【一般論文／Transaction】

塩基性染料を用いた染色法と顕微分光光度法による 各種還元剤の毛髪内拡散挙動

葛原亜起夫[#]

東京家政大学 家政学部

Diffusion Behavior of Reducing Agents into Hair Keratin Fibers Using Dyeing Technique with Basic Dye and Microspectrophotometry

Akio Kuzuhara[#]

Department of Costume and Clothing Science, Faculty of Home Economics, Tokyo Kasei University

Abstract: In order to investigate the diffusion behavior of reducing agents into hair keratin fibers, cross-sectional samples of virgin white human hair treated with thioglycolic acid (TG), thiolactic acid (TL), and L-cysteine (CYS), which have a carboxyl group in their molecule, were prepared. After the treatment, the cross-sectioned hair samples were dyed with methylene blue and the cross-sectional intensity spectra were measured at a wavelength of 664 nm ($\lambda_{\max}$ of methylene blue) with a microspectrophotometer. The three different diffusion patterns from the three reducing agents (TG, TL, and CYS) were obtained. The diffusion pattern of TL, which appeared as a sharp boundary line by using an optical microscope showed a combination of Fickian (TG) and Non-Fickian (CYS) types. Also, the diffusion pattern of thioglycerol (TGR), cysteamine hydrochloride, butyrolactonethiol, and glyceryl monothioglycolate, which don't have any carboxyl group in their molecule showed Fickian type characteristics. In addition, it was found that the different alkali agents influenced the diffusion behavior of TGR and TG into virgin white human hair, and especially the waving efficiency of the waved hair treated with TGR. From these experiments, it has been concluded that the diffusion patterns of the reducing agents depended on the electrostatic interaction between the human hair and the reducing agents, and the chemical structure of the reducing agents.

(Received 4 October, 2019; Accepted 18 September, 2020)

1. 緒 言

羊毛のセット処理、及び毛髪のパーマメントウェーブ処理は、毛髪中に存在する-S-S-結合の切断(還元工程)と再結合(酸化工程)を巧みに利用したものであり、羊毛や毛髪などのケラチン繊維の物理化学的性質の変化や、セット工程における化学は、広く研究されている。一般に還元工程における還元剤としては、チオグリコール酸(TG)、L-システイン(CYS)などが使用されており、これら還元剤が、毛髪コルテックス内に拡散することにより、初めてその機能(-S-S-結合の切断)が発現される。われわれは、既に毛髪中への還元剤の拡散パターンとしては、主に2つのパターン、すなわちTGに代表されるような「Fick型の拡散パターン」とCYSに代表されるような「非Fick型(Box型)の拡

散パターン」が存在することを報告している[1]。また、ラマン分光法を用いてTG処理した毛髪断面試料の内部構造変化を解析することにより、TGの拡散パターンと-S-S-切断パターンが一致することを明らかにしている[2-4]。これに対して、CYSの拡散パターンと-S-S-切断パターンが一致せず、CYSの反応速度(-S-S-結合の切断速度)が、拡散速度よりも遅いことを明らかにしている[5]。特に「Fick型の拡散パターン」をとる還元剤をパーマメントウェーブ剤に配合した場合、拡散係数に濃度依存性がなく、還元剤が毛髪コルテックス内に深く浸透し、その結果、優れたパーマメントウェーブ性能(ウェーブ効率の向上、毛髪ダメージの抑制)を発現することが可能となる。したがって、各種還元剤の毛髪内拡散挙動に関する知見を得ることは、機能性に優れたパーマメントウェーブ剤を開

[#] corresponding author: Akio Kuzuhara (E-mail: kuzuhara-a@tokyo-kasei.ac.jp)

発する上で、非常に重要なことである。

Herrmann[6]や井上ら[7]は、予めヨウ素染色した白髪を用いて、還元処理した毛髪断面のヨウ素消失を光学顕微鏡観察することにより、還元剤の浸透性を評価している。また、Wickett[8]は還元処理した毛髪断面試料をメチレンブルーで染色し、その還元効果について報告しており、メチレンブルーが還元処理により多孔性になった領域(弛緩した部分)に吸着されると解釈している。

これらの方法に対して、顕微分光光度計(MSP)は、毛髪ケラチン繊維内への分散染料[9, 10]、半永久染料(HC Red 3)[11]、カチオンポリマー(ポリエチレンジイミン: PEI)[12-14]、および還元剤(TG, CYS)[1-5]の毛髪内拡散挙動の解析に利用されている。われわれは、ブリーチ処理した毛髪内に浸透したPEI部位を、酸性染料(オレンジII)で染色する方法(カチオンポリマーに存在する正電荷とオレンジIIの負電荷との静電相互作用を利用)を考案した[12-14]。この方法を用いることにより、毛髪ケラチン繊維中に拡散したカチオンポリマーを酸性染料で染色し、MSPで濃度分布を描く方法を確立している。さらに、われわれは、毛髪内に浸透したアミノ酸、ペプチド、及び加水分解タンパク質中に存在するフリーのカルボキシル基を塩基性染料(メチレンブルー)で染色する方法を考案し、この方法とラマン分光法により、フェニルアラニンなどの疎水性アミノ酸や加水分解卵白タンパク質が毛髪内に浸透することを明らかにしている[15]。

そこで本研究では、各種還元剤の毛髪内拡散挙動を究明することを目的として、最初に塩基性染料を用いた染色法と顕微分光光度法により、TG, CYS以外に新たにチオ乳酸(TL)を加え、分子中にカルボキシル基を有する3つの還元剤の毛髪内拡散挙動について究明を行った。その結果、Fick型、および非Fick型の拡散パターン[1]に加えて、新たにFick型と非Fick型の混合型の拡散パターン、すなわち3つの拡散パターンが存在することを明らかにした。また、塩基性染料を用いた染色法により、分子中にカルボキシル基を有しないチオグリセロール(TGR)、システアミン塩酸塩、プチロラクトンチオール、およびグリセリルモノチオグリコレートなどの還元剤においても、毛髪内拡散挙動の解析が可能であることを明らかにした。さらに、アルカリ剤の違いにより、TGR、およびTGの毛髪内拡散挙動が大きく異なること、特にTGRのセッティング性能に著しく影響することを見出したので報告する。

2. 実験

2.1 試料と試薬

毛髪試料として、(株)ビューラックスから購入した平

均直径 65 μm の中国人白髪毛束(パーマネントウェーブ処理、およびカラーリング処理などを行っていない毛髪)を使用した。還元剤として、チオグリコール酸アンモニウム液(チオグリコール酸(TG)を50%含有)、グリセリルモノチオグリコレート(GMT)は大阪佐々木化学(株)から、プチロラクトンチオール(BLT)は、佐々木化学(株)から提供されたものを使用した。また、ラウリル硫酸ナトリウム、還元剤として、L-システイン(CYS)、チオ乳酸(TL)、チオグリセロール(TGR)、システアミン塩酸塩(CA)、アルカリ剤として、25%アンモニア水とモノエタノールアミン(MEA)、塩基性染料として、メチレンブルーは、和光純薬工業(株)から購入したものを使用した。

2.2 還元剤処理毛髪毛束の作製方法

上記毛髪試料を0.5 wt%ラウリル硫酸ナトリウム溶液中に60分間40℃で浸漬(浴比1:60)し、流水で1分間洗浄し、風乾させた。次いで、各毛髪試料をアンモニア、およびMEAを用いて予めpH 6.0~9.0に調整した当モル濃度(0.65 M)の各還元剤水溶液(蒸留水で希釈)中に5分間、および15分間、25℃で浸漬(浴比1:13)させた。その後、1分間水洗し、室温で風乾することにより、各種還元剤処理毛髪毛束を作製した。

2.3 光学顕微鏡観察、および顕微分光光度法

上記毛髪試料(約50本)を、PVA樹脂を用いて凍結包埋した後、ミクロトームを用いて、毛髪断面試料(切片厚: 10 μm)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、断面試料上から0.005 wt%メチレンブルー水溶液(pH 7.2)を滴下することにより、毛髪断面試料を染色(室温、1分間)させ、カバーガラスを置いて光学顕微鏡観察を行った。ここで、メチレンブルー水溶液は、蒸留水に溶解することにより調製した。上記毛髪断面試料の光学顕微鏡観察を行い、均一な染色パターンが得られることを予め確認し、その中から代表的な毛髪断面写真を選出した。

さらに、上記毛髪断面試料から平均的な試料(3本)を選出し、顕微分光光度計(MSP) (DMSP-II; オリンパス製)を用いて、毛髪中に浸透した還元剤の毛髪断面強度スペクトルを、光源: タングステンランプ、測定スポット径: 5 μm 、測定波長: 664 nm(メチレンブルーの λ_{max})、試料スキャン速度: 10 $\mu\text{m}/\text{分}$ 、チャート速度: 20 mm/分の測定条件で測定した。次いで、測定波長を430 nmに替え、同一試料におけるMSPスペクトルを測定した。Fig. 1に、メチレンブルーで染色したTG処理毛髪断面試料(アンモニアでpH 9.0に調整した6.00 wt% TG水溶液中に、25℃で5分間浸漬)に対して、毛髪表面から内部方向ヘスキャンしたMSPスペクトルとその測定箇所の一例を示す。そして、664 nmで測定したMSPスペクトルから、メチレンブルーの吸収による影響のない430 nmで測定したMSPスペクトル(毛髪界面付近において、封

Fig. 1 Cross-sectional intensity spectra at 664 nm and 430 nm (Blank) of white human hair treated with TG at 25 °C and pH 9.0 (adjusted with ammonia) for 5 min, then cross-sectioned and finally dyed with methylene blue.

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発生する擬似ピーク)を差し引くことにより、各種還元剤の拡散プロファイルを作成した。

2.4 ウェーブ効率の評価

ウェーブ効率は、キルビー法[16]に準じて評価した。キューティクルの向きの揃った人健常毛 20 本(長さ 20 cm)を一束とした毛束を、0.5 wt% ラウリル硫酸ナトリウム水溶液中に 50℃ で 10 分間浸漬(浴比 1:60)した。次いで、流水で洗浄し、乾燥させることにより、毛束試料を作製した。次に、ウェーブ効率測定器具(Fig. 2)の一方に束ねた毛髪をゴムバンドで固定し、もう一端をゆるみがなく、かつ強く引っ張らないようにしながら合計 14 本の軸(止め棒)と軸の間(直径: 3 mm)へ交互に通し、ゴムバンドで器具に固定した。次いで、毛髪を 6.00 wt% TG および 7.04 wt% TGR (pH 9.0: アンモニア, および MEA で調整)に 25℃ で 5~15 分間浸漬(浴比 1:250)し、水洗した。最後に、6.00 wt% 臭素酸ナトリウム水溶液中に 25℃ で 15 分間浸漬(浴比 1:250)し、水洗した。試料を器具から無理のないようにはずし、ガラスプレート上に静かに置き、1 番目から 5 番目までのカール頂点の長さ(b)を測定し、式(1)を用いてウェーブ効率を算出した。ここで、a: 止め棒の 1 番目から 5 番目までの長さ(mm),

Fig. 2 Apparatus to evaluate the waving efficiency.

b: 1 番目から 5 番目までのカール頂点の長さ(mm),
c: b を直線にした時の長さ(mm), である。

$$\text{ウェーブ効率}(\%) = 100[1 - \{(b-a)/(c-a)\}] \quad (1)$$

3. 結果と考察

3.1 分子中にカルボキシル基を有する還元剤の毛髪内拡散挙動

最初に、分子中にカルボキシル基を有する 3 つの還元剤の毛髪内拡散挙動の解析を行った。

Fig. 3 に、未処理試料の切断面を、メチレンブルーで染色した一例を示す。未処理試料の場合、メチレンブルーは毛髪最表面にわずかに吸着するだけで、キューティクルとコルテックス内は吸着しない。この際、毛髪中心付近に存在するメデュラも吸着するが、この理由は、緻密な構造を有するコルテックスと比較してメデュラがグルタミン酸(側鎖にカルボキシル基を持つ)を豊富に持つ(コルテックスの約 2.7 倍)[17]マクロな多孔性のタンパク質(1 μm 以上の空洞が多数存在)から構成されている[18]ためである。

Fig. 3 Photomicrograph of white human hair cross-sectioned and finally dyed with methylene blue.

Fig. 4, Fig. 5, Fig. 6 に、TG 処理(アンモニアで pH 9.0 に調整した 6.00 wt% TG 水溶液中に、25℃ で 5 分間浸漬)、CYS 処理(アンモニアで pH 9.0 に調整した 7.87 wt% CYS 水溶液中に、25℃ で 5 分間浸漬)および TL 処理(アンモニアで pH 9.0 に調整した 6.91 wt% TL 水溶液中に、25℃ で 5 分間浸漬)した試料の切断面を、メチレンブルーで染色した光学顕微鏡写真を示す。TG 処理した毛髪試料の場合、TG がコルテックス内部方向に向かってグラデーションをとめないながら、染色されており(Fig. 4)、キューティクル層を通してコルテックス内(25.65 μm)まで深く拡散している(Fig. 7)。また、TG 処理した毛髪のコルテックス領域には、メデュラのようなマクロな空洞は開いていないこともわかる(Fig. 4)。これに対して、CYS 処理した毛髪試料の場合、キューティクル層は染色さ

Fig. 4 Photomicrograph of white human hair treated with TG at 25 °C and pH 9.0 (adjusted with ammonia) for 5 min, then cross-sectioned and finally dyed with methylene blue.

Fig. 5 Photomicrograph of white human hair treated with CYS (adjusted with ammonia) at 25 °C and pH 9.0 for 5 min, then cross-sectioned and finally dyed with methylene blue.

Fig. 6 Photomicrograph of white human hair treated with TL at 25 °C and pH 9.0 (adjusted with ammonia) for 5 min, then cross-sectioned and finally dyed with methylene blue.

れるが、コルテックス内はほとんど染色されない (Fig. 5). すなわち、CYS の拡散範囲は、毛髪表面から 6.65 μm 以下 (キューティクル層は毛髪表面から 3 μm 以下に存在) であり、コルテックス内にはほとんど拡散しない (Fig. 7). TL 処理した毛髪試料の場合、キューティクル層を通してコルテックス内に染色されるが、はっきりとした移動境界面が観測される。

還元処理した毛髪断面試料への塩基性染料の染着メカニズムについて、Wickett [8] は、メチレンブルー

Fig. 7 Relative concentration (c/c_0) profile of TG, TL and CYS at 25 °C and pH 9.0 (adjusted with ammonia) for 5 min.

が還元処理により多孔性になった領域 (弛緩した部分) に吸着されると解釈している。すなわち、還元毛髪断面へのメチレンブルーの吸着は、還元剤による毛髪内部構造変化 (-SS-結合の切断) による弛緩 (タンパク質分子間の拡大による自由体積の増加) の影響を受けているものと強く推測される。また、TG, TL, CYS は、分子中にカルボキシル基 (COO^-) を有しており、pH 4 以上において、毛髪内に浸透した還元剤、および還元剤二量体 (R-SS-R) のカルボキシル基は、負電荷を帯びている。塩基性染料を用いた染色法において、疎水性アミノ酸や加水分解卵白タンパク質などの毛髪内浸透性が評価できる [15] ことを考慮した場合、TG, TL, CYS などの還元剤においても静電相互作用による染着寄与が関与している可能性も示唆される。したがって、還元処理した毛髪断面試料上からメチレンブルーを用いて還元部位を染色すれば、還元剤の毛髪内浸透性が間接的に観察可能となる。

Fig. 7 に塩基性染料を用いた染色法と顕微分光光度法との組み合わせにより作成した TG, TL, CYS の拡散プロファイルを相対濃度 (c/c_0) で示す (pH 9.0, 25 °C で 5 分間処理)。ここで、 c_0 は、繊維表面の濃度、 c は、繊維表面からの距離が x の時の濃度である。3 つの還元剤から 3 つの異なる拡散パターン (染料分布パターン) が得られた。染料分布パターンは、Wickett [8] の解釈によると、還元剤による毛髪内部構造変化 (-SS-結合の切断) による弛緩した部分に染色されるため、還元反応パターンを表していると判断できる。また、還元反応 (-SS-結合の切断) が生じなければ、還元剤は毛髪内に容易に拡散しないため、同一毛髪断面における染料分布パターンから、各種還元剤の見かけの拡散パターンを推定することが可能と推測される。

TG の拡散パターンが Fick 型を示すのに対して、

CYSの拡散パターンは、非Fick型を示しており、両者の拡散パターンが大きく異なっていることがわかる。一般的にFick型は、コルテックス内部まで深く拡散することが知られており、Fickの法則(拡散係数に濃度依存性がない)に従う[19]。これに対して、非Fick型(拡散係数に濃度依存性があり、Fickの法則に従わない)は、イオン結合にもとづくため、繊維との親和性が強く、拡散プロファイルの形からBOX型とも呼ばれている[19]。

毛髪キューティクル層は、薬剤(還元剤や染毛剤)に対するコルテックス層のバリアー機能としての役割を果たしているが、CYSの場合、-SS-結合の切断速度が拡散速度よりも遅く、切断反応が律速段階となる[5]ため、見かけ上このような極端なBOX型の拡散パターン(Fig. 7)を示したと推測される。この際、キューティクル層を通して、コルテックス内への拡散が確認できるが、CYS処理時間を5分間から15分間にしてもこの傾向は変化しなかった[5]ことから、毛髪とCYS中に存在するアミノ基との静電相互作用が関与している可能性も考えられる。一方TGの場合、-SS-結合の切断速度が拡散速度より速く、-SS-結合の切断と同時に、キューティクル層を通して、コルテックス内部に深く拡散する[2]。また、CYSの-SS-切断力が弱い[5]にもかかわらず、健全毛におけるキューティクル層が、メチレンブルーにより強く染色された(Fig. 5)ことから、分子中にカルボキシル基(負電荷)を有する還元剤で処理を行った場合、還元反応による弛緩の影響のみならず、還元剤分子中の負電荷とメチレンブルーの正電荷との静電相互作用の影響により、還元毛髪断面へのメチレンブルーの染色が生じたと推測される。

これらに対して、TLの拡散パターンは、Fick型と非Fick型の両者が競合して同時に起こっている場合に出現する。つまり、イオン吸着による拡散(非Fick型)と分散吸着による拡散(Fick型)のそれぞれのプロファイルが重なり合っている。こうした拡散プロファイルをとる場合の特徴として、光学顕微鏡観察において、Fig. 6に示すようなはっきりとした移動境界面が観測される。TL($\text{HS-CH}(\text{CH}_3)\text{-COOH}$; $\text{Mw}=106.14$)、CYS($\text{HS-CH}_2\text{-CH}(\text{NH}_2)\text{-COOH}$; $\text{Mw}=121.16$)ともに不斉炭素原子を持っているにもかかわらず、TLの拡散パターンが、CYSの拡散パターンと大きく異なっていることを考慮した場合、CYSの拡散パターンは、毛髪とCYS中に存在するアミノ基との静電相互作用が影響している可能性が考えられる。これに対してTLは、CYSに比較して毛髪コルテックス内に深く浸透するが、これはTL分子中のメチル基($-\text{CH}_3$)の疎水性が影響しているものと推測される。

これらの実験から、還元剤の毛髪内拡散パターン(染料分布パターン)として、3つの拡散パターンが存在

することを明らかにした。

3.2 分子中にカルボキシル基を有しない還元剤の毛髪内拡散挙動

3.1項で得られたTG、TL、CYSから得られた3つの拡散プロファイルの毛髪断面写真から判断することにより、還元剤の拡散パターン(染料分布パターン)を推定することが可能である。

Fig. 8に、TGR処理(アンモニアでpH 9.0に調整した7.04 wt% TGR水溶液中に、25℃で5分間浸漬)した切断面をメチレンブルーで染色した一例を示す。TGR処理した毛髪試料の場合、Fick型の拡散パターンを示し、コルテックス内部方向に向かってグラデーションをとめないながら、染色されており、キューティクル層を通してコルテックス層内部まで深く拡散していることがわかる。分子中にカルボキシル基を有しない還元剤の場合、主に還元反応による弛緩の影響により、毛髪断面へのメチレンブルーの染色が生じると推測される。

Fig. 8 Photomicrograph of virgin white human hair treated with TGR at 25 °C and pH 9.0 (adjusted with ammonia) for 5 min, then cross-sectioned and finally dyed with methylene blue.

Fig. 9に、CA処理(アンモニアでpH 9.0に調整した7.40 wt% CA水溶液中に、25℃で5分間浸漬)した切断面をメチレンブルーで染色した一例を示す。CAは、CYSと同様に分子中にアミノ基を有しているにもかかわらず、Fick型の拡散パターンを示し、毛髪内に深く浸透することが判明した。CAは分子中にアミノ基を有しているが、66%以上のゴーシュコンホメーションが存在するので、分子中の対イオン(メルカプチドイオン)とアミノ基間で5員環の形成が可能である[20]。5員環を形成した場合、アミノ基の正電荷が働きにくくなるため、毛髪コルテックス内に環状構造を形成したCAが、容易に浸透するものと推測される。

Fig. 10, Fig. 11に、BLT処理(pH 6.0の7.70 wt% BLT水溶液中に、25℃で5分間、および15分間浸漬)した切断面をメチレンブルーで染色した光学顕微鏡写真を示す。BLTは、弱酸性(pH 6.0)においても、Fick

Fig. 9 Photomicrograph of virgin white human hair treated with CA at 25 °C and pH 9.0 (adjusted with ammonia) for 5 min, then cross-sectioned and finally dyed with methylene blue.

Fig. 11 Photomicrograph of virgin white human hair treated with BLT at 25 °C and pH 6.0 for 15 min, then cross-sectioned and finally dyed with methylene blue.

Fig. 10 Photomicrograph of virgin white human hair treated with BLT at 25 °C and pH 6.0 for 5 min, then cross-sectioned and finally dyed with methylene blue.

Fig. 12 Photomicrograph of virgin white human hair treated with GMT at 25 °C and pH 9.0 (adjusted with ammonia) for 15 min, then cross-sectioned and finally dyed with methylene blue.

型の拡散パターンを示し、毛髪内に深く浸透する。15分においては、毛髪内部全体にわたって浸透する。これは、BLT分子が、環状構造を有していることに起因しているものと推測される。また、BLTの場合、毛髪断面試料上のメチレンブルーの染色濃度が薄く、このことはBLTの-SS-切断力がTGRやCAと比較して、弱い可能性を示唆している。

Fig. 12に、GMT処理(アンモニアでpH 9.0に調整した10.82 wt% GMT水溶液中に、25℃で15分間浸漬)した切断面をメチレンブルーで染色した一例を示す。Fig. 13に、GMT処理(アンモニアでpH 7.0に調整した10.82 wt% GMT水溶液中に、25℃で15分間浸漬)した切断面をメチレンブルーで染色した一例を示す。グリセリルモノチオグリコレート(GMT)は、pH 9.0において、Fick型の拡散パターンを示すが、BLTと同様に-SS-結合の切断力は、弱いものと推測される。一方、pH 7.0に調整したGMT水溶液中に、25℃で15分間浸漬した場合、GMT分子中のメルカプチドイオンの生成が少ないため、メチレンブルーによる染色が著しく弱く、毛髪内浸透性も低いことから、拡散パターンを解析することが不可能であることがわか

Fig. 13 Photomicrograph of virgin white human hair treated with GMT at 25 °C and pH 7.0 (adjusted with ammonia) for 15 min, then cross-sectioned and finally dyed with methylene blue.

る。すなわち、-SS-結合の切断過程での活性種はメルカプチドイオンであり、イオン化していない型のメルカプタンではない。したがって、pHが反応速度に大きく影響する。pHが高い場合、メルカプチドイオン濃度が高く、-SS-結合の切断速度(反応速度)は、

還元剤の拡散速度よりも速いが、pHが7.0以下になると、反応速度の減少の方が拡散速度の減少よりも大きく、反応速度そのものが拡散速度に対して律速となる[18, 21]. 健常毛において、分子サイズ0.8 nmのアミノ酸は、疎水性アミノ酸以外毛髪コルテックス内に浸透しない(60分間, 50℃)ことを明らかにしている[15]. したがって、分子量がアミノ酸に近く、メルカプチドイオンが存在しない状態の還元剤は、短時間の処理において、バリアー機能を有するキューティクル層を通して毛髪コルテックス内に容易に浸透しないものと推測される。

これらの実験から、分子中にカルボキシル基を有しないTGR, CA, BLT, GMTにおいても、分子中にメルカプチドイオンを生成するpH領域にて試料調整を行うことにより、毛髪内拡散パターンの推定が可能となること、これら還元剤がFick型の拡散パターンを示し、毛髪内に深く拡散することを明らかにした。さらに、各種還元剤の還元作用の分布とメチレンブルーの染色濃淡から還元剤による-SS-切断力の強弱が推定できることを見出した。

3.3 アルカリ剤の違いによる還元剤の毛髪内拡散挙動とセット性能

Fig. 14(A) (B)に、アンモニア、およびMEAでpH 9.0に調整した6.00 wt% TG水溶液中に25℃で5分間浸漬した毛髪試料の切断面を、メチレンブルーで染色した一例を示す。アンモニアでpH 9.0に調整したTGは、Fick型の拡散パターンを示すのに対して、MEAでpH 9.0に調整したTGは、混合型の拡散パターンを示し、両者の拡散パターンが異なっていることが判明した。すなわち、MEAでpH調整した場合、コルテックス表面付近により多くのメチレンブルーが吸着されていたことから、コルテックス表面付近において、より多くの-SS-結合が切断されているものと推測される。

Fig. 14(C) (D)に、アンモニア、およびMEAでpH 9.0に調整した7.04 wt% TGR水溶液中に25℃で5分間浸漬した毛髪試料の切断面を、メチレンブルーで染色した一例を示す。アンモニアでpH 9.0に調整したTGRは、Fick型の拡散パターンを示し、TGの拡散パターン(A)に比較して、毛髪内により深く拡散した。一方、MEAでpH 9.0に調整したTGRの拡散パターン(D)は、アンモニアで調整した拡散パターンと比較して、はっきりとした移動境界面が観察(Fick型+非Fick型)され、拡散速度も低下することが判明した。このことは、アンモニアの毛髪内拡散がMEAに比較して速いことを示唆している。

次に、アルカリ剤の違いによる還元剤のウェーブ効率について評価を行った。Table 1に、異なったアルカリ剤で調整したTGR、及びTGのウェーブ効率と見かけの浸透度を示す。処理時間が増加するにつれて、

Fig. 14 Photomicrographs of virgin white human hair treated with TG or TGR at 25 °C and pH 9.0 (adjusted with ammonia or MEA) for 5 min, then cross-sectioned and finally dyed with methylene blue. (A) treated with TG at 25 °C and pH 9.0 (adjusted with ammonia) for 5 min; (B) treated with TG at 25 °C and pH 9.0 (adjusted with MEA) for 5 min; (C) treated with TGR at 25 °C and pH 9.0 (adjusted with ammonia); (D) treated with TGR at 25 °C and pH 9.0 (adjusted with MEA) for 5 min.

TGR、およびTGのウェーブ効率が增加しているのがわかる。アンモニアでpH 9.0に調整したTGRで処理した毛髪のウェーブ効率は、MEAで調整したTGRのウェーブ効率と比較して、高かった(特に処理時間5分の場合)。この結果は、TGRの毛髪内浸透性が、TGR処理した試料のセット性能と相関していることを示唆している。一方、TG処理した毛髪のウェーブ効率は、異なったアルカリ剤によりほとんど影響されなかった。特に、アンモニアでpH 9.0に調整したTGRで処理した毛髪のウェーブ効率は、TGで処理した毛髪のそれと比較して高かった。すなわち、アンモニアでpH 9.0に調整したTGRの毛髪内拡散速度が、TGに比較して速く、毛髪コルテックス内の-SS-結合が効率よく切断された結果、TGRのウェーブ効率の増加が促進されたものと強く推定される。

さらに、光学顕微鏡によりメチレンブルー染色した各毛髪断面試料(25℃, 5分間)から算出したTGR、およびTGの見かけの浸透度は、ウェーブ効率と非常に相関($R^2=0.99$)を示したことから、還元剤の毛髪内浸透性、すなわち-SS-結合の切断量がセット性能に大きく依存していることが判明した。特に、アンモニアでpH 9.0に調整したTGRの見かけの浸透度(毛髪表面から30 μm)が最も高く、少なくとも毛髪コルテックス表面から27 μm の範囲に存在する-SS-結合が切断されれば、セット性能が向上した(ウェーブ効率: 54.3%)と判断できる。また、MSPから算出したTG(アンモニアでpH 9.0に調整)の浸透度は、25.56 μm であり(Fig. 7), 見かけの浸透度(17 μm)と

Table 1 Waving efficiency and apparent penetration of TGR and TG at 25 °C

Reducing agent	Alkali agent	Waving Efficiency (%) ^a		Penetration (μm) ^b
		5 min	15 min	5 min
TGR	ammonia	54.3	83.7	30
	MEA	19.0	71.7	10
TG	ammonia	27.2	80.4	17
	MEA	26.1	79.3	16

^a Kirby method^b Estimated by optical microscopy for cross-sectional samples dyed with methylene blue

比較して約 8 μm の差があったことを考慮した場合、より正確には毛髪コルテクス表面から 35 μm の範囲に存在する-SS-結合が切断されれば、セット性能が向上したと判断できる。

これらの実験から、アルカリ剤(アンモニア水, MEA)の違いにより, TG, TGR の毛髪内拡散挙動が大きく異なること, 特に TGR で処理した毛髪のウェーブ効率に著しく影響することを発見した。

4. 結 論

ケラチン繊維中に拡散した還元剤を塩基性染料で染色し、顕微分光光度計で濃度分布を描く方法を確立した。この方法を用いることにより、3つの還元剤(チオグリコール酸(TG), チオ乳酸, L-システイン)の拡散パターン(染料分布パターン)として、3つの拡散パターン(Fick 型, Fick 型+非 Fick 型, 非 Fick 型)が存在することを明らかにした。また、分子中にカルボキシル基を有しないチオグリセロール(TGR), システアミン塩酸塩, ブチロラクトンチオール, およびグリセリルモノチオグリコレートにおいても、分子中にメルカプチドイオンを生成する pH 領域に試料調整を行うことにより、還元剤の拡散パターンの推定が可能となること、これら還元剤の拡散パターンが、毛髪と還元剤との静電相互作用、及び還元剤の化学構造に大きく依存することを明らかにした。さらに、アルカリ剤(アンモニア水, MEA)の違いにより, TGR, および TG の毛髪内拡散挙動が大きく異なること, 特に TGR のセット性能に著しく影響することを発見した。

文 献

1. A. Kuzuhara, I. Tabata and T. Hori, *Sen-i Gakkaishi*, **59**(4), 128 (2003).
2. A. Kuzuhara and T. Hori, *Polymer*, **44**, 7963 (2003).
3. A. Kuzuhara and T. Hori, *J. Mol. Struct.*, **1037**, 85 (2013).
4. A. Kuzuhara, *Kakou Gijyutu*, **52**(No.5), 266 (2017).
5. A. Kuzuhara and T. Hori, *Biopolymers*, **79**, 324 (2005).
6. K. W. Hermman, *Trans Faraday Soc.*, **59**, 1663 (1963).
7. K. Inoue, Y. Iwakiri and T. Hatakeyama, *Cosmet. Toiletries*, **111**, 33 (1996).
8. R. R. Wickett, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **34**, 301 (1983).
9. K. Tsuda, *Sensyoku Kogyo*, **13** (No.11), 635 (1965).
10. Y. K. Kamath, S. K. Han and H. -D. Weigmann, *Text. Res. J.*, **53**, 391 (1983).
11. S. K. Han, Y. K. Kamath and H. -D. Weigmann, *J. Soc. Cosmetic Chem.*, **36**, 1 (1985).
12. A. Kuzuhara, I. Tabata and T. Hori, *Sen-i Gakkaishi*, **58**(11), 420 (2002).
13. A. Kuzuhara, I. Tabata and T. Hori, *Sen-i Gakkaishi*, **59**(4), 123 (2003).
14. A. Kuzuhara and T. Hori, *J. Appl. Polymer Sci.*, **97**, 65 (2005).
15. A. Kuzuhara, *J. Appl. Polymer Sci.*, **122**, 2680 (2011).
16. D. H. Kirby, *Drug & Cosmetic Industry*, **80** (3), 314 (1957).
17. F. -J. Wortmann, G. Wortmann, H. Zahn, *Textile Res. J.*, **65**, 669 (1995).
18. C. R. Robbins, "Chemical and Physical Behavior of Human Hair" 4 th ed., Springer-Verlag, New York /Berlin/Heidelberg (2001).
19. M. Kimura, "Elementary Physical Chemistry in Dye Bath", Sen-i Kenkyusha, (1979) p91.
20. M. A. Manuszac, E. T. Borish, R. R. Wickett, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **47**, 213 (1996).
21. L. Eldjorn and A. Pehl, *J. Biol. Chem.* **225**, 499 (1957).