

## 軟 X 線走査型顕微分光マッピング法を用いた黒髪内部構造の測定 Characterization of human black hair using soft X-ray microscopy

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

(株)ミルボン  
Milbon Co. Ltd.

本研究では、軟 X 線による顕微分光法によって、黒髪に対するジスルフィド結合やその還元及び酸化状態を評価することを目指し、本ビームタイムはくせ毛髪やエイジング毛髪といった様々な毛髪のジスルフィド結合分布の可視化を目的として実験を行った。その結果、毛髪内ジスルフィド結合分布が普通毛髪、くせ毛髪およびエイジング毛髪で異なることが示唆された。現時点では n 数が不十分なので、本研究を継続的に進めてこれらのデータをさらに蓄積していきたい。

**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：

約 4000~5000 億円の市場規模をもつ日本の頭髪化粧品は、化粧品産業の発展を下支えする重要な産業分野である。日本における美容意識の高まりに伴って頭髪化粧品に対するニーズも益々高度化しており、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重要である。毛髪の約 85%はケラチンタンパク質から構成され、ケラチンタンパク質は多量のジスルフィド結合を持つことを特長とし、まさに複雑で巨大な網目高分子と言える[1]。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[2-4]。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]。

我々はこれまで BL431R の顕微赤外吸収法を用いて毛髪横断面における成分分析を行い、毛髪内におけるシステイン酸残基の生成挙動を検討した[5]。システイン酸残基は毛髪内ジスルフィド結合やチオール基の酸化により生じることが知られているが、赤外吸収法によるジスルフィド結合やチオール基の検出は困難であることから、白髪に対するラマンスペクトル測定を用いた研究が行われている[6]。

このような中、我々は黒髪に対してジスルフィド結合、チオール基及びジスルフィド結合の酸化状態を同時に評価することを目指して、BL27SU の軟 X 線測定の実験系の構築を検討した[7]。未処理毛髪及び過酸化水素で酸化処理された毛髪（ブリーチ毛髪）に対して、軟 X 線を用いたマッピング測定を通じてジスルフィド結合及びシステイン酸の毛髪内分布データを得ることに成功した。また未処理毛髪との比較から、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、ジスルフィド結合状態が変化しているものと想定されるくせ毛髪やエイジング毛髪等を対象として実験を行い、ジスルフィド結合状態の違いを可視化することを目指した。

### 実験：

測定検体は、日本人女性ボランティアの毛髪とした。美容技術者によって普通毛髪及びくせ毛髪と判断された 20 代女性、およびエイジング毛髪を判断された 50 代女性の毛髪が実験に用いられた。毛髪横断切片は、マイクロトームを用いて毛髪を厚さ 50  $\mu\text{m}$  に切断した後、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  $\mu\text{m}$  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。最初に、励起エネルギーを硫黄の吸収端よりも高い 2540 eV に設定して、化学形態を識別しない全硫黄の分布およびその他の軽元素の元素マッピングデータを得た。測定はマッピングステージを使用して、毛髪断面全体を包括する領域を 5  $\mu\text{m}$  ステップで測定した。次に、硫黄の元素マッピングデータを解析して硫黄濃度が高い部位を選定し、XAFS 測定を行うことで毛髪中の硫黄の化学状態分析を行った。毛髪中のシステイン(SS 基)は 2471 eV 付近、システイン酸は 2477 eV 付近に現われることを確認した[8]。最後に、励起エネルギーをシステインやシステイン酸の励起エネルギーに固定し、5  $\mu\text{m}$  ステップによる蛍光 X 線マッピング測定を行うことで硫黄を含む分子種からジスルフィド結合やシステイン酸の分布を選択的に得た。

#### 結果および考察：

図 1 に、各毛髪の根元と毛先の部位におけるジスルフィド結合分布を示す。ここで、毛先は根元から 25–30cm の位置の毛髪とした。図 1 に示されるいずれのマッピング測定においても、毛髪の輪郭が明確に捉えられている。また、20 代普通毛髪では中心部にシグナル強度の低い部位が存在するが、これはジスルフィド含量の低いメデュラ領域とみなすことができる[1]。従って、毛髪に由来するジスルフィド結合が本測定によって検出されているものと考えられる。ジスルフィド結合の分布に着目すると、20 代普通毛髪では、根元と毛先の両部位において、ジスルフィド結合に基づく蛍光シグナルがメデュラ部位を除く毛髪断面全体にわたって比較的均一に得られた。20 代くせ毛髪では、根元部位ではジスルフィドのシグナルが均一に見えるものの、毛先では毛髪断面の左半分にシグナルが偏っているように見える。また、50 代エイジング毛髪では、根元及び毛先の両部位において、毛髪断面におけるシグナルの偏りが顕著にみられた。以上の結果から、くせ毛髪は毛先ほどジスルフィド結合分布の不均一化が進行していく一方で、50 代のエイジング毛髪は、毛根部からの毛髪発生時において既にジスルフィド結合分布が不均一になっているように思われる。

#### 今後の課題：

本研究において、毛髪内ジスルフィド結合分布が普通毛髪、くせ毛髪およびエイジング毛髪で異なることが示唆された。しかし、これらの結果を正しく結論付けるためには n 数が不十分であり、本研究を継続的に進めていくことでこれらのデータをさらに蓄積していきたい。また、くせやうねりといった毛髪形状とコルテックス構造の不均一性との関連に関する研究がいくつか報告されていることから、このようなジスルフィド結合の不均一性が毛髪形状や物性に及ぼす影響などの研究を通じて、くせ毛髪やエイジング毛髪に対応する商品開発に繋げていきたい。

#### 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. Kuzuhara et al. *Biopolymers*, **79**, 324 (2005).
- [7] 鈴木和之 他, *SPring-8 産業利用課題実施報告書*, 2015B1573 (2015)
- [8] A. Funatsuki et al., *Forensic Sci. Int.*, **250**, 53 (2015).

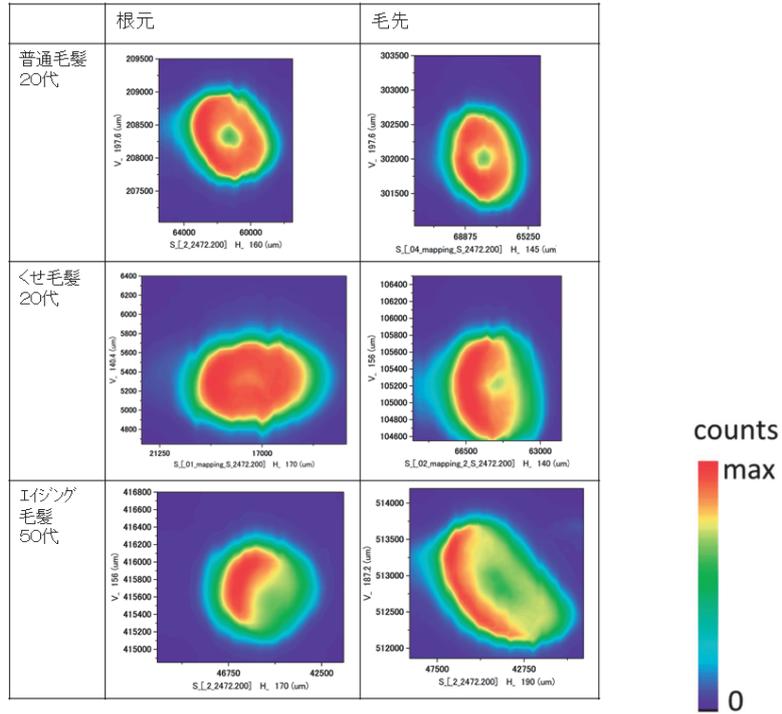


図1 毛髪の断面におけるジスルフィド結合シグナルの分布