

## 元素分析によるアカシアはちみつの原料原産地判別法の検証

中村 哲<sup>1</sup>, 山川 義正<sup>2</sup>, 田中 真澄<sup>3</sup>

NAKAMURA Satoru, YAMAKAWA Yoshimasa, TANAKA Masumi

### 要約

過去に農林水産消費安全技術センター（以下「FAMIC」という。）において開発したアカシアはちみつの原料原産地判別法について、市販試料による検証を行った。その結果、元素濃度の分布が過去の判別モデル構築用試料と市販試料で異なっていることが確認された。その影響を低減するため、半教師付き分類（半教師あり学習）に加えて、Adversarial validation による検証を行い、判別モデル構築用試料と市販試料の両方について適切な結果が得られる判別モデルを構築した。

### 1. はじめに

元素分析によるアカシアはちみつの原料原産地判別は、FAMIC においては平成 27 年に国産－中国産の判別法を報告した<sup>1)</sup>。また、平成 29 年にはハンガリー産を追加して判別モデルを再構築した<sup>2)</sup>。これらの研究に用いられた試料の多くは業界団体を通じて入手したものであったが、実際に市販されている商品と比較して、元素濃度分布が異なっている場合がある。そのような条件下では、国産－外国産の判別において誤判別を引き起こす可能性がある。はちみつ以外の例として、ネギにおいて選択バイアスを原因とした元素濃度分布の違いを指摘しており<sup>3)</sup>、判別モデルの修正のために半教師付き分類（半教師あり学習）を採用している。選択バイアスを主な原因とした判別モデル構築用試料（既知標本）と市販試料（未知標本）の間の分布の違いは共変量シフトとも呼ばれる<sup>4)</sup>。共変量シフトへの対応としては、半教師付き分類以外に分布の確率密度の比（密度比）の 0～1 乗に応じて計算時の重みを修正する方法が存在するが<sup>4)</sup>、実際の密度比を計算するのは容易ではないという問題がある。一方、2016 年に機械学習コンペの Kaggle<sup>6)</sup>において、Adversarial validation と呼ばれる方法が開発された<sup>7)</sup>。この方法は、共変量シフトが発生している条件下では判別モデル構築用試料と市販試料が教師付き分類（教師あり学習）で判別可能であり、この判別モデル構築用試料－市販試料の判別に寄与している変数を除外する等の対処を行うことで、実際のラベル（国産－外国産）の判別への影響を低減するというものである。アカシアはちみつの場合、変数を除外すると使用できる変数が極めて限られてしまうという問題があるが、Adversarial validation の結果から密度比を推定することは可能なので、そこから計算時の重みを調整することが可能と考えられる。Adversarial validation は教師付き分類を使用することから、計算が半教師付き分類よりも容易であるという長所がある。

本研究では、アカシアはちみつの判別モデル構築用試料と市販試料の間に元素濃度の共変量シフトが存在しているかどうかを確認するとともに、その影響を低減する方法について検討したので報告する。

<sup>1</sup> 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター

<sup>2</sup> 独立行政法人農林水産消費安全技術センター本部（現内閣府食品安全委員会事務局情報・勧告広報課）

<sup>3</sup> 独立行政法人農林水産消費安全技術センター本部

## 2. 実験方法

### 2.1 試料

判別モデル構築用試料のデータは、既報<sup>12)</sup>で使用したアカシアはちみつのデータ（国産 107 点、中国産 70 点、ハンガリー産 18 点）を用いた。ただし、2.5 及び 2.6 の標準不確かさの計算の都合上、各試料の 2 点併行の平均値ではなく、1 点を抽出したデータとした。

国産と表示された市販試料は、令和 2 年度及び令和 3 年度に FAMIC で検査したアカシアはちみつ検査試料 84 点を用いた。

外国産と表示された市販試料は、令和 3 年度に小売店から購入したアカシアはちみつ検査試料 49 点（中国産 31 点、ハンガリー産 14 点、イタリア産 2 点、インド産 1 点、ルーマニア産 1 点）を用いた。

### 2.2 試薬

市販試料の元素分析には、超純水製造装置（Milli-Q Element A10、メルクミリポア又は Milli-Q Integral、メルクミリポア）で製造した超純水（比抵抗値 18 MΩ・cm 以上）を用いた。試料の酸分解には、61%硝酸（高純度電子工業用、関東化学）及び 70%過塩素酸（TAMAPURE-AA-100、多摩化学工業）を用いた。各元素の検量線用混合標準溶液は、単元素標準溶液（Mg、P、K、Ca、Mn、Rb 及び Sr、ICP 分析用、SCP SCIENCE、Merck 及び AccuStandard）を適宜希釈して調製した。また、In（ICP 分析用、SCP SCIENCE、Merck 及び AccuStandard）を内標準溶液として、検量線用混合標準溶液及び試料溶液に添加した。

### 2.3 装置

市販試料の測定には、誘導結合プラズマ質量分析装置（ICP-MS）（820MS、Varian（現 Agilent Technologies））及び Agilent 7800 ICP-MS、Agilent Technologies）及び誘導結合プラズマ発光分光分析装置（ICP-OES）（725-ES、Varian（現 Agilent Technologies））及び iCAP 6300 Duo、Thermo Fisher Scientific）を用いた。

### 2.4 元素分析

元素分析は既報<sup>1)</sup>に準じた。すなわち、粉碎試料約 1.0 g を樹脂製ヒータブルビーカーに採取し、61%硝酸 10 mL を加えて樹脂製時計皿でふたをし、ホットプレート上で 120 °C に加熱した。褐色のガスが発生する激しい反応が収まった後に放冷し、70%過塩素酸 2.5 mL を加え、徐々に温度を上げながら 200 °C まで加熱し、分解液が透明、かつ無色又は薄い黄色になるまで分解した。時計皿を外し、約 230 °C で分解液を蒸発乾固させた後、樹脂製ヒータブルビーカーに 1%硝酸 10 mL 程度を加え、ビーカー内の残留物をホットプレート上で加熱・溶解し、50 mL 容樹脂製全量フラスコに移す操作を 3 回繰り返した。樹脂製全量フラスコには、内標準として In を 5 µg/L となるように加え、1%硝酸で 50 mL に定容後、元素濃度測定用試料溶液とした。試料溶液中の元素濃度は、ICP-MS を用いて内標準法（内標準：In）により Mn、Rb 及び Sr を、ICP-OES を用いて検量線法により Mg、P、K 及び Ca を測定した。2.5 及び 2.6 の計算に用いるデータは、各試料の併行分析の結果から 1 点を抽出したものをを用いた。

### 2.5 半教師付き分類による判別モデルの検討

半教師付き分類は既報<sup>3)</sup>に準じた。すなわち、判別モデル構築用試料については市販試料の事前確率により補正した交差エントロピー、市販試料についてはエントロピーを計算し、その総和を最小化するように人工ニューラルネットワークの最適化を行った。半教師付き分類の結果から、判別モデルに含めることが可能な市販試料を選別し、これらを判別モデル構築用試料と組み合わせる上で、教師付き分類により国産-外国産を判別する判別モデルを構築した。

教師付き分類は既報<sup>3)</sup>に準じた。すなわち、教師付き分類により判別得点を計算するとともに、変数の標準不確かさからモンテカルロ法により判別得点の乱数を計算した後、判別得点の乱数からカーネル密度推定のバンド幅を Sheather & Jones の Direct Plug-in 法<sup>9)</sup>により計算し、バンド幅の中央値を用いて判別得点の全乱数からカーネル密度推定を行った。ただし、モンテカルロ法の試行回数は 10000 とし、人工ニューラルネットワークの計算は実施しなかった。また、判別得点の一部については、他の図との比較のため、判別得点から単にカーネル密度推定を行った。

以上の計算に当たっては、Leave-one-out cross-validation (LOOCV) を行った。

計算には R 4.1.2、4.2.0 及び 4.2.1<sup>10)</sup>を用いた。また、R のパッケージ MASS 7.3-54、7.3-55、7.3-57 及び 7.3-58.1、e1071 1.7-9 及び 1.7-11 並びに nnet 7.3-16 及び 7.3-17 を用いた。

## 2.6 Adversarial validation による判別モデルの検討

国産及び外国産のそれぞれについて、判別モデル構築用試料及び市販試料のデータを用いて、教師付き分類により判別モデルを構築した。これらの判別結果から、各試料に対して判別得点のカーネル密度の密度比の値を計算し、判別モデル構築用試料を用いて国産-外国産を判別する判別モデルを構築する際にカーネル密度推定の計算に密度比の 0.5 乗及び 1 乗に比例した重みを適用した。教師付き分類は 2.5 に準じた。また、2.1 に示したデータの変更に伴い、既報<sup>2)</sup>の判別モデルについて改めて計算を行った（密度比の 0 乗の計算に相当）。

以上の計算に当たっては、Leave-one-out cross-validation (LOOCV) を行った。

計算には R 4.1.2、4.2.0 及び 4.2.1 を用いた。また、R のパッケージ MASS 7.3-54、7.3-55、7.3-57 及び 7.3-58.1、e1071 1.7-9 及び 1.7-11 並びに nnet 7.3-16 及び 7.3-17 を用いた。

## 3. 結果及び考察

### 3.1 各元素の濃度分布及び過去の判別モデルの判別得点分布

各元素濃度の Mg 濃度比の常用対数の分布を図 1 に示す。また、既報<sup>2)</sup>の判別モデル（再計算後）による判別得点分布を図 2 に示す。図 1 及び図 2 から、判別モデル構築用試料と市販試料で分布が完全に重なっておらず、産地ごとの標本数の違いでは説明が付かないことから、アカシアはちみつでは共変量シフトが存在しており、判別に影響していることが確認された。既報では選択バイアスを発生させる原因として試料収集の偏り、年・季節変動、飼料の組成変動を例として挙げているが<sup>3)</sup>、アカシアはちみつの場合はニセアカシア以外の蜜の混入具合も影響している可能性がある。

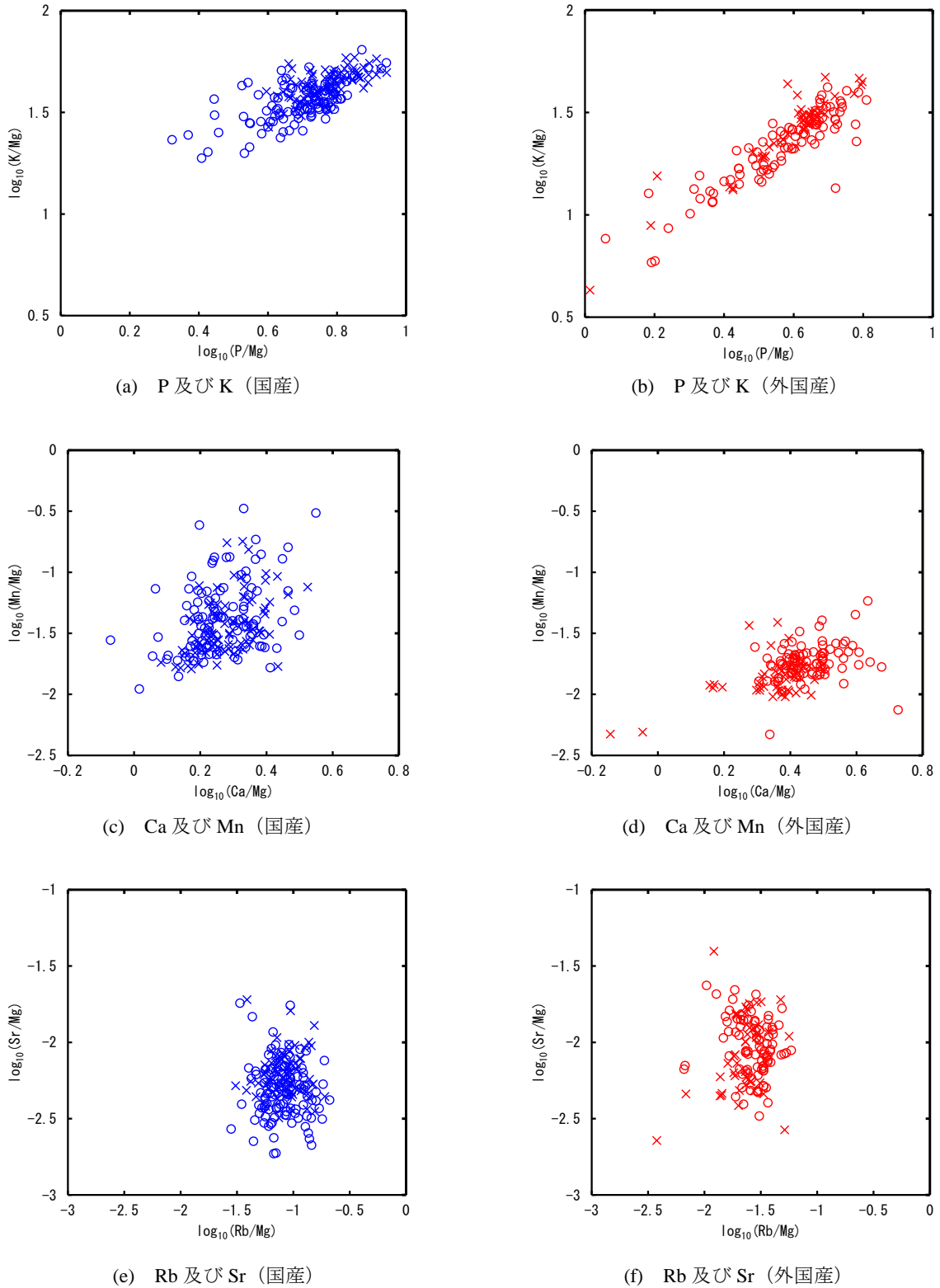


図1 各元素濃度の Mg 濃度比の分布

○ : 国産判別モデル構築用試料 ( $n = 107$ )、× : 国産市販試料 ( $n = 84$ )  
 ○ : 外国産判別モデル構築用試料 ( $n = 88$ )、× : 外国産市販試料 ( $n = 49$ )

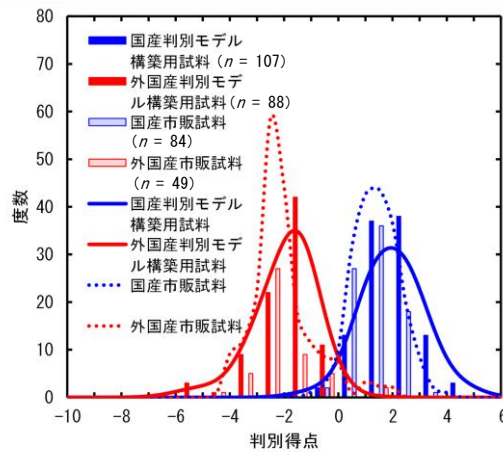


図2 既報<sup>2)</sup>の判別モデル(再計算後)による判別得点分布

### 3.2 半教師付き分類及び Adversarial validation による判別モデル

国産市販試料及び外国産市販試料の半教師付き分類による判別モデルの判別得点分布を図3及び図4に示す。半教師付き分類及び教師付き分類の組合せによる国産－外国産の判別モデルの判別得点分布を図5に示す。Adversarial validation による判別モデル構築用試料－市販試料の判別モデルの判別得点分布を図6及び図7に、密度比の0.5乗及び1乗に比例した重みを使用した国産－外国産の判別モデルの判別得点分布を図8及び図9に示す。また、国産－外国産の判別モデルにおいて、判別得点0を判別基準としたときの判別モデル構築用試料及び市販試料の的中率(正答数の割合)を表1に示す。

半教師付き分類の結果、イタリア産市販試料の判別得点が国産の値に近いものとなったが、判別モデル構築用試料にイタリア産が含まれていないことから、偽装によるものではないと判断し、以降の判別に含めた。それ以外の市販試料についてはいずれも本来の原料原産地の判別得点の傾向と一致した。

Adversarial validation の結果、判別モデル構築用試料と市販試料で判別得点の分布にずれが生じていることから、共変量シフトが生じていることが確認された。表1の的中率ではいずれの判別モデルもほぼ同等であるが、図を比較すると、通常の判別(図2)よりも密度比の0.5乗(図8)及び1乗(図9)の場合に判別モデル構築用試料及び市販試料の判別得点のカーネル密度の一致度は高くなった。そのため、今回の Adversarial validation 及び密度比による重みの修正の組合せによって、共変量シフトの影響を低減した判別モデルが構築できており、半教師付き分類及び教師付き分類の組合せ(図5)と同等以上に判別できていることが確認された。ただ、密度比の1乗の場合には判別モデル構築用試料及び市販試料の判別得点のヒストグラムに差が生じてしまうため、判別モデル構築用試料及び市販試料の両方について適切に判別するには、密度比の0.5乗を用いる方がよいと考えられた。

市販試料に偽装品が混入している場合の Adversarial validation への影響であるが、共変量シフトが存在しない条件下を例に取ると、密度比の0.5乗は Adversarial validation の判別得点が偽装品に近づくにつれて急速に増加するが、判別モデル構築用試料に含まれる偽装品と同じ判別得点となる試料が元々少ないことから、密度比の0.5乗に比例した重みを用いた場合には偽装品の存在による影響は低減されることになる(図10)。そのため、大量に偽装品が混入しない限り、Adversarial

validation への影響は小さいと考えられる。なお、密度比の 1 乗を用いた場合は密度比の 0.5 乗の場合よりも影響が大きくなる。

今回の Adversarial validation 及び密度比による重みの修正の組合せは、既報<sup>3)</sup>で指摘した市販試料が国産又は外国産のいずれか一方のみ存在する場合についても適用可能である。一方、この手順の問題点として、判別モデル構築用試料と市販試料で著しく分布にずれが生じている場合が挙げられる。この場合、密度比から重みを計算すること自体が困難となる可能性があり、判別に寄与している変数の除外と組み合わせるといった対応が必要になると考えられる。

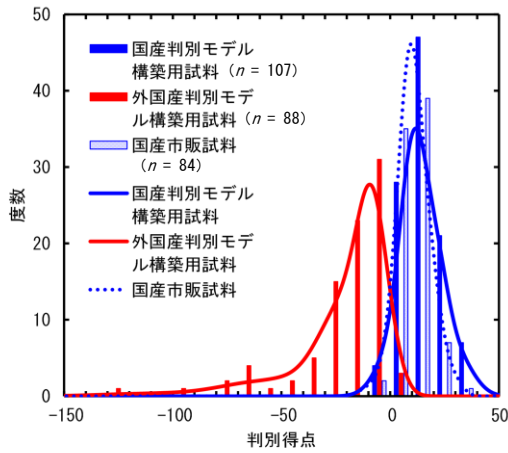


図 3 半教師付き分類の判別得点分布 (国産)

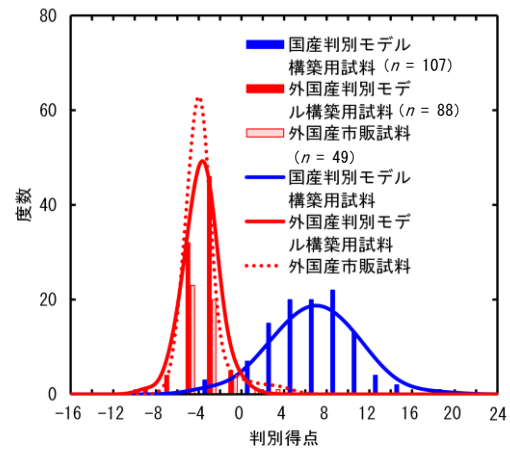


図 4 半教師付き分類の判別得点分布 (外国産)

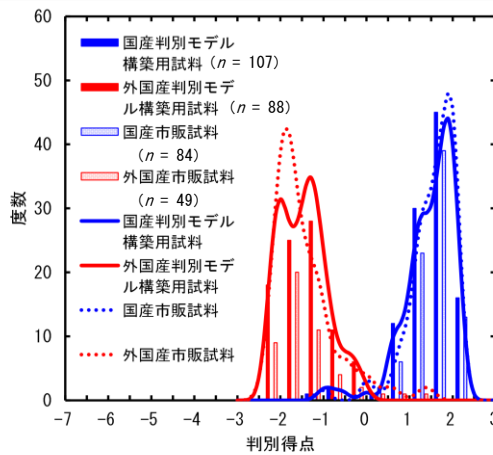


図 5 半教師付き分類及び教師付き分類の組合せによる判別得点分布

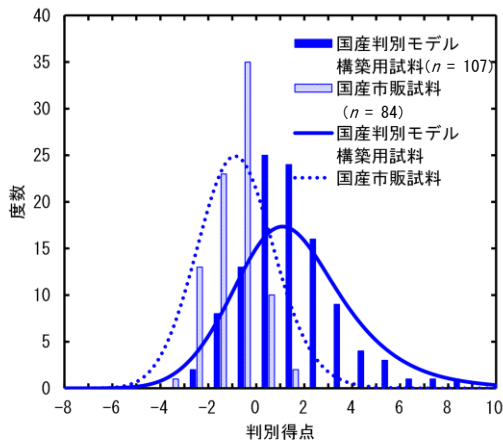


図6 Adversarial validation の判別得点分布 (国産)

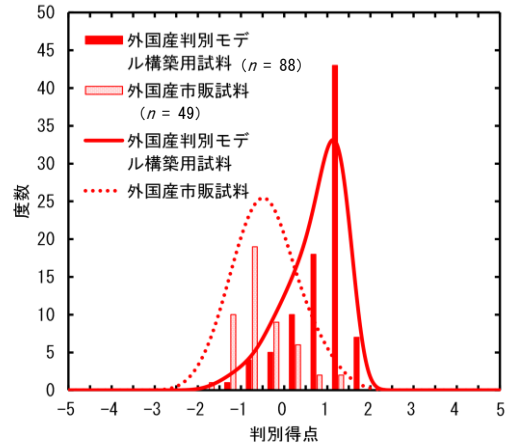


図7 Adversarial validation の判別得点分布 (外国産)

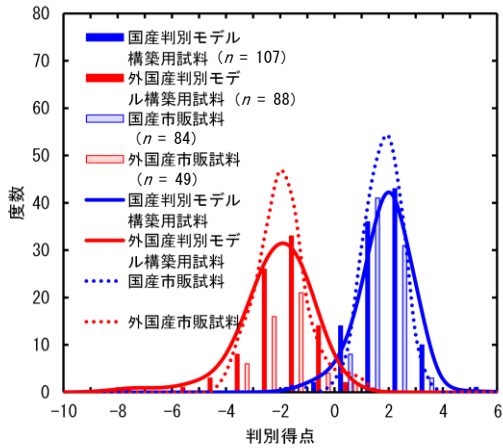


図8 密度比の0.5乗の重みによる国産—外国産判別モデルの判別得点分布

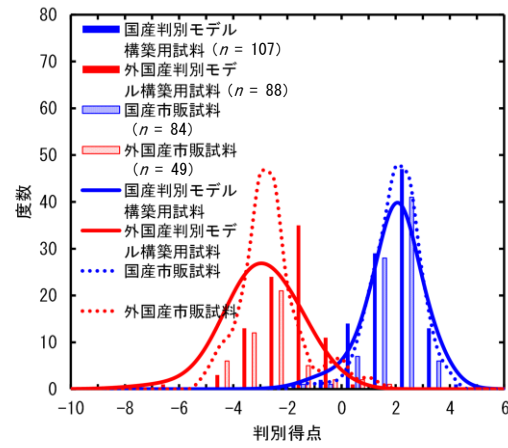
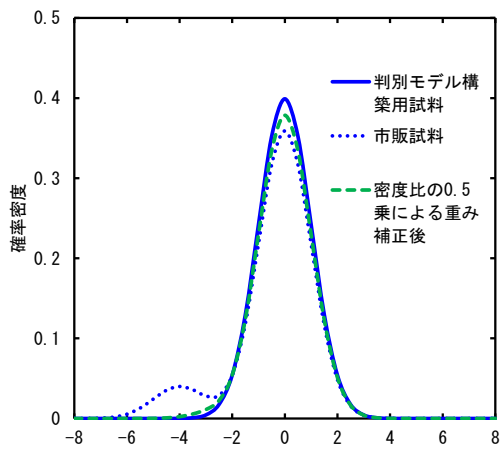
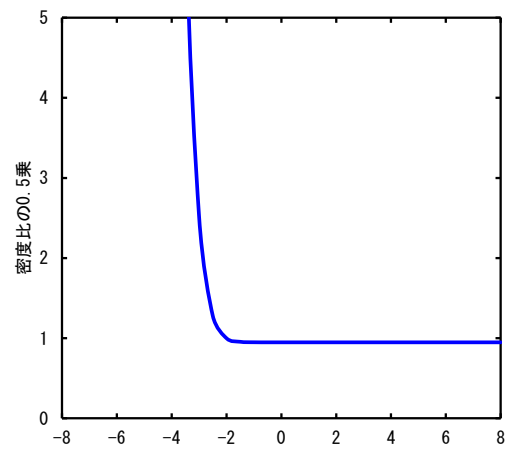


図9 密度比の1乗の重みによる国産—外国産判別モデルの判別得点分布



(a) Adversarial validation の結果



(b) 密度比の0.5乗

図10 市販試料に偽装品が混入している場合の Adversarial validation への影響 (混入率10%の例)

表 1 各判別モデルの的中率

判別モデル	国産		外国産	
	判別モデル 構築用試料	市販試料	判別モデル 構築用試料	市販試料
豊田ら <sup>2)</sup> (再計算後)	104/107 (97.2 %)	82/84 (97.6 %)	88/88 (100.0 %)	47/49 (95.9 %)
半教師付き分類+教師付き分類	104/107 (97.2 %)	83/84 (98.8 %)	88/88 (100.0 %)	46/49 (93.8 %)
密度比の0.5乗に比例する重み	104/107 (97.2 %)	83/84 (98.8 %)	86/88 (97.7 %)	47/49 (95.9 %)
密度比の1乗に比例する重み	104/107 (97.2 %)	82/84 (97.6 %)	87/88 (98.9 %)	46/49 (93.8 %)

#### 4. まとめ

元素分析によるアカシアはちみつの原料原産地判別において、判別モデル構築用試料と市販試料の間に元素濃度の分布の差（共変量シフト）があることが確認された。共変量シフトの判別への影響を低減するため、半教師付き分類及び Adversarial validation による検討を行い、いずれの方法においても判別への影響を低減することが可能であった。Adversarial validation による判別モデルの修正は半教師付き分類と比較すると容易であることから、共変量シフトによる誤判別が発生した場合に再解析を行いやすくなることが期待される。

#### 文献

- 1) 一色摩耶, 中村哲, 鈴木彌生子: 多元素同時分析によるアカシアはちみつの原料原産地判別, 日本食品科学工学会誌, **62** (5), 257-262 (2015)
- 2) 豊田正俊, 箱田晃子, 石井修人, 鈴木彌生子: はちみつのストロンチウム安定同位体比分析による原料原産地判別法の検討, 農林水産消費安全技術センター食品関係等調査研究報告, **41**, 22-30 (2017)
- 3) 中村哲: 元素分析によるネギの原産地判別マニュアルの検証, 農林水産消費安全技術センター食品関係等調査研究報告, **43**, 1-11 (2019)
- 4) Shimodaira, H.: Improving predictive inference under covariate shift by weighting the log-likelihood function. *Journal of Statistical Planning and Inference*, **90**, 227-244 (2000).
- 5) 杉山将: 共変量シフト下での教師付き学習, 日本神経回路学会誌, **13**, 111-118 (2006)
- 6) Kaggle, 2022-9-12, Kaggle Inc., <<https://www.kaggle.com/>>
- 7) Adversarial validation, part one, 2022-09-08, Zygmunt Zajac, <<http://fastml.com/adversarial-validation-part-one/>>
- 8) 中村哲, 法邑雄司, 豊田正俊: ゴボウの原産地判別の試料調製法の再検討, 農林水産消費安全技術センター調査研究報告, **37**, 1-10 (2013)
- 9) Sheather, S. J.; Jones, M. C.: A Reliable Data-Based Bandwidth Selection Method for Kernel Density Estimation. *J. Royal Stat. Soc. Ser. B*, **53**(3), 683-690 (1991).
- 10) R: A Language and Environment for Statistical Computing, 2022-09-14, R Foundation for Statistical Computing, <<http://www.r-project.org/>>