

2週間 23時間/日 アセトアルデヒド全身曝露試験 目次

| | | |
|--------------------------------|----------------------|----------|
| 2週間 23時間/日 アセトアルデヒド全身曝露曝露試験の構成 | Table3-1 | P10 |
| 曝露試験標準作業手順書 | | P11-29 |
| アセトアルデヒドガス濃度測定チェックリスト | | P30 |
| アセトアルデヒドガス発生装置のチェックリスト | | P31 |
| アセトアルデヒドガス曝露チャンバー | Fig. 3-1 | P32 |
| アセトアルデヒドガス発生装置 | Fig3-2~9 | P33-40 |
| アセトアルデヒドガス濃度測定 | Fig3-10~15 | P41-46 |
| アセトアルデヒド曝露による体重変化 | Fig3-16 | P47 |
| アセトアルデヒド曝露による血中アセトアルデヒド濃度 | Table3-2 | P48-49 |
| アセトアルデヒド曝露による外的所見 | Fig3-17 | P50 |
| アセトアルデヒド曝露による肉眼的病理所見 | Fig3-18 | P51 |
| アセトアルデヒド曝露による病理標本を作製した部位 | Fig3-19~20 | P52-53 |
| アセトアルデヒド曝露による組織病理所見 | Table1, FigI-1~VII-6 | P54-100 |
| アセトアルデヒド曝露による尿中 8-OHdG 量変化 | Fig3-21~22 | P101-102 |

全身曝露 23hr/day 14days

動物: 同程度の体重、15週齢

0ppm

C57BL/6 crj(*Aldh2* +/+) 雄 10匹

Aldh2 -/- 雄 10匹

500ppm

C57BL/6 crj(*Aldh2* +/+) 雄 10匹

Aldh2 -/- 雄 10匹

125ppm

C57BL/6 crj(*Aldh2* +/+) 雄 7匹

Aldh2 -/- 雄 7匹

Table. 3-1 アセトアルデヒドガス2週間曝露試験の構成

2週間アセトアルデヒド全身曝露実験 作業標準手順書

0. 衛生学教室7Fからの準備品

毎回持っていくもの

アイスボックス：アセトアルデヒド、アセトアルデヒド廃棄用瓶

DNPH管：最低2本+予備2本

アセトアルデヒド検知管（92, 92M）

はさみ

適宜持っていくもの

窒素ガスボンベ：2日で1本消費する。

ビニルテープ

曝露実験の毎日の作業のスケジュール

8:45 7F衛生学カンファに集合

準備

8:50 出発

曝露室

準備室

9:00

終了前濃度測定

動物取り出し

センサ記録

センサ取替え

アセトアルデヒド交換

センサ再起動

尿採取

マーキング

体重測定

ケージ交換

9:40

動物再投入

ガス、センサの安定化（最低15分）

9:55

開始前濃度測定

調整

再測定

開始

10:00 作業終了予定、かたづけ

1. 曝露交換前の濃度測定

1.1. 準備、気温湿度の記録

- 1.1.1. 発生装置、曝露チャンバー、吸引ポンプ、マウスの様子を概観して異常のないことを確認する。異常を認めた場合、その内容をノートに記入する。
- 1.1.2. チャンバー内温度・湿度をノートに記録しておく。
- 1.1.3. 温度湿度が前日開始時と同じ場合、アセトアルデヒドセンサ記録紙上 3-5 ミリの低下が観察される。濃度変化の目安として異常のないことを確認する。(大きな上昇低下は湿度上昇低下を反映している)
- 1.1.4. 接続ガラス管、検知ポンプ、検知管 (型番 92 高濃度用)、DNPH 管を手元に準備する。
- 1.1.5. DNPH 管、および袋に通し番号を記入する。
- 1.1.6. 検知管の両端を開口しておく。

1.2. 脱気

- 1.2.1. 検知ポンプにガラス管を接続する。このとき接続用ガラス管を検知ポンプに押し込みすぎない。検知ポンプの流量調節弁が破損し正しく測定できなくなる。
- 1.2.2. 三方活栓を開く。このとき三方活栓をしっかり保持し両手を使って操作する。片手で操作すると三方活栓が開いてなかったり、ゴム栓が外れたり、チャンバー内チューブを脱落させるなどのトラブルを起こす。
- 1.2.3. 検査用穴のゴム栓が外れていないか？チャンバー内の吸引チューブが外れていないか確認する。
- 1.2.4. 100mL を三回吸気し、検査用チューブ内の空気を排出する。このとき、排気にアセトアルデヒド臭がすることを確認する。臭いがしていない、あるいは極端に薄い場合は、三方活栓が開いていない、測定部位ゴム栓が外れている、チャンバー内アセトアルデヒド濃度が薄いなどの原因が考えられる。測定前に測定系流路の問題かチャンバー内濃度の問題か把握する。
- 1.2.5. 検知ポンプ、接続ガラス管を検知ポンプから外す。このときシリコンチューブは折り曲げて押さえておく。チャンバー内は陰圧なのでシリコンチューブを押さえていないとチューブ内に空気を引いてしまい、アセトアルデヒド濃度が実際よりも薄く測定されてしまう。

1.3. 検知管測定

- 1.3.1. 検知ポンプの排気を行っておく。
- 1.3.2. 検知管をシリコンチューブに両手でまっすぐ、かつ十分差し込む。不十分な接続はエアリークを生じ濃度が実際よりも薄く測定される。片手での操作、斜めの差し込みはシリコンチューブを傷つけチューブに穴を生じエアリークを起こす。接続時シリコンチューブは折り曲げたままにしておく。
- 1.3.3. 検知管を検知ポンプに差し込む。このとき接続用ガラス管を検知ポンプに押し込みすぎ

ない。検知ポンプの流量調節弁が破損し正しく測定できなくなる。逆にゆるすぎるとエアリークを生じる。

- 1.3.4. シリコンチューブ折り曲げを外した後、流路をまっすぐに保ち 1 回目の 100mL 吸気を直ちに行う。このとき検知ポンプの吸引はゆっくり行う必要はないが、一定速度で行う。
(あまりに急激な吸気はエアリークを生じやすいので避けること)
- 1.3.5. およそ 2 分間静置。ポンプが戻らないことを確認し、ポンプは外さずに排気する。(排気は廃棄弁を通じて出るので測定に影響しない。)
- 1.3.6. 2 回目の 100mL 吸引を行う。(合計 200mL 吸気)
- 1.3.7. およそ 2 分間静置。ポンプが戻らないことを確認し、濃度読み取り。目盛りが均等でないので読み取り方に注意する。変色域が水平でないときの読み取り方などは添付説明書に記載してある。
- 1.3.8. 測定値をノートに記入。
- 1.3.9. シリコンチューブを折り曲げ押さえながら、検知管および検知ポンプを外す。

1.4. DNPH 管測定

- 1.4.1. 検知ポンプを排気しておく。
- 1.4.2. DNPH 管の両端のふたを外す。(測定周囲のアセトアルデヒドを吸着しないようにふたは直前まで外さない)
- 1.4.3. シリコンチューブに DNPH 管の細口部を接続。
- 1.4.4. 検知管に DNPH 管の太口部を接続。
- 1.4.5. 1 分程度かけゆっくり 50mL 吸気する。(検知管と異なり内部に抵抗構造がないので早く吸気すると破過してしまう。)
- 1.4.6. 検知ポンプ、DNPH 管をはずし、三方活栓を両手で丁寧に閉める。
- 1.4.7. DNPH 管は直ちに密栓し、冷暗所に保存する。(開封した袋に戻し、教室冷蔵庫の指定場所に保存)

2. 動物取り出し

曝露チャンバーより動物を取り出し準備室に持っていく。作業中はマウスの逃亡を防止するため準備室のドアを必ず閉める。(文科省 DNA 組み換え実験指針)

2.1. マーキング塗り替え

マーキングによる個体識別番号は、若い順に黒、赤、青、無印の順としている。さらに同一色中で横 1 本線、横 2 本線、縦線の順に若い個体識別番号となっている。即ち、No.1: 黒横 1 本線 No.2: 黒横 2 本線 No.3: 黒縦線 No.4: 赤横 1 本線 No.5: 赤横 2 本線 No.6: 赤縦線 No.7: 青横 1 本線 No.8: 青横 2 本線 No.9: 青縦線 No.10: 無印としている。

欠番となっているのは 10 匹飼育して体重マッチングし 7 匹を選択する際、除外された個体がいたためである。

- 2.1.1. 作業をスムーズに行うためマーキングから行う。作業は+/+マウスと-/-マウスの取り違いを防止するため必ず 1 ケージずつ作業を行う。尿採取時も同様に作業は 1 ケージずつ行うこと。
- 2.1.2. マウス体重表に記入してある印をマークしていく。横線は 2cm 幅程度 (マジックの軸幅の 2 倍以上) 塗り、線の間隔は線の太さ以上とる。尾の先端および根元直下は色を塗らない。縦線は尾の全体に沿って塗布する。幅の短い横線はマウスの 1 口幅が 1cm 程度なので容易に消えてしまう。塗布は毎日行う。保存状態の良い塗布面も皮脂分泌、皮膚剥離、およびマウスのなめしゃぶりを受けているので、新たに塗布したもの比べ色が剥げやすくなっており、翌々日には判定が難しくなる。
- 2.1.3. マジックで尾にマーキングを行う際は、尾の毛並みの順流方向に向かって塗布を行う。毛並みに逆行して塗布を行うと痛みを伴うため、馴化 (ハンドリング) に失敗しケージ移動のみで排尿、脱糞、逃避行動等のストレス反応を示し作業が行いにくくなる。
- 2.1.4. 1 ケージ分のマーキング終了時に、ミスにより同一マークの個体がいなか、逃亡個体はいないか匹数を確認する。
- 2.1.5. ケージに識別札がかかっていることを確認した後、次のケージのマーキングを開始する。

2.2. 体重測定

マウスの取り違いを防止するため、ここでも作業は 1 ケージずつおこなう。

- 2.2.1. 電子体重計の 0 合わせを行う。
- 2.2.2. マウス前半身を測定箱の中に、両後肢を測定箱外側に引っ掛ける。歩行による体重移動がないため、ただちに静止した状態の正しい体重が測定できる。測定箱のふちを伝い歩きする際も体重移動が小さいので、安定した測定を行うことができる。
- 2.2.3. 尾が体重計の外に触れている測定値は、過小値となる。
- 2.2.4. マウスをケージに戻した際、測定値が 0 に戻らないときは、0 合わせを行い再度測定する。
- 2.2.5. 体重を体重表に書き込む。通常体重変動幅は 0.3 g/day 程度、最大でも 0.8g/day なの

で、極端な変動は測定ミスの可能性がある。前日までのデータと比較し異常値を示した個体は再測定を行う。(毒性指標の最も簡便な指標は体重減少であり、評価上重要なのできちんと測定する必要がある。)

2.3. ケージ交換 (水、えさ、とじき)

交換品のないときはセンター職員に連絡し用意をしてもらう。

2.3.1. 経口曝露による被験物質曝露を防止するため、えさ、水、とじきは毎日交換する。

2.3.2. 成熟マウスの1日のえさ摂取量はおよそ1~1.4g程度、えさペレットは1個およそ1g程度である。ペレットは齧られ丸くなるとえさかご上で回転し、摂食し難くなる。また、ある程度ペレットの重量がないと、マウスはえさかご部でペレットを把持できない。さらに、えさかごに一定面積以上えさが分布していないと、複数マウスが一度に摂食を行うことができず、競争を生じ群全体の体重増加抑制および体順位個体の著しい体重増加抑制を生じる。したがって適正なえさ量はケージ内にペレットを投入する場合、匹数 X 2個以上のペレット数。えさかごにペレットを投入する際は匹数 X3~4個以上かつ、えさかご全域にペレットが分布する量が必要。

翌日交換時に5~6個以下しか残量がない場合は明らかに投与量が少ない。本実験はえさの節約が本旨ではないので過剰投与で廃棄量が多くても実験が成功すればよいので、交換を節約しないこと。

2.3.3. 曝露マウスの水ボトルは必ず交換し、新鮮かつ十分量の水を補給する。水ボトルを使いまわしてよいのは非曝露(空気のみ曝露)の群のみ。アセトアルデヒドは水に溶けやすくコールドルームにガスが充満していた際は1晩で、開口しているビーカー中の水に含まれるアセトアルデヒド濃度が測定限界以下($0.1 \mu\text{M/ml} = 0.1\text{nM/L}$)から $100 \mu\text{M/ml} = 100\text{nM/L}$ になる。

2.3.4. 交換した水ボトルはきつく栓をする。栓がゆるくて外れると、ケージが浸水する。浸水したケージで1日マウスを飼育すると、体温低下、体重減少、摂食量低下等、実験継続不可能なほどのストレスをマウスに与えてしまう。

2.3.5. 水ボトルは、ケージを曝露チャンバーに投入した後にケージにさす。ケージに水ボトルをさしたままケージを移動すると、大量の水が床じきにこぼれる。マウスの住環境上良くない、またチャンバー内湿度を激変させるので、水ボトルをケージにさすのは必ずチャンバーに固定した後にする。

2.3.6. 床じきも必ず毎日交換する。マウスはかなりの量の床じきを毎日摂食するので、餌同様に経口曝露とならないためには床じきも毎日交換する必要がある。

3. アセトアルデヒドセンサ

記録紙にアセトアルデヒド濃度変化に湿度変化を伴ったデータが打ち出されている。100ppm の変化量はおおよそ 100mV に相当する。前日開始時の湿度と現在の湿度が同じであれば、濃度変化はmV 変化で推定できる。

3.1. 停止

3.1.1. オシログラフレコーダーの開始ボタン（緑色）の横のパイロットランプが付き、記録紙が伸展し、液晶画面が暗くなっている。オレンジ色の停止ボタンを押すと記録が停止する。

3.2. 記録

- 3.2.1. 開始ボタンの上側ある「ファイル」ボタンを押すと 40M の PC カードへの記録画面に移る。
- 3.2.2. 開始ボタン停止ボタンの上側に 4 方向指示する三角形のカーソルボタン（無印）がある。カーソルボタンを用いてモード：データ、機能：セーブ（アスキー）のままにしておき、ファイル名へカーソルを移動する。
- 3.2.3. カーソルがファイル名を選択すると、液晶画面下に選択文字画面が出てくる。開始ボタン停止ボタンの上側にあるスクロールカーソルキー（横長のキーで、スクロールカーソルと印字してある）を用いてファイル名を記入する。
- 3.2.4. ファイル名はセーブを実施した日付を用いる。例 2003 年 12 月 5 日に記録するファイルは「031205」とする。1.スクロールカーソルで 0 を選択。2.スクロールキーでカーソルを右へ 1 文字分移動。3. スクロールカーソルで 3 を選択 の手順でファイル名を記入する。
- 3.2.5. 記入したファイル名が正しいのを確認。カーソルキーを下に移動し、実行を選択する。
- 3.2.6. F1 キーが「実行」ボタンとなったことが、液晶画面下側に表示される。F1 キーを押す。
- 3.2.7. 40M の PC カードへデータセーブが開始される。記録中の画面表示になり、記録には 5 分ほど時間を要する。この間にセンサ交換および次回使用分センサの準備を行う。
- 3.2.8. セーブが終わると 3.2.1. の画面に戻る。オシログラフレコーダー左下側にある電源スイッチを切る。
- 3.2.9. オシログラフレコーダー右側に PC メモリカードの差し口がある。カードを取り出し、Lavie U (NEC ノートブックコンピュータ) の PC カードスロットに PC カードを挿入する。
- 3.2.10. Lavie U を起動し、デスクトップ画面上にある「ExpData」フォルダに PC カードに記録したデータをコピーする。
- 3.2.11. Lavie U の電源を落とした後、PC メモリカードを取り出し、オシログラフレコーダーに PC メモリカードを挿入。
- 3.2.12. オシログラフレコーダーの電源を入れる。画面が 3.2.1. の画面のままになっている。この画面をモニタモード画面に戻す。開始ボタンの 2 列左隣に青ボタンの列があり、青ボタン

列の一番下が「モニタ」ボタンである。「モニタ」ボタンを押すと液晶画面がモニタモードに戻る。

3.3. センサ交換と次回使用分準備

- * センサは毎日交換し、使用センサ番号をノートに記録しておく。
- * センサはアルミ箔覆いをかけた青い発泡スチロール箱に 2 回分、使用后および準備分がセンサ類を置いてある机左下戸棚の、プラスチックアタッシュケースに入れてある。
- * チャンバーの上側 (N) に通常感度センサを、チャンバーの下側 (Hi) に高感度センサをセットする。
- * 通常感度センサは 70 番台からの番号型番のもので、高感度センサは A1 から D 番台のアルファベットが頭に着いた型番の命名がなされている。
- * センサは素手で触らず、金属カバーをした上で着脱や入れ替えを行う。
- * プラスチックアタッシュケース内に保存されたセンサは環境空気中になじむまで 1~2 時間程度必要である。このため、次々回使用分から室内空気にさらしておく。

- 3.3.1. 曝露チャンバーのセンサを外す。ビニールテープを解き、センサをむき出しにし、使用したセンサを取り外す。
- 3.3.2. 新しいセンサを発泡スチロール箱から取り出し、装着する。
- 3.3.3. センサをチャンバーにセットした後、ビニールテープでセンサとチャンバーの隙間ができないよう蜜栓する。
- 3.3.4. プラスチックアタッシュケースを取り出し、使用済みの古いセンサを保存。次々回使用するセンサを発泡スチロール箱に用意しておく。割れているセンサや、表面が汚れているセンサは使用しないので、この際は次の番号に順次飛ばして使用する。
- 3.3.5. 周波数電圧変換機上、センサの周波数が 8.9MHz であることを確認する。下段ボタン左側で表示。
- 3.3.6. 必要なデータは周波数変化なので、 ΔF (下段中央ボタン) 表示にしておく。
- 3.3.7. ΔF 値をリセットする。上段中央ボタンを押すと ΔF 値がリセットされる。

以下の作業は曝露再開時におこなう。

3.4. 馴化

3.5. 記録再開

4. 発生装置の準備

4.1. 準備

- 4.1.1. 氷上にオートピペットのチップを刺し冷却しておく
- 4.1.2. アセトアルデヒド、廃棄用瓶、ピペットチップが冷えていることを確認
- 4.1.3. 手元にメジャー、記録ノート、ピンセットがあることを確認。

4.2. 窒素ガス停止

- 4.2.1. 窒素ガスボンベ残圧を確認。満タン時ガス圧は 150、1 日使用後は 75・80、2 日目は一桁の数値を示している。
- 4.2.2. クランチを用いてガスボンベの主弁を閉鎖する。
- 4.2.3. ガス圧 0 になるのを確認。
- 4.2.4. 流量 0 となるのを確認。

4.3. ボンベ交換

ボンベ交換は 2 日毎に行う。ただし 1 日使用後ガス残圧が 70 以下の際は 1 日でボンベを交換する。

- 4.3.1. 流量計の弁を閉じる。
- 4.3.2. モンキーレンチ 2 本を用いてボンベから流量計を外す。
- 4.3.3. 接続管（真鍮製）もモンキーレンチを用いて外す。
- 4.3.4. ボンベを交換。ボンベ移動時に電源コード上にボンベを載せたり、はさまないように注意する。（断線は電気火災の原因となる。）転倒防止鎖を必ず装着する。
- 4.3.5. 流量計接続部、接続管に、ごみの付着やパッキンの傷が無いことを確認。
- 4.3.6. ボンベに接続管（真鍮製）を接続。
- 4.3.7. ボンベに流量計を接続。流量計は直立するように接続する。
- 4.3.8. クランチを用いてガスボンベ主弁を開放する。
- 4.3.9. 流量を流量ボール上端が 1.8 liter/min 程度になるように流量を調整する。

*流量計は直立していないと正しい表示を示すことができない。

*使用している流量計は酸素ボンベ用フロート式流量計であるのに対して、接続しているのは窒素ガスボンベである。圧力表示部は正しい値が表示されているが、酸素より窒素の気体密度が小さいためガス流量が、実際の流量より小さく表示されている。

*通常は、流量計の目盛り読み取りは、ボール中央の値を読み取る。

4.4. 保護具着用

- 4.4.1. ゴム手袋、防毒マスクを着用する。吸着缶は VOC 低濃度用の活性炭缶を使用。高濃度曝露には適さないので、発生源直上のガスを吸引しないよう注意する。
- 4.4.2. 防毒マスクは着用後に顔面へのフィットの確認、およびエアリークの無いことを確認する。

4.5. セパラブルフラスコ開口

- 4.5.1. 保護具着用が終了し、保護具着用者以外が避難したことを確認する。
- 4.5.2. 曝露室ドアが閉まっていることを確認。
- 4.5.3. セパラブルフラスコ上方3箇所のねじを緩める。緩めすぎでねじが水槽に脱落しないように注意する。
- 4.5.4. セパラブルフラスコ手前の側方ねじを緩め、ホルダーを外す。
- 4.5.5. セパラブルフラスコのふたを側方にずらし外す。外したふたは、ガス管が水にぬれないようよけながら、ぶら下げておく。
- 4.5.6. セパラブルフラスコ内のメスシリンダーを落とさないように、かつ暖めないように取り出す。(手で把持しにくいときはピンセットなど用いる。)

4.6. 記録

- 4.6.1. 取り出したメスシリンダーを氷上に静置し、液量を測定する。
- 4.6.2. メジャーを用いて、液面高さを測定する。液面高はメスシリンダー上端最下沿部から液面上端までを mm 表示する。測定値をノートに記録する。同時にメスシリンダー目盛り上の残液量も記録する。

4.7. アセトアルデヒド交換

- 4.7.1. オートピペットを用い、メスシリンダーの液体を廃液瓶に廃棄する。
- 4.7.2. 次に同じチップを用いて、新しいアセトアルデヒド液をメスシリンダーに投入する。
- 4.7.3. 今回液量は 35mL になるようにする。

*本装置を用いてのアセトアルデヒド 125ppm \pm 30%の発生には、液高が液量 35mL \sim 25 mL の範囲である必要がある。(設定温度により多少変動) 35mL 時から開始するとおおよそ 24 \sim 30 時間で液量が 25mL となる。

4.8. セパラブルフラスコ閉口、排水

- 4.8.1. アセトアルデヒド液を交換したメスシリンダーを落とさないようセパラブルフラスコに入れる。
- 4.8.2. ガス管先がメスシリンダー内に入らないように、セパラブルフラスコ中に入れる。
- 4.8.3. ふたを閉じ、ホルダーをきつく締める。ふたがずれていると、ホルダーにきちんとはまらないので注意する。
- 4.8.4. 接続している管が外れていないこと、ガスが流れていることを確認。
- 4.8.5. 恒温槽の凝結水受けに溜まった水をシリンジを用いて捨てる。

5. 曝露再開

5.1 マウス投入

発生装置のアセトアルデヒド交換終了しかつ、尿採取、体重測定、マーキングおよびケージ交換が終了したマウスをチャンバーに再投入する。

5.1.1. 逃亡したマウスがいないかケージ内匹数を再確認。

5.1.2. 十分量のえさが与えられているか、とこじきが交換されているか、識別札がかかっているか再確認。

5.1.3. ケージをあけ、センサおよび濃度測定用管に当てたり、外したりしないように注意しケージを収納する。このときアセトアルデヒド臭がしていることを確認。

5.1.4. 水ボトルをケージにつける。

5.1.5. 温湿度計を見えやすいところにいれ、曝露チャンバーふたを閉じる。

5.2 馴化

アセトアルデヒドの交換、マウスを再投入した後最低 15 から 20 分は待たないといけない。これは、チャンバー容積が 130L であるのに対して、換気量が 20L/min であるので、チャンバー内の湿度およびアセトアルデヒド濃度が安定するのに必要な時間だからである。

5.3 測定・記録

5.3.1. 検知管を用いてアセトアルデヒド濃度を測定。測定値を記録する。

5.3.2. 濃度が 140ppm 程度であれば特に調整を行わず、DNPH 管測定を実施する。

5.3.3. 濃度が高すぎる場合および低すぎる場合は調整を行い、馴化後に再測定する。

5.4 調整

別紙参照

5.5 記録再開

5.5.1. 周波数電圧変換機の ΔF 値をリセットする。上段中央ボタンを押すと ΔF 値がリセットされる。

5.5.2. 開始前の測定値が 150-120ppm であつたら、センサ記録を再開する。オシログラフレコーダの開始ボタン（緑色）を押すと、緑色のパイロットランプがつき、記録紙が伸展し始め、液晶画面が暗くなる。

6. 確認

発生装置のラインは外れていないか？ 恒温槽温度に以上はないか？ ポンプは異常加熱していないか？ マウスに異常はないか確認し、清掃し教室に戻りサンプルを保存する。

アセトアルデヒド濃度測定チェックリスト

検知管測定で濃度が予想していた値を示さないとき、ほとんどの原因は検知管測定に問題がある。測定操作自体は難しくないので、正しく測定対象気体を採取できているかに注意を払い測定を行うことが必要。

次いで多い原因が、ガス流路のはずれや緩みである。ほとんどが交換時や測定時の不注意で生じたはずれや緩みなので、交換時毎の点検で防止ができる。

検知管測定に問題がある場合

| 濃度 | 考えられる原因 | 対処法 |
|----|---------------------------------|-----------------------|
| 高値 | 検知ポンプをきちんと引ききれず、戻し引きしてしまった。 | 再測定する。 |
| 低値 | 濃度測定チューブに穴が開いている。 | チューブ補修し再測定 |
| | 検知管が測定チューブにしっかり固定されておらずエアリークがある | 再測定：検知管をチューブにしっかり固定する |
| | 濃度測定用穴のシリコン栓のはずれや緩み | 栓をきちんと締め再測定 |
| | 三方活栓の開ける方向の誤り | 再測定 |
| | 検知管両端がきちんと開口していない | 再測定 |
| | 2回吸気し読み取る検知管を、1回吸気しかしていない。 | 正しい吸気量で測定する |
| | 検知ポンプの流量調節弁の破損 | 弁交換 |

4.5. セパラブルフラスコ開口

- 4.5.1. 保護具着用が終了し、保護具着用者以外が避難したことを確認する。
- 4.5.2. 曝露室ドアが閉まっていることを確認。
- 4.5.3. セパラブルフラスコ上方3箇所のねじを緩める。緩めすぎでねじが水槽に脱落しないように注意する。
- 4.5.4. セパラブルフラスコ手前の側方ねじを緩め、ホルダーを外す。
- 4.5.5. セパラブルフラスコのふたを側方にずらし外す。外したふたは、ガス管が水にぬれないようよけながら、ぶら下げておく。
- 4.5.6. セパラブルフラスコ内のメスシリンダーを落とさないように、かつ暖めないように取り出す。(手で把持しにくいときはピンセットなど用いる。)

4.6. 記録

- 4.6.1. 取り出したメスシリンダーを氷上に静置し、液量を測定する。
- 4.6.2. メジャーを用いて、液面高さを測定する。液面高はメスシリンダー上端最下沿部から液面上端までを mm 表示する。測定値をノートに記録する。同時にメスシリンダー目盛り上の残液量も記録する。

4.7. アセトアルデヒド交換

- 4.7.1. オートピペットを用い、メスシリンダーの液体を廃液瓶に廃棄する。
- 4.7.2. 次に同じチップを用いて、新しいアセトアルデヒド液をメスシリンダーに投入する。
- 4.7.3. 今回液量は 35mL になるようにする。

*本装置を用いてのアセトアルデヒド $125\text{ppm} \pm 30\%$ の発生には、液高が液量 35mL~25 mL の範囲である必要がある。(設定温度により多少変動) 35mL 時から開始するとおよそ 24~30 時間で液量が 25mL となる。

4.8. セパラブルフラスコ閉口、排水

- 4.8.1. アセトアルデヒド液を交換したメスシリンダーを落とさないようセパラブルフラスコに入れる。
- 4.8.2. ガス管先がメスシリンダー内に入らないように、セパラブルフラスコ中に入れる。
- 4.8.3. ふたを閉じ、ホルダーをきつく締める。ふたがずれていると、ホルダーにきちんとはまらないので注意する。
- 4.8.4. 接続している管が外れていないこと、ガスが流れていることを確認。
- 4.8.5. 恒温槽の凝結水受けに溜まった水をシリンジを用いて捨てる。

5. 曝露再開

5.1 マウス投入

発生装置のアセトアルデヒド交換終了しかつ、尿採取、体重測定、マーキングおよびケージ交換が終了したマウスをチャンバーに再投入する。

- 5.1.1. 逃亡したマウスがないかケージ内匹数を再確認。
- 5.1.2. 十分量のえさが与えられているか、とこじきが交換されているか、識別札がかかっているか再確認。
- 5.1.3. ケージをあけ、センサおよび濃度測定用管に当てたり、外したりしないように注意しケージを収納する。このときアセトアルデヒド臭がしていることを確認。
- 5.1.4. 水ボトルをケージにつける。
- 5.1.5. 温湿度計を見えやすいところにいれ、曝露チャンバーふたを閉じる。

5.2 馴化

アセトアルデヒドの交換、マウスを再投入した後最低 15 から 20 分は待たないといけない。これは、チャンバー容積が 130L であるのに対して、換気量が 20L/min であるので、チャンバー内の湿度およびアセトアルデヒド濃度が安定するのに必要な時間だからである。

5.3 測定・記録

- 5.3.1. 検知管を用いてアセトアルデヒド濃度を測定。測定値を記録する。
- 5.3.2. 濃度が 140ppm 程度であれば特に調整を行わず、DNPH 管測定を実施する。
- 5.3.3. 濃度が高すぎる場合および低すぎる場合は調整を行い、馴化後に再測定する。

5.4 調整

別紙参照

5.5. 記録再開

- 5.5.1. 周波数電圧変換機の ΔF 値をリセットする。上段中央ボタンを押すと ΔF 値がリセットされる。
- 5.5.2. 開始前の測定値が 150-120ppm であつたら、センサ記録を再開する。オシログラフレコーダーの開始ボタン（緑色）を押すと、緑色のパイロットランプがつき、記録紙が伸展し始め、液晶画面が暗くなる。

6. 確認

発生装置のラインは外れていないか？ 恒温槽温度に以上はないか？ ポンプは異常加熱していないか？ マウスに異常はないか確認し、清掃し教室に戻りサンプルを保存する。

アセトアルデヒド濃度測定チェックリスト

検知管測定で濃度が予想していた値を示さないとき、ほとんどの原因は検知管測定に問題がある。測定操作自体は難しくないので、正しく測定対象気体を採取できているかに注意を払い測定を行うことが必要。

次いで多い原因が、ガス流路のはずれや緩みである。ほとんどが交換時や測定時の不注意で生じたはずれや緩みなので、交換時毎の点検で防止ができる。

検知管測定に問題がある場合

| 濃度 | 考えられる原因 | 対処法 |
|----|----------------------------------|------------------------|
| 高値 | 検知ポンプをきちんと引ききれず、戻し引きしてしまった。 | 再測定する。 |
| 低値 | 濃度測定チューブに穴が開いている。 | チューブ補修し再測定 |
| | 検知管が測定チューブにしっかりと固定されておらずエアリークがある | 再測定：検知管をチューブにしっかりと固定する |
| | 濃度測定用穴のシリコン栓のはずれや緩み | 栓をきちんと締め再測定 |
| | 三方活栓の開ける方向の誤り | 再測定 |
| | 検知管両端がきちんと開口していない | 再測定 |
| | 2回吸気し読み取る検知管を、1回吸気しかしていない。 | 正しい吸気量で測定する |
| | 検知ポンプの流量調節弁の破損 | 弁交換 |

アセトアルデヒドガス発生装置チェックリスト

| 濃度 | 考えられる原因 | 対処法 |
|------|--|--|
| 異常高値 | アセトアルデヒドをセパラブルフラスコ内にこぼした チャンバーから静音ポンプにいたる流路にリークを生じ、チャンバーへの空気流入がごく少ない。 | フラスコ内にこぼれているアセトアルデヒドをふき取る。 はずれ、ゆるみをなおす |
| 高値 | アセトアルデヒド交換中メスシリンダーが温まってしまった。 発生装置のセパラブルフラスコが十分冷えていない。 静音ポンプの流量変化：とこじきチップが流路につき流量が低下した。 | 時間をあけて再測定する。 恒温槽の水位を上げフラスコが十分に浸かるようにする。 とこじきを除く。 静音ポンプ流量微調整 |
| 低値 | チャンバーにエアリークを生じている。：センサー部、測定用穴および気液分離装置部位のシリコン栓 メスシリンダー内への水の混入 窒素ガス管が外れている、流量がごく少ない | はずれ、ゆるみをなおす アセトアルデヒド交換 はずれ、緩みをなおす。流量調節。 |
| 異常低値 | 発生装置から、チャンバーにいたる経路が外れている。 セパラブルフラスコ破損 | はずれ、緩みをなおす。 セパラブルフラスコ交換 |

アセトアルデヒド曝露チャンバー



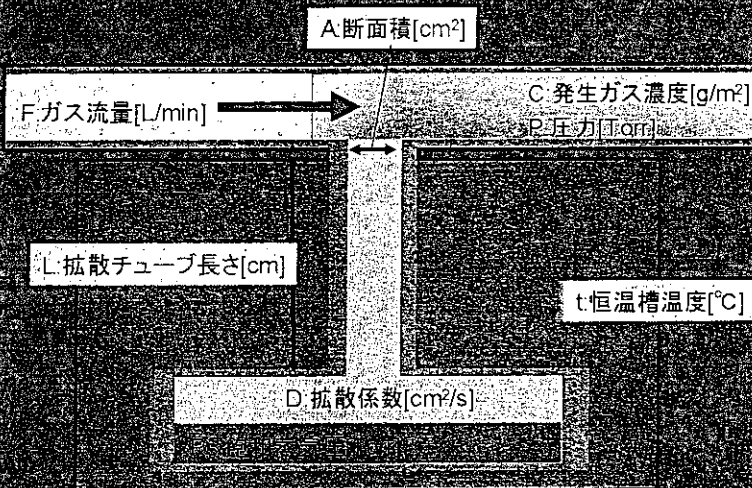
Fig. 3-1 2週間 23時間/日アセトアルデヒド曝露に使用したチャンバー

柴田科学 SUS304 型動物ガス曝露チャンバーを使用

拡散法ガス発生原理

$$C = \frac{A \cdot D \cdot M \cdot P}{F \cdot L \cdot R (273 + t)} \ln\left(\frac{P}{P - P_s}\right) \times 6 \times 10^4$$

M: アセトアルデヒドの分子量[g/mol] R: 気体定数[Torr·cm³/K·mol]



一定の拡散速度すなわち安定した拡散定数を示す物質の場合

従って、発生ガス濃度は、
 (1) 拡散容器の形状
 拡散チューブ長さ
 断面積

(2) 恒温槽温度

(3) ガス流量
 により調節できる。

拡散係数および飽和蒸気圧はアセトアルデヒドの物性と温度により決定されているため、恒温槽温度の関数とみなせる。

Fig. 3-2 アセトアルデヒドガス発生装置のガス発生原理は拡散法を使用した。

温度変化とアセトアルデヒド飽和蒸気圧

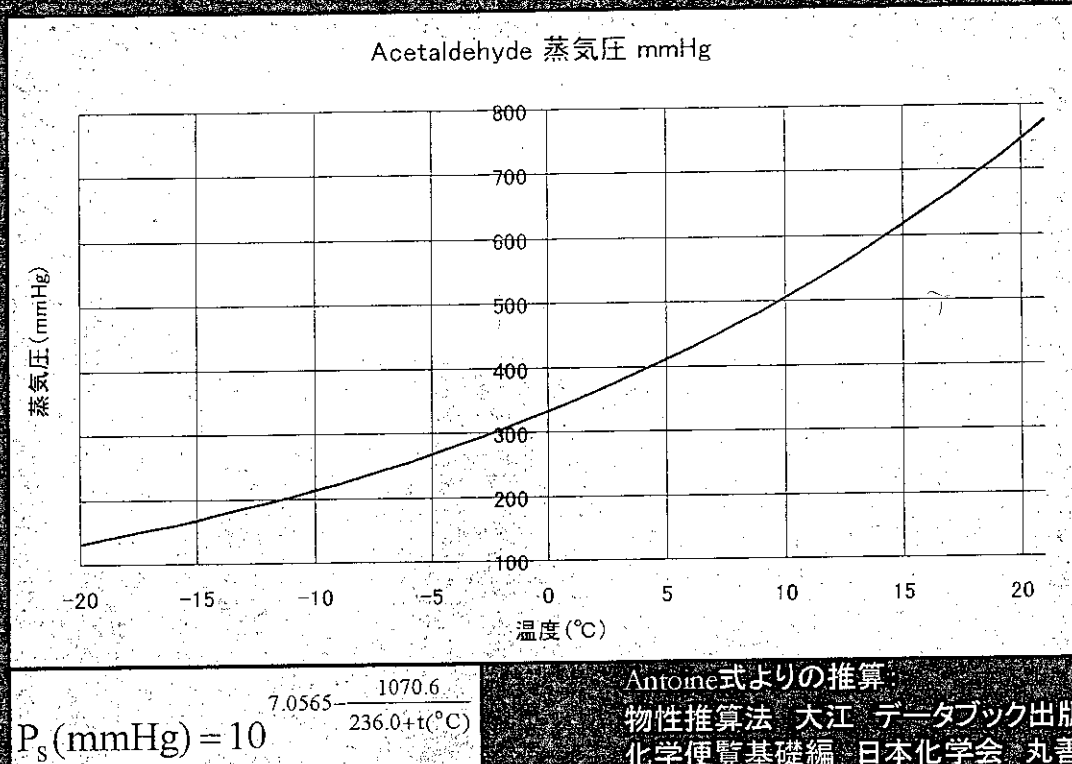


Fig. 3-3 拡散法にてアセトアルデヒドガスを発生させるに当たり使用した、アセトアルデヒド飽和蒸気圧のデータ

物性データとして
 化学便覧（日本化学会）のアントン式定数を使用し、アントン式にて飽和蒸気圧を求めた。