講座

LECTURE

質量分析法による同位体比測定 (Ⅲ)

Measurements of Isotope Ratio by Mass Spectrometry (Ⅲ)

重窒素存在比の測定

Measurements of Isotope Abundance Ratio of Nitrogen

中 根 良 平*

RYOHEI NAKANE

1. は じ め に

質量分析法による同位体存在比測定の講座の第3回として今回は筆者が代って重窒素濃度測定法について解説を行なうことにする。

質量分析計を用いて重窒素濃度を測定するとき、使用する窒素化合物としては一二の例外を除いてほとんどすべて窒素ガス N_2 が用いられる。したがって実際の操作は N_2 ガスの気体分析を質量分析計を用いて行なうことになり、重窒素濃度の測定が炭酸ガスの気体分析によって行なわれるのと全く類似している。これらの気体はいずれも非常に安定で不活性な気体であり、気体分析を行い易い化合物であると同時に、お互いの質量も余り異ならないので、炭酸ガスを用いて重窒素濃度を測定することができる質量分析計は、 N_2 ガスを試料気体としても重窒素濃度を容易に測定することができる。したがって質量分析計による測定そのものについては炭酸ガスによる重窒素濃度測定法と全く同様と考えてよいので、先の講座(Ⅱ)¹⁾を参照していただくことにして、今回は窒素ガスの調整法についてのみ述べることにする。

窒素なる元素は天然において空気の約4%をしめると同時に硝酸塩などの鉱石として存在する他、生物体を形成する重要な元素の一つとなっている。この窒素を構成する安定同位体は質量数14の ^{14}N と質量数15の ^{15}N の2種類であり、その存在比はいずれの場合においても誤差範囲内で一定であり、その値は次のとおりである。

$^{14}N : 99.635 \text{ atom } \%$

$^{15}N : 0.365 \text{ atom } \%$

さて上述のように窒素は生物体を形成する元素の中でも最も重要なものの一つであるので、その代謝の研究は、生化学、医学、農学などの部門において非常に重視され、したがってそのトレーサー実験も数多く行われてきた。しかし他の元素に較べてトレーサー実験に適した半減期の長い放射性窒素が見出されないので、 ^{15}N すなわち重窒素が分離され、それが利用されている。当然その濃度変化を追跡しなければならないので、質量分析計が大いに利用されるわけである。これらの場合取扱われる窒素化合物は蛋白質などの有機物であることが大部分であるので、常にキエルダール法によってアムモニヤ化されて、その窒素量がまず定量され、その後 N_2 ガスに変化させられて質量分析計により同位体比が測定されるのである。

現在まで行なわれてきた重窒素濃度の測定というのは、ほとんどすべて上記のようなものであるが、しかしその他、例としての数は少いが一酸化窒素ガス中の ^{15}N 濃度を測定するためそれをそのまま直接測定したり²⁾、銅³⁾あるいは鉄⁴⁾による還元で N_2 ガスにして測定する場合もある。だがこれは特殊な場合と考えられるし、一般的には先の生物体におけるトレーサー実験のため ^{15}N 濃度の測定が求められることが大部分であるので、今回はこの方法についてのみ詳しく述べたい。

なお筆者の専門は同位体分離の研究であるが、その研究の途時にできる ^{15}N -アムモニウム塩、 ^{15}N -硝酸塩などを医学、農学部門の研究者に販布し、トレーサー実験後における結果を求めるための重窒素濃度の測定をも引受けている。すなわち ^{15}N -化合物を販布

* 理化学研究所 (東京都文京区駒込上富士前町31)
The Institute of Physical and Chemical Research (31, Kami-fujimae-cho, Komagome, Bunkyo-ku, Tokyo).

し、それがトレーサー実験に使用された後キエルダール法によってアムモニヤ化された試料を筆者の研究室に送っていただいている。こちらではそれを N_2 ガスにして日立製 RMI 型質量分析計により ^{15}N 濃度を分析しているのであるが、昭和37年度には依頼された検体数が2000をはるかに超過した。このように数多くの N_2 ガスを機械的に分析していると、その測定法について、報文にはならないが必要と思われる多くの知見を得ることができたので、 ^{15}N 濃度測定法についての一般解説はすでに数多くなされているからそれは簡単にすまして、主として筆者が検討して得た結果を以下に記して読者の参考に供したい。

先にも記したように、これから述べようとするのは有機物中に含有される窒素中の ^{15}N 濃度を測定するため、 N_2 ガスを試料検体として調整し、質量分析計に導入するまでのことである。このとき、まず我々が問題とするのは質量分析計によって検出された ^{15}N 濃度が果して有機物中のそれと一致するかということである。現実には一致しないことが多いが、質量分析計自身の精度には一切ふれないことにし、次の各段階のどこにそれが最も多く起因するか、そしてそれを避けるにはどのようにしたらよいかを逐次検討してゆくことにしよう。

- ① N_2 ガスを試料検体として質量分析計により測定する段階
- ② アムモニヤを N_2 ガスに化学的に変化させる段階
- ③ キエルダール法により有機窒素化合物をアムモニヤに化学的に変化させる段階

2. N_2 ガスの質量分析計による測定

N_2 ガスを質量分析計により分析すると、 $^{14}N^+$, $^{14}N_2^{2+}$, $^{15}N^+$, $^{15}N_2^{2+}$, $^{14}N^{14}N^+$, $^{14}N^{15}N^+$, $^{15}N^{15}N^+$ などのピークが認められるが、質量数28, 29, 30の窒素分子の1価のイオンのピークの高さの相対比を測定して、次式に従って ^{15}N 濃度の原子% (atom %) a を求めるのが普通である。

$$a = \frac{[^{15}N]}{[^{14}N] + [^{15}N]} \times 100 = \frac{[^{14}N^{15}N] + 2[^{15}N^{15}N]}{2([^{14}N^{14}N] + [^{14}N^{15}N] + [^{15}N^{15}N])} \times 100 \quad (1)$$

さてアムモニヤから次節に示すような方法でつくられた N_2 ガスの中では次のような同位体交換平衡が成立している。

そしてその平衡定数は

$$K = \frac{[^{14}N^{15}N]^2}{[^{14}N^{14}N][^{15}N^{15}N]} = \frac{(Q_{^{14}N^{15}N})^2}{(Q_{^{14}N^{14}N})(Q_{^{15}N^{15}N})} \quad (3),$$

ただし Q は各同位体分子の分配関数であり、常温における2種の同位体分子の分配関数の比は

$$\frac{Q_2}{Q_1} = \frac{\sigma_1}{\sigma_2} \prod_i [1 - \frac{1}{24}(u_{2i}^2 - u_{1i}^2)] \quad (4),$$

によって示される。ただし

$$u = h^2 \omega / kT \quad (5)$$

であり、 σ は対称数、 ω は振動数であるが、各同位体分子の振動数の差異が非常に小さいのに較べて、 ^{14}N , ^{14}N , $^{15}N^{15}N$ 分子の対称数は1, $^{14}N^{15}N$ 分子のそれは2であるから、近似的に

$$K \doteq 4 \quad (6)$$

となる。したがって質量数28と29の窒素分子イオンのピークの高さの比を、 R すなわち

$$R = \frac{[^{14}N^{14}N]}{[^{14}N^{15}N]} \quad (7)$$

とすれば、(1), (6), (7)の各式から求められる

$$a = \frac{1}{2R+1} \times 100 \quad (8)$$

を用いると、 R を実測することによって ^{15}N 濃度を求めることができる。非常に重窒素濃度の高い試料の場合には、逆に質量数30と29のピークの高さの比からその値を求めることができる。

さて N_2 ガスを試料検体として質量分析計により分析する際、とくに我が国において度々問題になった点について、その要点および解決法などについて次に述べることにする。

2.1 バックグラウンドについて、とくに試料中に混在する有機物によるバックグラウンドについて

N_2 ガスを測定するとき、とくに問題となるのは質量数29のピークのバックグラウンドである。多くの測定試料は天然の同位体存在比に近いものが大部分であるから、質量数29のピークの高さは相対的に非常に低いのが普通であり、したがってそのバックグラウンドが問題となるのは当然である。この原因となるのは $C_2H_5^+$ と考えられるが、質量分析計の内部表面に吸着した油などから出るそれは予め測定して、そのピークの高さを $^{14}N^{15}N$ イオンのピークの見掛けの高さから差し引けば良い。しかし試料中に含有されていたアルコールなどのため、結果に大変な間違いを起した例を過去に何回か経験した。たとえばキエルダール法でアムモニヤを発生させたとき、それを硫酸に吸収させるがその中和点を知るためアルコール性指示薬を使用したのに、連絡不充分のためそのまま N_2 ガスに変化させ測定したのでアルコールからの $C_2H_5^+$ も $^{14}N^{15}N^+$ に重なり合ってスペクトルに現われ、見掛け上大変 ^{15}N 濃度が高いということになってしまった。かくして研究費の大損となったと質量分析誌上で批難されたこともあった。以後にも数回同じような例が認められた。いずれも試料の分析が依頼されたとき、その点につい

て注意を喚起したが、初めての経験のときには仲々うまく了解してもらえぬものである。かくして奉仕のつもりで分析を引受けては批難される甚だ判の含め仕事を継続してきたが、RMI 型のガス・リザーバー内の圧は 10^{-1} mmHg 以下であるので、それとリークの間に液体空気のトラップを挿入したところ、以後如何に試料中に有機物が混在しても誤りが生ずるということとはなくなった。したがって N_2 ガスを試料とするときには、リークの前あるいは後に液体空気のトラップを挿入するとは非常に有効である*。

2.2 残留効果について

同位体濃度の異なる試料気体を連続して測定するとき、たとえ分析管およびガス・リザーバーなどを充分排気した場合でも、後から測定した試料の同位体濃度について得られた値は、先に測定した試料の影響を受けて真の値を示さぬことがある、すなわち残留効果が認められる。分析管あるいはガス・リザーバーなどの内部表面に、先に導入した試料気体が吸着あるいは化合し、いくら真空排気してもある極限以上にはそれを除去しえないままに新しい試料ガスを導入すれば、その気体と先の吸着あるいは化合した試料との間に同位体の交換反応が行なわれるため残留効果が現われると考えられる。その極端な例はフッ化ホウ素あるいは六フッ化ウランなどのハロゲン化物を用いてホウ素あるいはウラン同位体の濃度を測定するときに見出されるが、これらの場合には試料気体を一度導入した後排気し、改めて試料ガスを導入し直す、すなわち試料気体による洗滌を行えば残留効果は消失する。

さて N_2 ガスを用いて測定するとき、 ^{15}N 濃度に残留効果が認められるかという問題である。往年認められると我が国では称せられたこともあったが、質量分析による測定の段階ではそのような現象は認められない。たとえば Table 1 の実験例は、96.95 atom % の

Table 1. Examination of memory effects on mass spectrometry of gaseous nitrogen molecule.

Exp. no.	Atom % ^{15}N
1	96.95 $\pm$ 0.01
2	0.364 $\pm$ 0.001
3	96.94 $\pm$ 0.01
4	0.364 $\pm$ 0.001
5	96.95 $\pm$ 0.01

重窒素 N_2 ガスと天然の N_2 ガスを交互に測定した結果を示している。両者の測定間には、ただ十数分間真空排気を行なうのみであるが、残留効果は全く認められない。すなわち測定すべき試料 N_2 ガスによって、

* 3.2 参照

分析管の内部表面などに吸着しているところのその前に測定した試料 N_2 ガスは直ちに洗滌されてしまうのである。結局残留効果が認められるのは分析管あるいはガス・リザーバー、コックなどの表面に試料が凝縮性であるために沈着したり、ハロゲン化物のように金属酸化物とコンプレックスをつくったりする、すなわち化合する場合に限られるのであるが、残留効果なる言葉が文献に認められた故に、 N_2 とか CO_2 のような不活性な気体の場合にも認められるものとして検討せずに速断したものと考えられる。なお質量分析計における真空もれによる稀薄効果などは勿論問題外である。

3. アムモニウム塩からのガスの調整法

キェルダール法によって有機窒素化合物から得られたアムモニウム塩を、次式のように次亜臭素酸カリウムを用いて定量的に酸化して窒素ガスをつくる

3.1 次亜臭素酸カリウムの調整法

カセイカリ 200 g を溶解した 680 cc の水溶液を氷で冷却しつつ、よく攪拌しながら 100 g の Br_2 を徐々に加えると黄色の液が得られる。この液を冷暗所に約 1 週間放置した後、上澄液を採取して使用する。温度が上昇したり、光があたると次亜臭素酸カリは KBr と O_2 に分解する。また次亜臭素酸カリは次亜臭素酸ナトリウムより比較的安定である。なおこの次亜臭素酸塩はアルカリ性で安定であるので、調整するとき計算量よりはるかに過剰のカセイカリを使用する。

3.2 窒素ガス発生装置

次亜臭素酸カリウム水溶液を作用させて、アムモニウム塩を分解し窒素ガスを発生させる装置には Schöenheimer⁵⁾ の方法によるものと、Rittenberg⁶⁾ の方法によるものの 2 種が現在知られているが、後者の方が使用に便であるのでそれについて説明することにしよう。Fig. 1 に示すように所謂 Rittenberg 管 A の

Fig. 1. Apparatus for conversion of ammonium ion to nitrogen gas.

一方の脚管に試料のアムモニウム塩水溶液を入れ、他方の脚管に N_2 ガス発生に必要な計算量より過剰の次亜臭素酸塩水溶液を入れる。これはもし不足してアムモニウム塩の完全分解が行われず未反応アムモニウム塩が残存したときには、反応速度差による同位体分離が行われ、発生した N_2 ガスと当初のアムモニウム塩中の ^{15}N 濃度が相異し、求むべき真の値が得られないからである**。

その後ユニバーサル・ジョイント C を接続し、液体空気で冷却したトラップ D を通して真空ポンプで排気し、溶液中に溶解している天然ガスを十分に除去する。その後 Rittenberg 管 A に付属するコック B を回して閉じ、両脚管内の水溶液を混合すると先に示したような式に従って N_2 ガスが発生するから、そのまま Rittenberg 管を質量分析計のガス・リザーバーに直結する。そして Rittenberg 管自身を液体空気で冷却して液を固化した後、コック B を開いて N_2 ガスを質量分析計に導入する。なお 2.1 における N_2 ガス中への有機物混入はこの Rittenberg 管を用いるとよく防げるが***、先に述べた種々のトラブルは主として Schoenheimer 式を用いておったときに発生したのである。有機物に限らず空気などすべての不純物の混入の危険は Rittenberg 管を使用する場合にはるかに少いから、筆者はこの方式を推奨する。

3.3 試料の含有窒素量と ^{15}N 濃度の測定結果との関係

現在の市販の気体分析用質量分析計により N_2 ガスを用いて ^{15}N 濃度を測定するとき、それに是非必要な最低限の N 量がある。実際にリークから分析管に導入される N_2 の量は非常に少量であるにもかかわらず、たとえば RMI 型では 0.1 mg の N 量がないと正確な定量は不可能である。過剰に必要とする 1 つの要因はガス・リザーバーの設計にもあるので、講座 (II) において千谷先生らが工夫されているような試料導入系を自作して改良を試みるべきである。

もう一つの要因は N_2 ガス発生を湿式法により行なうところにある。すなわち前節において、Rittenberg 管を最後に液体空気で冷却するとき、固化した水溶液中に発生した N_2 ガスの相当量が溶解し、その分だけは常に測定に利用しえない余分になってしまうからである。したがって当然、アムモニウム塩、次亜臭素酸塩を溶解する水の量を、とくに N 量が少いときには少くするように心掛けるべきである。先にも述べたように RMI 型では、最低限 0.1 mg の N が試料中に含

有されておれば、後述の様々な効果を考えなければ、一応質量分析計による分析値だけについては正確な値を出すことができる。

しかし、 N_2 ガス発生の際、試料として採取したアムモニウムイオン中の N 量に応じて ^{15}N 濃度の測定結果に変動を来すことが認められる。その結果が Table 2 に示される。天然のアムモニウム塩（市販の

Table 2. Relation between amounts of nitrogen atom and its isotope abundance on conversion of ammonia to nitrogen gas.

Amount of nitrogen atom in ammonium ion (mg)	Atom % ^{15}N in nitrogen gas
10.0	0.364 ± 0.001
5.0	0.364 ± 0.001
2.5	0.364 ± 0.001
1.0	0.364 ± 0.001
0.5	0.364 ± 0.001
0.25	0.364 ± 0.001
0.1	0.364 ± 0.001
10.0	1.000 ± 0.002
5.0	1.000 ± 0.002
2.5	1.000 ± 0.002
1.0	1.000 ± 0.002
0.5	1.000 ± 0.002
0.25	0.995 ± 0.002
0.1	0.992 ± 0.002
10.0	98.00 ± 0.01
5.0	98.00 ± 0.01
2.5	98.00 ± 0.01
1.0	97.99 ± 0.01
0.5	97.99 ± 0.01
0.25	97.96 ± 0.02
0.1	97.74 ± 0.02

塩化アムモニウム) から N_2 ガスを発生させたとき、10 mg の N を含有するアムモニウム塩を Rittenberg 管内で処理しても、0.1 mg の N を含むアムモニウム塩を処理しても得られた ^{15}N 濃度の測定値は変らない。しかるに濃縮重窒素アムモニウム塩を処理したとき、Rittenberg 管内に導入した量が非常に少いときには、 ^{15}N 濃度が真の値より低く出ることが認められた。これは試料水溶液あるいは次亜臭素酸カリ水溶液内に当初から溶解していた天然の N_2 ガスを充分排除し切れなかつたため、試料中の N 量が少くなったときその汚染効果が現われ始めたと考えられ、試料中の N 量に比例して水の量などを減少することができなかったところに原因がある。したがって試料中の N 量にふさわしい小さい Rittenberg 管をつくり、アムモニウム

**次亜臭素酸カリウムの量が不足のときには、反応させた後液が無色となり、一方過剰に使用したときには液は依然として黄色を保っている。

*** 勿論この場合にもリーク前に、液体空気で冷却したトラップを挿入した方が安全である。

塩を蒸発乾固して水量を少くすれば、N 量の少い高濃度 ^{15}N 含有アムモニヤにおいても Table 2 の実験結果よりよい値を得ることができるはずである。いずれにしろ Table 2 の結果から、濃縮 ^{15}N アムモニヤを処理するときには、水量をできる限り少くするように心掛けるべきことが諒解されるであろう。

4. キエルダール法によるアムモニヤ化の段階における ^{15}N 濃度の変化

キエルダール法による有機窒素化合物をアムモニヤにする方法については有機分析の書物に詳述されているから本節では ^{15}N 測定に際してとくに注意すべき点についてだけ述べたい。キエルダール法においては多くの化学処理が行れるため、この場合にも化学処理中における同位体分別のための誤差と、天然の N による稀薄化の2点を充分に注意しなければならない。

4.1 化学処理中における同位体分別の効果

ある一定量の有機窒素化合物を試料として採取したとき、その中に含有される N をすべて完全にアムモニヤに変化させさえすれば、この問題は解決する。要するに完全反応を行えばよいのである。しかしキエルダール法を常に行なっておられる方でも、この点についてはいずれも手抜きはあるらしく、始めて ^{15}N のトレーサー実験を行なわれるとき、まず天然の有機窒素化合物を処理して持参していただくといふと良い程、その値が天然のものと一致せず、その化学処理中に同位体分別が行なわれたことが判明するのである。勿論その結果を出されてから以後は、いずれも天然の値を示すアムモニウム塩を持参されるから、この問題は注意深く化学処理さえすれば簡単に解決できるのである。

4.2 化学処理中における天然窒素化合物による稀釈効果

キエルダール法においては多くの反応試薬を使用する。この処理中に天然の窒素化合物による稀釈効果が考えられ、その効果を検討した一例が Table 3 に示さ

Table 3. Relation between amounts of nitrogen atom and its isotope abundance on Kjeldahl conversion method.

Materials	Amounts of nitrogen atom (mg)	Atom % ^{15}N
urine	3.0	0.591 ± 0.002
	6.0	0.594 ± 0.002
	9.0	0.597 ± 0.002
blood plasma alubmin	3.0	0.371 ± 0.001
	6.0	0.372 ± 0.001
	9.0	0.372 ± 0.001

れる⁷⁾。

^{15}N 濃度が天然のものに近い有機体を処理したときには N 量による ^{15}N 濃度の測定結果の変化はほとんど認められないが、 ^{15}N 濃度がほんの少し増大すると、処理する試料の N 量が ^{15}N の測定結果に大きい影響を与えることが認められる。しかもその程度は前節のアムモニヤを N_2 ガスにする過程に較べて極端に大きいことがわかる。天然窒素化合物によるキエルダール操作中における稀釈効果が最も大きい誤差をつくることが判明したわけである。

5. お わ り に

質量分析計を用いて ^{15}N 濃度を測定する場合における試料の調整方法を、とくに有機窒素化合物をキエルダール法にしたがってアムモニヤにして後、それをさらに N_2 ガスにして質量分析する例について詳述した。そしてこの試料調整についてそれを行なうときにとくに心掛けねばならぬことは、次の2点であるということをも基本にして説明を行なってきた。

- ① 試料調節を行なうとき、ある一定量の窒素化合物を採取したら、それを完全に求める他の窒素化合物に変化させなければならない。もし完全反応が行われないときには、当初の窒素化合物中の ^{15}N 濃度と、質量分析計によって求められた ^{15}N 濃度の値は一致しない。
- ② 試料中の ^{15}N 濃度が天然のそれより高いとき、試料の化学処理中、反応試薬あるいは空気中の N_2 によって ^{15}N 濃度が稀薄化されるおそれがある。

以上について検討した結果、有機窒素化合物を注意して化学処理さえすれば①は問題とならない。しかし②の問題はさけることができず、試料を処理する段階が多くなり、複雑になればなる程その程度は大となる。これを避けるためには結局、処理すべき試料の量を相対的に多くしなければならないということが実験的に示されたわけである。RMI 型質量分析計を使用し、通常の装置で化学処理をしたとき、Table 2, Table 3 に示されたような結果が得られたのであり、個々の装置によりその必要最低限 N 量が異なり、何 mg の N が試料中に含有されておれば正確な ^{15}N 濃度が測定されるというわけでないことは勿論である。要するに試料の含有 N 量が少くなれば、それに比例して反応容器の大きさも、水も含めたすべての反応試薬の量も少くしなければ正確な ^{15}N 濃度は求められないというわけである。

以上述べたようなことは、質量分析するために試料を何らかの処理する場合には、 N_2 ガスを用いての ^{15}N 濃度測定のみならず、あらゆる同位体存在比測定に際

して常に当てはまる一般原則であるといえよう。

^{15}N 濃度測定に関する講座と直接関係はないが、 ^{15}N 濃度の誤差について今まで述べてきた結果から、重窒素化合物を使用してトレーサー実験を計画するときまず考えねばならないことについて一言したい。すなわち天然に近い ^{15}N 濃度の試料の場合には比較的眞の値に近い ^{15}N 濃度を質量分析計によって得ることができるが、定量的に正確を期すると称して、非常に高濃度の ^{15}N 化合物をトレーサー実験に使用し、最終的に得られた目的の有機窒素化合物中の ^{15}N 濃度をも大にする。すなわち稀釈限度を抑える研究が比較的多く行われてきたが、その最終有機物中における ^{15}N の測定結果が眞の ^{15}N 濃度と異なる度合いが大きいことを考えると、高濃度 ^{15}N 化合物をつくるのが困難な状況をもにらみ合わせて、もう一度測定装置などすべてを総合して検討し直してみる必要があると思われる。その点、農研の西垣博士は低濃度の重窒素化合物をトレーサー実験に使用し、最後の有機窒素化合物中の ^{15}N 濃度を天然の ^{15}N 濃度に近いところを持ってきて質量分析計の精度一ぱいに測定するという方法を採用しておられ

るが、この研究方針は本講座に記したように ^{15}N 濃度の高い複雑な天然有機窒素化合物中の ^{15}N 濃度の正確な測定が試料調整の点に関して非常に困難であることを考えると、誠に賢明な方法といえることができる。

文 献

- 1) 千谷利三・小早川美津子, 質量分析 **10**, 42 (1962).
- 2) R. Nakane and S. Isomura, *Sci. Papers Inst. Phys. Chem. Research*, **56**, 164 (1962).
- 3) M. Stern, L. Kauder and W. Spindel, *J. Chem. Phys.*, **36**, 764 (1962).
- 4) W. Spindel and J. Taylor, *ibid.*, **32**, 1318 (1955).
- 5) R. Schoenheimer and D. Rittenberg, *J. Biol. Chem.*, **127**, 291 (1939).
- 6) D. Rittenberg, *Suppl. U.S. Naval Medical Bulletin*, Mar. Apr., 82 (1948).
- 7) 上田英雄・加藤光夫他(東大医)・中根良平(理研), ^{15}N 文部省研究班第5回例回報告(昭和38年1月).