

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月 1日現在

機関番号：14303

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21500732

研究課題名（和文） 染毛科学進展のための安全な新規染毛法の創製

研究課題名（英文） Invention of Novel Safe Hair Dyeing for Progress in Hair Colouring Science

研究代表者

安永 秀計 (YASUNAGA HIDEKAZU)

京都工芸繊維大学・工芸科学研究科・准教授

研究者番号：80241298

研究成果の概要（和文）：

天然由来物質（バイオベースマテリアル：BM）を用いた本研究により、次の知見・結果が得られた。

①(+)-カテキンを酵素酸化することにより、色素【カテキノン】が得られ、これによって毛髪を黄～橙～茶色に染色でき、他のBMの併用によって様々な色調が得られる。②皮膚刺激性を示さないカテキノンで染めた毛髪色の洗髪堅ろう度・耐光堅ろう度は十分高く、紫外線でも褪色し難い。③カテキノンの化学構造・生成機構を明らかにした。④酵素反応における生成速度・生成量を最大にする最適条件と、電気化学・化学酸化合成法を確立した。⑤染料の合成効率を飛躍的に向上させる方法を明らかにした。⑥黒色染毛法を見出した。⑦染料の毛髪への吸着過程と浸透過程を明らかにした。⑧茶抽出物を利用した染毛を実現した。

研究成果の概要（英文）：

A novel colourant for hair dyeing was prepared by an enzymatic reaction with (+)-catechin and biobased materials, and their characteristics as a hair dyestuff were studied. The achievements are as follows: ①The obtained orange or reddish orange colourant, named "catechinone", shows enough dyeability for decolourised white hair. The colour is controlled by the addition of biobased materials and a variety of colours of dyed hair are acquired. ②Catechinone does not cause erythema or oedema on skin of rabbits. The fastness to washing or light (incl. UV) for hair dyed by catechinone is found to be high enough for practical use. ③The chemical structure of catechinone and the formation mechanism were clarified. ④The optimum conditions for obtaining catechinone at highest rate and max amount were determined for enzymatic, electrochemical and chemical techniques. ⑤The production efficiency of catechinone was dramatically improved by a technique invented. ⑥The technique by which hair is dyed black was invented. ⑦The adsorption and penetration process of the dyestuff was clarified. ⑧A technique dyeing hair by using extracts from tea leaves was invented.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：染毛科学・高分子科学

科研費の分科・細目：生活科学・生活科学一般

キーワード：生活素材、染毛科学

1. 研究開始当初の背景

高齢人口の増加による白髪染めやおしゃれのための染毛を行なう人々の数が世界中で劇的に増加していた。現在もさらに増加中である。しかし、最も多用されている酸化染毛剤によって毛髪が傷んだり、*p*-フェニレンジアミンに代表される酸化染料前駆体が体内に侵入してアレルギー性の接触性皮膚炎を起こすことが知られ、ニトロソ化合物などの反応副生成物や酸化剤である過酸化水素による突然変異誘発性のあることも指摘されていた。そして、染毛習慣の定着と染毛人口の増加に伴い、染毛による問題が顕在化し、その解決の重要性が社会的に認知されていた。また、染色廃液による環境汚染も解決すべき課題であった。

したがって、安全で毒性の少ないヘアカラーリングシステムの開発は急務であったが、国内において、大学などの公的研究機関ではこの問題が研究されていない。

2. 研究の目的

本研究の主要な目的は次のとおりである。

- ①より安全な染毛用染料を開発し、その効率的な合成条件を明らかにする。
- ②新しい染料の生成機構を解明する。
- ③染着機構を解明し、毛髪への染色性の向上を目指す。

3. 研究の方法

全体的な研究の流れを図1に示す。研究は次のように行なった。

- 1) カテキン等のフラボノイドやその他のバイオベースマテリアル (BM) を原料としてスクリーニングを行ない、酵素・電気・化学酸化を用いた染料の合成と、染色性が得られた染料分子のキャラクタリゼーションをNMR・IR・分光光度法・TLC・MAS等によって実施した。
- 2) 人毛の染色実験と染毛性評価を行なった。
- 3) 耐光堅ろう度・洗髪堅ろう度を評価した。
- 4) 染料拡散と染着過程の解析と染色反応機構を解析した。
- 5) 染料合成条件の最適化とさらに合成効率を向上させる方法を探った。
- 6) (+)-カテキンに安全な鉄化合物などの化合物を添加し、媒染効果による色調制御も試みた。

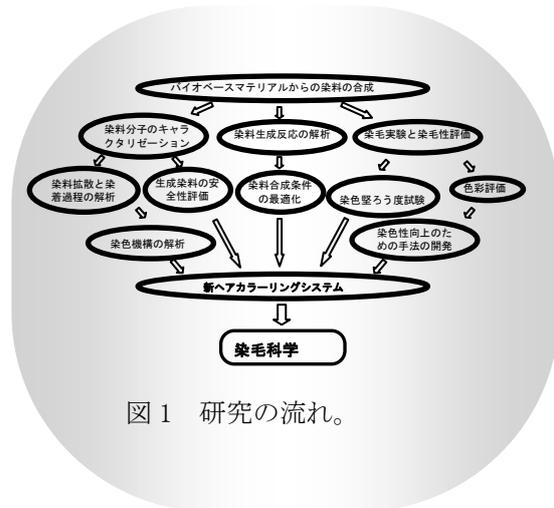


図1 研究の流れ。

4. 研究成果

(1) 染料合成と染色性・調色性

(+)-カテキン水溶液にチロシナーゼを添加すると、瞬時に溶液は透明から橙色に変化



図2 染色した毛髪の写真。(a)は未染色毛髪で、染色は、(b)(+)-カテキンのみ、(c)(+)-カテキン+L-システイン、(d)(+)-カテキン+チロシン、(e)(+)-カテキン+L-ドーパ、(f)(+)-カテキン+ナリンゲニン、(g)(+)-カテキン+ラック色素、(h)(+)-カテキン+タマリンド色素、(i)(+)-カテキン+ヘマトキシリン、(j)(+)-カテキン+コウリヤン色素、(k)(+)-カテキン+クチナン色素、(l)(+)-カテキン+赤キャベツ色素を酵素酸化して得られる色素で行なった。

し、この溶液に浸漬した白色試料毛髪は、鮮やかな黄～橙～赤茶に染色される。(+)カテキン/チロシナーゼの酵素反応系から色素が生成し、これが染毛能をもつことが明らかとなった。

(+)カテキン-チロシナーゼ反応系に安全性が高いと考えられる様々なBMを添加した溶液で染色して得られる試料毛髪の色を調べた結果、チロシンを添加したときは黄茶、同様に L-ドーパで黒茶・L-システインで薄茶・ナリンゲニンで黄・ラック色素で黄・タマリンド色素で薄橙・ヘマトキシリンで濃橙・コウリヤン色素で赤橙・クチナシ色素で黄緑・赤キャベツ色素で赤紫となることがわかった。以上の調色用バイオベースマテリアルの混合によって得られる染色毛髪の写真を図2に示す。この結果より、カテキンに他の天然由来物質を混合して酵素染毛することにより多様な色彩の毛髪が得られ、色調制御が可能であることがわかった。

(2) (+)カテキン由来染料のキャラクターゼーション

(+)カテキンとチロシナーゼの反応によって得られる生成物のTLCの結果、組成比率の高い主要生成色素は1種類で、この色素のNMR測定・質量分析・IR測定を行なった。その結果、得られる主要染料分子は図3に示す化学構造(4-(3, 4-ジヒドロ-3 α , 5, 7-トリヒドロキシ-2H-1-ベンゾ-2 α -イル)-1, 2-ベンゾキノン)をとっていることがわかった。これを【カテキノン】と命名した。また、カテキノンは、粉末として回収してから再び水溶液にしても毛髪の染色が可能である。

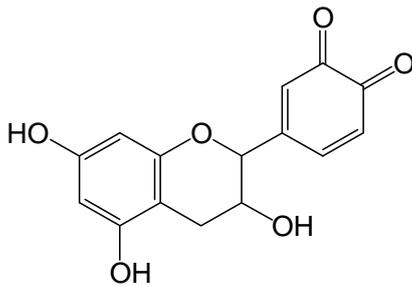


図3 カテキノンの化学構造。

(3) 染色毛髪の耐光および洗髪堅ろう度

まず、カテキノン染色毛髪の耐光堅ろう度を調べた。光照射時間に対する、①カテキノン染色毛髪・②カテキノン+赤キャベツ色素混合系染色毛髪・比較のための③酸化染毛剤であるp-アミノフェノール(PAP)+5-アミノ-o-クレゾール(5AOC)で染色した毛髪・④市販のヘアマニキュア(酸性染料)で染色

した毛髪色の、明度・色度の変化の結果を図4に示す。染色毛髪の L^* (明度)と a^* (赤-緑色度)と b^* (黄-青色度)(以上CIE 1976)はともに大きく変化せず、本手法による染色毛髪は昼白色光に対しては十分な耐光堅ろう性を示す。

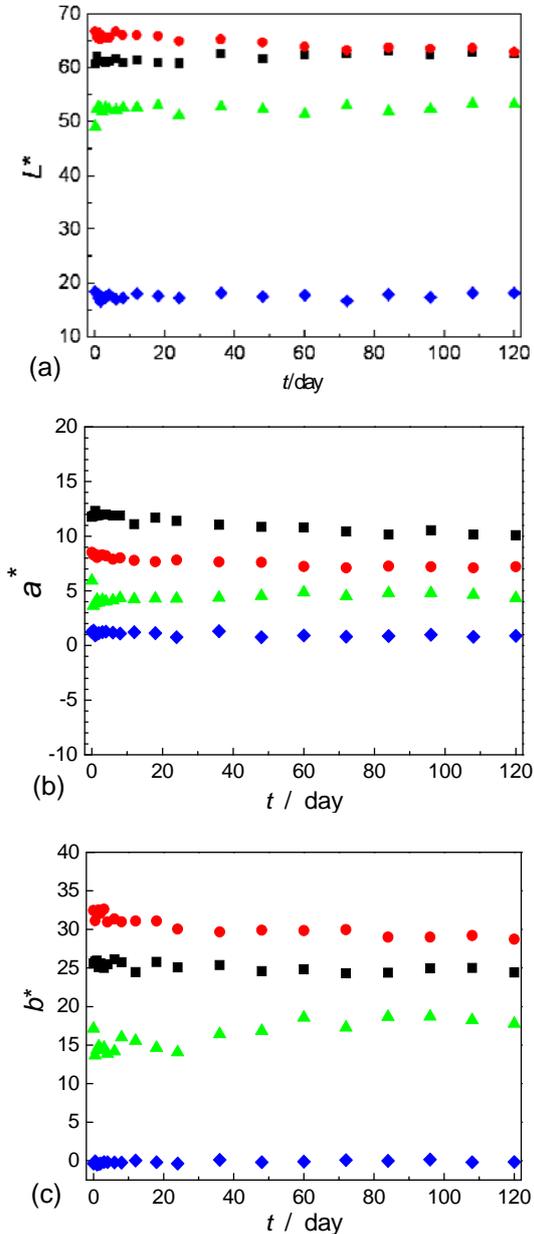


図4 カテキノン染色毛髪(●)・カテキノン+赤キャベツ色素混合系染色毛髪(▲)・PAP+5AOC染色毛髪(■)・酸性染料(◆)の、光換算照射時間(t)に対する明度(L^* : (a))・色度(a^* : (b)・ b^* : (c))の変化。

次に、染色毛髪の洗髪に対する堅ろう度を調べた。カテキノン染色毛髪およびカテキノン+赤キャベツ色素混合系で染色した毛髪で

は、染毛より 1 ヶ月後と仮定した洗髪 30 回後も、目視では染毛直後とほとんど色の差が観察されない。①カテキノン染色・②カテキノン+赤キャベツ色素混合系・③PAP+5AOC・④ヘアマニキュアで染色した毛髪、洗髪回数に対する明度・色度の変化を図 5 に示す。この結果より、酸性染料以外のいずれの系でも明度は洗髪回数が増加するとともに緩やかに高くなっていくが、色度は a^* と b^* とともに大きくは変化しないことがわかる。カテキノン染色毛髪とカテキノン+赤キャベツ色素混合系染色毛髪の微小な色度・明度変化は酸化染毛剤染色毛髪の場合と同じで、本手法によ

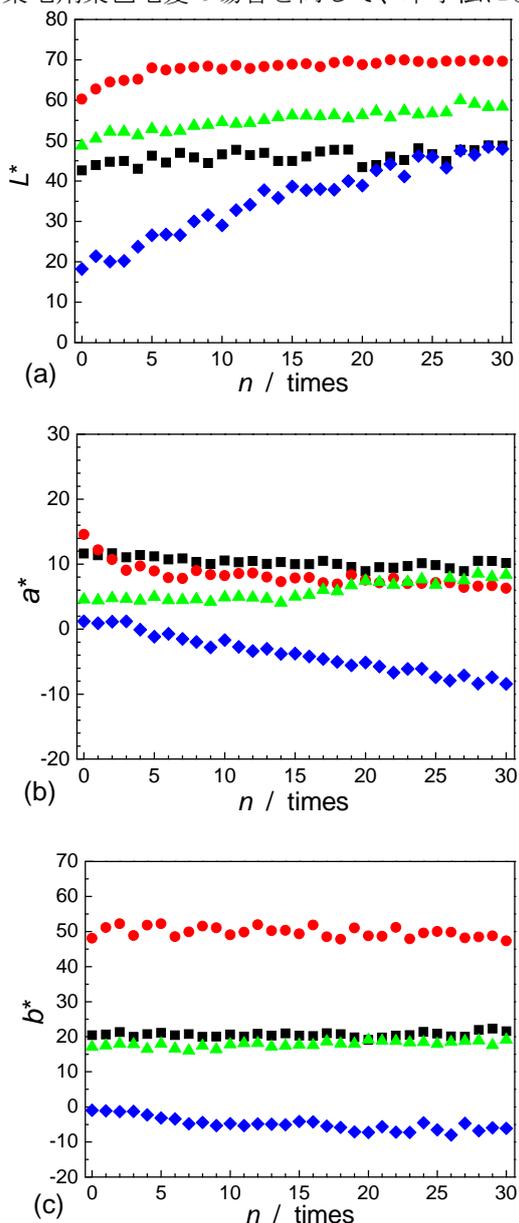


図 5 カテキノン染色毛髪 (●)・カテキノン+赤キャベツ色素混合系染色毛髪 (▲)・PAP+5AOC 染色毛髪 (■)・酸性染料 (◆) の、洗髪回数 (n) に対する明度 (L^* : (a))・色度 (a^* : (b)・ b^* : (c)) の変化。

る染色毛髪は酸化染毛剤と同等の十分な洗髪堅ろう性をもっている。

(4) 酵素反応最適条件と合成効率の向上

カテキノン染料の酵素合成において、反応溶液に直流定電圧を印加することにより、染料生成速度が上昇することを見出した。そして、その促進機構が酸素供給にあることを明らかにし、反応速度向上には溶存酸素濃度が重要であることがわかった。

カテキノン染料のチロシナーゼを用いた酵素合成における、染料生成速度の溶存酸素濃度・温度・pH 依存性を調べた結果、速度が最大となる条件は、①溶存酸素: より高濃度・②温度: $30\text{ }^\circ\text{C}$ ・③pH = 9.0 であることが明らかとなった。

一方、取り扱いの容易でない酵素を用いないカテキノン染料の合成法を試みた。その結果、電気化学酸化または化学酸化による合成法とその最適条件を確立した。

さらに染料合成効率の向上を目指して反応条件を研究した結果、溶媒を水/エタノール混合系とし、pH を制御して、細孔を通した酸素ガスを供給することによって、図 6 に示すように染料合成効率が約 28 倍と飛躍的に上昇することを見出した。その際に、水/エタノール混合比・pH・酸素供給法の最適条件を明らかにした。

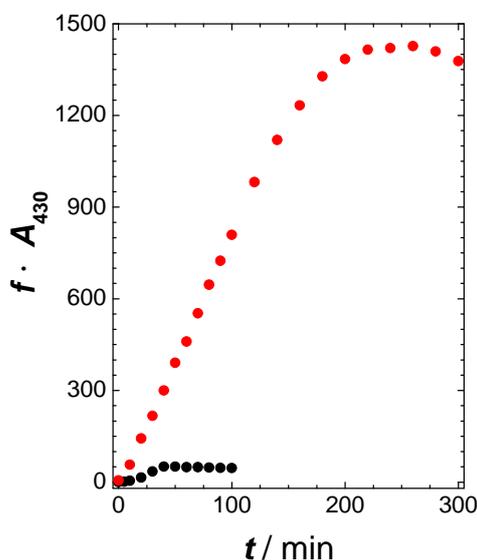


図 6 カテキノン染料生成量 ($f \cdot A_{430}$) の反応時間変化 (t)。●: 水溶液中での反応系 ($[(+)\text{-catechin}] = 0.0050\text{ mol kg}^{-1}$)、●: 水/エタノール混合溶液系 ($[(+)\text{-catechin}] = 0.345\text{ mol kg}^{-1}$)。

さらに、酵素・電気化学・化学酸化の各法におけるカテキノンの生成機構を明らかにした。

また、(+)-カテキンと鉄化合物を組み合わせた染色法によって毛髪を黒色に染める方法を見出し、染料の毛髪への吸着過程と浸透過程を明らかにした。

そして、(+)-カテキンなどを含む茶抽出物を用いた毛髪染色を実現した。これにより、植物から抽出したバイオベースマテリアルが、高度な精製をすることなく染毛に応用可能なことを示した。

以上の成果によって、毛髪の染色性をさらに向上させる課題も含め、色材と染毛法の開発・染色機構解明など、染毛科学の発展のための端緒を切り拓いた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

- 1) YASUNAGA, Hidekazu, Colouring by Using Biobased Materials, *Advanced Materials Research*, **441**, 28-32 (2012). (査読有)
- 2) 安永秀計, バイオベースマテリアルを用いた染毛料—合成と課題—, *毛髪科学*, **109**, 37-43 (2011). (査読無)
- 3) 安永秀計, バイオベースマテリアルを用いた染毛料の研究, *毛髪科学*, **108**, 46-49 (2011). (査読無)
- 4) 安永秀計, 天然由来物質と酵素を用いた染毛法, *染色研究*, **54**, 44-53 (2010). (査読無)

[学会発表] (計 27 件)

- 1) Yasunaga, H., Hair Dyeing by Using Dyestuffs Obtained from Biobased Materials, *The 11th Asian Textile Conference*, Daegu, Korea, 2011.11.3. (招待講演)
- 2) Yasunaga, H., Colouring by Using Biobased Materials, *International Conference on Eco-Dyeing/Finishing and Green Chemistry*,

Hangzhou, China, 2011.6.10. (招待講演)

- 3) Yasunaga, H., Ueda, M.; Fukui, Y.; Matsubara, T.; Urakawa, H., Hair Dyeing Colourant Prepared from Materials of Natural Origin by Enzymatic and Electrochemical Reaction, *The 10th Asian Textile Conference*, Ueda, Japan 2009.9.9

[図書] (計 3 件)

- 1) Kuroki, S.; Kameda, T.; Yasunaga, H., Application of Nuclear Shielding, *Nuclear Magnetic Resonance 41* (Kamienska-Trela, K. and Wojcik, J. eds.), p. 56-118, Royal Society of Chemistry (2012).
- 2) Kuroki, S.; Matsukawa, S.; Yasunaga, H., Application of Nuclear Shielding, *Nuclear Magnetic Resonance 40* (Webb, G. A. and Kamienska-Trela, K. eds.), p. 55-133, Royal Society of Chemistry (2011).
- 3) Kuroki, S.; Matsukawa, S.; Yasunaga, H., Application of Nuclear Shielding, *Nuclear Magnetic Resonance 39* (Webb, G. A. and Kamienska-Trela, K. eds.), p. 70-150, Royal Society of Chemistry (2010).

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: フラボノイド骨格を有する天然物質の酸化方法およびフラボノイド骨格を有する天然物質の製造方法並びに染毛方法

発明者: 安永秀計; 浦川宏; 綿岡勲; 松原孝典

権利者: 京都工芸繊維大学

種類: 特許

番号: 特願 2011-89074

出願年月日: 2011 年 4 月 13 日

国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

安永 秀計 (YASUNAGA HIDEKAZU)
京都工芸繊維大学・工芸科学研究科・
准教授

研究者番号：80241298

(2)研究分担者
()

研究者番号：

(3)連携研究者
()

研究者番号：

(4)研究協力者

浦川 宏 (URAKAWA HIROSHI)
京都工芸繊維大学・工芸科学研究科・教授

綿岡 勲 (WATAOKA ISAO)
京都工芸繊維大学・工芸科学研究科・助教

松原 孝典 (MATSUBARA TAKANORI)
京都工芸繊維大学・工芸科学研究科・博士
後期課程学生

森本 翔太 (MORIMOTO SHOTA)
京都工芸繊維大学・工芸科学研究科・博士
前期課程学生

谷口 幸来 (TANIGUCHI SAINA)
京都工芸繊維大学・工芸科学研究科・博士
前期課程学生

矢野 麻美 (YANO ASAMI)
京都工芸繊維大学・工芸科学研究科・博士
前期課程学生