

ヒト毛髪におけるグリオキシル酸の分布に対する毛髪処理条件の影響 Influence of Hair Treatment Condition on the Distribution of Glyoxylic Acid in Human Hair

宇山 允人^a, 岡部 真也^b

Makoto Uyama^a, Sinya Okabe^b

^a 資生堂グローバルイノベーションセンター

^a Shiseido Global Innovation Center

^b 株式会社資生堂

^b Shiseido Company Limited

毛髪の形状変形を伴う毛髪処理剤として汎用されているグリオキシル酸 (GA) について、SPring-8 BL43IR に設置された顕微赤外分光 (IR) 装置を用いて、毛髪内部での GA の分布の評価並びに浸透促進剤併用による浸透促進効果を検証した。結果、GA は浸透促進剤の併用により、浸透量が増加していることが示唆された。しかしながら毛髪切片を調製する際に毛髪が水に触れるため、毛髪中の GA が水中に溶出していることも併せて示唆された。

キーワード： グリオキシル酸、顕微 IR、毛髪

背景と研究目的：

グリオキシル酸 (GA) はヘアケア製品のストレートパーマ剤として汎用されているが、GA 単独もしくは浸透促進剤を併用した際の、縮毛矯正効果の詳細な作用機序は未だ不明である。浸透促進剤であるグルコノデルタラクトン (GDL) を組み合わせることで GA が毛髪内部のどこまで浸透しているか、その分布を解明することは、よりよいストレートパーマ剤を開発する上で重要である。マッピング分析の手法の中では、分解能的には軟 X 線顕微鏡や Nano-SIMS (二次イオン質量分析) が優れているが、GA が炭素、水素、酸素から構成される非常に単純な構造であるため、GA を自然界にはほとんど存在しない同位体ラベル化しない限り、GA 由来の信号を捉えることは困難である。一方 IR は、官能基に関する情報を高感度にかつ非破壊で得るのに優れた手法である [1, 2]。ヒト毛髪の直径は 100 μm 程度であるのに対し、実験室系の顕微 IR 装置の分解能は 20 μm 程度と十分な分解能を有しておらず、毛髪内に存在する微量の GA を検出するには輝度も不足している。一方、SPring-8 BL43IR に設置された顕微 IR 装置は分解能 5 μm 、高輝度と優れた性能を有しており、毛髪内部浸透成分の解析に用いられた実績がある [3]。そこで本研究では GA の毛髪内部の分布を IR 吸収スペクトルから明らかにすることと浸透促進剤併用による浸透促進効果を検証することを目的として実験を行った。GA と毛髪残基との化学反応は知る限りにおいて不明であるが、一般的にアミンと GA の化学反応において脱炭酸が生じ、アミド結合が生じることが知られているため、アイロン処理によって毛髪内でも同様の化学反応が起こっていると推測している [4]。以前の我々の研究 (課題番号 2019B1682) では毛髪を GA 水溶液処理した後に、ヘアアイロンをかけた試料を測定していた。このときの問題点として、ヘアアイロンにより GA が毛髪と化学反応を起こし、GA 由来のピークが消失してしまったため、GA の毛髪内の分布を正確に把握できないことであった。そこで本研究ではヘアアイロンをかける前の GA 水溶液処理で処理を止め、IR 測定を行うことで、GA 由来のピークを確認することとした。

試料：

ヒト毛髪表面に付着した化学物質を除去するために、実験前にシャンプーで洗浄し、ヘアドライヤーで乾燥させた。これを対照試料 (GA 未処理毛) とした。その後、毛髪を 5% GA 水溶液、5% GA + 3% GDL 水溶液、20% GA 水溶液に 37 $^{\circ}\text{C}$ で 10 分浸したのちに、表面の水を濾紙で十分にふき取った。これらをそれぞれ GA5% 処理毛、GA5%+GDL3% 処理毛、GA20% 処理毛とした。

これら三つの試料をマイクロトーム (Thermo Scientific Microm HM325 Rotary Microtome) を用いて水で包埋させ、 -20°C で $6\ \mu\text{m}$ の厚さに切断した。切断した毛髪はフッ化バリウム板に載せ、顕微 IR の試料台に設置した。

実験条件：

SPring-8 (Hyogo, Japan) の BL43IR に設置された顕微 IR 分光光度計 (VERTEX 70 and Hyperion 2000, Bruker) を用いてフーリエ変換赤外分光 (FT-IR) 測定を行った。蓄積リングからの IR ビーム径はアパーチャーを用いて $5 \times 5\ \mu\text{m}^2$ まで絞った。IR 吸収スペクトルは波数 $600\text{--}4000\ \text{cm}^{-1}$ の範囲を分解能 $4\ \text{cm}^{-1}$ 、64 回積算、XY 軸方向 $2\ \mu\text{m}$ 刻みで測定した。得られたデータは分光測定データ解析ソフトウェア OPUS を用いて解析した。

結果および考察：

GA の局在を調べるためには毛髪由来の吸収帯と重ならない波数位置に現れるピークに着目する必要がある。毛髪由来の吸収帯としては、毛髪最内部メデュラには脂質が豊富に存在することが報告されており[1]、脂質のアルキル鎖 ($-\text{CH}_2$) に由来する吸収帯が $2800\text{--}3000\ \text{cm}^{-1}$ 付近に現れる。またアミド I の α -ヘリックス構造中のポリペプチド鎖の振動に由来する吸収帯が $1650\ \text{cm}^{-1}$ 付近に、アミド I の β -シート構造中のポリペプチド鎖の振動に由来する吸収帯が $1630\ \text{cm}^{-1}$ 付近に現れ、共にメデュラやコルテックスで強度が強いことが知られている[2]。さらに、アミド II の α -ヘリックスの振動に由来する吸収帯が $1550\ \text{cm}^{-1}$ 付近に現れ、アミド II の β -シート構造中の振動に由来する吸収帯が $1520\ \text{cm}^{-1}$ 付近に現れることが知られている[1]。図 1 に GA の ATR FT-IR スペクトルを示す。上述の毛髪由来の吸収帯と重ならないピークとして GA は $\text{C}=\text{O}$ 伸縮モードの吸収帯に由来するピークを $1722\ \text{cm}^{-1}$ 付近に有しているため、本研究ではこのピークに着目している。図 2 に得られた IR スペクトルの結果を示す。全てのスペクトルは毛髪最内部 (メデュラ) から外周部 (キューティクル) に向かって、 $2\ \mu\text{m}$ 刻みで示している。キューティクルはメデュラやコルテックスとは明らかに異なるスペクトルになっているが、これはビーム径が $5\ \mu\text{m}$ であるため、毛髪の外周部の縁ではキューティクルだけでなく、バックグラウンドの信号まで拾ってしまっているためであると考えている。図 2 (a)と(b)には GA の $\text{C}=\text{O}$ 伸縮モードに由来する吸収帯ピークが確認できないが、図 2 (c)と(d)では $1732\ \text{cm}^{-1}$ 付近に確認することができたことから、GA5%+GDL3%と GA20%で GA が検出できたと考えている。ピーク位置を確実に調べるために図 2 のスペクトルを 2 次微分した結果が図 3 である。図 3(a)と(b)ではやはり $1732\ \text{cm}^{-1}$ 付近にピークを確認することができないが、図 3 (c)と(d)では $1732\ \text{cm}^{-1}$ 付近に明確なピークを、メデュラの最内層から 5–6 スペクトル (距離的に $10\text{--}12\ \mu\text{m}$) で確認することができた。従って本実験により GA 由来のピークを観測することができ、毛髪内のメデュラの最内層まで浸透していることが明らかとなると共に、GDL による GA の浸透促進効果も確認できた。またメデュラまで浸透しているならばコルテックスやキューティクルにも GA が存在しているべきはずであるが、これらの部位では GA 由来のピークは観測できなかった。この理由として考えられるのは、毛髪の観察切片を作製する際に水で凍らせているため、切片作製の前後で大量の水に触れてしまっている。GA は水溶性であるため、大半の GA は水中に溶出し、最も溶出しにくいメデュラのみ残存した結果、今回得られたような観測結果となったものと考えている。図 4 には $1720\text{--}1740\ \text{cm}^{-1}$ の領域でマッピングした結果を示す。本測定における解析では $1720\text{--}1740\ \text{cm}^{-1}$ の間で直線を引き、これをベースラインとしてピーク面積を算出した。そのため、 $1720\text{--}1740\ \text{cm}^{-1}$ のスペクトル形状によっては、ピークがないにも関わらず、マッピング上は強度があるように一見見えてしまう場合がある。図 4 においてキューティクルの領域における強度がコルテックスよりも強いような結果となっているのはそのためであると考えている。一方、図 4(c)と(d)では明瞭に GA がメデュラに局在していることが視認できた。

まとめ：

GA に対する浸透促進成分である GDL の効果について顕微 IR 法を用いて評価した。以前の我々の研究 (課題番号 2019B1682) では、アイロン処理により GA が毛髪内のアミノ酸残基と化学結合したため、GA 由来のピークを確認することはできなかったが、本研究では、アイロン処理前の GA 水溶液処理で止めたことにより、GA 由来のピークを確認することに成功すると共に GDL に

よる GA の浸透促進効果も確認できた。またマッピングをすることにより GA の局在を可視化することにも成功した。残された課題としては毛髪切片を作製する際に、水で凍らせているため、切片作製の前後で GA が毛髪表面から流出している可能性が否定できないことであるが、樹脂包埋など異なる毛髪切片作製方法を用いたとしても切片の作製時に水に触れることは避けられないため、現時点では明快な解決方法はないと考えている。

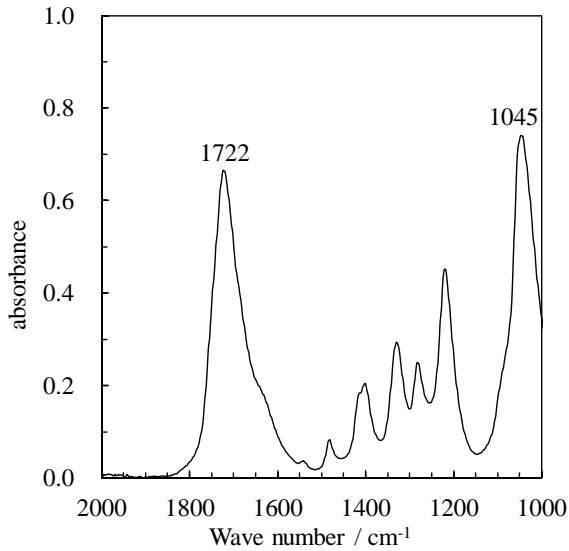


図1. IR spectrum of GA in the wave number range of 1000–2000 cm^{-1} .

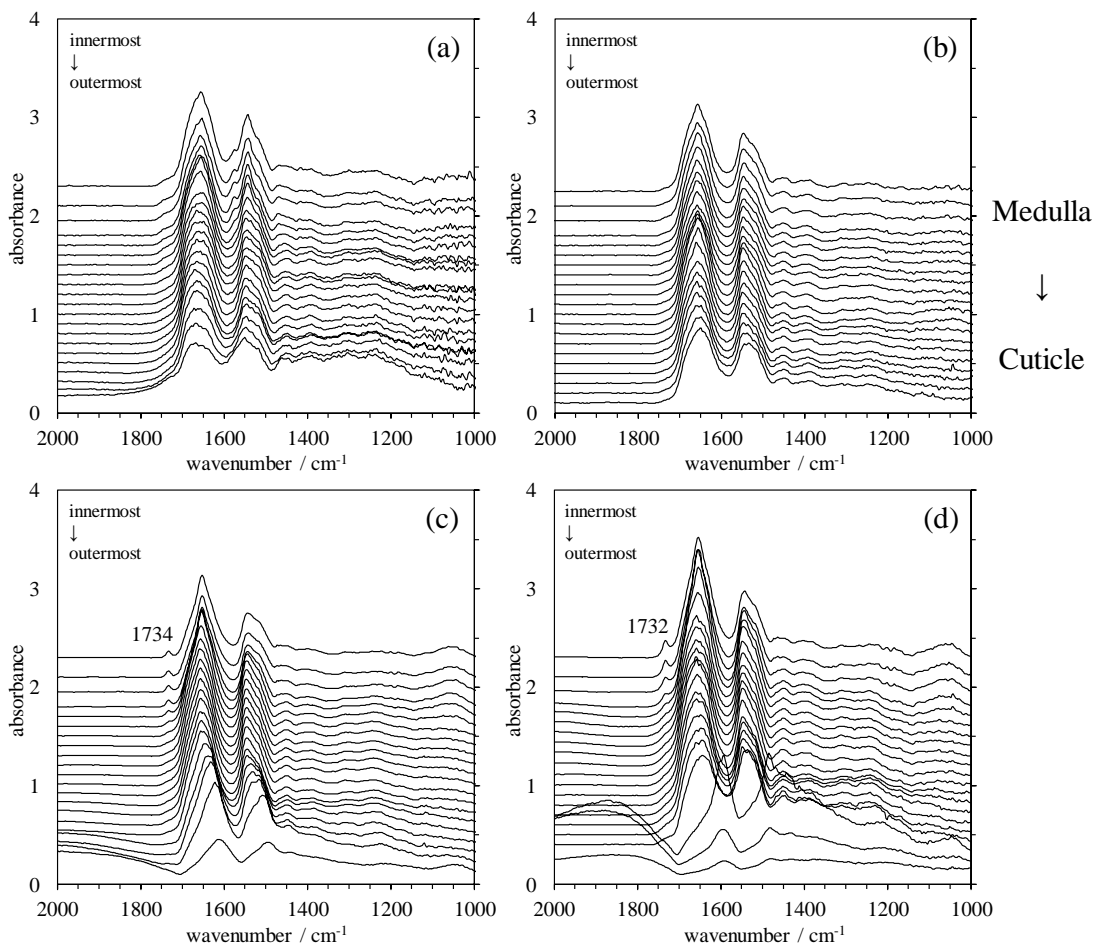


図2. IR spectra of (a) control, (b) GA5%, (c) GA5%+GDL3%, and (d) GA20% treated hairs in the wave number range of 1000–2000 cm^{-1} .

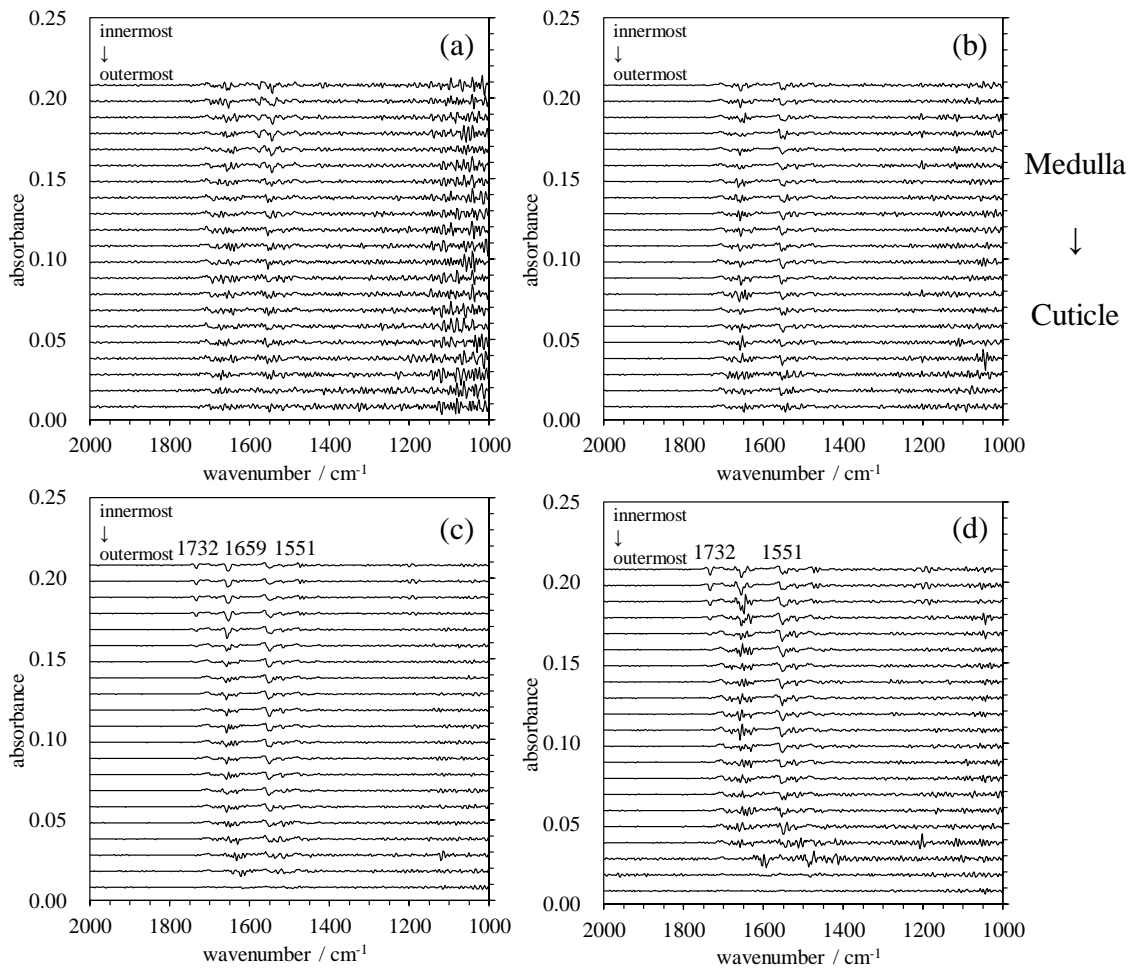


图 3. Second derivative FT-IR spectra of (a) Control, (b) GA5%, (c) GA5%+GDL3%, and (d) GA20% treated hairs in the wave number range of 1000–2000 cm^{-1} .

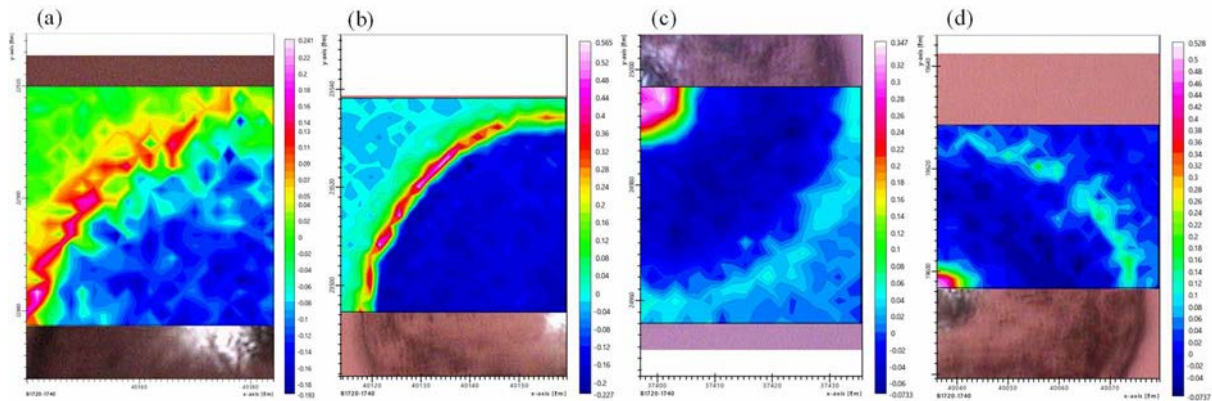


图 4. FT-IR images of (a) control, (b) GA5%, (c) GA5%+GDL3%, and (d) GA20% treated hairs obtained from the integration of the band between 1720–1740 cm^{-1} .

Reference :

- [1] G. Zhang, *J. Biomed. Opt.*, **16**, 056009 (2011).
- [2] L. Kreplak, *Biophys. J.*, **87**, 640 (2004).
- [3] 稻益, 森脇, 池本, *SPring-8/SACLA 利用研究成果集*, **3**, Section B, 388 (2015).
- [4] D-Z. Lin, J-M. Huang, *Org. Lett.*, **20**, 2112 (2018).