顕微分光光度法によるポリエチレンイミンの毛髪内部拡散挙動の研究

(株) マンダム 中央研究所 葛原亜起夫
福井大学工学部生物応用化学科 田畑 功・堀 照夫

Study on the Diffusion Behavior of Polyethylenimine in Human Hair with a Microspectrophotometer

Akio Kuzuhara^{*1}, Isao Tabata^{*2}, and Teruo Hori^{*2}

^{*1} Mandom Corp., Central Research Laboratories, 5-12, Juniken-cho, Chuo-ku, Osaka 540-8530, Japan

^{*2} Faculty of Engineering, Fukui University, 3-9-1, Bunkyo, Fukui 910-8057, Japan

Abstract : To investigate the penetration of polyethylenimine (PEI) into human hair, cross-sectional samples of white human hair treated with PEI were prepared. In particular, a novel method to analyze the diffusion behavior of PEI in human hair was developed, in which the PEI parts in the cross-sectional samples were dyed with orange II and the cross sections were examined at a wavelength of 487nm ($\lambda_{\max}$ of orange II) with a microspectrophotometer.

In our method, the penetration of PEI into bleached human hair clearly increased with increasing treatment time, and with decreasing molecular weight. In addition, the diffusion pattern of PEI at pH11.1 displayed Fickian type characteristics. This suggests that the diffusion coefficient of PEI is essentially independent of PEI concentration. By calculating the diffusion coefficient from the PEI concentration profile, the diffusion coefficient of PEI (Mw: 300~600) was found to be the order of 10^{-10} cm²/s.

(Received 14 March, 2002 ; Accepted 29 May, 2002)

1. 結 言

ポリエチレンイミン (PEI) は、毛髪にはほぼ不可逆的に吸着し (水洗しても毛髪への残留性が高い)、特に損傷毛への吸着が強いので、コンデショニング効果 (湿潤効果、くし通り改善) やスタイリング効果を期待したシャンプー、リンスなどに使用されている [1]。Chow [2] は、数平均分子量 600 の [¹⁴C] PEI を用いて、ラジオアイソトープ法により、PEI が毛髪中へ浸透することを報告しているが、その内部拡散挙動について明らかにしていない。ここでは、PEI の毛髪導入状態を明らかにするために、予め PEI 処理した毛髪断面試料を作製し、PEI 部を染色して顕微鏡観察し、PEI の毛髪への浸透に対する数平均分子量および処理時間の影響について調査した。そして、顕微分光光度法により、PEI の拡散プロファイルを実測し、毛髪内部拡散挙動の解析を行ったので報告する。

2. 実 験

2.1 試料

毛髪試料として、中国人白髪毛束 (スタッフス製) を使用

した。

2.2 試薬

ポリエチレンイミン (PEI: 数平均分子量 300~1800) は、(株)日本触媒より提供されたものを使用した。毛髪断面試料作製用包埋樹脂として、Tissue-Tek O.C.T.4583 Compound (Sakura Finetech Co. 製) を使用した。また、過酸化水素水溶液、2-メチルピロリドン、25%アンモニア水溶液、オレンジ II は、和光純薬工業 (株) から購入したものを使用した。

2.3 ブリーチ毛髪毛束の作製方法

6% 過酸化水素水溶液 (pH10.2: アンモニア調整) 中に白髪毛束を室温下で 1hr 浸漬させた (浴比 1:50)。そして、流水により十分水洗し、室温にて乾燥させることにより、ブリーチ毛髪毛束を作製した。ブリーチ毛髪毛束の作製方法は、Tate らの方法 [3] に準じた。その報告によると、この処理を行った場合、キューティクル表面に割れ目が発生し、染料 (Uranin) の浸透性が向上するとのことである。

2.4 PEI 処理毛髪毛束の作製方法

分子量の異なる (数平均分子量 300~1800) 10%PEI 水溶液 (2-メチルピロリドンを 5%含有) 中に 50℃で 15~60 分間 (浴比 1:15)、2.3 項で作製したブリーチ毛髪毛束を

浸漬させた。そして、1 分間水洗し、風乾することにより、PEI 処理毛髪毛束を作製した。

2.5 毛髪断面の光学顕微鏡観察

染色毛束を、Tissue-Tek O.C.T.4583.Compound を用いて凍結包埋した後、ミクロトーム (CM1800, LEICA 製) を用いて、毛髪断面試料 ($10\mu\text{m}$) を作製した。そして、顕微鏡観察用試料をスライドガラス上にのせ、0.1%オレンジⅡ水溶液で PEI 導入部分を染色 (室温, 1 分) させ、光学顕微鏡を用いて、毛髪中への PEI 導入状態を観察した。

2.6 PEI の毛髪断面スペクトルの測定

顕微分光光度計 (MSP) (DMSP-II, オリンパス製) を用いて、毛髪中に浸透した PEI の毛髪断面スペクトルを測定した。MSP の基本原理は、測定する対象が顕微鏡的な大きさであること以外は、通常の分光光度計の場合と同等であり、試料ステージをスキャンさせることにより濃度分布が観察できる。スライドガラス上にのせた毛髪内部拡散測定用毛髪断面試料を、0.1%オレンジⅡ水溶液で PEI 導入部分を染色 (室温, 1 分) させ、カバーガラスを置いて、MSP 装置にセットし、光源: キセノンランプ、測定スポット径: $5\mu\text{m}$ 、測定波長: 487nm 、試料スキャン速度: $5\mu\text{m}/\text{min}$ 、チャート速度: $20\text{mm}/\text{min}$ の測定条件で MSP スペクトルの測定を行った。次いで、測定波長を 650nm に替え、同一試料における MSP スペクトルを測定した。

3. 結果と考察

3.1 光学顕微鏡による PEI 毛髪導入状態の観察

顕微分光光度法による PEI の毛髪内部拡散挙動を解析する前に、以下の実験を行った。

PEI は分子中に数多くのアミンを有する分岐ポリマーである [1]。したがって、オレンジⅡなどの酸性染料を用いて PEI を染色すれば、PEI の毛髪内部への浸透の様子が間接的に観測可能であると思われる。ここでは、予め PEI 処理した毛髪断面試料を作製し、PEI 部をオレンジⅡで染色して、顕微鏡観察を行った。図 1、図 2 に、未処理試料および PEI 処理試料 (数平均分子量 600 の 10%PEI 水溶液中に pH11.1, 50°C で 60 分間浸漬) の切断面を、オレンジⅡで染色した一例を示した。未処理試料の場合 (図 1)、毛髪のキューティクル表面にわずかにオレンジⅡが吸着するだけで、コルテックス内部には吸着しない。一方、数平均分子量 600 の 10%PEI 水溶液中に 50°C で 60 分間浸漬した試料の場合 (図 2)、毛髪表面から、コルテックス内部まで、オレンジⅡで染色されている。このことから、PEI 部をオレンジⅡで染色すれば、毛髪内部に導入された PEI の浸透性が間接的に観測可能であることが判明した。

この手法を用いて、PEI の毛髪への浸透に対する数平均分子量および処理時間の影響について調査した。表 1 に、オレンジⅡ染色した各処理条件の PEI の浸透度を比較した。PEI 処理時間が長くなるにつれ、また、数平均分子量が小

さくなるにつれ、ブリーチ毛中への PEI 浸透性が増加することが判明した。また、PEI の数平均分子量が 1200 以上になると、毛髪中への PEI 浸透性が極端に低下することが判明した。

Fig. 1 Cross-sectional photomicrograph of bleached human hair untreated with PEI.

Fig. 2 Cross-sectional photomicrograph of bleached human hair treated with PEI (Mw=600) at 50°C , pH11.1 for 60min.

Table 1 Penetration of PEI dyed with Orange II, which was estimated by optical microscopy.

Mw	Penetration (μm)		
	15min	30min	60min
300	8.35	23.2	—
600	6.95	9.30	10.2
1200	3.25	5.55	8.35
1800	—	3.25	4.65

3.2 顕微分光光度法による PEI の毛髪内部拡散挙動の解析

顕微分光光度計(MSP)は、繊維中への分散染料などの拡散挙動の解析に利用されている [4,5]。Han ら [6] は、MSP により、半永久染料 (HC Red 3) の毛髪内部拡散挙動の解析を行い、その拡散係数は、 $10^{-10}\text{cm}^2/\text{s}$ のオーダーであると報告している。

Fig. 3 Cross-sectional intensity scans at 487nm and 650nm (Blank) of bleached human hair treated with PEI (Mw=600) at 50°C, pH11.1 for 60min.

Fig. 4 Diffusion profiles of PEI (Mw=600) for different processing times (15 and 60 min).

ここでは、MSPを用いて、PEIの拡散挙動の解析を行った。図3に、オレンジIIでPEI部を染色したPEI処理試料（数平均分子量600の10%PEI水溶液（5%2-メチルピロリドン含有、pH11.1）中に50°Cで60分間浸漬した試料）に対して、表面から内部方向へスキャンしたMSPスペクトルを示した。表面から内部方向へ進むにつれて、オレンジII濃度、すなわちPEI濃度が減少していることがわかる。また、毛髪の界面付近においては、封入剤（水）と毛髪の屈折率の違いによるベッケラインの影響により、疑似スペクトルが発生する。このため、487nmで測定したMSPスペクトルから、オレンジIIの吸収による影響のない650nmで測定したMSPスペクトル（疑似スペクトル）を差し引くことにより、PEIの拡散プロファイルを作成した。図4に、処理時間の異なるPEIの拡散プロファイルを相対濃度（ c/c_0 ）で示し

た。ここで、 c_0 および c は、表面および距離 x における浸透濃度である。処理時間が長くなるにつれて、毛髪中にPEIが深く浸透している。図5に、分子量の異なるPEIの拡散プロファイルを示した。PEI分子量が小さくなるにつれて、毛髪中にPEIが深く浸透し、表面付近から毛髪内部に向かって、PEI濃度が低下している。

次に、PEIの毛髪導入状態におよぼすpHの影響について調査した。PEIは水分子からプロトンを引き抜くためにアルカリ性を示す。Woodward [1]は、PEIのpHが低くなるにつれて、窒素のポジティブチャージ率が増加する、すなわちpH10.5において4%、pH8.0において25%、pH6.0において33%、pH4.0において50%のポジティブチャージ率に達すると報告している。pH11.1におけるPEIの拡散パターンは、Fick型に近い形状を示し（図4、5）、拡散係数に大きな濃度依存性がないことが判明した。毛髪の等電点は、未処理毛でpH3.64 [7]と低く、等電点以上のpHにおいて、毛髪表面はマイナスチャージを帯びている。一方のPEIのポジティブチャージ率は低いため、イオンの相互作用が少なく、その結果、Fick型に近い挙動を示したものと推測した。一方、図6に、pH7.9のPEI（数平均分子量600）で処理した試料（10%PEI水溶液中に50°Cで60分間浸漬）の断面写真を示した。pHが11.1から7.9に低下した場合、毛髪中へのPEIの浸透度が低下していることがわかる。すなわち、PEIのポジティブチャージ率が増加し、毛髪表面のマイナスイオンとのイオンの相互作用が強まった結果、PEIが毛髪表面に残留したものと推測した。

Fig. 5 Diffusion profiles of PEI having different number-average molecular weights (Mw=300 and 600).

さらに、これら拡散プロファイルを用いて、PEIの毛髪中への拡散係数の算出を行った。拡散係数(D)の算出方法は、俣野の式1 [8]と唐沢らの式2 [9]を用いてプログラム解析を行い、相対濃度（ c/c_0 ）20~80%における拡散係数7点の平均値により算出した。

$$D_{c=c_1} = -\frac{1}{2t} \frac{dx}{dc} \int_0^{c_1} x dc \quad (1)$$

$$C = \frac{c}{c_0} = \exp(\beta x^\gamma) \quad (2)$$

ここで, $D_{c=c_1}$; 濃度 c_1 での拡散係数, x ; 表面からの距離, c_0 および c ; 表面 ($x=0$) および距離 x における濃度, C ; 相対濃度, β および γ ; 可変の計算パラメーター, である.

Fig. 6 Cross-sectional photomicrograph of bleached human hair treated with PEI (Mw=600) at 50°C, pH7.9 for 60min.

Fig. 7 Diffusion coefficient (D) of PEI (Mw=600) in bleached human hair as a function of relative concentration (c/c_0).

Table 2 Diffusion coefficients calculated from the PEI concentration profiles.

PEI (Mw)	Time (min.)	D $\times 10^{-10}$ (cm^2/s)	Average $\times 10^{-10}$ (cm^2/s)
300	15	5.22	4.34
		3.45	
600	15	1.38	1.61
		1.65	
		1.85	
		1.57	
600	60	0.84	1.07
		1.06	
		1.10	
		1.27	

図 7 に各相対濃度に対するブリーチ毛中の PEI (数平均分子量 600) の拡散係数を示した. 相対濃度 20~80%における拡散係数の値は, ほぼ一定となり, その平均値は, $1.10 \times 10^{-10} \text{ cm}^2/\text{s}$ であり, Han ら [6] の結果と一致した. 表 2 に, 拡散プロファイルから算出した PEI の拡散係数をまとめた. 数平均分子量 600 の PEI で 15 分間処理した試料と 60 分間処理した試料から算出した拡散係数の値を比較した場合, 両者の値は良い一致を示し, 本解析結果が妥当であることを示唆している. また, 数平均分子量 300 の拡散係数は, $4.34 \times 10^{-10} \text{ cm}^2/\text{s}$, 数平均分子量 600 の拡散係数は, $1.34 \times 10^{-10} \text{ cm}^2/\text{s}$ と計算された. この結果から, PEI の数平均分子量が半分になると, 拡散速度が約 3 倍増加することが判明した.

4. 結 論

毛髪断面試料の PEI 部を染色する手法を考案し, 数平均分子量 300~1800 の PEI が毛髪中へ浸透する様子を顕微鏡観察した. その結果, PEI 処理時間が長くなるにつれ, また, 数平均分子量が小さくなるにつれ, ブリーチ毛中への浸透性が増加することが判明した. また, 顕微分光光度法により, PEI の拡散プロファイルを求め, 毛髪内部拡散挙動の解析を行った. その結果, pH11.1 における PEI の拡散パターンは, Fick 型に近い形状を示し, 拡散係数に濃度依存性がないことが判明した. さらに, PEI の拡散プロファイルから拡散係数を算出した結果, $10^{-10} \text{ cm}^2/\text{s}$ のオーダーであることが判明した.

これらの結果から, 低分子量 PEI が毛髪中へ確実に浸透すること, PEI 分子量が 1200 以上になると, 毛髪中への浸透性が極端に低下することを証明した.

文 献

1. J. Woodard, *J. Soc. Cosmetic Chem.*, **23**, 593 (1972).
2. C. D. Chow, *Text. Res. J.*, **41**, 444 (1971).
3. M. L. Tate, Y. K. Kamath, S. B. Ruetsch, and H. -D. Weigmann, *J. Soc. Cosmetic Chem.*, **44**, 347 (1993).
4. K. Tsuda, *Sensyoku Kogyo*, **13** (No.11), 635 (1965).
5. Y. K. Kamath, S. K. Han, and H. -D. Weigmann, *Text. Res. J.*, **53**, 391 (1983).
6. S. K. Han, Y. K. Kamath, and H. -D. Weigmann, *J. Soc. Cosmetic Chem.*, **36**, 1 (1985).
7. V. Wilkerson, *J. Biol. Chemistry*, **112**, 329 (1935).
8. C. Matano, *Jpn. J. Phys.*, **8**, 109 (1932).
9. T. Itou, J. Seta, H. Urakawa, and S. Fujita, *Sen-i Gakkaishi*, **37**, T-103 (1981).