伸哉, 杉本芳範, 鈴木良子, 吉川彰久, 渡辺和夫, 吉田敏臣, 田口久治: 清酒醪プロセスにおける酵母の増殖と発酵, 醱酵工学, 62, 391-399 (1984).
- 37) 杉本芳範, 田中伸哉, 吉川彰久, 渡辺和夫, 吉田敏臣, 田口久治: パイロットスケールにおける清酒醪の計算機制御, 醸協, 82, 205-210 (1987).

- 38) 佐藤和夫, 近藤恭一, 太田剛雄, 吉沢淑, 中村欽一: チューピング法による清酒もろみのアルコール分のオンライン計測, 醸協, 80, 553-558 (1985).
- 39) 近藤恭一, 元吉徹, 三島秀夫, 竹村成三, 佐藤和夫, 吉沢淑: 清酒醪のアルコール分と日本酒度のオンライン計測, 醸協, 81, 810-814 (1986).
- 40) 近藤恭一, 三島秀夫, 竹村成三, 佐藤和夫, 吉沢淑: 超音波音速度計の利用による清酒中のアルコール分およびエキス分の測定, 醸協, 83-6, 416/419(1988).
- 41) 近藤恭一: 清酒醪のアルコール分と日本酒度のオンライン計測, 醸協, 83, 364-369 (1988).
- 42) 内藤憲一郎, 小泉淳一, 戸田清, 土屋義信, 成末和夫: 入出力データからのファジィ数あてはめ問題を通したルール抽出, 平成4年度日本生物工学会大会講演要旨集, p72(1992)
- 43) 坂口正明, 広瀬務, 中谷和夫, 大西正己, 熊田順一: 酵母の増殖・代謝に及ぼす減圧の影響, 醱酵工学, 68-4, 261/266(1990).
- 44) 松下和弘: 酒と超音波, 超音波 TECHNO, July, 50/52(1988).
- 45) 永谷正治, 強谷洋一, 井本徳雄, 薄井敏明: 市販酵素剤による蒸米の溶解速度, 66, 987-990 (1971).
- 46) 佐藤和夫, 宇都宮仁, 近藤恭一, 三島秀夫, 竹村成三, 吉沢淑: 粉末 $\alpha$ 米を用いた清酒醪の発酵経過のシミュレーション, 68, 25-29 (1990).
- 47) 林健司, 都甲潔, 山藤馨: 人間より鋭敏な味覚センサー, 日経サイエンス 10月号, 68/76(1991).
- 48) Jones, R. P. and Greenfield, P. F.: Effect of Carbon Dioxide on Yeast Growth and Fermentation, Enzyme Microb. Technol., 4(July), 210/223(1982).
- 49) Yoshioka, K., and Hashimoto, N. :Ester formation by alcohol acetyl transferase from brewers' yeast. Agric. Biol. Chem. 45, 2183-2190(1981).
- 50) Minetoki, T., Bogaki, T., Iwamatsu, A., Fujii, T., and Hamachi, M. :The purification, properties and internal peptide sequences of alcohol acetyltransferase isolated from *Saccharomyces cerevisiae* Kyokai No.7. Biosci. Biotech. Biochem.,57, 2094-2098(1993).
- 51) 吉沢淑, 石川雄章: 清酒醸造における脂質の動向と香気エステル生成への影響, 醱酵工学, 63, 161-173(1985).
- 52) 仲田富士男, 浜地正昭, 本馬健光: 合成糖液を用いた濾液発酵清酒における香気生成促進物質の効果, 醱酵工学, 67, 411-417(1989).
- 53) Ashida, S., Ichikawa, E., Suginami, K., and Imayasu, S. :Isolation and application of mutants producing sufficient isoamylacetate, a sake flavor component. Agric. Biol. Chem. 51, 2061-2065(1987).
- 54) Yoshioka, K., and Hashimoto, N. :Acety-CoA of brewers' yeast and formation of acetate



- esters. Agric. Biol. Chem., 48, 207-209(1984).
- 55) 竹崎道代、松浦一雄、広常正人、浜地正昭 : 酵母の増殖に与える固形剤の添加効果. 醸協, 88, 319-325(1993).
- 56) 広常正人 : 固定化酵母による清酒の連続発酵. 醸協, 85, 13-19(1990).
- 57) 吉沢淑 : Head space 法による香気成分の迅速定量法. 醸協, 68, 59-61(1973).
- 58) Edwards, V. H., and Wilk, C. R. : Mathematical representation of batch culture data. Biotechnol. Bioeng., 10, 205-232(1968).
- 59) 柳内敏晴、清川良文、若井芳則 : 清酒醪における酢酸イソアミルの蓄積と清酒酵母の酢酸イソアミル分解活性. 醸酵工学, 67, 419-425(1989).
- 60) Lee, J. M., Pollard, J. F., and Coulman, G. A. : Ethanol fermentation with cell recycling, computer simulation. Biotechnol. Bioeng., 25, 497-511(1983).
- 61) Pons, M. N., Pichon, D., and Authier, M. : Monitoring of alcoholic fermentation on fruit juices via gas membrane sensor. J. Ferment. Bioeng., 68, 282-285(1989).
- 62) 塩谷捨明 : 流加培養系の最適化とその実現に関する研究. 醸酵工学, 70, 395-404(1992).
- 63) Kishimoto, M., Yoshida, T., Taguchi, H. : On-line optimal control of fed-batch culture of glutamic acid production. J. Ferment. Technol., 59, 125-129(1981).
- 64) Kirsop, B. H. : Oxygen in brewery fermentation. J. Inst. Brew., 80, 252-259 (1974).
- 65) Norton, J. S. and Krauss, R. W. : The inhibition of cell division in *Saccharomyces cerevisiae* (Meyen) by carbon dioxide. Plant & Cell Physiol., 13, 139-149 (1972).
- 66) Rice, J. R., Helbert, J. R., and Garver, J. C. : The quantitative influence of agitation on yeast growth during fermentation. Proc. Am. Soc. Brew. Chem., 32, 94-96 (1974).
- 67) Matsuura, K., Hirotsune, M., Hamachi, M., and Nunokawa, Y. : Thermal control strategy for isoamylacetate formation in sake brewed with a saccharified rice solution. J. Ferment. Bioeng., 74, 112-116 (1992).
- 68) Heard, B. T. : A rapid manometric volumetric method for the determination of dissolved carbon dioxide content of beer in tanks. J. Inst. Brew., 79, 371-376 (1973).
- 69) 大石薫、富永光則、川戸章嗣、安部康久、杉並孝二、今安聰 : 清酒発酵プロセスの適応的制御. 醸酵工学, 68, 475-481 (1990).
- 70) 原純、油田昌樹、高綱和彦、土屋義信、小泉淳一、末成和夫、永井史郎 : 清酒もろみ工程に対するファジィ制御. 生物工学, 71, 15-21 (1993).
- 71) 永谷正治、水谷行夫、難破康之祐 : 酵素剤による蒸米の糖化溶解機構. 醸工, 51, 35-40 (1973).
- 72) 松浦一雄 : 清酒醸造における人工知能制御. ケミカルエンジニアリング, 39, 38-43 (1994).
- 73) Matsuura, K., Hirotsune, M., Hamachi, M., and Nunokawa, Y. : Modeling of the sensory

- evaluation of sake by Dempster-Shafer's measure and genetic algorithm. J. Ferment. Bioeng., 79, 45-53 (1995).
- 74) 松浦一雄、斯波大幸、広常正人、浜地正昭、布川 彌太郎 : 清酒発酵プロセスの官能特性の最適制御. 日本機械学会第3回ハ'イオン'ニ'ア'リ'ク'シ'ホ'シ'ム講演要旨集, 70-71 (1994).
- 75) Otto, M. and Bandemer, H. : Pattern recognition based on fuzzy observations for spectroscopic quality control and chromatographic fingerprinting. Analytica Chimica Acta, No.184, 21-31(1986).
- 76) Marsili, M., Marengo, E. and Saller H. : Spectre, an approach to an expert system in chemometrics. Analytica Chimica Acta, No.210, 33-50(1988).
- 77) Datta, S. and Nakai, S. : Computer aided optimization of wine blending. J. Food Science, 57, 178-205(1992).
- 78) Ishizuka, M. : An extension of Dempster-Shafer's theory to fuzzy set for constructing expert systems. Seisan Kenkyu, 34, 312-315(1982).
- 79) Ng, K. and Abramson, B. : Uncertainty management in expert systems. IEEE EXPERT, April, 29-48(1990).
- 80) Goldberg, D. E. : Genetic Algorithm in search. Addison-Wesley(1989).
- 81) Matsuura, K., Hirotsune, M., Nunokawa, Y., Sato, M., and Honda, K. : Acceleration of cell growth and ester formation by ultrasonic wave irradiation. J. Ferment. Bioeng., 77, 36-40(1994).
- 82) Otsuka, T. : An inquiry into expert systems. Anritsu Technical, No.60, Sept, 155-163(1990).
- 83) 栗田多喜夫 : 情報量基準による3層ニューラルネットの隠れ層のユニット数の決定法. 信学論, J73-D-II, 1872-1878(1990).
- 84) Wada, Y. and Kawato, M. : Estimation of generalization capability by combination of new information criterion and cross validation. Shingakuron, J74-D-II, 955-965(1991).
- 85) Rissanen, J. : Stochastic complexity and modeling. The Annals of Statistics, 14, 1080-1100(1986).
- 86) 松浦一雄、広常正人、浜地正昭 : ニューラルネットワークによるアルコール発酵プロセスの菌体濃度の同定. 醸酵工学, 69, 463-469 (1991).
- 87) 西川 一、玉置久 : ジョブショップ・スケジューリング問題に対する遺伝アルゴリズムの一構成法. 計測自動制御学会論文集, 27, 593-599 (1991).
- 88) 三宮信夫、飯間等 : 遺伝アルゴリズムによる変形フローショップスケジューリング問題の解法. 日本機械学会第二回 FAN シンポジウム講演論文集, 389-394 (1992).
- 89) 小長谷明彦 : 遺伝的アルゴリズムによる分類規則の学習. 日本機械学会第二回 FAN シンポジウム講演論文集, 375-380 (1992).
- 90) ウィリアムス・ヴィクトル、徳成剛、松岡清利 : 遺伝的アルゴリズムによるニ



- ューラルネットの学習、電子情報通信学会技術研究報告, 91(411), 93-99 (1992).
- 91) 吉田敏臣: バイオエンジニアリング、日本醗酵工学会編, 51-73 (1985).
- 92) Shimizu, H., Araki, K., Shioya, S., and Suga, K.: Optimal production of glutathion by controlling the specific growth rate of yeast in fed-batch culture. *Biotechnol. Bioeng.*, 38, 196-205 (1991).
- 93) 竹内勝: 遺伝的アルゴリズムと機械学習、コンピュータソフトウェア, 8, 416-424 (1991).
- 94) 和田健之介: 進化システム論 遺伝的アルゴリズムの基礎 (1)、*Computer Today*, 47, 49-61 (1992).
- 95) Holland, J. H.: 遺伝的アルゴリズム、日経サイエンス, Vol.9, 56-65 (1992).
- 96) Konstantinov, B. K. and Yoshida, T.: Physiological state control of fermentation processes. *Biotechnol. Bioeng.*, 33, 1145-1156 (1989).
- 97) Konstantinov, B. K., Nishio, N., Seki, T., and Yoshida, T.: Physiologically motivated strategies for control of the fed-batch cultivation of recombinant *Escherichia coli* for phenylalanine production. *J. Ferment. Bioeng.*, 71, 350-355 (1991).
- 98) 松浦一雄、広常正人、浜地正昭: 発酵速度軌道制御による清酒発酵プロセスのオンライン制御、*生物工程*, 72, 453-460 (1994).
- 99) Mizumoto, M.: Pictorial representations of fuzzy connectives, Part 1: Cases of t-norms, t-conorms and averaging operators. *Fuzzy Sets and Systems*, 3, 2, 217-242 (1989).
- 100) Mamdani, E. H. and Assilian, S.: An experiment in linguistic synthesis with a fuzzy logic controller. *Int. J. Man-Machine Studies*, 7, 1-13 (1975).
- 101) Matsuura, K., Shiba, H., Hirotsune, M., and Nunokawa, Y.: Optimal control on the sensory evaluation of sake mashing process. *Proceedings of the process system engineering '94 in Korea*, vol. II, 1081-1086 (1994).
- 102) Shiba, H., Matsuura, K., Hirotsune, M., Hamachi, M., and Nunokawa, Y.: The searching of the optimal enzyme proportion on the solid-state fermentation process by fuzzy inference learned by genetic algorithm. *Proceedings of the Asian control conference in Tokyo*, Vol. I, 487-490 (1994).
- 103) Shi, Z. and Shimizu, K.: Neuro-fuzzy control of bioreactor systems with pattern recognition. *J. Ferment. Bioeng.*, 74, 39-45 (1992).
- 104) 松浦一雄、斯波大幸、布川弥太郎、清水浩、塩谷捨明、菅健一: 遺伝的アルゴリズムによる発酵プロセスの最適軌道算出、*生物工程*, 71, 171-178 (1993).
- 105) 北本勝ひこ: 新しい吟醸酒の仕込方法、*醸協*, 87, 90-94 (1992).
- 106) Nelder, J. A. and Mead, R.: A simplex method for function optimization. *Comput. J.*, 7, 308-313 (1965).

- 107) 清水透: Dempster-Shafer 理論における基本確率割り当てに関する一考察、1991年電子情報通信学会春季全国大会, 6-236 (1991).



本論文に関する報告

1. Kazuo MATSUURA, Masato HIROTSUNE, Masaaki HAMACHI, and Yataro NUNOKAWA:  
"Thermal Control Strategy for Isoamylacetate Formation in Sake Brewed with a Saccharified Rice Solution",  
J. Ferment. Bioeng., Vol.74, No.2, 112-116 (1992).
2. 松浦一雄、斯波大幸、布川弥太郎、清水浩、塩谷捨明、菅健一：  
"遺伝的アルゴリズムによる発酵プロセスの最適軌道算出",  
生物工程学, 第71巻, 第3号, 171-178 (1993).
3. Kazuo MATSUURA, Masato HIROTSUNE, Yataro NUNOKAWA, Masanori SATOH,  
and Keisuke HONDA:  
"Acceleration of Cell Growth and Ester Formation by Ultrasonic Wave Irradiation",  
J. Ferment. Bioeng., Vol.77, No.1, 36-40(1994).
4. 松浦一雄、広常正人、浜地正昭：  
"発酵速度軌道制御による清酒発酵プロセスのオンライン制御",  
生物工程学, 第72巻, 第6号, 453-460(1994).
5. Kazuo MATSUURA, Masato HIROTSUNE, Masaaki HAMACHI and Yataro NUNOKAWA:  
"Modeling of the Sensory Evaluation of Sake by Dempster-Shafer's Measure and Genetic Algorithm.",  
J. Ferment. Bioeng., Vol.79, No.1, 45-53 (1995).
6. Kazuo MATSUURA, Hiroyuki SHIBA, Masato HIROTSUNE, and Masaaki HAMACHI:  
"Optimizing Control of Sensory Evaluation in the Sake Mashing Process by Decentralized Learning of Fuzzy Inference Using a Genetic Algorithm.",  
J. Ferment. Bioeng., Vol.80, No.3, 251-258 (1995).

その他の報告

1. 松浦一雄、広常正人、仲田富士男、浜地正昭：  
"清酒の連続発酵に関する動力学的研究",  
醗酵工学, 第69巻, 第5号, 345-354 (1991).
2. 松浦一雄、広常正人、仲田富士男、浜地正昭：  
"連続発酵における質量流量計を使用したアルコール濃度のオンライン測定",  
醗酵工学, 第69巻, 第5号, 355-362 (1991).
3. 松浦一雄、広常正人、仲田富士男、浜地正昭：  
"清酒の連続発酵におけるオンライン制御",  
醗酵工学, 第69巻, 第6号, 455-461(1991).
4. 松浦一雄、広常正人、浜地正昭：  
"ニューラルネットワークによるアルコール発酵プロセスの菌体濃度の同定",  
醗酵工学, 第69巻, 第6号, 463-469 (1991).
5. 松浦一雄、広常正人、浜地正昭：  
"多段水平流型バイオリアクターを用いた清酒の連続醸造",  
醗酵工学, 第70巻, 第1号, 17-23 (1992).
6. Kazuo MATSUURA, Masato HIROTSUNE, Masaaki HAMACHI, and Yataro NUNOKAWA:  
"Fuzzy Modeling on the Sensory Evaluation of Sake",  
Proceeding of International Symposium on Advanced Computing for Life-Science As a part of International Symposia on Information Sciences (ISKIT'92) in Fukuoka, 278-280 (1992).
7. Kazuo MATSUURA, Hiroyuki SHIBA, Masato HIROTSUNE, and Yataro NUNOKAWA:  
"Optimal Control on the Sensory Evaluation of SAKE Mashing Process",  
Proceeding of the 5th International Symposium on Process Systems Engineering '94, Kyongju, Korea, 1081-1086 (1994).
8. Kazuo MATSUURA, Hiroyuki SHIBA, Masato HIROTSUNE, and Yataro NUNOKAWA:  
"Optimal Control on the Sensory Evaluation of Sake Mashing Process",  
J. Process Control, in press.



## 謝辞

本論文は私が大関株式会社総合研究所に配属されてから現在に至るまでの一部の研究をまとめたものであります。多くの方々の暖かい励ましと御指導により論文を完成させることができました。ここに、感謝の言葉を述べたいと思います。

まず、本論文のテーマを与えて下さった、大関株式会社常務取締役生産本部長布川弥太郎博士並びに大関株式会社総合研究所長熊谷知栄子博士に心から感謝いたします。また、本論文の完成にあたり、適切な御指導を頂きました大阪大学工学部教授塩谷捨明先生、大阪大学工学部助教授清水浩先生に感謝いたします。そして、研究業務の遂行にあたり常に適切な御指導を頂きました大関株式会社総合研究所浜地正昭副所長並びに広常正人課長に深謝いたします。超音波関連の技術に関して詳細な御指導を頂きました本多電子株式会社産業機器事業部佐藤正典課長、並びに株式会社服部セイコー事業開発室小口功元部長、佐々木浩係長にお礼申し上げます。研究に関する多くの御助言を頂きました、関西学院大学商学部教授杉原左右一先生、九州工業大学情報工学部教授清水和幸先生、横浜国立大学工学部助教授小泉淳一先生、東京理科大学基礎工学部助教授岸本通雅先生にお礼申し上げます。

研究業務の遂行にあたり、常に暖かくお付き合い頂いた第二研究室の皆さん、特に研究業務をお手伝い頂いた斯波大幸氏、英語論文の添削をしていただいた笹倉哲子氏を始め輸出課の皆さんに深く感謝いたします。最後に、日々の生活を支えてくれた妻まり子に感謝いたします。



