

共焦点レーザー蛍光顕微鏡を用いたインクジェット印字の3次元ドット形態観察

(東京大学大学院農学生命科学研究科) 江前敏晴, ドミトリー・イブーチン, 磯貝明

Three-dimensional geometry of ink-jet dots in paper acquired by confocal laser-scanning fluorescence microscope

Toshiharu Enomae, Dmitry Ivutin and Akira Isogai
Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo

ABSTRACT

A new method of determining three-dimensional distribution of dye-based inks for ink-jet printing was demonstrated. In this method, fluorescence emitted from dyes is detected in a laser-scanning microscope. Most magenta and black dye-based inks for ink-jet contain fluorescence agents or use fluorescence dyes specific of the color. Fluorescence emitted from those of the ink-jet inks provides a three dimensional ink distribution by the optical slicing function of a confocal laser-scanning microscope. Its characteristic high sensitivity owes to intense light emission even from trace fluorescence dyes as compared to observation with a regular optical microscope. However, it keeps easy sample preparation, as is a merit of optical microscopy. In applications, ink dot shape was like a coin with a constant thickness on photo quality paper, ink spreads over crack surfaces on high gloss type paper a few times deeper than the normal penetration and ink dots had rugged edges with their tips intruding between fibers in the base paper for medium grade paper.

KEY WORDS

Dye-based inks, Fluorescence dye, Image analysis, Optical slicing, Photo quality paper, Silica coatings

1. 緒言

印刷物が人間目にどのように映るかは定着したインクの形態や光学特性に大きく依存する。このような視点からすれば、印刷方式がどのようなものであれインクの浸透および定着のメカニズムは非常に重要となる。染料インクで記録されたインクジェット方式の印刷物でインクの分布を測定するのはやさしいことではない。染料インクは、分子オーダーでパルプ繊維や塗工顔料と結合しているが、カチオン性ポリマーを介することによって湿潤時にもその結合は簡単に切れることはない。インクおよびカチオン性ポリマーは両方とも水溶性であり、乾燥後も一定の形状は持たない。したがって、顔料インクとは異なり、固体に対する形態学的手法で染料インク分布を測定することは困難である。本研究では、通常の色染料に加えてインクジェット用インクに配合されている蛍光染料に着目した。これらの蛍光染料の分布を測定すれば、試料を別の蛍光試薬で染色することなしに共焦点レーザー走査顕微鏡(以下 CLSM と呼ぶ)下でインクドットの形状観察が可能となることがわかった。

インクジェットインクの分布の観察に CLSM を応用するのは独自の新しい手法であるが、CLSM 自体はその他の目的で従来から紙に適用されてきた。最もよく使用されるのは表面プロファイルや繊維のネットワーク構造のような幾何学的測定である。Beland ら[1]は、共焦点機能を利用

用してマットコート紙の三次元的な表面形状の測定を行い、人が光沢をどのように認識するかという知覚を表面の形状と関連付けた。Aggelidis ら[2]は、カレンダーリングによる繊維ネットワーク構造の変形を可視化し、その変形が塗工層の巨視的に見た弾性 - 粘塑性的圧縮挙動と相関があることを見出した。Xu ら[3]は、光学的切片法による薄層への分解及び動的閾値 2 値化による繊維部分抽出の画像処理法を用いて紙層構造を決定した。紙に含まれる微量成分の分析も CLSM 応用の範疇に入る。尾崎[4]は、紙中のポリアミドエピクロロヒドリン樹脂を蛍光染料であるスルホローダミン 101 で選択的に染色しシート中の樹脂の分布を観察した。Suominen ら[5]は、食品包装用板紙をアクリジンオレンジで蛍光染色して腐敗によるバクテリアの発生状況を観察した結果、ポリエチレン層とセルロース繊維層の界面に集中していることを見出した。

インク浸透の解析に目を向ければ、最も一般的な方法は印刷されたシートの断面を作製し光学顕微鏡で観察するやり方である。しかし、断面作製は技術が必要でインクドットの特定の部位を狙って切断することは不可能に近い。インクの浸透状態を明らかにするためにその他の方法もいくつか試みられている。Helle と Johnsen [6]は、SEM で得られたステレオ反射電子像によってオフセットインキの微視的な存在位置を明らかにした。SEM と組み合わせたエネルギー分散型 X 線解析 (EDX) もインクに含まれる元素の 2 次元的な分布を知る手段として有用である。内村ら[7, 8]は 収束イオンビームによって、繊維ネットワーク構造を破壊することなく平滑な切片を作製する新しい技術を考案し、紙面上の薄いインキ層をはっきりと観察することに初めて成功した。さらにこの技術をインクジェット記録に応用し、マットタイプ及び高光沢タイプのインクジェット紙に浸透した染料インク SEM で観察した[9]。しかし、SEM 観察に電子線マイクロアナライザ (EDX と同義) や光学顕微鏡を組み合わせるインクの分布を知る手法はあまりにも煩雑である。Pinto ら[10]は、飛行時間型二次イオン質量分析 (TOF-SIMS) を用いてモデル塗工層の断面像からインク浸透深さを求め、染料の結合に及ぼす水溶性高分子の効果を評価した。

2. 実験

2.1. 試料及びプリンタ

シリカ塗工のある写真画質、高光沢、汎用の各タイプのインクジェット専用紙を試料として用いた。表 1 に坪量、60 度光沢度と併せて示す。光沢度は、コニカミノルタ製 GM-268 を使用して測定した、マシン方向及びクロス方向の平均値である。ドット面積率が 10 ~ 20% の均一な単色パターンをシアン、マゼンタ、イエロー及びブラックの各インクで印刷した。使用したプリンタは、キヤノン製 Pixus 950i 及びエプソン製 PM-970C である。

Table 1 List of ink-jet paper samples

Key	Grade	Basis weight, g/m ²	60° Gloss
A	Photo quality	295.9	39
B	Photo quality	232.3	32
C	High gloss type	193.2	44
D	High gloss type	183.5	57
E	Medium	108.6	3
F	Medium	100.1	3

2.2. 顕微鏡及び観察

共焦点レーザー走査顕微鏡は、カールツァイス製 LSM 510 が正立形の本体 Axioplan 2 に組み込んだものを使用した。この種の光学顕微鏡は、三次元像を得るために独特な機能を有しており、共焦点機構による厚さ方向の光学的切片の作製が可能であること及び共焦点によって起こる光量の低下を補うためのレーザー光による強力な照明が可能であることを特徴とする。“共焦点”

という用語は、“ピンホールを使って焦点の合っていない部位からの反射光を除くことにより非常に薄い単一層にだけ焦点を合わせてその層だけからの光を集める”ことを意味する。レーザー光は試料の真正面を照射し、反射して検出器に入り蛍光像を作る。三次元像は一連の単一層共焦点像をデジタル的に積算することにより構築される。

印刷された試料を $15 \times 15 \text{ mm}^2$ の大きさに採取し、スライドガラスに載せる。流動パラフィンとその試料の角付近に滴下し、対角線上の反対側の角まで自然に浸透させることにより空気を極力追い出すようにした。カバーガラスをかけて観察及び測定に供した。シリカ塗工層の場合の含浸液として流動パラフィンを選択したが、これはその屈折率 1.47 がシリカの屈折率 1.45 に非常に近いためである。等価な屈折率を持つ物質間の界面では、光は屈折することなく直進する。多孔質材料であってもこのような液体で内部のポアを満たせば透明に見える。原紙に対しては、透明化する含浸液としてアニリンの方が適している。アニリンの屈折率は 1.58 であり、パルプ繊維の屈折率 1.57 ~ 1.60 に近いためである。なお、アニリンは有毒であるので直接接触したり蒸気を吸ったりしないように気をつける必要がある。

光学顕微鏡で特定の物質の分布を知るには、観察する前にその物質を識別するような蛍光試薬を通常用いる。しかし、インクジェット用インクには、鮮やかな発色や紙幣偽造の際の捜査を目的として製造工程で既に蛍光染料が配合されているものもある。

観察での対物レンズはおもに Plan-Neofluar 40X/0.75 を用いた。この倍率では XY 平面の画像は $230.3 \times 230.3 \text{ }\mu\text{m}^2$ の大きさに相当する。共焦点面の厚みを $0.60 \text{ }\mu\text{m}$ に設定した。レーザーの走査速度は 1024×1024 画素の画像に対し約 30 又は 60 秒になるように設定した。レーザー光源の選択は、蛍光試薬データベースから FITC/Rhod/Cy5 のモードを選択した。表 2 は、このモードでの励起波長及び蛍光波長の規定値を示す。これらの試薬は、実際にはインクジェット用インクや紙に加えたのではなく、このモードでの励起光波長及び検出器の色フィルタの設定に偶然にも一致するような蛍光染料が初めから加えられていたのである。この中で FITC の励起・蛍光パターンは、パルプ繊維を染色するための一般的な染料であるアクリジンオレンジとほぼ同じであり、480 nm 付近で励起し 530 nm 付近の蛍光を発する。一貫性をもたせるために、繊維を全く観察していないときでも

Table 2 Optical condition applied for ink-jet ink distribution

FITC/Rhod/Cy5 のモードのままで行った。

3. 結果及び考察

図 1* は、シアン、マゼンタ、イエロー及びブラックの 4 色で印字した画像の例である。左の図は、通常の反射光で撮影した画像で、右の図はレーザー走査と同期させて撮影

Fluorescence dye type	FITC	Rhod	Cy5
Optimum exciting wavelength, nm	490 (greenish blue)	550 (green)	650 (reddish yellow)
Maximum fluorescence wavelength, nm	520 (green)	580 (greenish yellow)	667 (red)
Wavelength, nm and intensity of irradiation laser	488 (30 %)	543 (100 %)	633 (80 %)
Wavelength of reflected light filtered, nm	505-530	560-615	>650
Color of ink-jet ink emitting fluorescence	Not applicable	Magenta	Black
Pseudo-color in image	Green	Red	Blue

* カラー画像は http://psl.fpu.a.u-tokyo.ac.jp/hp/enomae/publish/pdf/2004kamipa_clsm.pdf を参照

した蛍光画像である。2つの画像は同一の部位を観察したものではないが、インクの色と疑似カラーの対応からマゼンタインクは緑黄色の蛍光を、ブラックインクは赤の蛍光をそれぞれ発していることがわかった。またシアンやイエローのインクは蛍光を発しなかった。シアンのドットは蛍光画像ではブラックに見えるが、これは蛍光のためではなく、塗工層に含まれると考えられる何かの蛍光染料が発する微弱な蛍光に由来する薄赤の疑似カラー背景色の中で目立っているに過ぎない。結局、マゼンタとブラックのインクについては確実に蛍光を発することがわかった。以上はキヤノンのインクについてであるが、エプソンのインクに関して同様の蛍光を発していることがわかってる。

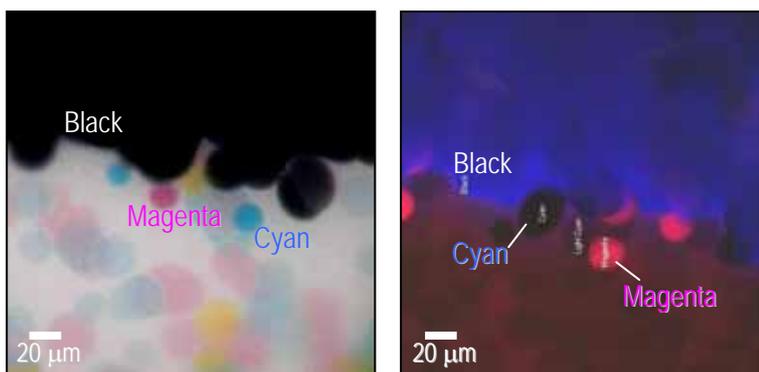


Fig. 1 Ink jet dots of cyan, magenta, yellow and black in reflected light (left) and fluorescence (right) image, not for identical location.

図2の上2つの図は、写真画質インクジェット紙A及びBにそれぞれ印字したマゼンタインクドットの正射影図である。それぞれの図の中で正方形の図がXY平面を示す正面図であり、そのときのZ軸の座標はほとんどのドットの厚みの中央付近に来るようにした。上側の細長い図は、XY平面図にある緑の横の線に沿って仮想的に切片を作ったときのXZ平面に相当し、右側の細長い図は同様に赤の縦の線で切片を作ったときのYZ平面に相当する。平面的なドットの形状に加えて個々のドットの厚さがXZ平面及びYZ平面での画像から評価できる。その厚さは、紙A、Bの場合とも約4 μmである。XY平面でのドット内の濃度分布から紙B上のドットの方が紙Aより

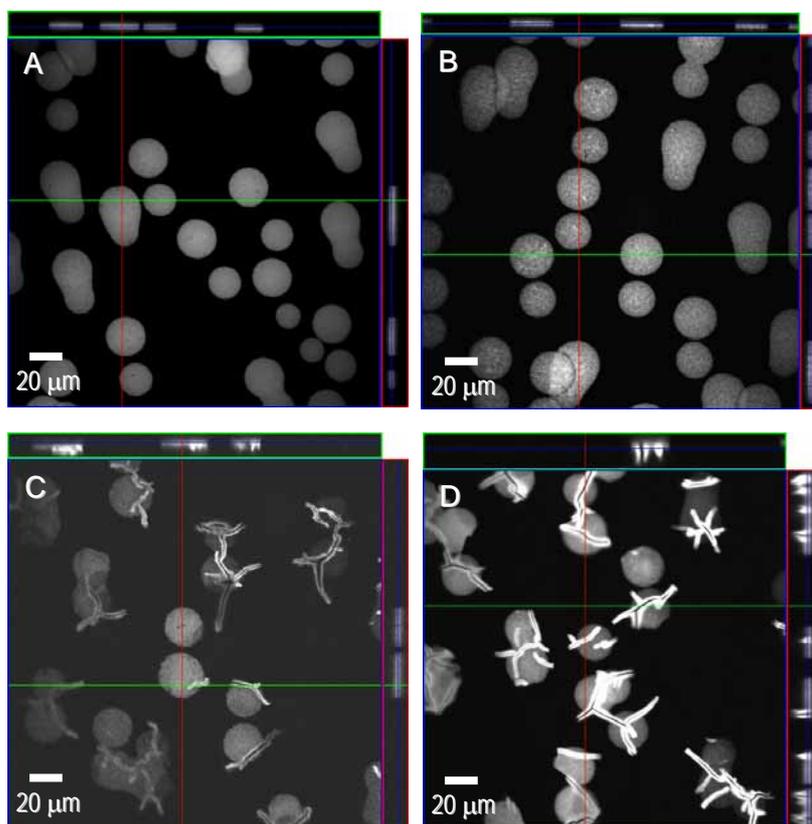


Fig. 2 Dots of magenta ink on photo quality papers A and B, and high gloss type papers C and D.

不均一であり、これは紙Bの方がシリカ顔料の分布が不均一であるために、インクの吸収が不均一になるか又は染料の定着が不均一になることを示唆している。図2の下2つの図は、同様に高光沢タイプインク

ジェット紙 C 及び D の正射影図である。どちらの試料でもドットの周囲に輝度の高い断片的な曲線が多数存在する。これらは、インク染料の一部が塗工層表面にあるクラックの壁面に沿って濡れ広がり、そこに集中したものと考えられる。このような高光沢紙は表 1 からわかるように写真画質紙よりも光沢が高い。キャスト塗工により製造されたと考えられるが、高光沢となる反面、塗工表面にこのようなクラックを残すという欠点を生じる。XZ 平面及び YZ 平面のドットの断面像で見られるように、その浸透インクの足の長さは正常なインク浸透距離の 2~3 倍にも及んでいることがわかる。このようなインクのもぐりこみ浸透はインク濃度を下げる要因にもなっていると考えられる。

これらの図を視覚的にもっとわかりやすくするために、図 3 にあるように紙面から 18 度の角度に視点をおいて見たことに相当する鳥瞰図に変換した。図 4 は A~F の各インクジェット紙に印字したドットの鳥瞰図で、写真画質タイプの紙では理想的なコイン形状のドットを形成することがわかった。高光沢タイプでは、コイン形状のドットに長い足が繋がっている様子が観察される。試料 C のドットは試料 D のドットより小さく見えるが、試料 C だけは例外的にブラックのインクを使っており、画像取得の際に明るさの設定を暗くなるようにしたためである。したがって、実際にはドットの大きさは両者の間でそれほどの違いはない。汎用タイプは、塗工量が少なく紙を原紙としているため、ドットの輪郭は凹凸がひどく、1 つのドットがいくつかの小さなセグメントに分断されている。これは、おそらくシリカの大きい二次粒子がインクの均一な浸透を阻害しているためと考えられる。試料 F では、ドットはわずかながらコイン形状を示しており、その意味では試料 E のドットよりもよいようである。

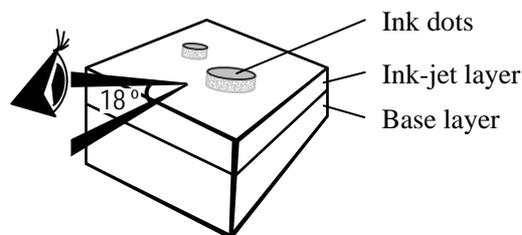


Fig. 3 Angle of bird's view images

吸水速度に関しては、一般的な傾向としてインクジェット塗工層があるとごく初期(約 100ms まで)の吸水が非常に速く

なる。図 5 の結果では、写真画質紙が特に速く、高光沢紙では、ある程度速い領域が存在しているが、その速度は写真画質紙ほどではなかった。汎用紙は塗工層があるにも関わらず初期の速い吸収はほとんど見られず原紙層の吸水と連続していた。汎用紙の表層は、塗工層と原紙層の混合層になっているためと考えられる。汎用紙(E)では吸水の進行が全く見られなかった。

4. 結論

ほとんどのマゼンタ及びブラックのインクジェット用染料インクはそれぞれの色に特有の蛍光試薬を含んでいる。それらのインクから発せられる蛍光を利用し共焦点レーザー走査

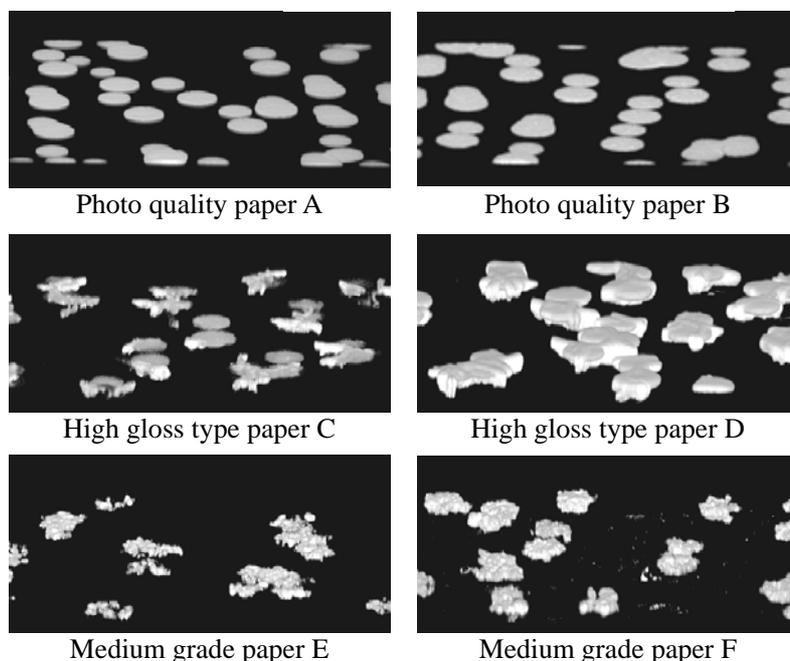


Fig. 4 Bird's view images of dots on different grades of ink-jet paper. Magenta ink was used for all papers with exception of high gloss type paper C with black ink.

顕微鏡を使って3次元的なインク分布を知ることができる。インクジェット紙間で比較を行った結果、写真画質紙上のドットは厚さの均一なコイン形状で、高光沢紙上のドットはクラックに浸透した部分が正常な部分より2~3倍長い足を形成し、汎用紙では繊維間まで浸透することにより凹凸の大きいドットを形成することがわかった。

謝辞

インクジェット紙を提供していただいた中川製作所の藤巻文宏氏に感謝します。

引用文献

1. Beland, M. C., Lindberg, S. and Johansson, P. A., "Optical measurement and perception of gloss quality of printed matte-coated paper", *J. Pulp Paper Sci.*, 26(3): 120-123(2000).
2. Aggelidis, C. N., Pasquali, M. and Scriven, L. E., "Calendering: rheology, computations, and experiments" *Proceedings of the International Congress on Rheology, 13th, Cambridge, United Kingdom, Vol.3, British Society of Rheology, Glasgow, UK: 425-427(2000).*
3. Xu, L., Parker, I. and Osborne, C., "Technique for determining the fibre distribution in the z-direction using confocal microscopy and image analysis" *Appita J.*, 50(4): 325-328(1997).
4. 尾崎靖, "共焦点レーザー顕微鏡による紙中の湿潤紙力増強剤の観察", *繊維学会予稿集 2003*, 58: 176(2003).
5. Suominen, I., Suihko, M.-L., and Salkinoja-Salonen, M., "Microscopic study of migration of microbes in food-packaging paper and board", *J. Industrial Microbiology & Biotechnology*, 19(2): 104-113(1997).
6. Helle, T. and Johnsen, P. O., "Using stereoscopic and SEM backscatter imaging for studying ink distribution details on paper and fiber surfaces" *J. Pulp Paper Sci.*, 20(7): 189-192(1994).
7. 内村浩美; 木村実, "紙の断面試料作製法", *繊維学会誌*, 54(7): 360-366(1998).
8. 内村浩美, "FIB による紙および印刷物の断面試料作製法と顕微鏡観察", *日本画像学会誌*, 42(2): 168-172(2003).
9. 内村浩美; 尾崎靖; 木村実, "インクジェット専用紙に浸透した染料インキの観察", *日本印刷学会誌*, 38(4): 216-224(2001).
10. Pinto, J. and Nicholas, M., "SIMS Studies of Ink Jet Media", *Recent Progress in Ink Jet Technologies II, The Society for Imaging Science and Technology*, 383-389(1999).

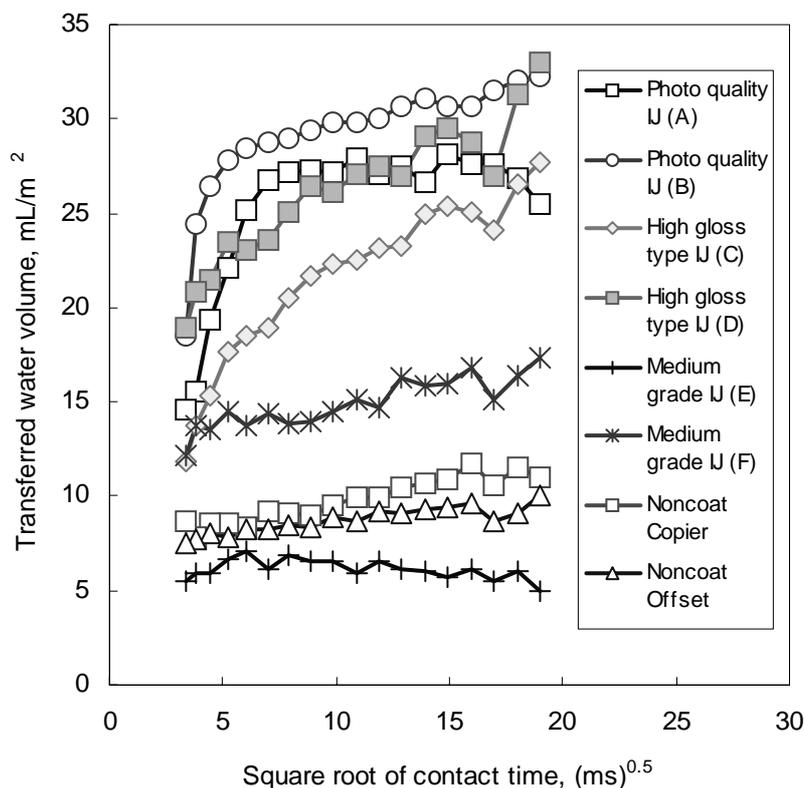


Fig. 5 Water absorption rate of ink-jet papers