各種還元剤による処理毛髪のア α 結晶変性挙動

上甲 恭平^{*1, #}・高橋 洋^{*2}・武田 靖史^{*2}・大崎 敦士^{*3}

Alpha Crystal Denaturation Behavior of Human Hairs Treated by the Different Reducing Agents

Kyohei Joko^{*1, #}, Hiroshi Takahashi^{*2}, Yasushi Takeda^{*2}, and Atsushi Osaki^{*3}

^{*1}Department of Human Environment Design, Sugiyama Jogakuen University, 17-3, Hoshigaoka-motomachi, Chikusa-ku, Nagoya, Aichi 464-8662, Japan

^{*2}Central Research Institute, Milbon Co., Ltd., Zengenji-cho, Miyakojima, Osaka 534-0015, Japan

^{*3}R&D Department, Sunstar Inc., Kamihamuro, Takatsuki 569-1044, Japan

Abstract : Effects of the reducing agents such as ammonia thioglycolate (ATG), L-cysteine (CYT), cysteamine (CYA) and 2-mercapto-4-butanolide (BLT) on disulfide (-SS-) cross-links in microstructure surrounding the intermediate filaments (IFs) were investigated by analysis of a crystal denaturation behavior of intact and reduced human hairs using High pressure differential scanning calorimetry (HPDSC) and ambient pressure DSC (APDSC). Their reduced hair samples which sulfhydryl groups caused by a reduction reaction were blocked by N-ethyl maleimide (NEMI) were measured by these DSC techniques. The results have shown that ATG diffuses easily into the cortical cells and then dissociates some -SS- linkages in microstructure surrounding IFs, in contrast, and that the other reducing agent hardly acts to cleave the -SS- bonds in microstructure surrounding IFs. However, it was found that if the cortical cells mechanically crushed using the rotary speed mill were treated with CYT, CYT diffused easily the cortical cells and then dissociated some -SS- cross links in microstructure surrounding IFs. It has been believed from the above findings that CYT, CYA and BLT acts primarily to attack the -SS- bond in the cuticle cell layer. When comparing of the -SS- + -SH groups contents of hair samples reduced with ATG and CYA for different time, it was revealed that -SS- + -SH groups contents of both treated hair became almost constant at 10 min treatment, and furthermore that the equilibrium value of the ATG treated hair was only slightly higher than that of the CYA treated hair. This finding suggested that the amount of -SS-bond cleavage in the cortical cells by ATG treatment was considerably less. As a result of evaluating the permanent wave shape formed by the reducing agent of four under certain conditions based on the knowledge obtained above, it is concluded as follows : (1) Permanent efficiency of wave shape is attributed to the rearrangement of the molecular chains that make up the cuticle cell, which is induced by the -SS- linkage cleavage of exocuticle generating a strain by being wrapped on the rod. (2) The difference of the wave efficiency depending on the type of the reducing agent is due to differences in the permeability of these into cuticle cells.

(Received 14 February, 2014 ; Accepted 7 May, 2014)

1. 緒 言

羊毛繊維のセットや毛髪のパーマネントウェーブ(以後パーマと称する)には、種々の還元剤が使用される。還元剤は繊維内のジスルフィド(-SS-)結合を開裂し、構成分子の組み替えを容易にする働きがあり、目的に応じてさまざまな還元剤が使用されている。特に、より温和な条件が求められる毛髪のパーマネントウェーブでは、毛髪の履歴によって数種の還元剤が使い分けられている。その

代表的還元剤にチオグリコール酸アンモニウム(ATG)とシステイン(CYT)、システアミン(CYA)がある。これらの還元剤の作用については古くから研究され、ジスルフィド結合の開裂反応においてそれぞれの薬剤特性に応じた挙動を示すことが報告されている[1]。

我々は、パーマネントウェーブを形成するために、スルフィドリル基(-SH基)が適正量以上に生成される還元剤濃度を使用し還元処理後、水洗/放置(緩和処理)/酸化処理した場合、美容サロンで行われている還元処理時間より遙かに短い還元処理時間で満足のいくウェーブが形成されることを報告した[2]。また、これまでの毛髪内への還元剤の拡散と-SS-結合の開裂との関係に関する研究によ

corresponding author

^{*1} 梶山女学園大学

れば、還元挙動は拡散挙動と対応しており、還元は処理時間とともにキューティクル細胞からそれに隣接するコルテックス細胞に進行することが知られている[3,4]。これらのことを総合すると、適切な処理条件によってキューティクル細胞(層)を還元することで所望するウェーブが形成できるとの仮説が成り立つ。

しかし、この仮説を立証するには、-SS-結合の開裂部位とウェーブ形成との関係を明らかにする必要がある。これまでに、ウェーブ形成と-SS-結合の開裂度との関係について数多く報告されてきたが[5]、多くの場合、-SS-結合の開裂度は毛髪全体での値であった。葛原ら[6]は、顕微ラマン分光を用いて還元後開裂した-SH基をヨード酢酸により封鎖した毛髪を表面より数 μm 間隔でスポット分析を行い、-SS-特性バンドの相対強度による比較を行った。その結果、還元5分処理毛髪の場合、キューティクル細胞域およびその周辺のコルテックス細胞域のみで-SS-特性バンドの消失が確認された。このように最近では、この種の機器分析が多用されているが、各細胞のより詳細な切断部位(組織)については不明のままである。

このような細胞内の切断部位の同定については、最近、鈴田ら[7]が、ゴム網目弾性論を応用した分子間架橋数の決定法によりパーマ処理毛髪のコルテックス細胞内組織の分子間-SS-架橋度を見積っている。彼らによれば、還元剤であるチオグリコール酸が切断する部位は、中間径フィラメント結合タンパク(IFAP)球状粒子ドメイン間および中間径フィラメント分子(IF)/IFAP間の分子間-SS-結合であると結論している。さらに、酸化処理によって中間径フィラメント(IFs)の分子間ではほぼ-SS-結合は再結合するとも述べている。

我々もまた、過酢酸酸化により-SS-結合を酸化切断させた毛髪について、過酢酸処理にともなう-SS-結合切断量および α 結晶量を測定するとともに、湿潤状態(過剰量の水の存在下)で高圧差走査熱量分析(HPDSC)を測定した[8]。その結果、-SS-結合の切断は α 結晶構造に影響を及ぼしていないが、HPDSC曲線からは α 結晶変性開始温度が低温にシフトし、ある処理時間以上でダブルピーク化すること、さらに、それらピークの総面積が切断量の増加とともに減少することがわかった。このことから、-SS-結合が切断されるとIFsの熱的安定性が低下することが明らかになった。さらに、鈴田らの見解を参考にすると、この場合の-SS-結合は α 結晶を含むIFsにかかわっている分子間-SS-結合であると考えられる。

このようにDSC分析は、-SS-結合の切断とIFsあるいは α 結晶の熱安定性との関係に関する知見を得るための有効な手段であると言える。そこで、本研究では、市場で主に使用されている還元剤であるATG、CYT、CYAおよびラクトンチオール(BLT)でパーマ処理を施した後、-SH基をN-エチルmaleimide(NEMI)により封鎖した毛髪試料のHPDSCおよび常圧DSC(APDSC)測定を行ない、IFsあるいは α 結晶の熱安定性の変化から還元処理での

IFs周辺組織の-SS-結合切断状態の検討を行うとともに、得られた知見に基づき-SS-結合の切断部位(組織)とパーマメントウェーブ形成との関係について考察することとした。

2. 実験

2.1 試料および試薬

毛髪試料は、カラーリングやパーマメントウェーブ処理などを施していない日本人女性2名(毛髪A、B)の毛髪を使用した。試料毛束は、長さ20cm、重さ0.5gの毛束を作成し、1%ラウリル硫酸ナトリウム(エデト酸二ナトリウム0.1%含有)に1時間浸漬し、その後水洗して風乾することで調整した。以下、この状態の毛髪を未処理毛と称す。

還元剤としてATG(50%チオグリコール酸アンモニウム溶液:佐々木化学社製)、CYT(L-システイン塩酸塩・12水和水:佐々木化学社製)、CYA(50%システアミン塩酸塩水溶液:オリエンタルケミカル社製)、およびBLT-スビエラ(2-メルカプト-4-ブタノリド:昭和電工社製)を使用した。酸化剤には臭素酸ナトリウム(佐々木化学社製)を使用した。SH基修飾剤にはNEMI(キシダ化学社製;特級)を使用した。他の試薬は1級および特級を使用した。

2.2 コルテックス細胞の作製

コルテックス細胞は、高速回転衝撃型粉砕器P-14ロータースピードミル(フリッチュ社製)により機械的に粉砕することにより作製した。ただし、本実験ではキューティクル細胞等の分離は行わずに混合状態で用いた。

2.3 毛髪のウェーブ処理

毛束を湿潤させた後、直径12mmのロッドに重なるように巻きつけ、所定の濃度に調整した還元剤溶液(pH9.0)に35℃で所定時間浸漬した。その後、水道水で十分に水洗した後、20分間7.5%臭素酸ナトリウム溶液(NaBrO_3 : pH6.4)で処理した。水洗後、毛束をロッドより外しボードに吊して乾燥させた。

2.4 還元毛髪 NEMI 処理

NEMI処理液は、まず、pH8のリン酸緩衝液を0.1mol/Lリン酸二水素カリウム水溶液と0.05mol/L四ホウ酸ナトリウムを4.65:5.35の比で混合して作製した後、NEMIを0.05mol/Lとなるように加えて調整した。

2.2のウェーブ処理法に準じて還元処理した後、直ちに窒素置換した蒸留水を用いて4回洗浄し、24時間毛束を蒸留水に浸漬し、還元毛髪を調整する。その後、巻きつけたまま還元毛髪試料をNEMI処理液70mlに25℃、48時間浸漬した後、蒸留水で水洗し、風乾することでNEMI処理毛髪を作製した。

2.5 コルテックス細胞の還元/NEMI処理

試験管にコルテックス細胞を0.05g入れ、所定濃度の還元溶液2gを加えて35℃で5分間浸漬処理し、処理後直ちにろ過しながら窒素置換した蒸留水を用いてコルテッ

クス細胞を3回洗浄する。その後、24時間蒸留水に浸漬した。続いて、ろ過により分別したコルテックス細胞をNEMI処理液20mlに25℃、48時間浸漬した。その後、ろ過しながら蒸留水で水洗し、風乾した。

2.6 示差走査熱量測定 (DSC)

粉末状に裁断した還元/NEMI処理毛髪と還元/NEMI処理コルテックス細胞の約2mgを精秤し、開放アルミパンに封入して測定試料とした。HPDSC測定は、高圧示差走査熱量計DSCQ10(TA instruments社製)を用い、測定用圧力セルを窒素ガスにより2500kPaに調整後、流速50mL/minで窒素ガスを流しながら昇温速度20℃/min、室温～200℃の温度範囲で行った。APDSC測定は、DSCQ10を常圧に調整後、流速50mL/minで窒素ガスを流しながら昇温速度20℃/min、室温～280℃の温度範囲で行った。

2.7 SS+SH量の測定

塩化アンモニウム(0.16mol/L)、尿素(8mol/L)、塩化カリウム(0.5mol/L)、亜硫酸ナトリウム(0.2mol/L)、ゼラチン(0.01%)を蒸留水に混合溶解した溶液をアンモニア水でpH9.3に調整した後、ヨウ化メチル水銀(CH_3HgI ; 10^{-3}mol/L)を加え、SS+SH定量試薬とした。

還元/NEMI処理試料のSS+SH量はポーログラフを用い、以下の方法に準じて行った: 処理試料を約1cmに切断し、それを10mg精秤した後、10mlのSS+SH定量試薬に48時間浸漬させた。浸漬後の溶液7mlを電解セルに入れ、窒素による脱酸素を10分間行った後にポーログラフ(POLAROGRAPHIC ANALYZER P-3000、ヤナコ社製)を用い、加電圧を0.1～1.0Vまで変化させた時に得られる電流-電圧曲線を求めた。この曲線から CH_3HgI の還元波の波高を計測し、SS+SH量を算出した。

3. 結果と考察

3.1 過酢酸処理毛髪のHPDSCおよびAPDSC測定

緒言で述べたように、前報では-SS結合を切断した過酢酸化毛髪を湿潤状態で測定したが、本研究では、還元処理毛髪の測定に先立ち前報と同じ過酢酸処理毛髪をマトリックスの無配向化が同時に起こらない水分子が吸着した状態(吸湿状態)でのHPDSC測定[9]と水分が存在しない状態(絶乾状態)でのAPDSC測定を行ない、これらの測定で得られる吸熱挙動に-SS結合の切断がどのように影響をおよぼすかについて検討した。

測定試料には、未処理毛髪(毛髪A)、過酢酸処理15分、30分、60分処理毛髪を用いた。これら試料の(1/2シスチンおよびシステイン酸)量は、未処理毛髪: (14.7, 0.4), 15分処理毛髪: (12.4, 2.7), 30分処理毛髪: (10.4, 4.1), 60分処理毛髪: (6.4, 7.7)[単位: 残基数/アミノ酸100残基]であり、 α 結晶量は未処理毛髪のそれと同じである[8]。

図1にこれら試料の吸湿状態でのHPDSC(A)とAPDSC(B)の測定結果を示した。まず、HPDSCチャート[図1(A)]からは、 α 結晶変性ピークの開始温度(図中の矢印)はいずれの試料でも同じであるが、-SS結合の切断量の増加とともに α 結晶の変性を示す吸熱ピーク形状はブロードになり、60分処理毛髪では明らかに2つのピークに分離している。さらに、これらのピーク面積も-SS結合の切断に伴い減少している。この結果は、前報[8]で報告した湿潤状態でのHPDSC測定結果と一致している。前報では、変性ピーク温度の低温化は周辺組織の-SS結合が切断されたIFs内 α 結晶の熱安定性の低下によるものであるとした。また、ピーク面積[変性エンタルピー(ΔH)]の減少は、-SS結合切断によるだけでなくIFsそのものが酸化作用を受けて高次構造が変化したことによるとした。

すなわち、IFs周辺組織の-SS結合の切断およびIFsの高次構造そのものが変化した場合、 α 結晶そのものが変化

Fig. 1 HPDSC (A) and APDSC (B) thermographs for human hairs treated with peracetic acid for different time. Arrows in the figure indicate the onset of denaturation temperature. Numerical value in the diagram is the oxidation time.

しなくても HPDSC チャートでの α 結晶変性ピークトップ温度 (T_D) は低温にシフトし、 ΔH も減少するような曲線となる。

一方、図 1(B) の APDSC チャートでは、処理時間に関わらずいずれの処理毛髪も 220℃～260℃ 範囲にシングルピークが検出されている。羊毛や毛髪は 200℃ 以上の温度では、-SS-結合の切断、 α 結晶の変性および IFAP 球状粒子構造の無配向化が起こるだけでなく、並行してそれら組織成分が熱分解する[10]。そのため、 α 結晶の熱量は他の熱事象の熱量と重なり検出されるピーク面積は HPDSC でのピーク面積より小さい。ここで用いた未処理毛髪では、HPDSC 測定での変性エンタルピーが 16～18J/g であるのに対して APDSC 測定での ΔH は 8～9 J/g である。したがって、約半分の α 結晶は変性開始温度より低温域で変性していると考えられている[10]。しかし、その詳細は不明である。

このような数種の反応による吸熱現象が重なっているものの、図 1(B) に示された各毛髪の変性ピークは、HPDSC 測定でのそれと異なり、変性開始温度および T_D はほとんど変わらず、変性終了温度のみが -SS-結合の切断とともに高温側にシフトしたブロードなピーク形状となっている。また、ピーク面積も -SS-結合切断量とともに明らかに減少している。

この結果であるが、これまでの知見を参考にすれば、周辺組織の -SS-結合の切断および高次構造そのものが変化した IFs 内の α 結晶は、変性開始温度以下の温度で変性したと考えられることから、検出されているピークは酸化処理の影響を受けていない α 結晶の変性熱量であると考えられる。

Fig. 2 HPDSC thermographs for human hairs modified with N-ethyl maleimide (NEMI) after treating with ammonia thioglycolate (ATG) and L-cysteine (CYT) for different time. Numerical values in the diagram are the reduction time and a crystal denaturation enthalpy, respectively.

以上のように、酸化あるいは還元により IFs 周辺組織の -SS-結合の切断および IFs の高次構造が変化すれば、その状態に応じて IFs 内の α 結晶の熱安定性および ΔH が変化することから、その状態を HPDSC および APDSC 測定によって予測できるものと期待される。

3.2 還元/NEMI 処理毛髪の HPDSC および APDSC 測定

図 2 に ATG および CYT により還元処理した後 NEMI 処理を施した毛髪の HPDSC 測定結果を示した。なお、ATG 処理では 5, 10, 20 分処理毛髪の結果を、CYT では、20 分処理までは変化がなかったため、20, 40, 60 分処理毛髪の測定結果を示した。

図から明らかなように、還元剤の種類によらず還元/NEMI 処理によって、変性開始温度が低温側にシフトし変性ピークがブロード化するが、 ΔH はほとんど変わらないことがわかる。まず、変性ピークがブロード化していることから、ATG および CYT は過酢酸と同様に IFs 周辺組織の -SS-結合を切断するように作用していると考えられる。また、 ΔH がほとんど変わらなかったことから、過酢酸処理と異なり IFs そのものの変性エンタルピーを低下させるようには作用していないと考えることができる。ところが、図 1 の過酢酸処理と異なり変性開始温度が低温側へシフトしていた。この現象は、IFs の還元により生成した SH 基には NEMI が反応しており、そのことにより変性エントロピーが増加することで変性開始温度が低温化したものと考えられることで説明できる。

次に、APDSC 測定での変化の様子を図 3 に示す。なお、測定試料は図 2 に示したものと同一のものである。まず、使用した試料毛髪が熱安定性の異なる 2 種類のコレテックス細胞で構成されていることが、還元/NEMI 処理試料の吸熱ピークがダブルピークとなっていることからわかる。

さらに、還元処理時間は異なるが、いずれの処理においても低温側のピーク形状が処理時間とともに顕著に低温側にシフトしブロード化すること、ATG 処理では ΔH は処理時間とともに減少するが、CYT ではほとんど変化していないことがわかる。このような変性開始温度の低温化と ΔH の減少挙動は、図 2 の過酢酸処理毛髪で示された挙動とは全く様相が異なっている。

このことからすれば、ATG/NEMI 処理試料の熱変性挙動は、単に IFs 周辺組織の -SS-結合の開裂および IFs の高次構造変化だけでなく、他の作用との複合によるものと考えられる。他の作用が関係していることについては、CYT/NEMI 処理で ΔH がほとんど変化しないことから支持される。

このような IFs 周辺組織の -SS-結合の変化と無関係に、APDSC 測定で変性ピーク温度を低温化させる事象として IFs 周辺組織への第三物質の吸着が報告されている[11]。第三物質の代表例は水分子であり、HPDSC 測定はその作用を利用したものである。しかし、APDSC 測定では水分

Fig. 3 APDSC thermographs for human hairs modified with N-ethyl maleimide (NEMI) after treating with ammonia thioglycolate (ATG) and L-cysteine (CYT) for different time. Arrows in the figure indicate the peak top temperature of a crystal denaturation.

子は蒸発してしまうため、不揮発性物質が水分子の代わりに吸着すると、変性ピーク温度を低温化させる。

細川[11]らは、ポリオール類の毛髪におよぼす影響を調べる中で、処理毛髪のAPDSCを測定し、いずれのポリオール処理毛髪においても結晶崩壊ピーク温度が低温にシフトすることを報告している。同様に最近、J.M.Marshら[12]も、水酸化アンモニウムやエタノールアミンで処理した毛髪をHPDSCで検討した結果、これらの処理によって T_D が低温化し ΔH も減少するが、処理後に水洗を繰り返すことで T_D は未処理毛髪での温度に、 ΔH も未処理毛髪での値にほぼ回復することを見出している。この現象は、IFs周辺組織に水酸化アンモニウムやエタノールアミンが浸透吸着するが、それらが水洗により除去されたことによると考えられている。

したがって、還元/NEMI処理試料では毛髪内部において、

の反応が進行するが、第三物質としては、未反応の還元剤およびこの反応系で生成したRSSRであるジチオグリコール酸およびシスチンが有力な物質であると考えられる。

3.3 還元酸化処理毛髪のAPDSC測定

次に、還元処理後-SS-結合を酸化処理で再結合させた還元酸化処理毛髪のAPDSC測定を行い、その結果を図4に示した。いずれの還元剤も、酸化処理によって変性ピーク形状は若干のブロード化が見られるが、未処理毛髪のそれとほぼ同一の形状に戻っておりIFsの熱安定性が回復

Fig. 4 APDSC thermographs for human hairs oxidized with sodium bromate (NaBrO_3) after reducing with ammonia thioglycolate (ATG) and L-cysteine (CYT) for different time.

したことがわかる。このことから、一連の還元酸化処理によってIFsそのものは高次構造変化していないこと、酸化処理によりIFs周辺組織の-SS-結合がほぼ完全に再結合されることがわかる。しかし、処理毛髪の低温側の変性ピーク温度が若干低温側にシフトしている。これまでの議論に従えば、このシフトはIFs周辺組織に処理溶液の構成薬剤および還元剤の2量体(RSSR)が洗い出されず残存していることによるものと考えられる。

ここまでの結果を総合すると、ATGとCYTとは基本的には同一作用機構を有する還元剤であると言えるが、IFs周辺組織への浸透速度および反応性は明らかに異なっている。すなわち、ATG処理では処理時間が増加するとともに作用を受けるIFs周辺組織量が増加しており、ATGはコルテックス細胞内に容易に浸透しIFs周辺組織の-SS-結合と反応すると言える。また、切断された-SS-結合は酸化処理によりほぼ完全に再結合すると考えられる。それに対して、CYT処理では20分処理でわずかにIFs周辺組織への影響が見られるが、60分処理後でもその度合いはほとんど変わっていない。このことは、葛原らのラマン分光法による測定結果[5]とも良く一致しており、CYTはコルテックス細胞内には浸透しがたく、IFs周辺組織の-SS-結合を切断しないものと考えられることができる。

しかしながら、CYTも還元力は強くコルテックス細胞内の-SS-結合と反応しないとは考え難い。この点を確認するために、毛髪をフィブリル化処理することで作製したコルテックス細胞に直接反応させた場合の還元挙動について検討した。

3.4 還元/NEMI処理コルテックス細胞のAPDSC測定

図5にコルテックス細胞の光学顕微鏡写真を示したが、十分にフィブリル化していないコルテックス細胞も存在

Fig. 5 Optical micrograph of cortical cells mechanically crushed using the rotary speed mill.

する。この細胞試料を濃度の異なる ATG および CYS 溶液中で 35℃、5 分間還元処理した後、NEMI 処理を施した細胞試料の APDSC 測定結果を図 6 に示した。図中の未還元のコルテックス細胞の APDSC チャートでは、毛髪のと比べピークは裾野を引くブロードなピークとなっているが、 α 結晶構造の大部分は元の凝集構造を保持していると考えられる。まず、ATG/NEMI 処理コルテックス細胞では還元剤濃度の増加にともなうピーク形状変化は、図 3 での毛髪での変化と同傾向であることがわかる。それに対して、CYT では 0.2mol/L 以上の濃度でピーク形状が変化しており、CYS も濃度が高くなれば 5 分間処理であっても IFs 周辺組織の-SS-結合と反応していることがわかる。言い換えると、CYT がコルテックス細胞表面での濃度が 0.2mol/L 濃度以上となれば IFs 周辺組織の-SS-結合と反応できることを示している。

図 6 で得られた結果は、毛髪の還元処理において、還

Concentration of reducing agent : (1) 0mol/L, (2) 0.1mol/L, (3) 0.2mol/L, (4) 0.3mol/L, (5) 0.4mol/L, (6) 0.5mol/L

Fig. 6 APDSC thermographs for cortical cells modified with N-ethyl maleimide (NEMI) after reducing with ammonia thioglycolate (A) and cysteine (B) for different concentration of reducing agent.

元剤が毛髪内部に拡散しコルテックス細胞表面に達した時点での、コルテックス表面濃度とコルテックス内還元作用との関係を示すモデルと考えることができる。このことからすれば、CYT の反応性は ATG のそれよりわずかに弱いと見なすことができるが、IFs 周辺組織の-SS-結合に対して十分な反応性を有していると言える。

ところが、キューティクル細胞および細胞膜複合体で組織化された毛髪では、IFs 周辺組織の-SS-結合には反応していない。CYT はアミノ酸の一種であり毛髪内には通常の化合物と同様に細胞膜複合体を通りコルテックス細胞にまで浸透するものと考えられることから、コルテックス細胞表面(細胞膜複体内)では、還元性を示さない未解離の CYT あるいはシスチンとして存在しているものと考えられる。このことは、CYT/酸化処理毛髪の APDSC 測定で推察したように IFs 周辺組織内に第三物質が吸着しているとしたことから支持される。

3.5 CYA および BLT での還元/NEMI 処理毛髪の APDSC 測定

ここまで AGT と CYT の還元挙動について議論を進めてきたが、これまでの議論の検証の意味も含め、毛髪(B)を用いて現在広く使用されている還元剤である CYA および BLT の還元挙動について検討を行った。

図 7 に 3 種の還元剤で所定時間処理後、NEMI 処理を行った毛髪試料の APDSC 曲線を示した。なお、各還元剤の濃度は ATG ではこれまでと同じ 1.0mol/L を、CYA は 0.75 mol/L, BLT は 0.5 mol/L とした。濃度を揃えていない理由は、CYA は次に述べるウェーブ形成との関係で ATG でのウェーブ形状とほぼ同等のウェーブ形状が得られる濃度に、BLT は溶解度が小さいためほぼ飽和に近い濃度としたことにある。

この図での ATG/NEMI 処理の結果であるが、図 3 の結果と比べると、まず、毛髪(B)が図 3 での毛髪(A)とはコ

Fig. 7 APDSC thermographs for human hairs modified with N-ethyl maleimide (NEMI) after treating with ammonia thioglycolate (ATG), cysteamine (CYA) and 2-mercapto-4-butanolide (BLT) for different time.

Table 1 -SS- + -SH groups contents of human hairs reduced with ammonia thioglycolate (ATG) and cysteamine (CYA) for different time.

	SS+SH 量 [μ mol/g]					
	0min	5min	10min	20min	40min	60min
ATG	691	644	627	630	627	623
CYA	691	654	657	651	652	656

ルテックス細胞組成が異なっていることが、シングルピークで変化していることから分かる。しかし、還元処理での影響は反応速度が若干異なるものの、図3で見られた変化と変わらないと見ることができる。

一方、CYA および BLT での測定結果は、ATG での結果とは異なっており、CYT での結果に類似している。しかし、CYT では 60 分処理でピーク形状が大きく変化したのに対して、これらの還元剤処理ではピーク温度は低温側にシフトしてブロード化しているが ΔH はほとんど変化していない。このことは、これまでの議論に従うと、これら 2 つの還元剤は IFs 周辺組織の-SS-結合には作用せず、さらに還元剤の反応化合物の吸着もわずかであることがわかる。

以上の結果、ATG は毛髪のコルテックス細胞内 IFs 周辺組織の-SS-結合を還元するが、CYT、CYA、および BLT は短時間処理では IFs 周辺組織の-SS-結合をほとんど還元するようには作用しないと考えられる。しかし、これまで良く知られているように、還元処理後-SH 基封鎖処理毛髪の-SS-+ -SH 含有量を測定すると、いずれの還元剤でも、含有量には差があるものの未処理よりも低下しており、毛髪内の-SS-結合が還元されていることは確認できる。ここでは、表1にATGおよびCYAで処理したNEMI処理毛髪の-SS-+ -SH 含有量を測定した結果を示す。結果は、測定値に若干バラつきが見られるが、10分処理までは時間とともに値が低下し、10分処理後はほぼ飽和に達すると見なせる結果が得られている。

この結果と DSC 測定で得られた知見を考え併せると、ATG はキューティクル細胞(と細胞膜複合体)およびコルテックス細胞内の-SS-結合との反応量を示し、CYA はほぼキューティクル細胞(と細胞膜複合体)での反応量を示していると考えることができる。この結果を見る限り、この差はわずかであり、パーマメント処理での還元処理はほとんどが繊維表面層周辺組織(キューティクル細胞と隣接したコルテックス細胞)で行われている考えることができる。

最後に、本研究の目的の一つである各還元剤によるパーマメントウェーブ形成挙動を DSC 測定より得られた知見に基づき、パーマメントウェーブ形成と毛髪構成組織の還元状態との関係について検討を行った。

3.6 各還元剤によるウェーブ形成挙動

これまでの実験で用いた還元剤濃度で処理時間を変え、酸化処理を行った毛髪の乾燥後のウェーブ形状を図8に

Fig. 8 The dry waving performance of the hair tresses waved by the permanent waving process consisting in using 12 mm rod, reducing with 1.0 mol/L ATG solution, 1.0 mol/L CYT solution, 0.75 mol/L CYA solution and 0.5 mol/L BLT solution respectively at 35°C for a fixed time, rinsing with water and neutralizing with 7.5% NaBrO₃ solution at pH 6.0, 35°C for 10 min.

示した。

この結果は、還元剤濃度が異なっていることから還元剤間のウェーブ形成能の比較することは適当ではなく、また本実験の目的でもない。ここでは、還元処理時間とウェーブ形状との関係に焦点を当て比較検討する。

まず、ATG であるが、10分処理でウェーブ山数(ウェーブトップの数)が6山、毛髪長(ウェーブ毛髪の両端間距離)がほぼ最短となるウェーブが形成されている。これ以上の処理では、美容業界で過剰還元(望むウェーブ山数以上にウェーブ山数ができる現象)と呼んでいるウェーブ山数が増加したウェーブ形状となっている。還元剤濃度が同じ CYT では、20分処理までは ATG 5分処理よりも山数の少ない毛髪長の長いウェーブしか形成できないが、60分処理でのウェーブは ATG 20分処理に匹敵するウェーブ形状を示した。また、還元剤濃度が異なる CYA と BLT でのウェーブ形成挙動(処理時間とウェーブ形状との関係)は ATG のそれとは明らかに異なり、長時間処理においても過剰還元が見られない。CYA では10分処理以降、山数が1山増加するがウェーブ形状に大きな変化が見られない。同様に、BLT では若干ウェーブの形成は弱いですが、20分処理で ATG の5分処理での形状となり、その後、山数が1山増えるが形状はほとんど変わっていない。

このように ATG 以外の還元剤でも ATG の適正還元で得られるウェーブは形成できることから、毛髪のウェーブ形状は、ロッドに巻き付けられた状態で最も歪応力がかかり、その歪の解消が困難なエキソキューティクルの還元度に依存すると考えることができる。

なお、ATG 以外は長時間還元処理した場合も過剰還元が起こらないと考えられる。このことは、ATG は毛髪の

コルテックス細胞内 IFs 周辺組織の-SS-結合を還元するが、CYT, CYA, および BLT は短時間処理では IFs 周辺組織の-SS-結合をほとんど還元しないこと、および-SS-結合の反応率が 10 分処理で平衡に達することなどから、過剰還元はコルテックス細胞内の-SS-結合の切断に誘発される非還元部位分子鎖の再配列に起因すると考えることができる[13]。しかしながら、キューティクル細胞での各還元剤による還元量など不明な点も多く、詳細についてはさらなる検討が必要である。

以上のことをまとめると、パーマメントウェーブ形成はロッド形状に応じた歪みが集中するエキソキューティクル構成分子鎖間-SS-結合の還元開裂にともなう分子緩和に起因するものであり、さらに、還元剤の種類によるウェーブ形成挙動の違いは、エキソキューティクル細胞内への浸透性の差異およびエキソキューティクル構成分子鎖間-SS-結合との反応性の差異によるものであると結論できる。

4. 結 論

4 種の還元剤 ATG, CYT, CYA および BLT でパーマ処理を施した毛髪試料の HPDSC および APDSC 測定を行ない、IFs あるいは α 結晶の熱安定性の変化から還元処理での IFs 周辺組織の-SS-結合切断状態の検討を行うとともに、得られた知見に基づき、-SS-結合切断状態とパーマメントウェーブ形成との関係について考察を行った。

まず、還元処理した後、生成した-SH 基を NEMI により封鎖した毛髪の吸湿状態での HPDSC および APDSC 測定を行なった結果、ATG はコルテックス細胞内に容易に浸透し、IFs 周辺組織の-SS-結合と反応するのに対し、他の還元剤では、IFs 周辺組織の-SS-結合とはほとんど反応しないことが明らかになった。しかしながら、機械的にフィブリル化させることで得たコルテックス細胞を CYT によって処理したところ、CYT はコルテックス細胞内に浸透して IFs 周辺組織の-SS-結合を切断するように作用することがわかった。このことから、繊維内部に浸透した CYT はコルテックス細胞表面(細胞膜複合体内)では還元性を示さない未解離の CYT あるいはシスチンとして存在しているものと考えられた。

さらに、ATG および CYA 処理による毛髪全体での-SS-結合切断量を調べた結果、いずれの処理でも 10 分処理で

切断量はほぼ一定となること、および ATG と CYA との切断量の差がわずかであることがわかった。このことから、ATG での IFs 周辺組織の-SS-切断量は多くないものと推察された。

以上得られた知見に基づき、各還元剤によるパーマメントウェーブ形成挙動を比較した結果、パーマメントウェーブ形成はロッド形状に応じた歪みが集中するエキソキューティクル構成分子鎖間-SS-結合の還元開裂にともなう分子緩和に起因するものであり、さらに、還元剤の種類によるウェーブ形成挙動の違いは、エキソキューティクル細胞内への浸透性の差異およびエキソキューティクル構成分子鎖間-SS-結合との反応性の差異によるものであると結論した。

文 献

1. C. Robbins, "Chemical and Physical of Human hair", 4th Ed. Springer-Verlag, New York, Berlin, Heidelberg, pp.105-148 (2002).
2. K. Joko, K. Sakurai, and Y. Morimoto, *Sen'i Gakkaishi*, **69**, 8-12 (2013).
3. R. R. Wickett, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **34**, 301-316 (1983).
4. A. Kuzuhara, I. Tabata, and T. Hori, *Sen'i Gakkaishi*, **59**, 128-132 (2003).
5. D. H. Johnson, "Hair and Hair Care", Machal Dekker, inc. pp.167-182 (1997).
6. A. Kuzuhara, *Biopolymers*, **77**, 335-344 (2005).
7. K. Suzuta, S. Ogawa, Y. Takeda, K. Kanayama, and K. Arai, *J. Cosmet. Sci.*, **63**, 177-196 (2012).
8. A. Osaki, M. Okada, K. Yamamoto, and K. Joko, *J. Soc. Cosmet. Chem. Japan*, **43**, 86-94 (2009).
9. K. Joko, *Proceedings of 12th International Wool Research Conference*, Shanghai, China, Volume I, 51-55 (2010).
10. F. J. Wortmann, and H. Deutz, *J. Appl. Polym. Sci.*, **48**, 137-150 (1993).
11. M. Hosokawa, M. Sato, and M. Sadai, *J. Soc. Cosmet. Chem. Japan*, **31**, 167-175 (1997).
12. B. J. M. Marsh, C. J. Clarke, K. Meinert, and R. M. Dahlgren, *J. Cosmet. Sci.*, **58**, 319-327 (2007).
13. K. Joko, and K. Sakurai, *Sen'i Gakkaishi*, **69**, 19-25 (2013).