

## 微小ヒゲ試料・長い毛髪試料分析による体内元素濃度変化の測定

世良耕一郎、寺崎一典、佐々木敏秋

岩手医科大学サイクロトロンセンター  
〒020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢留が森 348-58

後藤祥子、齋藤義弘

日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトロンセンター  
〒020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢留が森 348-58

伊藤じゅん、二ツ川章二

日本アイソトープ協会アイソトープ部  
〒113-8941 東京都文京区本駒込 2-28-45

### 1. はじめに

我々は様々な試料に対する「無標準法」の開発を進めてきたが<sup>1-3)</sup>、それらは我々が参加している世界的環境問題解決のための研究に極めて有効であることが示されている<sup>4-6)</sup>。前号の報文集<sup>7,8)</sup> その他<sup>9)</sup>において、微小ヒゲ試料に対する「無調製・無標準法」が開発され、それが体内元素濃度変化の評価に極めて有効であるとの報告を行った。有害元素曝露問題解決のために重要なことは人体への主曝露経路の同定であるが、そのためには体内元素濃度の短期・長期的変動の測定が有益な情報をもたらす。体内元素濃度評価の方法として、血液<sup>1,3)</sup>、尿<sup>10)</sup>、爪<sup>11)</sup>、汗、涙等<sup>12)</sup>の無調製無標準分析法が開発されてきたが、これらの中では短期的体内元素濃度変化を反映する試料として尿が挙げられる。しかし尿中元素濃度は、採取時間、水分摂取との時間間隔等の要因に大きく左右され、その上高濃度のNa、Cl、K、Brの影響で連続X線のバックグラウンドが高く分析感度が悪い。そのために有意な傾向をつかむ事が困難であった<sup>9, 10)</sup>。その点で、毎日ほぼ決まった時間に1日分に相当する試料の採取が可能なヒゲ試料分析は、体内元素濃度変化の評価に最適なものである<sup>7-9)</sup>。

今回、新たに朝と夕の2回、218日間にわたりヒゲ試料の採取が行われ、無標準法に基づき定量分析が行われた。体内元素濃度の長期的・短期的変動、さらに1日の中の時間変動が調べられ、K, Cl, Naの3元素がほぼ同じ短期的・長期的変化を示すこと、水銀は数ヶ月単位の長期的変動を示し、一

方ヒ素は数日単位の短期的変化を示し、海産物の摂取との相関が見られることなど、興味深い結果が得られた。また、1日の中でも必須元素・有害元素ともに大きな時間的変動が観測され、主に代謝を反映したものであると予測された。今回は計543のヒゲ試料の分析が行われた。

しかしながら、ヒゲ試料の採取は女性や子供に対しては困難である。そのため、短期的体内元素変動を長い毛髪を用いて調べる方法が新たに開発された。2人の女性から、それぞれ20 cm、26 cmの一束(8~10本)の毛髪が採取され、毛根から正確に1 mmずつ切断され、それぞれの断片がヒゲ試料分析と同様な「無調製・無標準法」を用いて分析された。毛髪は1ヶ月に約1 cm成長することが知られており、1 mmの毛髪はおよそ3日分の成長に相当する。この方法を用い、数年間にわたる体内元素濃度変動を3日間単位で調べることが可能となる。時間単位の体内元素濃度変化を調べることが可能なヒゲ試料分析<sup>2,3)</sup>と比べて時間分解能には劣るが、3日単位の変化が分かれば食物や飲料摂取との相関は評価可能であり、毛髪分析には過去を遡って長期間の履歴を評価できるという大きな利点がある。今回は上述の二人の女性から採取された20 cm、26 cmの毛髪を1 mmずつ切断し、それぞれ260、200試料の分析を行った。これらはそれぞれおよそ20ヶ月、26ヶ月の間の体内元素濃度変化を反映する。以下にそれらの詳細が報告される。

## 2. 実験方法

### 2-1. 試料採取及び調製

ヒゲ試料は、通常の電気カミソリを用い男性Aより2006年1月27日から8月31日にかけて218日間、朝・夜の2回ずつ採取された。7月2日から3日にかけては、1日中の体内元素濃度時間変動を調べる目的で、朝の8時15分より2時間おきに深夜0時15分まで9回試料採取が行われた。

長い毛髪試料は女性Bより20 cm、女性Cより26 cmの試料が採取された(採取時期はどちらも2007年6月)。さらにヒゲ試料分析との結果を比較する目的で上述の男性Aより5.5 cmの毛髪も採取された。Target数はそれぞれ200枚、260枚、55枚となる。

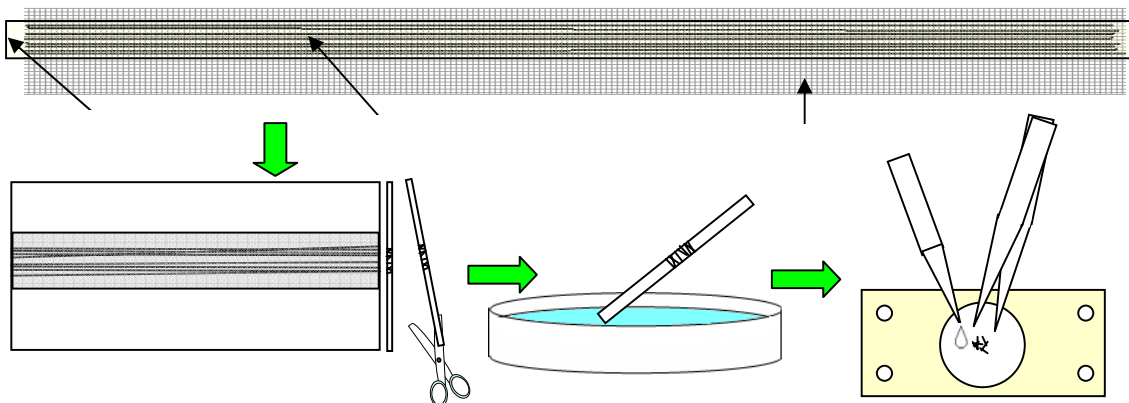


Fig.1. Procedure of target preparation for long hair samples. Firstly, a bunch of hairs cut near the root are stuck straightly onto a section paper with an adhesion tape. Then, they are cut with scissors every 1 mm together with the paper and the adhesion tape, and they are separated and washed in acetone. Finally, targets are prepared by putting pieces of hair onto a backing film and fixed with diluted collodion solution.

ヒゲ試料の調製法は報告済みである<sup>7,9)</sup>。長い毛髪試料は毛根から8~10本採取され、方眼紙に毛根側を揃え真っ直ぐスコッチテープで固定された(図1)。固定された毛髪は、ハサミを用いて方眼紙・テープごと1mmの幅で切断され、アセトン中で洗浄・及びテープ・方眼紙との分離が行われた。分離された毛髪は4 $\mu$ m Prolene バッキング膜状に、エタノールで5%に希釈されたコロジオン溶液により固定され target とされた。

## 2-2. 測定と解析

島津製作所小型サイクロトロンより引き出された2.9 MeVの陽子ビームは、グラファイト製コリメータにより6 cm $\phi$ に整形され試料を照射する。試料より発生したX線は、2台のSi(Li)検出器により同時に測定された。1台は300 $\mu$ mマイラー吸収体とともに使用され、K-K $\alpha$ 以上のエネルギーのX線を測定する。もう1台は吸収体を用いずグラファイト製コリメータにより計数率が調整され、NaからKまでの軽元素を測定する<sup>13)</sup>。得られた二つのスペクトルは解析プログラムSAPIXにより解析された<sup>13,14,15)</sup>。

## 3. 寸断されバッキング膜状に貼りつけられた毛髪試料に対する無標準法

無標準法のための変換係数決定までの手順は、過去に他の生物試料に対して行われたものと基本的に同様である<sup>1-3)</sup>。長い毛髪試料をそのまま測定する場合は、self support となるため連続X線は試料のみから発生するが、支持膜や固定するためのコロジオンが存在する場合、それらから発生する連続X線の寄与を差し引かなければならない。しかしその方法は、前回に報告を行った粉末状ヒゲ試料の場合と全く同様<sup>7,9)</sup>であり、詳細は文献7、9を参照されたい。

## 4. 結果と議論

### 4-1. ヒゲ試料分析結果

まず、男性Aから連続的に採取されたヒゲ試料の分析結果を示す。試料は2006年1月27日より8月31日まで連続218日間にわたり、朝8:15と夜22:00分前後の2回ずつ採取され、さらに1日における時間経過観察の為に、7月3~4日にかけて朝8:15より2時間おきに翌日の0:15まで9試料が採取された。全試料数は543試料、試料の量は0.3 mg以下である。

最初に朝と夜の差異について検討を行った。図2に朝・夜採取されたヒゲ試料それぞれの218日間にわたる平均値と標準偏差を比較して示す。平均値には元素によっては若干の差異が見られるが、標準偏差を考慮すると有意な差とは言えない。そのため今後の議論は朝・夜を平均し1日単位で行うこととする。

図3に主要10元素に対する218日間の濃度変化を比較して示す。主成分であるSは殆ど変動が無く、同じく主成分のZnには数週間単位のごく小さな変動が見られる。一方、Na、Cl、Kの三元素は非常に類似した短期的・長期的変化を示していることが分かる。同様な振舞いを示す元素は他に見られず、これら三元素のみに類似性が見られる。このことから、これらの元素は体内で大部分がKCl、NaClとして存在しているため、挙動を共にしていることが分かる。Mg、Si、Caは特定の数ヶ月周

期の変動を示し、Brはある種の季節的変動を示しているように見うけられる。Cuは3月末から4月にかけてその濃度が3倍になるなど、急激な変化を示している。図4には27元素の1月27日から2月20日までの短期間の変動を示すが、上記Na、Cl、Kの三元素の短期的振舞いが酷似していることが再確認できる。

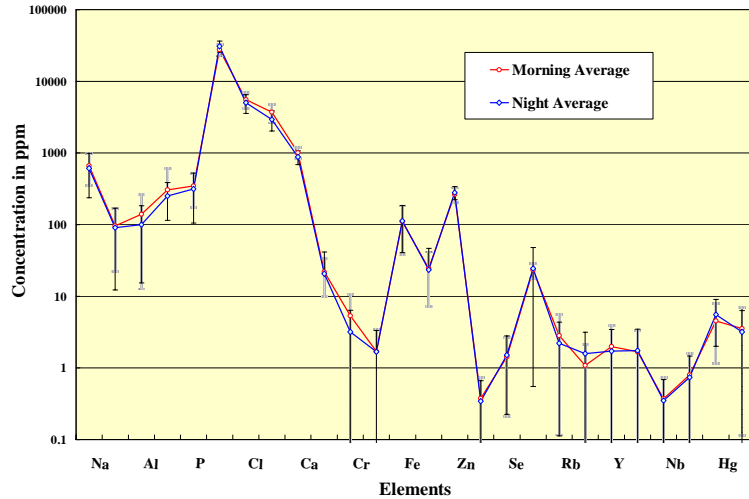


Fig.2. Average values and their standard deviations of elemental concentration in beard samples taken in the morning and at night over successive 218 days.

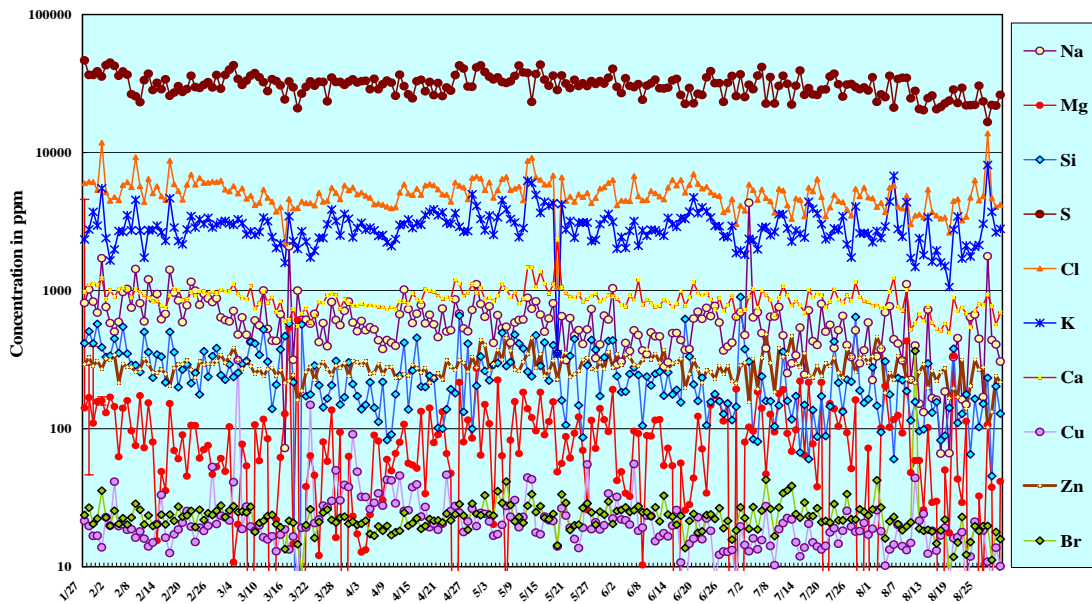


Fig.3. Daily changes of elemental concentration of 10 principal elements in beard samples taken over successive 218 days.

図5に上記3元素を除く主要6元素の変動を示す。曲線はおよその傾向を分かりやすく示したものであり、各元素とも数ヶ月単位の長期的変動を示す一方、Cu、Caなどは数日単位の急激な増加も示している。

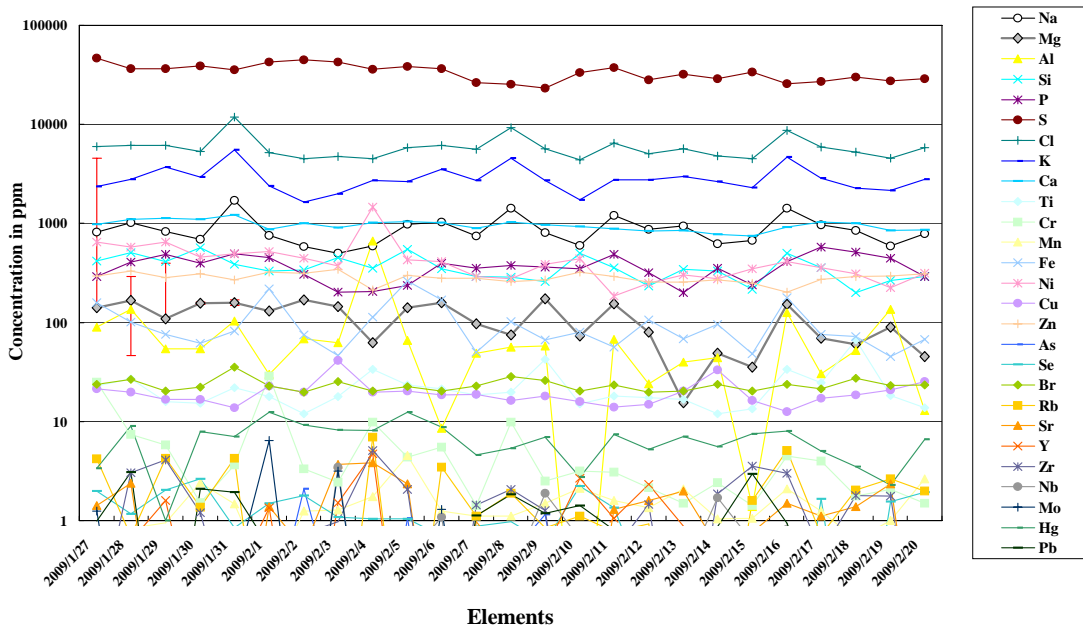


Fig. 4. Daily changes of elemental concentration of 27 elements in beard samples taken everyday from 1/27 to 2/20.

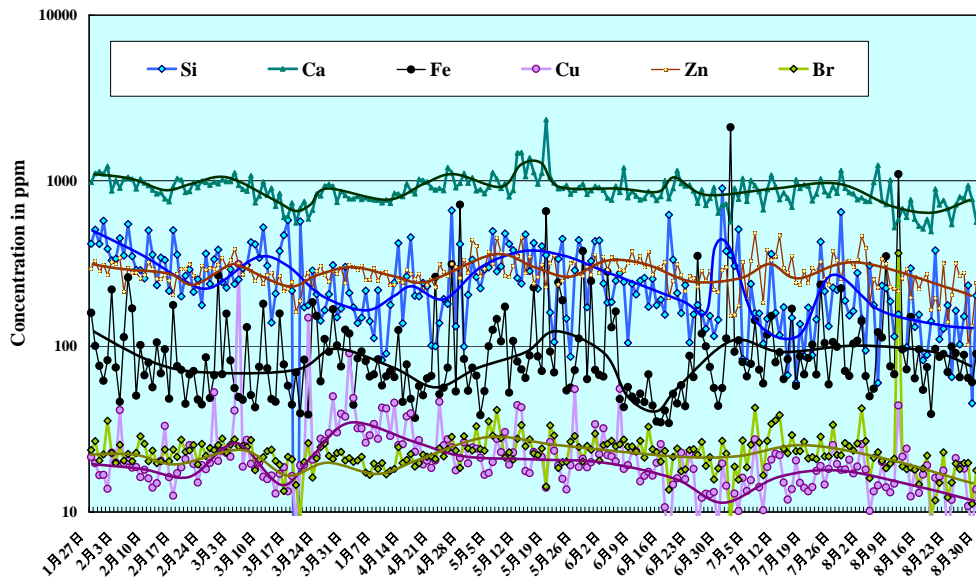


Fig. 5. Daily changes of elemental concentration of 6 principal elements in beard samples taken over successive 218 days, where colored curves were drawn for eye guide.

図 6 には有害元素を含む 6 種の微量元素の結果を示す。Al 濃度は 3 月中旬から急激な増加を示し、また 8 月に向かって徐々に減少する傾向を見せている。Ti は 5 月にゆっくりとした上昇を示し、およそ 1 ヶ月の間高値を保っている。この中で広域的环境汚染において大きな問題となる Hg と As に注目しよう。水銀の La ピークは Zn-Kβ と重なるため、その分離において大きな実験誤差を伴うこと

もあり、大きなばらつきを見せている。しかし長期的には数ヶ月単位の変動を示しており、これは体内 Hg の長い生物学的半減期を反映している。それに対し As の実験誤差は小さく、その濃度は数日単位の速い変動を示すことが分かる。一旦その濃度が上昇すると 2 桁ほどの上昇となり、2~3 日かけてもとの値に下がっていく傾向が見られる。これは、As は腎機能により尿中に排泄されるため、その生物学的半減期が短い、と言う事実に対応している。

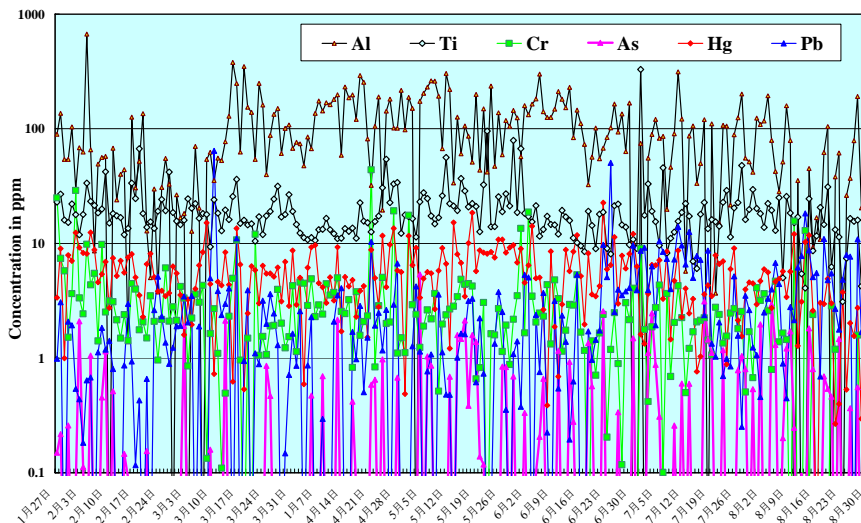


Fig. 6. Daily changes of elemental concentration of 6 trace elements including toxic ones in beard samples taken over successive 218 days.

主にヒ素の短期変動を見るために、微量 5 元素について 5/10~5/24 の期間内の変動を示したのが図 7 である。ヒ素濃度は通常 0.01 ppm のオーダーであるが、非周期的に 1 ppm 以上まで濃度が上昇し、2~3 日でまた減少する。これまでの観察により、ヒ素を多く含む海藻・魚介類を多く摂取すると 1~2 日後にヒゲ中砒素濃度が上昇することが確認されている。この男性 A はこの期間、5 月 13 日と 17 日に寿司、手巻寿司を多量に摂取しており、そのため砒素濃度上昇が 1 週間ほど続いたものと思われる。

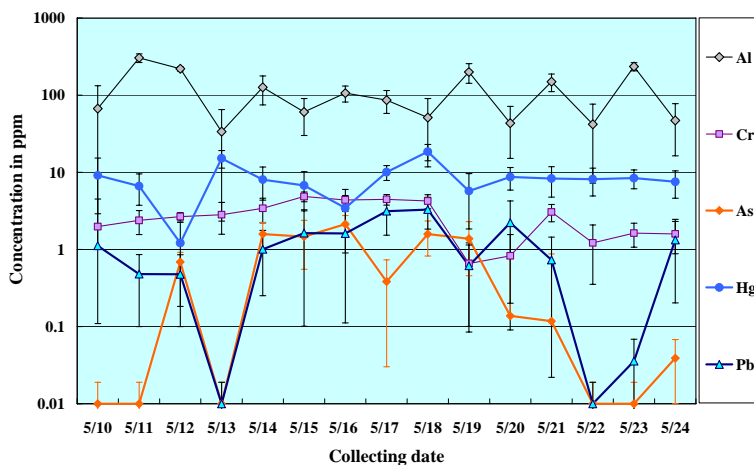


Fig. 7. Short-term changes of elemental concentration for five trace elements from 10 to 24 May.

図 8-a, b) に 7 月 2 日朝 8:15 から 7 月 3 日 0:15 分まで 2 時間おきに 9 回にわたり採取されたヒゲ試料の分析結果を示す。図中には、7 月 1 日夜と 7 月 3 日朝の結果も合わせて示されている。図 8-a) は主元素に対する結果であるが、主成分の S、Zn がほぼ一定であるのに対し、Na、Si などが大きな時間依存性を見せている。Si、Mg、Cu、Cl など、夕刻に最大値を示す元素が多く見られる。図 8-b) は有害元素を含む微量元素の結果であるが、Ti などが大きな時間依存性を見せている。これらの非常に短期的な変動は、摂取よりも主に人体の代謝機構を反映しているものと推測される。

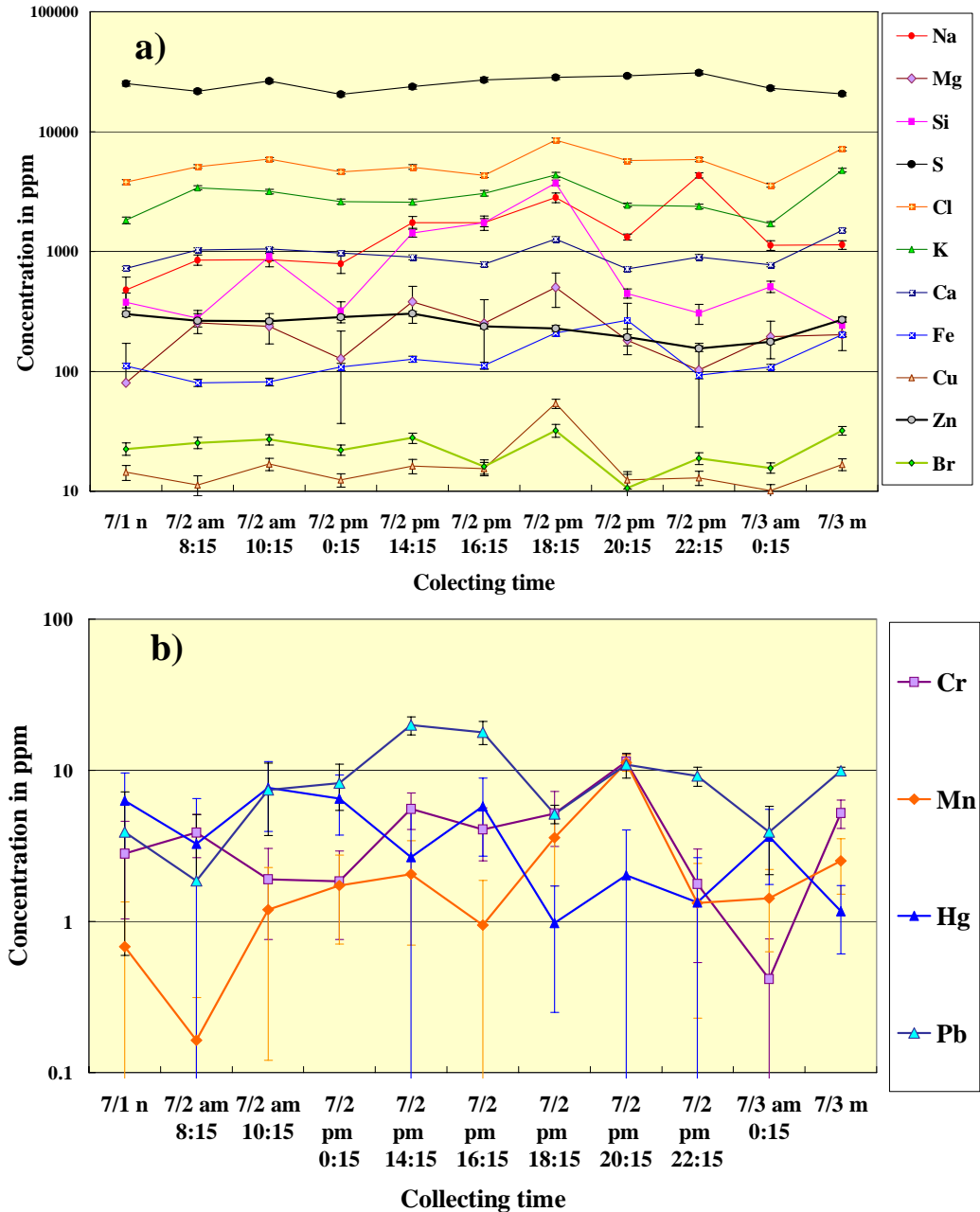


Fig. 8. Changes with passage of time for principal (a) and trace (b) elements

これらの結果から、ヒゲ試料分析は体内元素濃度の数ヶ月単位の長期的変化から、数日単位の短期的変化、さらには時間単位の超短期的変動を良く反映することが確認された。2 時間おきに採取されるヒゲ試料は 1 mg 以下のことが多く他の方法では定量分析が困難であるが、本無標準法を適用することにより十分に定量的評価が可能となった。本法のこれらの特徴は、有害元素による広域的環境汚染の国際的研究において特に主曝露経路の同定を行うために極めて有利であり、本法が人民の被害を軽減するための強力なツールとなり得ることを示している。

#### 4-2. 長い毛髪試料分析結果

本研究において試料を提供した男性 A は特にヒゲが濃いわけではないが、無標準法に基づけば 1 日分で数百枚のターゲットを作成することが可能なほどの試料採取ができる。そのためかなりヒゲの薄い男性でも、問題無く本法の適用が可能と思われる。ヒゲ試料は男性からのみ採取可能であり、女性や子供からの採取は一般的には困難であるが、本法は極めて微量試料の定量分析を可能とすることから、ヒゲ以外の頭髪などの体毛を用い、経日変化の測定を行うことは不可能ではない。しかし試料採取がやや困難になることが予想されるため、今回、性別を問わず採取可能な長い毛髪試料において、どの程度の短期的変動が測定可能なのか検討を行うこととし、上記の方法（「試料採取及び調製」参照）を開発した。以下にその結果を示す。

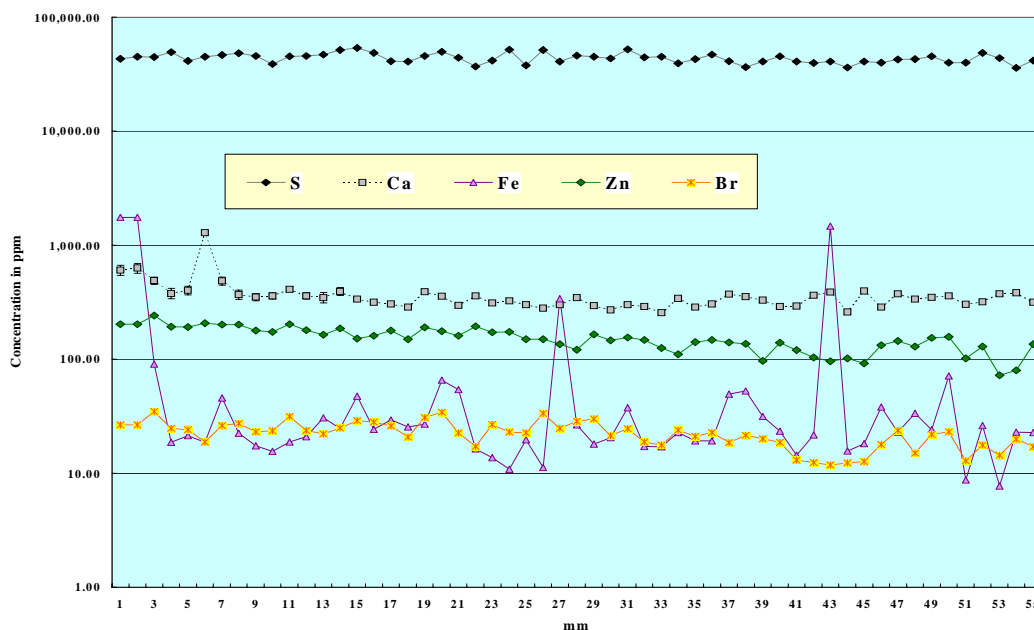


Fig. 9 Daily changes of elemental concentration of 5 principal elements in 55 mm-long hairs taken from the same person from whom the beard samples were taken. For hair sample, 55 mm length corresponds to nearly 165 days.

図 9 に、ヒゲ試料と同一人物（男性 A）から採取した 55 mm の毛髪試料の結果を、5 主要元素に対して示す。数カ所で Fe の急激な上昇が見られるが、これは試料調製過程におけるコンタミの可能性が高い。S は殆ど一定で、Br は小さな季節変動を見せるなど、ヒゲ試料と同様な傾向が見うけられる。横軸は毛髪の根元からの距離であり、時間の経過はひげの場合と反対に右から左へと向かって



いる。毛髪 55 cm は、およそ 165 日間に相当する。図 10 には As と Hg の結果を示す。Hg がゆっくりとした変化を示すのに対し、As が数日単位の急激な上昇を見せるなど、ヒゲ試料の場合とほぼ同等な結果が得られた。ヒゲ試料と比べ若干 As 濃度の上昇期間が長いのは、個々の毛髪の成長速度が必ずしも同一でないことにより、多少時間分解能が悪くなることを反映するものと解釈できる。

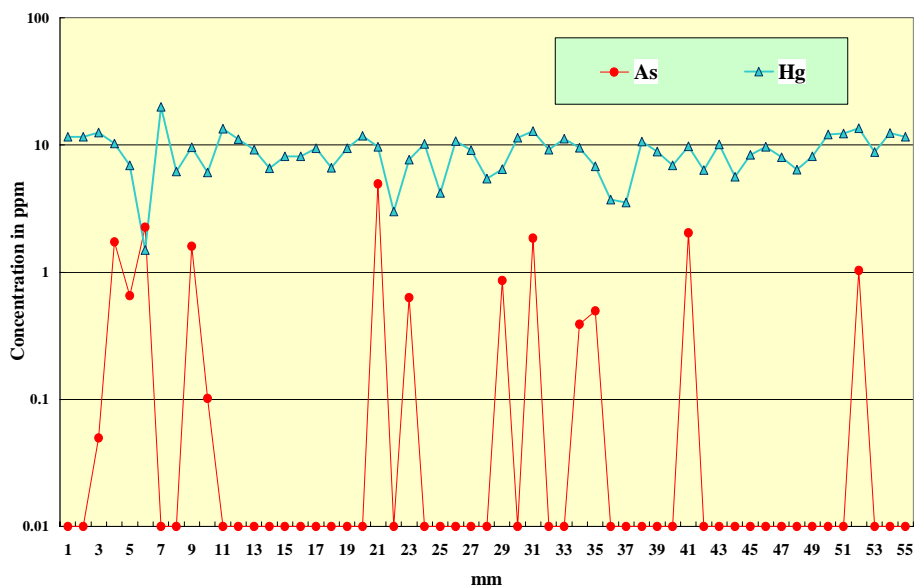


Fig. 10 Same as Fig. 9 but for As and Hg.

図 11 には女性 B から採取された 20 cm の毛髪の結果を、主要 6 元素に対し示す。およそ 600 日間の体内元素濃度変動履歴を表すものと期待される。上記ヒゲ・頭髪試料のいずれの結果もそうであったように、主成分の S 濃度はほぼ一定している。それに対し Zn 濃度はこの女性の場合長期的に緩やかに上昇する傾向が見られる。Fe は長期的・短期的変動をともに示し、Br には季節的変動があるように見うけられる。また Ca は徐々に減少し、2 ヶ月ほど以前に急激な減少を見せているが、同族である Sr も全く同様な振舞いを示している。図 12-a, b には有害元素中 Cr、Pb (a) と、Hg、As (b) の結果を示す。Cr は明確な長期的変動を見せていないが、週単位の激しい短期的変動を示す。一方 Pb は実験誤差のためばらつきが大きいですが、前半の 300 日間で 1 桁近く連続的に濃度を減少させ、その後はほぼ一定の値を維持している。Hg は男性 A のヒゲ・頭髪試料の結果と同様に長期的変動のみを示し、As は数日単位の激しい変動を見せている。

図 13 には女性 C より採取された 26 cm の毛髪の結果を主要 6 元素に対して示す。ターゲット数は 260、ほぼ 780 日間にわたる体内元素濃度変化を示すものと期待される。S はほぼ一定、Zn は最初の 6 ヶ月間で減少を続け、その後 300 ppm 弱の一定値を保っている。Br は冬の期間増加し、夏期間に減少する季節的変動を見せており、Ca は連続的に減少しつづけ Sr も全く同様の振舞いを見せるなど、女性 B と同様な結果が得られた。図 14-a, b には有害元素中 Cr、Pb (a) と、Hg、As (b) の結果を示す。Pb はこの期間中減少傾向にあるが、最後の 50 日間で急激に増加する傾向が見られている。それに対し Cr はある種の長期的変動と、激しい短期的変動を見せている。Hg は長期的変動を、As は数日単位の激しい変化を見せていることは、これまでの結果と全く同様である。

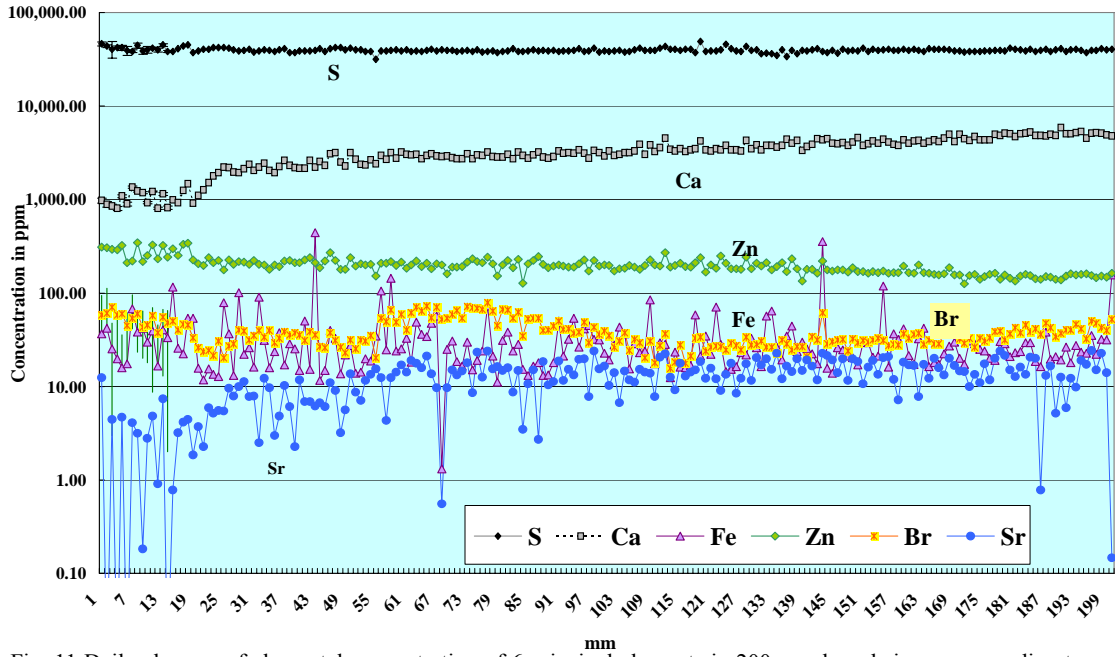


Fig. 11 Daily changes of elemental concentration of 6 principal elements in 200 mm-long hairs corresponding to nearly 600 days taken from female B.

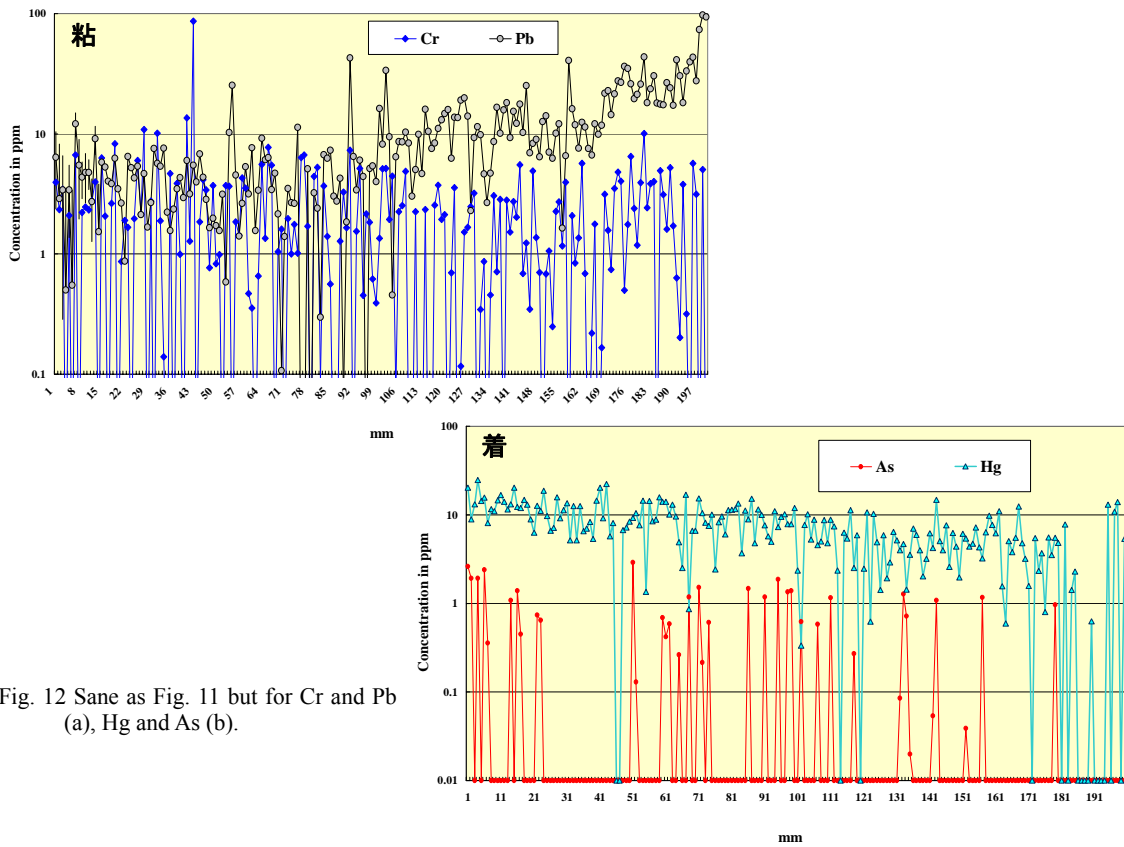


Fig. 12 Same as Fig. 11 but for Cr and Pb (a), Hg and As (b).

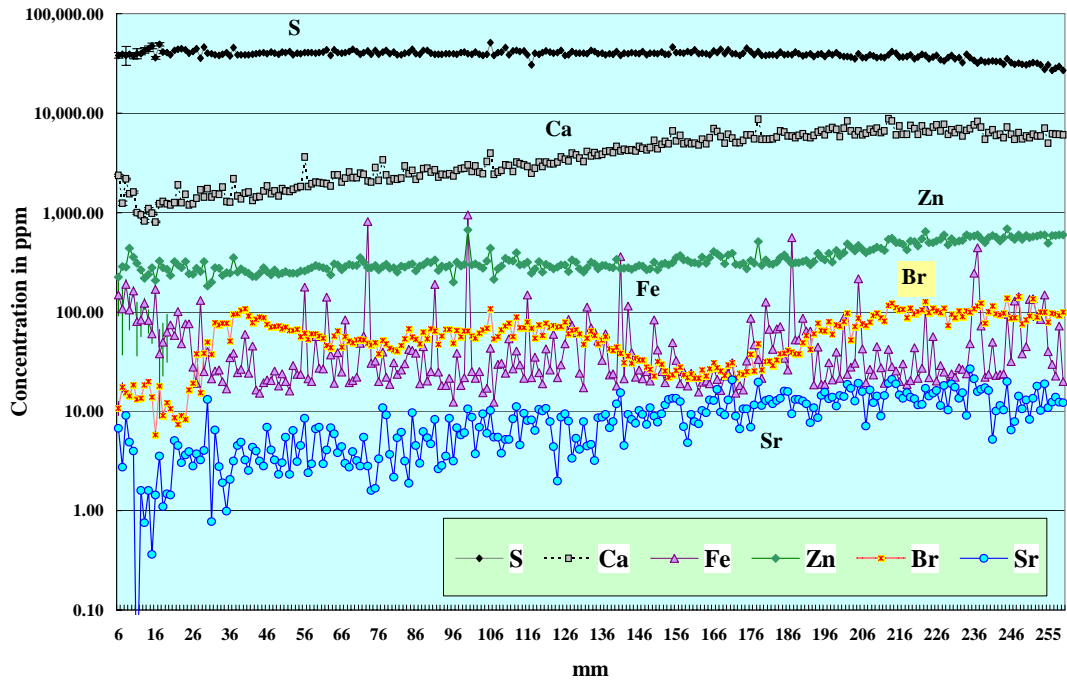


Fig. 13 Same as Fig. 11 but for 26 cm-long hair sample taken from female C.

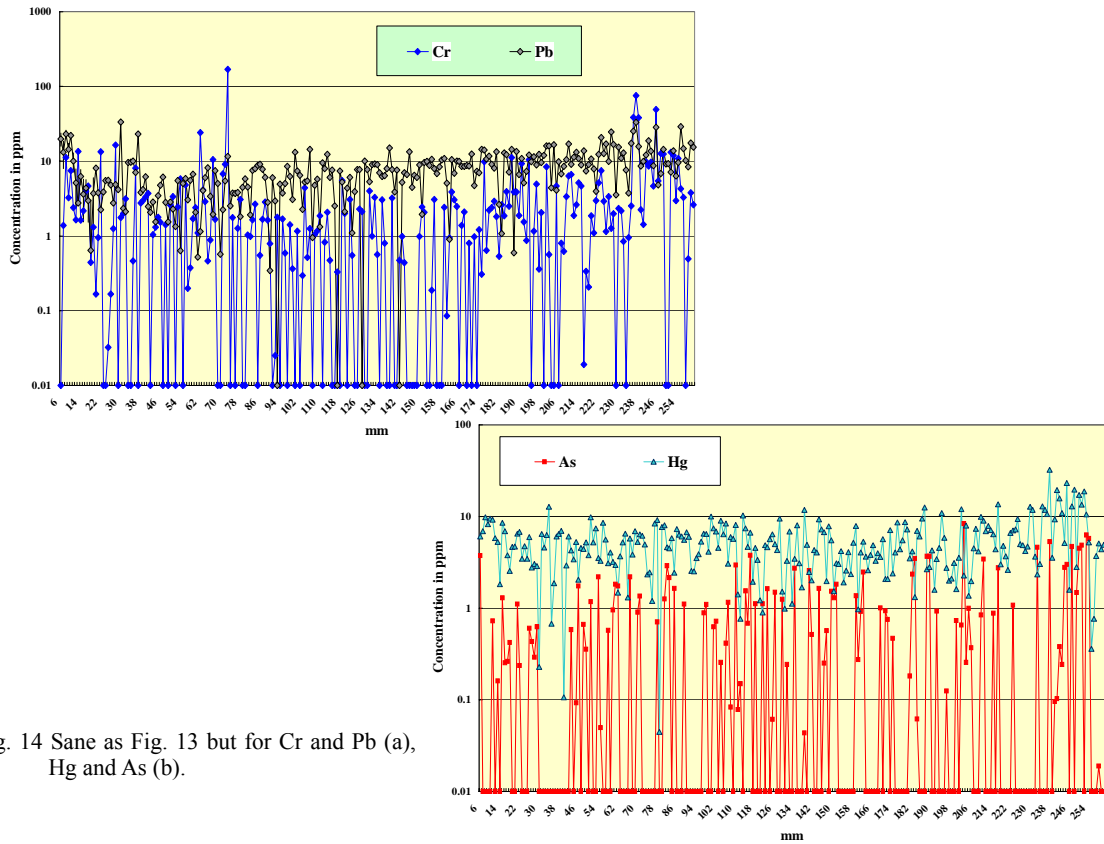


Fig. 14 Same as Fig. 13 but for Cr and Pb (a), Hg and As (b).

これらの長い毛髪の結果から、長い毛髪を1 mm ずつ寸断して無標準法により測定する本法は、毎日採取されるヒゲ試料とほぼ同等の結果を与えることが確認された。本法により、女性や子供に対しても、体内元素濃度変動を3日ほどの分解能で測定することが可能となる。ヒゲ試料ほどの短期的変動評価は難しいが、日々採取しなければ体内元素濃度変動を評価できないヒゲ試料と比べ、長い毛髪を一回採取することにより、過去に遡って数年間の体内元素濃度変動の履歴を評価できるというメリットが頭髪分析にはある。マイクロビームを用い、1本の毛髪に対し数10 µm単位でスキャンを行うことによりさらに短期的変動を測定することは可能だが、マイクロビーム PIXE の感度では、Hg、Pb、Asなどの有害元素濃度変動を測定することは難しいと思われる。本研究においては、採取する頭髪の本数を増やすことによりさらに感度の改善が期待される。

## 5. まとめ

前巻の報文集<sup>7,8)</sup>において報告を行ったヒゲ試料定量分析法、及びそれを応用した体内元素濃度変動評価法に基づき218日間に渡り採取されたヒゲ試料の分析が行われ、体内における各元素の生物学的半減期と食物・飲料摂取を反映した各元素濃度変動の振舞いが観測された。S、Znは殆ど一定値を保ち、他の主要元素は数ヶ月単位の長期的変動を主に示すが、数日単位の速い応答も観測された。またNa、Cl、Kの三元素はほぼ同様な短期的変動を示し、これらの元素が体内では主にKCl、NaClとして存在するために濃度変化に相関があることが確認された。有害元素に関しては、Hgはその長い生物学的半減期を反映してゆっくりとした長期的変動を示し、一方ヒ素は2~3日単位の激しい上昇・下降を繰り返すことが確認された。さらにヒ素濃度の上昇は、多量の海産物摂取に明らかに対応し、摂取後約2日でヒゲ中のヒ素濃度の上昇が観測された。さらに本法は時間単位の体内元素濃度変動を可能にすることが確認され、1日の中でも多くの元素が予想以上に大きな時間的変動を示すことが判明した。この速い応答は、人体の代謝機構そのものを反映しているものと推測される。

女性・子供に対しても体内元素濃度変動の評価を行うために、長い毛髪試料を採取し1 mm ずつに分断し無標準法で定量分析を行う方法が新たに開発された。その方法は二人の女性から採取された20 cm、26 cmの毛髪試料に適用され、元素濃度の長期的・短期的変動が調べられた。その結果、ヒゲ試料同様、体内元素濃度変動の評価が十分に可能であることが示された。1日単位の変動を測定することは本法においては難しいが、約3日単位の短期的変動を評価することが可能であり、ヒ素などの速い変動をヒゲ試料と同様に観測することができた。

これらの方法は、有害元素による広域的環境汚染の問題において、人民の体内曝露の主経路を評価する上で強力なツールとなり得るものと期待される。

## 謝辞

共同利用の円滑な運営のために日々献身的な働きをしておられる日本アイソトープ協会 NMCC のスタッフの方々、及び岩手医大サイクロトロンセンターのスタッフに謝意を表します。

## 参考文献

1. K. Sera, S. Futatsugawa, K. Matsuda and Y. Miura, "Standard-free method of quantitative analysis for bio-samples", *Int'l Journal of PIXE* Vol.6, No.3, 4 467-481 (1996)
2. K. Sera, S. Futatsugawa and K. Matsuda, "Quantitative analysis of untreated bio-samples", *Nucl. Instr. and Meth.* B 150 226-233 (1999)
3. K. Sera, S. Futatsugawa S. Hatakeyama, Y. Saitoh and K. Matsuda  
"Quantitative Analysis of Bio-medical Samples of Very Small Quantities by the Standard-free Method.", *Int'l Journal of PIXE* Vol. 7-3, 4 157-169 (1997)
4. M. A. Habib, S. Miono, K. Sera and S. Futatsugawa, " PIXE analysis of hair in arsenic pollution, Bangladesh", *Int'l Journal of PIXE* Vol.12, No.1, 2 19-34 (2002)
5. S. Murao, E. Daisa, K. Sera, V. Maglambayan and S. Futatsugawa, " PIXE measurement of human hairs from a small-scale mining site of the Philippines", *Nucl. Instr. and Meth.* B189 168-173 (2002)
6. Clemente, E., Sera, K., \*Futatsugawa, S. and \*Murao, S , "PIXE Analysis of Hair Samples from Artisanal Mining Communities in the Acupan Region, Benguet, Philippines.  
*Nucl. Instr. and Meth.* B219-220 161-165 (2004)
7. 世良耕一郎、寺崎一典、伊藤じゅん、齋藤義弘、二ツ川章二, “微少ヒゲ試料に対する無標準法の開発-有害元素人体暴露評価の目的で-“, NMCC 共同利用研究成果報文集 第13巻, 141-145 (2006)
8. 世良耕一郎、佐々木敏秋、伊藤じゅん、齋藤義弘, “微少ヒゲ試料分析による体内元素濃度経日変化の評価“, NMCC 共同利用研究成果報文集 第13巻, 100-110 (2006)
9. K. Sera, J. Itoh, Y. Saitoh and S. Futatsugawa, “Daily Changes of Elemental Concentration in a Human Body over 218 Days Obtained by Quantitative Analysis of Beard Samples.” Proceedings of the 6<sup>th</sup> International Conference on PIXE and its Analytical Applications, D5 1-4 (2007)
10. K. Sera, S. Futatsugawa and Y. Miura, "Application of a Standard-free Method to Quantitative Analysis of Urine Samples", *Int'l Journal of PIXE* Vol. 11 , No.3, 4 149-158 (2001)
11. K. Sera, S. Futatsugawa, S. Murao and E. Clemente  
"Quantitative Analysis of Untreated Nail Samples for Monitoring Human Exposure to Heavy Metals.", *Int'l Journal of PIXE* Vol. 12 , No.3, 4 (2002) 125-136
12. K. Sera, K. Terasaki, J. Itoh, Y. Saitoh, S. Futatsugawa and Y. Miura, “Standard-free Method for Body Fluid Samples such as Saliva, Sweat, Snivel and Tear.”  
*Int'l Journal of PIXE*, Vol.15, No. 1, 2 47-57 (2005)
13. K. Sera, T. Yanagisawa, H. Tsunoda, S. Futatsugawa, S. Hatakeyama, Y. Saitoh, S. Suzuki and H. Orihara., "Bio-PIXE at the Takizawa facility (Bio-PIXE with a baby cyclotron)", *Int'l Journal of PIXE* Vol. 2, No.3 325-330 (1992)
14. K. Sera and S. Futatsugawa, “Personal Computer Aided Data Handling and Analysis for PIXE.”  
*Nucl. Instr. and Meth.* B 109/110 (1996) 99-104
15. K. Sera and S. Futatsugawa,  
“Spectrum Analysis Taking Account of the Tail, Escape Functions and Sub-lines. (SAPIX version 4)”  
*Int'l Journal of PIXE*, Vol.10, No. 3, 4 101-114 (2000)

## Daily changes of elemental concentration in a human body over a long period obtained by quantitative analyses of beard and hair samples

K. Sera, K. Terasaki and T. Sasaki

Cyclotron Research Center, Iwate Med. University  
Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

S. Goto and Y. Saitoh

Nishina Memorial Cyclotron Center, Japan Radioisotope Association  
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

J. Itoh, S. Futatsugawa

Radioisotope section, Japan Radioisotope Association  
348-58 Honkomagome, Bunkyo, Tokyo 020-0173, Japan

### Abstract

Beard samples were taken from a person in the morning and at night over successive 218 days, and 543 samples were analyzed in total by means of a standard-free method developed by us and reported in the previous paper. Concentration changes with passage of time in a day were also studied. As a result, both short-term and long-term changes have been observed reflecting the changes of elemental concentration in a human body, and their correlation with the food intakes is investigated. It is found that concentrations of sodium, potassium and chlorine show the same trend both in short- and long-term changes, which indicates that they mostly exist in the chemical forms of NaCl and KCl in a human body. Difference of elemental concentration between the beard samples collected in the morning and at night is also discussed. It is found that the standard-free method for beard samples is quite useful for investigating daily changes of elemental concentration in a body.

In order to estimate daily changes of elemental concentration in a body for women and children, a new method which allows us to perform quantitative analysis of small hair samples cut into 1 mm pieces has been developed and applied to long hair samples taken from three persons. It is found that it enables us to estimate both long- and short-term changes in elemental concentration in a body in the same manner as in the case of beard analysis. These methods are expected to give us information about the pathways of human exposure to toxic elements.

*Keywords* : PIXE, Beard, Long Hair, Quantitative analysis, Changes in concentration, Standard-free method, Human body, Toxic element