

色彩情報が拓く比色分析の多様化



稲川 有徳

1 はじめに

比色分析法は化学分析の最も基盤的技術として環境分析や生化学分析に多く用いられてきた。比色分析の原理として、例えば分析対象物と試薬との化学反応により呈色する分子を生成させる方法や、プローブ分子の化学平衡に基づく色調変化を捉えるレシオメトリック分析が挙げられる。特に、後者においては、色調変化を正確に把握するため波長分解能が高い分光光度計を検出器として用いる。しかしながら、その大型な装置はオンサイト分析には適さない。一方で、近年デジタル画像中に保存された色彩情報を活用した比色分析も数多く報告されている。この実現のために、色彩情報の解析方法、デジタル画像に適したプローブ分子の開発、そして色彩情報を多次元情報として利用する分析法の確立といった基礎的な検討が長年にわたりなされてきた。本稿では、色彩情報がいかにして分析化学に用いられているのかを検出と画像解析という観点から包括的に議論したい。

2 色彩情報を用いた比色分析

色彩情報の表現方法（表色系）にはいくつかの種類がある（図1）。RGBやXYZは最も一般的な表色系である。これらの表色系は、入射光の分光強度 ($I_{\text{incident}}(\lambda)$)、反射及び透過光の分光強度 ($I_{\text{obs}}(\lambda)$)、そして国際照明委員会（Commission internationale de l'éclairage : CIE）が定める等色関数 ($S_i(\lambda)$) の重なり積分によって表現される。一方、このような表記の仕方では特定の色度において可視差が均一ではない。そのため、いかなる色度においても均質な感覚差を表現するために、 $L^*a^*b^*$ のようなXYZ色空間の非線形圧縮による均等色空間を用いた表色系が生み出された。この他にも、 $L^*u^*v^*$ やハントモデル、CIECAM 97sなどの表色系があるものの、その詳細は専門書¹⁾やCIEが発行する技術報告書²⁾を参照されたい。

上述の定義から、RGBやXYZの色強度は測光強度に相当する。よって、RGB値を用いることでBeer-Lambert則に基づいた吸光および反射測定が可能になる。Whitesidesらは透過光強度を表すパラメータとしてRGB値を用いて疑似的な吸光度を算出し、デジタル画像を用いてイムノアッセイを行った³⁾。このような色彩

情報を用いた比色分析はすでに製品化されており、パケットテスト[®]の定量化のための「スマートパケットテスト」が例として挙げられる⁴⁾。ここでは、試料を含む試験チューブのスマートフォン画像を撮影し、その色彩情報を解析することで目視以上の精度で定量が可能になる。これらの操作はすべてアプリケーション上で行うことができる。

酸塩基平衡を伴う指示薬を用いたpH計測に代表されるレシオメトリックな比色分析においては、光強度の変化とともに色調変化を伴う。そのため、先述のような単一のRGB値を用いた分析とは異なり、複数のRGB値を解析する必要がある。等色関数のピーク波長は互いに数百nm程度離れている。そのため、等色関数と類似する分光分布を有するプローブ分子を用いなければ十分な色調の選択性と感度を得ることができない。これを実現するために、RGB値のみでレシオメトリックな分析を可能にするための呈色試薬の開発もされている⁵⁾⁶⁾。

一方で、色彩情報そのものをデータ解析することで、レシオメトリックな分析も可能にする手法も開発されてきた。コンピュータグラフィックスの分野において、ディスプレイ上での色調の再現度を向上することを目的とし、表色系から分光スペクトルに変換する手法がある。代表的なものはRGBの大小関係をもとに、基準関数の加減によりスペクトルを再現するSmitsの手法である⁷⁾。これを用いて、プローブの化学平衡に伴うRGB値の変化を分光スペクトルに変換し、pH測定およびCOD分析などの環境分析や固相上でのポルフィリンの会合状態の識別など表面分析に展開された⁸⁾⁹⁾。一方で、Smitsは基準関数の波長分解能を32nmと定めているため、定義されていない波長領域のデータは補完する必要がある。また、RGBの値によってはスペクトルのバックグラウンドが大きく変動することや、最大吸収および発光波長の大きなずれが見られることから、精緻なレシオメトリックな分析には用いることができない。そのため、レシオメトリック分析を行う上で、特に $L^*a^*b^*$ 表色系を用いた比色分析が提案されている。例えば、Mizuguchiらは金属イオンとキレート指示薬の錯形成に伴う色調変化を $L^*a^*b^*$ の色空間座標上の座標軌跡から金属イオンの定量を実現した¹⁰⁾。また、 $L^*a^*b^*$ 表色系における色差は任意の2色の差を色座標上の距離として定量化していることから、色調変化の定量化のパラメータとなる。これを用いた万能指示薬や金属錯体の色調変化の追跡による定量法も確立されている¹¹⁾¹²⁾。

近年は、ケモセンサーアレイにおいて色調変化をアレイごとに検出して物質を同定する新しい比色分析も報告されている。先駆的な研究例として、Suslickらによる揮発性臭気成分のパターニングによる同定が挙げられる¹³⁾。中心金属が異なるポルフィリン錯体を基板上に固定し、呈色のパターニングから臭気成分を特定するシ

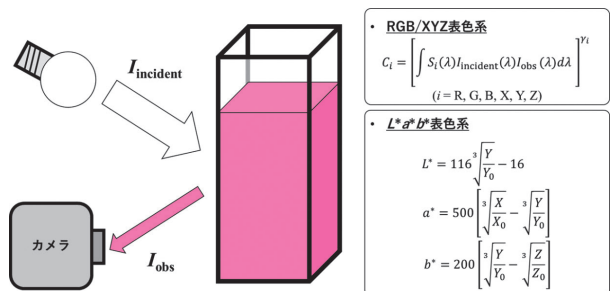


図1 デジタル画像と代表的な表色系

Versatile Approaches to Colorimetric Analysis with Color Information of Digital Images.

システムを開発した。また、呈色変化を多変量解析することで物質の定量と同定を行う手法論も確立され、溶液系のみならず、paper-based analytical device などへの展開も期待される¹⁴⁾。

以上のように、色彩情報はその大小によって物質の量を特定できるだけでなく、得られたデータを適切に処理することで物質を識別するパラメータとしても有用であることが先行研究によって示された。

3 画像解析と色彩情報を利用したイメージング 比色分析

2章では主に色彩情報の検出への適用について紹介した。一方で、デジタルカラー画像の色情報は表色系により保存されることから、デジタル画像を表色系の定義に基づいて解析することができれば、画像上の各箇所における色調変化を分光学的な観点から追跡することで物性評価が可能になる。ここでは、特に産業界におけるニーズに基づいた研究例を紹介したい。

例えば、分光マッピングは材料の表面状態の不均一性の評価や劣化評価などにおいて、分光マッピングは非常に有用な手法である。その手法として、多波長イメージングやハイパースペクトラルイメージングが挙げられる。このようなシステムは、波長分解能が高いがゆえに精緻なレシオメトリック分析が可能なもの、コスト面やスループットの低さから導入へのハードルは高い。そのため、材料表面のデジタル画像に保存されたの色彩情報を解析することで正確に劣化箇所やその進行度を評価することができれば、迅速さや簡便さの観点からその実用性は大きいと考える。

実例として、表色系を用いることで樹脂ガラスの加熱に伴う劣化を定量的に評価するシステムが報告されている¹⁵⁾。樹脂ガラスの試験片を加熱炉にセットし、加熱の様子を画像で記録した。そして、 $L^*a^*b^*$ 表色系を用いて樹脂ガラスの黄変を評価した。黄色味を示す b 値が加熱とともに上昇しており、黄変をよく反映する結果が得られた。これは熱重量測定など他の手法との組み合わせにより、この手法の妥当性が証明されている。

RGB や XYZ を用いる画像解析の研究例としては、蛍光画像写真から励起光画像と蛍光画像を分離する手法を構築する研究が挙げられる。Horigome らは蛍光光度計に CMOS カメラを装着し、様々な波長の励起光を試料に照射し、その際の蛍光スペクトルおよび蛍光画像を取得し、それらの情報をもとに画像解析を利用して蛍光画像のみを分離するという手法を用いた¹⁶⁾。具体的には、励起光を照射して撮影した画像には励起光と蛍光を含んでいる。すなわち、画像解析して得られた RGB 値には両方の因子が含まれている。これを数学的に分離し、明確な蛍光画像のみを取得することに成功した。このような手法は、偽造紙幣のプロファイリングや食材の産地特定など、蛍光物質の空間および強度分布を瞬時に特定する必要がある現場において有用な手法となりうると考える。

測定の目的に応じて表色系の選択が必要である。例えば、 $L^*a^*b^*$ 表色系では、試験片の表面状態の変化に伴う入射光の散乱など明度に影響を及ぼすパラメータと色座標が分離されているため、色調変化のみを抽出することが可能である。一方で、後者のように、センサーへ入射する光の強度やスペクトル情報を取り出すのであれば、分光スペクトルが色彩情報に直接反映される RGB および XYZ 表色系を用いる方がよいものと考えられる。

4 おわりに

以上のように、色彩情報を用いることで、比色分析のみならず材料の分光的評価や分光マッピングなどといった様々な化学的な情報を一枚の画像から取得できるよう手法論がこれまでに開発されてきた。画像データを取り扱う IT 環境は日進月歩であり、このことは色彩情報を用いた化学分析をさらに加速させる要因となる。例えば、OpenCV や Pillow などのような画像処理機能に関するライブラリを利用することで、簡単なプログラムを構築できればデータ取得や解析の自動化が容易になった。このようなライブラリは今後も絶えず更新され続けるであろう。また、機械学習を利用した色調変化のパターニングができれば、ケモセンサーを用いなくても未知の物質の同定ができる可能性がある。今後は、マクロな色調変化のみならず、顕微画像や動画にも適用され、従来の分光装置ではアクセスが困難な空間における比色分析のツールとして利用されることを期待したい。

文 献

- 1) 例えば張 小忙：“デジタル色彩工学”，谷口 慶治編著，p. 19 (2012)，(共立出版)。
- 2) CIE 15 : Colorimetry 4th Edition (2018)。
- 3) D. C. Christodouleas, A. Nemiroski, A. A. Kumar, G. M. Whitesides : *Anal. Chem.*, **87**, 9170 (2015)。
- 4) スマートパケットテスト，株式会社共立理化学研究所，<https://kyoritsu-lab.co.jp/products/smartpacktest> (2021 年 8 月 17 日，最終確認)。
- 5) J. E. Kwon, S. Park, S. Y. Park : *J. Am. Chem. Soc.*, **135**, 11239 (2013)。
- 6) K. Suzuki, E. Hirayama, T. Sugiyama, K. Yasuda, H. Okabe, D. Citterio : *Anal. Chem.*, **74**, 5766 (2002)。
- 7) B. Smits : *J. Graph. Tool*, **4**, 11 (1999)。
- 8) 古賀 信吉，宇都岡 貴秀：化学と教育，**52**, 771 (2004)。
- 9) B. J. Johnson, N. E. Anderson, P. T. Charles, A. P. Malanoski, B. J. Melde, M. Nasir, J. R. Deschamps : *Sensors*, **11**, 886 (2011)。
- 10) H. Mizuguchi, H. Atsumi, K. Hashimoto, Y. Shimada, Y. Kudo, M. Endo, F. Yokota, J. Shida, T. Yotsuyanagi : *Anal. Chim. Acta*, **527**, 131 (2004)。
- 11) T. Komatsu, S. Mohammadi, L. S. A. Busa, M. Maeki, A. Ishida, H. Tani, M. Tokeshi : *Analyst*, **141**, 6507 (2016)。
- 12) Grasianto, M. Fukuyama, D. M. Mott, Y. Koseki, H. Kasai, A. Hibara : *Sens. Actuators B Chem.*, **333**, 129548 (2021)。
- 13) N. A. Rakow, K. S. Suslick : *Nature*, **406**, 710 (2000)。
- 14) Y. Sasaki, X. Lyu, Q. Zhou, T. Minami : *Chem. Lett.*, **50**, 987 (2021)。
- 15) 大久保信明：ぶんせき (*Bunseki*)，**2021**, 282。
- 16) 堀込 純，佐藤いまり，鄭 銀強：ぶんせき (*Bunseki*)，**2021**, 236。



稲川有徳 (Arinori INAGAWA)

宇都宮大学工学部 (〒321-8585) 栃木県宇都宮市陽東 7-1-2)。東京工業大学大学院理工学研究科化学専攻博士後期課程修了。博士 (理学) 《現在の研究テーマ》マイクロ空間での相分離を利用した分析計測法の確立。Ice Microfluidics (Springer Nature)。《趣味》ハーモニカ、譜面探し、夕飯の支度。

E-mail : ainagawa@cc.utsunomiya-u.ac.jp