

実験報告書様式(一般利用課題・成果公開利用)

(※本報告書は英語で記述してください。ただし、産業利用課題として採択されている方は日本語で記述していただいても結構です。)

	承認日 Date of Approval 2013/11/23 承認者 Approver Jun-ichi SUZUKI 提出日 Date of Report 2013/07/09
課題番号 Project No. 2013A0062 実験課題名 Title of experiment Study on the structural change of human stratum corneum induced by the treatment of surfactant solutions using small- and wide- angle neutron scattering. Part 2 界面活性剤処理によるヒト皮膚角層の構造変化の中性子小角・広角散乱法を用いた解析(2) 実験責任者名 Name of principal investigator 久米卓志 (Takuji Kume) 所属 Affiliation 花王株式会社 解析科学研究所 (Kao Corp.)	装置責任者 Name of Instrument scientist 鈴木淳市 (Jun-ichi Suzuki) 装置名 Name of Instrument/(BL No.) 大強度型中性子小中角散乱装置 (大観) / (BL-15) 実施日 Date of Experiment 2013/5/8 21:00~2013/5/10 10:00

試料、実験方法、利用の結果得られた主なデータ、考察、結論等を、記述して下さい。(適宜、図表添付のこと)  
 Please report your samples, experimental method and results, discussion and conclusions. Please add figures and tables for better explanation.

1. 試料 Name of sample(s) and chemical formula, or compositions including physical form. ・ヒト踵角層；固体(粉末)；(花王社内のボランディアの健常者の踵より取得した試料) ・重水素化ドデシル硫酸ナトリウム(d-SDS (SDS-d25))； $C_{12}D_{25}SO_4Na$ ；固体 ・ドデシル硫酸ナトリウム(h-SDS)； $C_{12}H_{25}SO_4Na$ ；固体 ・重水 $D_2O$ 液体 重水素化ドデシル硫酸ナトリウム、ドデシル硫酸ナトリウムを重水に溶解して3%溶液を作成した。重水素化ドデシル硫酸ナトリウム溶液および重水は pH(pD)を 3, 7, 10 に、ドデシル硫酸ナトリウム溶液は 7 に調整し、計7種の測定用試料とした。
---

2. 実験方法及び結果 (実験がうまくいかなかった場合、その理由を記述してください。) Experimental method and results. If you failed to conduct experiment as planned, please describe reasons. <b>【実験方法】</b> BL-15(大観)にて、角層(SC)＋重水( $D_2O$ )、角層＋活性剤溶液、重水および活性剤溶液の中性子散乱測定を実施した。活性剤溶液としては、d-SDS/ $D_2O$ (3%)、h-SDS/ $D_2O$ (3%)を用いた。前回のトライアルユース(2012B0154)では pH を調製せず溶液を作製したために重水素化 SDS 溶液が pH2 以下の強酸性となっていたという問題があった。また SPring-8 での実験との対比のため、今回は pH 3, 7, 10 に制御した溶液を用いて角層への浸透の影響を検討した。角層試料への重水および活性剤溶液の浸漬には、以前の SPring-8 での実験を参考に角層の変化が十分に平衡に達すると考えられる 1 時間以上の時間(実際には浸漬後 16 時間以上)経過後に測定を実施した。
---

## 2. 実験方法及び結果(つづき) Experimental method and results (continued)

試料セルには厚み(光路長)2mm のタイコセルを用い、オートサンプルチェンジャーを利用して 30°Cで測定を実施した。測定時間は角層+溶液の1サンプルあたり 2.5 時間相当(kicker = 225000 counts)、溶液はサンプルのコントラストに合わせて 30 分~2 時間相当(kicker = 45000~180000 counts)とした。検出器には現在利用できる小角・中角バンクの検出器を用いた。ただし、今回の解析では、目標としている角層のケラチン線維のマイクロフィブリルの情報が含まれる小角バンク領域のデータのみ解析処理を実施した。なお、今回の実験では標準試料の測定を実施していないので絶対強度補正は実施していない。(今後の標準試料の測定データを利用して将来的に換算は可能である。)

### 【実験結果および考察】

今回測定した小角中性子散乱測定の結果を以下に示す。まずは、Fig. 1(a), (b)がそれぞれ角層+重水、および角層+重水素化活性剤溶液(d-SDS/D<sub>2</sub>O(3%))の pH 依存性の結果のグラフである。グラフより明らかとおり、(a), (b)ともに pH 3, 7, 10 の3つの散乱プロファイルはほぼ完全に重なっており処理溶液の pH による依存性は見られなかった。これは浸漬後十分な時間(今回の実験では 16hr 以上)経過した場合は、pH が異なっても SDS 溶液および重水のそれぞれの膨潤の平衡値は同じであることを意味しているものと考えられた。

次に、Fig. 2(a)に溶液のみの散乱プロファイルを、Fig. 2 (b) に角層+溶液の散乱プロファイルを示す。Fig. 2 は全て pH 7 の場合のデータである。Fig. 1 で浸漬後十分な時間が経過して平衡に達した場合には pH に依存性はなかったため、pH 7 でのデータについて比較した。Fig. 1 のデータで使われていた溶液は全ての軽水素が重水素化されたサンプルであったが、ここでは活性剤のみ通常の軽水素で構成された h-SDS/D<sub>2</sub>O(3%)の溶液のデータも含まれる。

Fig. 2(a)の重水と活性剤溶液(d-SDS/D<sub>2</sub>O(3%)、h-SDS/D<sub>2</sub>O(3%))のデータを比較すると、軽水素を含まない d-SDS/D<sub>2</sub>O は重水よりごくわずかに強度が高い散乱プロファイルとなっていたのに対し、活性剤の SDS が軽水素物である h-SDS/D<sub>2</sub>O の溶液は、h-SDS と重水の間大きなコントラストから h-SDS ミセル由来の高強度でブロードな散乱が 0.1~2.0nm<sup>-1</sup> 程度に現れていた。従って、全て重水素化合物で構成される d-SDS/D<sub>2</sub>O(3%)の溶液では重水に対して事実上コントラストマッチングが達成されているものと考えられた。

Fig. 2(b)は角層+重水、角層+活性剤溶液のデータである。ここには示していないが、トライアルユースで測定した角層のみの散乱プロファイルと比較して重水および活性剤溶液を浸漬した後の散乱プロファイルは強度が増加しており、浸漬によるケラチン線維の膨潤等の影響が見られていると考えられた。ここで、角層+活性剤溶液の2つの散乱プロファイルを比較すると、角層のみが軽水素で構成される SC + d-SDS/D<sub>2</sub>O よりも、角層と活性剤の SDS も軽水素できている SC + h-SDS/D<sub>2</sub>O は 0.1~2.0nm<sup>-1</sup> あたりの領域で過剰な散乱が現れていた。これは Fig. 2(a)の活性剤溶液のみの結果から、ミセル由来の過剰な散乱が膨潤した角層(ケラチン線維)の散乱に重複していることが推察された。

一方で、角層+重水(SC + D<sub>2</sub>O)と角層+活性剤溶液(SC + d-SDS/D<sub>2</sub>O)の散乱プロファイルを比較すると、ほぼ強度は同程度で、0.3~2.0 nm<sup>-1</sup> あたりの領域に複数のピークが見て取れた。この部分のピークをより詳細に調べるために、SC + D<sub>2</sub>O と SC + d-SDS/D<sub>2</sub>O のデータのみを 0.1~10nm<sup>-1</sup> の範囲を拡大したグラフが Fig. 3 である。Fig. 3 に矢印で示したように両者で近い位置にピークが観察されていた。(ただし、SC + d-SDS/D<sub>2</sub>O の最も高波数側のピークは明確ではない。)

## 2. 実験方法及び結果(つづき) Experimental method and results (continued)

Fig. 2(a)の結果より、 $D_2O$  と  $d$ -SDS/ $D_2O$  の散乱プロファイルはほぼ同じであり、 $d$ -SDS ミセルからの影響は無視できるレベルであると考えられた。そのため、Fig. 3 に矢印で示したピークは角層中のケラチン線維に由来するものと考えられた。これらのピークは干渉性の散乱であると推定している。最も低波数側のピークが、 $SC + D_2O$  で約  $0.52\text{nm}^{-1}$ 、 $SC + d$ -SDS/ $D_2O$  で  $0.45\text{nm}^{-1}$  であり、これは実空間でそれぞれ約  $12\text{nm}$ 、約  $14\text{nm}$  に相当することから、直径が約  $10\text{nm}$  程度とされるケラチン線維マイクロフィブリルの間隔の相関に由来しているものであり、重水のみよりも活性剤(SDS 3%)溶液の浸漬でケラチン線維が約 1.15 倍膨潤しているものと考えられた。また  $SC + d$ -SDS/ $D_2O$  のデータでは  $SC + D_2O$  に比べてピークがブロードになっており、高次のピークが不明瞭になっていることから、活性剤溶液処理のほうがケラチン線維がより膨潤し、その周期構造が乱れていることを示唆しているものと考えられた。

なお、今回の測定結果は、pH を未調整で実験を行った前回のトライアルユース(2012B0154)の結果とも同一であり、平衡に達した場合の膨潤量の pH 依存性はないことと、測定データの再現性に問題はないことが確認できた。

今回の実験に先立つ SPring-8 の実験では、角層+活性剤溶液の測定データにおいて Fig. 2(b)の  $SC + h$ -SDS/ $D_2O$  の散乱プロファイルと同様にミセルに由来する大きな過剰の散乱が現れており、ケラチン線維のマイクロフィブリルからのピークを判別することはできなかった。この解析的課題は X 線散乱法による実験では原理的に回避が困難であり、今回の大観での中性子散乱を用いたコントラストマッチング法の実験により、活性剤ミセルの影響を排除してケラチン線維の膨潤の評価を実現できたものと考えている。

今回、重水素化活性剤の重水溶液という全て重水素化物で構成される処理溶液を用いたコントラストマッチング法によりミセルの影響を排除できることが確認できた。しかし、世の中で一般的に利用されている様々な活性剤においては必ずしも完全な重水素化物が手に入るとは限らない。今後は、 $h$  体の活性剤を用いて溶媒である水を重水から軽水までの濃度を変化させること(コントラスト変調法)を利用してミセルの影響を排除できないかを検討したい。また、これまでの J-PARC での中性子散乱のデータと SPring-8 の X 線散乱実験のデータと比較しながら、さらに詳細な相補的な解析を検討したい。

2. 実験方法及び結果(つづき) Experimental method and results (continued)

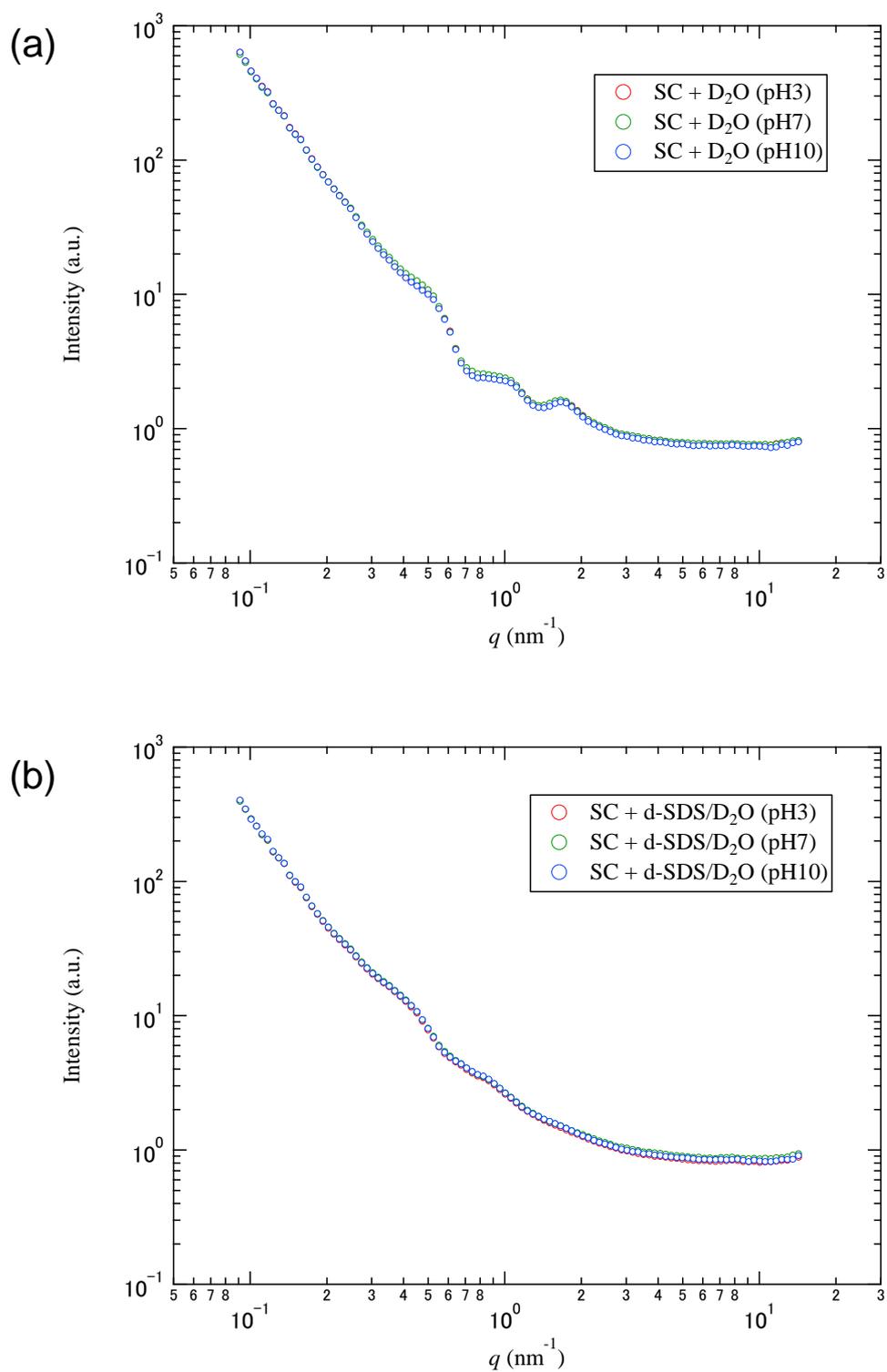


Fig. 1 SANS profiles of stratum corneum soaked with (a) heavy water (SC + D<sub>2</sub>O) and (b) surfactant solutions (SC + h-SDS/D<sub>2</sub>O and SC + d-SDS/D<sub>2</sub>O) at pH 3, 7, and 10.

2. 実験方法及び結果(つづき) Experimental method and results (continued)

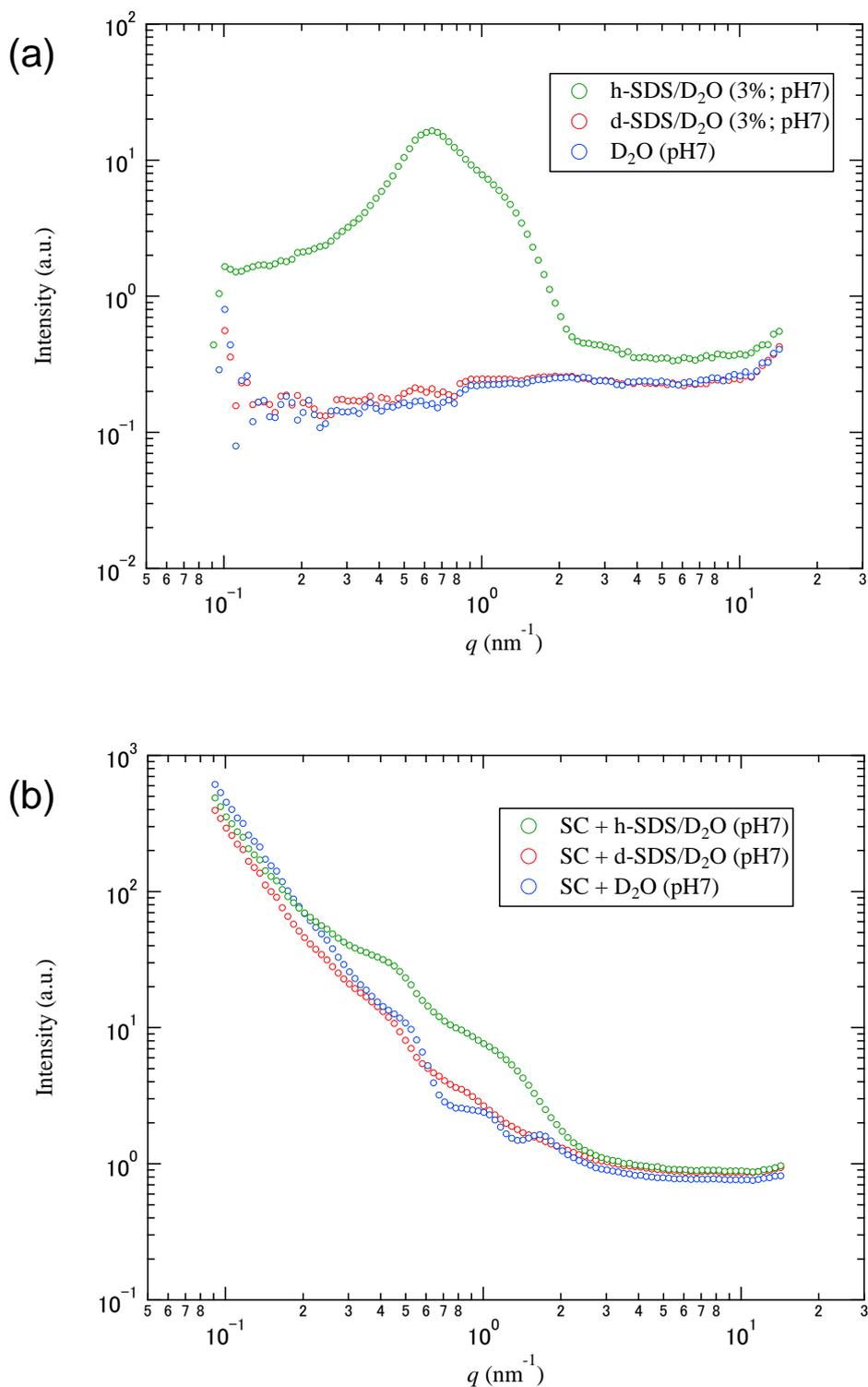


Fig. 2 (a) SANS profiles of heavy water (D<sub>2</sub>O), and surfactant solutions (h-SDS/D<sub>2</sub>O and d-SDS/D<sub>2</sub>O) at pH 7. (b) SANS profiles of stratum corneum soaked with heavy water (SC + D<sub>2</sub>O) and surfactant solutions (SC + h-SDS/D<sub>2</sub>O and SC + d-SDS/D<sub>2</sub>O) at pH 7.

2. 実験方法及び結果(つづき) Experimental method and results (continued)

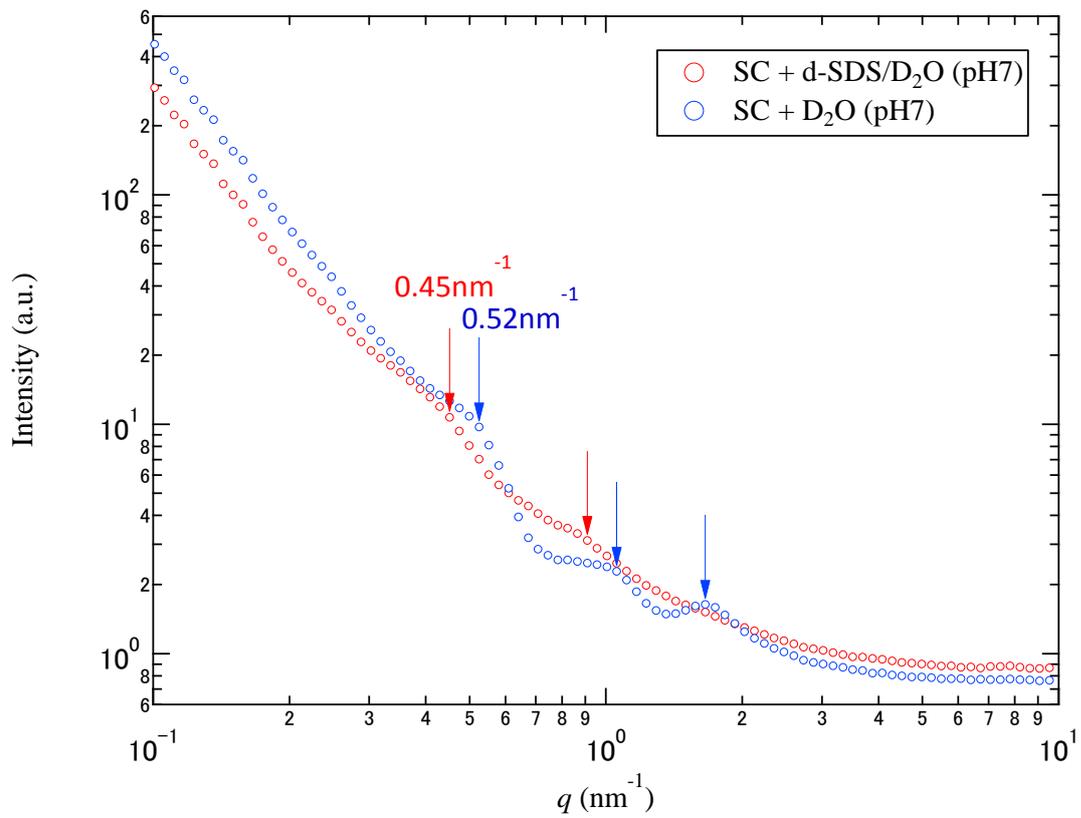


Fig. 3 SANS profiles of stratum corneum soaked with heavy water (SC + D<sub>2</sub>O) and surfactant solution (SC + d-SDS/D<sub>2</sub>O) at pH 7. Arrows indicate the peak-positions of profiles.