J. Soc. Cosmet. Chem. Jpn.
報 文
27 (2) 152 - 158 (1993)

オクタデシルトリメチルアンモニウムクロライド/*N*-ラウロイル-*N*-メチル- β -アラニンナトリウム混合界面活性剤の蛋白質への吸着挙動

中間康成, 山口道広
株式会社 資生堂基礎科学研究所†

The adsorption behavior of Octadecyltrimethylammonium chloride/Sodium-*N*-lauroyl-*N*-methyl- β -alanine mixed surfactants to protein

Yasunari Nakama and Michihiro Yamaguchi

Shiseido Basic Reserch Laboratories.†

The adsorption of Octadecyltrimemmonuim chloride (C_{18} TAC)/Sodium-*N*-lauroyl-*N*-methyl- β -alanine (NaLMA) mixed system on keratin powder which was used as substitute for human hair was studied. The adsorption isotherm of C_{18} TAC showed irreversible adsorption, resulting in the decrease of the kinetic frictional coefficient compared to other cationic surfactants (C_{10} TAC, C_{12} TAC, C_{14} TAC, C_{16} TAC). The adsorption isotherm of NaLMA was of the Langmuir-type, but those of C_{18} TAC/MaLMA mixed system showed irreversible adsorption owing to strong interaction with keratin powder. The amount of adsorption was maximum at molar ratio 7/3 of C_{18} TAC/NaLMA. At the same ratio, the kinetic frictional coefficient and denaturation rate showed minimum values. That the behavior of C_{18} TAC/NaLMA mixed system is similar to nonionic surfactant aqueous solution and that the monomer concentrations of C_{18} TAC having the strong interaction decrease by formation of ionic pair between C_{18} TAC and MaLMA may suffice as explanation for the above results.

1. 緒 言

5年前の春からリンスインシャンプーが発売され、今や一つの市場として成長してきた。その技術の中身は各社様々であり、例えばリンス剤として油、カチオン界面活性剤をシャンプー基剤に配合する等があり、それに関しては多くの特許が出されている^{1)~3)}。著者らは、これまでシャンプーの主成分であるアニオン界面活性剤とリンスの

主成分であるカチオン界面活性剤の混合系において、特定のアニオン界面活性剤とカチオン界面活性剤がある比率で形成するイオンペアが、毛髪に対して摩擦低減効果等に優れる新規なリンス剤として働くこと、蛋白質との相互作用が弱いことを明らかにした^{4)~7)}。

本報では、このカチオン/アニオン混合界面活性剤系が示した毛髪に対する摩擦低減作用、及び蛋白質の変性作用低減などの作用機序を、毛髪のモデル物質としてケラチンパウダーを用いた系で検討した結果を報告する。

† 〒223 横浜市港北区新羽町 1050 ; 1050, Nippa-cho, Kohoku-ku, Yokohama-shi, 223 Japan

2. 実 験

2.1 試料

2.1.1 界面活性剤

使用したカチオン界面活性剤は、アルキル部分がデシル (C₁₀), ドデシル (C₁₂), テトラデシル (C₁₄), ヘキサデシル (C₁₆), オクタデシル (C₁₈) のトリメチルアンモニウムクロライド (東京化成工業製, 純度95%以上: 以下各々 C₁₀TAC, C₁₂TAC, C₁₄TAC, C₁₆TAC, C₁₈TAC と略記する) を, アニオン界面活性剤としては, N-ラウロイル-N-メチル-β-アラニンナトリウム (日光ケミカルズ社製試薬, 純度95%以上: NaLMA 以下と略記する) を使用した。

2.1.2 ケラチンパウダー

市販のケラチンパウダー (東京化成工業製) をそのまま用いた。濃塩酸で加水分解 (24h, 110°C) 後, アミノ酸自動分析計にて測定したケラチンパウダーのアミノ酸組成を Table-1 に示す。

Table-1 Amino acids composition of keratin powder

	Keratin powder
Glutamic acid	7.98%
Cystine	2.80
Arginine	3.88
Leucine	6.44
Aspartic acid	3.34
Threonine	4.17
Serine	10.24
Proline	17.26
Valine	8.34
Glycine	11.38
Isoleucine	4.04
Tyrosine	0.51
Phenylalanine	2.67
Lysine	0.56
Histidine	0.06
Methionine	0.06
Hydroxyproline	8.45
Alanine	5.09
Ornithine	2.62

2.2 測定

2.2.1 CMC 測定

ウィルヘルミー型表面張力計 (島津 ST-1 型) 及び電導度計 (東亜電波工業製モデル CM-50AT) を用い, 35°C で測定した。

2.2.2 吸着量測定

ケラチンパウダー 0.2g をカチオン界面活性剤水溶液に浴比が 1:50 になるように浸し, 40°C, 5 時間 Incubation した後濾過を行った。吸着量は, 濾液中の界面活性剤濃度を高速液体クロマトグラフィーにより定量し, 初濃度との差から求めた。HPLC 条件を Table-2 に示す。

Table-2 Conditions of HPLC

Equipment	TRIROTAR-III (JASCO)
Column	CAPCELL PAK C ₁₈ (SHISEIDO)
Eluent	methanol/water + 0.25M NaClO ₄ (pH 2.5 with H ₃ PO ₄)
Temp.	40°C
Flow rate	1.0 mL/min
Detector	RI: SHODEX RI SE-51 (SHOWA DENKO)

2.2.3 界面活性剤と卵白アルブミンとの相互作用

宮沢ら⁸⁾ による方法を用いた。

2.2.4 動摩擦係数測定

粉体摩擦試験機により測定した⁹⁾。

3. 結果及び考察

3.1 ケラチンパウダーに対するカチオン界面活性剤の吸着

カチオン/アニオン混合界面活性剤系の吸着挙動を検討するにあたって, リンス剤として汎用されているカチオン界面活性剤のケラチンパウダーに対する吸着挙動をアルキル鎖長の違いから調べた。ケラチンパウダーに対する鎖長の異なるカチオン界面活性剤の吸着等温線を Fig.-1 に示す。

アルキル鎖長が C₁₀ から C₁₄ までは鎖長に伴いケラチンパウダーに対する吸着量が増す傾向が見られた。しかしながら, C₁₄ から C₁₈ までは鎖長の

Fig.-1 Isotherms for adsorption of cationic surfactants to keratin powder

違いによる吸着量に顕著な差が見られなかった。また吸着等温線のかたちから、 C_{16} や C_{18} の場合、その初濃度が低い系では溶解しているカチオン界面活性剤分子のほとんどがケラチンパウダーに吸着し、平衡濃度がゼロの値を示した。Fig.-1より、この傾向は $C_{16}, C_{18} > C_{14}, C_{12}, C_{10}$ の順であった。

毛髪へのカチオン界面活性剤の吸着状態については、カチオン界面活性剤のイオンヘッドが毛髪表面の窪みにある静電的吸着部位に、またそのアルキル基が毛髪表面にある疎水の吸着部位に吸着するというモデルが Ohbu ら¹⁰⁾により報告されている。今回使用したケラチンパウダーが負の電荷(-30mv)を有していることから、非可逆的に吸着したカチオン界面活性剤のイオンヘッドは静電的吸着部位に、また疎水基であるアルキル鎖は毛髪表面を覆うように吸着し疎水化させていると考えられる。事実、毛髪をカチオン界面活性剤で処理すると毛髪表面の動摩擦係数が下がり¹¹⁾、櫛通りが良好となる。そこで、各カチオン界面活性剤水溶液で吸着平衡に達したケラチンパウダーを十分に洗浄し、乾燥後その動摩擦係数を測定し表面の平滑性を比較した。測定結果を Fig.-2 に示す。

C_{16} や C_{18} の系は $C_{10} \sim C_{14}$ の系に比べ低い動摩

Fig.-2 The effect of alkyl chain length on kinetic frictional coefficient of keratin powder

擦係数を示した。これはこの系では十分に水洗してもカチオン界面活性剤が脱着することなく、非可逆的に強く吸着しているためと考えられる。すなわち、 C_{16} 、 C_{18} のケラチンパウダーに対する吸着は、吸着/脱着の平衡吸着ではなく、非可逆的な強い相互作用による吸着と考えられ、非可逆的な吸着量の多いものほど動摩擦係数を下げるものと推論された。

カチオン界面活性剤は、優れたリンス効果を示すが、頭皮等の皮膚に対して刺激の生じる場合のあることが知られている。刺激に対する *in vitro* の評価法として界面活性剤と卵白アルブミンとの相互作用(蛋白質変性率)を調べる方法が提案されている⁸⁾。この方法に従いカチオン界面活性剤の蛋白質変性率とアルキル鎖長の関係をべた。各カチオン界面活性剤の蛋白質変性率と Fig.-1 から読取ったケラチンパウダーに対する各カチオン界面活性剤の飽和吸着量(非可逆的な吸着と可逆的な吸着を合わせた全吸着量)のデータを合せて Fig.-3 に示す。

C_{14} で蛋白質変性率の極大値を示し、ケラチンパウダーへの吸着量と蛋白質変性率とはよく対応した。すなわち、ケラチンパウダーに対する飽和吸着量の多いカチオン界面活性剤ほど卵白アルブミンとの相互作用が強いと判断された。

Fig.-3 The effect of alkyl chain length on denaturation rate and amount of saturated adsorption

3.2 ケラチンパウダーに対する カチオン／アニオン混合界面活性剤の吸着

カチオン界面活性剤としては、ヘアリンス剤等で汎用されている $C_{18}TAC$ 、アニオン界面活性剤

Fig.-4 Isotherms for adsorption of $C_{18}TAC/NALMA$ mixed surfactants to keratin powder

としてアミノ酸系界面活性剤である $NaLMA$ を用いて、 $40^{\circ}C$ における各々の単独及び混合系のケラチンパウダーに対する吸着等温線を作成した。その結果を Fig.-4 に示す。

$NaLMA$ 単独の系は、ケラチンパウダーとの相互作用が相対的に弱く、吸着等温線のパターンからはラングミュア型の平衡吸着が生じているものと考えられた。一方、 $NaLMA$ に対する $C_{18}TAC$ の混合比率が高まると吸着量が増加する傾

Fig.-5 Isotherm for adsorption of $C_{18}TAC$ in $C_{18}TAC/NaLMA$ (7/3) mixed system

Fig.-6 Isotherm for adsorption of $NaLMA$ in $C_{18}TAC/NaLMA$ (7/3) mixed system

向を示し、 $C_{18}TAC/NaLMA$ のモル分率が 6/4 及び 7/3 の系では $C_{18}TAC$ 単独の系より高い吸着量を示し、7/3 の比率で最も高い値を示した。また、吸着等温線のパターンをみると、カチオン界面活性剤の比率の高い混合系では $NaLMA$ 単独系に比べ、ケラチンパウダーと非可逆的な強い相互作用を有することが示唆された。

ここで最大の吸着量を示した $C_{18}TAC/NaLMA$ のモル分率 7/3 の系について、 $C_{18}TAC$ 及び $NaLMA$ それぞれの吸着量に分割した吸着等温線を Fig.-5, Fig.-6 に示す。

$C_{18}TAC$ の吸着量は、 $NaLMA$ が共存することにより単独の場合（破線）より増加している（Fig.5）。また $NaLMA$ の場合は、単独ではラングミュア型の平衡吸着（破線）と考えられたが、 $C_{18}TAC$ が共存することにより、非可逆的な吸着挙動を示すことが分る（Fig.-6）。以上のように、系が混合されることによって単独系と異なる吸着挙動を示し、また高い吸着量を示すことが明らかになった。混合系では後述するようにカチオン／アニオンの混合によって、非イオ的な分子会合が生じるため、静電的相互作用に加えケラチンを構成する蛋白と非イオ的な会合分子との疎水的な相互作用も加味された吸着機構も考えられる。

混合系においても、前述したカチオン界面活性剤の場合と同様に界面活性剤水溶液で吸着平衡に達したケラチンパウダーを蒸留水で洗浄し、可逆的に吸着した界面活性剤を十分に取り除き、乾燥後その動摩擦係数を測定した。十分洗浄後のケラチンパウダーへの吸着量（非可逆的吸着量）とケラチンパウダーの動摩擦係数の $C_{18}TAC/NaLMA$ モル分率依存性を Fig.-7 に示す。

非可逆的な吸着量と動摩擦係数とはよい相関を示している。すなわちモル分率の増加に伴う吸着量の増加に対応して、ケラチンパウダーの動摩擦係数は低下する傾向を示した。特に最大の吸着量を示すモル分率 0.7 で最も低い動摩擦係数の値が得られた。ケラチンパウダーに対する界面活性剤の吸着は、前述したように疎水基を外側に向けた状態であることが考えられるが、単独の系に比べ

Fig.-7 Relation between amount of irreversible adsorption and kinetic frictional coefficient in $C_{18}TAC/NaLMA$ mixed system

混合界面活性剤系では恐らく、Fig.-5 及び Fig.-6 で示したように $C_{18}TAC$ 及び $NaLMA$ の両者が非可逆的に多量に吸着することによって外表面がより疎水化し、結果として動摩擦係数が大きく低減したものと考えられる。

混合界面活性剤系の各比率における蛋白質変性率を測定し、それらの飽和吸着量と蛋白質変性率

Fig.-8 Relation between amount of saturated adsorption and denaturation rate in $C_{18}TAC/NaLMA$ mixed system

との相関を調べた結果を Fig. 8 に示す。

アニオン界面活性剤である NaLMA の比率が高い系では弱いながらも幾分蛋白変性を示すが、カチオン界面活性剤である C₁₈TAC 単独の系はやはり高い変性率を示した。しかしながらケラチンパウダーに対して最大の飽和吸着量を示すモル分率 0.7 付近では、卵白アルブミンの変性率はほとんどゼロに近い値を示した。この結果は、カチオン界面活性剤を単独で用いた系とはまったく逆の結果である。すなわち、ケラチンパウダーに対して強い吸着性を示す混合界面活性剤系は、卵白アルブミンをほとんど変性させず、変性をもたらすような強い相互作用は生じていないことが示唆される。

カチオン界面活性剤による蛋白質の変性は、溶解しているカチオン界面活性剤分子のモノマー濃度に依存し、モノマーの濃度が高まると蛋白質とモノマーの結合量が増し、これが変性をもたらすものと考えられている。そこで本混合系についてカチオン界面活性剤である C₁₈TAC のモノマーの濃度の算出を試み、モノマー濃度から卵白アルブミンとの相互作用について考察を試みた。

著者らは混合系に関するこれまでの研究⁴⁾で、C₁₈TAC/NaLMA=0.5 の系では、電導度—組成曲線に縮小値が観測され、両者が溶液中でモル比 1 のイオンペアを形成することを見出している。そしてこのイオンペアは水溶液中で曇点様の現象を示し、非イオン界面活性剤的な性質を示すことも確認している。それ故、飽和吸着量が最大を示したモル分率 0.7 付近の領域では、等モルで形成されるイオンペアとイオンペア形成に関与していない C₁₈TAC 分子が共存していると推論できる。このイオンペア形成に関与していない C₁₈TAC モノマーの濃度は、Table-3 に示した CMC 測定の結果から、2 成分混合系相分離モデル¹²⁾に従って算出することができる。混合のモル分率 0.7 で濃度 10mM の系（飽和吸着に達している濃度）について、C₁₈TAC のモノマー濃度を計算すると $5.2 \times 10^{-6} \text{M}$ となり、C₁₈TAC 単独の場合の $3.4 \times 10^{-4} \text{M}$ に比べ約 2 オーダー低い値を示す。この事実は、この濃度差に相当するほとんどの

Table-3 CMC values of C₁₈TAC/NaLMA mixed surfactants at 35°C.

C ₁₈ TAC/NaLMA	CMC ($\times 10^{-3} \text{M}$)
10/0	0.34
8/2	0.11
7/3	0.086
6/4	0.060
5/5	0.059
4/6	0.074
2/8	0.36
0/10	9.0

C₁₈TAC 分子が NaLMA とイオンペアを形成するため、卵白アルブミンの変性に関わる C₁₈TAC モノマーの絶対量が減り、卵白アルブミンの変性率が著しく低減したものと推論される。一般に非イオン界面活性剤は蛋白変性を起こさないことが知られており、本混合系でも形成されるイオンペアが非イオンのため卵白アルブミンの変性には関与しないものと考えられる。

本報で述べた様に、ケラチンパウダーに対して高い吸着性を示すカチオン界面活性剤は、卵白アルブミンに対しても強い変性作用を示したが、カチオン界面活性剤とある比率でアニオン界面活性剤が混合した系では全く逆の結果を得た。しかし、ケラチンパウダーに対し高い吸着性を示す非イオンのイオンペアが、同じ蛋白質の範疇の卵白アルブミンに何等相互作用を示さないとは考えにくい。考えられることは、このイオンペアが溶解状態にある卵白アルブミンと何等かの相互作用が生じるが、それは蛋白変性をもたらすような相互作用ではないと考えられるであろう。

4. 結 論

硬質蛋白質であるケラチンパウダーに対する C₁₈TAC/NaLMA 混合界面活性剤の吸着性を調べた。その結果、混合比率により吸着性が異なり、ある比率で吸着量が極大値を示した。その極大値を示す混合比率の系は、ケラチンパウダーの動摩擦係数を著しく低減させたが、卵白アルブミンに対してはほとんど変性させないことが分かっ

た。以上のことから、 $C_{18}TAC/NaLMA$ の混合界面活性剤系は、両者の混合比率をうまく選択することにより、皮膚や毛髪に対する刺激が低く、毛髪に対してはその動摩擦係数を低下できる優れたリンス基材となる可能性が見出された。

引用文献

- 1) 特開昭 62-288694
- 2) 特開昭 55-38813
- 3) 特開昭 59-150000
- 4) Y. Nakama, F. Harusawa, I. Murotani., J. Am. Oil Chem. Soc., 67, 717 (1991)
- 5) 春沢文則, 中間康成, Fragrance Journal, 17 (10), 11 (1989)
- 6) F. Harusawa, Y. Nakama, 16th IFSCC International Congress, V2, New York: SCC (Oct, 1990) pp.382.
- 7) 春沢文則, 中間康成, 田中宗男, 日本化粧品技術者会誌, 25, 110 (1991)
- 8) K. Miyazawa, M. Ogawa, T. Mitui., Int. J. Cosmet. Sci., 6, 330 (1984)
- 9) 藤山善雄, 鈴木福二, 粉体工学誌, 21, 565 (1984)
- 10) K. Ohbu, T. Tamura, N. Mizusima, M. Fukuda, Colloid polym. Sci, 266, 798 (1986)
- 11) F. Harusawa, T. Kato, M. Tanaka, J. Soc. Cosmet. Jpn., 15, 225 (1981)
- 12) Rubingh, D. N., in Mixed Micelles Solution, Solution Chemistry [of Surfactants, Vol.1, edited by K. L. Mittal Plenum Press, New York, 1979, p.337.

(1993年5月18日受理)