

軟 X 線走査型顕微分光マッピング法による毛髪内硫黄元素分布の測定 Distribution patterns of sulfur in human hair using soft X-ray microscopy

鈴木 和之, 渡邊 紘介, 前田 貴章, 小林 翔, 伊藤 廉
Kazuyuki Suzuta, Kosuke Watanabe, Takaaki Maeda, Sho Kobayashi, Len Ito

株式会社ミルボン 中央研究所
Central Institute, Milbon. Co. Ltd.

本研究では、軟 X 線顕微分光法を用いた XAFS マッピング測定を用いて毛髪のブリーチ処理によるシステイン酸生成挙動を明らかにすることを試みた。その結果、システイン酸の生成量がブリーチ処理時間の平方根に対して直線的な関係が得られ、毛髪コルテックス内におけるシステイン酸生成は主に拡散律速に従うと考えられた。

キーワード： 毛髪、ジスルフィド結合、システイン酸、軟 X 線、マッピング

背景と研究目的：

日本における化粧品産業の市場規模は約 2 兆円に達し、その中で約 5 分の 1 を占める頭髪化粧品は、化粧品産業の発展を下支えする重要な産業分野である。頭髪化粧品は各社より様々な製品が上市されているが、高い消費者満足を得るための効果的な研究成果の創出のためには、未だ充分に分かっていない毛髪の階層構造や組織構造、分子構造等の詳細な理解が必要であり、またこれらの情報が未開であるために製品開発のボトルネックとなっていることは言うまでもない。

毛髪の約 85 % はタンパク質から構成され、毛髪の構成タンパク質であるケラチンは多量のジスルフィド結合を持つ複雑で巨大な網目高分子であると言える[1]。毛髪内のジスルフィド結合は、ヘアカラーやパーマネントウェーブなどの処理に伴って切断され、チオール基やシステイン酸を生成することが知られている[1]。これらのジスルフィド結合、チオール基、システイン酸の定量的な分析にはアミノ酸分析やポーラログラフ法、ラマン分光法や赤外分光法が活用されている。また、その結合状態は、毛髪の変形や力学挙動に大きな影響を及ぼすことが知られており[2]、著者らはパーマネントウェーブ処理による毛髪の力学物性変化を、ジスルフィド架橋構造変化との関連として論じてきた[3,4]。従って、毛髪に起こる諸現象を理解するために、ジスルフィド結合状態をより詳細に把握することが重要である。しかし、毛髪中のジスルフィド結合は階層構造に沿って不均一に存在していることが、ジスルフィド結合状態に関する正確な理解をより困難にしている[1]。

そこで我々は、毛髪の複雑な組織構造と化学構造の関連を明らかにする観点から顕微分光法に着目し、ジスルフィド結合やシステイン酸などの硫黄原子の化学構造状態の解析のために軟 X 線顕微分光法を検討してきた。2015B1573 では一連の研究の予備的検討と位置づけて、毛髪に対する軟 X 線顕微分光測定の実験系の構築を検討した。また、2015B1573 及び 2016A1533 での実験を通じて主にブリーチ処理毛髪におけるジスルフィド結合及びシステイン酸の毛髪内分布について検証し、ブリーチ処理によってジスルフィド量が減少してシステイン酸量が増加する挙動を捉えることができた。本申請課題では、ブリーチ毛髪におけるシステイン酸生成挙動のより詳細な把握のために、様々な処理時間でブリーチ処理を行った毛髪の毛髪内システイン酸生成挙動を明らかにすることを試みた。

実験：

測定検体は、日本人女性ボランティアから提供され、過去に化学的処理を受けていない毛髪が実験に用いられた。ブリーチ処理毛髪は、各毛髪をアンモニアにて pH 10.4 に調整した 3 % 過酸化水素水溶液に浴比 1: 200 で浸漬し、25 °C で所定時間(5-480 min)静置後、精製水で十分に水洗し乾燥することで調製した。

毛髪横断切片は、純水中で凍結した毛髪をクライオミクロトームにて厚さ 30 μm に切断するこ

とで調製した。三次元顕微鏡を用いて平滑性を確認した毛髪断面切片を測定用サンプルとして選別した。アルミニウム製のホルダーに張り付けた導電性両面テープに毛髪切片を固定し、BL27SUにおいてビーム径 10 μm の軟 X 線を用いて毛髪断面に対する XAFS マッピング測定を行った。この測定のために、Si(111) 結晶分光器およびシリコンドリフト検出器を用いた蛍光 X 線検出法が用いられた。測定は、毛髪中心を通る直線上において行い、毛髪の一端から毛髪中心を通して他端まで 5 μm ステップで測定し、各点における 2465–2520 eV までの XAFS スペクトルを得た。

結果および考察：

図 1 に、ブリーチ処理毛髪のコルテックス部位における XAFS スペクトルを示す。図中に示された時間はブリーチ処理時間(min)を示す。ここで、2473 eV 付近にみられるピークはコルテックス内ジスルフィド結合に由来する。また、ブリーチ処理時間の増加に伴って 2480.5 eV ピークの増大が見られる。このエネルギーはシステイン酸の SO_3^- に由来することから、この増加傾向はコルテックス内におけるシステイン酸の増加を意味する。

我々は、以前にブリーチ処理時間とシステイン酸生成挙動の関係を BL43IR を含めた赤外分光法によって検討し、システイン酸の生成はコルテックス細胞内における拡散律速に従うことを報告してきた[5]。そこで、本 XAFS 測定結果からシステイン酸生成挙動を解析するために、コルテックス部位に相当する XAFS スペクトルについて、2520 eV における高さを 1 としたときの 2473 eV と 2480.5 eV のピーク高さを求め、それらの高さの比、 I_{2480}/I_{2473} を算出した[6]。ブリーチ処理時間の平方根に対してプロットした結果を図 2 に示す。この図において、ブリーチ処理時間 t に対する I_{2480}/I_{2473} の増加挙動は、(i) $t^{1/2} < 2.2$ における緩やかな増加の領域、(ii) $2.2 < t^{1/2} < 11$ における直線的な増加の領域、および(iii) $t^{1/2} > 11$ における緩やかな増加の領域、の 3 つに分けられる。ブリーチ処理によって生成するシステイン酸量が毛髪内ジスルフィド量に比べて十分少ないとすると、(ii) の領域にみられる直線関係はシステイン生成が拡散律速に従うことを示しており、赤外分光法による報告に一致した結果と言える[5]。また、(i) は繊維染色における染料の挙動にみられるようなキューティクルのバリア効果が過酸化水素の毛髪内浸透に対して生じることによると考えられる。(iii) については、ブリーチ処理によるシステイン酸の生成とタンパク質の毛髪外への流失に伴うシステイン酸の減少が同時に起こった結果と思われる。

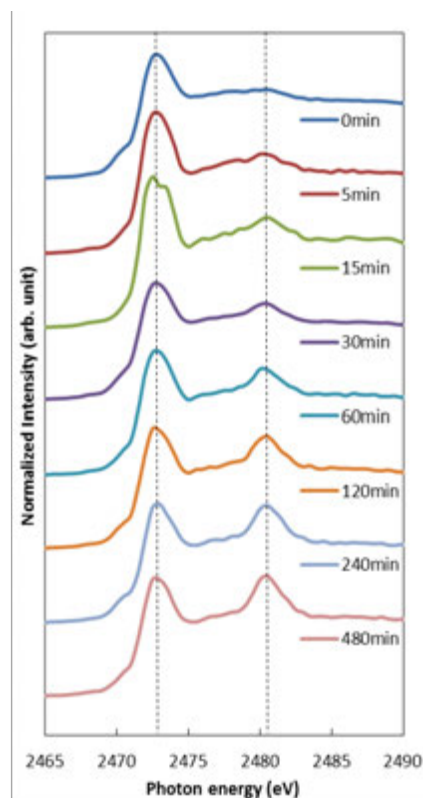


図 1. ブリーチ処理毛髪のコルテックス部位における XAFS スペクトル

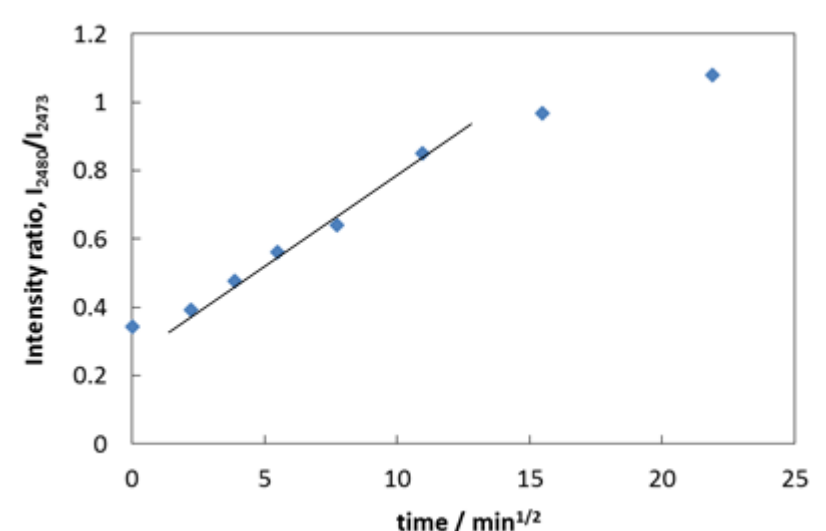


図2. ブリーチ処理時間と I_{2480}/I_{2473} の関係

今後の課題：

本研究では、軟 X 線顕微分光法を用いた XAFS マッピング測定によって、ブリーチ処理による毛髪内システイン酸生成挙動の評価を行った。その結果、ブリーチ処理によるコルテックス内システイン酸の生成は主に拡散律速に従うと考えられた。しかし、システイン酸は主にジスルフィド結合の酸化によって生成することから、この結果をより厳密に結論づけるためには、各ブリーチ処理毛髪におけるジスルフィド結合量との相互比較が必要である。測定法及びスペクトルの規格化方法について検討し、ジスルフィド結合量の定量解析を進めていきたい。

参考文献：

- [1] C.R.Robbins, "Chemical and Physical Behavior of Human Hair"
- [2] K. Suzuta et al., *J. Cosmet. Sci.*, 63, 177 (2012).
- [3] K. Suzuta et al., *Sen-i Gakkaishi*, 71, 112 (2015).
- [4] K. Suzuta et al., *Sen-i Gakkaishi*, 71, 237 (2015).
- [5] K. Suzuta et al. *J. Fiber Sci. Tech.*, 72, 1 (2016).
- [6] A. Funatsuki et al., *Forensic Sci. Int.*, 250, 53 (2015).