

芝 浦 工 業 大 学
博 士 学 位 論 文

皮膚機能計測装置の開発に関する研究
～皮膚 pH 計測用乾式 pH センサシステムの開発～

平成 28 年 3 月

長 島 拓 人

目次

第 1 章 序論	1
1.1 研究背景	1
1.2 皮膚	4
1.2.1 皮膚の構造と機能	4
1.2.2 表皮	5
1.2.3 真皮	6
1.3 皮膚表面 pH と先行研究	7
第 2 章 研究目的	11
第 3 章 pH について	12
3.1 pH の定義と測定	12
3.2 参照電極	12
3.3 イオン選択性電極	13
3.4 既製の皮膚機能測定装置	14
3.4.1 Skin-pH-meter PH900	14
3.4.2 Corneometer CM825	15
3.4.3 Sebumeter SM810	15
3.5 pH 標準液	16
第 4 章 乾式 pH センサ	17
4.1 乾式 pH センサの原理と構造	17
4.2 測定方法	20
4.2.1 水系比較電極(RE-1B)	20
4.2.2 直流電圧計の零点調整	20
4.2.3 乾式 pH センサ測定方法	20
4.3 センサ特性確認実験	21
4.3.1 目的	21

4.3.2	装置と方法.....	21
4.3.3	結果と考察.....	22
4.4	皮膚 pH 測定実験.....	23
4.4.1	目的	23
4.4.2	装置と方法.....	23
4.4.3	結果と考察.....	24
4.5	まとめ.....	26
第 5 章	皮膚 pH 計測システム	27
5.1	システム構成.....	27
5.2	測定機器.....	29
5.2.1	高感度直流電圧電流計(PM-18U)	29
5.2.2	A/D 変換ボード	30
5.2.3	計測プログラム	31
5.3	ノイズの影響と動作確認実験.....	32
5.3.1	目的	32
5.3.2	装置と方法.....	32
5.3.3	結果と考察.....	33
5.4	センサ測定プローブ	35
5.5	プローブ接続確認実験.....	36
5.5.1	目的	36
5.5.2	装置と方法.....	36
5.5.3	結果と考察.....	37
5.6	まとめ.....	38
第 6 章	皮膚計測と手法の検討.....	39
6.1	長時間計測の検討.....	39
6.1.1	目的	39
6.1.2	装置と方法.....	39
6.1.3	結果と考察.....	41

6.2 乾式 pH センサ洗浄方法の検討.....	46
6.2.1 目的	46
6.2.2 装置と方法.....	46
6.3.3 結果と考察.....	46
6.3 まとめ.....	48
 第 7 章 乾式 pH センサ pH・電圧特性実験.....	49
7.1 センサ特性と校正手法.....	49
7.1.1 目的	49
7.1.2 装置と方法.....	49
7.1.3 結果と考察.....	51
7.2 センサ特性改善手法の検討.....	54
7.2.1 目的	54
7.2.2 装置と方法.....	54
7.2.3 結果と考察.....	55
7.3 平面型乾式 pH センサ pH・電圧特性.....	56
7.3.1 目的	56
7.3.2 装置と方法.....	57
7.3.3 結果と考察.....	57
7.4 まとめ.....	59
 第 8 章 皮膚 pH 測定実験.....	60
8.1 評価パラメータ検討実験	60
8.1.1 目的	60
8.1.2 装置と方法.....	60
8.1.3 結果と考察.....	61
8.2 健常/アトピー部位の比較実験.....	65
8.2.1 目的	65
8.2.2 装置と方法.....	65
8.2.3 結果と考察.....	67

8.3 皮膚水分蒸散の影響確認実験.....	70
8.3.1 目的	70
8.3.2 装置と方法.....	70
8.3.3 結果と考察.....	71
8.4 複数被験者についての測定実験.....	74
8.4.1 目的	74
8.4.2 装置と方法.....	74
8.4.3 結果と考察.....	75
8.5 まとめ.....	78
 第9章 結論.....	 80

謝辞

参考文献

付録

付録1 計測プログラム

付録2 測定結果グラフ

第1章 序論

1.1 研究背景

皮膚は人体最大の臓器であり，外部から生体内部を保護し，生体恒常性を維持する上で大きな役割を果たしている．近年，加水分解小麦粉末を含有する茶のしずく石鹸の使用が，経皮，経粘膜感作され，小麦アレルギーあるいは小麦依存性運動誘発アナフィラキシーを発症するなど，社会問題となった^{1,2)}．食物アレルギーの様に経口摂取によってアナフィラキシーを発症する事例は，以前から知られていたが，体を洗うために使用していた石鹸に含まれていた小麦由来成分が皮膚を通じて生体に異物として認識され，アレルギー反応を引き起こしたことから，皮膚を経由した物質の免疫反応として注目された．

このように皮膚が外部と生体内を隔て，異物の侵入を阻止し，生体恒常性を維持する機能は，皮膚バリア機能と呼ばれており，pH，水分量，経皮水分蒸散量，血流量，温度などの皮膚機能が，医療や化粧品，生体研究において測定されている．皮膚バリア機能を障害する代表的な皮膚疾患として，アトピー性皮膚炎(AD: Atopic Dermatitis)がある．アトピー性皮膚炎は，「増悪・寛解を繰り返す，掻痒のある湿疹を主病変とする疾患であり，患者の多くはアトピー素因を持つ」と定義されている³⁾．アトピー素因は，家族に気管支喘息，アレルギー性鼻炎・結膜炎，アトピー既往歴があるか，またIgE抗体を産生しやすい体質であるとされている．

平成12年～14年度厚生労働科学研究の一環として，アトピー性皮膚炎の患者数について保健所及び小学校検診での医師の診断による全国規模の有症率調査が実施されている．また，平成12年～20年度厚生労働省科学研究では，大学職員に対する成人アトピー性皮膚炎の有症率調査が行われている⁴⁾．Fig.1.1 にアトピー性皮膚炎の年齢別有症率を示す．

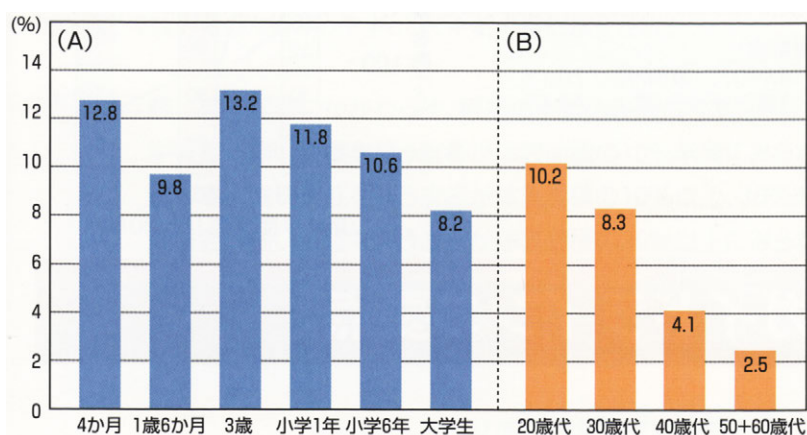


Fig.1.1 アトピー性皮膚炎の有症率 全国8地区平均
(調査年度: (A)平成12-14年度, (B)平成18-20年度)⁴⁾より転載

- ・4か月(n=2,744)
北海道，関東，中部，近畿，中国，四国，九州の7地区
- ・1歳6か月(n=6,424)，3歳(n=6,868)
小学1年(n=12,489)，小学6年(n=11,230)：北海道，東北，関東，中部，近畿，中国，四国，九州の8地区
- ・大学生(n=8,317)：東京大学，近畿大学，広島大学の3大学
- ・成人(20-60代)：東京大学，近畿大学，旭川医科大学の3大学の職員検診

これらの全国規模の疫学調査における1歳6か月から大学生，20代～60代のアトピー性皮膚炎症例の重症度別割合をFig.1.2に示す⁴⁾．

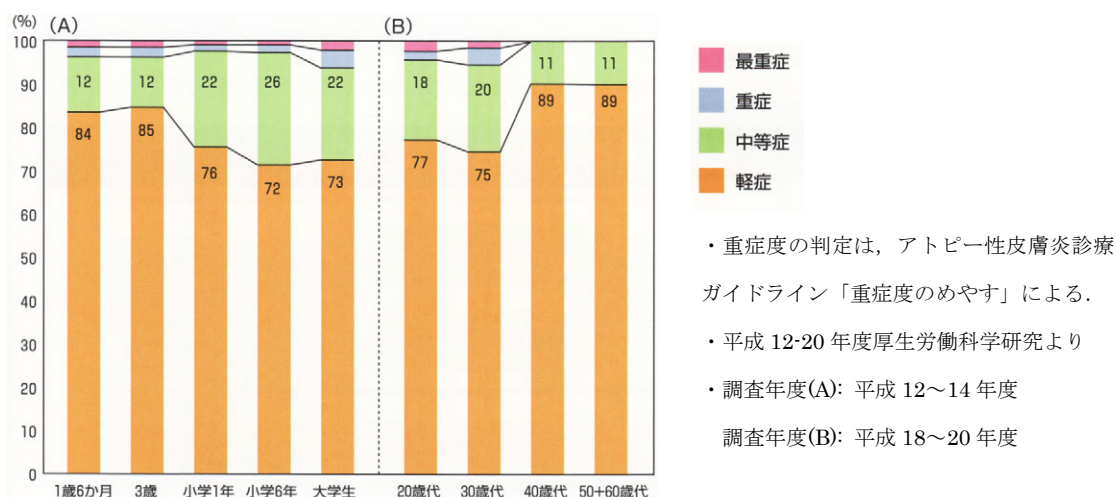


Fig.1.2 アトピー性皮膚炎の重症度割合 4)より転載

20代までのアトピー有症率は、10%前後と依然として高い状態が続いており、小児や思春期のみならず、若い成人においても頻度の高い皮膚疾患である可能性が示唆されている⁴⁾。

アレルギーについての2013年厚生労働省科学研究において、片山らは思春期患者の経過と実態を明らかにし、アレルギー疾患によって勉学能力が約20%障害されている事が報告されている⁵⁾。今後、高齢者のアレルギー疾患の治療の実態や合併症の評価と対策の必要性についても指摘されており、ますます、高齢化する社会においては、日常的なケアが困難になることが想定され、皮膚状態を適切に把握し治療を受ける事が重要になると考えられる。

皮膚バリア機能が障害されるアトピー等では、日常的に乾燥や痒みを生じ著しくQOL(Quality of life)を損なう。そこで、工学的手法を生かし皮膚バリア機能の状態を把握することが出来れば、一見しても分からない皮膚健康状態を把握し、日頃からのケアに生かすことができ、必要な場合には適切な治療につなげる事が出来るため、皮膚バリア機能を把握するための装置開発が求められている。

皮膚バリア機能の指標としては、皮膚水分量、皮膚水分蒸散量、皮膚表面pH、血流量、温度など様々な指標がある。これらの、皮膚研究に用いられている既製の皮膚機能計測装置のほとんどは1つの皮膚機能のみを計測する装置であり、装置の寸法・重量による制約の問題がある。また、皮膚バリア機能は、季節や環境の変化など様々な要因が複雑に関係する生体計測であるため、一つの皮膚機能から皮膚状態を評価する事が困難である。生体計測では、非侵襲であることに加えて、簡便に測定しうることを、複数の指標について相互に影響しない手法の開発が求められている。

アトピーなど病的な皮膚では、バリア機能が障害され大気中に水分を失いカサカサした皮膚になることから角層の水分保持機能に着目し、バリア機能の指標のなかでは皮膚水分量、皮膚水分蒸散量について多くの研究がなされている^{6,7)}。近年、角層バリアが形成される角化の過程の解析が進み、フィラグリンと呼ばれるタンパクが角化の過程で分解され、バリア形成に重要な役割を果たしている事が明らかにされている⁸⁾。フィラグリン遺伝子の異常が、角層の正常な形成を阻害すると考えられており、フィラグリンの代謝産物であるウロカイン酸などが、天然保湿因子として重要とされている⁹⁾。天然保湿因子が、皮膚表面pHの調整にも大きな役割を果たしていると考えられ、皮膚バリア機能の評価にとって、皮膚表面pHを含む、複数の皮膚機能計測が可能な装置の開発が求められている。

皮膚pHを測定することにより、皮膚の健康状態を把握することに応用することが期待されている。

しかし、疾患のある部位など範囲の限られた特定部位など、皮膚機能測定が可能なごく限られた領域で、pH、水分量、水分蒸散量、皮膚硬さなどと複数の機能を測定しようとする、多くの機能を相互の影響なく同時に測定する事は難しい。

現状の皮膚機能計測に用いられている装置の課題を以下に示す。

- ・ 各測定プローブが大きい
- ・ 皮膚の測定装置が単機能
- ・ 測定/評価に時間が掛かる
- ・ 安定した測定に恒温恒湿室など特殊環境が必要

現在の皮膚機能測定では、各機能計測が別々の装置に分かれており、同時に測定する事が出来ない問題がある。順番に測定するため、環境変化がない恒温恒湿の中で実験を行うなど配慮が必要である。また、生体を対象とした測定は、出来る限り短時間で測定したいというニーズがあると考えられるが、機器が統合されていない事が不便さの要因の一つと考えられる。

本研究では、将来的にごく限られた皮膚の範囲について、pH、水分量、水分蒸散量、皮膚硬さなどの複数機能を一つのプローブに統合し、より簡便に皮膚健康状態を把握する装置開発を目指している。そのため、皮膚機能の統合プローブの開発の一部として、従来の湿式手法による pH 測定のように、他の皮膚機能測定に影響を及ぼさない、乾式手法による乾式 pH 計測システムの開発を行う。

1.2 皮膚

1.2.1 皮膚の構造と機能

皮膚は、人体の全表面を覆う最大の器官であり、生体を外界から隔絶して保護するほか、生命維持にきわめて重要な役割を果たしている。皮膚は、外力からの傷害や、微生物、光線、化学的傷害等に対する保護作用、呼吸作用、体温調節作用、分泌作用などを有している。外界からの種々の刺激や障害から生体を守る働きをしている。成人の皮膚の表面積は、 $1.5 \sim 2.0 \text{ m}^2$ (平均 1.6 m^2) であり、重量は、体重の16%を占めている。

皮膚は、表皮、真皮及び皮下組織の3層から構成され、その厚さは部位によって異なるが、それぞれの厚さは、表皮は約 $0.12 \sim 0.2 \text{ mm}$ 、真皮は約 1.8 mm 、皮下組織は 0.08 mm 以上である。また、皮膚には爪、毛、汗腺などの表皮付属器や、血管系、リンパ系、神経系、筋肉などが含まれており、これらが密接に関係することで、皮膚としての機能を果たしている^{10, 11)}。

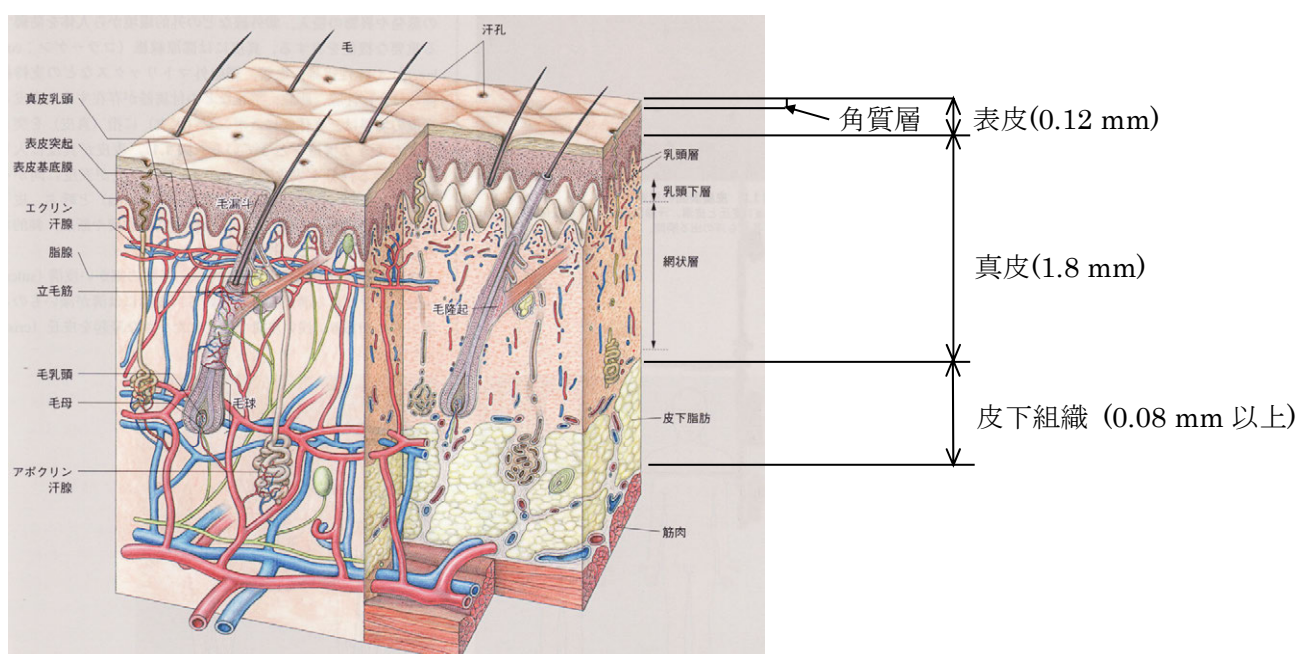


Fig.1.3 皮膚の構造¹¹⁾より転載

表皮：表皮は、皮膚の最上層に位置し、角化細胞を主とする強固な構造で生体を保護している。付属器官には、爪、毛、汗腺、皮脂腺などがあり、生理学上重要な役割を果たしている。

真皮：真皮は、表皮の下層であり、皮膚の大部分を占めている。真皮の中には表皮付属の毛包、毛根、立毛筋、脂腺、汗腺がある。さらに血管系、リンパ系、神経系がある。強固な表皮に対して、真皮には弾力性と柔軟性があり、生体内部の保護に重要な働きをしている。また、血管系・リンパ系は、表皮などへの栄養供給や新陳代謝を担っている。

皮下組織：皮下組織は真皮の下に位置し、主として脂肪細胞から構成されている。その厚さは脂肪細胞の多少によって異なる。皮下組織の中には、汗腺の腺体、毛球があり、血管が分布している。

1.2.2 表皮

表皮は、皮膚の最上層に位置し、角化細胞を主とする強固な構造で生体を保護している。表皮には、生理学上重要な役割を果たす、爪、毛、汗腺、皮脂腺などの付属器官がある。表皮細胞(Fig.1.4)は、その形態により最上層から、角質層、透明層、顆粒層、有棘層、基底層の5層に分類されている。

表皮では、基底層において1層の円柱状の基底細胞が分裂し、1つが基底細胞として残り、もう1つが有棘細胞 → 顆粒細胞 → 角質細胞へと分化しながら上層へと移動する。この細胞分化と移動による一連の過程は角化と呼ばれる、角化の過程で細胞内において、安定な繊維性タンパクのケラチンが合成される。この角質細胞の分化には、通常14日間かかり、さらに角質層として約14日間存在した後、鱗屑（垢）として脱落する。一連のサイクルは、表皮の回転周期（ターンオーバー）と呼ばれ、表皮は分化と角質層としての存在期間を合わせ約28日間の周期となっている¹⁰⁾。

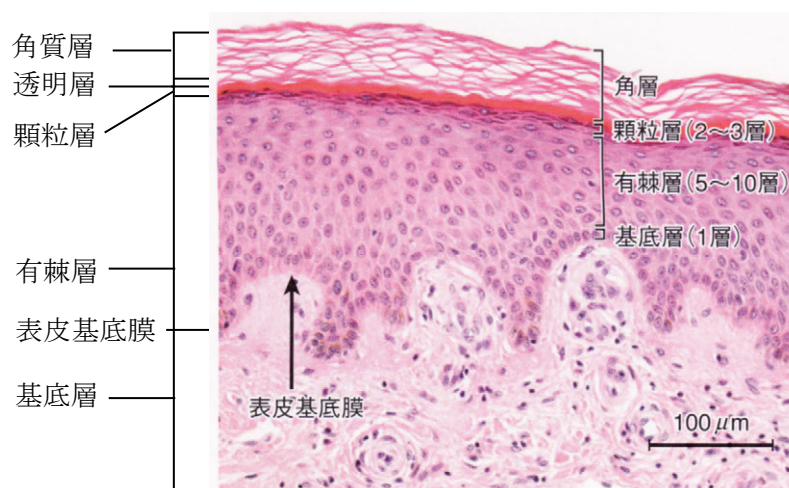


Fig.1.4 表皮の構造 11)より転載

基底層：表皮の最下層にあり、常に1層の基底細胞からなる。基底細胞は有棘細胞、顆粒細胞、角質細胞の元となる細胞である。

有棘層：基底細胞から分化した有棘細胞が数層～十数層積み重なった層である。表皮の中で、もっとも厚い層であり、上層では下層と比較して細胞が横長になっている。

顆粒層：2～3層の比較的平坦な顆粒細胞からなる層である。細胞内にはケラチンタンパクの一種であるケラトヒアリン顆粒が存在している。

角質層：基底細胞が角化を終えて角質細胞となり数層から十数層が密に積み重なった層である。細胞はすでに死んでおり、細胞内に核などはなく、ケラチンで構成されている。角質細胞は、表面から徐々に脱落する。この角質層は、皮脂、汗などとともに生体内部を外界と隔絶し、生体内を保護するバリアとしての機能を持つ。

1.2.3 真皮

真皮は、表皮の下層に位置し、皮膚の大部分を占め弾力性と柔軟性を有している。真皮は、膠原繊維と弾性繊維からなる緻密結合組織であり、表皮側から下層に乳頭層、乳頭下層、膜状層の3層に分けられるが、明確な境界はないとされている。真皮の中には表皮付属の汗腺、脂線、毛包、毛根、立毛筋がある。さらに血管系、リンパ系、神経系があり、表皮などへの栄養供給や新陳代謝を担っている^{6,7)}。

汗腺：汗腺には、エクリン汗腺(小汗腺)とアポクリン汗腺(大汗腺)とがある。エクリン汗腺は、皮膚表面にのみ汗孔があり、水分の多い薄い汗を分泌し体温調節に重要な働きをする。アポクリン汗腺は、エクリン汗腺よりも大きく、皮膚表面と毛包に汗孔がある。エクリン汗腺と同様に薄い汗も分泌するが、細胞の一部が汗に混じる事により、分泌量は少ないが脂肪、タンパク質などの有機物を高濃度に含み、粘性が高く特有の臭いを有する。

脂線：脂線は、毛包に開孔しバリア機能の一角を担う脂肪性の皮脂を分泌する。

毛包：表皮が斜めに真皮まで落ち込んだ部分が毛包と呼ばれ、皮膚に隠れた部分である毛根で毛が作られる。

汗：汗の成分には、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、アンモニウム、乳酸などが含まれている。寺澤らが、陽イオンの定量を行った結果では、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、アンモニウムイオンの定量が行われ、汗中からナトリウムイオンが中心に検出されている¹²⁾。

1.3 皮膚表面 pH と先行研究

皮膚には、外部からの刺激や異物の進入に対して生体内部を保護し、また内部から水分蒸散を防ぐなどバリアとしての働く各種の作用がある。その作用の一つが、皮膚表面の pH を弱酸性に保ち細菌などの発育を阻害するアルカリ中和能である。生体保護のために皮膚表面 pH を弱酸性に保ち、皮膚にアルカリ性の物質が触れても短期間の内に、弱酸性に戻そうとする機能である¹³⁾。

皮膚 pH は、1892 年に Heuss がリトマスとフェノールフタレインを用いた比色法によって皮膚の酸度を測定したのが最初であり、表皮は酸性、真皮はアルカリ性と報告したとされている¹³⁾。1939 年に I.H.Blank が Beckman G 型 pH-Meter を用いて、皮膚 pH を測定しており、概ね 4.0 ~ 5.0pH での測定結果が報告されている¹⁴⁾。現在では、作用電極と参照電極が一体となった複合型の電極がもちいられているが、当時は独立した単極のガラス電極であった。電気化学的に、比較的安定して皮膚 pH が測定され始めたのは、Beckman G 型 pH-Meter が登場してからと考えられる。日本においても、1958 年に畑が、Beckman N-1 型を用いて、新生児、女性、男性、少年、壮年、老年者等、多数の被験者についての網羅的に皮膚 pH 測定を行っており、成人ではおおむね皮膚 pH は、5.0 ~ 6.5pH 前後の範囲として測定されている¹⁵⁾。

一般的な化学分析では、定性と定量は厳密に分類されている。電気化学的な測定では、水素イオンを選択的に検出する定性性を持ちながら、水素イオンの定量も合わせて行うきわめて高度な手法であるといえる。皮膚表面 pH の測定に関する歴史的な経緯をふまえると、皮膚表面の pH 測定で得られている知見は、特定の測定装置や手法の登場によって変動してしまうため、pH 値が数値で得られたとしても絶対的な値ではなく、あくまで相対的な比較の尺度と考える必要がある。

アトピー性皮膚炎患者の皮膚 pH は健常人よりも高く皮疹の悪化につれて上昇し、黄色ブドウ球菌数も増加していたという報告がある¹⁶⁾。また、角層の恒常性の維持調整に pH と角質化に伴うバリア機能の成熟が関連しているとされている¹⁷⁾。

皮膚 pH は、皮膚表面の水溶液の pH を測定した値であり、汗腺からの汗、皮脂腺からの皮脂、角化層およびそれを形成しているケラチン、体内からの CO₂、体外からの付着物などが、皮膚表面の水分に溶解することで示される水素イオン濃度である¹⁸⁾。従来、内部に電解液を有するガラス電極を用いて、水滴を介して皮膚に接触させて測定されている。皮膚に症状がある場合は、ガンマーグロブリンやアルブミンなどの血液成分が検出される。従って、皮疹部位では血液成分の緩衝作用が皮膚 pH 測定に影響を及ぼすことが考えられる。健康な皮膚における皮膚表面 pH は、皮膚の生理学的緩衝作用によって弱酸性に保たれており、細菌から皮膚を守る働きを果たしている。

皮膚 pH の測定値は、弱酸性であるが pH4.5 ~ 6.5 とかなりの幅が見られる^{16,19,21)}。これらの理由として、体外的要因としては、外界の温度、湿度、気圧、その他入浴の影響、化粧の有無などが挙げられる。一方、体内的要因としては、病歴、生理的な要素、皮膚自体の因子としては、角層発汗、皮脂などが挙げられる。また、年齢、性別、部位による差も報告されている¹⁵⁾。健康な皮膚における皮膚表面 pH は、広い範囲に分布するが年齢的に見ると、新生児では、アルカリ性に近く、年齢を重ねるごとに一旦酸性に向かい、さらに老年に及ぶと再びアルカリ性に近づく。性別的には、成人の男女の平均皮膚 pH について比較すると、男性の皮膚表面 pH は女性よりも酸性寄りの傾向が報告されている¹⁵⁾。皮膚表面 pH の男女差については、男女の皮膚表面 pH は上記とは逆との報告もあり、未だ研究の対象となっている^{18,20)}。

近年、皮膚表面 pH の異常が、透過性バリアや抗菌バリアの低下のみならず、免疫反応の誘導にも関

与している可能性があるとの指摘もある²¹⁾。皮膚バリアの構成要因の一つである天然保湿因子は、親水性の高いアミノ酸であり、フィラグリンが角層の成熟に伴って分解され皮膚表面に供給される。これらの天然保湿因子は、角層水分量を維持し、経皮水分蒸散量を減少させバリア機能を発揮し、皮膚表面 pH を保つ事に重要な機能を果たしている²²⁾。フィラグリンは、ケラチンの凝集に関与するため、フィラグリンの低下は角層の正常な形成を阻害すると考えられる。また、フィラグリンの代謝産物であるウロカイン酸は、天然保湿因子としても重要である。ウロカイン酸の低下は、角層 pH を上昇させる要因となり得るが、角層 pH の上昇がアトピーの病態全般に関与している可能性もある⁹⁾。皮膚表面 pH は、天然保湿因子を構成するアミノ酸などがその要因の中心とも考えられている^{31,32)}。角層からは、アミノ酸、ウロカニン酸、ピロリドンカルボン酸などが検出されている³³⁾。

従って、皮膚 pH の測定結果は、生理的な要因を反映した、皮膚健康状態を反映するひとつの指標として重要である。

皮膚 pH の測定に関する先行研究について、以下に示す

(a) アトピー性皮膚炎の皮膚清浄度の指標としての皮膚 pH の研究¹⁶⁾

遠藤らは、アトピー性皮膚炎患者の皮膚 pH は健康者よりも高く、皮膚 pH が皮疹の悪化とともに上昇し、さらに皮疹の悪化に伴って皮膚表面の黄色ブドウ球菌数が増加していることを報告している。アトピー性皮膚炎患者の発汗の程度と皮膚 pH に有意差が見られさらに、黄色ブドウ球菌の菌数と、皮膚 pH 値の間に有意差が表れた事が報告されている。また、発汗についての問診を行い、皮膚 pH は、アトピー患者において健康人よりも高く、皮疹の悪化とともに上昇していた。患者及び健康人とも、女性は男性よりも高く、汗が少ないほど皮膚 pH が高くなっていた。また、アレルギーの既往がある健康人はそれがない健康人より高くなっていた事が報告されている。

(b) 皮膚 pH 測定による脳血管障害と理学療法の評価^{23,24)}

倉林らは、片麻痺患者の理学療法前後の皮膚 pH 測定を行った研究により、片麻痺の重症症例ほど、麻痺側上肢の皮膚 pH は高い値を示し、患側と健側の偏差が増大したことを報告した。健康人に比して片麻痺患者では健側上腕の皮膚 pH も高い傾向が観察された。これは、片麻痺では血管運動神経障害や自律神経障害による発汗障害、血管希薄化や表皮・角質の萎縮による皮膚緩衝系の障害が推定され、これらの影響を反映した皮膚 pH の違いであることが示唆された。3ヶ月間の理学療法による麻痺の改善に伴い、麻痺側上肢の皮膚 pH は減少し、患側と健側の偏差も低下した事が報告されている。倉林らの研究グループでは、先に経皮酸素分圧による片麻痺の評価を行っており、この報告では皮膚 pH も血流に伴って変化すると推測し、健側肢と患側肢で皮膚 pH 測定を行い、結果を比較した。測定期間は、理学療法の前後の2-3ヶ月間。片麻痺の重症患者ほど麻痺側上肢の皮膚 pH が高いことが報告され、療法後ではその値が低下する事により健側、患側の pH 値の差が減少したとしている。

(c) 水中運動指導者の皮膚状態²⁵⁾

田辺らは、プール水が水中運動指導に従事する指導者の皮膚に及ぼす影響を把握することを目的として、水中運動指導者7名を対象に、1人当たり4〜5回の両前腕内側中央部および両下腿膝蓋骨内側顆下部の角層水分量と皮膚 pH の測定を行った。水中運動指導前と指導直後から15分間隔に指導60分後まで測定し結果を比較した。水中運動指導前の角層水分量は前腕 $10.6 \pm 3.8 \mu S$ 、膝下 $9.2 \pm 3.0 \mu S$ と低く乾燥状態であり、指導直後に有意に上昇し60分後には指導前同様の低値になった。皮膚 pH は指導

前に前腕 pH 5.5 ± 0.5 , 膝下 pH 5.2 ± 0.6 と正常であったものが指導後に上昇し, 指導後 60 分が経過しても指導前の皮膚 pH より高く, 有意な差があった. プール水の影響により指導後 60 分が経過しても皮膚のバリア機能が低下していたとしている.

(d) 創傷管理と慢性創傷の表面 pH の重要性^{26,27)}

創傷管理(創傷ドレッシング)で, 世界中の医師が行っている共通の処置は, 創傷を何かで覆う処置が行われている. 創傷を覆うことにより, 創傷が湿潤環境に保たれ, 治癒に適した環境が整うと考えられている. 創傷治癒の局所環境因子として, 細菌量, 酸素分圧, 湿潤性, pH の 5 つがある. 褥瘡の様な難治性皮膚潰瘍には, ハイドロコロイド材が用いられている.

慢性創傷の治癒過程は, 内因性および外因性の両方の要因によって影響される複雑で, 多面的な過程である. 創傷面の pH は, 酸素分圧, 血管形成, タンパク分解酵素活性, 細菌毒性を含む多くの要因に影響を与える. このため, 非治癒の慢性創傷はアルカリ性の環境となっている. 治癒する事で, 酸性環境に容易に戻る. 現在, 創傷面の評価は, 少ない診断機器または, 診察による主観的な評価に依存している. 創傷表面 pH を監視する方法は, 創傷面の状態を「測定」することで, 最終的に創傷について適切な治療を決定するのに役立つと述べられている. ここでは, あくまで創傷表面の pH 測定が重要であり, 細胞組織の pH ではない事が強調されている. 水滴を介在させる従来の湿式手法では, 水滴が創傷面から浸透する事が問題になる場合が想定される.

(e) 清拭に関する研究^{28,29)}

清拭とは, 身体を清潔に保持するために行われる清潔援助の一つで, 基本的な看護技術である. 臨床における日々の看護業務においても良く行われる医療行為である. 月田らは, 石鹸の使用方法に関する研究として, 石鹸の使用方法として“泡立てる”, “泡立てない”の違いをそれぞれ皮膚表面 pH, 皮膚油分量, 角層水分量, 主観的な側面から分析を行った. 最も皮膚表面の pH が高くなると想定された清拭直後でも皮膚 pH の 4.2~6.4 の弱酸性の範囲であった. しかし, pH 値そのものは清拭直後から泡有り群, 泡なし群の順に高くなり, 清拭直前の状態に戻るまでの時間は, 泡なしで 60 分, 泡有りでは, 80 分以上を要していた. 石鹸を使用しない温湯清拭群においては, 清拭の前後で大きな変化はなく, pH $5.5 \sim 5.7$ の範囲で推移していた. 近年, エビデンスに基づいた看護技術が求められており, 看護技術の根拠の検証のために皮膚機能測定が活用されている.

(f) 体幹や手足の皮膚角層機能の加齢変化³⁰⁾

高齢者の体幹の皮膚角層機能の加齢変化を調査するため, 東京都在住の高齢者と中年の 2 つのグループの皮膚機能として, 角層水分量, 経皮水分蒸散, 皮膚表面 pH の測定を行った. 測定部位は, 上腕内側, 下肢, 背面, 臀部が選択された. 角層水分量では, 加齢に従って下肢の角層水分量の減少が見られた. 皮膚表面 pH では, 全ての部位で中年よりも高齢者の皮膚で pH 値が高かった事が報告されている. 皮膚機能計測によって, 加齢にともなうバリア機能の低下が測定されており, 高齢者の皮膚疾患治療への活用が期待されている.

これらの先行研究から皮膚表面 pH は, 皮膚治癒の状況, リハビリや看護技術の検証にも皮膚の状態を反映する指標として有用である. これらの研究で使用されているのは, 内部に電解液を有するガラス電極である. 創傷面の皮膚治癒の過程での表面 pH については, あくまで創傷面の pH 測定が重要であ

ることが強調されている。水滴を介した測定となる湿式手法では創傷面だけでなく、水滴が創傷面から浸透する事が問題になる場合が想定され、組織の pH を測定してしまう恐れがあると考えられた。

医療，看護，生体測定と多くの分野で皮膚 pH 測定が行われており，皮膚状態を把握するため，皮膚 pH を含む複数の皮膚機能を計測可能な皮膚機能計測装置の開発が求められている。

第2章 研究目的

皮膚表面の pH は、生体保護のために弱酸性に保たれており、皮膚 pH を知ることは皮膚の健康状態を知る指標として重要である。しかし、従来からのガラス電極は、内部に電解液を有し、測定の際に水滴を介して皮膚に接触させる必要があるため、複数の皮膚機能を測定する場合、皮膚水分量など他の皮膚機能計測に影響を与えてしまう問題がある。

そこで、埼玉工業大学 矢嶋教授が開発した小型/軽量の乾式 pH センサ(乾式 pH センサ)を導入した。乾式 pH センサは、白金線と銀/塩化銀電極に成膜処理が施されており、ガラス電極の様な内部電解液を必要としない薄膜上での化学反応により、電圧測定のみで pH が測定可能な小型センサである。この新しいセンサを用いて、他の皮膚機能計測に影響を与えない手法として、水滴を介在させない乾式手法を検討する。皮膚表面の天然保湿因子などにより構成された皮膚 pH を、水滴を介在させずに乾式 pH センサで直接測定する手法を検証する。

本研究では、皮膚機能計測装置の開発として、乾式 pH センサを用いた新しい乾式手法により、皮膚 pH を測定する手法を確立し、皮膚 pH 計測システムの構築を目的とする。

具体的には、以下を行うこととした。

(a) 皮膚 pH 計測システムの構築

乾式 pH センサによる皮膚 pH 測定において、センサ電圧を正確かつ定量的に計測するため PC を用いた皮膚 pH 計測システムを構築する。乾式 pH センサを用いたプローブの製作、測定に関する手法を開発する。

(b) 皮膚 pH 計測評価パラメータと皮膚水分量 及び 皮膚水分蒸散との関係の検討

乾式 pH センサによる乾式手法では、皮膚水分量、測定中の皮膚水分蒸散が影響する事が予測される。皮膚 pH 計測と皮膚水分量、皮膚水分蒸散の影響がどのように乾式 pH センサ測定値に影響を及ぼすかについて、その関連性を明らかにし補正する。

(c) 乾式 pH センサの pH-電圧特性の確認と乾式測定手法の検証

乾式 pH センサ pH-電圧特性を把握するための実験手法、実際の皮膚測定時に必要な手順、測定方法、及び評価方法について実験的な検討を行う。最終的に、乾式 pH センサと従来手法による皮膚 pH 測定実験を行い、乾式 pH センサを用いた皮膚 pH 測定結果が、従来と同様に皮膚 pH を測定しうるかについて検証する。

第3章 pHについて

3.1 pH の定義と測定

pH(ピーエッチ)は、水素イオン指数であり、水溶液中に含まれる水素イオン(H^+)のモル濃度の単位を除いた数値($[H^+]$)の逆数の対数で表現される(式 3.1) ³⁴⁾.

$$pH = -\log_{10}[H^+] \quad (3.1)$$

各国の工業規格等で用いられている pH の定義は操作的定義である。操作定義とは、pH の定義を物理化学的に正確に決定することが困難な為、規定された実験操作の手順に則り、標準溶液に対し試料溶液を測定し試料 pH を決定する、いわば手法による基準の定義である。

この水素イオン(H^+)は、水が電離した状態と、水溶液中の水素イオンが水分子と結合した状態と、当量関係が同じである。そのため、水素イオンと水分子が結合(配位結合)して生成した化学種ヒドロニウムイオン(H_3O^+)を水素イオンと呼び、 H^+ と表記するのが通例である。

pH の測定は、水溶液中の水素イオンの量を測定することであり、水素イオンの濃度は、電極反応により測定される。電極反応によって、水素イオンの濃度を測るには、解離している水素イオンにだけ応答し、他の物質や解離していない水素に対しては応答しないような電極が必要となる。

このように、特定のイオンに対して応答する電極をイオン選択性電極(Ion-Selective Electrode)及び、イオン電極、又はイオンセンサと呼ばれる。また、イオン選択性電極電位の測定基準となる電極を参照電極と呼び、イオン選択性電極のような作用電極と合わせて測定系が構成される。今日では、参照電極と作用電極を1つの電極パッケージに収めた複合電極が一般的に用いられている。

3.2 参照電極

イオン測定に用いられる電極として基礎的となる電極は、水素電極(Normal Hydrogen Electrode)であり、この電極電位が測定基準 (0 mV) とされている ³⁴⁾。水素電極は、気体水素と溶液中の水素イオンとを接触させて、気液間の酸化還元反応を円滑に行わせるようにした電極である。水素電極は、白金の薄板または、白金線で表面を微細な白金粒子(白金黒)でめっきした電極であり、水素を飽和した溶液に入れると、表面で次の平衡状態の化学反応が起こる(式 3.2)。



電極表面の白金黒は、化学反応が起こる表面積を大きくすると同時に、触媒として働き反応を促進する役割を果たしている。気体の水素分圧を一定に保てば、溶液中の水素イオンのモル濃度(厳密には活量)に応じて、反応式の平衡が移動し、それに伴って白金の電位が変化する。この水素電極は、電位が変化する作用電極に対する電位差測定の基準となる為、標準電極と呼ばれる。水素電極では、電極に対して気体の水素を接触させる必要があるため一般的な測定に用いることは不便である。そこで、一般には、

この水素電極との電位差があらかじめ測定されている銀-塩化銀電極などが基準電極(または比較電極)として用いられ, 参照電極と呼ばれている.

銀-塩化銀電極は, 銀線の表面を塩化銀で覆ったもので, 電極を一定組成の塩化物溶液に入れる事により, 電極金属と溶液との間の電位が一定になる. 銀-塩化銀電極の表面では, 次の化学反応が起こる式(3.3, 3.4).



このような参照電極をイオン選択性電極のような作用電極と組み合わせ, 電極間の電位差を測定することにより溶液中のイオン濃度を推定する.

3.3 イオン選択性電極

イオン選択性電極は, イオンセンサとも呼ばれ特定イオンにのみ応答する電極である. イオン選択性電極の測定系を Fig.3.1 に示す. イオン選択性電極は, イオン感応膜(イオン選択性膜)と, 内部参照電極, 内部基準液によって構成されている³⁵⁾. イオン感応膜は, 特定のイオンを選択的に透過, 分配あるいは吸着し, 膜によって隔てられた溶液のイオン濃度の違いに従って, 膜電位が変動する. 膜電位は, 感応膜と試料溶液の界面で生じる電荷分離に伴う界面電位差(分極)である. イオンセンサは, 感応膜に含まれるイオノフォア(目的イオンを選択的に捕捉し, 膜内を輸送する担体)の性質がイオンの選択性や感度に大きく関係するセンサである³⁶⁾.

pH 測定には, 一般的にガラス膜方式のイオン選択性電極が用いられている. ガラス膜は, ケイ酸を主成分としてアルミナや酸化ナトリウムなどを含む. この膜が, 水素イオンに対して選択的に応答するイオンセンサであり, 水素イオン濃度(pH)はイオン選択性電極と外部参照電極との電位差から推定される.

Fig.3.1 において, イオン選択性電極のイオン感応膜を挟んで溶液の濃度が a_1 , a_2 である時, 発生する膜電位はネルンスト応答の式(3.5)により表される.

$$E = \pm \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_2}{a_1} \quad (3.5)$$

R : 気体定数($8.313 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$)

T : 絶対温度 K

n : 移動する電子数

F : ファラデー(96500 C mol^{-1})

n 価のイオンの活量 a_1, a_2 の溶液

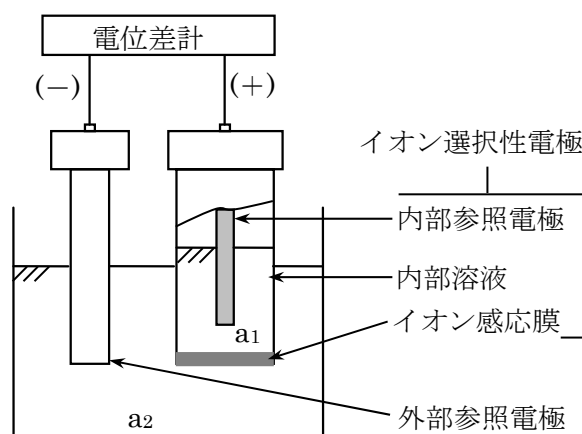


Fig.3.1 イオン選択性電極の測定系

3.4 既製の皮膚機能測定装置

皮膚 pH 測定に用いた既製の pH 測定装置および皮膚機能測定装置を示す。

3.4.1 Skin-pH-meter PH900 (C+K 製)

本研究の皮膚 pH 測定で、平面ガラス電極による皮膚 pH 専用測定装置として C+K 製の Skin-pH-meter PH900 を用いた(Fig.3.2). pH 測定は、一度の操作により 5 回連続で測定することが可能である。この装置は、他に静電容量によって皮膚表面の水分量を測定する Corneometer CM825、皮脂量を測定する Sebumeter SM810 と一体型であり、各装置は排他的に測定可能である。

〔測定原理〕

ガラス電極法に基づいて pH を測定する。センサ部はイオン感応膜（水素イオン濃度に応じた膜電位が生じるガラス膜）と液絡部(参照電極に相当)により構成された複合電極である。水素イオン濃度に応じてガラス膜の両側の溶液に電位差が生じる。生じた電位差から水素イオン濃度(pH)を測定する。

〔装置仕様〕

(a) 本体

電源 : 110 V (220 V 可), 50/60 Hz, 2 VA

外寸 : 75(H)×260(W)×235(D) mm

重量 : 2 kgf

(b) pH 測定プローブ

測定方式 : ガラス電極法

測定時間 : 3 s

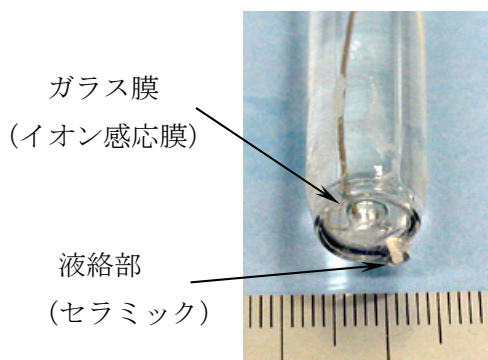
測定領域 : pH 0 ~ pH 12

測定精度 : \pm pH 0.1

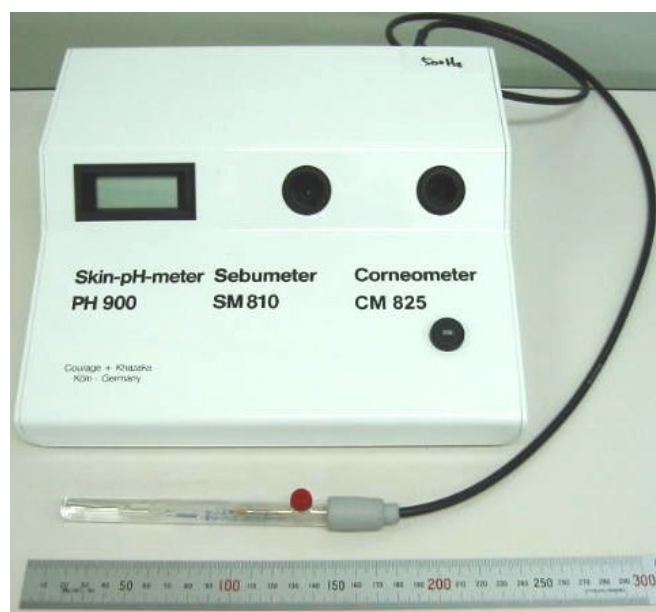
液絡部 : セラミック

(c) 校正(キャリブレーション)

pH 標準液(pH4 と pH7)による 2 点校正



(a)センサ電極部



(b)装置外観

Fig.3.2 Skin-pH meter PH900

3.4.2 Corneometer CM825 (C+K 製)

3.4.1 の PH900 の本体に水分量測定用プローブ(Fig.3.3)を接続することで、水分量を測定することが可能である。

【測定原理】

皮膚水分量を測定する皮膚水分量計(Corneometer CM825)は、水の比誘電率(81)とその他の物質(<7)の比誘電率が著しく異なることを用いて、皮膚水分量の違いにより誘電率が変化することを計測する静電容量法を基礎としている。くし型電極を有するセンサ部により静電容量を任意単位[a.u.]により角層水分量を計測する。

【装置仕様】

Fig.3.3 に皮膚水分量測定に用いる測定プローブ、また仕様を以下に示す。なお、本体は PH900 と同じ測定装置であり、専用ソフトにより PC と接続し測定値を記録することが可能である。



Fig.3.3 水分量測定プローブ

・ Corneometer CM825

測定方式	: 静電容量法
測定面積	: 49 mm ²
押しつけ力	: 3.56 N
測定単位	: a.u.(任意単位)

3.4.3 Sebumeter SM810 (C+K 製)

3.4.1 の PH900 の本体に油分測定用カートリッジを用いて、皮膚油分量を測定可能である。

【測定原理】

プローブ先端には、半透明の特殊プラスチックテープとミラーが配置されている。皮膚に当てるとテープに皮脂が吸着され、テープの透過度が高くなることにより、皮脂量の測定が可能となる。使用前にキャリブレーションを実施する必要がある。

【装置仕様】

Fig.3.4 に皮膚油分測定に用いる測定プローブ先端部、また仕様を以下に示す。

・ Sebumeter SM810

測定方式	: テープ透過光量検出
測定面積	: 64 mm ²
圧力	: 10 N
時間	: 30 s
測定単位	: μ g/cm ²

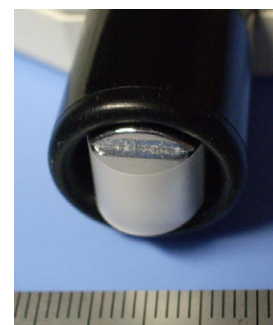


Fig.3.4 皮膚油分測定プローブ

3.5 pH 標準液

実験装置の校正に用いた pH 標準液は、すでに pH が調整された緩衝溶液で、25℃、標準状態を基準として一定の pH 値を示す校正(キャリブレーション)用の溶液である。前述の通り、pH は操作定義であるため測定を行う日には、その度に校正を行う必要がある。これまで示した既製の pH 測定装置についても、実験日には開始前に必ず pH 標準液による校正を実施した。

Fig.3.5 に pH 測定装置及び、次章で詳しく述べる乾式 pH センサの pH-電圧特性の確認に使用した市販の pH 標準液と仕様を示す。



Fig.3.5 pH 標準溶液

[薬品仕様]

- ・ pH 1.68 : 四しゅう酸カリウム (1.27%) : $\text{KH}_3(\text{C}_2\text{H}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (東亜ディーケーケー製)
- ・ pH 4.01 : フタル酸水素カリウム (1%) : $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ (HORIBA 製)
- ・ pH 6.86 : フタル酸水素カリウム (1.02%) : $\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4$ (メトラートレド製)
- ・ pH 9.18 : 2 ナトリウム 4 ホウ酸塩 10 水和物 (0.38%) : $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ (メトラートレド製)
- ・ pH10.02 : 炭酸水素ナトリウム(0.21%)
炭酸ナトリウム(0.26%) : $\text{NaHCO}_3 \cdot \text{Na}_2\text{CO}_3$ (東亜ディーケーケー製)

第4章 乾式 pH センサ

4.1 乾式 pH センサの原理と構造

開発された固体線状の乾式 pH 測定センサ（「乾式 pH センサ」と略す）は，白金線と銀/塩化銀線により構成されている^{37,38)}．乾式 pH センサは，参照電極である銀/塩化銀線に対し，作用電極上の白金線上にネルンスト応答の式(3.5)に従い pH 値に応じた電位差が発生する．電位差は直流の mV 単位である為，測定には高感度直流電圧電流計を用いる．従来のガラス電極法による電極では，環境変化時の皮膚 pH を連続測定することはガラス電極の構造上難しく，また取り扱いが不便である．開発された乾式 pH センサは，内部液の働きを電極に被覆した膜によって実現しているため小型で軽量化が可能である．

乾式 pH センサ(Fig.4.1)は，白金線 (Pt) と銀/塩化銀線 (Ag/AgCl) の電極により構成されている．皮膚に接触するセンサ部分は $\phi 0.5 \times$ 約 10 mm の線状形状で，厚さ 2 mm，縦横約 20 mm 四方の亚克力板上に両端が固定されている(Fig.4.2)．

Fig.4.3 にセンサ作成時の乾式 pH センサの pH-電圧初期特性を示す．

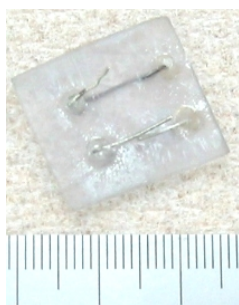
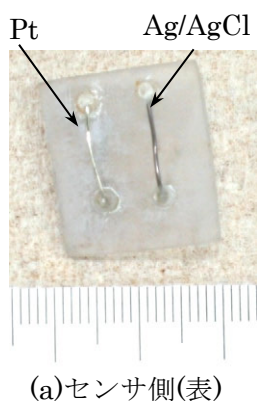


Fig.4.1 乾式 pH センサ

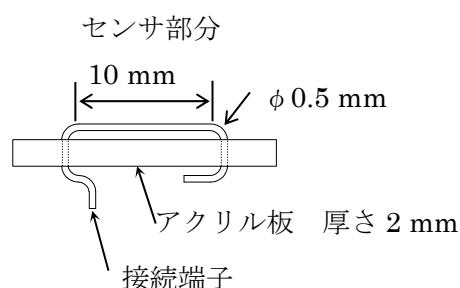


Fig.4.2 乾式 pH センサ構造(側面図)

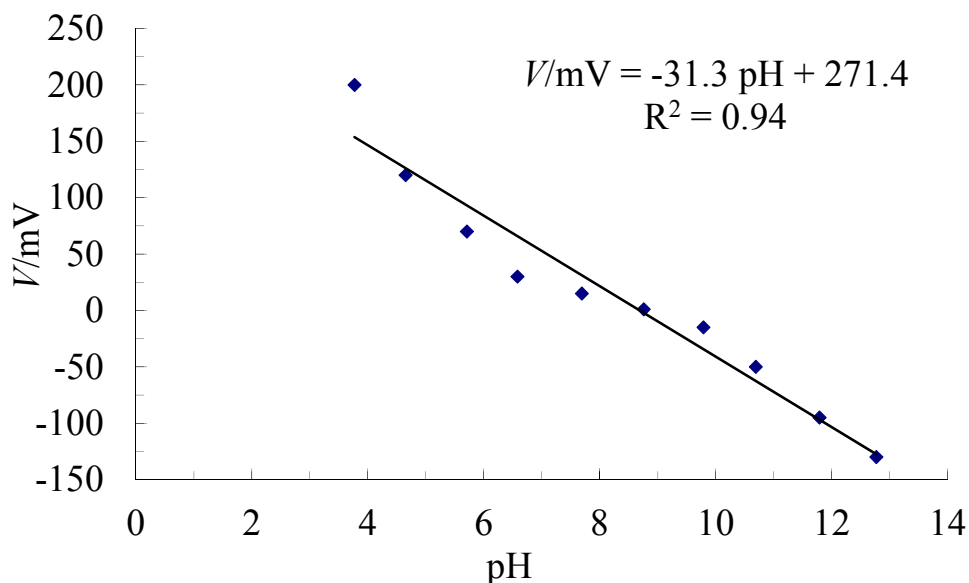


Fig.4.3 乾式 pH センサ pH-電圧特性

Fig.4.4, 4.5 にセンサ電極上での化学反応と被覆膜の構造を示す。

被覆されている膜を以下に示す。

(a) 白金線(Pt)[作用電極] : *p*-キシレンプラズマ重合膜(*p*-XY)

(b) 銀/塩化銀線(Ag/AgCl)[参照電極] : ナフィオン膜(Naf) + 塩化カリウム(KCl)が含浸
各々の機能膜の上から固定化膜として TPX (ポリメチルペンテン) が被覆されている。

電極材料は、白金線と電解法によって表面に塩化銀膜を作成した銀/塩化銀線である。白金電極には、ネルンスト応答に基づく反応に関する水素イオンのみを透過させる膜が、銀/塩化銀電極では参照電極として機能する膜が被覆されている。

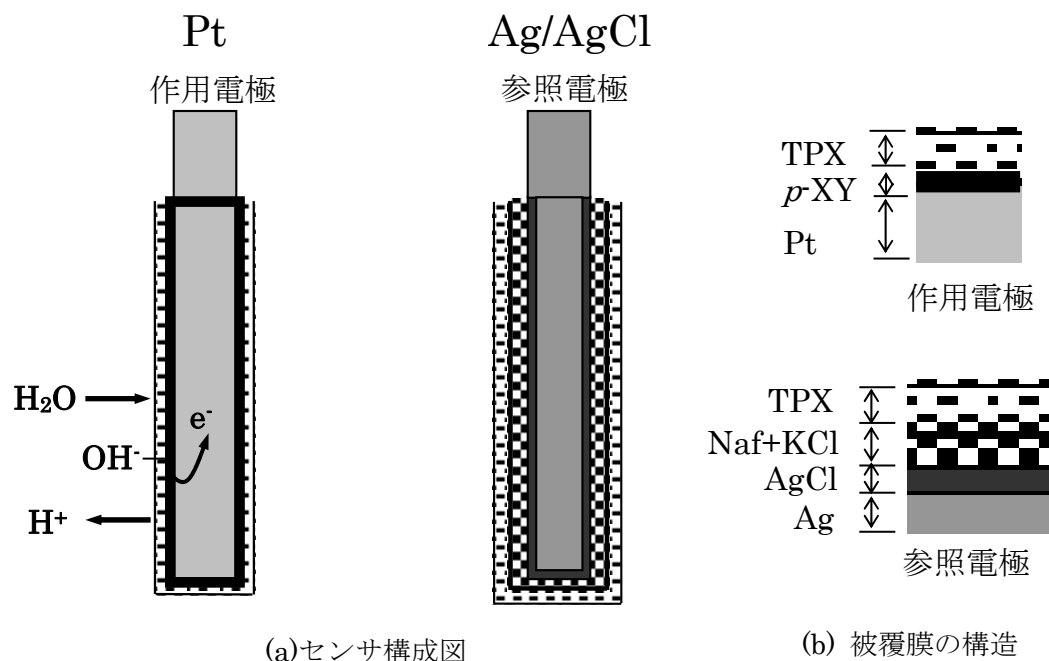


Fig. 4.4 電極の構成と被覆膜

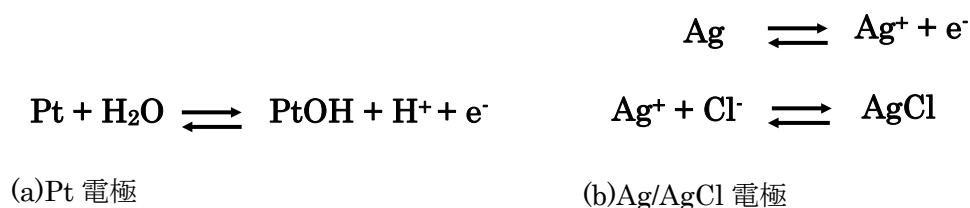


Fig. 4.5 電極上での化学反応式^{39, 40)}

・ネルンスト応答の式³⁸⁾

$$E = E_0 + 2.303 \frac{RT}{F} \log \frac{[\text{PtOH}][\text{H}^+]}{[\text{Pt}][\text{H}_2\text{O}]} \quad (4.1)$$

$$E = E_0' - 2.303 \left(\frac{RT}{F} \right) pH \quad (4.2)$$

R : 気体定数, F : ファラデー定数 (96493.1 クーロン), T : 絶対温度 K

E_0 : 標準酸化還元電位, E : 酸化還元電位

センサの白金線(Pt)では, pH の変化に応じて表面に厚さ 1~10 nm の酸化膜が形成される. この反応は, Fig4.5 に示す反応式に従って起こり, 参照電極に対してネルンスト応答に基づく電位差が発生する事により pH の測定が可能なセンサである. 白金は, その材料特性として他の物質を吸着しやすい性質を持っている. 電極が未被覆の状態では, 塩化物イオンやビタミン, 尿素, アスコルビン酸などが白金線の上に付着し還元反応を引き起こす為, ネルンスト応答に基づく酸化膜の形成が阻害される. 従って, 白金線には, これら夾雑物の白金への付着や吸着を防ぎつつ, 水素イオンだけを選択的に透過させることのできる *p*-キシレンプラズマ重合膜, さらにこの機能膜の保護及び固定のために, ポリメチルペンテン(TPX)膜が被覆されている.

銀/塩化銀線(Ag/AgCl)は, 参照電極である. 一般的な参照電極の構造は, 銀線に塩化銀を被覆し, 塩化物イオンを含む水溶液に封入した電極であり, 外部とは液絡部で電氣的に接続されている. このセンサの銀/塩化銀線は, 一般的に市販されている銀/塩化銀線による参照電極と同じ原理に則っている. 銀線の表面に電解法によって塩化銀膜を形成後, ナフィオン膜(Naf)を被覆し, 膜内に塩化カリウム(KCl)を含浸した構造となっている. この構造により, 一般的な銀/塩化銀電極の内部電解液と同じ役割を果たしている. この機能膜の上から保護及び膜固定の為に, TPX 膜が被覆されている.

白金線, 銀/塩化銀線どちらの電極にも TPX 膜が被覆されているのは, 被覆した膜に膜電位が生じる場合についても, 作用極および参照極の双方に同様に被覆してあれば膜電位を消去することが可能なためである.

[被覆膜について]

(a) *p*-キシレンプラズマ重合膜 (パラ-キシレン(*p*-XY))

白金線に対して, 13.56 MHz のラジオ波を用いた誘導結合法により *p*-キシレンプラズマを発生させ, 白金表面に *p*-キシレンプラズマ重合膜を製膜した. プラズマの処理条件は, RF 出力 40 W, *p*-キシレン流速 1.2 mmol/min, 処理時間 3 分である. *p*-キシレンプラズマ重合膜は, H⁺イオンと OH⁻イオン, H₂O を選択的に透過させる働きをしており, この働きにより, 他のイオンが白金表面上に吸着しネルンスト応答を妨害することを防ぐ役割を果たしている.

(b) 塩化銀膜 (AgCl)

銀線に対して, 電解法により電流密度 0.4 mAcm⁻¹, 処理時間 30 分で処理し, 銀線表面に塩化銀膜を被覆する. 一般的な標準電極である銀/塩化銀線作製の前段階としての処理である.

(c) ペルフルオロスルホン酸ポリマー膜 (ナフィオン膜(Naf))

銀/塩化銀線に被覆されているナフィオン膜には, 標準電極で用いられている塩化カリウム(KCl)が含まれている. 銀/塩化銀線に塩化カリウムが含まれた膜が被覆された銀/塩化銀電極は参照電極として機能する.

(d) ポリメチルペンテン膜 (TPX)

ポリメチルペンテン膜は, 白金線(Pt)及び銀/塩化銀(Ag/AgCl)の機能膜の保護及び固定の目的で被覆されている. ポリメチルペンテンは, 食品・医療用ラップフィルム, 血液バッグ, 医療用シリンジ, 電子レンジ用食器など幅広い用途に用いられている透明な樹脂である.

4.2 測定方法

乾式 pH センサは、標準水素電極に対する電位が明らかな水系比較電極(銀/塩化銀)を用いた電位差計の零点調整の後に、以下の測定方法に従って測定を行う。

4.2.1 水系比較電極 (RE-1B) (ビー・エー・エス製)

Fig.4.6 に水系比較電極(参照電極)を示す。この比較電極は、銀/塩化銀(Ag/AgCl)の電極と、内部液の飽和塩化ナトリウム(NaCl)水溶液によって構成されている。この電極 2 本を、乾式 pH センサ測定の直流電圧計の零点調整に用いる。

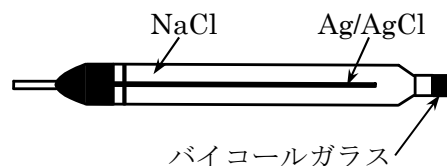


Fig.4.6 比較電極(RE-1B)

4.2.2 直流電圧計の零点調整

- (a) 直流電圧計(PM-18U)の電源を ON にする。
- (b) 電流電圧切替つまみを VOLT にし、RANGE を 300 mV に設定する。
- (c) 直流電圧計の測定プローブの赤(正極)、白(負極)と黒(シールド)、の両端子に水系比較電極(RE-1B)をそれぞれ接続する。
- (d) 市販の水酸化ナトリウム水溶液 0.01 mol/L (NaOH 0.01[N]) に上記 2 本の標準電極を同時に浸す。
- (e) 直流電圧計の指示を零点調整つまみで 0 mV に設定する。
- (f) 零点調整終了。

4.2.3 乾式 pH センサ測定方法

- (a) 電位差計の赤(正極)端子をセンサの Pt 線に接続する。白(負極)と黒(シールド)をセンサの Ag/AgCl 線に接続する。
- (b) センサの先端をイオン交換水で洗浄する。洗浄後、キムワイプ等で水分を拭き取る。
- (c) センサを測定対象にあてて読みが安定したら、その数値[mV]を記録する。この数値が参照電極(Ag/AgCl)に対する作用電極(Pt)の電位となる。
- (d) 測定された電位を用いて、pH-電圧特性式から pH を求める。

4.3 センサ特性確認実験

乾式 pH センサを開発した研究室では、2 種類の溶液による滴定手法によりセンサの pH-電圧特性の確認が行われた。滴定手法は、水酸化ナトリウム溶液(母液)に硫酸溶液(pH 調整液)を徐々に加えて、pH 値を酸性側へ変化させて、白金線の pH-電圧特性の測定を行う手法である。化学実験の分野では一般的な手法であり、pH 値を徐々に変化させるため細かな pH 値を設定可能で pH-電圧特性を詳細に知ることが出来る点が優れている。一方、既製の pH メータ等では、pH 標準液を用いた 2 点もしくは 3 点の校正手法が採用されている。

4.3.1 目的

滴定手法と pH 標準液を用いた手法により、乾式 pH センサの pH-電圧特性の測定を行い、水酸化ナトリウムに硫酸を加える滴定手法と、pH 標準液による手法による pH-電圧特性との比較を行い、pH 標準液による手法によって、滴定手法と同様の pH-電圧特性が得られるか確認する事を目的とする。

4.3.2 装置と方法

[a] 実験装置

- (i) 乾式 pH センサ
- (ii) 直流電圧計 PM-18U (TOA 製)
- (iii) pH メータ D-23 (HORIBA 製)
- (iv) 薬品：水酸化ナトリウム 0.01[N] (0.01mol/L), 硫酸 1[N] (0.5mol/L)
- (v) スターラー (攪拌装置) SR-50 (ADVANTEC 製)
- (vi) pH 標準液：pH1.68, 4.01, 6.86, 9.18, 10.02 (5 種類)

[b] 実験方法

恒温恒湿室内(23℃, 30%Rh)で、測定前に 4.3 の方法により零点調整を行った。

- (i) 滴定手法は、0.01 mol/L の水酸化ナトリウムに 0.5 mol/L の硫酸をごく少量ずつ滴定して pH 値を変化させ、その時点での溶液 pH を pH メータで測定した後、センサの出力電圧をその時点での溶液 pH に対するセンサ出力として直流電圧計で測定した。溶液は、スターラーを用いて攪拌しながら測定を行った。
- (ii) pH 標準液による手法では、5 種類の各 pH 標準液について、センサを浸けた状態で、5 分間 15 秒間隔で 21 回、pH センサ出力電圧を直流電圧計によって測定した。また、各標準液の pH 値を確認するために pH メータにより各標準液の pH 値の測定も行った。各 pH 標準液についての測定値は、5 分間の電圧平均値とした。

4.3.3 結果と考察

Fig.4.7 に滴定手法と、pH 標準液による手法にて測定された pH-電圧特性を示した。

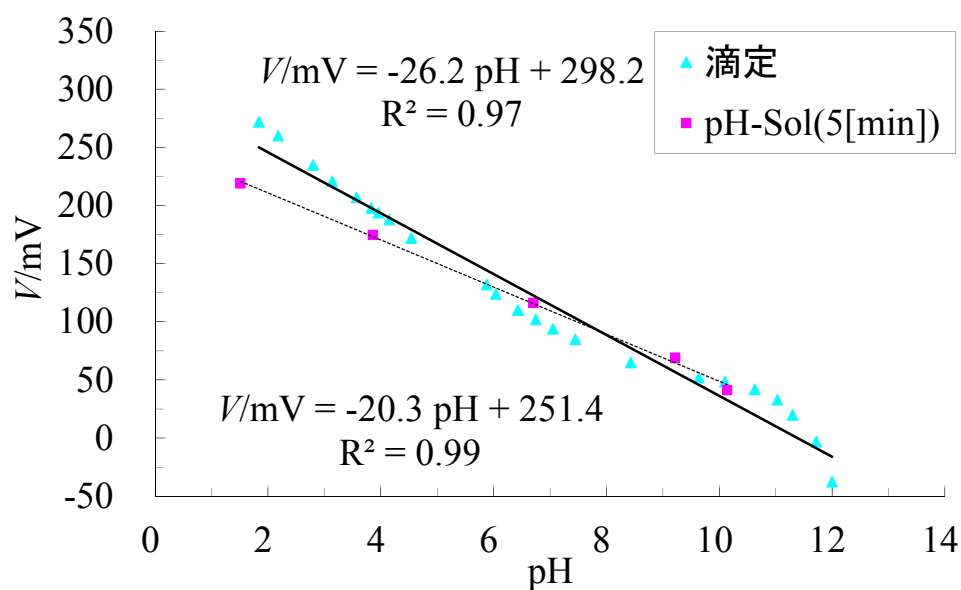


Fig.4.7 乾式 pH センサ pH-電圧特性 (滴定と pH 標準液)

Fig.4.7 より乾式 pH センサは、水酸化ナトリウムと硫酸の滴定手法と、pH 標準液を用いる手法の双方ではほぼ同様な pH-電圧特性が得られた。pH 標準液による pH-電圧特性は、滴定手法による特性より傾き、y 切片の値が小さい結果であり、異なる薬品により規定された事に要因があると考えられる。

乾式 pH センサが pH 標準液を用いた手法によっても、高い線形性を有する pH-電圧特性を発揮する事が確認された。pH-電圧特性の確認に、pH 標準液による手法でも滴定手法同様にセンサの pH-電圧特性を得られた。この結果から、今後は滴定手法より比較的容易な、pH 標準液を用いる手法を特性実験に採用する。

4.4 皮膚 pH 測定実験

4.4.1 目的

乾式 pH センサによる皮膚表面 pH 測定において、水滴を介在させない乾式手法によっても、湿式で測定される皮膚表面 pH の違いを検出できるかを確認する事を目的として、従来からのガラス電極(湿式手法)と乾式 pH センサ(乾式手法)により、実際に皮膚表面 pH を測定し結果を比較した。

4.4.2 装置と方法

[a] 実験装置

- (i) 乾式 pH センサ
- (ii) 直流電圧計 : PM-18U (TOA 製)
- (iii) 皮膚 pH 測定装置 : Skin-pH-meter PH900 (C+K 製)

[b] 実験方法

実験は、恒温恒湿室内(25℃, 30%RH)で行い、実験前に標準 Ag/AgCl 電極と水酸化ナトリウム (0.01 mol/L)水溶液を用いて、零点調整を行い直流電圧計のアナログ値を記録した。被験者は成人男性 3 名(a - c)、測定部位は左前腕部内側とした。被験者には、口頭で実験の目的、手順を説明し同意を得た。

乾式 pH センサと Skin-pH-meter PH900 を用いて皮膚 pH の測定を行う。測定時間はそれぞれ 10 分間とし、乾式 pH センサは 1 分間隔、PH900 では 30 秒間隔で同一部位を測定した。測定毎に乾式 pH センサ、ガラス電極をイオン交換水で洗浄した。PH900 の測定では、総測定回数 105 回から最大値と最小値を除く 103 回の測定結果についての平均値を用いた。乾式 pH センサ測定結果では、総測定回数 11 回から最大値と最小値を除く 9 回の測定結果についての平均値を評価した。

なお、乾式 pH センサの pH-電圧特性式は、皮膚 pH 測定実験直前に測定された次の特性式を用いる。

$$\bullet \text{ 湿式状態での pH-電圧特性式 : } V_{\text{mV}} = -42.4 \text{ pH} + 388.4 \quad (4.3)$$

Fig.4.8 に乾式 pH センサによる皮膚 pH 測定の様子を示す。

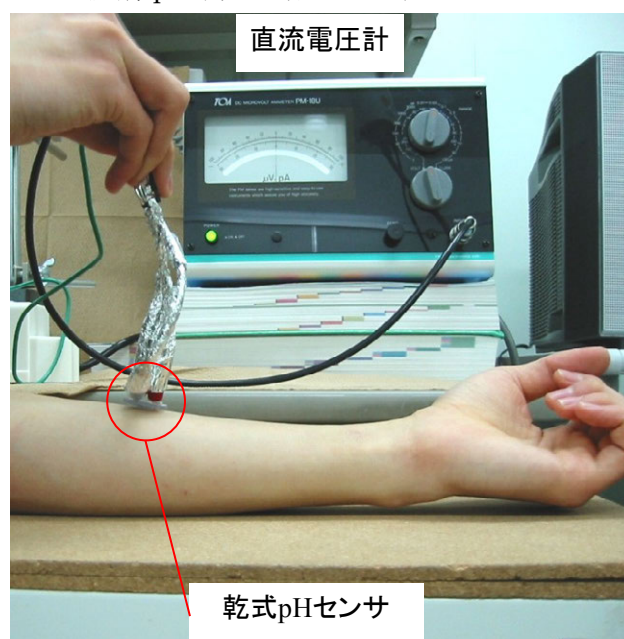


Fig.4.8 皮膚 pH 測定時の様子

4.4.3 結果と考察

Fig.4.9 に乾式 pH センサで測定された測定電圧値，標準偏差をエラーバーに示した。
Table 4.1 に測定値を示す。

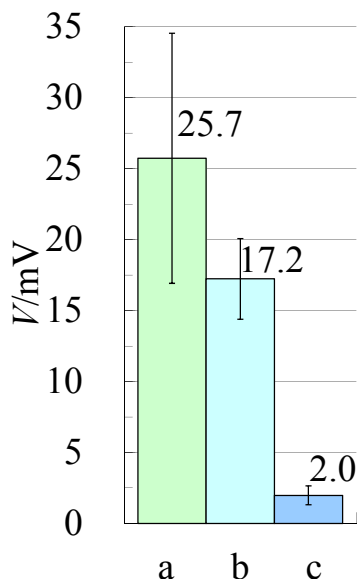


Fig.4.9 乾式 pH センサ測定電圧

Table 4.1 乾式 pH センサ測定電圧

被験者	a	b	c
センサ電圧[mV]	25.7	17.2	2.0
標準偏差	8.81	2.84	0.66

乾式 pH センサについては，湿式状態での pH-電圧特性 式(4.3) が得られているが，皮膚表面を乾式状態で測定するため pH-電圧特性を別に求める必要がある。乾式状態での測定では，作用電極と参照電極共に乾燥状態となり，湿式と比べて接触状態の低下は避けられないが，水素イオンのやり取りがある作用電極より，基準となる参照電極でより影響が大きい事が考えられる。参照電極は，電位差の基準となるため，pH-電圧特性の切片に関わる係数を意味している。そこで，式 (4.3) の乾式状態での切片を求めるため，被験者 b の乾式状態での乾式 pH センサ測定電圧平均値 17.2 mV と，PH900 による湿式の皮膚表面平均 pH 4.2 から，乾式状態での pH-電圧特性として式 (4.4)を求めた。

$$\text{乾式状態での pH-電圧特性式：} V_{\text{mV}} = -42.4 \text{ pH} + 197 \quad (4.4)$$

Fig.4.10 に，乾式 pH センサ(乾式)による皮膚 pH 測定電圧値を式 (4.4)により，皮膚表面 pH 値に変換した結果と，PH900(湿式)による皮膚表面 pH 値のそれぞれ平均値を，エラーバーに標準偏差を示す。

Table 4.1 に測定値を示す。

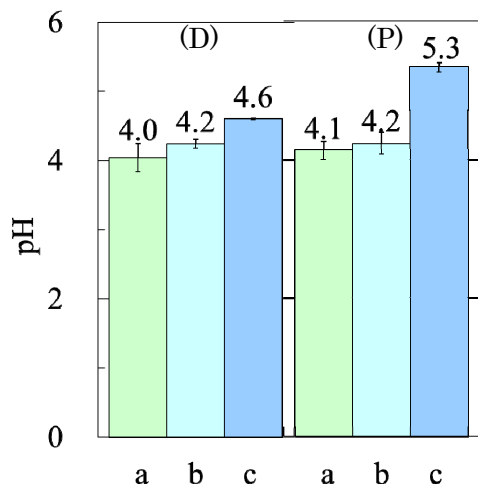


Fig.4.10 皮膚 pH 測定結果

(D) 乾式 pH センサ (P) PH900

Table 4.2 皮膚 pH 測定結果

被験者		a	b	c
乾式pHセンサ	pH	4.0	4.2	4.6
	標準偏差	0.20	0.07	0.02
PH900	pH	4.1	4.2	5.3
	標準偏差	0.13	0.16	0.07

Fig.4.10 の(P) PH900 で測定されている被験者の皮膚 pH の大小関係の違いについて、被験者 b を基準として乾式 pH-電圧特性を導出し、乾式 pH センサによる皮膚 pH 測定平均値が得られた。Fig.4.10 の(D) 乾式 pH センサによる乾式状態の測定によっても、皮膚 pH の大小関係が得られている事が確認された。被験者 b と c の差は、PH900 では 1.1 であったのに対し、乾式 pH センサでは 0.4 に狭まっており、導出した式(4.4)の傾きの成分、作用電極についても乾式手法への校正が必要であることが考えられる。一方で、被験者 b に対する被験者 a, c の関係から大小関係が得られている。pH センサの作用電極上での皮膚表面 pH に関与する水素イオン濃度の違いは、乾式手法であっても検出されていると考えられる。したがって、乾式 pH センサを用いて、水滴を介在しない乾式手法によっても被験者の皮膚 pH の違いを測定しうる可能性が確認された。

Fig.4.9 より、被験者によって測定電圧の標準偏差が大きい場合が見られた。乾式手法により直接皮膚を測定している事から pH 値を測定する際に、皮膚の水分含有量が多い場合に電圧が大きく、少ない場合には電圧が小さくなる等、皮膚水分量の多少が影響している可能性が考えられる。

測定中の乾式 pH センサと電位差計は、ワニ口でセンサと簡易的に接続していたため、測定中の安定性が低かった事も一因と考えられプローブ製作が必要である。また、乾式 pH センサ電圧値は、アナログ目盛りを読み取り記録していた。測定中の水分蒸散の影響を考慮するためにも、経時的な応答を記録可能な計測システムの開発を行った。

4.5 まとめ

- 乾式 pH センサについて，初期特性が確認された滴定手法と pH 標準液を用いた手法により，pH・電圧特性の確認と特性の比較を行った。
 - (a) pH 標準液を使った特性実験によっても，滴定手法による特性実験結果と同様な傾向の pH・電圧特性が得られた。
 - (b) 本研究では，乾式 pH センサ特性実験として，pH 標準液を用いたセンサ pH・電圧特性の確認手法を採用することとした。
- 乾式 pH センサを用いて既製の皮膚 pH 測定装置とともに皮膚 pH 測定を行った。
 - (a) 乾式 pH センサ測定電圧平均値により，被験者の皮膚 pH 値の違いが従来測定手法による測定結果の大小関係と同様に得られた。乾式 pH センサ電圧値により皮膚 pH 測定が可能であると考えられる。
 - (b) 被験者によって測定電圧の標準偏差が大きい場合が見られた。乾式手法により直接皮膚を測定していることから pH 値を測定する際に，皮膚の水分含有量が多い場合に電圧が大きく，少ない場合には電圧が小さくなる等，皮膚水分量の多少が影響している可能性が考えられる。
 - (c) 測定電圧のばらつきの一因として，電圧計付属のプロープとセンサの電気的な接触，またセンサを把持しにくい問題があり，測定電圧のばらつきの原因となっていると考えられる。そこで，把持しやすく，電気的な接続が十分確保されるような，センサプロープの製作を行うこととする。
 - (d) 乾式 pH センサの測定電圧を詳細に解析するため，経時的にセンサ電圧値を記録可能な測定システム構築が必要である。

第5章 皮膚 pH 計測システム

乾式 pH センサを乾式手法により皮膚 pH 測定に用いた場合でも，測定電圧値が皮膚 pH を示す可能性があることが確認された．今後，測定電圧を記録し，測定電圧の傾向について解析を行う必要がある．そこで，測定電圧をより正確かつ定量的に記録する事を目的として皮膚 pH 計測システムの構築を行った．

5.1 システム構成

これまで，乾式 pH センサの電圧応答は電位差計のメータを読み取り，手作業により記録を行ってきた．センサの応答時間，測定電圧の変化等を正確に記録し，より詳細に解析する事を目的として皮膚 pH 計測システムを構築した．乾式 pH センサの測定電圧は，従来と同様に高感度直流電圧電流計(PM-18U)を用いた．これは，センサ出力は化学反応による電極電位のため mV 単位と非常に小さく，正確な測定には内部抵抗が高く，装置内で高精度に増幅し測定可能なためである．経時的に記録するため，ペンレコーダ用出力 ± 25 mV (指示フルスケール) をアンプで増幅した後に A/D 変換，パーソナルコンピュータ(PC)と計測プログラムにより記録するシステム構成とした．

システムの要求仕様を以下に示す．

- (a) 乾式 pH センサ：出力電圧 mV 単位を計測可能であること，センサは pH に応じた直流電圧を発生する一種の電池であるため，出力電圧の測定及び増幅に高い入力抵抗を持つ測定装置が必要
 - (b) センサ電圧の経時的測定/記録が可能 (サンプリング周波数: 10 Hz)
 - (c) ファイル出力(csv 形式)
 - (d) 測定日時の自動記録
 - (e) 測定時間/回数の任意設定が可能
 - (f) 直流電圧計からの記録計出力の増幅回路の製作 (Gain=90)
- 以上をもとに，計測システムの構築及びプログラム作成を行った．

Fig.5.1.1 にシステム構成を示す．直流電圧計と増幅回路(Amp)，A/D ボード，PC により構成し，計測プログラムを作成した．電位差計からの出力は，製作したアンプ回路により約 90 倍に増幅し，入力チャンネルに ± 2.5 V レンジの A/D 変換を用いて PC 上の計測プログラムにより計測する．

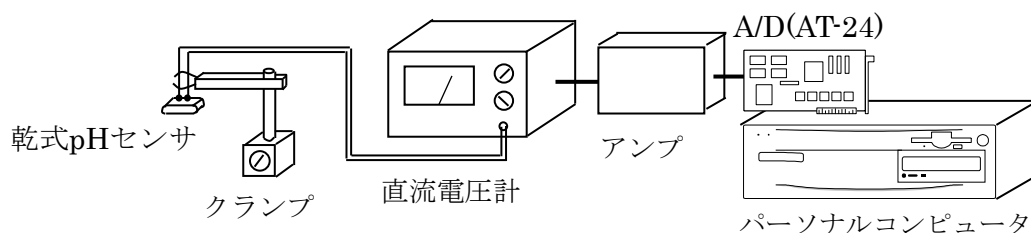


Fig.5.1.1 皮膚 pH 計測システム

Fig.5.1.2 に構築した皮膚 pH 計測システムの概観を示す.

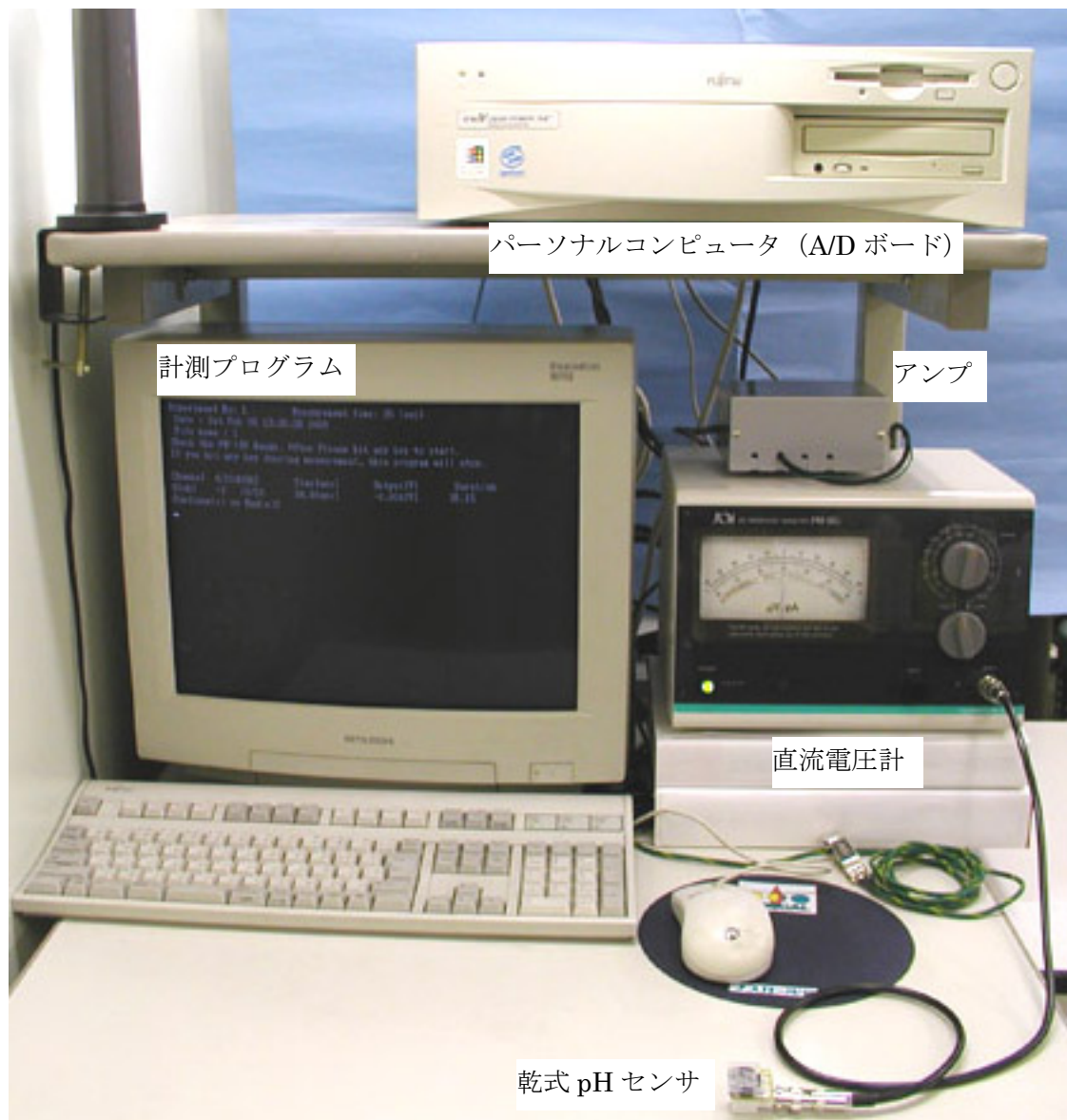


Fig.5.1.2 皮膚 pH 計測システムの概観

5.2 測定機器

5.2.1 高感度直流電圧電流計 PM-18U (TOA 製)

乾式 pH センサの微小直流電圧測定の為、高感度直流電圧電流計を用いた。高感度直流電圧電流計は、本来測定が難しい微小直流電圧/電流を増幅し正確に測定可能な装置である(Fig.5.2.1)。微小直流電圧を増幅することは、微小交流電圧を増幅することと比べ安定性に劣る。そこで、安定に微小直流電圧を増幅するために、信号直流電圧を直交変換器によって交流に変換した後、交流増幅器によって増幅、整流して直流出力信号を得ている。この直流電圧計の増幅方式は、交流変換型直流増幅器と呼ばれ極めて安定な増幅が可能であり、微小電圧の高精度測定が可能である。

以下に、高感度直流電圧電流計の仕様を示した。



Fig. 5.2.1 高感度直流電圧電流計 PM-18U (TOA 製)

[装置仕様]

DC MICROVOLT AMMETER PM-18U (TOA 製)

(a) 本体

電源 : 100 V, 50/60 Hz, 約 3.5 VA

外寸 : 約 280(W)×190(H)×220(D) mm

重量 : 約 4.7 kgf

(b) 直流電圧計の仕様

測定電圧範囲 : 0～±30, 100, 300 μ V , 0～±1, 3, 10, 30, 100, 300 mV

0～±1, 3, 10, 30, 100 V , 計 14 レンジ

測定精度 : 定格値の±2%(ただし 30 μ V レンジ±3%)

入力抵抗 : 全レンジにおいて 10 M Ω

記録計接続端子 : ±25 mV (指示フルスケールと同期)

5.2.2 A/D 変換ボード

PC への電圧計記録用端子からの電圧記録に、A/D 変換ボード TETRA AT-24 を用いた(Fig.5.2.2). AT-24 は、PC/AT 互換機の ISA バスに接続可能な 12[bit], 8[CH]の A/D コンバータインフェースボードである.

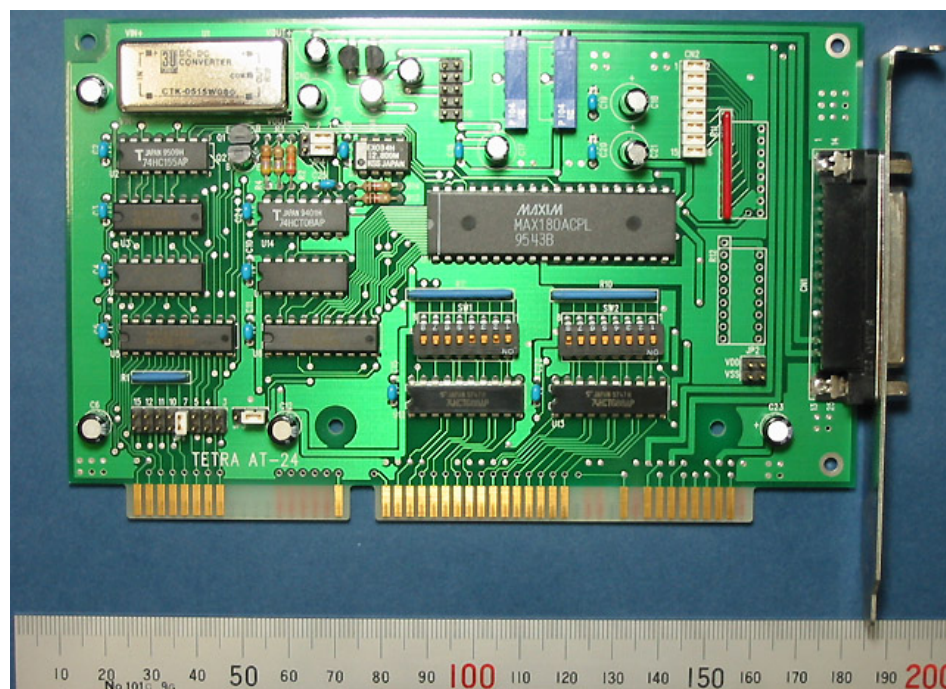


Fig.5.2.2 A/D 変換ボード TETRA AT-24 (JDS 製)

[装置仕様]

(a) コントローラ

ADC : MAX180
 分解能 : 12 [bit] $\pm 1/2$ LSB リニアリティ
 変換モード : 8 [Ch] マルチプレクサ (シングルエンド最大)
 4 [Ch] マルチプレクサ (デファレンシャル最大)
 変換時間 : 10 μ s
 サンプリングアナログ電圧 : ユニポーラ 0 - +5 V
 バイポーラ -2.5 - +2.5 V

(b) データバスサイズ : 16 [bit]

(c) 割り込みアドレス : ジャンパ設定により IRQ 番号を選択

(c) その他特徴

トラック & ホールド回路内蔵
 リファレンス電圧回路内蔵
 変換終了割り込み可
 各チャンネル毎にプログラマブルコントロール
 基準電圧内蔵
 全入力ポートへのプルアップ抵抗, プルダウン抵抗取り付け可

5.2.3 計測プログラム

PC 内の A/D 変換ボード制御と測定実験において、簡便に記録する事を目的として作成した計測プログラムのフローチャートを示す(Fig.5.2.3).

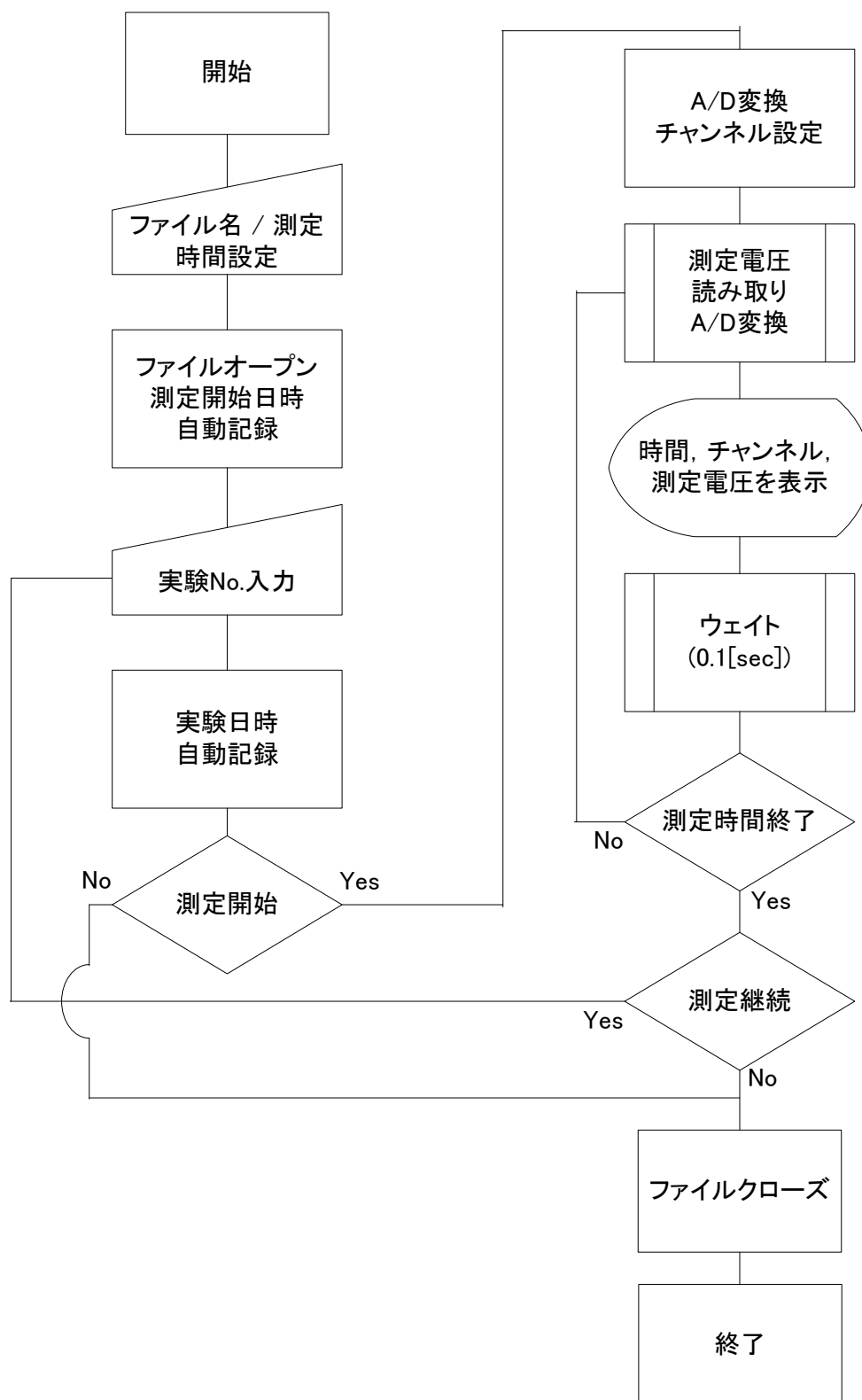


Fig.5.2.3 計測プログラムフローチャート

5.3 ノイズの影響と動作確認実験

5.3.1 目的

乾式 pH センサによる皮膚 pH 測定中，高感度直流電圧計とセンサ接続部の近傍はシールドの上でアースに接続していた．しかし，測定電圧が安定せずにふらつく又は著しく増加するなどの異常が観察された．その原因として，センサの参照電極の基準が十分に接触していないなど，生体側アースとの接続の問題が考えられた．そこで，生体側でアースを接続した場合，接続しない場合の各状態で皮膚 pH 計測を行い，測定電圧の波形を比較した結果から，皮膚 pH 測定時に生体をアースする手法を採用するかどうかを検討する事を目的とした．また，測定実験を通じて皮膚 pH 計測システムの動作確認を行った．

5.3.2 装置と方法

[a] 実験装置

- (i) 乾式 pH センサ
- (ii) 皮膚 pH 計測システム
- (iii) エーカークリップ電極 Fastclip (NIHON KOHDEN 製) (Fig.5.3.1)
手首からアースを接続



Fig.5.3.1 Fastclip (NIHON KOHDEN 製)

[b] 実験方法

実験は，恒温恒湿室内(23℃，30%Rh)で，測定前に 4.2.2 に示した手法により直流電圧計の零点調整を行った．測定手法としては，左腕前腕屈側の中央部付近について乾式 pH センサによる皮膚 pH 測定を測定時間 5 分間とし，測定腕の手首に何も接続しない場合とアースを接続した場合のそれぞれの状態で 5 回の計測を行い測定電圧値の傾向の比較を行った．

5.3.3 結果と考察

Fig.5.3.2 にアースを接続しないで計測した場合の測定電圧値, Fig.5.3.3 にアースを接続して計測した場合の測定電圧値を示す.

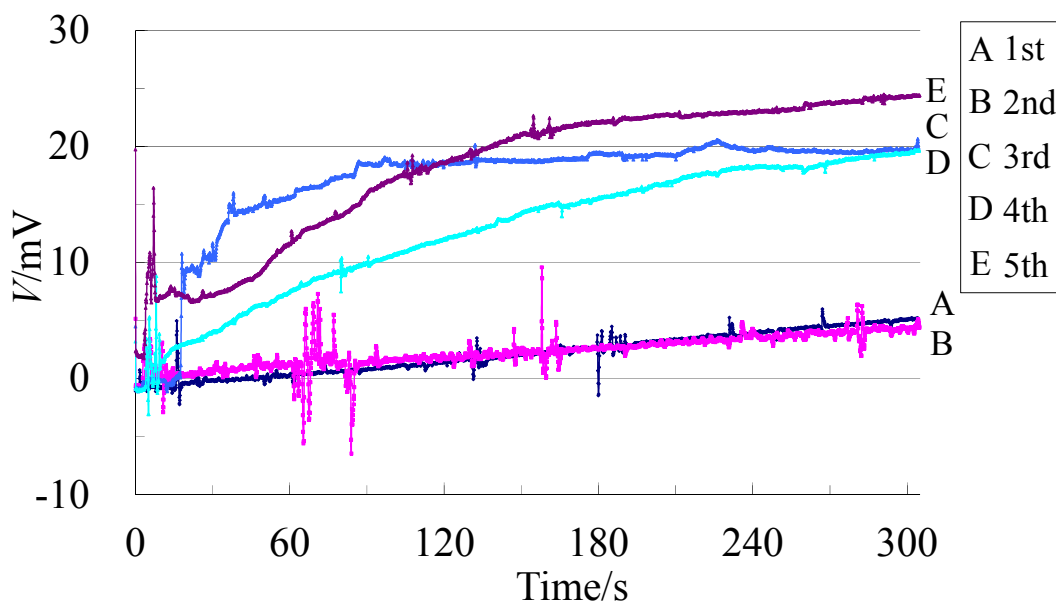


Fig.5.3.2 アース未接続時 (皮膚 pH 測定電圧)

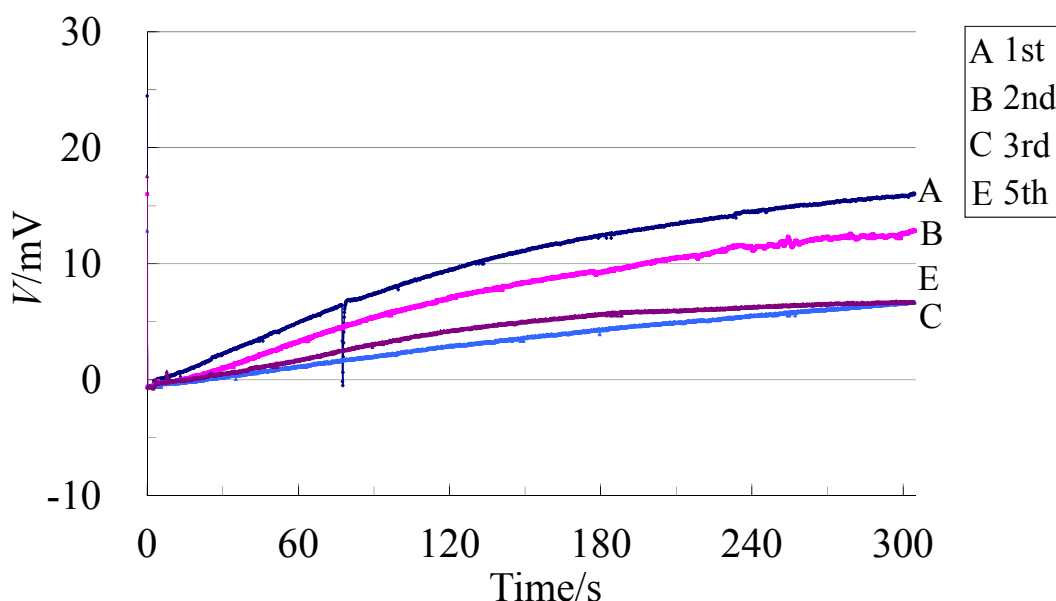


Fig.5.3.3 アース接続時 (皮膚 pH 測定電圧)

Fig.5.3.2 にアース未接続時の, Fig.5.3.3 にアース接続時の測定波形を示す. 被測定者の手首をアースに接続しない場合では, 明らかに測定電圧値に大きな乱れが観察され, 生体がアースされている場合には比較的, 測定電圧の突発的な変動が観察されなかった. この実験からだけでは, どの種類のノイズが乾式 pH センサによる測定で混入するかは特定することは出来ない. ノイズの要因として, AC 電源系からの誘導, 被験者の着衣と体の摩擦で発生した静電気の帯電などが, 微少電圧によって測定するセンサ測定値に混入していたことが考えられる. Fig.5.3.2 と Fig.5.3.3 の比較より, 測定対象腕の手首にアースを接続することで, 繰り返し測定においても同様な傾向を持つセンサ測定電圧が得られたと考え

られる。

Fig.5.3.3 手首からアースに接続した 4 回目の測定 1 例で、測定中の携帯電話の着信に反応して突発的な変動が認められたため、実験結果として採用しなかった。手首にアースを接続した状態であっても、携帯電話の着信及び発信によって発生する電磁波による影響を受けてしまうと推測され、測定中は携帯電話等を離れた所に置くなど、注意が必要であることが分かった。

【 測定システム動作確認 】

測定システム入力側の、直流電圧計の測定精度は各レンジ（主に 30, 100, 300 mV を使用）において定格の $\pm 2\%$ となっている。実験を通じてシステムの動作確認を行った結果、計測精度は Op-Amp 増幅率と A/D 変換の誤差などから、各レンジ 30, 100, 300 mV ごとに約 ± 0.2 , ± 0.6 , ± 1.8 mV となっており、ほぼ直流電圧計の測定精度に近い値が記録されていることが確認された。

測定周期の設定に delay 関数を用いた為、305 秒測定時で約 ± 0.3 秒、35 秒測定時で約 ± 0.2 秒程度の誤差が確認された。測定回数は、それぞれ 3050 回、350 回であり、誤差に対して測定点の数が十分に大きいので、誤差は測定に支障のない範囲であり、計測システムの有効性が確認された。

5.4 センサ測定プローブ

乾式 pH センサによる計測は、電圧計付属のワニロクリップを用いて接続していた。皮膚 pH 測定実験において、センサを皮膚に安定的に接触させる必要がある。これまでの皮膚 pH 測定実験の結果から、皮膚 pH 測定時の測定電圧値のばらつきが観察され、接触状態が一定に保てない事がばらつきに大きな影響を及ぼすと考えられた。そこで、乾式 pH センサと測定装置の接続を容易にすると同時に、皮膚 pH 測定時も容易に把持する事を目的としてセンサ測定プローブの製作を行った。

Fig.5.4.1 に製作したセンサ測定プローブを示す。

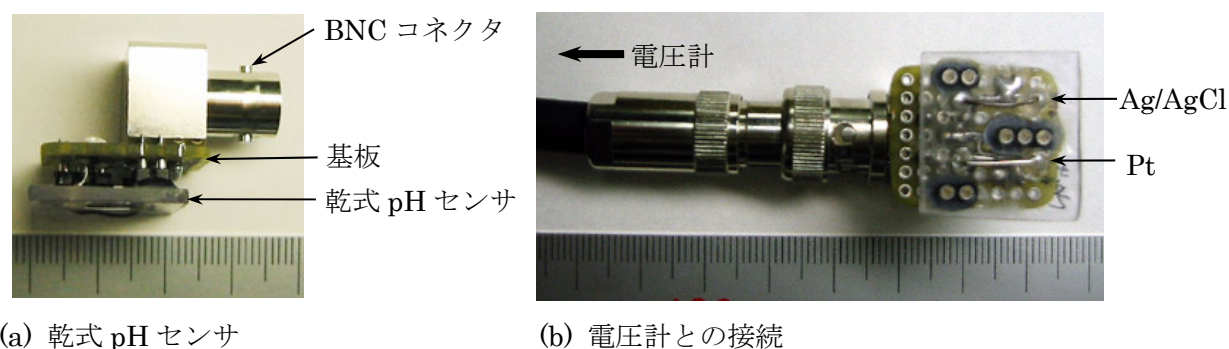


Fig.5.4.1 乾式 pH センサ測定プローブ

乾式 pH センサは、BNC コネクタを配置した基板上にエポキシ樹脂により固定した。乾式 pH センサは、機能膜及び保護膜が被覆されている。センサ薄膜が、はんだ付けによる熱で破損する事を防ぐ目的で、センサ電極と BNC コネクタの配線は銀ペーストを用いた。銀ペーストは、銀を有機溶剤に溶かしペースト状にしたものであり、溶剤の揮発後に残る銀により高い導電性を有し回路基板の接点等に用いられている。

5.5 プローブ接続確認実験

5.5.1 目的

センサの電氣的な接続方法を変更する測定プローブの製作を行った前後において、センサ接続の変更による測定値の変化がないかどうか確認する事を目的として特性実験を行った。

5.5.2 装置と方法

[a] 実験装置

- (i) 乾式 pH センサ
- (ii) 皮膚 pH 計測システム
- (iii) pH メータ D-23 (HORIBA 製)
- (iv) pH 標準液 : pH1.68, 4.01, 6.86, 9.18, 10.02 (5 種類)
- (v) スターラー (攪拌装置) SR-50 (ADVANTEC 製)

[b] 実験方法

恒温恒湿室内(23℃, 30%Rh)にて、測定前に 3.2.2 の手順に従い零点調整を行った。

5 種類の各 pH 標準液について、センサを標準液に浸けた状態で、5 分間、pH センサ出力電圧を皮膚 pH 計測システムにより計測した。また同時に、各標準液の pH 値を確認するため pH メータにより各標準液の pH 値の測定を行った。乾式 pH センサ測定電圧値は、90-120 秒間の平均電圧値とし、pH メータによる標準液の pH 値は平均を用いた。

Fig.5.5.1 に pH-電圧特性実験の様子を示す。

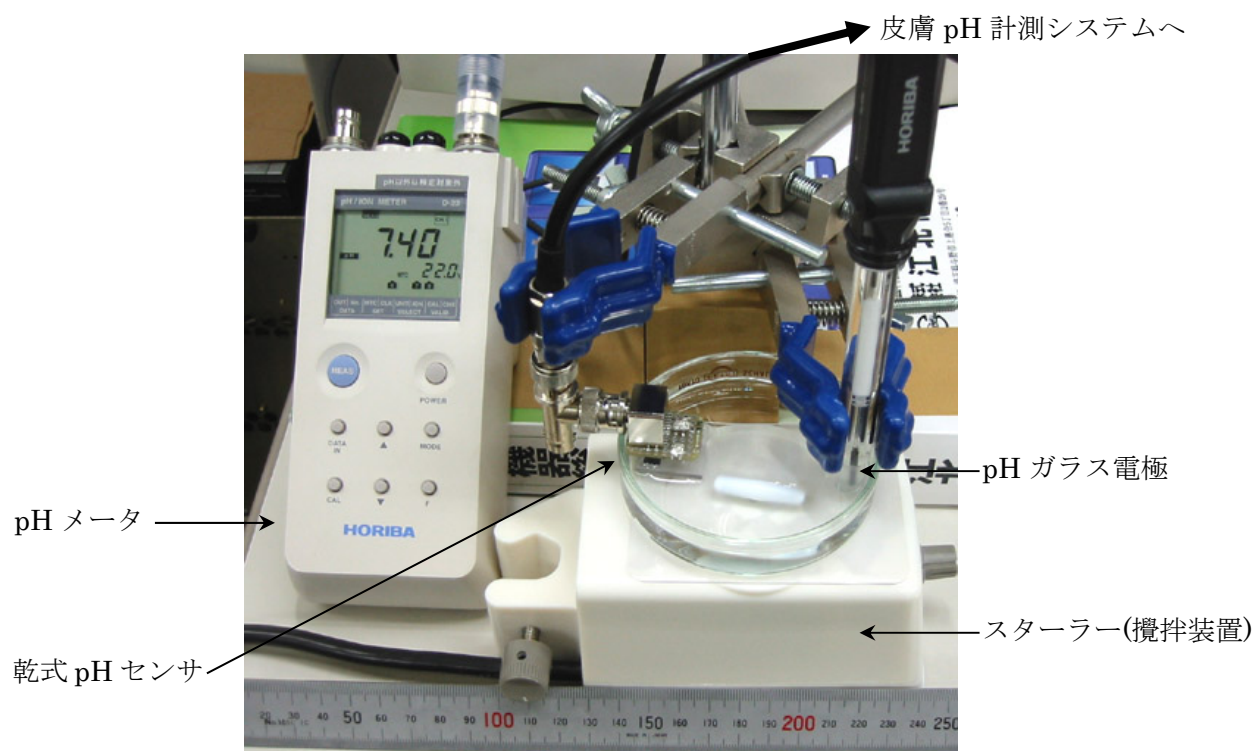


Fig.5.5.1 pH-電圧特性実験の様子

5.5.3 結果と考察

Fig.5.5.2 と Fig.5.5.3 に乾式 pH センサの製作したプローブへの固定の前後における pH-電圧特性を示す。

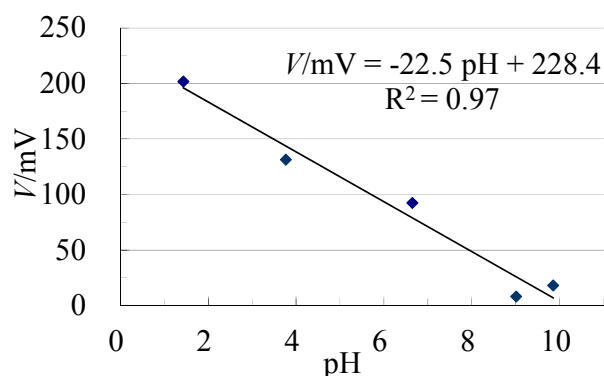


Fig.5.5.2 センサ固定前(pH-電圧特性)

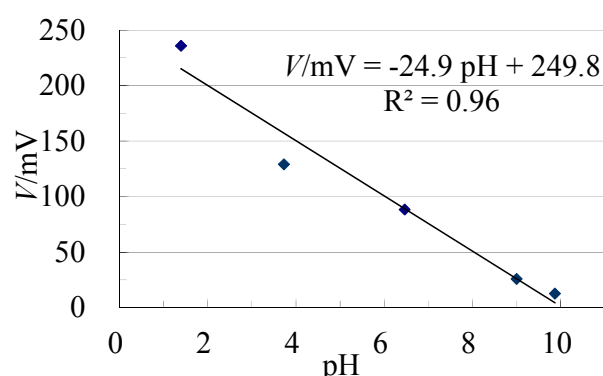


Fig.5.5.3 センサ固定後(pH-電圧特性)

製作したプローブへの接続前後での pH-電圧特性と線形性については、センサのプローブ固定の前後において大きな変化はないが、センサの傾きと特性式の切片の値が若干、増加した事が確認された。pH1.68 の標準溶液では、測定電圧平均値が約 30[mV]増加しており、接続状況の変化だけでなく、特性実験の結果、センサ応答が変化した可能性が一因と考えられる。

新しいプローブでは、センサと電圧計の接続抵抗がワニ口クリップによる接続に比べて減少していると推測される。新プローブの製作により、センサ電圧の良好な測定が可能になったと考えられる。

5.6 まとめ

- 乾式 pH センサ用いた皮膚 pH 計測システムの構築を行った。
 - (a) 構築した皮膚 pH 計測システムの動作確認の結果、計測システムが電圧計の測定精度に近い範囲の測定値を記録可能である事が確認された。

- 被測定腕の手首にアースを接続する手法により乾式 pH センサによる皮膚計測時のノイズの影響について検討した。
 - (a) アースを接続して測定する手法により、測定中のノイズが低減される効果が確認された。乾式 pH センサによる皮膚 pH 測定時に、測定腕の手首にアースを接続することとする。
 - (b) アース接続時の皮膚 pH 測定時の応答は、複数回の測定においても経時的に増加する一定の傾向を持つ事が確認された。

第 6 章 皮膚計測と手法の検討

6.1 長時間計測の検討

6.1.1 目的

測定時間を 2 分間として計測した皮膚 pH 測定実験の予備実験の結果、測定値が測定中に単調増加する傾向が観察された。この傾向は、皮膚からの水分蒸散が一因と推測されるが、皮膚 pH 測定が水分量の影響を受けたと仮定すると、センサによって皮膚が覆われている測定状態から、いずれ飽和して安定した状態になりうると予想される。そこで、測定時間を 30 分間に設定し、乾式 pH センサ測定値が単調増加から安定するかを確認する。その後、安定状態の乾式 pH センサ電圧値と従来手法による皮膚 pH 測定(湿式)の関係から、皮膚 pH が測定可能かどうかを検討する事を目的とする。

また、乾式 pH センサによる測定の前後で皮膚水分量の測定も行い皮膚水分量の違いと、乾式 pH センサの関係についても検討する。

6.1.2 装置と方法

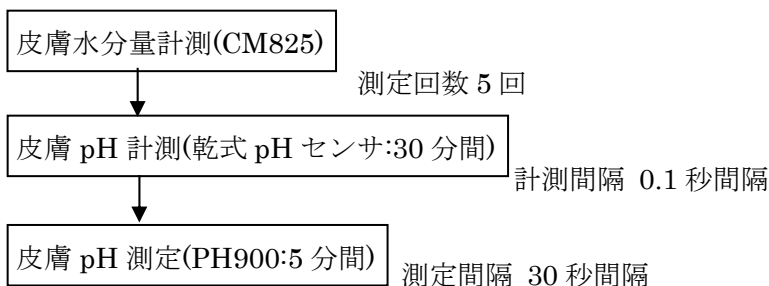
[a] 実験装置

- (i) 乾式 pH センサ
- (ii) 皮膚 pH 計測システム
- (iii) 皮膚 pH 測定装置：Skin-pH-meter PH900(C+K 製)
- (iv) 皮膚水分量測定装置：Corneometer CM825(C+K 製)

[b] 実験方法

恒温恒湿室内(23℃,30%Rh)において、被験者は成人男性 1 名として、測定部位は前腕屈側中央部を 15 分以上暴露した状態で待機後、測定を開始した。各測定の被験部位は、同一部位とした。測定は 6 日間連続して、19-21 時の間に行った。初め 2 回の測定では、皮膚水分量測定は行われていない。

[測定手順]



乾式 pH センサによる測定の前に、皮膚水分量計測を行った。湿式の電極による測定後では、皮膚に水分が付着し乾式 pH センサによる皮膚計測に影響を与える可能性が考えられた為、乾式 pH センサ計測後に従来手法による皮膚 pH 測定を行った。

皮膚水分量を測定する皮膚水分量計(Corneometer CM825)は、水の比誘電率(81)とその他の物質(<7)の比誘電率が著しく異なることを用いて、皮膚水分量の違いにより誘電率が変化することを計測する静電容量法を基礎としている。くし型電極を有するセンサ部により静電容量を任意単位[a.u.]により角層水分量を計測する。

PH900により5分間に30秒間隔で、乾式pHセンサ計測部位のpHを測定した。PH900は、1度の測定で5回ずつ測定を行う。センサは測定毎にイオン交換水で洗浄した後に使用した。また、被験者にはノイズを防止する目的で、被測定部位の手首に心電図用四肢電極を用いてアースを接続した。計測周期は0.1秒間隔で30分間連続して計測した。

30分間の測定結果は、以下の項目について検討した。

[A] 20-30分間 および 90-120秒間の乾式pHセンサ電圧平均値－PH900(Ave, First(1))

乾式pHセンサによる20-30分間および90-120秒間の電圧平均値と従来手法であるPH900により測定された皮膚pHとの関係について検討する。

ガラス電極による皮膚pH測定では、電極先端部に常に水滴がないとガラス膜が破損する恐れがある為、電極が湿った状態で使用する。その為、ガラス電極により複数回の測定を行うと、皮膚の測定部位が微量な水滴で洗われてしまい、初期測定値から測定回数を増やすと測定値が変化することが観察されている。PH900について、測定全体の平均値、初期の測定値(5回)の平均と比較し、乾式pHセンサの電圧平均値との関係から、PH900の結果について考察する。

Fig.6.1.1にPH900により、5分間30秒間隔で測定した実験結果の代表例を示す。測定に従って測定結果が変化してしまう傾向が観察された。

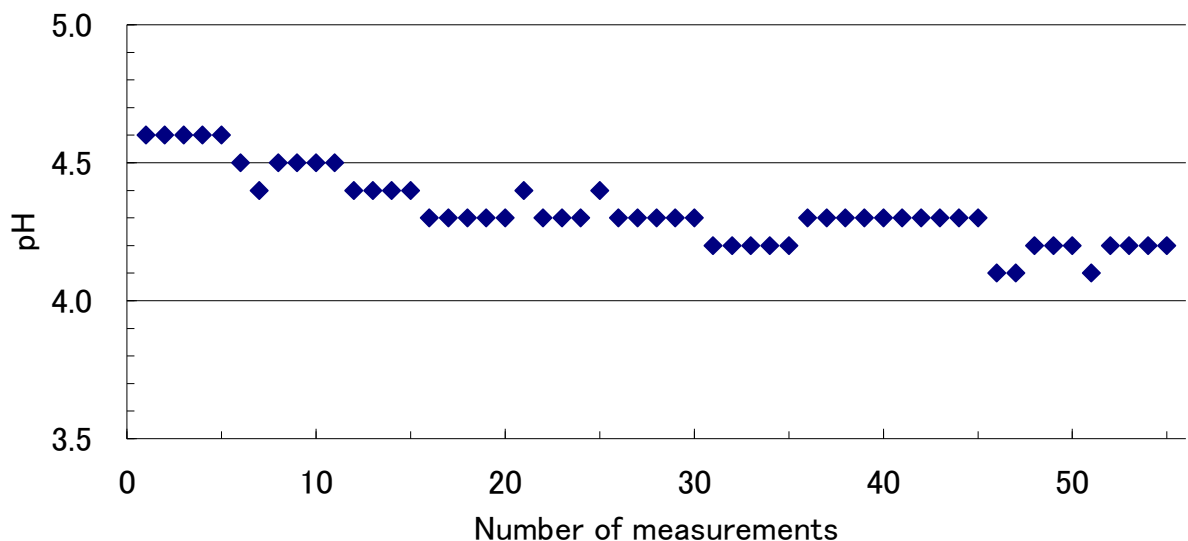


Fig.6.1.1 PH900による測定結果(代表例)

[B] 乾式pHセンサの初期傾き(0-30秒間)と皮膚水分量計測

乾式pHセンサ測定の際の立ち上がり部分において、皮膚水分量がセンサの応答速度に関係している可能性について検討することを目的として、センサ測定電圧0-30秒間の一次近似直線の傾きと皮膚水分量測定の結果の関係について検討する。

[C] 乾式 pH センサ最終値からの時定数の変化

皮膚 pH 測定時における乾式 pH センサの応答特性を検討することを目的として、皮膚 pH 測定電圧値を一次応答と仮定した場合に、20-30 分間の電圧平均値に対する 63.5%に到達するまでの時間(時定数)を測定回数と比較する。

6.1.3 結果と考察

Fig.6.1.2, 6.1.3 に乾式 pH センサによる 30 分間の測定結果より 2 例を示す。

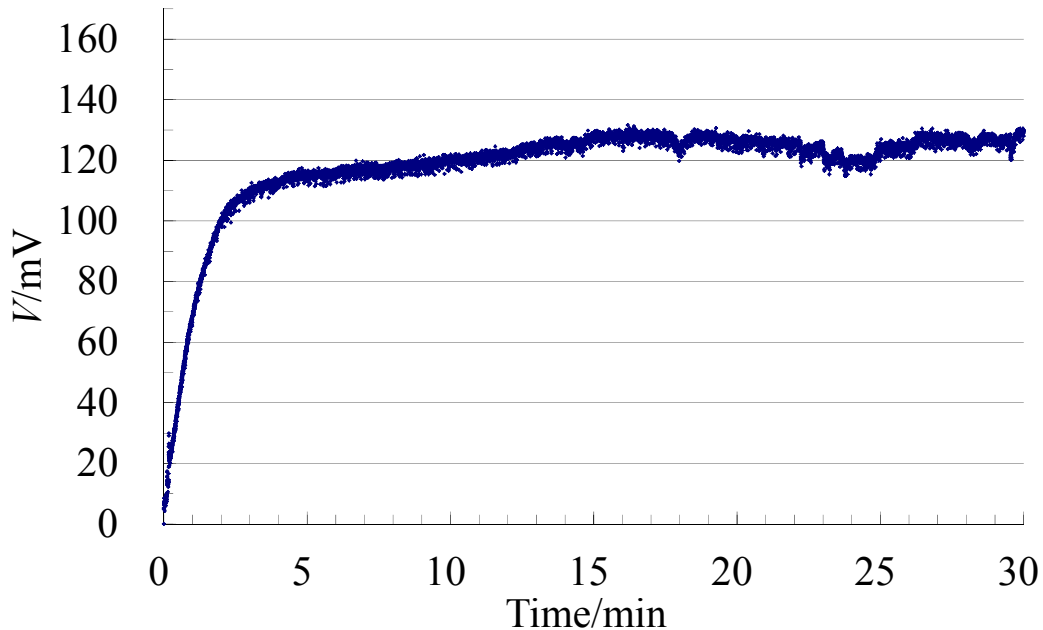


Fig.6.1.2 皮膚 pH 測定実験結果 例 1

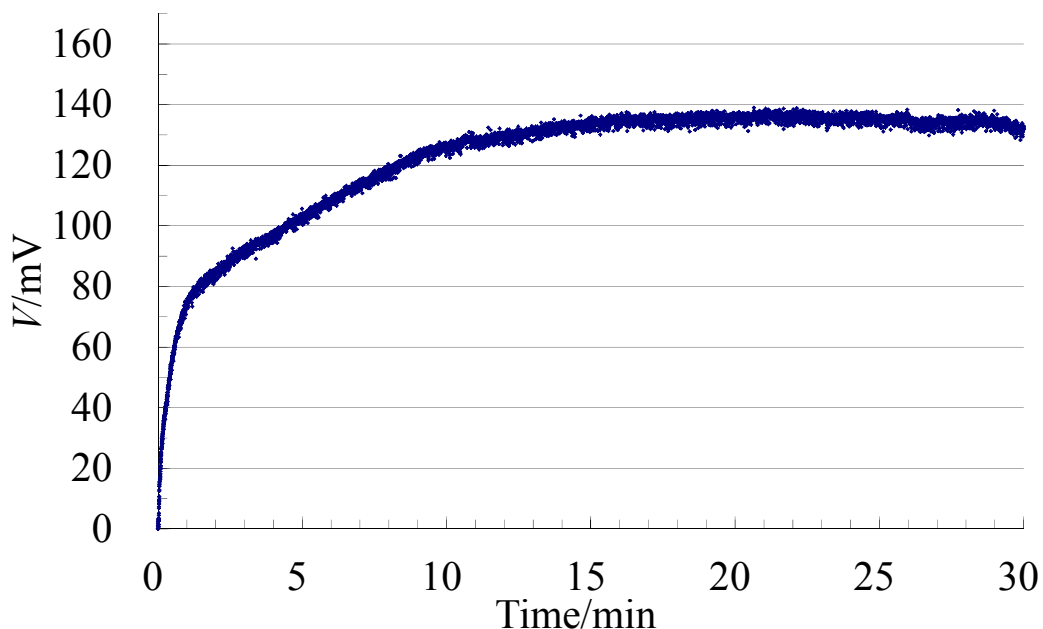


Fig.6.1.3 皮膚 pH 測定実験結果 例 2

Fig.6.1.2, 6.1.3 の代表例をはじめ最終的には、ほぼ一定の電圧値で安定する事が確認された。この結果から、30 分間の皮膚 pH 測定により乾式 pH センサを皮膚にあてた状態で、計測後半においてセンサ上の化学反応が平衡状態になった為に電圧値がほぼ一定となったと考えられる。PH900 による測定では、Fig.6.1.2 および Fig.6.1.3 における皮膚 pH はどちらも 4.4[pH]であった。

[A] 20-30 分間 および 90-120 秒間の乾式 pH センサ電圧平均値－PH900(Ave, First(1))

Fig.6.1.4, 6.1.5 に 20-30 分間の乾式 pH センサ電圧平均値と PH900 による皮膚 pH 測定結果の全体の平均値(Ave)と測定開始直後の 5 回のみの平均値(First(1))の関係を示す. グラフ中のアルファベットは測定回数を示し, A, B, . . . F は, それぞれ 1 回, 2 回 . . . 6 回に対応する.

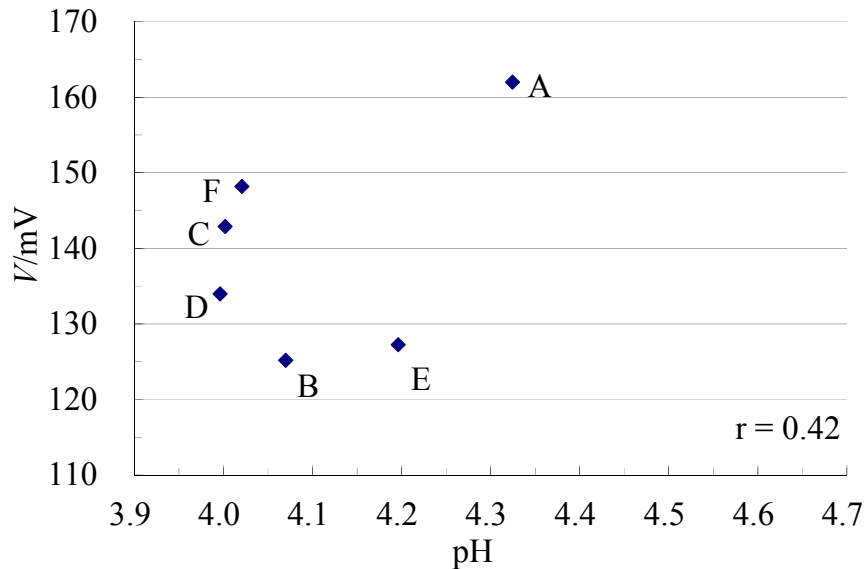


Fig.6.1.4 乾式 pH センサ電圧平均値(20-30 分)－PH900(Ave)

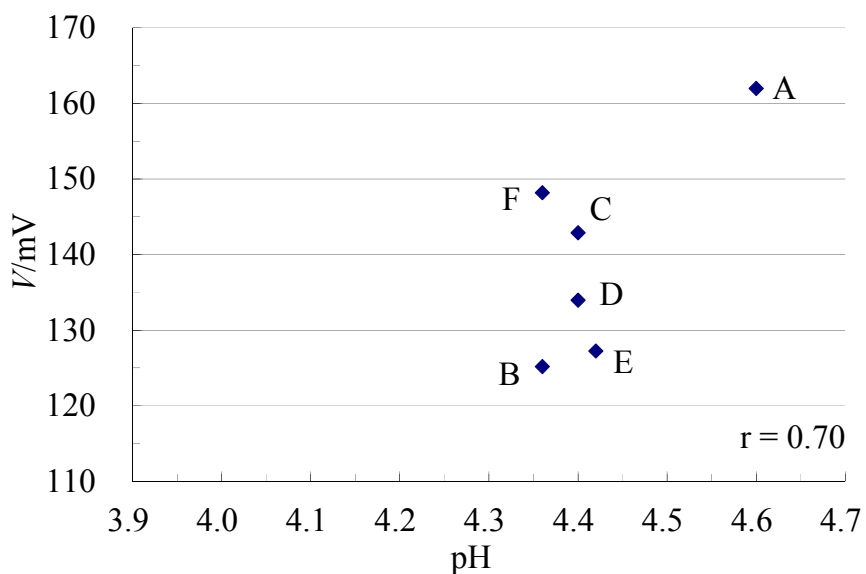


Fig.6.1.5 乾式 pH センサ電圧平均値(20-30 分)－PH900(First1)

乾式 pH センサ電圧値は, 測定値が安定していた 20-30 分間の平均値に着目し, PH900 の測定結果との関係と比較した. Fig.6.1.4 では, 皮膚 pH 値と乾式 pH センサ電圧値の平均値のばらつきが大きく, 傾向がほとんど見られなかった. 湿式の PH900 による測定では, 測定回数が増えるに従って皮膚に水分が付着してしまい皮膚の状態を変化させてしまう可能性がある. 従って, 5 分間 30 秒おきに測定した平均値で評価すると, 測定された皮膚 pH 値に誤差が累積している可能性があると考えられる. そこで, 1 回目の測定(5 回)の平均値による PH900(First1)と乾式 pH センサの関係に着目した Fig.6.1.5 について検討する.

ガラス電極による皮膚 pH 値が同じでも、例えば 2 回目(B)と 6 回目(F)の測定値では、17.7 mV のばらつきがみられた。Fig.6.1.5 では、相関係数($r = 0.70$)であり、湿式の皮膚 pH 測定と乾式 pH センサ電圧平均値に弱い相関関係が確認された。30 分間の測定中、皮膚水分量の蓄積等により測定中に定常増加が継続し続けるなどの現象は無いため、乾式手法においても最終的にはほぼ一定値になる事を確認した。従来、2 分間の測定を基準として測定を行っているが、妥当性を確認するため 90-120 秒間の電圧平均値との関係についても検討した。

Fig.6.1.6 に 90-120 秒間の乾式 pH センサ電圧平均値と PH900 による皮膚 pH 測定結果の測定開始直後の 5 回(First(1))の平均値の関係を示す。

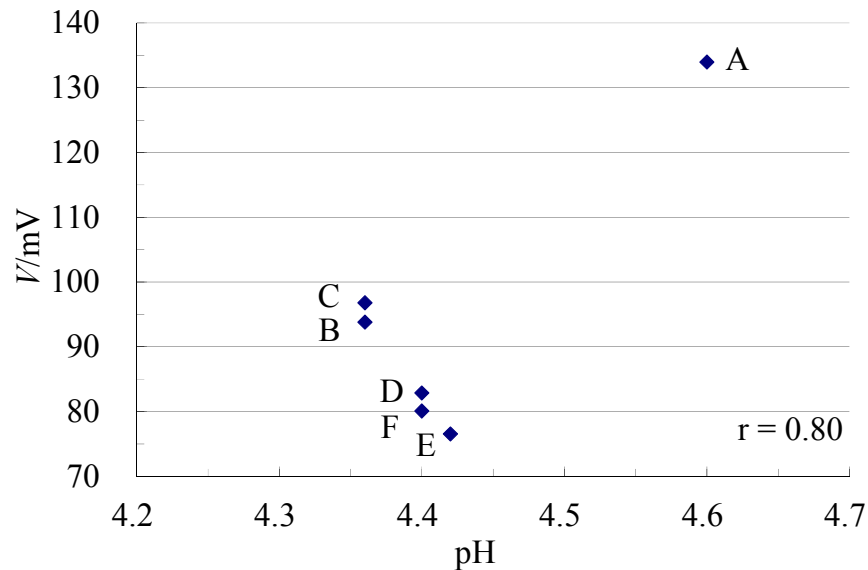


Fig.6.1.6 乾式 pH センサ電圧平均値(90-120 秒)－PH900(First1)

Fig.6.1.6 では、相関係数($r = 0.80$)であり、湿式の皮膚 pH 測定と乾式 pH センサ電圧平均値に、20-30 分間の電圧平均値による Fig.6.1.5 よりも強い相関関係が確認された。測定時間が長い場合、測定中の体動や被験者の発汗などによる皮膚状態の変化など、短時間の測定に比べて多くの外乱の影響を受けると考えられる。また、複数被験者の皮膚測定を行う場合、30 分間の測定は 2 分間の測定より困難であることが予想される。Fig.6.1.5 と Fig.6.1.6 の結果より乾式手法による測定時間は、2 分間の測定であっても従来の湿式測定との間に相関関係が確認されたことから、測定時間を 2 分間として設定した測定手法に問題はないと考えられる。

30 分間の測定終了直後に、予備的にセンサの皮膚接触圧力を変化させた計測を実施した。皮膚に乾式 pH センサを押し当てる状態を、通常状態(そっと押し当てる)と圧力状態(センサ外形の跡が皮膚に残る)、2 通りで実施した。圧力下と、通常状態では数十 mV 電圧が変化する事が観察され、皮膚接触圧力が変化するとセンサ電圧値に影響する可能性が示唆された。圧力を加えた場合では、測定結果に不自然な変動傾向を確認した。通常状態の測定値とは、明確に区別出来ることから、現状のプロブでも手動である程度一定圧で押し当てて測定が行えている事と合わせ、評価の段階で押しつけ圧の影響を回避可能と考えられる。将来的には、バネを内蔵した測定プロブの製作を行うことで、圧力変化による影響を機械的に回避したプロブの製作が望ましいと考えられる。

[B] 乾式 pH センサの初期傾き(0-30 秒間)と皮膚水分量計測

角層水分量が多ければ、乾式 pH センサが皮膚に接触した際の化学反応が大きくなる可能性があると考えられた。そこで、乾式 pH センサによる測定値の初期立ち上がり 0-30 秒間における、一次近似の傾きと角層水分量(初期測定)を測定した 4 例(C-F)について比較を行った。

Fig. 6.1.7 に乾式 pH センサ測定値の 0-30 秒間の傾きと、皮膚水分量計測の関係について示す。

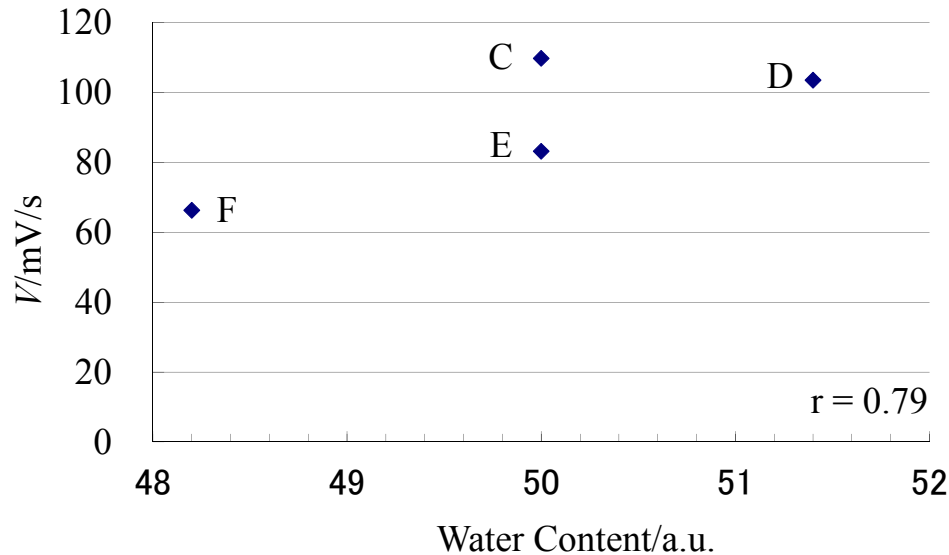


Fig.6.1.7 乾式 pH センサ初期傾き(0-30 秒間)と皮膚水分量

Fig.6.1.7 より、乾式 pH センサ計測前に測定された皮膚水分量では、相関係数($r = 0.79$)であった。皮膚水分量が多い場合、乾式 pH センサ 0-30 秒間の一次近似の傾きが大きくなる傾向がある可能性が考えられる。測定回数を増やし、影響があるかどうかについて検討する。

[C] 乾式 pH センサ最終値からの時定数の変化

Fig.6.1.8 に測定回数 6 回とそれぞれの 20-30 分間の電圧平均値に対する 63.5%到達時点の経過時間を時定数として求めた関係を示す。縦軸に時定数、横軸に測定回数を示す。

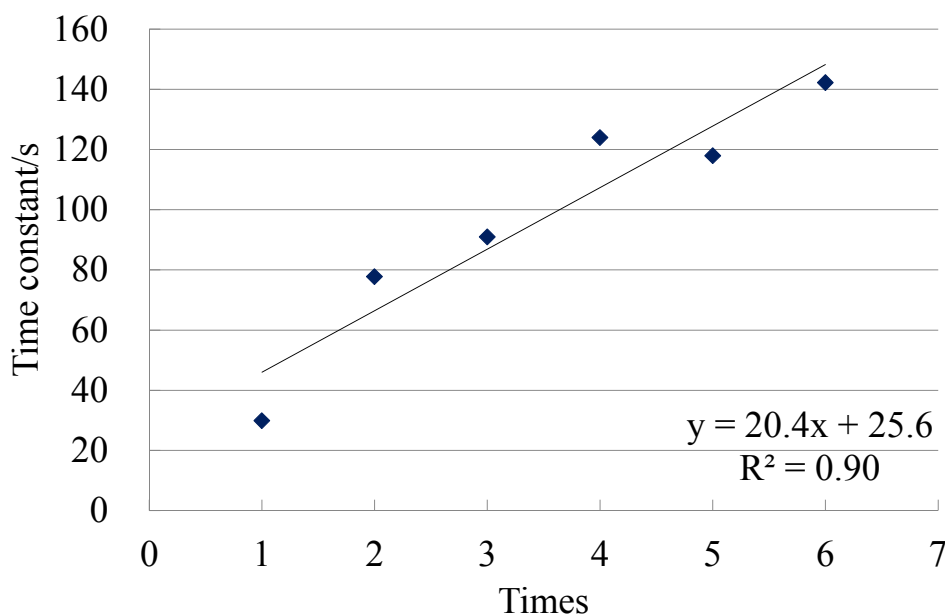


Fig. 6.1.8 乾式 pH センサ時定数と測定回数の関係

Fig.6.1.8 より乾式 pH センサの時定数は、測定回数を重ねるごとに最終値の 63.5 %に達するまで、より長い時間が掛かっている。測定を繰り返すに従って、センサ応答が遅れる傾向があり、センサ表面上に非水溶性の物質が付着することにより、ネルンスト応答に基づく化学反応が阻害されている可能性が考えられる。測定時の洗浄は、イオン交換水による洗浄のみなので、センサに汗や皮脂など多くの物質が付着する事を考えると、応答悪化の要因として皮脂の可能性が高いと推測される。

皮脂の成分は、トリグリセリド(30%)、ジグリセリド(2%)、脂肪酸(25%)、ワックスエステル(22%)、スクワレン(12%)、コレステロールエステル(7%)などである⁴¹⁾。そのため、センサ洗浄には、脱脂作用のあるアルコールを用いることで水に溶解しにくい、油分を取り除ける可能性があると考えられる。

乾式 pH センサの洗浄は、イオン交換水のみを用いていた。実験結果より、センサ表面上の皮脂などの成分が十分除去されていない可能性が示されたため、皮膚測定で付着する可能性のある皮脂などの油分を効果的に除去、脱脂可能なアルコールによる洗浄手法について検討する。

6.2 乾式 pH センサ洗浄方法の検討

6.2.1 目的

センサの洗浄は、これまでイオン交換水のみを用いていた。しかし、長時間皮膚計測の検討において、測定回数に従って時定数が大きくなっており、皮脂の残留に対するセンサ洗浄が不十分であると推測された。皮膚の皮脂やその成分が残留したことが、センサ機能膜での化学反応を阻害し応答の遅れの要因となったと考えられる。そこで、イオン交換水の洗浄手順に新たにアルコールによる洗浄を行い、その前後の pH-電圧特性の比較から新しい洗浄手法の有効性について検討することを目的とする。

6.2.2 装置と方法

[a] 実験装置

- (i) 乾式 pH センサ
- (ii) 皮膚 pH 計測システム
- (iii) pH メータ D-23 (HORIBA 製)
- (iv) スターラー (攪拌装置) SR-50 (ADVANTEC 製)
- (v) pH 標準液 5 種類 (pH1.68, 4.01, 6.86, 9.18, 10.02)

[b] 実験方法

測定前に 4.2.2 の方法により零点調整を行った。実験は、恒温恒湿室内(23℃, 30%Rh)において行った。計測時間は 5 分間、測定周期は 0.1 秒間隔とした。

- (A) pH-電圧特性実験 : 皮膚 pH 測定実験以前に計測
- (B) pH-電圧特性実験 : 30 分間の皮膚 pH 測定実験を 7 回実施後にアルコールとイオン交換水によるセンサ洗浄を実施後に計測

なお、(B) pH-電圧特性実験以前の皮膚 pH 測定実験の前にもアルコールを用いたセンサ洗浄を行った。

6.2.3 結果と考察

Fig.6.2.1 にイオン交換水のみでの洗浄方法による特性実験(A)、アルコールと水を用いた洗浄の特性実験(B)の pH-電圧特性を示す。

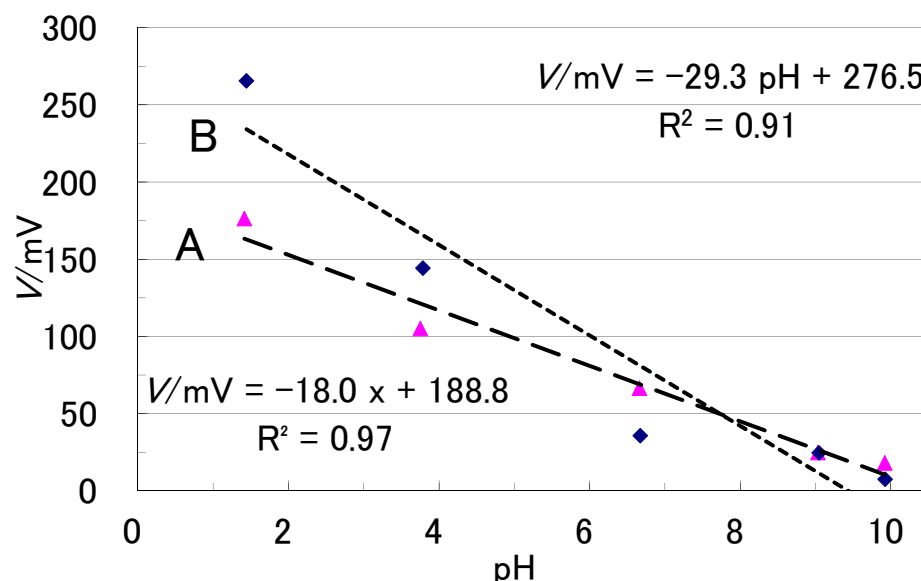


Fig.6.2.1 乾式 pH センサ pH-電圧経時特性

Fig. 6.2.1 より，アルコールと水による洗浄の結果，約 pH 1.5 - 6.8 の範囲で乾式 pH センサの pH-電圧特性が改善した事が確認された．特に，酸性領域で電圧値が大きく回復した．pH-電圧特性式の傾き部分は，作用電極である白金電極における応答を，切片は測定基準となる参照電極の応答を示している．アルコールによる洗浄後では，白金電極と銀/塩化銀電極の両電極について特性の改善が確認された．アルカリ領域における応答では，測定電圧に変化はなかった．

この結果から，特に皮膚 pH 測定に必要な酸性領域において，アルコールを用いた新しい洗浄手法により，センサに残留していた汚れが取り除かれた結果，センサ pH-電圧特性の傾きと切片に改善がみられたと考えられる．今後，乾式 pH センサを用いた実験ではイオン交換水で洗浄後，アルコールで洗浄し，更にイオン交換水でアルコールを洗い流す洗浄手法を採用することとした．

6.3 まとめ

- 乾式 pH センサにより 30 分間の皮膚 pH 計測について検討した.

- (a) 乾式 pH センサにより長時間皮膚 pH 計測を行い, 例えば水分蒸散の蓄積などにより乾式 pH センサ電圧値が増加し続けるなどの傾向はなく, ほぼ一定値となることが確認された.
- (b) ガラス電極により測定された皮膚 pH と乾式 pH センサ電圧平均値(20-30 分間)の間に弱い相関関係($r = 0.70$)が認められた. 測定電圧値のばらつきが大きい事が確認された. 30 分間の測定終了後に予備的に実施した実験により, 押し付け圧力の変化によって電圧値が数十 mV 変動する様子が観察された.
- (c) 乾式 pH センサ電圧平均値(90-120 秒間)と皮膚 pH との相関係数($r = 0.80$)は, 20-30 分間の電圧平均値との相関関係よりも強い相関関係であることが確認された.
- (d) 乾式 pH センサの 20-30 分間の電圧平均値に対する 63.5%到達時点の経過時間を時定数として求め, 測定回数との関係について検討した. その結果, 測定回数を重ねるごとにセンサ応答の時定数が長くなっている事が確認された. 皮膚に接触させた際に付着する皮脂の影響が主要因と推測され, アルコールによる洗浄手法を検討する.

- 乾式 pH センサの洗浄手法としてアルコールによる洗浄を取り入れるかを検討する事を目的とした, 洗浄前後の pH・電圧特性について比較検討した.

- (a) アルコールによるセンサ洗浄を行った前後の pH・電圧特性を比較した結果, アルコールを用いた洗浄後に特性の改善がみられ, アルコール洗浄に効果が認められた. 今後の洗浄手順は, イオン交換水で洗浄後, アルコールにて洗浄し, 更にイオン交換水によりアルコールを洗い流す手法とした.

第7章 乾式 pH センサ pH-電圧特性実験

7.1 センサ特性と校正手法

7.1.1 目的

pH 標準液によるセンサ特性実験では、シャーレ内の pH 標準溶液を攪拌し、センサを溶液に浸けた状態で計測し pH-電圧特性を求めている。しかし、皮膚 pH 測定実験で得られたセンサ電圧値を pH 値に変換する場合、測定電圧を pH 値に適切に変換できていない問題がある。この要因には、水滴を添加することなく測定する乾式測定手法による皮膚測定と、pH 標準溶液に浸した状態で測定された pH-電圧特性の溶液量の違いが大きいと推測された。乾式 pH センサは皮膚測定の際、皮膚上の微量な成分に対して反応していると考えられる。そこで、校正実験においても pH 標準溶液の量を減らし、可能な限り少ない溶液量にて、pH-電圧特性を計測することが必要であると考えられる。

そこで、少ない溶液量で実験を行うため、サンプリングシートをセンサ電極間に乗せて少量の pH 標準液を滴下する手法を検討する。実験は、サンプリングシートに pH 標準液を滴下する手法と、pH 標準液に浸す従来手法による pH-電圧特性を比較する事を目的とした。

7.1.2 装置と方法

[a] 実験装置

- (i) 乾式 pH センサ
- (ii) 皮膚 pH 計測システム
- (iii) pH メータ D-23 (HORIBA 製)
- (iv) スターラー (攪拌装置) SR-50 (ADVANTEC 製)
- (v) マイクロピペット Pipetman P-200(GILSON 製)
- (vi) サンプリングシート(15.5×11 mm) (HORIBA 製) ※イオン溶出のほとんどない特殊シート
- (vii) pH 標準液 5 種類(pH1.68, 4.01, 6.86, 9.18, 10.02)

[b] 実験方法

測定前に 4.2.2 の手順に従い零点調整を行った。実験は、恒温恒湿室内(23℃, 30%Rh)において行った。計測時間は 5 分間、測定周期は 0.1 秒間隔で計測した。センサ洗浄手法は、イオン交換水とアルコールによる手法を用いた。

(A) 従来手法

シャーレ内に pH 標準溶液を約 25 ml 用意し、スターラーで溶液を攪拌しながら、乾式 pH センサ測定電圧を計測システムで記録しつつ、pH メータの測定値の記録を行う。5 種類の各 pH 標準溶液について繰り返し計測した。

(B) サンプリングシートを用いる手法

- (i) センサ面を上に向けてサンプリングシートを乗せる。

- (ii) マイクロピペットで pH 標準溶液を準備する.
- (iii) 計測開始直後, マイクロピペット(約 80 μ L)の溶液をサンプリングシート上に滴下する.
以上を 5 種類の標準液について繰り返し計測した.
- (vii) 計測に用いた pH 標準溶液の溶液 pH を pH メータ(D-23)により測定した.

サンプリングシートを用いた新しい手法では, 合計 3 回の特性実験を行い pH 値, 電圧値の平均値を基に, pH-電圧特性を求めた.

Fig.7.1.1 に従来手法によるセンサ特性実験の様子を, Fig.7.1.2 にサンプリングシートを用いた新しい手法によるセンサ特性実験の様子を示す.

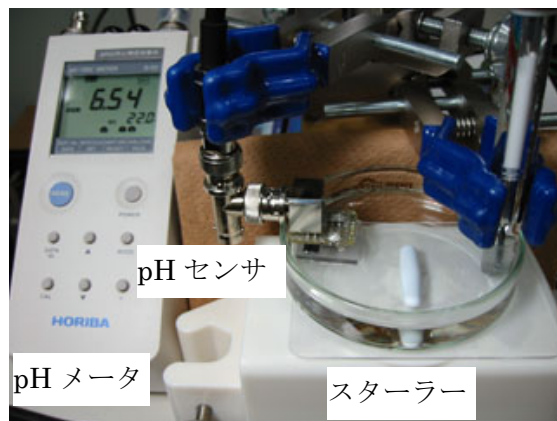


Fig.7.1.1 従来手法(溶液に浸した状態)

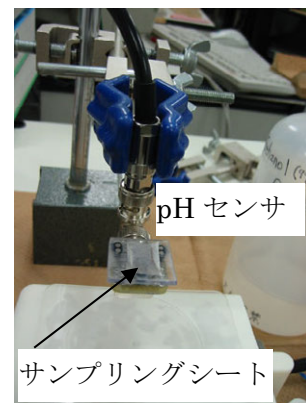


Fig.7.1.2 新手法(サンプリングシート)

7.1.3 結果と考察

Fig.7.1.3 は従来手法, Fig.7.1.4 にはサンプリングシートを用いた手法による pH-電圧経時特性の代表例を示す.

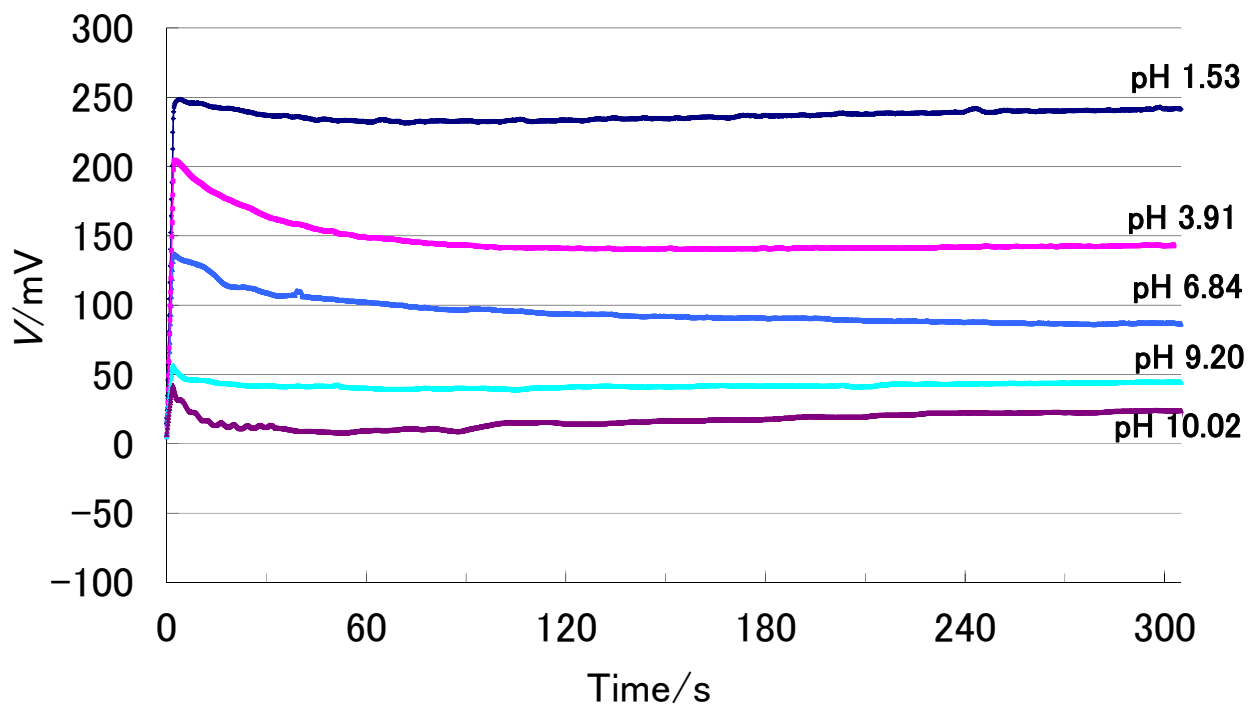


Fig.7.1.3 従来手法による pH-電圧経時特性

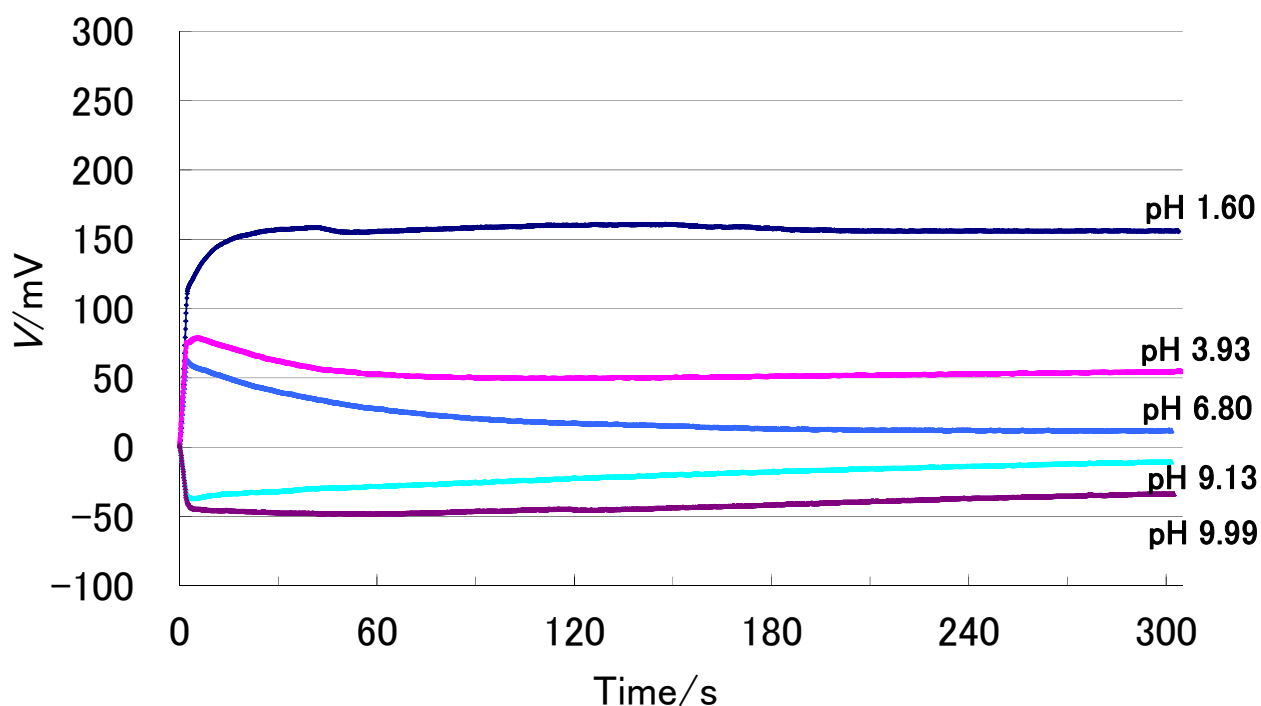


Fig.7.1.4 新手法による pH-電圧経時特性(代表例)

Fig.7.1.3, 7.1.4 の測定電圧値は移動平均により平滑化の処理を行った。従来手法と新手法の pH-電圧経時特性を比較した結果、新手法では従来手法よりも各 pH 標準溶液に対する電圧値が全体的に減少したことが確認された。立ち上がり時の電圧値に対する最終電圧値までのドリフト量は、新手法の中性からアルカリ性領域を中心に従来手法よりも大きくなる傾向が認められた。アルカリ性領域の pH 標準液は、空気中の二酸化炭素の影響を受けて pH 値が変化するため、溶液量が少なく空気中(23℃, 30%RH)に曝露された状態で計測した事が要因と推測される。従って、より精度の高い校正を行うには加湿した密閉空間で特性実験を行うなどの対策により、二酸化炭素の影響が減少する可能性が考えられる。

Table 7.1.1 に従来手法、Table 7.1.2 に新手法の代表例について各 30 秒間隔の電圧平均値と一次近似直線の傾き、切片、線形性(R^2 値)を示す。

Table 7.1.1 従来手法

D-23[pH]	0-30 [sec]	30-60 [sec]	60-90 [sec]	90-120 [sec]	120-150 [sec]	150-180 [sec]	180-210 [sec]	210-240 [sec]	240-270 [sec]	270-300 [sec]	0-120 [sec]
1.53	227.2	234.6	232.5	232.8	234.1	235.4	237.2	238.4	240.0	240.7	241.2
3.91	169.8	155.9	145.8	141.8	140.6	140.6	141.1	141.4	142.2	142.7	142.2
6.84	114.6	105.5	98.9	95.5	92.7	91.1	90.0	88.3	87.1	86.6	86.3
9.20	42.5	41.2	39.5	39.8	41.1	41.5	41.5	42.6	43.4	44.1	44.3
10.02	17.8	9.3	9.8	14.0	14.9	16.8	18.9	21.2	22.3	23.1	23.9
傾き	-24.28	-25.10	-24.56	-24.12	-24.07	-24.05	-24.10	-24.02	-24.09	-24.09	-24.05
y切片	267.30	267.44	260.08	256.70	256.36	256.61	257.56	257.69	258.80	259.23	259.05
R^2	0.99	0.99	0.98	0.98	0.98	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97

Table 7.1.2 サンプルングシートを用いた手法(代表例)

D-23[pH]	0-30 [sec]	30-60 [sec]	60-90 [sec]	90-120 [sec]	120-150 [sec]	150-180 [sec]	180-210 [sec]	210-240 [sec]	240-270 [sec]	270-300 [sec]	0-120 [sec]
1.53	133.2	151.0	156.8	159.2	160.3	159.0	156.5	155.9	155.8	155.9	156.0
3.91	66.7	63.5	51.1	49.8	50.0	50.6	51.5	52.3	53.1	53.9	54.2
6.84	46.6	41.2	24.0	18.7	16.2	14.2	12.7	12.1	11.8	11.8	12.1
9.20	-31.5	-31.9	-27.1	-24.2	-21.4	-19.0	-16.8	-14.9	-13.1	-11.4	-11.3
10.02	-42.1	-46.9	-47.5	-45.6	-44.9	-42.9	-40.5	-38.2	-36.2	-34.5	-33.4
傾き	-20.24	-22.21	-22.11	-22.03	-21.95	-21.59	-21.11	-20.81	-20.60	-20.43	-20.35
y切片	161.90	175.08	170.55	170.15	170.14	168.16	165.45	164.33	163.86	163.61	163.53
R^2	0.96	0.96	0.94	0.93	0.93	0.92	0.92	0.92	0.92	0.92	0.92

Table 7.1.1, 7.1.2 より乾式 pH センサの pH-電圧経時特性から、各 30 秒間の電圧平均値と pH 値に対する一次近似直線の線形性(R^2 値)に着目すると、どの 30 秒間の平均を用いた場合にも乾式 pH センサの pH-電圧特性が、高い線形性を有している事が確認された。従来手法においては、0-30 秒間, 30-60 秒間の範囲で、線形性(R^2 値)がほぼ 1 でありセンサとして高い線形性を持つ事が確認された。また、サンプルングシートを用いる新しい手法においても、0-30 秒間, 30-60 秒間の範囲の線形性(R^2 値)は 0.96 と最も高くなっており、センサの特性として初期の応答が重要である事が考えられる。

従来手法でも、サンプルングシートを用いる手法においても乾式 pH センサと校正に用いた pH 標準溶液との pH-電圧特性は、多少ドリフトは認められるものの、どの区間においても高い線形性を有している事が確認された。従って、乾式 pH センサによる測定結果の評価は、30 秒間隔の電圧平均値と pH 標準液による pH-電圧特性を用いる手法が有効と考えられた。

乾式センサを用いた皮膚計測実験では、特に 2 分間の計測を行う予定の為、特性実験の結果の 90-120 秒間の平均電圧値について、従来手法とサンプルングシートを用いた手法の pH-電圧特性の比較を行った。

Fig.7.1.5 に乾式 pH センサ pH・電圧特性(90-120 秒間)を示す。図中、A は従来手法、B はサンプリグシートによる手法 3 回の平均値とエラーバーは標準偏差を示す。

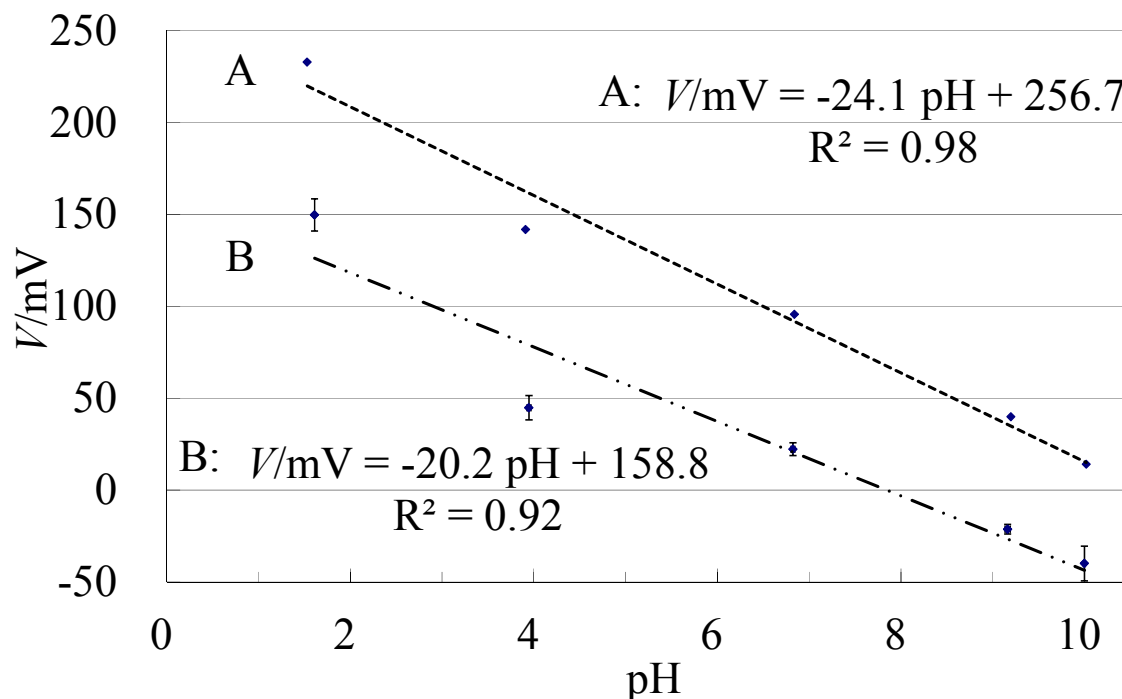


Fig.7.1.5 乾式 pH センサ pH・電圧特性の比較

サンプリグシートを用いた場合

$$\text{pH・電圧特性式} : V/\text{mV} = -20.2 \text{ pH} + 158.8 \quad (7.1)$$

Fig.7.1.5 の結果より、従来手法に対してサンプリグシートを用いた新手法では 5 種類すべての標準液の計測で、電圧値が低くなる傾向が表れた。この原因としては、約 25 mL の pH 標準液に十分浸っていた従来手法に対して、約 80 μL と少量の pH 標準液をサンプリグシートに滴下しセンサに接触させたため、センサ上でのイオンのやり取りが少なくなり pH 値応答が全体的に低下したと考えられる。皮膚を計測する場合では、皮膚上の微量な物質を計測するため、従来手法による pH・電圧校正式では計測電圧値と溶液量の状態が異なり過ぎてしまうと考えられる。サンプリグシートを用いた pH・電圧特性実験においても、乾式 pH センサの特性を十分確認可能であると考えられる為、今後サンプリグシートを用いた手法により pH・電圧特性実験を行うこととした。

この特性実験により、校正に用いる pH 標準液をサンプリグシートに滴下する手法によっても、センサの pH・電圧特性に線形性が得られる事が確認された。

7.2 センサ特性改善手法の検討

7.2.1 目的

乾式 pH センサは、使用に伴い pH-電圧特性の傾きと切片が小さくなり、特性が徐々に劣化する傾向が確認された。センサ白金電極表面の酸化被膜が何らかの要因で、元の白金に戻らない酸化状態となり、水素イオンに対する反応が悪化している状態と考えられる。センサ特性が劣化した状態とは、酸化被膜が元に戻らない状況であると考えられる。そこで、酸化被膜を還元する事で特性の改善を試みる手法として、アスコルビン酸水溶液による洗浄を検討する。具体的には、アスコルビン酸水溶液による洗浄の前後において pH-電圧特性を比較し、洗浄方法の有効性の確認を行う事を目的とする。

7.2.2 装置と方法

[a] 実験装置

- (i) 乾式 pH センサ
- (ii) 皮膚 pH 計測システム
- (iii) pH メータ D-23 (HORIBA 製)
- (iv) マイクロピペット Pipetman P-200(GILSON 製)
- (v) サンプルングシート(15.5×11 mm) (HORIBA 製) ※イオン溶出のほとんどない特殊シート
- (vi) pH 標準液 5 種類(pH1.68, 4.01, 6.86, 9.18, 10.02)

[b] 実験方法

恒温恒湿室内(23℃,30%Rh)で、4.2.2 の手順に従い零点調整を行った。

計測時間は 305 秒間(約 5 分間)、測定周期は 0.1 秒間隔で計測した。センサ洗浄手法は、イオン交換水→アルコール→イオン交換水の順で、測定毎にセンサの洗浄した後、キムワイプにより水分をふき取る方法で行った。

アスコルビン酸の水溶液(0.5 mol/L)による洗浄の前後 2 回の乾式 pH センサ pH-電圧特性実験を、サンプルングシートに pH 標準液を滴下する手法で行った。

(A) 洗浄前

皮膚 pH 測定実験前に、行った特性実験

(B) 洗浄後

皮膚 pH 測定実験中、アスコルビン酸水溶液による 4 回の洗浄を実施後に行った特性実験

7.2.3 結果と考察

Fig.7.2.1 にアスコルビン酸水溶液，洗浄前後の乾式 pH センサ pH・電圧特性(90-120 秒間)を示す．図中，A は洗浄前，B は洗浄後，どちらもサンプリングシートによる計測手法による測定結果を示す．

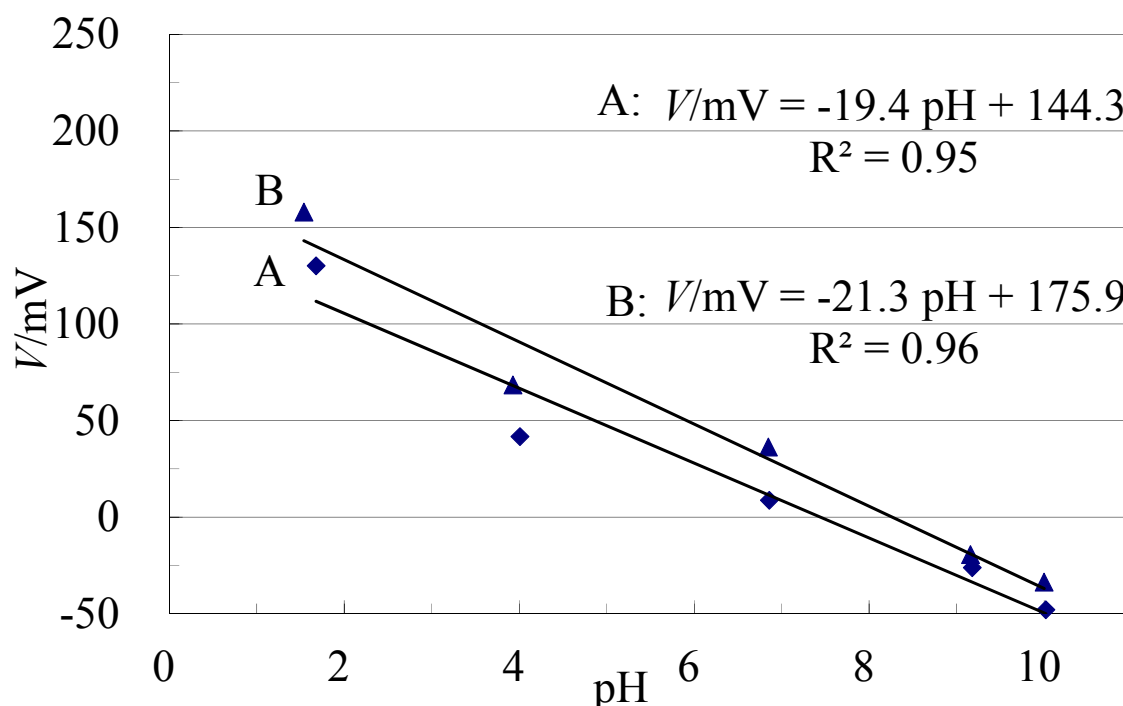


Fig.7.2.1 アスコルビン酸水溶液 洗浄前後の pH・電圧特性

Fig.7.2.1 より，アスコルビン酸水溶液(0.5 mol/L)による洗浄後，やや特性が改善したことが確認された．

この特性改善は，白金電極の酸化膜の形成に関するとと思われる近似式の係数，銀/塩化銀電極の変化によるものと思われる切片，この両方の変化が認められる．pH・電圧式の切片における変化量が傾きの変化量よりも大きいことから，白金電極よりも銀/塩化銀電極にアスコルビン酸水溶液による影響が大きいと推測される．

実験後のセンサ洗浄中，乾式 pH センサの銀/塩化銀電極の塩化銀(黒)の被覆が薄くなっていることが確認された．白金電極については，外観に変化はなかったが，銀/塩化銀電極ではアスコルビン酸水溶液により還元されてしまったと考えられる．pH・電圧特性の実験結果から，センサの線形性が保たれていることから致命的な影響ではないと推測されるが，センサ応答劣化時のアスコルビン酸水溶液による洗浄は，白金電極にのみに対して行うべきであると考えられる．

白金電極に生じる酸化膜をアスコルビン酸水溶液によって還元し，センサの応答性を改善する目的であったが，白金電極における pH・電圧特性の傾きの改善に比べ，銀/塩化銀電極が還元されてしまう影響が大きいとの結果が得られた．この結果より，アスコルビン酸水溶液による特性の改善は限定的で，洗浄は白金線に対してのみ行う必要があると考えられる．

7.3 平面型乾式 pH センサ pH-電圧特性

7.3.1 目的

新たに開発された、平面型乾式 pH センサ(以下、平面乾式 pH センサ)について、pH-電圧特性を明らかにするため、サンプリングシートを用いた pH-電圧特性実験を行った。

7.3.2 装置と方法

Fig.7.3.1 に新たに開発された平面乾式 pH センサの外観を、Fig.7.3.2 にセンサの構造を示す。平面型の新しいセンサについても、基本原理は、乾式 pH センサと同様である。実験に際して、5.4 の乾式 pH センサ同様の BNC コネクタプローブを製作した。



Fig.7.3.1 平面乾式pHセンサ

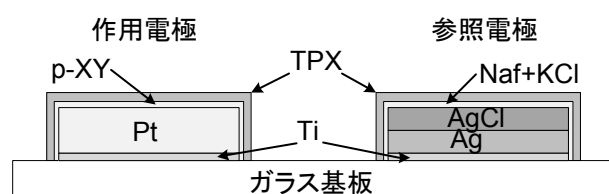


Fig.7.3.2 平面乾式 pH センサ構造図

[a] 実験装置

- (i) 平面乾式 pH センサ
- (ii) 皮膚 pH 計測システム
- (iii) サンプリングシート(15.5×11 mm) (HORIBA 製)
- (iv) pH 標準液 5 種類(pH1.68, 4.01, 6.86, 9.18, 10.02)

[b] 実験方法

測定前に 4.2.2 の手順に従い零点調整を行った。実験は、恒温恒湿室内(23℃, 30%Rh)において行った。時間は 180 秒間(約 3 分間)、測定周期は 0.1 秒間隔で計測した。センサ洗浄手法は、イオン交換水→アルコール→イオン交換水の順で、測定毎にセンサの洗浄した後、キムワイプにより水分をふき取る方法で行った。

用いたサンプリングシートは、イオン溶出のほとんどない特殊シートであり pH 測定機用に市販されている物を使用し、センサ上に乗せたサンプリングシート上に標準液を滴下し各 pH 標準液についての平面 pH センサの pH-電圧応答を測定した。

測定電圧値は移動平均により平滑化の処理を行った。

Fig.7.3.3 に pH-電圧特性実験の様子を示す。

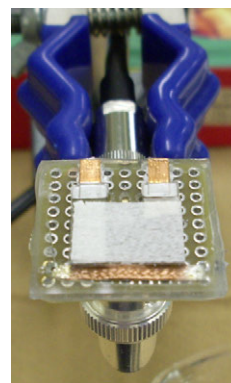


Fig.7.3.3 特性実験の様子

7.3.3 結果と考察

Fig.7.3.4 に平面 pH センサの pH-電圧特性を示す.

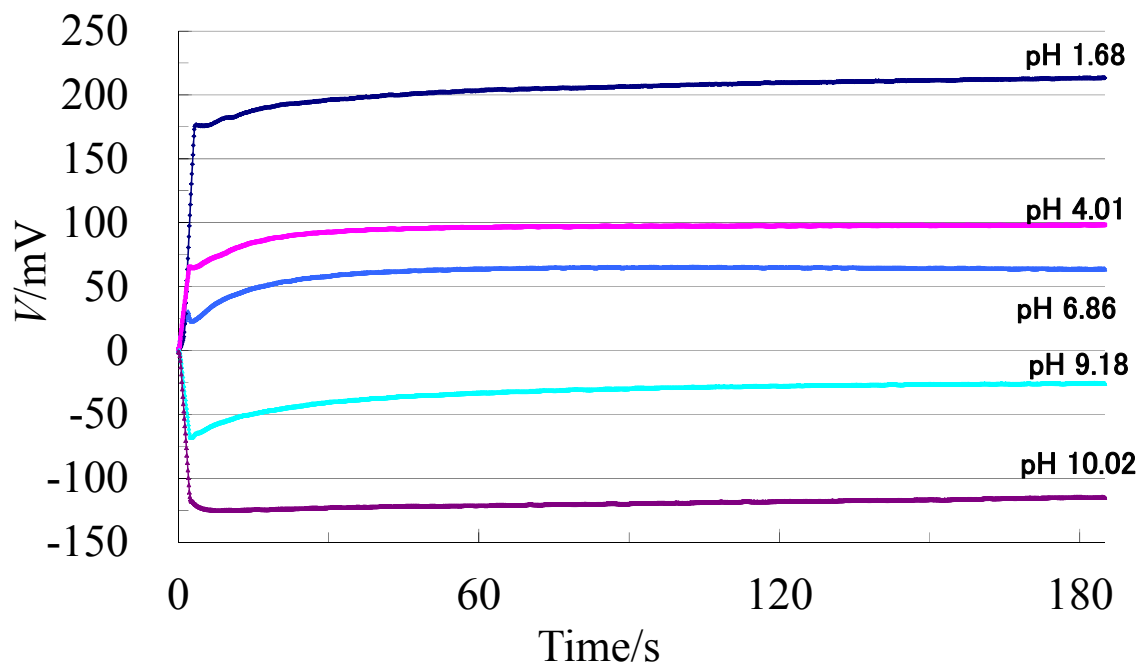


Fig.7.3.4 平面 pH センサ pH-電圧経時特性

Fig.7.3.4 より pH-電圧特性実験の結果 90-120 秒間の平均値を基に, pH-電圧特性を Fig.7.3.5 に示す. 各点の標準偏差は, 1.0 以下と小さくエラーバーは表示できない.

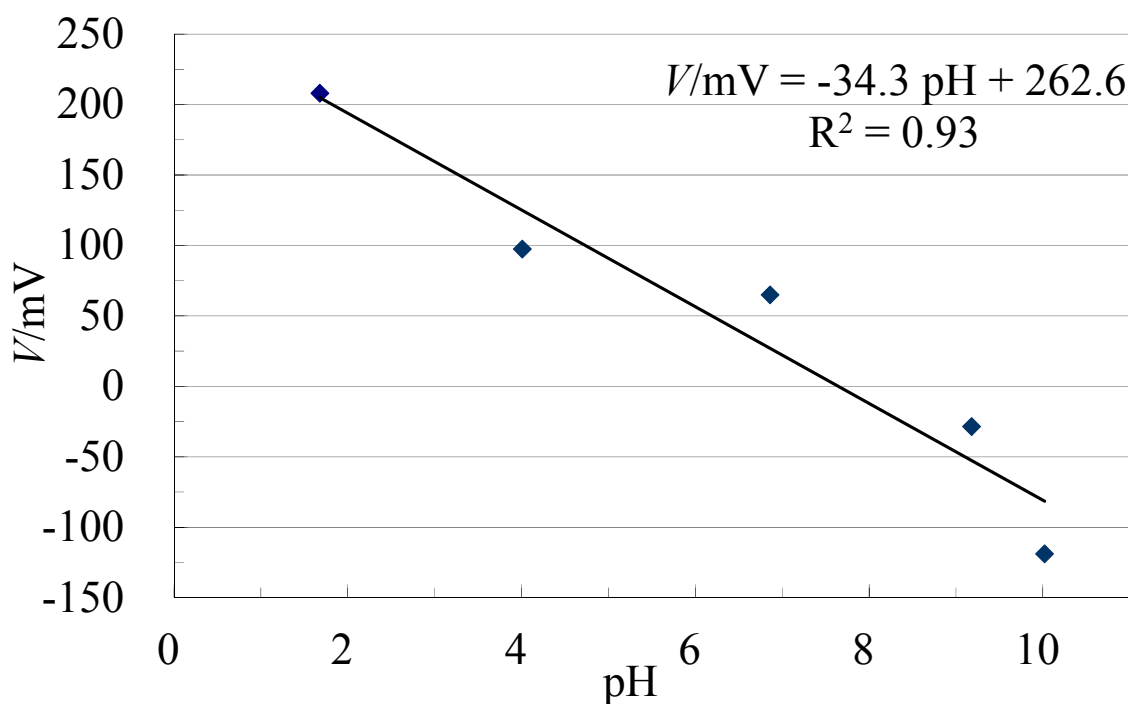


Fig.7.3.5 平面 pH センサ pH-電圧経時特性(90-120 秒間)

$$\text{pH-電圧特性式} : V_{\text{mV}} = -34.3 \text{ pH} + 262.6 \quad R^2 = 0.93 \quad (7.2)$$

実験結果より、新たに開発した平面乾式 pH センサにおいて、pH-電圧特性は決定係数($R^2 = 0.93$)と高い線形性を有していることが確認された。

7.4 まとめ

- 校正手法の検討として、乾式 pH センサの pH・電圧特性実験の手法について検討した。また、pH・電圧特性実験から乾式 pH センサの pH に対する応答の傾向を確認した。
 - (a) シャーレ内の pH 標準溶液にセンサを浸けた状態と、サンプリングシートをセンサ電極上に乗せ pH 標準溶液を滴下する手法により、乾式 pH センサの pH・電圧特性実験を行った。その結果、サンプリングシートを用いて計測した pH・電圧特性においても高い線形性が得られる事が確認された。皮膚測定時の状態に近いと考えられる、サンプリングシートを用いる手法を特性実験に採用する。
 - (b) 乾式 pH センサの pH・電圧特性を経時的に 5 分間計測し、30 秒間隔ごとの電圧平均値と溶液 pH 値との関係を検証した結果、乾式 pH センサがどの 30 秒間の電圧平均値を用いて導いた一次近似直線においても高い線形性を持つ事が確認された。
- 乾式 pH センサの pH・電圧特性の劣化に対し、アルコルビン酸水溶液による洗浄手法の検討を行い、洗浄前後の pH・電圧特性を比較した。
 - (a) アスコルビン酸溶液による洗浄により、乾式 pH センサの pH・電圧特性の回復を試みた結果、pH・電圧特性に改善が見られた。洗浄前後の pH・電圧特性では、どちらも線形性を保っていることが確認された。
 - (b) アスコルビン酸溶液による洗浄によって、銀/塩化銀電極の還元も同時に進んでしまい、特性式の切片の変動と、センサ表面色の変化が確認された。特性式の傾きに若干の改善が得られた事から、センサ特性の改善を目的として、白金線電極のみをアスコルビン酸水溶液で洗浄する手法が有効である可能性がある。
- 新しい平面型乾式 pH センサについて pH・電圧特性実験を行った。
 - (a) 平面型の新しい平面乾式 pH センサについて、5 種類の pH 標準液とサンプリングシートを用いた pH・電圧特性を実施した。平面型乾式 pH センサが高い線形性($R^2 = 0.93$)を有することを確認した。

第 8 章 皮膚 pH 測定実験

8.1 評価パラメータ検討実験

8.1.1 目的

皮膚 pH 計測実験において 2 分間の測定の結果、皮膚 pH 測定時の測定電圧値にばらつきがあり、測定結果から、電圧値の特徴点を見出す必要がある。現在、評価パラメータとしている平均電圧値(90-120 秒間)に加えて、二次微分のピークトップ電圧値を評価パラメータとして検討する事を目的として皮膚 pH 測定実験を行った。

8.1.2 装置と方法

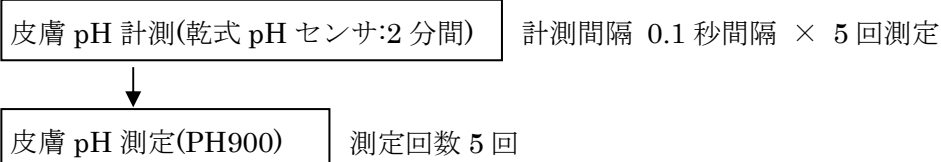
[a] 実験装置

- (i) 乾式 pH センサ
- (ii) 皮膚 pH 計測システム
- (iii) 皮膚 pH 測定装置 : Skin-pH-meter PH900(C+K 製)

[b] 実験方法

恒温恒湿室内(23℃,30%Rh)において、被験者は成人男性 1 名とし、測定部位は右前腕屈側中央部を 15 分以上暴露した状態で待機後、測定を開始した。

[測定手順]



センサは測定ごとに、イオン交換水 → アルコール → イオン交換水の順で洗浄した。被験者にはノイズ防止の目的で、被測定腕の手首から心電図用四肢電極を用いてアースに接続した。

[c] 測定部位

前腕屈側中央部において、隣接する 2 箇所(部位 a, b)を測定対象とした。ほぼ同様な皮膚 pH の皮膚を測定するため、測定部位をこのように設定した。

8.1.3 結果と考察

Fig.8.1.1, 8.1.2 に乾式 pH センサにより計測された皮膚 pH 測定電圧値を示す。PH900 による測定の結果、前腕屈側中央部の隣り合う測定部位の皮膚 pH はどちらも 4.7[pH]であった。

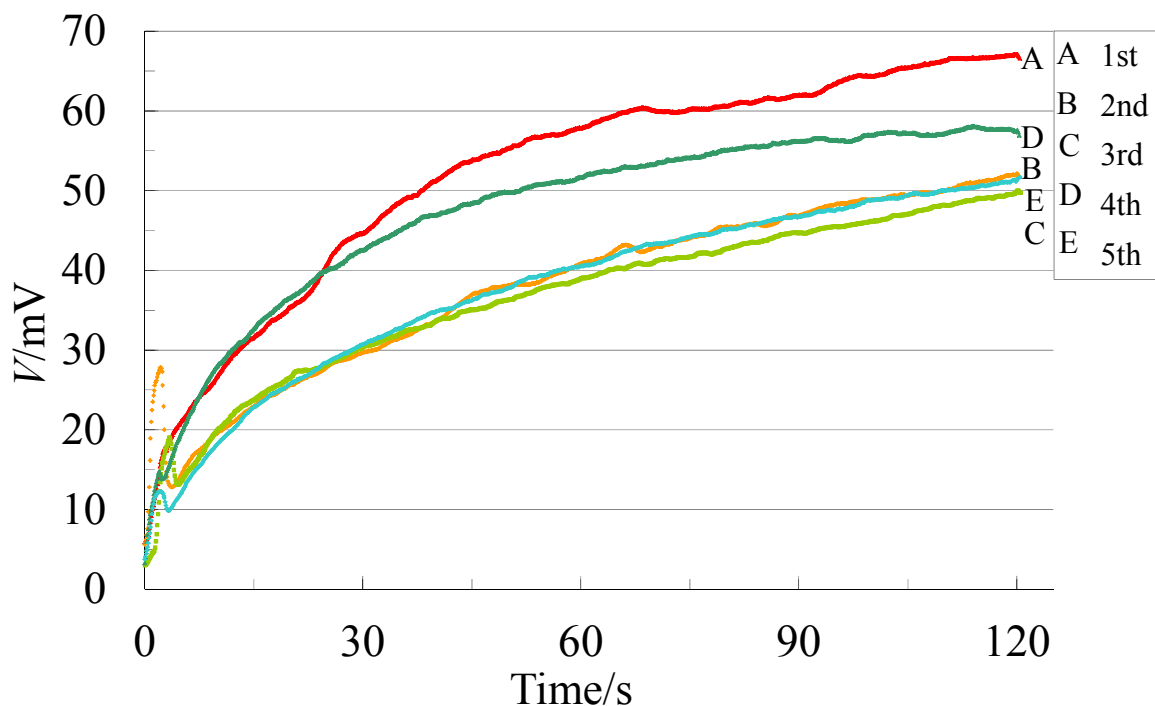


Fig.8.1.1 皮膚 pH 測定電圧値(部位 a)

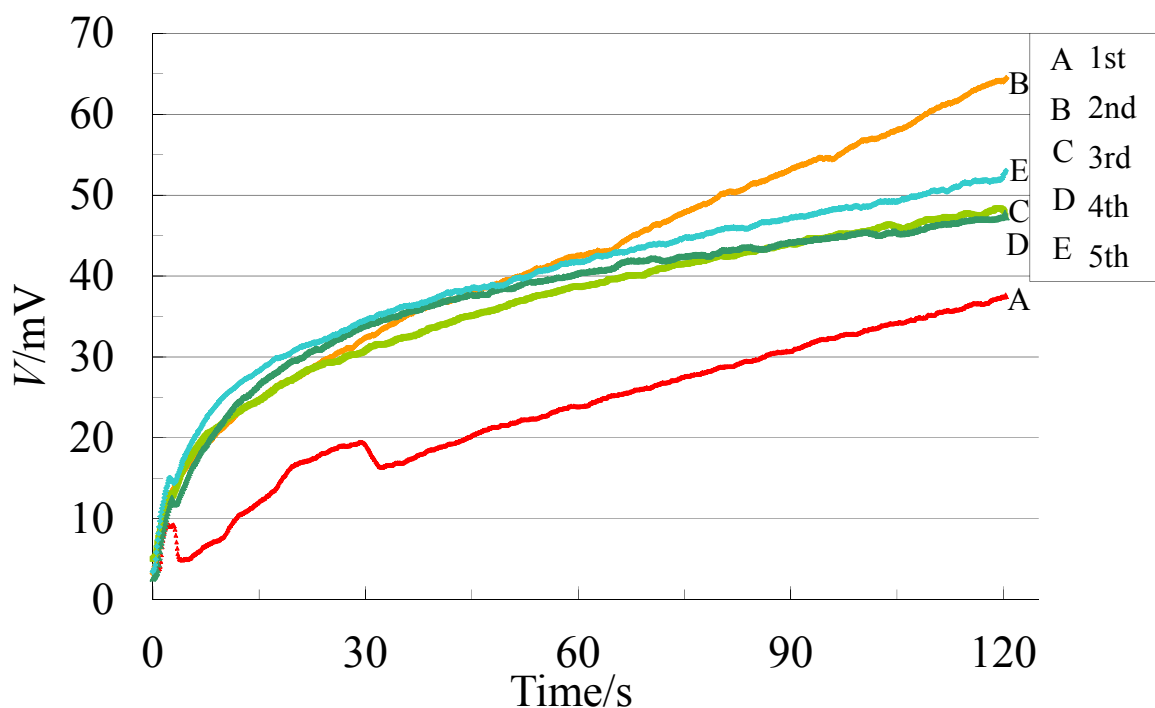


Fig.8.1.2 皮膚 pH 測定電圧値(部位 b)

Fig.8.1.1, 8.1.2 の皮膚 pH 測定時におけるセンサの電圧変化を化学反応現象として捉えると、センサ応答は、以下のように考えられる。

(a)乾式 pH センサの応答は、初期の急激な立ち上がりは水素イオン H^+ の保護膜通過に基づく応答で、求めている pH 応答と考えられる(Fig.8.1.3)。後半の緩やかな勾配の応答は、何らかの酸化性物質の膜移動に伴う応答と考えられる。応答が穏やかな原因には、水素イオンよりもサイズが大きい為に、膜中の移動速度が小さい事が考えられる。電圧の単調増加傾向の原因は、皮膚上に存在している酸化性物質の影響が考えられる。

測定された乾式 pH センサ電圧値のどの部分の電圧値をセンサによって測定された pH 値とするかは、初期の急激な立ち上がり部分が水素イオンの pH 応答に関係すると考えられ、Fig.8.1.3 のように初期の急激な立ち上がり部分の二次微分波形のピークトップ時電位を pH 値として測定する方法が考えられる。

(b)測定回数とともに応答曲線が全体的に高電位側にずれる現象について

測定ごとに電極表面を洗浄しているが、洗浄が不十分だと生体成分が汚れとなって表面に残留蓄積し、そのような成分が酸化性物質を含むと測定回数を重ねるごとに高い電位へより早く到達する事になると考えられる(Fig.8.1.4)。その一方で、汚れが表面を被ってくると、水素イオンの移動速度にも影響を及ぼし、初期の応答曲線勾配が測定の回数を重ねるごとに低下すると予想される。

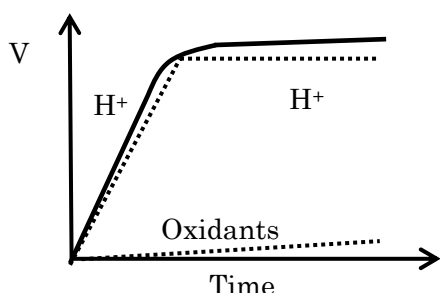


Fig.8.1.3 H^+ と酸化性物質の応答

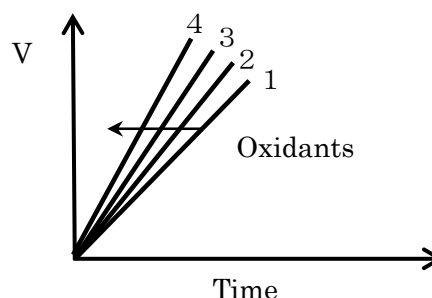


Fig.8.1.4 測定回数と酸化性物質の影響

Fig.8.1.1, 8.1.2 より、90-120 秒間の平均電圧値、二次微分のピークトップ電圧値、の 2 つの測定電圧値を求めた。各測定について求めたパラメータのすべての平均値に対し、平均値からの偏差量が大きい 2 回を除く 3 回の計測値の平均値をその測定部位の特徴点としてまとめた。

Table 8.1.1 - 8.1.4 に電圧平均値(90-120 秒間)、二次微分のピークトップ電圧値について、抽出された 3 回の測定値と、平均値(Ave.)、標準偏差(S.D.)、変動係数(C.V.)を両部位について示す。Data No の A - E は、測定回数 1 - 5 回に対応している。

Table 8.1.1 電圧平均値(部位 a)

Data No	90-120(Ave.)[mV]
B	49.4
C	47.1
E	49.1
Ave.	48.53
S.D.	1.27
C.V.	0.026

Table 8.1.2 電圧平均値(部位 b)

Data No	90-120(Ave.)[mV]
C	46.1
D	45.6
E	49.5
Ave.	47.02
S.D.	2.12
C.V.	0.045

Table 8.1.3 二次微分ピークトップ(部位 a)

Data No	Peaktop[mV]
A	14.7
C	15.2
E	10.1
Ave.	13.33
S.D.	2.81
C.V.	0.211

Table 8.1.4 二次微分ピークトップ(部位 b)

Data No	Peaktop[mV]
A	5.7
C	7.0
E	6.6
Ave.	6.43
S.D.	0.67
C.V.	0.103

Table 8.1.1 - 8.1.4 の結果, 測定電圧値の 90-120 秒間の平均値による特徴点抽出法では, 両部位とも同様な傾向のグラフが抽出された. 二次微分ピークトップ値では, 初期立ち上がりの傾向が同様な傾向のグラフが抽出された.

両部位の各パラメータの比較を行った. ガラス電極により測定された皮膚 pH は, 両部位とも pH 4.7 と測定された.

[A] 電圧平均値(90-120 秒間)

両部位の電圧平均値は, それぞれ 48.5 mV, 47.0 mV とほぼ同じ電圧平均値が得られた. 測定電圧値の平均電圧値の標準偏差は, 最大約 2 mV であり測定同士のばらつきも小さい.

[B] 二次微分ピークトップ電圧値

二次微分ピークトップでの電圧値は, 初期立ち上がりの変動の影響を受けやすいために, 抽出と評価がしにくい可能性があると考えられる. 両部位の平均ピークトップ電圧値は, 13.3 mV, 6.43 mV とばらついている.

式(8.1)に, 皮膚 pH 測定実験当日にサンプリングシートを用いた特性実験により 90-120 秒間の平均電圧を基にして得られた pH-電圧特性式を示す.

$$\text{pH-電圧特性式} : V/\text{mV} = -22.4 \text{ pH} + 152.2 \quad (\text{pH } 1, 4, 6) \quad (8.1)$$

Table 8.1.5 に電圧平均値とピークトップ電圧値それぞれの平均値を, 式(8.1)pH-電圧特性により pH 値に実験的に変換した結果を示す.

Table 8.1.5 pH 変換結果

部位	90-120(Ave)[pH]	Peaktop[pH]
a	4.62	6.19
b	4.69	6.50

実験的に, pH 値に変換した結果, 電圧平均値, ピークトップそれぞれ, ガラス電極により測定されている pH 値に近い pH として変換された. サンプリングシートを用いた特性実験で得られた pH-電圧特性は, 溶液に浸して得られた特性式に比べ電圧が低いことは, 前章で述べた. その結果, 4.4.3 で述べたような, 高すぎる pH 値に変換されなかったと考えられる.

Table 8.1.1, 8.1.2 の電圧平均値では, 測定電圧値の偏差が 1.51 mV と比較的小さく pH 値に変換した後も, 偏差は pH 0.07 と小さい. 一方, Table 8.1.3, 8.1.4 のピークトップ電圧では偏差が 6.9 mV と比較的大きく, pH 値に変換した後も, pH 0.31 と pH 値は電圧値の違いがそのまま反映されている.

この結果から今後、乾式 pH センサ測定において、測定結果の評価パラメータとして、pH に変換前の電圧値の状態で pH との関係を検討し、従来手法によって測定された皮膚 pH 測定結果との関係を明確に示すような、適切なパラメータの選定が必要とされている。

電圧平均値の評価手法で、ガラス電極に近い pH 値が測定されたが、測定部位が 2 箇所と少ないため、pH 変換手法として確立するためには、更なる検討が必要である。具体的には、被験者数もしくは測定部位を増やし検証を行う事が考えられる。

皮膚 pH 測定電圧の傾向を抽出するパラメータとして、平均電圧値とピークトップ電圧について検討した。2 箇所の皮膚を測定した結果から、電圧平均値ではグラフの大まかな傾向を捉えているのに対し、ピークトップ電圧は初期立ち上がり部分の比較的細かい範囲の傾向を捉えうると考えられる。今後、皮膚水分量による同一部位の測定などと、上記パラメータとの関係についても検討を進める。今回のパラメータ抽出の結果、ばらつきの少なさから、電圧平均値が評価パラメータとして有力である。

8.2 健常/アトピー部位の比較実験

8.2.1 目的

皮膚の健康な部位とアトピー部位について、乾式 pH センサが皮膚 pH の違いを測定しうるかを検証する目的で皮膚測定実験を行った。また、これまでに行った実験において、皮膚を乾式手法により測定した結果、測定中センサ出力電圧が経時的に増加する傾向が観察されている。この増加傾向は、乾式手法により皮膚表面 pH を測定する場合に、皮膚からの水分蒸散(経皮水分蒸散: Trans-Epidermal Water Loss: 以下 TEWL)の影響を受けたものである可能性が考えられる。TEWL と皮膚水分量についても同一部位について測定を行い、増加傾向との関係について検討した。

8.2.2 装置と方法

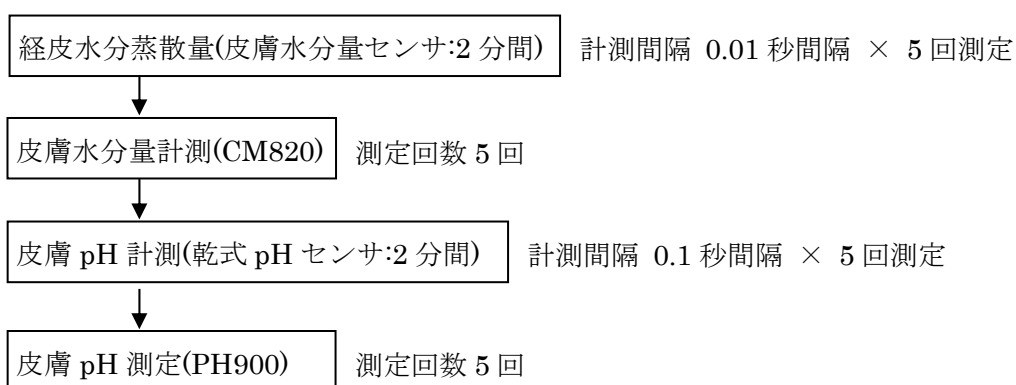
[a] 実験装置

- (i) 乾式 pH センサ
- (ii) 皮膚 pH 計測システム
- (iii) 皮膚 pH 測定装置 : Skin-pH-meter PH900(C+K 製)
- (iv) 皮膚水分量測定装置 : Corneometer CM820(C+K 製)

[b] 実験方法

恒温恒湿室内(23℃,30%Rh)において、被験者をアトピー既往の成人男性 1 名とし、測定部位である前腕屈側中央部を 15 分以上暴露した状態で待機後、測定を行った。センサは測定ごとに、イオン交換水 → アルコール → イオン交換水の順で洗浄した。被験者にはノイズ防止の目的で、被測定腕の手首から心電図用四肢電極を用いてアースに接続した。

[測定手順]



(a) 経皮水分蒸散量(TEWL)

本研究室で研究中の楕形電極を用いて、120 秒間の計測を計 5 回行った。センサを皮膚に当てた直後から、定常増加する電気伝導度の一次近似直線の傾き変化を TEWL として評価する手法により測定を行った⁴²⁾。

(b) 皮膚水分量

Corneometer CM825(C+K 製)により、計 30 回の測定を行った。皮膚表層の誘電率が水分量に依

って変化する原理によるもので，単位は任意単位(arbitrary unit [a.u.])である．

(c) 乾式 pH センサ

皮膚 pH 計測システムを用いて，乾式 pH センサ測定電圧を計測する．測定時間は 120 秒間の計測を 5 回，計測周期を 0.1 秒間隔とした．

(d) 湿式のガラス電極方式の pH 計測

Skin-pH-meter PH900 (C+K 製)を用いて計 5 回測定した．測定時間は 3 秒間で精度は ± 0.1 pH であり，平均値を皮膚 pH 値とする．

実験結果は，それぞれ 2 箇所を比較する目的で，(a)は傾き 10，(b)は 100[a.u.]，(c)は 100 mV により測定結果の正規化を行った．

[c] 測定部位

測定部位の決定は目視確認により，健常部位として前腕屈側中央部を，アトピー部位として皮膚に多少の炎症(赤み)が観察された肘から 11 cm の上腕屈側部を測定対象とした．



Fig.8.2.1 測定部位

8.2.3 結果と考察

Fig.8.2.2 に健常部位とアトピー部位を乾式 pH センサにより計測した 5 回の測定値の平均値を正規化 (100 mV) し, 標準偏差のエラーバーを示す.

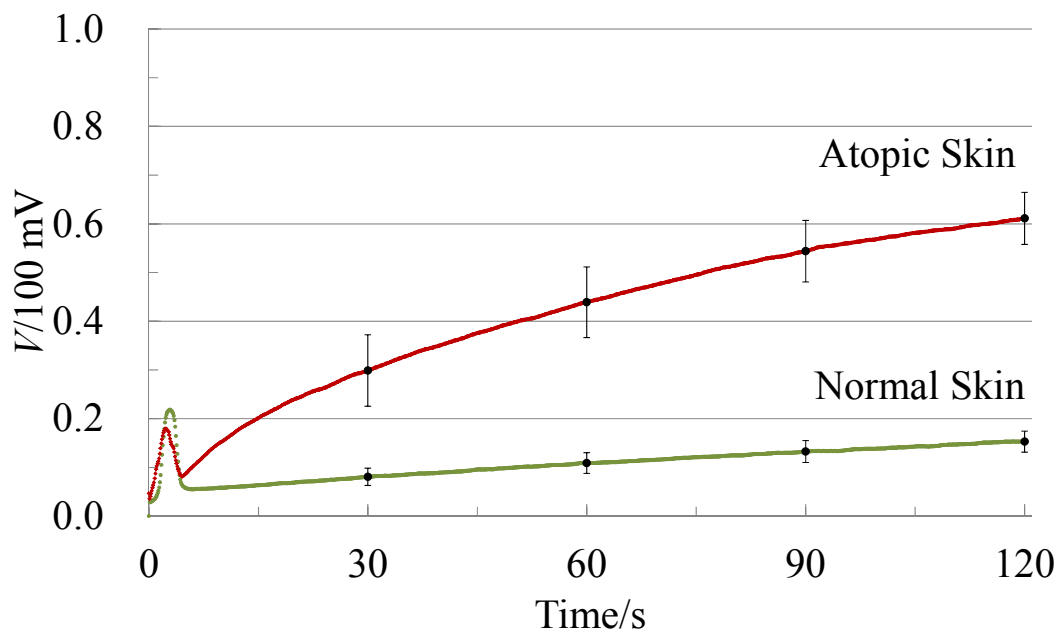


Fig.8.2.2 乾式 pH センサによる健常/アトピー部位測定電圧

乾式 pH センサによる測定電圧値に, 健常部位とアトピー部位の違いによるとと思われる違いが明確に現れている. 測定におけるばらつきは, アトピー部位において大きく, 健常部位においてばらつきが小さい傾向が観察された.

次に示す特性式は皮膚測定実験の当日, サンプルシートによる特性実験により 5 種類の pH 標準液についての得られた 90-120 秒間の平均電圧を基にした.

$$\text{pH-電圧特性式} : V/\text{mV} = -19.1 \text{ pH} + 135.5 \quad (8.2)$$

Fig.8.2.3 に式(8.2)を用いて, 健常/アトピー部位の乾式 pH センサ測定電圧値を pH 値に変換した結果を示す.

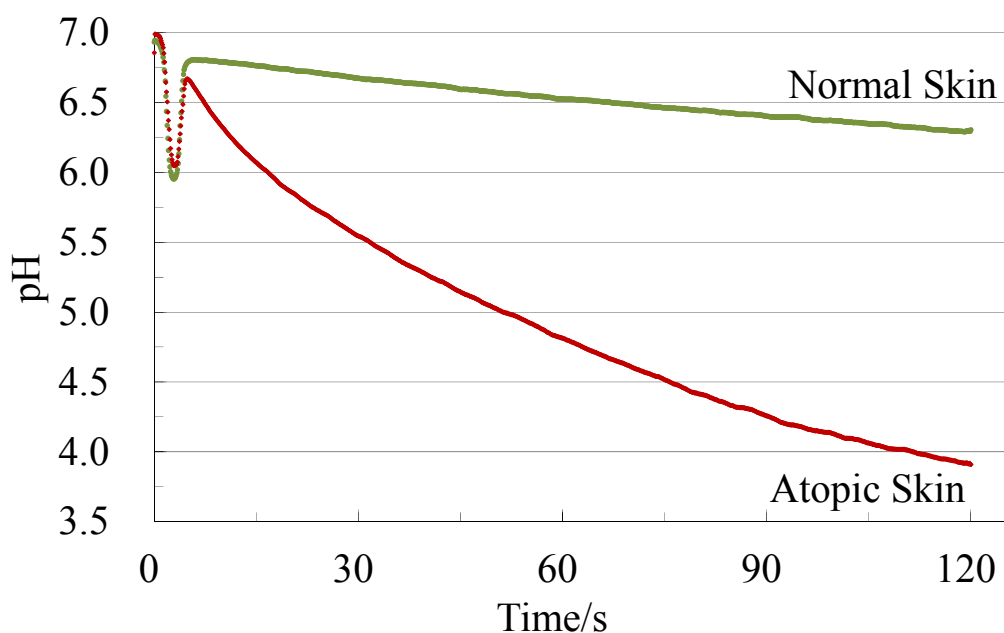


Fig.8.2.3 乾式 pH センサによる皮膚 pH 測定結果

Fig.8.2.4 に健常/アトピー部位の測定電圧平均値(90-120 秒間)をセンサ pH-電圧特性に従い pH 値に変換した結果を示す. Fig.8.2.5 にガラス電極による皮膚 pH 測定結果を示す.

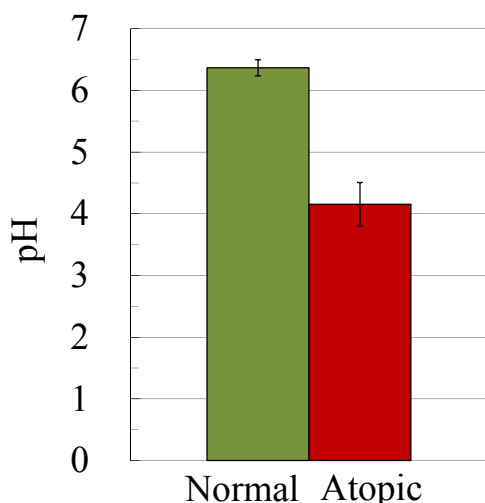


Fig.8.2.4 乾式 pH センサによる皮膚 pH 値

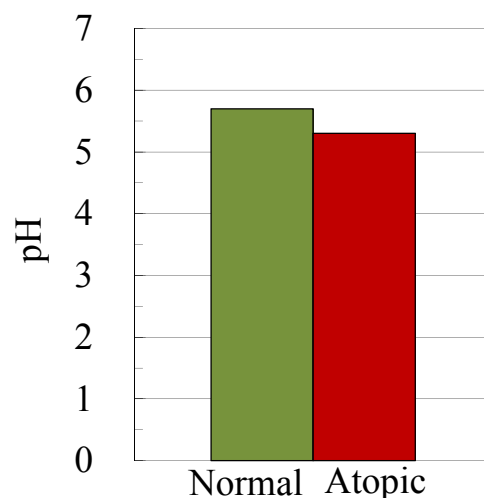
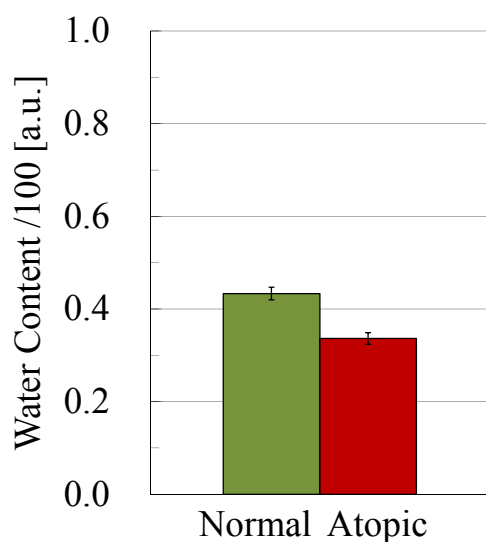


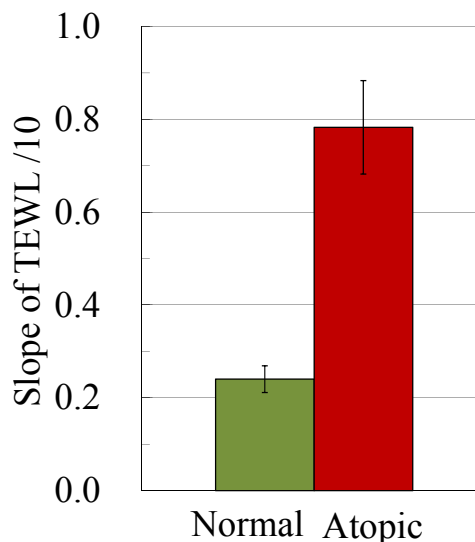
Fig.8.2.5 ガラス電極による皮膚 pH 値

乾式 pH センサ電圧平均値(90-120 秒間)を pH-電圧特性式より pH 値に変換した結果は, ガラス電極により測定された測定結果と同様な pH 値としては得られなかった. その一方で, 健常/アトピー部位の両者の違い, pH の大小関係については乾式 pH センサでより大きな差として検出された.

Fig.8.2.6 に, 健常/アトピー部位について皮膚水分量と経皮水分蒸散量(TEWL)の傾きの比較結果を示す.



(a) 皮膚水分量



(b) 経皮水分蒸散量

Fig.8.2.6 皮膚水分量と経皮水分蒸散量の比較

アトピー部位では, 皮膚のバリア機能低下により, 皮膚に水分を保持することが難しく, その為に体内からの TEWL が多くなる傾向が指摘されている. Fig.8.2.6 におけるアトピー部位の健常部位との比較から, アトピー部位では皮膚水分量は低く, TEWL は多くなる結果が得られた. この結果から, 測定部位がアトピー肌の特徴を示しており, 適切な部位選定が裏付けられた.

Fig.8.2.3-5 の測定結果から、乾式 pH センサによる皮膚 pH 測定結果は、湿式のガラス電極による測定結果と異なる pH 値に変換され、従来手法同様の pH 値は得られていない。この要因には、乾式と湿式の計測手法の相違、及び Fig.8.2.6 (b)に示した TEWL の傾向が異なる事が原因と考えられる。

また、Fig.8.2.4, 乾式 pH センサによる測定電圧値と、Fig.8.2.6 (a)の皮膚水分量においても、健常部とアトピー部の大小関係の傾向が似ており、乾式 pH センサによる測定電圧が皮膚水分量の影響を受けている可能性が考えられる。Fig.8.2.5 より、アトピー部位と健常部位の湿式測定の違いは 0.4[pH]程度であった。乾式 pH センサでも 2.2[pH]程の違いとして検出されているが、pH-電圧特性および皮膚水分蒸散の影響を含むために大きな違いとなっていると想定される。健常/アトピー部位の違いが 0.5[pH]程度あり、乾式 pH センサが皮膚水分量および蒸散量を含めて測定しているとする、部位の違いの検出に役立つことが期待される。現状では、乾式 pH センサの乾式測定における変換式に課題があるため、測定電圧値についても検討した。

Fig.8.2.7 に正規化後の乾式 pH センサ(90-120 秒間)平均電圧値を示す。

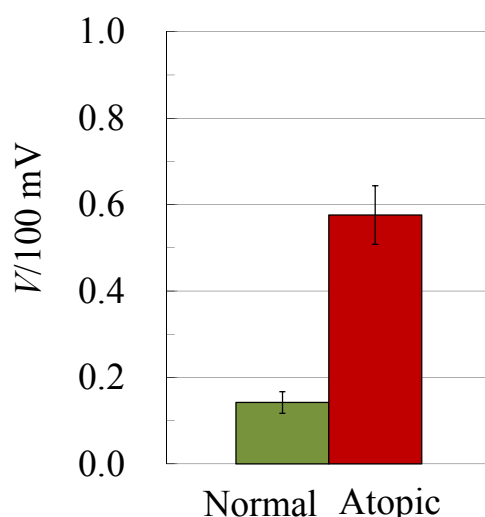


Fig.8.2.7 乾式 pH センサ平均電圧値(90-120 秒間)

Fig.8.2.7 乾式 pH センサの平均電圧値の傾向は、Fig.8.2.6 の経皮水分蒸散量の大小関係と傾向が似ていると考えられる。2 分間の測定中にも、皮膚からは水分蒸散があり、微量な水分の蓄積が、乾式 pH センサ測定電圧値の増加に関与していると推測される。従って、乾式 pH センサの乾式手法による皮膚 pH 測定結果は、TEWL の影響を受けた皮膚 pH 測定結果であると考えられる。

皮膚水分蒸散量が大きい、アトピー部位と健常部位の比較実験から、アトピー部位における乾式 pH センサの測定電圧値は、健常部位と比較して明らかに大きな結果が得られた。この結果から、乾式 pH センサによる乾式手法を用いた皮膚 pH 測定では、皮膚水分蒸散の影響を大きく受けることが推測される。また、アトピー部位では、健常部位と比較して、脂肪酸結合タンパクやアルブミンなど特異なタンパク質が有意に検出されたとの報告がなされている⁴³⁾。乾式 pH センサが、これらの特異なタンパク質による影響により、アトピー部で乾式 pH センサが大きな電圧値を検出していた可能性も考えられる。

今後、乾式 pH センサによる乾式手法による測定では、従来手法による皮膚 pH に加えて、皮膚水分量、皮膚水分蒸散量を合わせて測定を行う事が考えられる。複数の測定部位において湿式と乾式手法による皮膚 pH センサと、水分蒸散量と皮膚水分量の関係から、皮膚水分蒸散量、皮膚水分量の影響を取り除くことで、乾式 pH センサを用いた乾式手法による皮膚 pH 測定が可能となると考えられる。

8.3 皮膚水分蒸散の影響確認実験

8.3.1 目的

乾式 pH センサ、および乾式平面 pH センサによる測定値は、皮膚 pH 測定中に定常増加する傾向が確認されているが、どの部分が水分蒸散量による影響か特定出来ていない。そこで、皮膚 pH 測定中にセンサに覆われたままになる皮膚について、pH 測定の隣接部位において皮膚水分量を連続的に測定し、皮膚水分蒸散の影響として定常増加する傾向を乾式 pH センサと比較し、その影響を明らかにする事を目的とした。

8.3.2 装置と方法

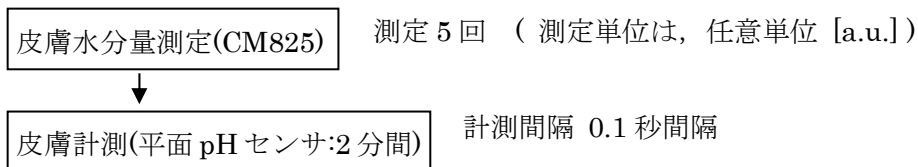
[a] 実験装置

- (i) 平面型乾式 pH センサ
- (ii) 皮膚 pH 計測システム
- (iii) Skin-pH-meter PH900 (C+K 製)
- (iv) Corneometer CM825 (C+K 製)

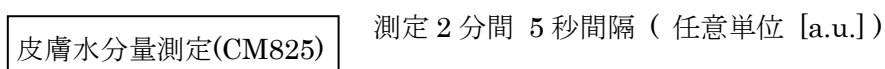
[b] 実験方法

測定前に 4.2.2 の方法により零点調整を行った。実験は、すべて恒温恒湿室内(23℃, 30%Rh)において行った。計測時間は 2 分間、測定周期は 0.1 秒とし、被験者の前腕屈側中央部を空气中に暴露した状態で 15 分間安静にした後に測定を実施した。被験者は成人男性 3 名(A, B, C)とした。

[測定手順]



上記測定を 5 回行った後に、同一部位について、以下の測定を行った。



2 分間の測定中 CM825 プローブの先端は、皮膚から離さずに 5 秒ごとにプローブを押し下げて測定し、センサを皮膚に当てた状態における皮膚水分量の測定を実施した。

水分量センサプローブの先端は、楕形電極がガラス膜でコートされた平らな構造をしており、皮膚に注意深く当て続けることで測定中の皮膚水分蒸散による水分をガラス膜と皮膚の間で蓄積すると考えられる。

平面型乾式 pH センサもガラス基板上に、平らな作用電極と参照電極を有しており測定中の皮膚からの水分蒸散の影響を受けていると考えられる。今回、測定中の電圧定常増加のどの部分が水分蒸散の影響であるかを比較する。

センサは測定ごとに、イオン交換水 → アルコール → イオン交換水の順で洗浄した。被験者にはノイズ防止の目的で、被測定腕の手首から心電図用四肢電極を用いてアースに接続した。また、測定結果の平面 pH センサ測定電圧値は、移動平均により平滑化の処理を行った。

8.3.3 結果と考察

平面 pH センサ電圧計測の結果，測定が不安定で電圧値が大きく変動した結果が含まれていた．変動要因として，新しいセンサのため測定手法や生体計測特有な不安定さによるものが含まれている事が考えられる．そこで検討に先立ち，測定結果を以下の条件で選別して評価した．

平面 pH センサの電圧値についての評価対象範囲は，

- a) 3-8 秒間 ： 初期立ち上がり部分
- b) 30-120 秒間 ： 定常増加の全体的な傾向
- c) 90-120 秒間 ： 定常増加の終盤部分の傾向

として，各範囲の回帰分析により，電圧変化の傾き a [mV/t] と y 切片 b を求めた．安定的に計測された結果として，範囲 a-c の全てにおいて R^2 値が 0.9 以上，かつ回帰分析の標準誤差が 2.5 mV 以下となる測定結果を選定した．

Table 8.3.1 に選定された測定結果を示す．回帰直線を $y[mV]=ax[t]+b$ とした．

Table 8.3.1 選定された測定結果（被験者 A, B, C）

Subject		3-8 [sec]	30-120 [sec]	90-120 [sec]
A	a [mV/t]	1.91	0.41	0.238
	b [mV]	5.40	38.33	55.08
	R^2	0.95	0.96	0.98
	S.E.[mV]	0.68	2.09	0.33
	Ave.[mV]	15.9	68.9	80.0
	S.D.[mV]	2.9	10.8	2.1
	C.V.	0.183	0.157	0.026
B	a [mV/t]	0.41	0.21	0.178
	b [mV]	7.39	12.22	15.88
	R^2	0.96	1.00	0.98
	S.E.[mV]	0.13	0.27	0.21
	Ave.[mV]	9.7	28.2	34.6
	S.D.[mV]	0.6	5.5	1.6
	C.V.	0.065	0.197	0.045
C	a [mV/t]	1.80	0.28	0.15
	b [mV]	7.93	37.58	50.62
	R^2	0.99	0.93	0.98
	S.E.[mV]	0.23	1.96	0.19
	Ave.[mV]	17.8	58.7	66.2
	S.D.[mV]	2.7	7.6	1.3
	C.V.	0.151	0.129	0.020

Table 8.3.1 に示したように被験者 3 名の各 5 回の測定結果から，上記の条件を満たす結果は，それぞれ 1 回を選定した．選定前の測定結果は，付録に収録した．

Fig.8.3.1 に選定された平面乾式 pH センサによる皮膚 pH 測定結果を示す.

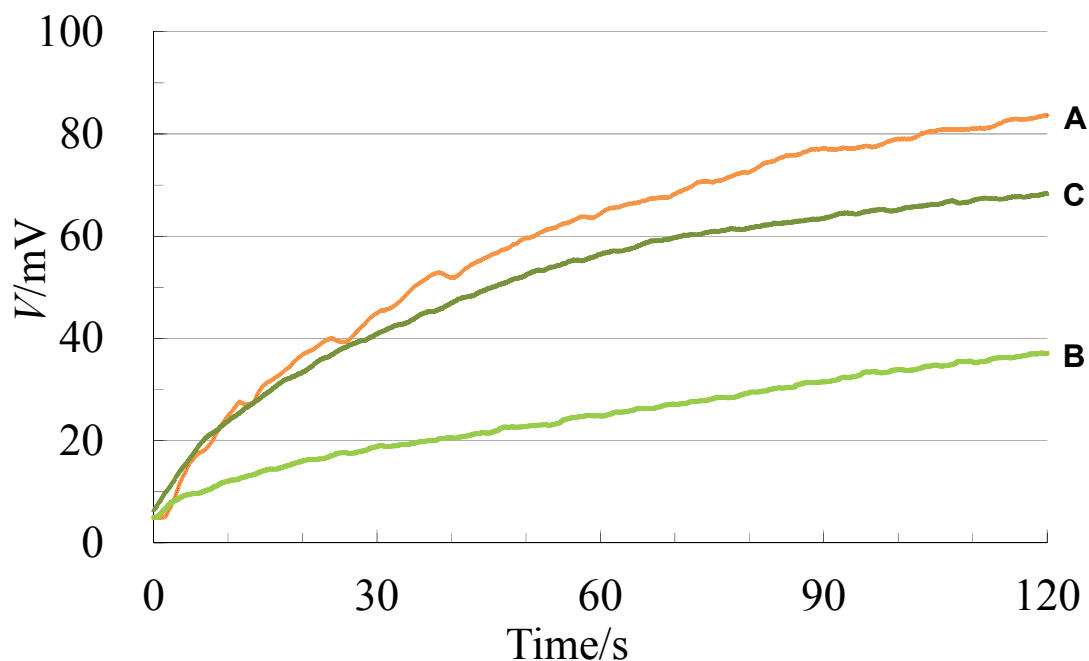


Fig.8.3.1 皮膚 pH 測定(被験者 A, B, C)

Fig.8.3.2 に皮膚水分量プローブを 2 分間当て続けて測定した, 皮膚水分量の増加傾向を示す.

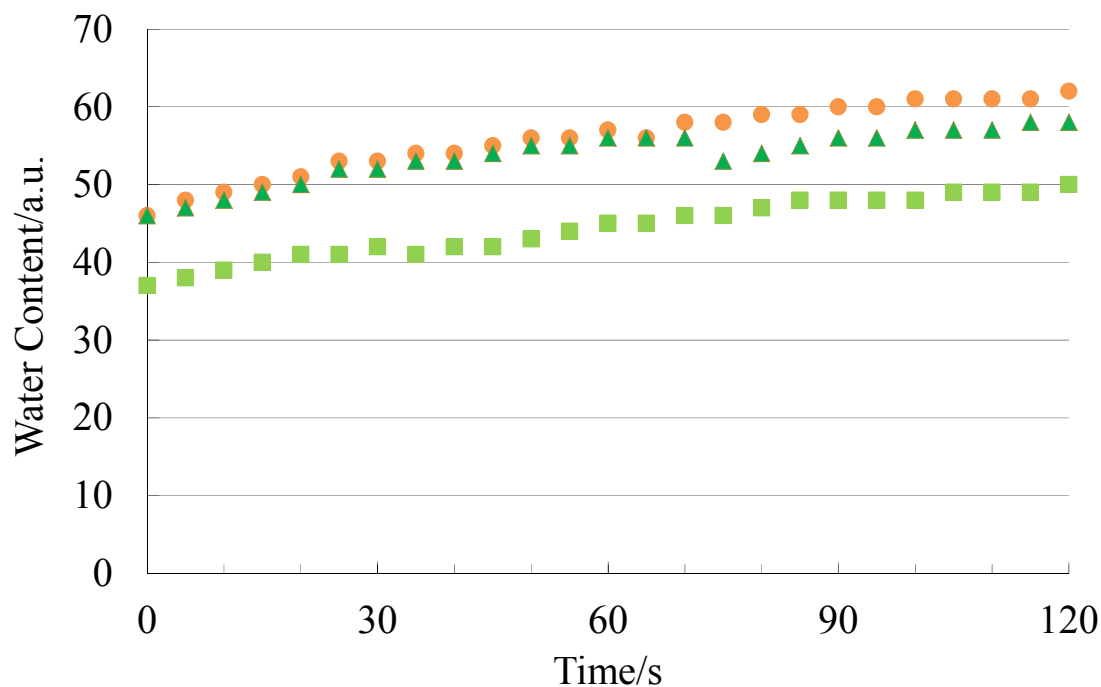


Fig.8.3.2 皮膚水分量 (被験者 A, B, C)の増加傾向

Fig.8.3.2 より, 被験者 C が中盤で測定中のずれが発生しているが, 直前までの定常増加の傾向と変わらない為, 皮膚水分量の 90-120[sec]について水分量の傾きを a' [a.u./t]として回帰分析により求めた. 皮膚水分量センサを皮膚に当て続けて測定しているため, 測定中の水分蒸散による水分蓄積の影響を反

映している．そこで，平面乾式 pH センサについても，Table 8.3.1 より測定終盤 90-120 秒間の電圧値の傾き a [mV/t]を得た．両者に強い相関があれば，乾式 pH センサの定常増加は，水分蒸散の影響であると考えられる．

Table 8.3.2 に平面乾式 pH センサと CM825(皮膚水分量)，それぞれの 90-120 秒間の傾きについての回帰分析値を示す．

Table 8.3.2 平面乾式 pH センサ/CM825 (90-120 秒間) 回帰分析値

Subject	平面乾式pHセンサ a [mV/t]	水分量 a' [a.u./t]
A	0.238	0.057
B	0.178	0.064
C	0.148	0.071

Fig. 8.3.3 に平面乾式 pH センサと皮膚水分量の傾きについて相関関係を示す．

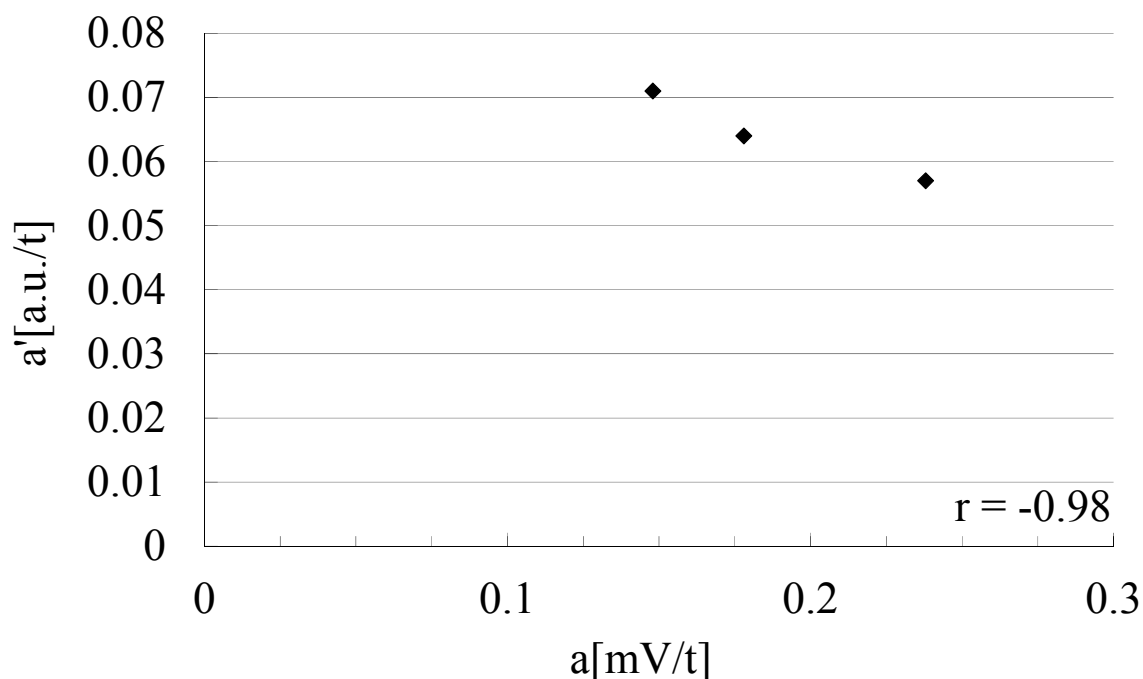


Fig.8.3.3 平面乾式 pH センサ/水分量の傾き相関関係

Fig.8.3.3 に，平面乾式 pH センサ(90-120 秒間)の増加傾向を示す傾きと，皮膚水分量(90-120 秒間)の相関を確認した結果，相関係数($r = -0.98$)と水分量センサの増加傾向と平面乾式 pH センサ定常増加傾向には，強い相関があることが確認された．このことから，平面乾式 pH センサの定常増加成分は，皮膚からの水分蒸散による影響であるといえる．

8.4 複数被験者についての測定実験

8.4.1 目的

乾式 pH センサ(乾式手法)による皮膚 pH 測定電圧と、従来からの PH900(湿式手法)による pH 値を比較する事を目的として、乾式 pH センサと既存の PH900 による皮膚 pH 測定実験を行った。乾式手法による皮膚 pH 測定で測定されるセンサ電圧が、皮膚表面 pH に基づく電圧値、または皮膚そのものの水分量の影響を受けていないかを確認するため、pH 測定部位に隣接する被験部位の皮膚水分量についても比較した。

8.4.2 装置と方法

[a] 実験装置

- (i) 乾式 pH センサ
- (ii) 皮膚 pH 計測システム
- (iii) Skin-pH-meter PH900 (C+K 製)
- (iv) Corneometer CM825 (C+K 製)

[b] 実験方法

測定前に 4.2.2 の方法により零点調整を行った。実験は、すべて恒温恒湿室内(23℃, 30%Rh)において、行った。測定前に被験者の前腕屈測中央部を空気中に暴露した状態で 10 分間安静後、測定を開始した。

被験者は成人健常者 4 名(S1-4)である。PH900 にて、5 分間 30 秒間隔で測定した後、乾式 pH センサにより同一部位の測定を行った。乾式 pH センサの測定は、120 秒間とし 0.1 秒間隔でセンサ電圧値を記録し、計 5 回の測定を行った。測定毎にセンサ、ガラス電極はイオン交換水で洗浄した。被験者にはノイズ防止の目的で、被測定腕の手首から心電図用四肢電極を用いてアースに接続した。また、測定者のアースの問題などから被験者自身にセンサの支持をお願いし計測した。PH900 による測定結果は、最大値と最小値を除く平均値を求めた。また CM825 による皮膚水分量測定は、pH 測定部位の隣接部位について、5 回測定し平均値を求めた。

8.4.3 結果と考察

Fig.8.4.1 に乾式 pH センサによる 120 秒間の測定の代表例として、5 回の測定の平均値と 30 秒毎(直前 2 秒間)の標準偏差をエラーバーにて表す。

90-120 秒間の測定結果を評価する根拠は、Fig.8.3.3 より乾式 pH センサの定常増加は、測定中の水分蒸散による影響であることが確認されていることがある。また、Fig.6.1.3 の 30 分間の測定結果から、センサ測定値が 90-120 秒間の平均値について 20-30 分間の平均値よりも皮膚 pH 値との高い相関が確認されている。合わせて、Fig.6.1.7 より 0-30 秒間の初期傾きと皮膚水分量の関連が否定しきれていないことから、90-120 秒間の範囲を評価検討の対象とした。

水分蒸散の影響を取り除くため、補正前 90-120 秒間の傾きを回帰分析により求め、式(8.3)により定常増加成分を時間関数とし、水分蒸散による定常増加分を 0-120 秒間の全ての範囲について、補正前の電圧値から差し引くことで、水分蒸散の影響を補正した。

$$\text{補正後 電圧値} = \text{補正前 電圧値} - \text{補正前の傾き(90-120 秒間)} \times \text{時間} \quad (8.3)$$

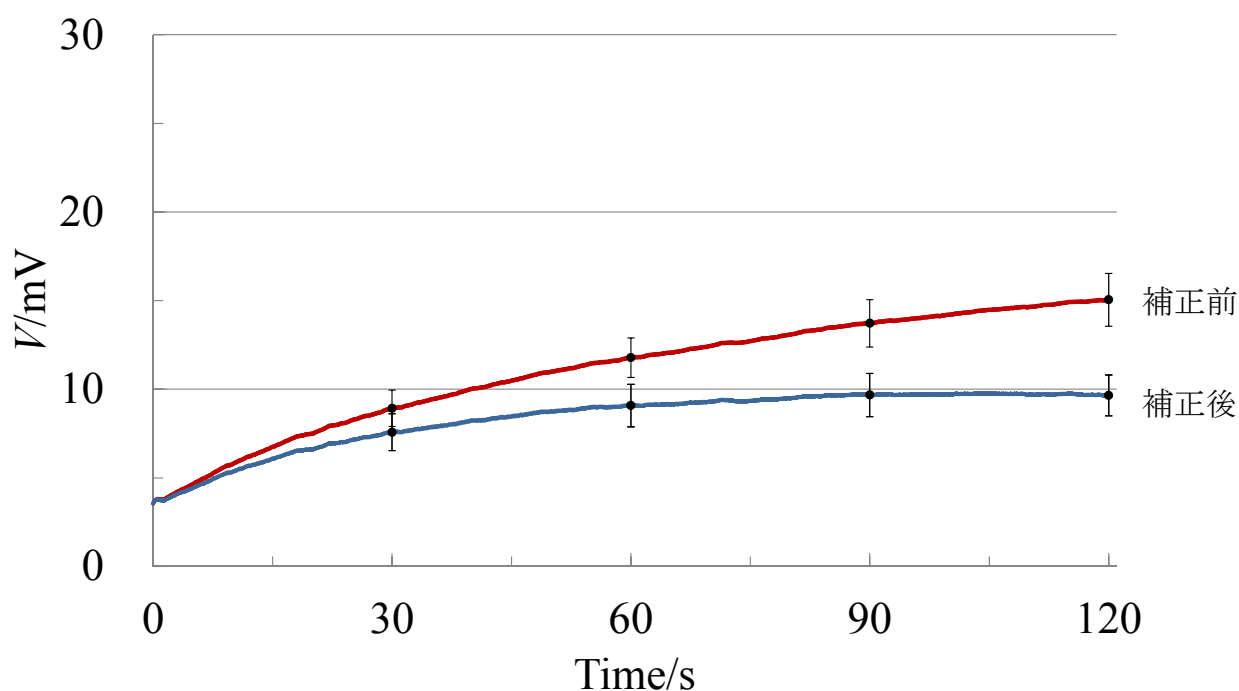


Fig.8.4.1 乾式 pH センサ測定結果(S1) 水分蒸散補正(前/後)

センサ電圧値は、測定中の水分蒸散の影響を除く処理を行い、全ての測定結果について、90-120 秒間でセンサ測定電圧が定常値に補正される事を確認した(例: Fig.8.4.1)。各被験者の測定は、それぞれに対して、水分蒸散の補正を行った 90-120 秒間のセンサ平均電圧値を求めた。

求められた 90-120 秒間間のセンサ平均電圧値は、測定毎のばらつきが大きいため、5 回の測定平均電圧値の最大と最小を除く 3 回を対象として、改めてセンサ平均電圧値と標準偏差を求めた。皮膚水分量(CM825)及び、PH900 ガラス電極による pH 値と、センサ平均電圧値との関連性を検討した。各測定値についての標準偏差はグラフ中のエラーバーにて示し、回帰分析による相関係数(r)または、線形近似による近似式と決定係数(R²)を合わせて示した。

Fig.8.4.2 に 4 名の被験者(S1-4)の CM825 による皮膚水分量と乾式 pH センサ平均電圧値(90-120 秒間)の関係を示す.

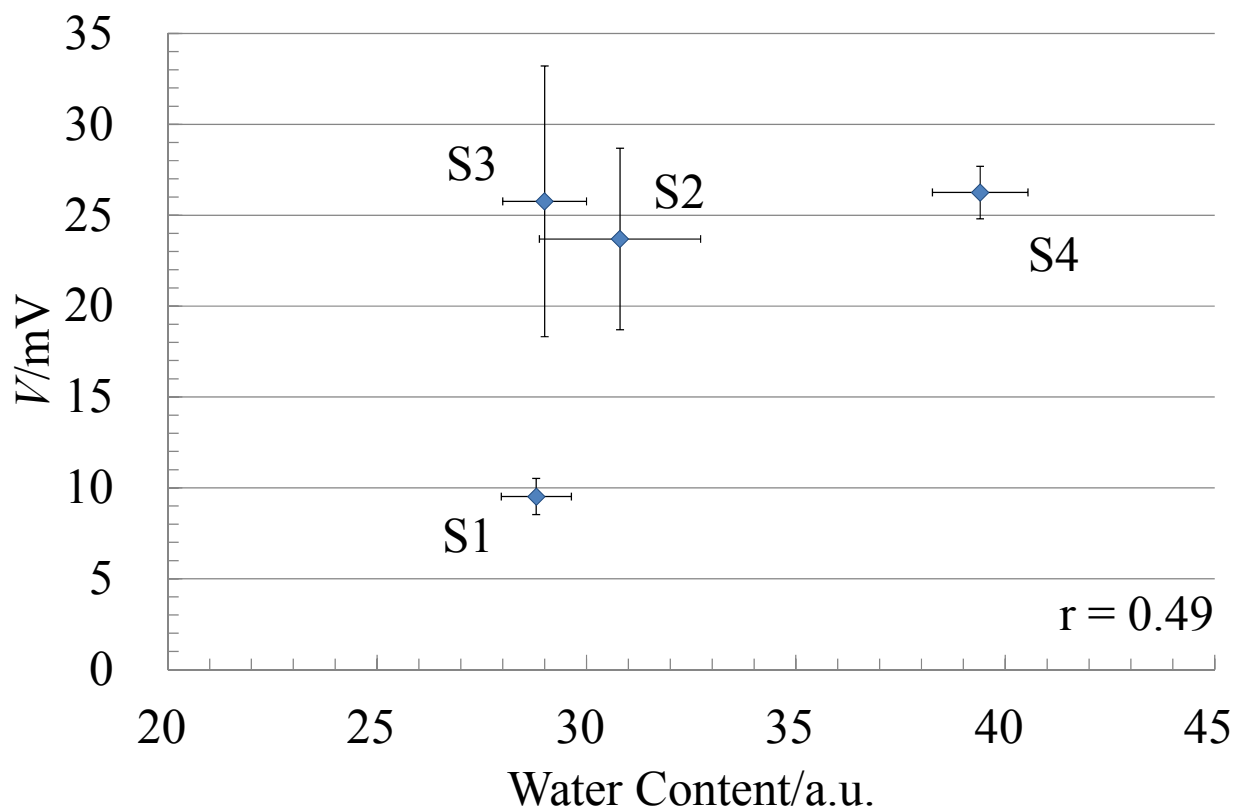


Fig.8.4.2 皮膚水分量と乾式 pH センサ測定電圧平均値(90-120 秒間)の関係

Fig.8.4.2 より乾式手法による乾式 pH センサ測定電圧(90-120 秒間)は, 皮膚の水分含有量と強い関連性を持っていないことが確かめられた($r = 0.49$). このことから, 乾式 pH センサの測定電圧は, 測定された約 30-40[a.u.]の範囲の皮膚について, 乾式 pH センサ(乾式)による測定で, 皮膚の水分含有量に従って測定電圧が大きく, あるいは小さくなる明確な影響を受けていないことが確認された. 皮膚水分量は, 皮膚バリアが強固であれば大きく, バリアに異常があれば小さくなると考えられ, 皮膚バリアの一端を担っている天然保湿因子(NMF)との関係から, 間接的に関与している可能性が考えられる.

Fig.8.4.3 に 4 名の被験者の PH900 による皮膚 pH と乾式 pH センサ平均電圧値(90-120 秒間)の関係を示す.

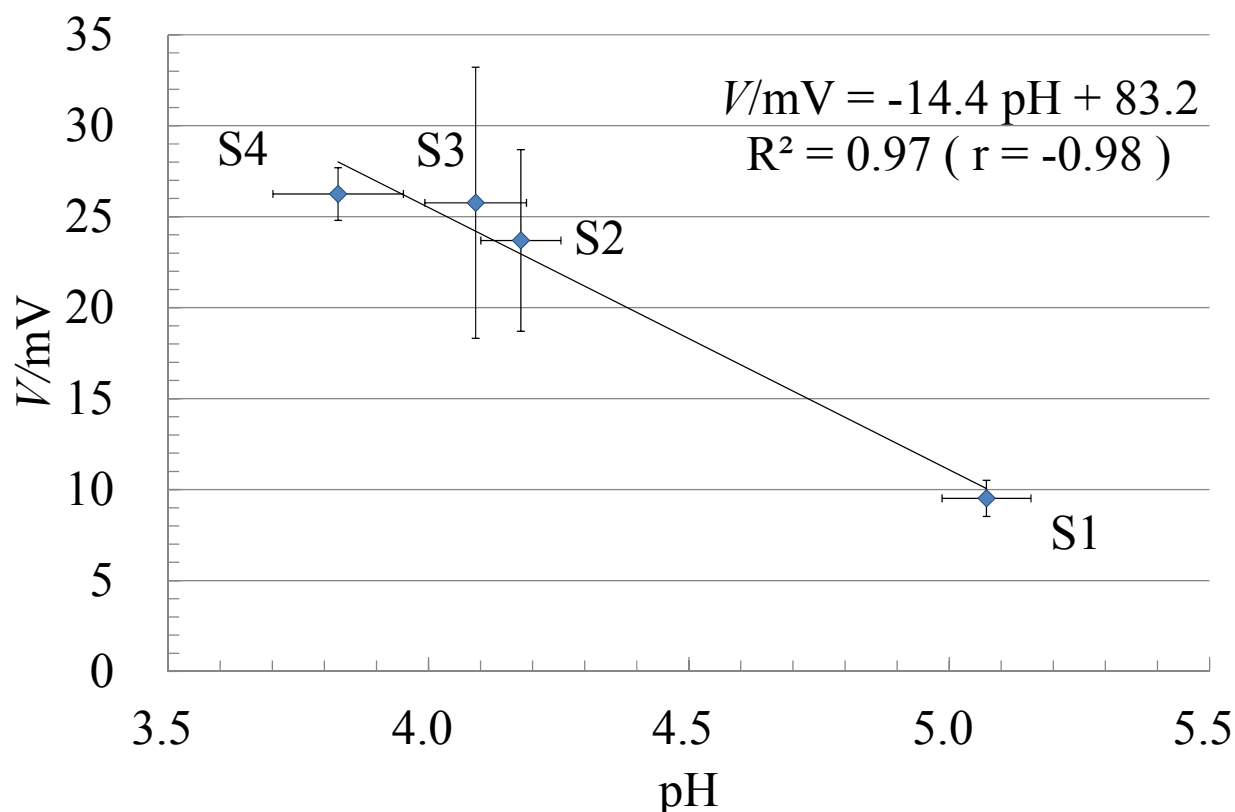


Fig.8.4.3 皮膚 pH と乾式 pH センサ測定電圧平均値(90-120 秒間)の関係

Fig.8.4.3 より, 従来から皮膚 pH 測定に用いられている湿式手法による PH900 測定結果と, 乾式手法による乾式 pH センサ平均電圧値(90-120 秒間)に, 回帰分析による線形近似により相関関係($r = -0.98$)が認められた. 水分蒸散の影響補正の前後で比較すると, 水分蒸散の影響補正後の方が高い相関関係が得られている. このように, 電圧平均値と pH には高い相関関係が確認されており, 電圧平均値が皮膚水分量, 水分蒸散量ではなく皮膚 pH に由来する傾向を含む事が確かめられた. したがって, 開発した乾式 pH センサの電圧値によって, 従来のガラス電極により測定されている皮膚 pH の傾向を測定可能である.

今後の課題は, 測定に対しての標準偏差が大きいことがある. 今回の測定値のばらつきの要因には, 乾式手法特有の皮膚との接触状態の維持の難しさが含まれており, 接触状態を一定に保つ手法等が必要と考えられる. 具体的には, 開発中の平面型乾式 pH センサと定圧接触可能なプローブ等により, 安定化が図れると考えられる. ネルンスト応答には温度の係数もあるが, 恒温恒湿室内での測定であったため, センサ電圧応答の皮膚温による影響は未検証である. 今後は, プローブ開発に温度センサも盛り込むなど接触圧と合わせて, 様々な環境で測定可能な測定手法を考慮することが考えられる. これまでの検証結果を考慮して, 測定中のセンサ電圧値の増加を皮膚の水分蒸散の影響として除去したが, 定常増加の測定電圧の補正量から, 皮膚水分蒸散も測定しうる可能性がある.

8.5 まとめ

- 乾式 pH センサによる皮膚 pH 測定実験を行い，評価パラメータの検討を行った。
 - (a) 5 回の皮膚 pH 測定結果から，測定電圧平均値と二次微分のピークトップ電圧値の抽出を行い，5 回測定の平均値からの絶対値が大きな測定を取り除く特徴点抽出を行い，測定の傾向が抽出されることを確認した。
 - (b) 電圧平均値(90-120 秒間)と二次微分のピークトップ電圧値の比較により，電圧平均値の評価では抽出されたパラメータのばらつきは，ピークトップ電圧値よりも小さく測定結果を代表するパラメータとして電圧平均値が有効である。
 - (c) 乾式 pH センサによる測定結果は，皮膚水分量など他の皮膚評価指標に関わる影響を受けている可能性が十分考えられ，それら他の指標と電圧平均値，ピークトップ電圧との関係についても検討を進める必要がある。
- 皮膚 pH 測定実験を，皮膚水分量，経皮水分蒸散量とともに，健常/アトピー部位を対象として行い測定結果の傾向の比較を行った。
 - (a) アトピー部位ではバリア機能低下により，皮膚の水分保持機能が低下する．それにともない，体内からの水分蒸散が多くなる傾向が指摘されている．測定対象部位は健常部位と比較して，アトピー部位において皮膚水分量は低く，水分蒸散量は多くなる傾向がみられ，測定対象はアトピー肌の特徴を示している。
 - (b) 乾式 pH センサの測定電圧平均値(90-120 秒間)について，pH-電圧特性式を用いて，pH 値に変換した結果は，湿式測定であるガラス電極による測定結果と同じ pH 値として得られなかった．アトピー部位での電圧増加が両部位の偏差の拡大要因であり，健常部位と比較して皮膚水分蒸散量が大きいことが電圧増加の一因と考えられる。
 - (c) 乾式 pH センサによる測定電圧値に健常/アトピー部位の違いが明確に現れた．アトピー部位の測定では健常部位に比べて大きな電圧増加を示しており，皮膚の水分蒸散量と電圧平均値の大小関係も似ていることが確認された。
 - (d) 乾式 pH センサによる乾式手法による測定では，従来手法による皮膚 pH に加えて皮膚水分蒸散量との同時計測を行う必要が考えられる．皮膚水分蒸散量の影響を特定し，乾式 pH センサ測定電圧値を補正する事により，乾式手法による皮膚 pH 測定が可能となると予想される。

- 平面型乾式 pH センサを用いて、測定中の定常増加成分が水分蒸散の影響を受けているかを確認する皮膚水分蒸散の影響確認実験を行った。平面型乾式 pH センサを用いた pH 測定と皮膚水分量測定をどちらも 2 分間行い、皮膚からの水分蒸散によりセンサ皮膚間に蓄積する水分による増加傾向を比較した。
 - (a) 平面乾式 pH センサと水分量は、90-120 秒間の傾きを比較し、相関係数($r = -0.98$)と強い相関があることが確認された。このことから、定常増加は皮膚からの水分蒸散による影響であると確認された。
- 4 名の健常者の皮膚 pH 測定実験を、皮膚水分量、乾式 pH センサにより測定し、湿式測定であるガラス電極によって測定される皮膚表面 pH と乾式センサ電圧平均値による結果と比較した。乾式 pH センサ測定電圧値は、前述の水分蒸散による定常増加成分を除いた上で評価した。
 - (a) 乾式 pH センサ電圧平均値(90-120 秒間)と皮膚水分量との関係では、相関係数は $r = 0.49$ であり、相関は確認されなかった。乾式手法によって測定された、乾式 pH センサ電圧値は、皮膚水分量に従って測定電圧が大きく、あるいは小さくなる明確な傾向がないことが確認された。
 - (b) 乾式 pH センサ電圧平均値(90-120 秒間)と pH には高い相関関係($r = -0.98$)が確認されており、電圧平均値が皮膚水分量、水分蒸散量ではなく皮膚 pH に由来する傾向を含む事が確かめられた。したがって、開発した乾式 pH センサの電圧値によって、従来のガラス電極により測定されている皮膚 pH の傾向を測定可能である。

第9章 結論

皮膚機能計測装置の開発に関する研究として、乾式 pH センサを用いて、水滴を介在させない乾式手法により経時的に皮膚表面 pH を計測可能なシステムを開発した。乾式手法の有効性を検証するため、乾式 pH センサによる複数の皮膚 pH 計測実験を行った。乾式 pH センサの測定中における電圧増加傾向は、皮膚水分蒸散に由来する事を確認した。複数被験者による測定実験において、乾式 pH センサ測定電圧の定常増加成分を水分蒸散量として差し引き、補正処理を行った。皮膚水分量と乾式 pH センサ電圧平均値との関係には、強い相関が確認されなかったことから、センサが皮膚水分量を測定している可能性がないことを確認した。一方で、センサ電圧平均値と従来の湿式手法の間には、強い相関が確認された。

したがって、開発した乾式 pH 計測システムは、乾式手法による乾式 pH センサ電圧平均値により皮膚表面 pH を測定可能である。本研究における研究成果を以下に記す。

(1) 皮膚 pH 計測システムの構築

- (a) 乾式 pH センサによる皮膚 pH 測定において、センサ電圧を正確かつ定量的に計測するため計測プログラムを作成し PC を用いた皮膚 pH 計測システムを構築、動作確認を行った。高感度直流電圧電流計(PM-18U)の本来の測定精度で測定値を記録可能であることを確認した。
- (b) 乾式 pH センサによる皮膚 pH 測定の際、測定値に混入したノイズを、被測定者の被験側の手首からアースを接続することにより低減可能である事が確認された。
- (c) 乾式 pH センサを基板上に固定し、BNC コネクタを有する測定プローブを製作した。乾式 pH センサの容易な取り扱いが可能となり、電気的な接続の安定性も向上した。

(2) 皮膚 pH 計測評価パラメータと皮膚水分量 及び 皮膚水分蒸散との関係の検討

- (a) 平面型乾式 pH センサにより、皮膚測定中の電圧定常増加の傾きを、皮膚水分量の増加傾向と比較し、相関関係を調べた。その結果、相関係数($r = 0.98$)と強い相関があることが判明した。このことから、定常増加成分は、皮膚水分蒸散のセンサ面への蓄積であることが確認された。
- (b) 2 分間の測定電圧(90-120 秒間)と二次微分のピークトップ電圧値を、皮膚 pH 測定の評価パラメータとして検討した結果、電圧平均値(90-120 秒間)が測定結果の評価に有効なパラメータである。
- (c) 健常/アトピー部位の皮膚 pH 測定の比較を皮膚水分量、経皮水分蒸散量による測定とともに行った。乾式 pH センサ測定電圧の経時変化に、健常/アトピー部位の違いによると思われる電圧値の違いが、経皮水分蒸散量の測定部位の違いと同様に得られた。

- (d) 健常/アトピー部位における皮膚 pH をガラス電極によるものと乾式 pH センサ測定値を特性式により変換した結果では、同様な pH 値としては結果が得られなかった。この要因として、皮膚水分量、水分蒸散量、またアトピー部位で特有なタンパク質などの影響を受けている事が考えられた。

(3) 乾式 pH センサの pH-電圧特性の確認と乾式測定手法の検証

- (a) 乾式 pH センサ特性実験手法についてサンプリングシートを用いて微量な pH 標準溶液を滴下する手法を考案した。新手法では、pH 標準液にセンサを浸して測定された pH-電圧特性よりも全体的に低い電圧値であるが、センサの pH-電圧特性は高い線形性 ($R^2 = 0.92$) を持つことが確認された。
- (b) センサの pH-電圧特性の計測、5 分間について 30 秒間隔の区間を設け、pH 標準液との関係を調べた結果、どの区間においても pH-電圧特性を示す一次近似直線が高い線形性 ($R^2 = 0.9$ 以上) を持つ事が確認された。
- (c) 皮膚 pH 測定時間を 30 分間と設定し経時的なセンサ電圧値の傾向の変化を計 6 例の実験結果について確認した結果、皮膚に接触させてから増加する傾向は 30 分後には、ほぼ一定値となる事を確認した。ガラス電極により測定された皮膚 pH と乾式 pH センサ電圧平均値(20-30 分間)の間に弱い相関関係($r = 0.70$)が認められた。また、90-120 秒間のセンサ電圧平均値と皮膚 pH との間には、強い相関 ($r = 0.80$) が確認された。
- (d) 長時間測定における 6 例について、最終値に対するセンサ応答の時定数を調べた結果、測定回数にともない、センサ応答が遅くなる傾向が確認された。要因として、皮膚接触時の皮脂が原因と考えられ、脱脂作用のあるアルコールによる洗浄を実施し、洗浄前後の pH-電圧特性との比較を行い pH-電圧特性の改善が確認された。
- (e) 乾式 pH センサの pH-電圧特性の改善手法として、アスコルビン酸水溶液(0.5 mol/L)による洗浄を行った結果、白金線の還元に伴う特性の傾きについて改善がみられた。また同時に、銀/塩化銀線についても還元される悪影響が確認されたため、アスコルビン酸を用いる手法では、白金線のための洗浄が必要である。
- (f) 乾式 pH センサを用いた皮膚 pH 測定実験を 4 名の被験者に対して行った結果、乾式 pH センサの平均電圧値(90-120 秒間)において、従来手法であるガラス電極により測定された皮膚 pH との間に強い相関 ($r = 0.98$) が確認された。一方、皮膚水分量と乾式 pH センサ電圧値の間には、相関は確認されなかった($r = 0.48$)。このことから、電圧平均値が皮膚水分量、水分蒸散量ではなく皮膚 pH に由来する傾向によるものであることを確認した。したがって、従来湿式で測定されている皮膚 pH を、水滴を介在させない乾式手法によって、乾式 pH センサ電圧値として測定可能である。

以上から、開発した皮膚 pH 計測システムと各種手法により乾式 pH センサを用いた、乾式手法による皮膚 pH 測定時のセンサの電圧平均値から、皮膚表面 pH を測定可能である。

(4) 今後の課題

将来的な実用化を考えた場合の課題は、乾式 pH センサとプローブ開発により、乾式手法により定常増加として除去していた水分蒸散量の定量が考えられる。

a) 乾式 pH センサとプローブ開発

乾式 pH センサは、白金線と銀/塩化銀線から構成されており線状センサ、平面型センサはどちらも、機能膜の製膜に特殊な設備と高度な技術を要する。開発した皮膚 pH 測定システムによる測定実験の結果、ばらつきの要因として乾式測定の場合の接触状態の影響が考えられる。ネルンスト応答には温度の係数もあるが、恒温恒湿室内での測定であったため、センサ電圧応答の皮膚温による影響については未検証である。今後のプローブ開発に温度センサも盛り込むなど、接触圧と合わせて様々な環境で測定可能な測定手法をセンサ開発と合わせて進めることが考えられる。

b) 水分蒸散量の定量化

乾式 pH センサ測定電圧値から、今回の研究では除いた定常増加成分を水分蒸散量として評価する新たな手法を開発できる可能性が考えられる。定常増加成分が水分蒸散として評価する事ができれば、乾式 pH センサの乾式手法により、乾式 pH センサ一つで、皮膚表面 pH と水分蒸散量を測定しうる可能性がある。水分蒸散との互換性を確立するためには、水分蒸散量計(Tewameter)との同時計測を行い、結果を校正することが考えられる。

c) 乾式 pH センサ測定電圧値が含む情報の可能性

皮膚水分量は、センサ平均電圧値との間に強い相関は確認されなかった。皮膚水分量は、皮膚バリアが強固であれば大きく、バリアに異常があれば小さくなると考えられる。皮膚バリアの一端を担っている天然保湿因子(NMF)との関係から、間接的に皮膚表面 pH 値と関与している可能性が考えられる。複数被験者で、測定されていた 30-40[a.u.]の範囲外での場合についての検討が必要と考えている。また、アトピー/健常部位において、乾式 pH センサがその違いを検出しうる事が分かったが、アトピー部位では、特有なタンパク質が検出されているとの報告もある⁴³⁾。乾式 pH センサの電圧値が皮膚の pH 値だけでなく、皮膚上の成分による影響を検出していた可能性も考えられる。本研究の成果を生かしつつ、慎重に関連している要因を検討し複合プローブの製作に役立てたい。

謝 辞

本研究を行う機会を頂き、親切な助言と本研究全般にわたり暖かく適切なご指導をいただきました、

芝浦工業大学 システム理工学部生命科学科

教授 米田 隆志 先生

に謹んで心から感謝の意を表します。

本研究のセンサを開発され、親切な助言と懇切丁寧なご指導を頂きました、

埼玉工業大学 工学部生命環境化学科

教授 矢嶋 龍彦 先生

に謹んで感謝の意を表します。

日頃より親切な助言と本研究を行うにあたり懇切丁寧なご指導をいただきました、

芝浦工業大学 システム理工学部生命科学科 教授 小山 浩幸 先生

芝浦工業大学 システム理工学部生命科学科 教授 山本 紳一郎 先生

防衛医科大学校 生理学第二講座 助教 煙山 健仁 先生

に謹んで感謝の意を表します。

本論文の審査にあたり、貴重なご助言をいただきました。

芝浦工業大学 システム理工学部生命科学科 教授 花房 昭彦 先生

芝浦工業大学 システム理工学部生命科学科 教授 須原 義智 先生

に深く感謝いたします。

東邦化研株式会社 小田嶋 部長，為ヶ井 晴章 様，渡辺 修康 様には，平面型センサの製作を頂きました。深く感謝いたします。

株式会社長島製作所 代表取締役 長島 清和 様，同 専務 長島 悦子 様には，
5年間の長きにわたり社外での研究について，公私共に多大なるご支援を頂きました。
心から深く感謝の意を表します。

最後に，本研究において貴重なデータを提供して下さいました芝浦工業大学の皆様，ならびに芝浦工業大学システム理工学部生命科学科米田研究室の皆様並びに，卒業生の皆様には大変お世話になりました。心から深く感謝いたします。

参考文献

- [1] 久保田由美子. P093 茶のしずく石鹼で感作された小麦アレルギーの臨床的特徴(食物アレルギー,ポスターセッション,第 24 回日本アレルギー学会春季臨床大会). 一般社団法人日本アレルギー学会, Vol.61(3), p530, 2012
- [2] 宮本真由子, 福田綾, 丸本恵理子, 金尾世里加, 古谷毅一郎, 大八木知史, 西山理恵, 小川晴幾. P1-23-9 旧「茶のしずく石鹼」を使用し加水分解小麦により感作され,妊娠中にアナフィラキシーを発症した症例(Group23 合併症妊娠 1,一般演題,公益社団法人日本産科婦人科学会第 66 回学術講演会). 日本産科婦人科学会雑誌, Vol.66(2), p532, 2014
- [3] 日本皮膚科学会アトピー性皮膚炎診療ガイドライン作成委員会, 古江増隆, 佐伯秀久, 古川福実, 秀道広, 大槻マミ太郎, 片山一朗, 佐々木りか子, 須藤一, 竹原和彦. アトピー性皮膚炎診療ガイドライン. 日皮会誌, 119(8), 1515-1534, 2009
- [4] 片山一朗, 河野陽一, 一般社団法人日本アレルギー学会, アトピー性皮膚炎ガイドライン専門部会. アトピー性皮膚炎診療ガイドライン 2012. 協和企画, p9-17, 2012.
- [5] 片山一朗. “アレルギー疾患のダイナミックな変化とその背景因子の横断的解析による医療経済の改善効果に関する調査研究.” 厚生労働省. 201322007C, <http://mhlw-grants.niph.go.jp/niph/search/NIDD03.do?resrchNum=201322007B>
- [6] 田上八朗, 角層と皮膚疾患(後編): 角層の水分保持機能を中心として. 西日本皮膚科, Vol.65, No.2, p165-171, 2003
- [7] 田上八朗, 角層バリア機能と皮膚保湿機能の研究 (特集/角層・表皮の機能とメカニズム), フレグランスジャーナル, Vol.32, No.9, p10-16, 2004
- [8] 秋山真志, フィラグリン遺伝子変異とアトピー性皮膚炎, 日本医師会雑誌, Vol.138, No.12, p2536-2537, 2010
- [9] 波多野豊, アトピー性皮膚炎の新しい病因論--バリア機能異常の意義付け (特集 アトピー性皮膚炎の病態と治療 アップデート), アレルギー・免疫, Vol.18, p1448-1457, 2011
- [10] 山本敏行, 鈴木泰三, 田崎京二: 新しい解剖生理学(改訂第 10 版), 南江堂, p180-182, 1999
- [11] 清水宏, あたらしい皮膚科学 第 2 版, 中山書店, p1-17, 2011
- [12] 寺澤淳子, 三矢光太郎, 石井晃, 津田孝雄: キャピラリー電気泳動法によるヒト汗中のナトリウム, カリウム, マグネシウム, アンモニウムイオンの定量, Bunseki Kagaku Vol.50, No.12, pp813-817, 2001
- [13] 樋口謙太郎, 皮膚 pH および中和能について, 皮膚科の臨床, Vol.9(2), p89-98, 1967
- [14] Blank, Irvin H., Measurement of pH of the Skin Surface I II, The Journal of Investigative Dermatology, Vol.2(2), p67-74, 1939
- [15] 畑弘道, 皮膚 pH に就て, 日本皮膚科学会雑誌, Vol.68(11), p795-817, 1958
- [16] 遠藤薫, 檜澤孝之, 吹角隆之, 片岡葉子, 青木敏之. アトピー性皮膚炎の皮膚清浄度の指標としての皮膚 pH の研究, 日本皮膚科学会雑誌, Vol.110, No.1, p.19-25, 2000.
- [17] Rippke, F., Schreiner, V. and Schwanitz, H. J., The acidic milieu of the horny layer: New findings on the physiology and pathophysiology of skin pH, American Journal of Clinical Dermatology, Vol.3, No.4, p261-272, 2002.

- [18] Parra, J. L., Paye, M. EEMCO guidance for the in vivo assessment of skin surface pH. *Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology*, Vol.16, No.3, 188-202, 2003
- [19] 柳井則子：皮膚の pH 測定について，*香粧会誌* Vol.6, No.2, p122-125, 1982
- [20] Giacomoni, Paolo U., Mammone, Thomas., Teri, Matthew., Gender-linked differences in human skin, *Journal of Dermatological Science*, Vol.55, No.3, p144-149, 2009.
- [21] 波多野豊，皮膚のバリア機能とアトピー性皮膚炎：Th2・角層 pH の重要性およびフィラグリン異常との関係. *日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会*, Vol.5, No.1, p11-18, 2011
- [22] 梶島健治，フィラグリンの異常とアトピー性皮膚炎，*臨床免疫・アレルギー科*，Vol.56, No.3，p284-288, 2011.
- [23] 倉林均，田村耕成，武仁，町泉，久保田一雄. 皮膚 PH 測定による血管障害と理学療法の評価，*日本リハビリテーション医学*, Vol.32, No.12, p928, 1995
- [24] 倉林均，田村耕成，町田泉，久保田一雄. リハビリテーションの評価 第2報 皮膚表面 pH を用いた脳血管障害による片麻痺の上肢機能の評価，*Kitakanto Med.J.* 50(4), p355-358, 2000
- [25] 田名部佳子，辻本朋美，根来佐由美. 水中運動指導者の皮膚状態，*厚生*の指標，Vol.58, No.15, p13-18, 2011
- [26] 穴澤貞夫，創傷管理の新しい考え方(外来における最新の創処置,外科学会会員のための企画)，*日本外科学会雑誌*, Vol.107, No.7, p236-240, 2006
- [27] Gethin, G. , The significance of surface pH in chronic wounds. *Wounds UK*, Vol.3, No.3, p52-56, 2007
- [28] 細矢智子，清拭に関する研究内容の分析：過去 10 年間の研究論文を通して，*医療保健学研究*, Vol.1, p55-65, 2010
- [29] 月田佳寿美，宮崎徳子，長谷川智子，白川かおる，佐藤ゆかり，中垣雅美，南部望，渡辺裕子，清拭における石鹸の使用法の違いによる皮膚表面への影響：皮膚表面解析,皮表角層水分量,皮膚表面の pH を指標として，*福井医科大学研究雑誌*, Vol.3, No.1, p31-38, 2002
- [30] Sato, N., Kitahara, T. and Fujimura, T., Age-related changes of stratum corneum functions of skin on the trunk and the limbs. *Skin Pharmacology and Physiology*, Vol.27, No.4, p181-187, 2014
- [31] Vermeer, D. J., de Jong, J. C., Lenstra, J. B., The significance of amino-acids for the neutralization by the skin, *Dermatologica*, Vol.103, No.1, p1-18, 1951
- [32] Andre,O. Barel, Marc Paye, Howard I. Maibach, *Handbook of Cosmetic Science and Technology Third Edition*, p215-220, Informa Healthcare USA, Inc. 2009
- [33] 大田理奈，伊能正浩，皮膚角層中の天然保湿因子(NMF)の組成と外用貼付による NMF 成分の浸透性および保湿性 (特集 バイオとナノテクで拓く有用化粧品)，*バイオインダストリー*, Vol.22, No.9, p31-37, 2005
- [34] 佐藤弦，本橋亮一，*化学セミナー13 pH を測る*，丸善, p2-20, 1987
- [35] 藤山 昭他：電気化学測定法(上)，*技報堂出版*，p6-9, 90-91, 228-231, 1991
- [36] 電気化学会編，*電気化学便覧 第5版*，丸善, p609-614, 2000
- [37] T.Yajima, N.Harada, T.Honjo, K.Sugiyama, S.Uchiyama, Electrochemical Characteristics of Platinum Surface Protected by Plasma Polymerization Membrane(1) Nernstian Response to Proton, *Journal of Photopolymer Science and Technology*, Vol.15, No.2, p279-282, 2003

- [38] Tatsuhiko Yajima, Electrochemical characteristics of platinum surface treated by RF plasma, , Surface and Coatings Technology 112, p80-84, 1999
- [39] 矢嶋龍彦, 原田奈美江, 岡部芳雄, 白金の電気化学的機能発現に関わる表面酸化被膜の被覆率の測定, 表面技術協会講演大会講演要旨集, Vol.100, p121, 1999
- [40] 林久史, pH メーターのわかりやすい説明, 日本女子大学紀要, Vol.20, p43-48, 2012
- [41] Piérard, G. E., Piérard-Franchimont, C., Marks, R., Paye, M., Rogiers, V., EEMCO guidance for the in vivo assessment of skin greasiness, Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology, Vol.13, No.6, p372-389, 2000
- [42] 増田学：携帯型皮膚計測器の開発, 芝浦工業大学卒業論文, 2004
- [43] Yamane, Y. et.al., New horny layer marker proteins for evaluating skin condition in atopic dermatitis, International Archives of Allergy and Immunology, Vol.150(1), p.89-101, 2009

付録 1 : 計測プログラム

計測プログラム

```
/* "AT-24 Program For A/D Convert" since 2001/12/26 */
/* Final Programming Date 2013/ 6/ 10 */
/* System Check 2013/ 3/17 : @Range +/- 300[mV] */

/* Takuto Nagashima */
/* プログラム修正 : 測定間隔変更 Delay(500)->(98) =0.1[sec] */
/* 確認メッセージ追加, Date 自動記録追加, 測定値表示方法変更 */
/* 電位差計 読み取り値の表示を追加 @ PM-18U Range +/- 300[mV] */

#include <stdio.h>
#include <stdlib.h>
#include <conio.h>
#include <dos.h>
#include <math.h>
#include <at24.h>
#include <time.h>

#define Portid 0x0150
#define at24_wait(t) for(int ii=0; ii<t; ii++)
#define Limit 10          /* Measurement Time[sec] */
#define Slope 134.75      /* 傾き@[300] */
#define Intercept 0.1987  /* y 切片@[300] */ /* [ 2013/3/17 システム動作確認 ] */

unsigned at24_port_id;    /* AT-24 ポートのベースアドレス */
int at24_ch_def[]={-1, -1, -1, -1, -1, -1, -1}; /* AT-24 チャンネル定義 */

/* The beginning of AT-24 board */
void at24_init(unsigned port_id, char *def_tbl)
{
    int ch, def;
    at24_port_id=port_id;
    for(ch=0; ch<8; ch++){
        if(!(ch & 1) || !(at24_ch_def[ch-1] & 0x10)){
            switch(def_tbl[ch*2]){
                case 'B' : def=8; break;
            }
        }
    }
}
```

```

        case 'U' : def=0; break;
        default: def=-1; break;
    }
    if(def !=-1){
        switch(def_tbl[ch*2+1]){
            case 'D' : def+=0x10; break;
            case 'S' : break;
            default: def=-1; break;
        }
    }
    at24_ch_def[ch]=def;
}
}
}

```

/* 指定チャンネルのデータ読み込み */

```
int at24_in(int ch){
```

```
    int tm, rd, dt=0;
```

```
    ch &=7;
```

```
    if(at24_ch_def[ch]!=-1){
```

```
        /* (チャンネル定義)+(チャンネル番号)+(割り込みマスクオープン) */
```

```
        outportb(at24_port_id, at24_ch_def[ch]+ch/*0x80*/); /* A/D Start */
```

```
/*
```

```
    while(!irq7_flg){ 変換終了割り込み待ち
```

```
    irq11_flg=0;}
```

```
*/
```

```
    at24_wait(1000);
```

```
    dt=inport(at24_port_id) & 0xffff;
```

```
    if((at24_ch_def[ch] & 8) && dt>0x7ff) dt |= 0xf000;
```

```
    }
```

```
    return(dt);
```

```
}
```

/* A/D Convert Main Program : A/D 変換 main プログラム */

```
int main(void)
```

```
{
```

```

int chg, buf[8], mt=0, r=0, cn=0, add=0;          /* mt:測定時間, r:while 用, cn:チャンネル設定 */
float i=0.0;          /* A/D for roop */          /* add:AD 変換値 */
double ad=0.0, duration=0.0, pm=0.0, pmx=0.0, pmy=0.0;
          /* ad:AD 電圧値, duration:測定時間, PM-18U:測定値@レンジ 300, PM-18U:測定値@レンジ 100 */

time_t timer;    /* 日時の読み出し用 */
struct tm *tblock;    /* 日時読み出し用 構造体とポインタ */

char filename[FILENAME_MAX];    /* ファイル操作関連 */
FILE *fp;

char fn[20], fw[20], con[10];    /* fn:file name, fw:file write 用配列 */

clock_t start=0.0, end=0.0;

/* Ch0-8 を バイポーラ(B),ディファレンシャル(D)として設定 */
printf("¥npH-Sensor Measurement Program(AT-24 A/D Convert)¥n¥n");
printf("A/D Convert Test Program(AD-Read.cpp)¥n");

printf("Please input following questions.¥n");

printf("Channel? (0:ディファレンシャル or 2:シングルエンド)¥n");
scanf("%d", &cn);

printf("File name? ¥n");    /* File name の入力 */
scanf("%s", fn);

if((fp=fopen(fn, "a"))==NULL){    /* ファイル追加書き込みモードで設定 */
    printf("¥n Can't open the %s.¥n",fn);
    return(-1);
}
fprintf(fp, "File Name,%s ¥n", fn);

printf("Measurement time?([sec])¥n");    /* Measurement Time の入力 */
scanf("%d", &mt);
printf("Measurement time is %d [sec]¥n",mt);
fprintf(fp, "Measurement time, %d, [sec]¥n", mt);

timer=time(NULL);    /* timer の初期化 */
tblock=localtime(&timer);    /* tblock へ localtime の取り込み */

```

```

printf("¥n Date : %s ¥n", asctime(tblock));      /* Date の表示+ファイル記録 */
fprintf(fp,"Date, %s ¥n", asctime(tblock));      /* Date ファイル出力 */

while(r==0)
{
    printf("Continue(c) or End(e)?¥n");
    scanf("%s",&con);

    switch(con[0]){
        case 'c':
            printf("Please input experiment No?¥n");      /* Experiment No の入力 */
            scanf("%s", fw);
            fprintf(fp,"¥n¥n Experiment No, %s, ¥n", fw);

            duration=0.0;      /* duration の初期化 */
            clrscr();      /* 画面の初期化 */
            printf("Experiment No: %s¥t Measurement time: %d [sec]¥n", fw, mt);

            timer=time(NULL);      /* timer の初期化 */
            tblock=localtime(&timer);      /* tblock へ localtime の取り込み */
            printf(" Date : %s ", asctime(tblock));      /* Date の表示+ファイル記録 */
            fprintf(fp,"Date, %s", asctime(tblock));      /* Date ファイル出力 */

            printf("File name : %s ¥n", fn);
            printf("Check the PM-18U Range. After Please hit any key to start. ¥n");
            getch();

            printf("If you hit any key during measurement, this program will stop.¥n¥n");

            printf("Channel¥t A/D[4096]¥t Time[sec]¥t Output[V]¥t V[mV]¥t Duration¥t¥n");
            fprintf(fp, "Channel, A/D[0-4096], Time[sec], Output[V], V[mV], Duration[sec]¥n");

            at24_init(Portid, "BDBDBSBSBSBSBDBD");      /* At-24 初期設定 */
            /* U:ユニポーラ B:バイポーラ
               S:シングルエンデット D:ディファレンシャル */

            for(i=0; i<=(float)mt; i=i+0.1){
                start=clock();
                add=at24_in(cn);
                ad=(float)add*2.5/2048;

```



```

pm=(float)ad*Slope+Intercept; /* PM-18U 測定値@レンジ 300 */
pmx=(float)pm/3;             /* PM-18U 測定値@レンジ 100 */
pmy=(float)pm/100;           /* PM-18U 測定値@レンジ 30 */

gotoxy(1,8);
printf("%-1d[ch]¥t %-5d[A/D]¥t %-0.1f[sec]¥t %2.3f[V]¥t %3.1f[mV]¥t", cn, add, i, ad,
pm);

fprintf(fp, "%d, %d, %0.1f, %4.5f, %4.5f, ", cn, add, i, ad, pm);

delay(98);

end=clock();
duration=duration+(double)(end-start)/CLOCKS_PER_SEC;

printf("%3.2f¥n",duration);
fprintf(fp, "%3.3f¥n",duration);

if(kbhit()){ /* 測定中止プログラム */
    i=(int)i+mt;
    printf("¥nProgram is stopped¥n");
    getch();
}
break; /* End of Continue */

case'e':
r=1;
printf("Program is stopped¥n");
break; /* End of End */

default:
r=1;
printf("Input Error¥n");
break; /* End of default */
}

}

return(0);
}

```

付録 2 : 測定結果グラフ

6.1 皮膚 pH 長時間測定実験結果

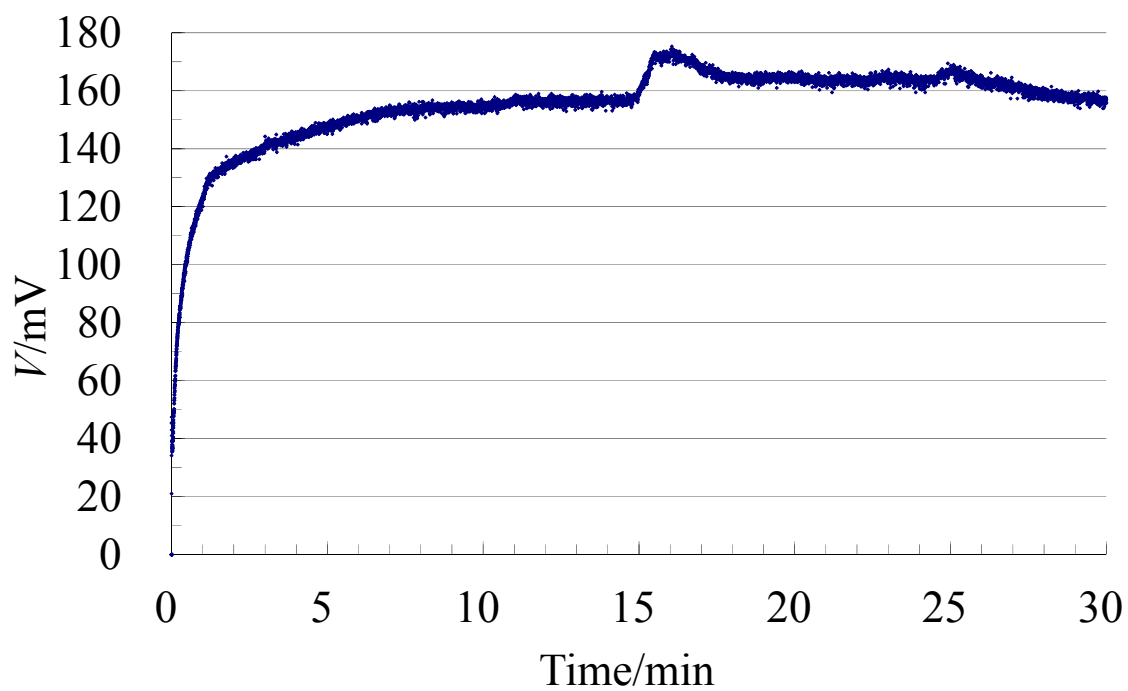


Fig.6.1.1 皮膚 pH 計測電圧値(A)

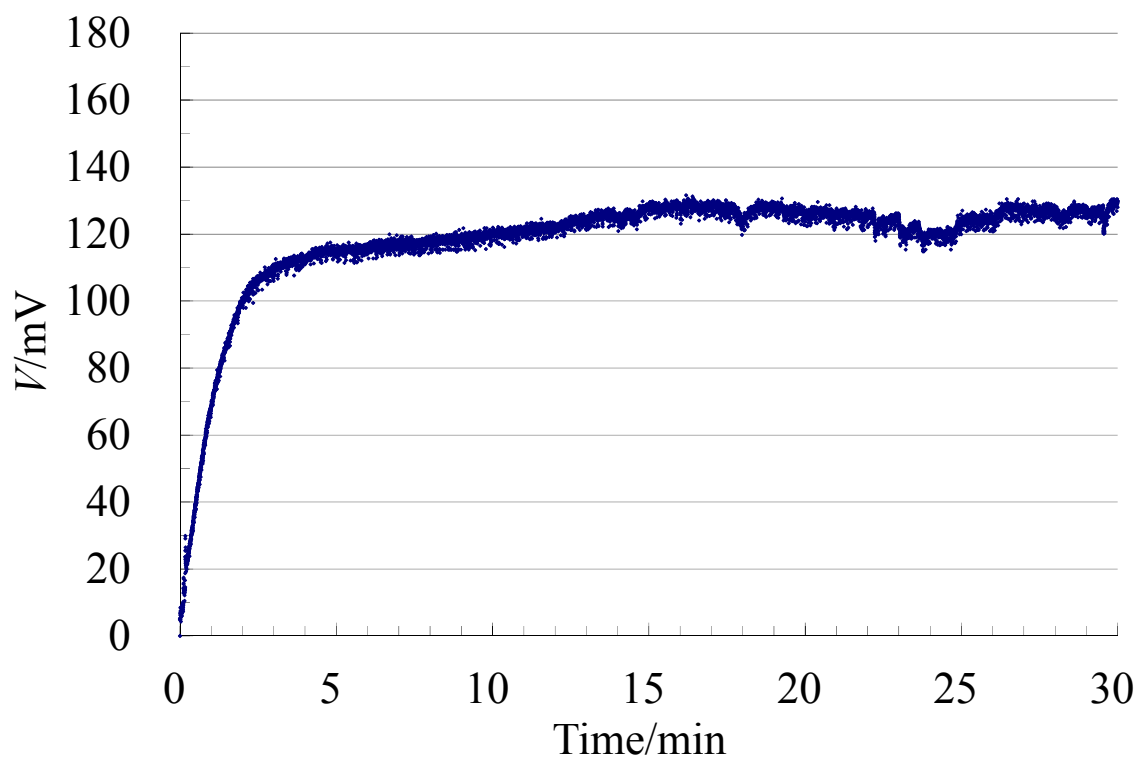


Fig.6.1.2 皮膚 pH 計測電圧値(B)

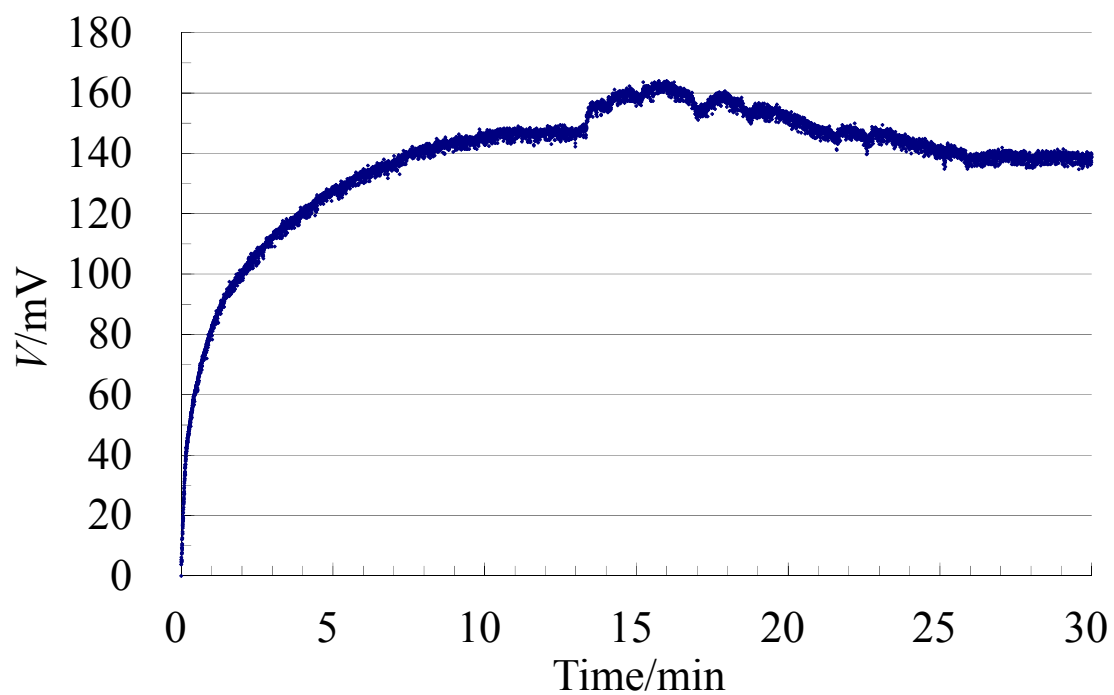


Fig.6.1.3 皮膚 pH 計測電圧値(C)

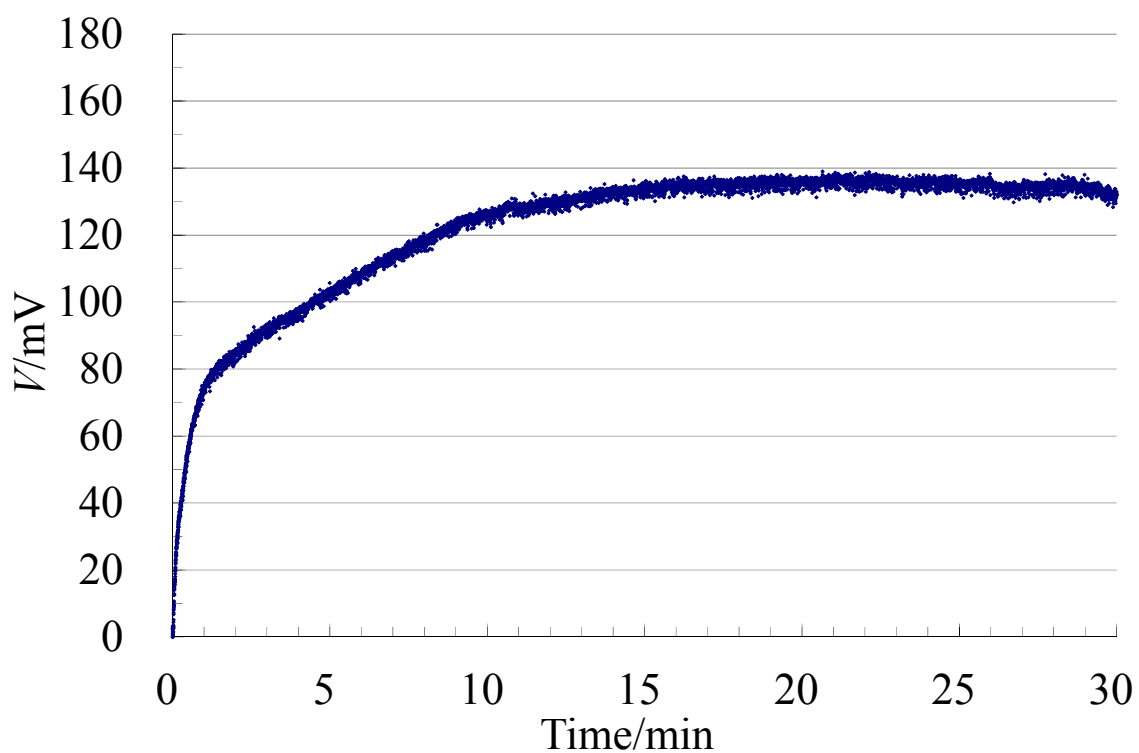


Fig.6.1.4 皮膚 pH 計測電圧値(D)

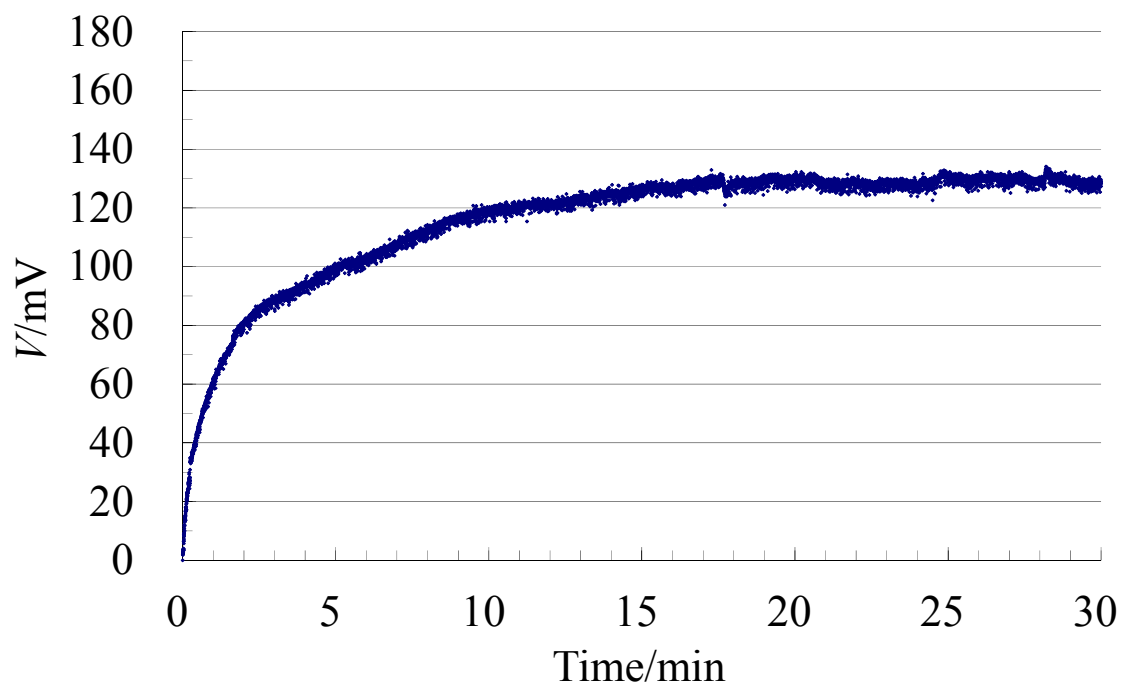


Fig.6.1.5 皮膚 pH 計測電圧値(E)

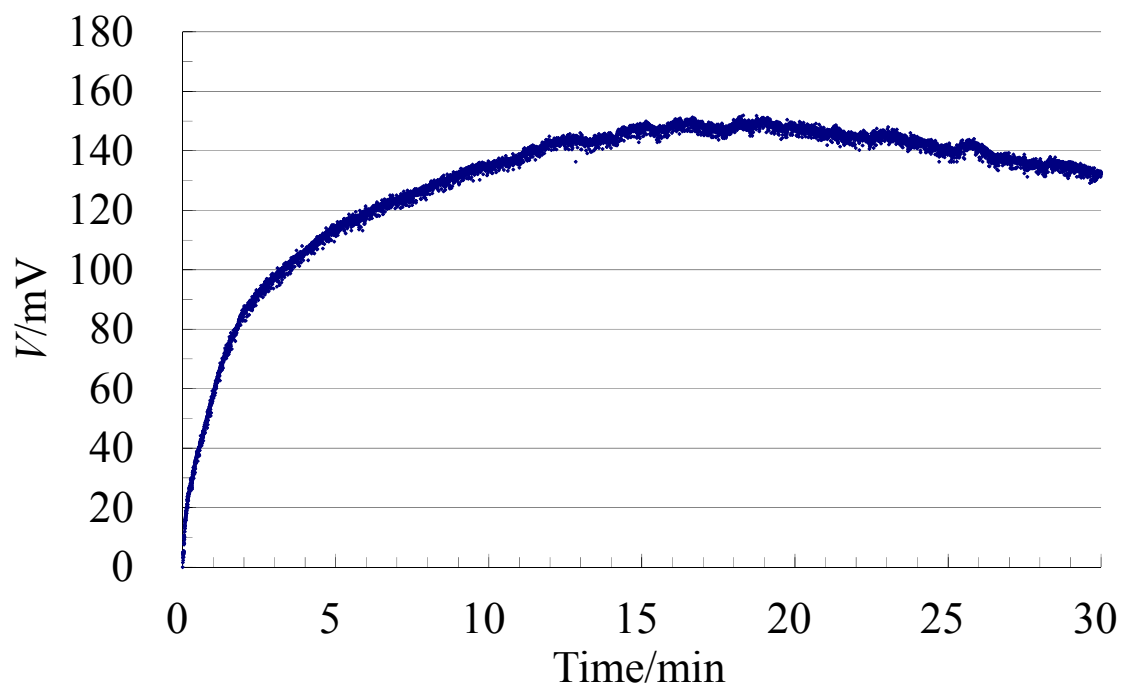


Fig.6.1.6 皮膚 pH 計測電圧値(F)

6.2 予備実験結果(押し当て圧力の影響)

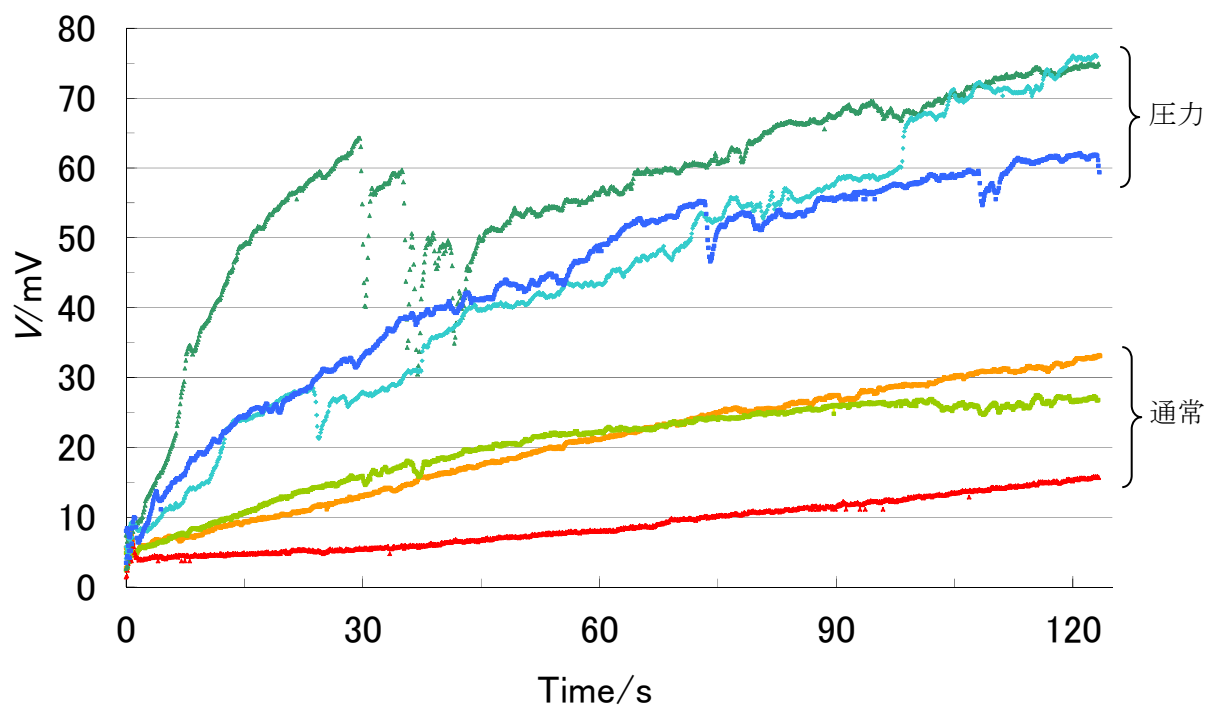


Fig.6.2.1 乾式 pH センサ計測: 押し当て圧力の影響

8.3 皮膚 pH 測定実験結果(被験者 3 名)

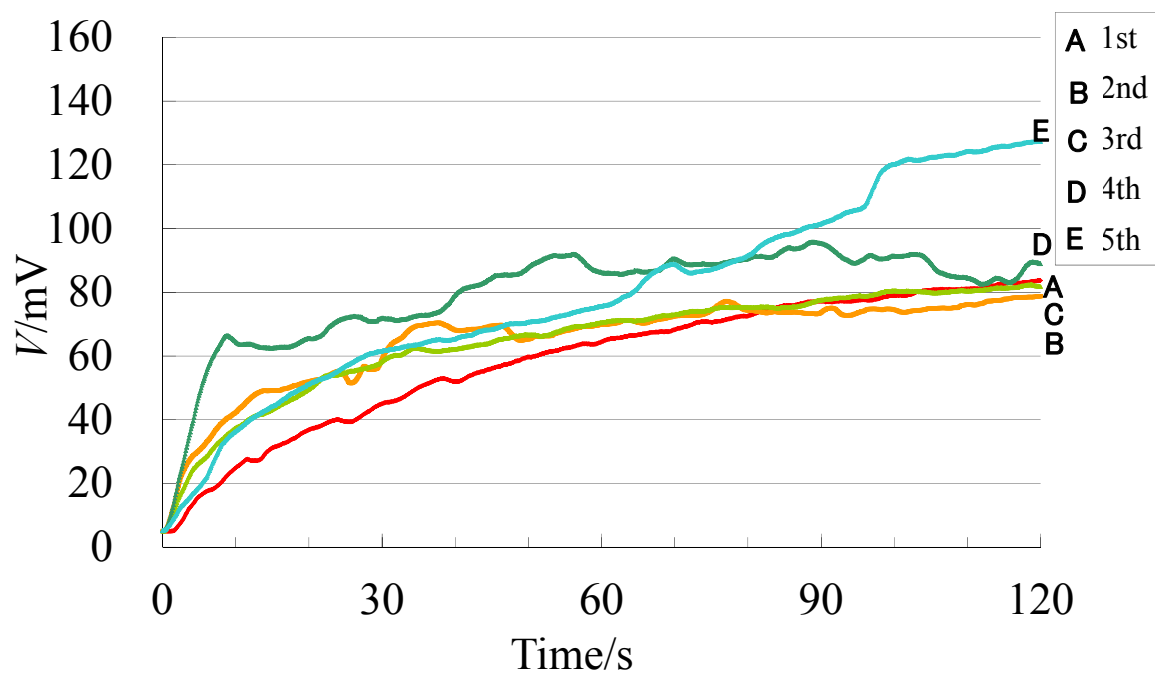


Fig.8.3.1 皮膚 pH 計測電圧値(被験者 A)

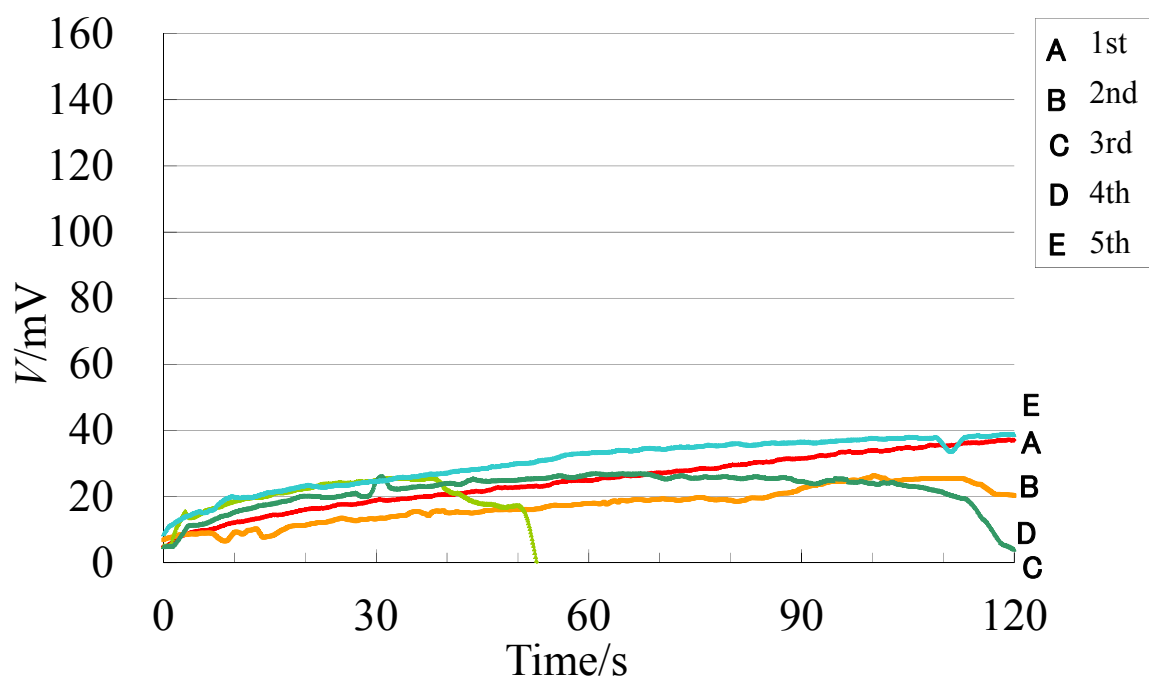


Fig.8.3.2 皮膚 pH 計測電圧値(被験者 B)

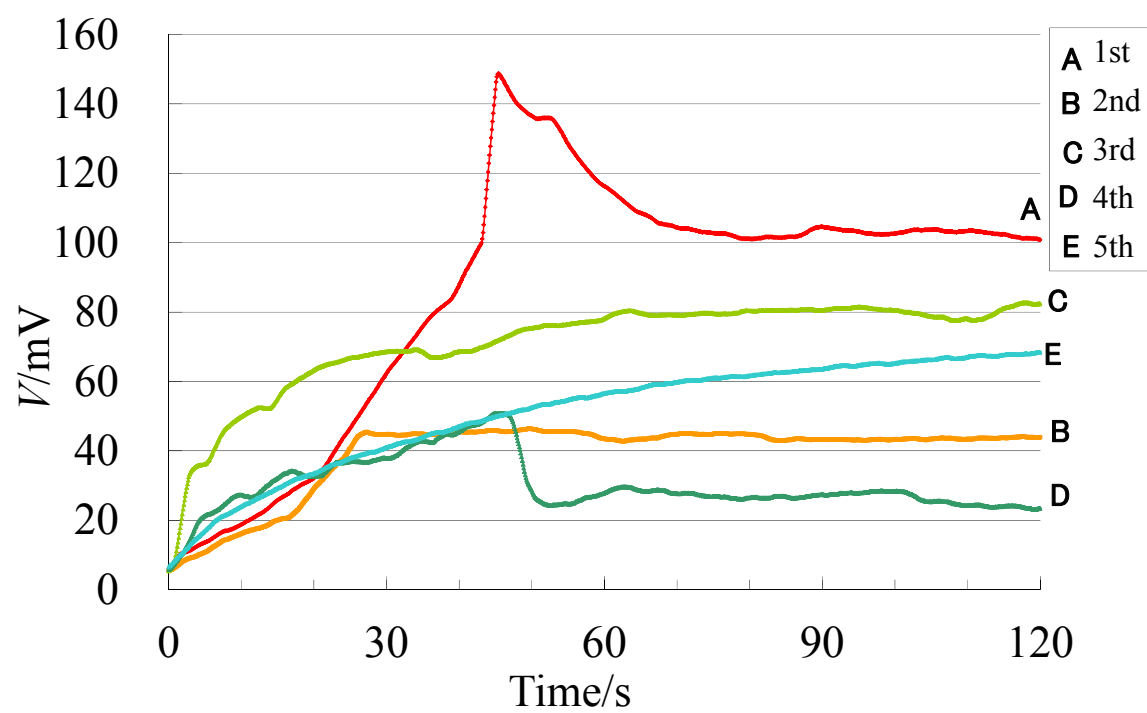


Fig.8.3.3 皮膚 pH 計測電圧値(被験者 C)

8.4 複数の被験者についての測定実験(被験者 4 名)

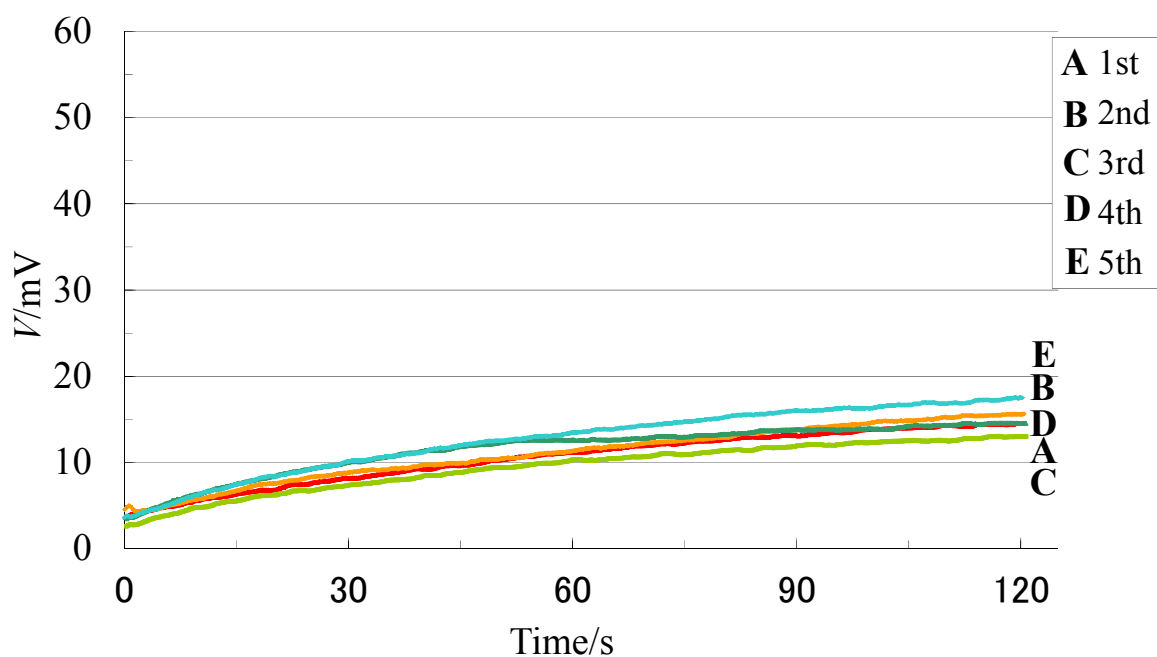


Fig.8.4.1 皮膚 pH 計測電圧値(被験者 S1)

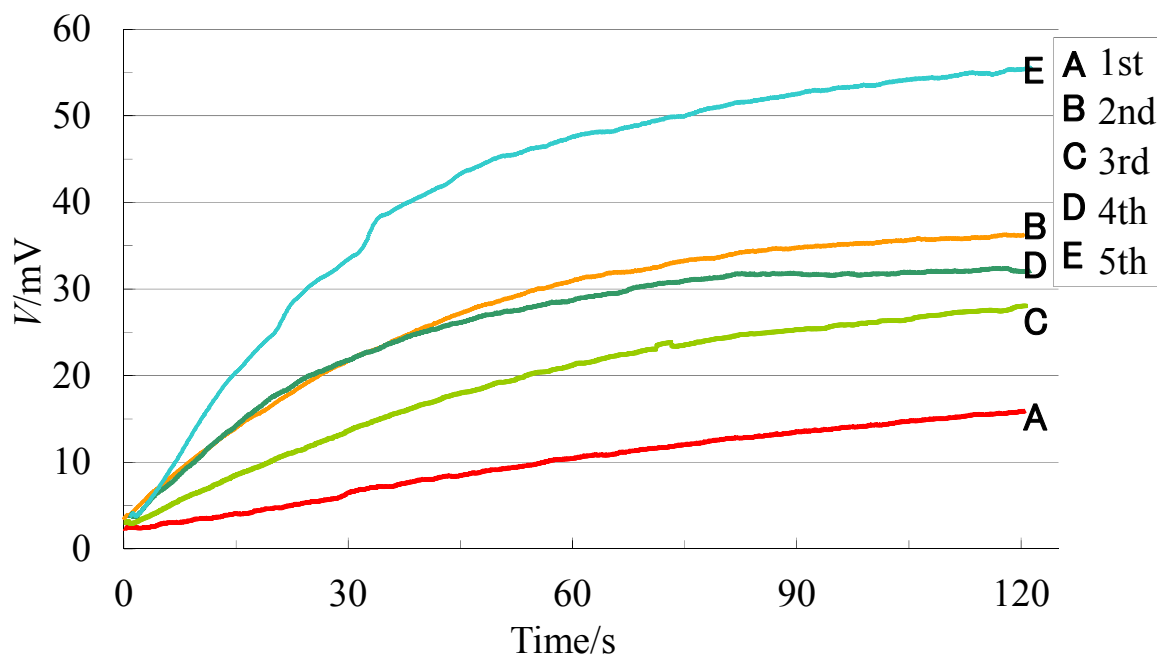


Fig.8.4.2 皮膚 pH 計測電圧値(被験者 S2)

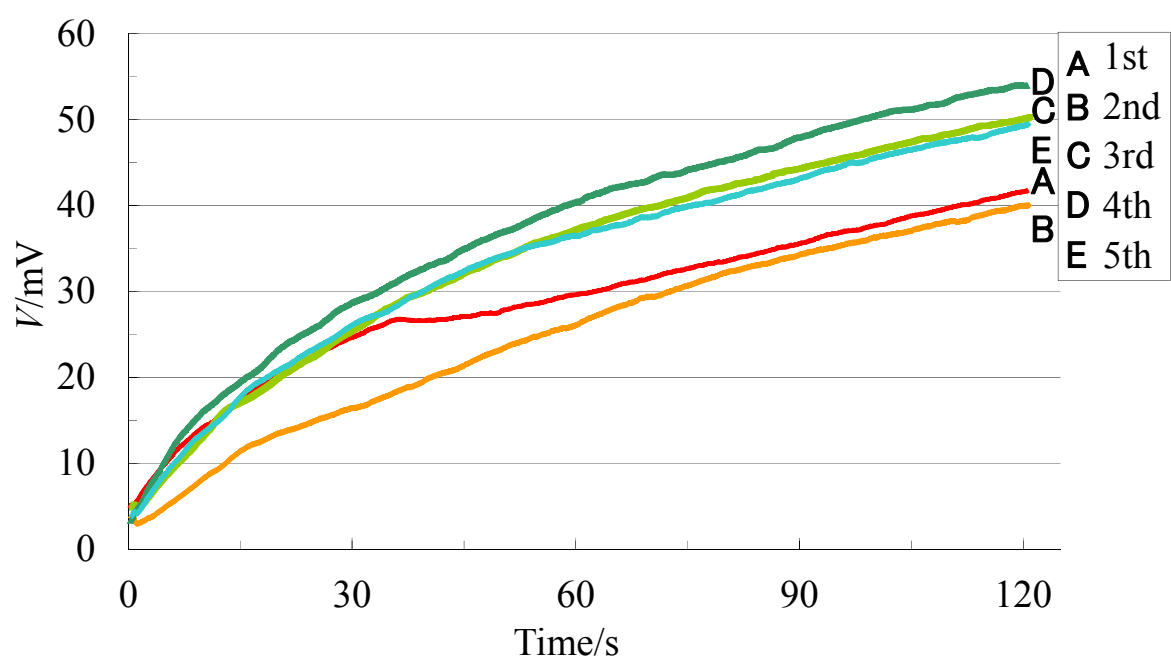


Fig.8.4.3 皮膚 pH 計測電圧値(被験者 S3)

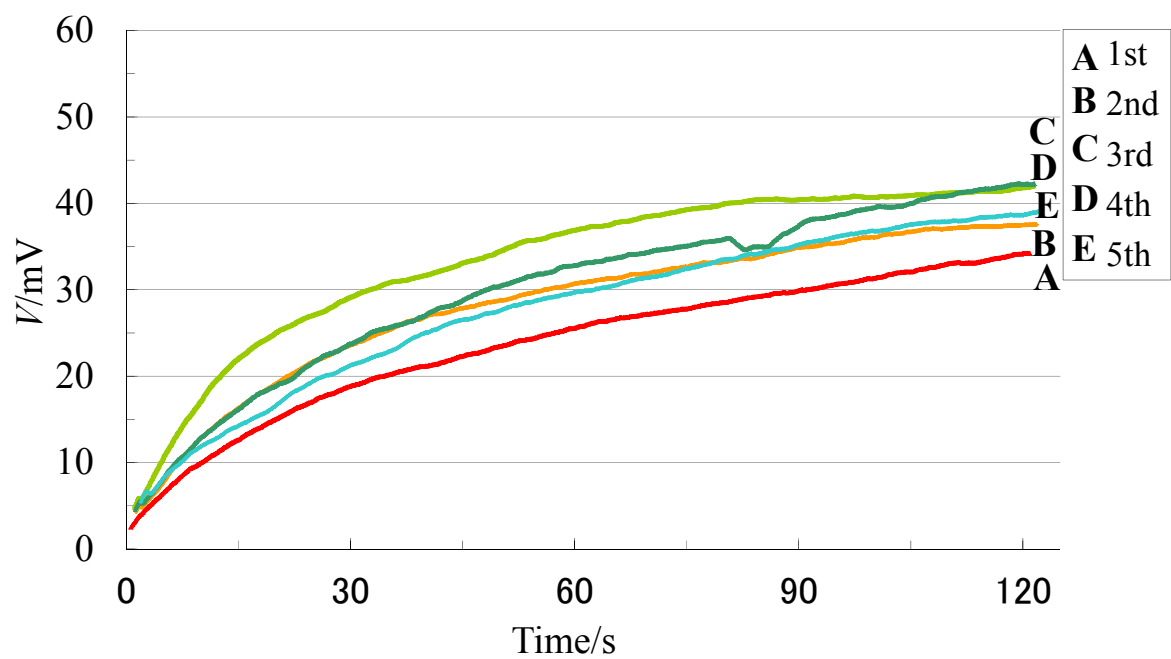


Fig.8.4.4 皮膚 pH 計測電圧値(被験者 S4)