【一般論文／Transaction】

赤外分光法によるブリーチ処理毛髪に生じる システイン酸の評価

鈴木 和之・渡邊 紘介・前田 貴章・伊藤 廉

株式会社ミルボン 中央研究所

Evaluation of Cysteic Acid in Bleached Hair Using Infrared Spectroscopy

Kazuyuki Suzuta, Kosuke Watanabe, Takaaki Maeda, and Len Ito

Central Research Institute, Milbon Co. Ltd., 2-3-35 Zengenji, Miyakojima, Osaka 534-0015, Japan

Abstract: In hair-bleaching treatment, it is well-known that disulfide bond in keratin fiber is oxidatively cleaved to generate cysteic acid. In the present study, we examined cysteic acid generation behavior in human hair fiber based on infrared spectroscopy. It was suggested from a result of attenuated total reflection (ATR) method that the amount of cysteic acid increases linearly with square root of bleaching time, and the cysteic acid generation in the hair is a diffusion-controlled reaction. As the analysis part of the hair by the ATR method is cuticles, this diffusion-controlled behavior seems to occur mainly in the A-layer and exocuticle with higher disulfide crosslink density and slower diffusion rate of hydrogen peroxide. In addition, it was found out that cysteic acid generation in cortex is also diffusion-controlled because the amount of cysteic acid obtained by KBr method increases linearly with square root of bleaching time similarly to the results of ATR method. In an IR microscopic measurement using synchrotron radiation source, it was revealed that the amount of cysteic acid generated by bleaching is even within the cortex. From this result, it was suggested that the diffusion-controlled behavior for cysteic acid generation in the cortex is caused by controlling the diffusion of hydrogen peroxide from cell membrane complex into cortical cell.

(Received 31 August, 2015 ; Accepted 24 November, 2015)

1. 緒 言

頭髪に対するヘアカラーリング技術は、様々なヘアスタイルを創り出す手法の1つとして美容室を中心に広く行われており、化粧品産業においては重要な技術である。ヘアカラーリング剤は使用する染料の種類や染色効果の持続力に応じて、一時染毛料、半永久染毛料、及び永久染毛剤に分類されている。その中で永久染毛剤が最も頻繁に利用されている[1]。永久染毛剤によるヘアカラーリング技術は、頭髪のメラニン色素を酸化脱色する反応と、酸化染料と呼ばれる無色の芳香族アミン化合物を酸化重合によって発色させる反応を同時に起こすことで、髪色を変化させるものである。前者の脱色反応はブリーチと呼ばれる。これらの反応は、塩基性条件下で過酸化水素などの酸化剤を用いる

ことで進行する。

毛髪はキューティクルとコルテックスという2つの主要な形態学的な組織から成っている。キューティクルは毛髪の最外層において厚さ約0.5 μmの板状のキューティクル細胞が6~10枚重なることによって構成され、キューティクルの厚さは約5 μmである[2]。コルテックスは幅1~6 μmで長さ約100 μmの紡錘状のコルテックス細胞の集合体として構成される[2]。これらの細胞同士は細胞膜複合体(CMC)を介して接着されている。コルテックス細胞は中間径フィラメント(IF)と球状マトリックスタンパク質(KAP)の集合体である。このような複雑な階層構造をもつ毛髪に対して過酸化水素を用いたブリーチ処理を行うと、毛髪内のメラニン色素を酸化脱色すると同時に毛髪タンパク質の主たる構成アミノ酸であるシスチンを過剰に酸

corresponding author : 〒534-0015 大阪市都島区善源寺町 2-3-35
株式会社ミルボン 中央研究所
E-mail : ksuzuta@milbon.com

化しシステイン酸を副成することが知られている[3-5]. システイン酸の生成により毛髪内タンパク質間のジスルフィド(SS)結合が減少することからタンパク質の溶出が起こることが報告されている[6]. 繊維の物理的变化として、ブリーチ処理による力学物性の低下が報告されている[7]. このような力学物性の低下は、システイン酸の生成に際して起こるSS結合の酸化的開裂によるものと解釈されていることから、システイン酸の増加は毛髪のダメージの主因であると考えられ、システイン酸の生成量が毛髪繊維の損傷度合いの指標となることが提案されている[3,8].

シスチンは毛髪繊維の全体に分布していることから、毛髪は複雑なジスルフィド架橋系とみなされる. システイン酸の生成とSS結合の切断は同時に起こるので、システイン酸の生成は架橋構造の変化を意味する. 著者らは、パーマネントウェーブ処理においてコルテックスのSS架橋構造変化が及ぼす毛髪繊維の力学特性への影響を論じており[9,10], パーマネントウェーブ処理による初期弾性率の低下は、還元及び酸化を通じてKAPタンパク質におけるSS架橋構造が完全に回復しないことによると指摘している. このように、毛髪の力学特性にはSS結合によって作られる架橋構造が深く関わっている. ブリーチ処理によって引き起こされる毛髪ダメージの抑制は、ヘアカラーリングによる消費者の満足をより高めるための重要な課題であるが、そのためにはブリーチ処理によるSS架橋構造の変化についての理解が重要である. したがって、システイン酸の生成挙動や存在状態を明らかにすることは、ブリーチ処理によって引き起こされるSS架橋構造や力学物性の変化について理解を深める一助になると期待される.

毛髪内におけるシステイン酸の生成挙動に関する研究として、近年では軟X線を用いたシステイン酸の評価に関する報告がされているものの[11], 実験が比較的簡便である赤外分光法を用いた研究が依然として主流である[12-14]. 赤外分光法を用いた毛髪研究として、毛髪全体の評価にはKBr錠剤法が、また毛髪表面の局所的な評価には全反射測定法(ATR法)が主に用いられており[13], また毛髪内部における局所的な評価のために、ミクロトームで作成された毛髪の横断切片に対して顕微赤外分光法(顕微IR法)が用いられる[15]. さらに、輝度が高く指向性に優れたシンクロトロン放射光を光源に用いた顕微IR法を用いて、毛髪内における脂質やシステイン酸の局所分布が研究されている[16,17]. 本研究では、ブリーチ処理時間を変化させて得られた毛髪に生じたシステイン酸を、ATR法、KBr錠剤法及び顕微IR法の3つの方法を用いて解析することで、ブリーチ処理によるシステイン酸の生成挙動の評価を試みた.

2. 実験

2.1 試料および試薬

2.1.1 毛髪の精製

1人の20代の日本人女性から採取された約30 cmの化学処理されていない黒髪を用いて、約25 cmの毛髪1 gから成る毛束を作製した. 毛髪の精製は、20 mM EDTAを含む5%ラウレス-9水溶液中に35℃で1 h浸漬した後、蒸留水で洗浄し風乾を行った.

2.1.2 試薬

過酸化水素はADEKA社製の35 wt%水溶液を用いた. 25 wt%アンモニア水は和光純薬工業社製の一級品を使用した. また、KBr錠剤法ではキシダ化学社製のIR吸収測定用の臭化カリウム試薬を用いた.

2.2 ブリーチ処理

100 mL トールビーカーにアンモニア水でpH10.4に調製された3 wt%過酸化水素水溶液100 gと毛髪1 gを入れて、室温で所定時間静置することでブリーチ処理を行った. 内圧調整のために、ビーカーの注ぎ口をポリエチレン製のラップフィルムと輪ゴムで密封し、ラップフィルムに直径1 mm程度の穴を開けた状態で処理を行った. 処理時間は5, 15, 30, 60, 120, 240 及び480 minとした. 所定時間経過した毛束は精製水で十分に水洗し、十分に風乾した.

2.3 赤外吸収スペクトル測定

2.3.1 ATR法

ATR法は、Thermo Nicolet社製モデルNexus 670を用いた. Ever-Glo光源及び重水素化硫酸トリグリシン(DTGS)検出器を用いて、スキャン回数256回、分解能 4 cm^{-1} の条件下で測定を行った. 測定は、高屈折率のGe偏光プリズムを用い、入射角 45° で行った. ATR法における赤外光の毛髪試料へのものぐりこみ深さが $1\text{ }\mu\text{m}$ 程度であることから、測定対象はキューティクル部位であることが想定されたので、得られたスペクトルに対して、キューティクルの屈折率を1.55としてATR補正を行った[18].

2.3.2 KBr錠剤法

KBr錠剤法は、常法に従って実施した[19]. 赤外吸収測定用の試料は、はさみで細かく裁断された約0.5 mgの毛髪繊維に50 mgの臭化カリウムの乾燥粉末を合わせてメノウ乳鉢に入れ、湿気を吸収しないように速やかに粉碎混合し、錠剤成型器(島津製作所社製MHP-1)に入れて成型することで調製した. 赤外吸収測定には、ATR法と同様にThermo Nicolet社製モデルNexus 670が用いられた. スキャン回数32回、分解能 4 cm^{-1} の条件下で測定を行った.

2.3.3 顕微IR法

顕微IR法の実験は、大型放射光施設SPring-8のビームラインBL43IRに設置された、Bruker社製モ

デル Vertex70 に同社製赤外顕微鏡 Hyperion2000 を組み合わせた装置を用いた。毛髪を蒸留水中で凍結させ、クライオミクロトームを用いて厚さ $10\text{ }\mu\text{m}$ の毛髪横断切片を調製した。切片はフッ化バリウム板上に置き、赤外顕微鏡のマッピングステージに設置して透過測定を行った。アパーチャーサイズを $5\text{ }\mu\text{m}\times 5\text{ }\mu\text{m}$ とし、毛髪横断切片内における任意の箇所に測定点を定め、テルル化カドミウム水銀(MCT)検出器を用いて、スキャン回数 128 回、分解能 4 cm^{-1} の条件下で測定を行った。ここで、定められた測定点における繊維表面からの深さを求めるために、装置に付属の顕微鏡とカメラで撮影された毛髪切片の形状に対して、図 1 に示すように楕円をフィッティングした。楕円の中心を毛髪中心 O、また測定点を A と定め、OA を通る直線と楕円の交点を B とした。測定点における繊維表面からの深さは、毛髪表面が 0、毛髪中心が 1 になるように規格化された深さ D として D_1/D_0 により求めた。ここで、 D_1 は AB 間の距離、また D_0 は OB 間の距離である(図 1)。

Fig. 1 An optical micrograph of a cross-section for hair samples. The center of hair cross-section, O, was determined as the center of the ellipse (drawn by broken line) fitted to its shape. In IR microscopic experiment, the depth from hair surface for the measurement point, A, was calculated and normalized from the lengths of OB and AB.

3. 結果と考察

3.1 ブリーチ処理によるキューティクルの化学組成変化

未処理毛髪およびブリーチ処理毛髪に対して ATR 法にて赤外吸収スペクトルを測定した。波数 $800\sim 4000\text{ cm}^{-1}$ の範囲において得られた赤外吸収スペクトル

Fig. 2 Infrared absorption spectra obtained by ATR method: (···) untreated, (—) bleached for 480 min. The straight dashed line between 1800 and 980 cm^{-1} is the baseline defined for the bleached hair.

ルを図 2 に示す。スペクトルにみられる多数の吸収ピークのそれぞれは、毛髪の化学構造に基づいて帰属されている[20,21]。 3400 cm^{-1} 付近のブロードなピークは、毛髪中の収着水に基づく OH 伸縮振動である。脂質やタンパク質の CH_2 基や CH_3 基に基づく吸収ピークは、 $2700\sim 3100\text{ cm}^{-1}$ 付近及び 1390 cm^{-1} 付近に伸縮振動として、また 1450 cm^{-1} に変角振動として現れる。また、 1650 、 1540 および 1238 cm^{-1} にはそれぞれアミド I、アミド II およびアミド III に相当するピークがみられる。図 2 のスペクトルから、これらのピークは未処理毛髪及びブリーチ処理毛髪の両方に共通して現れていることが分かる。

一方、ブリーチ処理毛髪では 1175 cm^{-1} 及び 1040 cm^{-1} において、未処理毛髪と比較して特徴的な吸収ピークが現れていることが分かる。これはそれぞれ、 $\text{S}=\text{O}$ 逆対称伸縮振動及び $\text{S}=\text{O}$ 対称伸縮振動であり[22]、毛髪内のジスルフィド結合が酸化されて生成したシステイン酸のスルホン酸基に由来するものである。本研究で用いた ATR 法における赤外光のもぐり込み深さは約 $1\text{ }\mu\text{m}$ 程度でありキューティクルが測定部位であるとみなされるため、ブリーチ処理によってキューティクルにシステイン酸が生成したことを示す結果と言える。なお、本研究で用いられた未処理毛髪は、アミノ酸 1000 残基当たり 3 残基のシステイン酸を含むことがアミノ酸分析より明らかになっていることから、未処理毛髪にさえもわずかに認められた 1040 cm^{-1} のピーク形状は、この僅かな量のシステイン酸によるものと思われる。

1175 cm^{-1} 及び 1040 cm^{-1} 以外の吸収ピークに着目すると、未処理毛髪とブリーチ処理毛髪における吸収スペクトルの形状は非常によく似ている。 1800 cm^{-1} 以下の領域では未処理毛髪の方が高いベースラインを示しているように見えるが、これは赤外光の散乱の影

響と思われる。キューティクルは板状のキューティクル細胞が6~10枚積層した構造を持つため[2]、細胞間界面などにおける散乱の影響が現れやすいと考えられる。

そこで、 $800\sim 980\text{ cm}^{-1}$ の領域には毛髪に由来する吸収ピークが存在しないことから、 1800 cm^{-1} と 980 cm^{-1} を結ぶ直線をベースラインとしてスペクトルを再描画した。また、アミドIに相当する 1650 cm^{-1} の吸収で規格化することで、スペクトルの詳細な考察を試みた。未処理毛髪と各ブリーチ処理毛髪の吸収スペクトルを図3に示す。S=O伸縮振動に相当する 1040 cm^{-1} 及び 1175 cm^{-1} のピークは、ブリーチ処理時間の増加とともに吸収が増大する傾向が認められた。したがって、ブリーチ処理時間の増加に伴ってキューティクルにおけるシステイン酸量が増大していると思われる。システイン酸はSS結合の酸化によって生成するが、酸化反応における中間体としてモノオキシサイド及びジオキシサイドの生成を経由する[13]。これらの吸収ピークはそれぞれ 1075 cm^{-1} 及び 1120 cm^{-1} に現れるが、ブリーチ処理時間が増加してもこれらの吸収にほとんど変化が見られなかった。従って、SS結合の部分酸化によって生成するモノオキシサイド及びジオキシサイドは、速やかに過酸化水素によるさらなる酸化を受け、システイン酸へと変換されたと言える。また、S=O伸縮振動の吸収ピークを除けば、未処理毛髪及び各ブリーチ毛髪のスペクトル形状や各ピークの吸光度には非常に良い一致がみられた。このことから、キューティクルにおいて、ブリーチ処理によるシステイン酸の生成以外の化学構造変化はほとんど起こっていないように思われる。これは、ブリーチ処理における人毛タンパク質と酸化剤との主要な反応はシステインのSS結合で起こるという、Zahnの指摘にも一致する[23]。

Fig. 3 ATR spectra for the untreated and bleached hairs normalized based on the peak of 1650 cm^{-1} being set to 1. Times of bleaching are indicated in a square in the figure.

Fig. 4 Infrared absorption spectra for the untreated and bleached hairs obtained by KBr-tablet method. The spectra was normalized based on the peak of 1650 cm^{-1} being set to 1. Times of bleaching are indicated in a square in the figure.

3.2 ブリーチ処理によるコルテックスの化学組成変化

図4にKBr錠剤法で得られた未処理毛髪及びブリーチ処理毛髪の赤外吸収スペクトルを示す。このスペクトルはATR法と同様に 1800 cm^{-1} と 980 cm^{-1} を結ぶ直線をベースラインと定め、またアミドIに相当する 1650 cm^{-1} の吸収で規格化したものである。ATR法がキューティクルの化学構造を反映するのに対して、粉碎毛髪に対する透過測定であるKBr錠剤法は、毛髪の85~90%を構成するコルテックスにおける化学構造を反映すると近似的に見なすことができる[2]。図4に見られるスペクトルの結果は、図3に示したATR法の結果と似ている。即ち、(i)S=O伸縮振動に相当する 1040 cm^{-1} 及び 1175 cm^{-1} の吸収において、ブリーチ処理時間の増加とともに吸光度が増大すること、(ii)モノオキシサイド及びジオキシサイドの吸収ピークである 1075 cm^{-1} 及び 1120 cm^{-1} は、ブリーチ処理を通じてほとんど変化がみられないこと、及び(iii)S=O伸縮振動の吸収ピークを除けば、未処理毛髪及び各ブリーチ毛髪のスペクトル形状や各ピークの吸光度は非常に良く一致することである。従って、ATR法の結果と同様に、コルテックスにおいてもブリーチ処理による主要な反応はSS結合の酸化によるシステイン酸生成であることが分かる。コルテックスにおけるシステイン酸生成はアミノ酸分析からも認められており[3]、システイン酸生成に伴うSS架橋の開裂が繊維の延伸特性の変化として現れることが報告されている[7]。

3.3 システイン酸生成量におけるブリーチ処理時間依存性

一般的に、ケラチン繊維内におけるシステイン酸の生成量は、 1040 cm^{-1} における吸収ピークの吸光度から半定量的に見積もられる[13,14]。図3及び図4に

Fig. 5 Determination of I_{1040} . The value of I_{1040} was defined as the peak height at 1040 cm^{-1} from the straight baseline between 1020 and 1060 cm^{-1} .

示された各毛髪のスเปクトルから、 1040 cm^{-1} の吸収ピークを用いてシステイン酸の生成挙動の解析を試みた。システイン酸量は、図5に示すように 1650 cm^{-1} のアミドIで規格化されたスเปクトルについて、 1020 cm^{-1} から 1060 cm^{-1} 付近まで直線のベースラインを引き、 1040 cm^{-1} におけるベースラインからのピーク高さ I_{1040} として見積もられた。このベースラインは、システイン酸を全く含まない毛髪繊維の吸収スเปクトルに相当すると考えた。

羊毛や各種繊維に対する染料の拡散機構を考察する上で、繊維内部に収着した染料濃度と染色時間 $t^{1/2}$ の相関性が多く研究者によって報告されている[24-26]。繊維内における溶質の拡散挙動は、CrankやHillをはじめとする様々な研究者によって、拡散方程式として表されている[27,28]。Crankは有限体積をもつ溶液から円筒中への溶質の拡散を記述した式を、Hillは半無限固体中への拡散を記述した式をそれぞれ報告しており、いずれも固体内における溶質の収着量は時間の平方根に対して直線の関係であることを示している。ブリーチ処理毛髪の研究においては、過酸化水素によるブリーチ処理時間と毛髪繊維の応力伸長曲線における20%指標の関係について調べたEdmanらのデータから[7]、Robbinsは20%指標の変化が処理時間の平方根に対して直線関係にあることを見出し、Crankの円筒モデルに当てはめて過酸化水素の拡散係数を求めている[29]。この結果から、SS結合の酸化的開裂反応が拡散律速に従うと結論づけられている。

未処理及び各ブリーチ処理毛髪について求められた I_{1040} とブリーチ処理時間の平方根 $t^{1/2}$ の関係を図6に示す。ATR法及びKBr錠剤法のいずれにおいても、ブリーチ処理時間の増加に伴って I_{1040} の値が高くなっていくことが分かる。先に述べたように、未処理毛髪にもシステイン酸がわずかに含まれることから、ATR法による未処理毛髪の I_{1040} 値は0にはならず0.027と

Fig. 6 Relationships between I_{1040} and square root of bleaching time, $t^{1/2}$: (●) ATR method, (▲) KBr-tablet method.

いう値を取り、同様にKBr錠剤法でも0.007の値を示す。この値はブリーチ処理時間とともに高くなり、 480 min ($t^{1/2}=21.9$)処理毛髪では未処理毛髪の約4~6倍の値まで増大した。

また、図6に示すように、ATR法から得られたプロットにおいて、ブリーチ処理時間の平方根 $t^{1/2}$ に対する I_{1040} 値の直線的な増加挙動が明確に見られたことは大変興味深い。このことは、過酸化水素によるSS結合の酸化反応速度は、過酸化水素の拡散速度に比べて非常に速く、システイン酸の生成挙動が過酸化水素の拡散挙動に支配される拡散律速であることを意味する。この拡散律速は、ATR法の測定領域である毛髪表面から深さ約 $1\text{ }\mu\text{m}$ の領域内における挙動である。キューティクル細胞内における主要なシステイン酸生成部位は、シスチン含有率の高いA層やエキソキューティクルであることがRobbinsらによって指摘されているが[30,31]、これらの部位は架橋密度が高く過酸化水素が拡散し難いため、システイン酸生成においては拡散律速の挙動を発現すると考えられる。

図6におけるKBr錠剤法のプロットにおいても、ブリーチ処理時間 5 min ($t^{1/2}=2.24$)以降においては、ATR法の結果と同様に I_{1040} 値がブリーチ処理時間の平方根 $t^{1/2}$ に対して直線的に増加する挙動が見られた。従って、SS結合の酸化によるシステイン酸生成挙動は、コルテックスにおいても拡散律速として振る舞うことが分かる。この結果は、先に述べたRobbinsの主張とも一致する[29]。

一方、ブリーチ処理時間 5 min 以内におけるKBr錠剤法の I_{1040} 値は未処理毛髪にほぼ同じであった。システイン酸生成量がブリーチ処理の初期における数分間はほとんど増加せず、その後直線的な増加を示すような挙動は、羊毛繊維に対する酸性染料の染色挙動に似ている[32-34]。酸性染料の染色初期における染色遅れは、キューティクル細胞が染料の繊維内部への浸透を阻害するためと解釈されており、過酸化水素に

対しても同様の浸透阻害効果が生じていると思われる。このような 5 min 程度の短時間処理でも、キューティクルにおけるシステイン酸生成は ATR 法によってわずかに認められた。従って、ブリーチ処理時間 5 min 以内におけるシステイン酸の主たる生成部位は、キューティクル近傍であることが示唆される。ブリーチ処理時間 30 min 程度の短時間処理では主にキューティクル近傍にシステイン酸が生成することは、軟 X 線を用いたシステイン酸の分布挙動の研究からも確認されている[11]。

3.4 コルテックスにおけるシステイン酸生成挙動の顕微 IR 法を用いた局所解析

毛髪コルテックスにおけるシステイン酸の局所的な生成挙動についての情報を得るため、高輝度光科学研究センターの大型放射光施設 SPring-8 のビームライン BL43IR において顕微 IR 測定を行った。マイクロトームによって切り出された毛髪断面について、毛髪表面から中心点に向けて 5 μm ステップで測定を行い、各測定点におけるスペクトルを得た。一例として、未処

Fig. 7 Infrared absorption spectra for the cross-sectional slice of untreated hair obtained by IR microscopic method. The values of normalized depth of measurement point, D , corresponding to each of spectra are as follows: (a) 0.04, (b) 0.13, (c) 0.22, (d) 0.31, (e) 0.40, (f) 0.49, (g) 0.58, (h) 0.67, (i) 0.76, (j) 0.85, (k) 0.94.

Fig. 8 Infrared absorption spectra for the cross-sectional slice of bleached hair for 480 min obtained by IR microscopic method. The values of normalized depth of measurement point, D , corresponding to each of spectra are as follows: (a) 0.04, (b) 0.13, (c) 0.22, (d) 0.31, (e) 0.40, (f) 0.49, (g) 0.58, (h) 0.67, (i) 0.76, (j) 0.85, (k) 0.94.

理毛髪とブリーチ時間 480 min 処理毛髪に対する結果を図 7 及び図 8 に示す。ここで、 D は測定点の毛髪表面からの規格化された深さである。 $D < 0.10$ の測定点におけるスペクトルはキューティクル部位を反映すると思われるが、全体として傾斜が大きく、湾曲したベースラインをもつスペクトルであるように見える。この部位ではキューティクル細胞の積層構造により、赤外光の散乱や干渉が大きくなっていることが影響していると考えられる。一方、 $0.10 < D < 1$ におけるスペクトルについてはコルテックスに相当するとみなされるが、毛髪外周側から中心側に至るいずれの点においても、ほぼ同じスペクトルの形状を示している。1040 cm^{-1} に矢印で示したシステイン酸に帰属される吸収ピークについても、コルテックスの毛髪外周側から中心側に至るまでほぼ同じようなピーク形状であると認められる。

ところで、図 7 と図 8 におけるコルテックス部位のスペクトルを比較すると、2850 cm^{-1} 及び 2920 cm^{-1} において、480 min ブリーチ処理毛髪の方がより

シャープなピークが得られていることが分かる。この2つのピークはそれぞれ、 CH_2 の対称伸縮振動及び逆対称伸縮振動に相当することから、ブリーチ処理によって CH_2 基が増加していると言える。一方、キューティクル部位に相当する図7及び図8のaのスペクトルにおいて、 2850 cm^{-1} 及び 2920 cm^{-1} のピーク形状には大きな違いが認められないことから、キューティクル部位には CH_2 基の生成は見られない。このことから、ブリーチ処理による CH_2 基の増加は、メラニンの酸化による生成物に関連していると考えられる。しかし、メラニンの化学構造は十分に明らかにされておらず、酸化反応の機構は大変複雑であることから、どのようにして CH_2 基が生成するのかは不明である。

毛髪内部におけるシステイン酸生成挙動を定量的に考察するために、マイクロトームによって切り出された毛髪断面における様々な箇所でも赤外吸収スペクトルを測定し、図3及び図4と同様にして 1650 cm^{-1} のアミドIで規格化した。さらに、図5に示すようにして 1020 cm^{-1} から 1060 cm^{-1} 付近まで直線のベースラインを定め、ピーク高さ I_{1040} を求めた。また、各測定点における深さ D を求め、深さ D と I_{1040} の関係をプロットした。なお、キューティクル位置に相当する $D < 0.10$ では図7及び図8に見られたようにベースラインが不安定で I_{1040} が正確に評価できないので、 $0.10 < D < 1$ についてプロットした。未処理毛髪及びブリーチ処理毛髪における結果を図9に示す。未処理毛髪では I_{1040} 値が最も低く、ブリーチ処理時間が長くなるにつれて I_{1040} 値が高くなっていく挙動がみられた。これはブリーチ処理時間の増加に伴って毛髪コルテックスにおけるシステイン酸量が増加している傾向を示している。また、未処理毛髪およびどの処理毛髪においても、 I_{1040} 値は深さ D にかかわらずほぼ一定であることから、アパーチャーサイズである $5\text{ }\mu\text{m} \times 5\text{ }\mu\text{m}$ の領域の測定によって検出されるシステイン酸量は、コルテックス全体にわたってほぼ均一であることが分

かった。一般的に、繊維染色における染料の拡散挙動は、繊維表面から中心部に向けた拡散が主に議論される。しかし、図9の結果から、図6のKBr錠剤法の結果において見られた過酸化水素の拡散律速挙動は、過酸化水素の繊維表面から中心部に向けた拡散を示すものではないと言える。

毛髪コルテックスにおけるシステイン酸は、コルテックス細胞内において細胞を構成しているIF及びKAPタンパク質に多く含まれているSS結合から生じる。従って図9の結果は、コルテックス細胞内におけるシステイン酸の生成挙動は、全てのコルテックス細胞においてほぼ同じであることを意味する。これは、コルテックス領域に侵入した過酸化水素はコルテックスCMCの全体にごく短時間のうちに拡散するためと考えられる。一方、過酸化水素はコルテックスCMCからコルテックス細胞内に拡散するが、細胞内はSS結合が多く架橋密度が高いことから、細胞内における過酸化水素の拡散速度は非常に遅いと考えられる。このことから、図6の拡散律速挙動は、コルテックスCMCからコルテックス細胞内への過酸化水素の拡散によることが示唆される。

4. 結 論

毛髪に対して過酸化水素を用いたブリーチ処理によって、ジスルフィド結合が酸化的に開裂してシステイン酸を生成する。本研究では、赤外分光法を用いて毛髪内におけるシステイン酸の生成挙動を調べた。キューティクルにおけるシステイン酸の生成挙動をATR法で調べた結果、ブリーチ処理時間の平方根に対してシステイン酸量が直線的に増加することが示され、拡散律速に従うことが分かった。キューティクル細胞内においてジスルフィド結合量の多いA層やエキソキューティクルにシステイン酸が主に生成するが、これらの部位は架橋密度が高く過酸化水素の拡散速度が遅いため拡散律速挙動を示すと考えられた。また、KBr錠剤法から見積もられたコルテックスにおけるシステイン酸の生成挙動についても、ブリーチ処理時間の平方根に対してシステイン酸量が直線的に増加することから、拡散律速に従うことが分かった。Spring-8の放射光を用いた顕微IR測定から、ブリーチ処理によるシステイン酸の生成量はコルテックス内において均一であることが示された。このことから、コルテックスにおけるシステイン酸生成の拡散律速挙動は、コルテックスCMCからコルテックス細胞内への過酸化水素の拡散挙動によることが示唆された。

謝 辞

本研究の放射光実験は、高輝度光科学研究センター

Fig. 9 Relationships between I_{1040} and D for (a) untreated, (b) bleached for 30 min, (c) 60 min, and (d) 480 min.

で採択された研究課題 2012B1385, 2014A1563, 2014 B1591 および 2015A1654 として, SPring-8 の BL43IR ビームラインを利用して行われた. 実験の実施にご協力いただいた高輝度光科学研究センター 森脇太郎博士, 池本夕佳博士に深く感謝いたします.

文 献

1. T. Imai, *Cosmetic Stage*, **8**(2), 7-11 (2013).
2. J. A. Swift, "Chemistry of natural protein fibers", (R. S. Asquith Ed.), Prentice Hall, New York, pp.81-146 (1977).
3. L. J. Wolfram, K. Hall, and I. Hui, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **21**, 875-900 (1970).
4. C. M. Pande, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **45**, 257-268 (1994).
5. I. J. Kaplin, A. Schwan, and H. Zahn, *Cosmet & Toilet.*, **97**(8), 22-26 (1982).
6. M. Oku, H. Nishimura, and H. Kanehisa, *J. Soc. Cosmet. Chem. Jpn.*, **21**, 198-203 (1987).
7. W. W. Edman, and M. E. Marti, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **12**, 133-145 (1961).
8. J. Chao, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **30**, 401-413 (1979).
9. K. Suzuta, S. Ogawa, Y. Takeda, K. Kaneyama, and K. Arai, *J. Cosmet. Sci.*, **63**, 177-196 (2012).
10. K. Suzuta, K. Hamada, and K. Arai, *Sen'i Gakkaishi*, **71**, 112-120 (2015).
11. T. Inoue, K. Takehara, N. Shimizu, D. Ishijima, T. Katori, and A. Ito, *J. Soc. Cosmet. Chem. Jpn.*, **44**, 223-227 (2010).
12. M. Joy, and D. M. Lewis, *Int. J. Cosmet. Sci.*, **13**, 249-261 (1991).
13. S. Ogawa, K. Fujii, K. Kaneyama, and K. Arai, *Sen'i Gakkaishi*, **64**, 137-144 (2008).
14. T. Fujii, and Y. Ito, *Sen'i Gakkaishi*, **71**, 207-212 (2015).
15. T. P. Abbott, F. C. Felker, and R. Kleiman, *Appl. Spectrosc.*, **47**, 180-189 (1993).
16. J. L. Bantignies, G. Fuchs, G. L. Carr, G. P. Williams, D. Lutz, and S. Marull, *Int. J. Cosmet. Sci.*, **20**, 381-394 (1998).
17. S. Inamasu, *Fragrance J.*, **40**, 39-43 (2012).
18. R. F. Stamm, M. L. Garcia, and J. J. Fuchs, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **28**, 571-599 (1977).
19. T. Utsumi, K. Matsumoto, and N. Utsumi, *J. Tech. Mach. Soc. Jpn.*, **36**, P280-284 (1983).
20. E. G. Bendit, *Biopolymers*, **4**, 539-559 (1966).
21. J.-L. Bantignies, G. Fuchs, G. L. Carr, G. P. Williams, D. Lutz, and S. Marull, *Int. J. Cosmet. Sci.*, **20**, 381-394 (1998).
22. H. Zahn, and H. G. Gattner, "Formation and Structure of Human Hair", (P. Jollès, H. Zahn, and H. Höcker, Eds), Birkhaeuser Verlag, Basel, **1**, pp. 239 (1997).
23. H. Zahn, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **17**, 687-701 (1966).
24. J. H. E. Jackson, and H. A. Turner, *J. Soc. Dyers Colour.*, **68**, 345-352 (1952).
25. K. Joko, J. Koga, and N. Kuroki, *Sen'i Gakkaishi*, **42**, T685-691 (1986).
26. K. Hamada, K. Amachi, K. Yonetake, T. Iijima, and R. McGregor, *Polym. J.*, **19**, 701-708 (1987).
27. J. Crank, "The Mathematics of Diffusion", Clarendon Press, Oxford, UK (1967).
28. A. Hill, *Proc. R. Sci. Ser. B*, **104**, 39-96 (1929).
29. C. R. Robbins, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **22**, 339-348 (1971).
30. J. A. Swift, and B. Bews, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **25**, 355-366 (1974).
31. C. R. Robbins, "Chemical and Physical Behavior of Human Hair", 4th ed., Springer-Verlag, New York, pp. 284 (2002).
32. J. A. Medley, M. W. Andrews, *Text. Res. J.*, **29**, 398-403 (1959).
33. K. R. Makinson, *Text. Res. J.*, **46**, 360-366 (1976).
34. J. D. Leeder, R. C. Marshall, *Text. Res. J.*, **52**, 245-249 (1982).