毛髪の個人識別における FT-IR ダイアモンドセル法の応用

大西一行, 坂野俊宏, 藤原延規
株式会社マングム中央研究所

Application of FT-IR Diamond Cell Method to Discrimination of Personal Hair

KAZUYUKI OHNISHI, TOSHIHIRO SAKANO and NOBUKI FUJIWARA

Central Research Laboratories, Mandom Corporation, 5-12,
Juniken-cho, Chuo-ku, Osaka 540, Japan

(Received December 2, 1992)

Keratin fibers, such as those of human hair, undergo chemical damage, resulting in the production of sulfonate ($-\text{SO}_3^-$) groups; this process is regarded as oxidative hair damage. This damage was measured with a Fourier transform infrared spectrometer using a high pressure diamond anvil cell. This method could be used to measure chemical damage with only small samples of fiber.

In this study, the relationship between the distance from the root end of hair and $-\text{SO}_3^-$ content at the point was determined. The observed damage patterns indicated that the degree of oxidative hair damage depended on the frequency of permanent waving and the properties of hair. This technique may be applied to a forensic chemistry, including, for example, discrimination and presumption of personal hair history.

Keywords — IR; hair; oxidation; keratin; forensic chemistry; determination

緒 言

毛髪は、パーマやブリーチ等の化学的処理や風化により酸化されると、その成分中のシスチン結合が切れて、イオウ原子が酸化された形の $-\text{SO}_3^-$ が生成する。この $-\text{SO}_3^-$ 量は、毛髪の化学的損傷の一つの指標とされている。しかし、 $-\text{SO}_3^-$ 量を測定するために従来用いられてきた方法であるアミノ酸分析法は、測定に時間を要し、試料も多量に必要であった。¹⁾ 一方、FT-IR が毛髪の化学的な情報を得るための方法として良く用いられ、²⁻⁸⁾ 特に少量の試料で精度の高い測定を行う手段としてダイアモンドセル法が報告されている。⁹⁾ この方法は、長さ数 mm 程度の髪の毛一本あれば $-\text{SO}_3^-$ 量を測定する事が出来る。そこで今回この方法を用い、毛髪中の $-\text{SO}_3^-$ の定量を試みた。

また、実際にこの手法を用いて様々な頭髪について、一本の毛髪中の任意の点の毛根部からの距離とその点の $-\text{SO}_3^-$ 量を測定し、毛髪の異同識別や履歴

の推定等、裁判化学分野への応用の可能性について検討を行った。

実 験

1. 毛髪試料 1-1. 検量線作成に用いた酸化損傷毛——約 1.5 g の毛束 (18 歳女性の未処理毛) に対し、アンモニアで pH=10.2 に調製した 3 % 過酸化水素水溶液 60 g を用いて処理を行った。過酸化水素水はインキュベーターで 37°C に制御し、毛束は 5 束用意して、0 分、30 分、60 分、120 分、180 分間各々処理した。

1-2. パーマ処理の履歴推定に用いた毛髪——パーマや染毛を行って来た履歴が明らかな女性より毛髪を入手した。毛髪試料は、オクタメチルシクロテトラシロキサン、エタノール、イオン交換水の順に、それぞれを含浸させた脱脂綿で清拭し用いた。

2. アミノ酸分析 毛髪の加水分解は、毛髪試料約 20 mg に対し 6 N の塩酸 2 ml 加え、減圧状態で 24 時間、110°C に加熱して行った。次に、この加水分

解溶液の塩酸を減圧留去した後、クエン酸リチウム緩衝液で希釈して測定用試料とした。

実際のアミノ酸分析は、日本電子アミノ酸自動分析機 JLC-300 を用いて行った。

3. FT-IR 分析 Strassburger らの方法を参考に、⁹⁾ ダイヤモンドセル法による毛髪の FT-IR 分析を行った。試料は、一本の毛髪を長さ約 1.0 cm ずつ切り取り、Spectra Tech Inc. 製 DiamondAnvil Cell (接点 1.5×1.5 mm) に挟んで、透過法により IR スペクトルを測定した。使用した FT-IR は Nicolet Model 20 DXC で、MCT 検出器を用い、分解能 4.0 cm⁻¹、積算回数 100 回で測定を行った。

4. 毛髪の酸化損傷評価法 酸化損傷の指標として、毛髪タンパク質のアミド III (1243 cm⁻¹) の吸収ピークに対する -SO₃⁻ (1044 cm⁻¹) の吸収ピークの面積比を、以下に示す式によって求めた。サンプル (損傷毛) スペクトルのアミド III (1243 cm⁻¹) の吸収ピーク面積は、同じ場所に -SO₃⁻ (1180 cm⁻¹) 由来の吸収ピークが重なって現れるために直接測定することはできない。そこで次式の分母に示すように、同じ場所に現れる -SO₃⁻ (1180 cm⁻¹) 由来の吸収ピーク面積分を引くことでアミド III の面積とした。

$$\text{ピーク面積比} = S_{1044} / (S_t - S_s)$$

S_t : サンプルのスペクトルの 1280—1140 cm⁻¹ の積分値

S_s : 差スペクトルの 1280—1140 cm⁻¹ の積分値

$S_t - S_s$: アミド III のピーク面積値

S_{1044} : 差スペクトルの 1060—1017 cm⁻¹ の積分値 (1044 cm⁻¹ における -SO₃⁻ のピーク面積値)

差スペクトルとは、サンプルスペクトルからリファレンススペクトルを差し引いたものである。なおリファレンスサンプルには、未処理状態になっている毛髪の毛根部を用いた。

結果及び考察

1. ダイヤモンドセル法による IR スペクトル

得られた IR スペクトルを Fig. 1 に示す。ここで、(A) と (B) はそれぞれ酸化損傷毛と無損傷毛で、(C) はそれらの差スペクトルである。この図より、-SO₃⁻ に帰属されるピークが 1044 cm⁻¹ と 1180 cm⁻¹ に現れることがわかる。これは、Strassburger ら⁹⁾ とほぼ同様の結果である。

2. アミノ酸分析法と FT-IR ダイヤモンドセル

Fig. 1. Diamond Cell Spectra of Hair and Difference Spectrum

A) Oxidized hair, B) Virgin hair, C) A) minus B).

Fig. 2. Plot of Peak Area Ratio 1044 cm⁻¹/1243 cm⁻¹ Against Cysteic Acid Content of Hair as Determined by Amino Acid Analysis

法との相関性

実験 1-1 で作製した毛髪試料を用いて、本研究における方法で定量を行った FT-IR によるピーク面積値と、アミノ酸分析より求めたシステイン酸量との関係を調べた。その結果を Fig. 2 に示す。FT-IR 分析は各毛束について 10 本ずつの平均値をとり、アミノ酸分析は各毛束について 1 回ずつの測定値をとった。これらの値を $Y = aX$ の式に回帰したところ、 $a = 9.05 \times 10^{-2}$ 、決定係数 = 0.977 であり、良好

な比例関係を示した。この結果より、ピーク高さを基準とした Strassburger らの方法⁹⁾の他、面積を基準とした算出法でも、毛髪中に生成した $-SO_3^-$ の量を測ることが可能であることが確かめられた。また、毛髪の酸化損傷度において、FT-IR がアミノ酸分析に代わり得る有力な評価手段であることが明らかになった。

3. 化学的処理の頻度や部位、あるいは処理剤の違いが毛髪の酸化損傷に与える影響

パーマ処理の有無や頻度、あるいは処理方法等が違ふ被験者の毛髪について、毛根部からの距離と酸化損傷度の関係を細かく測定した。

Fig. 3 には、4—6 カ月毎にパーマ処理を行い、毎日ドライヤーを長時間使用している女性の側頭部頭髮 (a) と、2 カ月毎にパーマ処理を行っている女性の頭頂部頭髮 (b)、さらにパーマ、ブリーチはむろん、ドライヤーの使用もひかえている女性の後頭部頭髮 (c) の合計 3 種類について 1 例ずつ比較した結果を示す。この際、それぞれ 5 本の毛髪について測定を行い、その平均値をとった。いずれも毛根部からの距離が大きくなるにつれ損傷度が増加し、しかもパーマ処理の頻度が高い被験者の毛髪ほどその損傷度が大きくなることがわかる。

Fig. 4 には、毛先の部分のみパーマ処理を行っている毛髪 (d) と、化学的処理を全く施していない毛髪 (e) を比較した結果を示す。なお、この結果は各々 1 本ずつについて測定を行ったものである。毛先にパーマ処理を行っている毛髪であっても、パーマ処理されていない部分 (0—35 cm) については、化学

Fig. 3. Damage Patterns from Root End to Tip of Permanent-Waved and Virgin Hairs

a) Waved every six months, b) Waved every two months, c) Virgin hair.

的処理を施していない毛髪と同じ傾向を示す。毛先部分のみパーマ処理を行っている被験者の毛髪は、毛先部分のみ著しく損傷が激しくなっていることが 1 本の毛髪からでも充分推測できる。

Fig. 5 には、パーマ処理と染毛処理を美容院にて 2 カ月毎に行い、さらにその 1 カ月後に自宅で毛根部のみ染毛を繰り返していた被験者の毛髪 1 本について測定した結果を示す。化学的処理の頻度が高いことにより酸化損傷度が全体的に高い。また処理方法が単一でなく部分的な処理を行っていることもあり、損傷傾向はランダムなパターンを示しているものと考えられる。

Fig. 4. Damage Patterns from Root End to Tip of Partial-Waved and Virgin Hairs

d) Waved only in top third of hair, e) Virgin hair.

Fig. 5. Random Damage Pattern in Hair Resulting from Irregular Treatment

Fig. 6. Diamond Cell Spectra of Bisulfite-Waved and Thioglycollate-Waved Hairs

D) Bisulfite-waved Hair, E) Thioglycollate-waved hair.

これらの結果より、化学的処理の有無や頻度、処理方法などによって、また、その毛髪の性質によってそれぞれに特徴的なパターンを有することが示唆された。

Fig. 6 に示す IR スペクトル (D) には、 $-\text{SO}_3^-$ 由来のピーク (1044 cm^{-1}) にショルダー (1025 cm^{-1}) が現れている。この IR スペクトルも Strassburger らの報告⁹⁾ にみることができる。 1044 cm^{-1} のピークが $-\text{C-SO}_3^-$ 由来のものであるのに対して、 1025 cm^{-1} のピークは $-\text{S-SO}_3^-$ 由来のものであるとされている。¹⁰⁾ この $-\text{S-SO}_3^-$ は、毛髪を亜硫酸系のウェーブ剤で処理した際の副生成物である。すなわ

ち、チオグリコール酸系のウェーブ剤で処理した毛髪の IR スペクトル (E) にはこのピークは現れない。実際この被験者は、最近亜硫酸系のパーマ処理を行っていた。このように、亜硫酸系のパーマ処理が施されている毛髪を IR で識別することも可能であると考えられる。

ま と め

FT-IR ダイアモンドセル法を用いて、毛根部からの距離とその点の $-\text{SO}_3^-$ 量との関係を調べることにより次の結果を得た。

1. ダイアモンドアンビルセルを用いた FT-IR 法は、毛髪中の $-\text{SO}_3^-$ 量を迅速かつ簡便に、極少量の試料で定量的に測定することができる方法である。アミノ酸分析など、従来から用いられてきた方法ではできない微細な分析が可能となる。
2. 酸化損傷度の異なる毛髪を見分けることができる。例えば、パーマやブリーチなどの施術頻度が大きく異なる人の毛髪を識別することが可能である。
3. 一本の毛髪を細かく測定することで、毛根部からなのか毛先だけなのかといった施術部位や施術頻度など、その毛髪のおおよその履歴が推測可能である。
4. 亜硫酸系のウェーブ剤を使用したことのある毛髪は、その IR スペクトル中に $-\text{S-SO}_3^-$ 由来のピークが現れるため容易に識別することができる。

謝辞 本研究に際し有益なご助言を頂きました徳島県警察本部の藤田義彦博士に深謝致します。

引 用 文 献

- 1) C.R. Robbins, C. Kelly, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **20**, 555 (1969).
- 2) G.J. Weston, *Biochim. Biophys. Acta*, **47**, 462 (1955).
- 3) A. Strasheim, K. Buijs, *Biochim. Biophys. Acta*, **47**, 538 (1961).
- 4) C. Robbins, *Text. Res. J.*, **37**, 811 (1967).
- 5) R.C. Shah, R.S. Gandhi, *Text. Res. J.*, **38**, 874 (1968).
- 6) H. Alter, M. Bit-Alkhas, *Text. Res. J.*, **39**, 479 (1969).
- 7) M.J.D. Low, A.G. Severdia, *Spectrosc. Lett.*, **16**, 871 (1983).
- 8) M. Tatsuda, M. Uemura, K. Torii, M. Matsuoka, *J. Soc. Cosmet. Chem. Japan*, **21**, 43 (1987).
- 9) J. Strassburger, M.M. Breuer, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **36**, 61 (1985).
- 10) A. Simon, D. Kunath, *Ber. Deutsche Chem. Ges.*, **94**, 1980 (1961).