

# SPring-8 を利用した毛髪内部の構造変化測定

佐野 則道\*・竹田 晋吾\*\*・松井 純爾\*\*・高野 秀和\*\*\*・籠島 靖\*\*\*

## Application of SPring-8 to Measure Changes of Internal Structure of Hair Fiber

Norimichi SANO\*, Shingo TAKEDA\*\*, Junji MATSUI\*\*, Hidekazu TAKANO\*\*\* and Yasushi KAGOSHIMA\*\*\*

Synchrotron radiation-sourced wide-angle X-ray diffraction (WAXD) pattern of human hair under mechanical stress gives us information on microscopic deformation of the constituent keratin protein. The helical pitch of  $\alpha$ -keratin molecule for respective stress was read out from the diffraction pattern. Longitudinal crystal modulus of elasticity, or spring constant, of  $\alpha$ -keratin in hair fiber was calculated as a slope in the Hookean region of the stress-crystal deformation curve. The spring constants demonstrated that a new formulation of hair conditioner soften the damaged hair fibers. The formulation was launched on the market as a conditioner for unruly or naturally waved hair.

**Key words:** synchrotron radiation, X-ray diffraction, hair fiber,  $\alpha$ -keratin, hair conditioner

ヘアケア製品は人間の頭髪の清潔さと美しさを保つ化粧品である。この分野では、製品処方成分がもたらす毛髪の物理的特性変化を、毛髪表面や内部の構造を含むさまざまな尺度で評価する手法が用いられている。特に近年、化粧品メーカー各社は、ヘアケア製品開発を指向して放射光を利用した毛髪の基礎的物性研究に注力している<sup>1)</sup>。例えば、キューティクル中の細胞膜複合体 (cell membrane complex; CMC) の構造と物質透過性にかかわる機能<sup>2)</sup>、毛髪の硬化と軟化に伴うケラチンの二次および三次構造の変化<sup>3)</sup>、あるいはケラチン分子集合体である intermediate filaments (IF) の構造分布のくせ毛発生への関与<sup>4)</sup> 等が調べられている。筆者らは、ケラチン二次構造の動的変化に基づくコンディショナー処方の有用性評価法を確立し、新製品の商品化に活用している<sup>5)</sup>。本稿では、その手法と得られた成果について紹介する。

### 1. 放射光とその利用

放射光は、ほぼ光速で直進する荷電粒子 (電子や陽電子) の進行方向が磁場で曲げられるときに放射される電磁波である。放射光は明るく、指向性が高く、また光の偏光特性を自由に変えられるなどの優れた特徴をもっており、実験室系の装置では実現不可能な高感度・高空間分解能な計測を可能とする。兵庫県南西部 (西播磨) の播磨科学公園都市にある SPring-8 は、世界最高性能の放射光を発

生することができる大型の研究施設である (<http://www.spring8.or.jp/>)。筆者らが確立した手法は、SPring-8 の兵庫専用ビームライン BL24XU のブランチ A の X 線散乱実験ステーションに設置されている微小タンパク結晶回折計を利用している (<http://www.hyogo-bl.jp/bl24xu.html>)。

#### 1.1 測定光学系

SPring-8 BL24XU-A の X 線散乱実験ステーションでは、おもに高分子材料、合成高分子、金属・合金などの評価を行っており、通常の小角 (広角) 散乱光学系とマイクロ小角 (広角) 散乱光学系が設置されている。ここではおもにマイクロ小角 X 線散乱光学系について説明する。本光学系は大きく分けて 4 つの部分で構成され、上流から、光源、集光光学系、試料台 (ゴニオメーター)、検出器となる。

(1) 光源: マイクロビームを用いた局所領域の X 線散乱測定には高い輝度の光源が求められるため、光源として第三世代の放射光施設である SPring-8 のアンジュレーターを用いた。第三世代の放射光施設の特徴は、低エミッタンスの蓄積リングと挿入光源による高輝度かつ指向性のよい放射光が得られることである。このような良質な X 線を用いることにより、集光 X 線の集光効率の向上、集光サイズの縮小が見込める。

(2) 集光光学系: X 線散乱測定では試料が X 線によって照射された領域の平均情報が得られる。よって、試料に

\*P&G イノベーション合同会社研究開発本部分析部門 (〒658-0032 神戸市東灘区向洋町中 1-17) E-mail: sano.n.2@pg.com

\*\* (財) ひょうご科学技術協会兵庫県放射光ナノテク研究所 (〒679-5165 たつの市新宮町光都 1-490-2)

\*\*\* 兵庫県立大学大学院物質理学研究科 (〒678-1205 兵庫県赤穂郡上郡町光都 3-2-1)

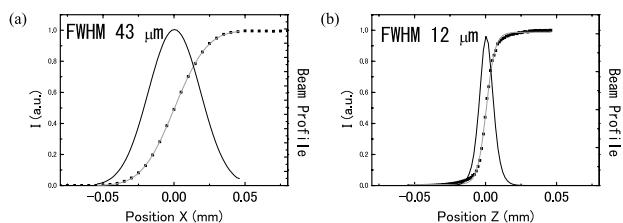


図1 ビームサイズ測定結果。(a) 水平方向 43  $\mu\text{m}$ , (b) 垂直方向 12  $\mu\text{m}$ .

入射させる X 線のサイズを縮小しマイクロビーム化することによって、微小な領域の評価をより高位置分解能で行うことが可能になる。また、単位面積あたりの光子密度が高くなるために、微小な試料からの信号を効率よく得ることができる。BL24XU-A のマイクロ小角散乱装置では、X 線マイクロビームの光学素子としてゾンプレート (ZP) を用いている<sup>6)</sup>。形成された X 線マイクロビームのサイズは水平方向 43  $\mu\text{m}$ 、垂直方向 12  $\mu\text{m}$  を達成している。ナイフエッジスキャン法で行ったビームサイズの測定結果を図 1 に示す。また、100  $\mu\text{m} \times 100 \mu\text{m}$  のスリットを通して試料に入射する X 線の強度は  $1 \times 10^{10}$  photons/s で、集光なしのときと比較して 1 桁以上の X 線強度の向上がみられた。

(3) 試料台 (ゴニオメーター)：試料のマウントには、マイクロビームに対応できるよう 1  $\mu\text{m}$  以下の精度を有したゴニオメーターを使用しており、遠隔操作により試料の並進、回転が再現性よく行える。また、高倍率の可視光の CCD カメラを X 線と同軸に配置しており、試料の位置決めが精度よく行える。

(4) 検出器：小角 X 線散乱測定では極小角側から広角側にかけて散乱強度が大きく変化する。最大強度に対し 1/1000~1/10000 程度の弱い散乱まで測定する必要があるため、ある角度領域を同時に測定できる二次元検出器を用いるのが一般的である。二次元検出器の例として、二次元のマルチワイヤー型比例計数管、イメージングプレート、CCD カメラなどが挙げられる。BL24XU-A では比較的検出面積が大きいイメージングプレートを使用しており、試料からイメージングプレートまでのカメラ長は試料によって変更可能である。これにより、数 nm~100 nm 程度までのサイズおよび周期長に関する情報を得ることができる。

これらによって構成されたマイクロ小角散乱装置の概略を図 2 に示す。光源 (アンジュレーター) により発生した放射光からダイヤモンド二結晶分光器を用いて 10 keV の X 線を分光し、実験ステーションに入射させる。実験ステーションでは、スリットを通して X 線を整形し、ZP に入射させる。ZP の下流に 2 つのスリットを設置し、高次回折光の除去と寄生散乱の抑制を行う。ZP によって集光され

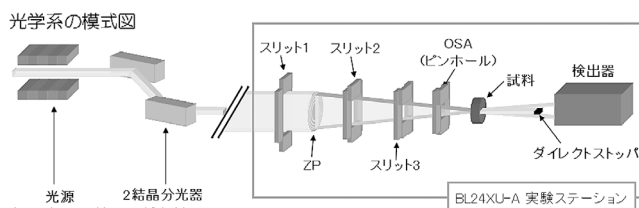


図2 小角散乱装置の概略。

た X 線の焦点位置に試料を配置し、測定を行う。

## 1.2 標準試料の測定

本光学系のデモンストレーションとして、鳥のドライコラーゲンの測定を行った。X 線のエネルギーは 10 keV を使用した。コラーゲンは三重らせん構造が 65.3 nm の周期長で秩序的に配列されたタンパク質繊維であり、カメラ長の校正やビーム中心座標の決定などに用いられる小角散乱測定の標準試料である。図 3 はイメージングプレートにより得られた二次元の散乱強度である。コラーゲンの周期構造が異方性をもった散乱像として現れ、その散乱ピークが対称に生じている。また、図 4 は図 3 のデータを一次元化したグラフである。1 次のピークから高次のピークまで観測されている様子がわかる。

マイクロ小角散乱光学系の仕様をまとめると、試料を照射する X 線のサイズは水平方向 43  $\mu\text{m}$ 、垂直方向 12  $\mu\text{m}$  であり、このサイズが位置分解能である。また、X 線の強度は  $1 \times 10^{10}$  photons/s であることから、微小な試料を測定するために十分な強度と位置分解能をもった光学系であると期待される。

## 2. ヒト毛髪 $\alpha$ -ケラチンの結晶弾性率の測定

毛髪の主成分はケラチンというタンパク質で、毛髪内部では個々のケラチン分子が  $\alpha$ -ヘリックス構造をとりながら毛髪の伸長方向に向きを揃えて、毛幹の太さ方向に緩やかに束ねられた構造をしている (図 5)。直径はアジア人女性の場合 60  $\mu\text{m}$  前後である。応力下での X 線回折パターンから、ケラチンタンパクの微視的な変形に関する情報が得られる。毛髪単繊維に 0~90 g 程度の引っ張り荷重をかけ、各張力でのケラチン分子の螺旋ピッチを広角 X 線回折法で測定すれば (図 6)、 $\alpha$ -ケラチンの引っ張り-結晶変形曲線が得られる (図 7)。縦結晶弾性率はこの引っ張り-結晶変形曲線のフック領域の傾きから求められる。

アジア人女性の健康な髪の毛の束に弊社の標準的な方法でダメージを与え、シャンプーし、コンディショナー処理したものを実験試料とした。対照試料は同様のダメージ、シャンプーの後、水で処理したものをを用いた。上述の方法で  $\alpha$ -ケラチンの結晶弾性率を測定したところ、弊社が新規に開発したコンディショナーの処方、対照試料に対し

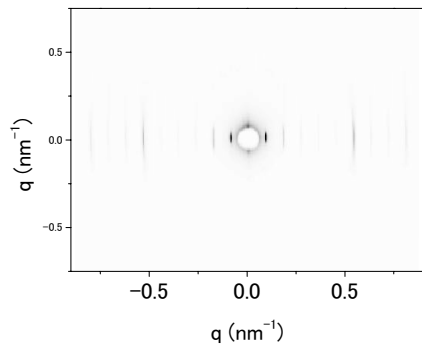


図3 ドライコラーゲンの測定結果.

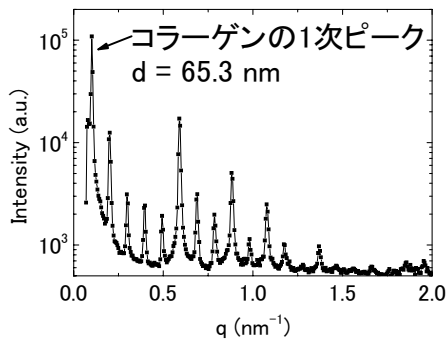


図4 ドライコラーゲンの一次元化データ. 三重らせん構造 (周期長 65.3 nm) 由来の一次ピークから観測可能.

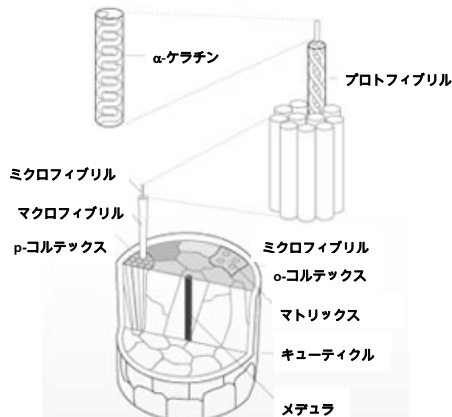


図5 ヒト毛髪の構造模式図.

て22%小さい $\alpha$ -ケラチンの結晶弾性率を与えた<sup>5)</sup>. この処方、頑固なうねり・くせを内側からコントロールして、素直にまとまる髪にするコンディショナーとして商品化された.

本稿では、ヘアコンディショナーがもたらす巨視的な有用性に対し、毛髪の主成分である $\alpha$ -ケラチンの力学的性質に基づく光学的評価法を考察した. こうした手法を組み込んで開発・商品化されたヘアケア製品は、消費者の高い評価を得ている. 生活用品の製品開発に光学的評価法が一層活用され、私たちの健康で快適な生活に貢献していくも

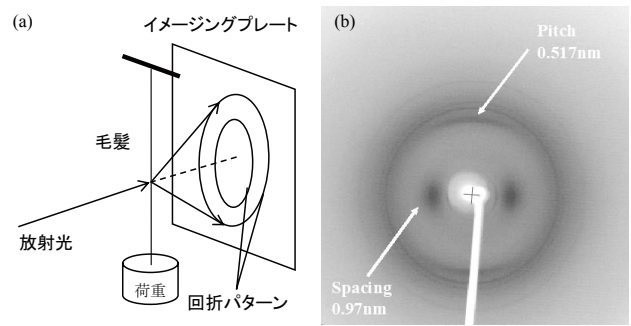


図6 毛髪単繊維の応力下X線回折. (a) 光源・試料・検出器の配置, (b) 毛髪の広角X線回折パターン.

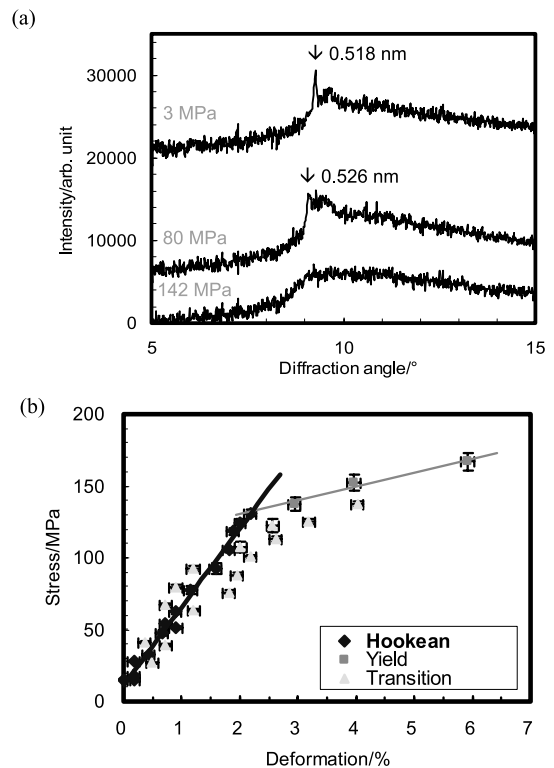


図7 引っ張り応力による $\alpha$ -ケラチンのピッチの伸び. (a) 応力による回折ピークの移動 (試料: ヒト毛髪単繊維, 塩酸 (pH=4.5) による処理後). (b)  $\alpha$ -ケラチンの応力-変形曲線 (試料: ヒト毛髪, 物理的・化学的ダメージ処理, シャンプー, うねり・くせ用コンディショナーで処理).

のと期待される.

## 文 献

- 1) 八田一郎: 放射光産業利用調査報告書— SPring-8 産業利用の広がり (SPring-8 利用推進協議会研究開発委員会, 2010) p. 59.
- 2) N. Ohta *et al.*: J. Appl. Cryst., **38** (2005) 274-279.
- 3) L. Kreplak *et al.*: Biopolymers, **58** (2001) 526-533.
- 4) Y. Kajiura *et al.*: J. Struct. Biol., **155** (2006) 438-444.
- 5) N. Sano: SPring-8 Research Frontiers 2006 (Japan Synchrotron Radiation Research Institute, 2007) pp. 149-150.
- 6) 高野秀和ほか: 放射光ビームライン光学技術入門, 大橋治彦・平野馨一編 (日本放射光学会, 2008) pp. 206-232.

(2010年6月18日受理)