

イオン選択性オプトードを用いた汗中電解質測定のためのウェアラブルスキンパッチの開発

慶應義塾大学 理工学部応用化学科

チツテリオ ダニエル

1. はじめに

ウェアラブル技術の概念は、1960年代に Edward O Thorp によって最初に導入された¹。それ以来、ウェアラブル技術はさまざまな分野における応用を期待され関心を集めている。その中でも、特にヘルスケアの部分での応用が期待されている。これは、ウェアラブルセンサーが、体に装着するだけで汗、涙、唾液、間質液などの生体液中のバイオマーカーや心拍数などを非侵襲的かつ継続的に測定、監視することを可能にするからである。そしてこのデータを活用することにより、患者のより自立した生活を実現できる。

ウェアラブルデバイスの主な機能は 5 つある。(1)ワイヤレスモビリティ (2)インタラクティブ性とインテリジェンス (3)持続可能性と耐久性 (4)簡単な操作と小型化 (5)装着性と携帯性である。1つ目のワイヤレスモビリティは結果を読み取る際に必要な性能である。電子信号のやりとりや視覚的な読み取りによって結果を得ることで、装着していても被験者の動作を妨げることがない。2つ目は、デバイスが生体液の状態に対して、適切に応答することを条件として述べている項目である。また、ウェアラブルデバイスは装着して時間変化を測定することが望まれる以上、長時間の使用を過可能にする持続可能性と耐久性が必要である。そして、4つ目の条件が満たされていれば被験者が使用する際の不快感や手間を軽減させることができる。これは、最後の 5 つ目の条件でも言える点である。例として、デバイスの伸縮性や柔軟性が挙げられる。皮膚に装着する方式のデバイスは皮膚に密着する必要がある、体の動きに対応できるほどの柔軟性や伸縮性が必要となる。

2. ウェアラブルデバイス

ここでは、ウェアラブルデバイスの中でも特に、汗をターゲットサンプルとしたデバイスについて説明する。

2.1 汗

汗は、生体液の中でもより非侵襲的、容易、継続的に収集することが可能であり、汗をターゲットとしたデバイスが多く開発されている。また、汗は多くのマーカーを含んでおり、その濃度は血漿中濃度と相関関係があると言われている。したがって、ターゲットの血漿中の濃度の推測に汗中の濃度を用いることが可能であり、病気の予測などに有効である。汗に含まれている主な成分の濃度は表 1 に示した通りである²。

表 1 汗中に含まれる成分

主な成分	濃度 (M)	マーカー
ナトリウムイオン	$10^{-3} \sim 10^{-1}$	体内水分量
カリウムイオン	$10^{-3} \sim 10^{-2}$	血漿の状態
塩化物イオン	$10^{-3} \sim 10^{-1}$	嚢胞性線維症
尿酸	10^{-1}	糖尿病
乳酸	$10^{-3} \sim 10^{-2}$	糖尿病
グルコース	$10^{-5} \sim 10^{-4}$	肥満

2.2 汗をターゲットサンプルとしたウェアラブルデバイス

汗が排出される流量は、非常に小さいことが知られており、運動時であっても 1 つの汗腺から〜で排出されている。そのため、汗をターゲットとしたウェアラブルデバイスは非常に小さい流量においても十分な応答を示すことが求められる。また、結果の読み取りの方式は電気、光学、温度、圧電など様々な方式がある。今回は電氣的、光学的な読み取り方法を採用しているデバイスを 1 つずつ紹介する。

初めに、電氣的な方法の先行研究を紹介する。Gao らは 2016 年に腕に装着して汗から複数のターゲットを電氣的に測定するウェアラブルデバイスを開発した³。デバイスの基板には機械的に柔軟な PET を用いており、そこに金や銀をパターンニング印刷することで回路やセンサーを作製している。そして、内容物による電圧の変化から分析物の濃度を測定している。また、基板には Bluetooth トランシーバが取り付けられており、そこから外部の機器にデータが送信される。電氣的な方式は継続的な変化の検出が可能であり、定量性も非常に高いものの、光学的なものに比べるとサイズが大きく、柔軟性や密着性に劣るという欠点がある。また、外部の環境の影響も受けやすい。

次に、光学的な方法について説明する¹。光学的な方法はセンサーの色変化によって結果を伝達する。Yue らは肌にとりつけ、汗からグルコース、乳糖、尿素、pH を色変化で測定するデバイスを作製した。センサーは、円形に切断した濾紙を基板としている。基板である濾紙に、比色検出剤を浸透させることでセンサーを作製する。また、デバイス自体は、PET を基板として作製された。デバイスは 4 層からなっており、センサー層は PET にチャンネルやセンサー部分をレーザー彫刻機で切り抜き、ろ紙で作製したチャンネルやセンサーをはめ込むことで作製された。また、検出はスマホで画像を撮影し、アプリケーションを用いて解析し、RGB 値の色強度を得ることで行っている (図 1)。

このように、スマホを用いることで定量的な検出も可能になる。しかし、比色検出薬は紙に吸着しているだけの状態であり汗と共に流出するため、電氣的な方法と異なり、継続的な検出には不向きである。

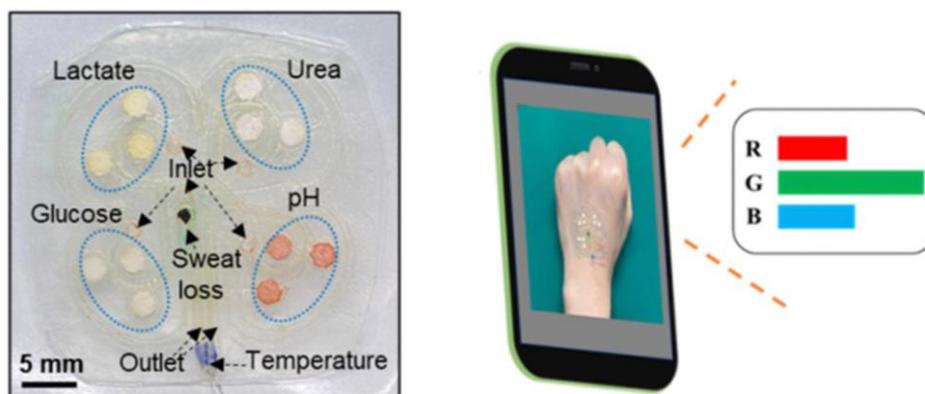


図 1 上から見たセンサー(左)スマホを用いた検出の様子(右)

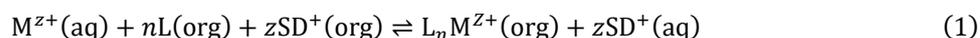
Adapted with permission from Ref. 7. Copyright 2022 American Chemical Society.

3. イオン選択性オプトード(ISO)

オプトードは、試料中の目的物質の濃度を吸光、蛍光といった光学信号に変換する化学センサーと定義されている。その中でも、イオノフォアという特定のイオンと錯体を形成する分子を用いて、特定のイオンを選択的に検出するものをイオン選択性オプトード (ISO) という。開発当初は、pH 指示薬が検出薬として用いられていたが、試料の pH に結果が依存するというデメリットがあった。そこで、pH 指示薬の代わりに、カチオン性色素を用いることで、pH に依存しない ISO が開発された。

3.1 メカニズム

ここでは本研究で使用した、ソルバトクロミック色素を用いた ISO のメカニズムについて説明する。ISO は式(1)1 で示した平衡反応によって色変化を示す。



この式において M はターゲットカチオン、L はイオノフォア、SD はソルバトクロミック色素を示している。また、org は有機相、aq は水相中に存在していることを示している。

実際の反応の様子は図 2 で示した通りである。はじめに試料中のターゲットイオンがイオノフォアと結合し、有機相側に移動する。すると、有機相の電荷が正に偏る。ここで、有機相の電気的中性を保つために代わりにカチオン性色素が水相側に移動する。カチオン性色素には、溶解している溶媒の極性によって色が変わるソルバトクロミック色素を用いているため、極性の低い有機相から極性の高い水相に移動することで色が変わる。そのため、色の変化から水相に移動した色素の量、すなわち、試料中のターゲットイオンの量がわかる。

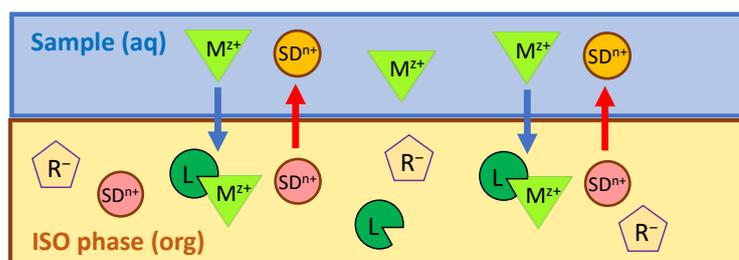


図 2 pH 非依存の ISO のメカニズム (M はカチオン、L はイオノフォア、R はアニオン添加剤、SD はソルバトクロミック色素を示す)

3.2 先行研究

本研究で使用した色素を、実際に使用した先行研究について説明する⁵。以降、この色素をSD1とする。Wangらは有機溶媒に色素、カリウムイオンに選択的なイオノフォアであるバリノマイシン、アニオン添加剤のNaTFPBを有機溶媒に溶解させ、ISOカクテルを調製した。そして、そのISOカクテルをろ紙に滴下し、乾燥、切り出すことでISOディスクを作製し、ISOディスクにターゲットイオンを含んだ試料を接触させることで色変化を得た。しかし、濃度に応じた比色変化はあるものの、その色変化幅は非常に小さい結果となった。

4. 結果

4.1 色素の合成

はじめに、実験で使用した色素であるSD1の合成をおこなった。色素の合成経路は図3で示した通りである。

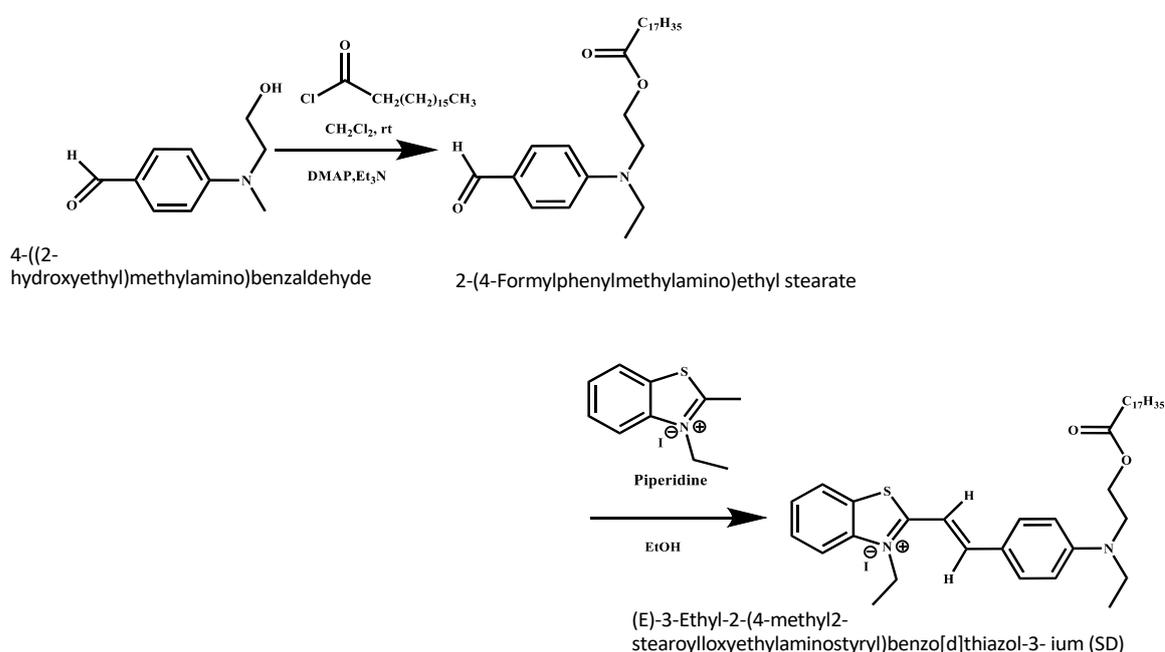


図3 SD1の合成経路

4.2 ISOカクテルの構成物の検討

ISOカクテルの構成物を変更し、先行研究以上の比色変化幅の獲得を目指した。合成した色素、バリノマイシン、NaTFPBをTHFに溶解させISOカクテルを調製した。さらに、可塑剤であるDOS、有機高分子膜となるPVCを用意し、DOSを添加、DOSとPVCを添加したものも調製した。この3つに関して $[\text{K}^+] = 1 \sim 100 \text{ mM}$ の濃度範囲での応答結果は図4の通りである。縦軸にはHUE値を採用した。これは色の程度を $0^\circ \sim 360^\circ$ で表現したものである。

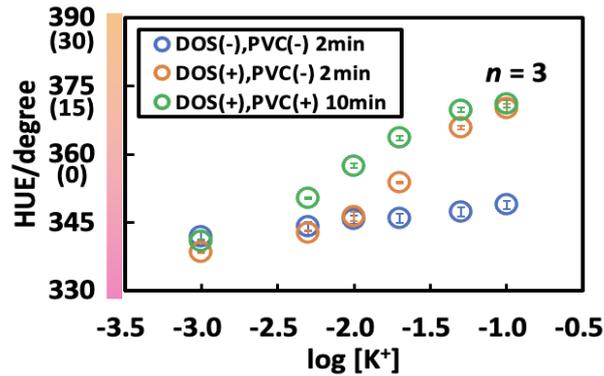


図 4 ISO カクテルの構成要素を変更した際の応答曲線

この結果より、DOS を加えることで先行研究よりも比色変化幅を増大させることに成功した。この理由としては、DOS の疎水性が挙げられる。DOS を加えることで、ISO 相の疎水性が増大するので、親水部分を持つ色素はより水相側に移動しやすくなる。これにより、多くの色素が水相側に移動するので大きな比色変化が実現されたと考えられる。以上の結果より、DOS を加えた場合と DOS および PVC を加えた場合が先行研究より優れているが、PVC を加えた場合の色素は溶液の浸透に時間がかかる。PVC を加えていない場合は 2 分でディスクへの浸透が完了するが、PVC を加えた場合は 10 分かかる。したがって、DOS を加え PVC を加えない ISO カクテルを使用することにした。

4.3 ISO ディスクの基板の検討

次に、ISO ディスクの基板について検討した。検討した基板は 3 種類で Whatman No.1 (WF1)、Whatman No.4 (WF4)、Advantec 5C (Ad5C) の 3 種類である。それぞれを基板にして ISO ディスクを作製して同様に濃度応答を確認した。結果は図 5 の通りである。

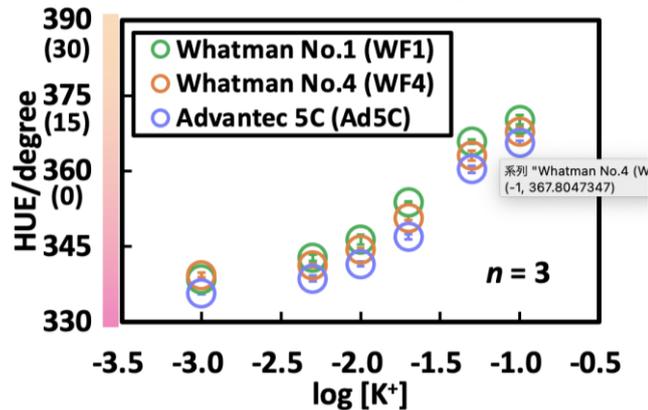


図 5 基板を変更した際の濃度応答

結果の通り、濃度応答の挙動は基板でほとんど変わらなかった。しかし、1~20 mM の低濃度の範囲では WF1 基板のディスクの応答幅が最も大きくなった。基板に用いたろ紙のポアサイズと厚さの状態は表 2 の通りである。

表 2 ろ紙のポアサイズと厚さ

	WF1	WF4	Ad5C
ポアサイズ(μm)	10.8	22	1
厚さ(mm)	0.18	0.21	0.22

この結果は繊維の量が影響していると考えられる。WF1 は厚さが最も薄い。このことから、

繊維の量が WF1 では最も少なく、各繊維に対するターゲットイオンの量が最も多いのではないかと考えられる。したがって、ISO ディスクの基板は WF1 に設定した。

4.4 デバイスデザイン

ISO ディスクの最適化が完了したため、実際にデバイスを作製し可逆的な比色変化の性能を確認する。実際のデバイスの構造は図6の通りである。流路、ISOディスク、排水エリアからなっている。流路から導入された溶液は毛細管力によって運ばれ、ISOディスクへと浸透しISOディスクの色が変化し、その後、排水エリアへと流れる。排水エリアは表面積が大きいため、流れた溶液が迅速に蒸発しそれによって溶液が取り除かれる。これにより、デバイス内部の毛細管力が保持され、継続的に溶液が取り込まれる仕組みとなっている。

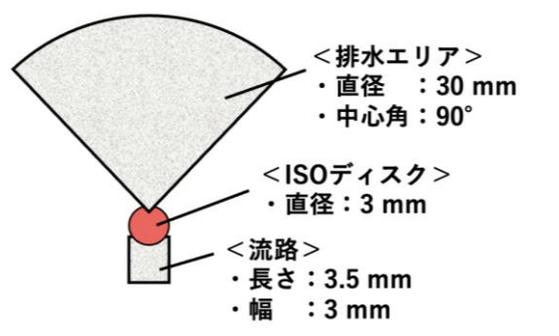


図6 デバイスの構造

4.5 濾紙を変更した場合の可逆性

次に、流路と排水エリアの基板について改善した。基板についてはISOディスクと同様にWF1、WF4、Ad5Cの3つについて検討した。はじめに流路の基板について検討した。方法としては、デバイスに10mMと20mMのKCl溶液を交互に流しその時のHUE値を測定した。

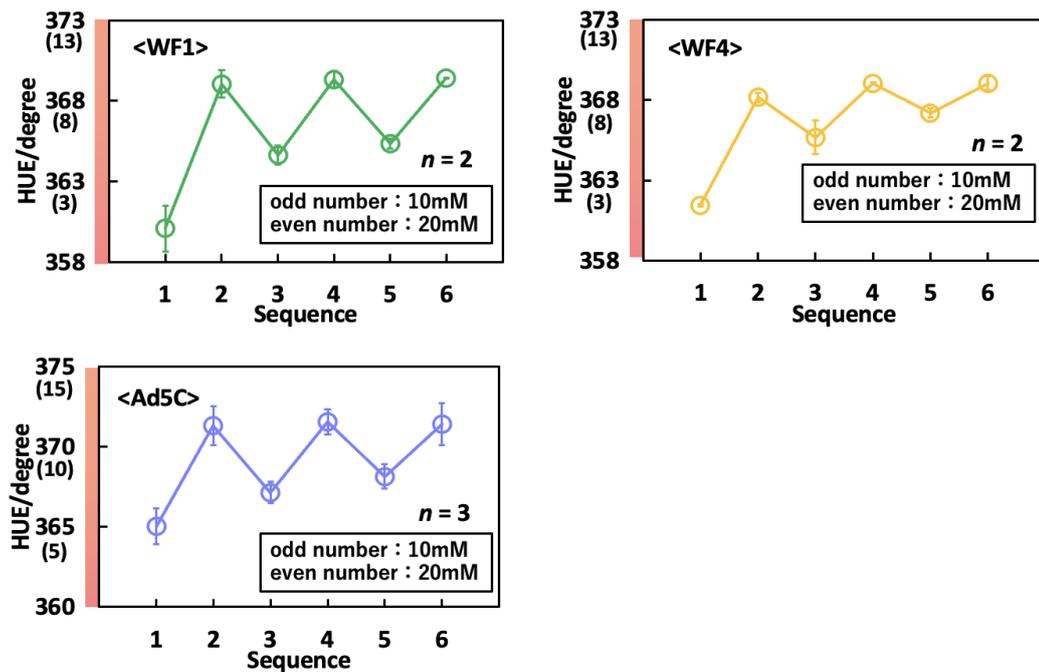


図7 流路の基板を変更した際の可逆的な比色変化

図7の結果から分かる通り、Ad5Cを流路に用いた際に最も優れた可逆性を示した。この要因として、ろ紙の繊維密度の影響が考えられる。表2より、Ad5Cは他の種類のろ紙よりもはるかに多くの繊維が存在する。そのため、他のろ紙よりも多くの溶液を供給することができ、残留している溶液を押し流す力が強いのではないのではないかと考えられる。

次に、排水エリアに用いるろ紙の種類について検討する。結果は図8の通りである。

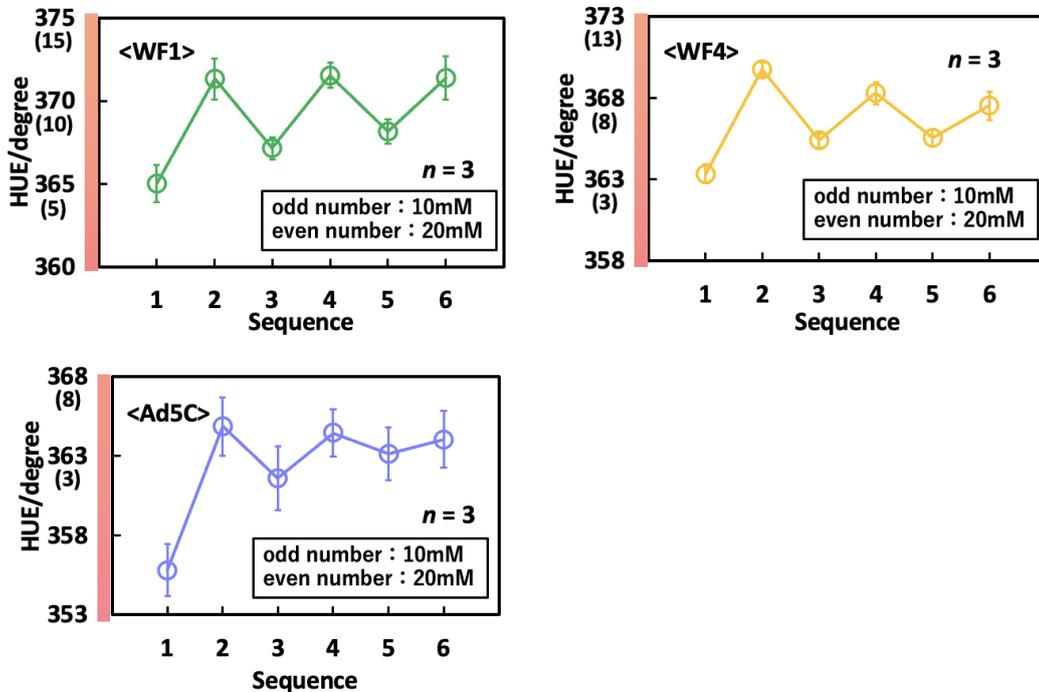


図8 排水エリアを変更した際の可逆的な比色変化

これらの結果から分かる通り、WF1を流路に用いた際に最も優れた可逆性を示した。これは、ISOディスクと同じ種類のろ紙を用いたからだと考えられる。WF4やAd5Cはろ紙内部を流れる流速が異なることで、ISOの構成物が多量に排水エリアに流出するからだと考えられる。

4. まとめ

継続的に溶液中の電解質の濃度を計測するパッチを作製した。長いアルキル鎖を有した色素を用いることで、可逆的な色変化を実現した。また流路および排水エリアのろ紙の種類を変更することにより、より性能のよいパッチの作製をおこなった。

今後は、ISOの構成物の内容を変更するなどしてより性能のよいパッチを実現し、実際に汗に使用するところまで目指す。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、公益財団法人天野工業技術研究所から多大なご支援を頂きました。ここに記して謝意を示します。

参考文献

- 1) Lu, L.; Zhang, J.; Xie, Y.; Gao, F.; Xu, S.; Wu, X.; Ye, Z. Wearable Health Devices in Health Care: Narrative Systematic Review. *JMIR mHealth and uHealth* 2020, 8 (11), e18907. DOI: 10.2196/18907.
- 2) Bariya, M.; Nyein, H. Y. Y.; Javey, A. Wearable sweat sensors. *Nature Electronics* 2018, 1 (3), 160-171. DOI: 10.1038/s41928-018-0043-y.
- 3) Gao, W.; Emaminejad, S.; Nyein, H. Y. Y.; Challa, S.; Chen, K.; Peck, A.; Fahad, H. M.; Ota, H.; Shiraki, H.; Kiriya, D.; et al. Fully integrated wearable sensor arrays for multiplexed in situ perspiration analysis. *Nature* 2016, 529 (7587), 509-514. DOI: 10.1038/nature16521.
- 4) Yue, X.; Xu, F.; Zhang, L.; Ren, G.; Sheng, H.; Wang, J.; Wang, K.; Yu, L.; Wang, J.; Li, G.; et al. Simple, Skin-Attachable, and Multifunctional Colorimetric Sweat Sensor. *ACS Sensors* 2022, 7 (8), 2198-2208. DOI: 10.1021/acssensors.2c00581.
- 5) Wang, X.; Zhou, Y.; Decker, V.; Meyerhoff, M.; Sun, M.; Cui, Y. Plasticizer-free and pH-independent ion-selective optode films based on a solvatochromic dye. *Anal Methods* 2020, 12 (20), 2547-2550. DOI: 10.1039/d0ay00439a.