

報 文

2-ヒドロキシ-5-メチルベンズアルデヒドセミカルバゾン
を用いるランタン(III)の抽出蛍光定量とその蛍光強度
に及ぼす置換基効果渡辺 邦洋^{®*}, 猪飼 敬幸*, 板垣 昌幸*

Fluorometric determination of lanthanum(III) with 2-hydroxy-5-methylbenzaldehyde semicarbazone and the substituent effect on fluorescence intensity

Kunihiro WATANABE, Takayuki IKAI and Masayuki ITAGAKI*

* Department of Industrial Chemistry, Faculty of Science and Technology, Science University of Tokyo, 2641, Yamazaki, Noda-shi, Chiba 278

(Received 2 May 1996, Accepted 1 July 1996)

The fluorometric determination of La(III) with 2-hydroxy-5-methylbenzaldehyde semicarbazone (HMBS) and the substituent effects on the fluorescence intensities of La(III) complexes with salicylaldehyde semicarbazone derivatives have been investigated. La(III) easily reacts with salicylaldehyde semicarbazone derivatives at high pH range to form stable complexes. The fluorometric determination of La(III) was impossible without separation of La-complexes, because the excess reagent also fluoresced strongly in basic solution. Therefore, the extraction of La-complex into chloroform was studied in the presence of dodecylbenzenesulfonate in order to separate the excess reagent. As a result, the determination of La(III) could be successfully carried out. Three kinds of salicylaldehyde semicarbazones, i.e., 2-hydroxy-5-methylbenzaldehyde semicarbazone (HMBS), 5-chloro-2-hydroxybenzaldehyde semicarbazone (CHBS) and 2,4-dihydroxybenzaldehyde semicarbazone (DHBS), were examined as reagents for the determination of La(III). Among these, HMBS was found to be the most suitable ligand. The extractabilities of La-HMBS, La-CHBS, La-DHBS, were 96%, 98% and 34%, respectively. The detection limit with CHBS for La(III) was inferior to that with HMBS. La(III) could be detected above 25 ppb with HMBS, and the relative standard deviation for 400ppb of La(III) was 2.4% ($n=7$). The electron densities of three ligands were calculated by MOPAC. The magnitude of the electron density in the benzene ring of DHBS was smaller than those of the others, and the electron distribution was not homogeneous. A significant difference in electron density was not observed between DHBS and CHBS. The fluorescence quantum yield of dissociated ligand was larger than that of undissociated ligand. The magnitude of electron density in the benzene ring of the dissociated ligand was larger than that of the undissociated ligand.

Keywords : fluorometric determination; lanthanum; fluorescence intensity; electron density; 2-hydroxy-5-methylbenzaldehyde semicarbazone.

* 東京理科大学理工学部工業化学科: 278 千葉県野田市
山崎 2641

1 緒 言

Sc(III), Y(III) と異なり La(III) は原子量が大きいこと、それを含む蛍光性錯体の蛍光強度は重原子効果による消光作用を受けやすい。それ故、La(III) の蛍光定量法は、蛍光分析の対象となる他の金属イオンの分析法に比べて報告例は少ない¹⁾。シップ塩基は、一般に蛍光分析に利用されている他のキレート試薬と比較して、錯体の蛍光量子収率が著しく大きいという利点を有しており²⁾³⁾、このため重原子効果による消光作用を受けたとしてもその錯体は、比較的大きな蛍光量子収率が得られる。本研究では La(III) が Sc, Y と同様に⁴⁾サリチルアルデヒドセミカルバゾン型のシップ塩基と塩基性領域で反応することを見だし、La(III) 錯体を陰イオン界面活性剤共存下で抽出することにより、試薬自身の高い空試験値を抑え高感度な La(III) の定量が可能となった。又、サリチルアルデヒドセミカルバゾン誘導体のベンゼン環についた置換基を変化させ、La(III) の定量感度に及ぼす影響を検討した。更に置換基の差異、試薬の解離状態の違いに伴う試薬自身の蛍光量子収率が異なる原因について、MOPAC から得られた電子密度分布、分子軌道関数のエネルギー差から検討を行ったので報告する。

2 実 験

2・1 試 薬

La(III) 標準溶液: 原子吸光分析用標準溶液 (1000 ppm, 和光純薬製) を 1 mol/l HNO₃ で適宜希釈して使用した。

2-ヒドロキシ-5-メチルベンズアルデヒドセミカルバゾン (HMBS), 2-ヒドロキシ-5-クロロベンズアルデヒドセミカルバゾン (CHBS) 及び 2,4-ジヒドロキシベンズアルデヒドセミカルバゾン (DHBS): HMBS, CHBS, DHBS は、それぞれ、5-メチルサリチルアルデヒド、5-クロロサリチルアルデヒド及び 2,4-ジヒドロキシベンズアルデヒドとセミカルバゾド塩酸塩を使用して Freeman らの方法⁵⁾により合成し、*N,N*-ジメチルホルムアミド (DMF) に溶解して使用した。

ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム (DBS): 東京化成製の特級試薬を蒸留水で希釈して 0.4 w/v% 溶液を調製した。

緩衝溶液: 試薬特級四ホウ酸ナトリウム (和光純薬製) により 0.08 mol/l 水溶液を調製し、塩酸により pH 9 に調整したものを使用した。

その他の試薬は市販特級品をそのまま使用した。

2・2 装 置

装置は既報⁴⁾に示したものと同一のものを使用した。

2・3 基本操作

適量の La(III) を含む溶液に、HMBS を含む溶液 (0.1 w/v%) 4 ml, DBS 水溶液 (0.4 w/v%) 1 ml と 0.08 mol/l 四ホウ酸ナトリウム水溶液 5 ml を加え pH 8.6 に調整する。その後、蒸留水で全量を 25 ml に調整し試料溶液を 100 ml 分液漏斗に移す。これに、クロロホルム 10 ml を加え 10 分間振り混ぜる。遠心分離器 (4000 rpm, 3 分間) を用い 2 相を分離させ、かつ分液漏斗の脚に脱脂綿を詰め、有機相を分離しその蛍光強度を測定する。

3 結果及び考察

3・1 励起及び蛍光スペクトル

有機相中の La(III) 錯体及びその空試験液の励起及び蛍光スペクトルを測定した結果を Fig. 1(a) に示す。又、La(III) の定量の際に使用する場合の 1/100 の試薬濃度で、水相中での空試験液の励起及び蛍光スペクトルを Fig. 1(b) に示す [測定した pH はそれぞれの La(III) 定量時の最適 pH]。Fig. 1 のスペクトルは硫酸キニーネによって補正したものを示した。なお、Fig. 1(a), (b) の比蛍光強度は同一の感度で測定した。有機相中の La 錯体の最適励起波長 (Ex) 及び蛍光波長 (Em) は、HMBS, CHBS, DHBS を用いたとき、それぞれ HMBS (Ex 380, Em 465 nm), CHBS (Ex 380, Em 455 nm), DHBS (Ex 355, Em 415 nm) であった。

サリチルアルデヒドセミカルバゾン誘導体は置換基の違いにより程度の差はあるが、水溶液中でそれぞれ強い蛍光を発する。特に、塩基性溶液中ではフェノール性水酸基の解離に伴い、酸性溶液中より更に蛍光性が高められる。一方、それぞれの誘導体は有機相に抽出された際にはほとんど蛍光を発しない。従って、従来水相中ではその高い空試験値のため定量が困難とされてきた、La(III) のような塩基性領域で反応する金属イオンの定量も抽出を行うことで可能となる。

本法において、有機相中の空試験値は、水相中のものと比較した場合、HMBS, CHBS, DHBS のそれぞれが 1/650, 1/800, 1/100 となり、抽出操作を行うことにより空試験値が著しく低減されることが分かった。

3・2 最適条件及び定量範囲

それぞれの試薬を用いたとき、La(III) の定量における最適条件を検討した。最適 pH 及び最適試薬濃度は、

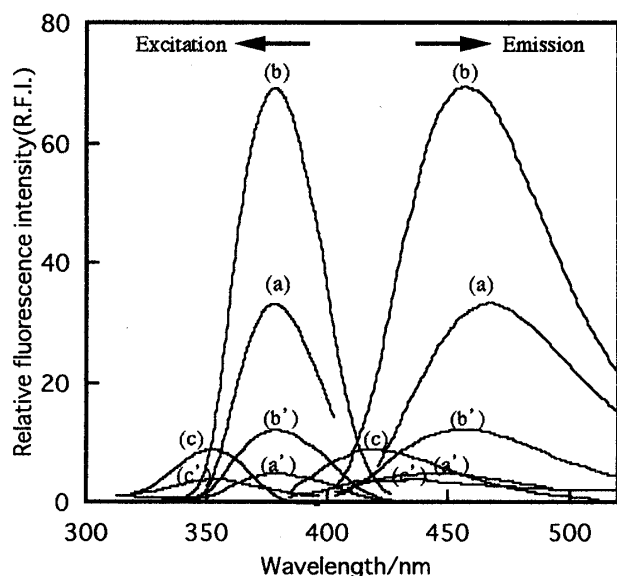


Fig. 1(a) Excitation and emission spectra of lanthanum complexes in chloroform

(a): La-HMBS complex; (a'): HMBS blank; (b): La-CHBS complex; (b'): CHBS blank; (c): La-DHBS complex; (c'): DHBS blank; (a), (a'): HMBS, 8.3×10^{-4} mol/l; DBS, 2.8×10^{-4} mol/l; pH, 8.6; (b), (b'): CHBS, 5.6×10^{-4} mol/l; DBS, 2.3×10^{-4} mol/l; pH, 8.6; (c), (c'): DHBS, 8.2×10^{-4} mol/l; DBS, 4.6×10^{-4} mol/l; pH, 8.8. La(III): 25 μ g; DMF: 16%, Shaking time: 10 min; Aqueous phase: 25 ml; Organic phase: 10 ml (chloroform)

pH が HMBS, CHBS, DHBS においてそれぞれ 8.6, 8.6, 8.8, 試薬濃度がそれぞれ 8.3×10^{-4} , 5.6×10^{-4} , 8.2×10^{-4} mol/l, DBS 濃度がそれぞれ 2.8×10^{-4} , 2.3×10^{-4} , 4.6×10^{-4} mol/l であった。単一置換基の変化により蛍光強度, 最適条件が著しく変化しており, 蛍光試薬における置換基効果が非常に大きいものであることが分かる [Fig. 2(a), (b), (c)]。基本操作に従い検量線を作成した結果, いずれの試薬を用いた場合でも 0~4 ppm の範囲で良好な直線関係が得られた。HMBS, CHBS, DHBS を用いた場合, La(III) の検出限界 ($S/N=3$) は, それぞれ 25, 35, 90 ppb であった。検討した試薬のうち, 最も検出限界が低かった HMBS を使用した場合, 400 ppb La(III) における相対標準偏差 (RSD) は 7 回の繰り返し実験で 2.4% であった。

3.3 La(III) 錯体の蛍光強度に及ぼす置換基の影響 サリチルアルデヒドセミカルバゾン誘導体の置換基を

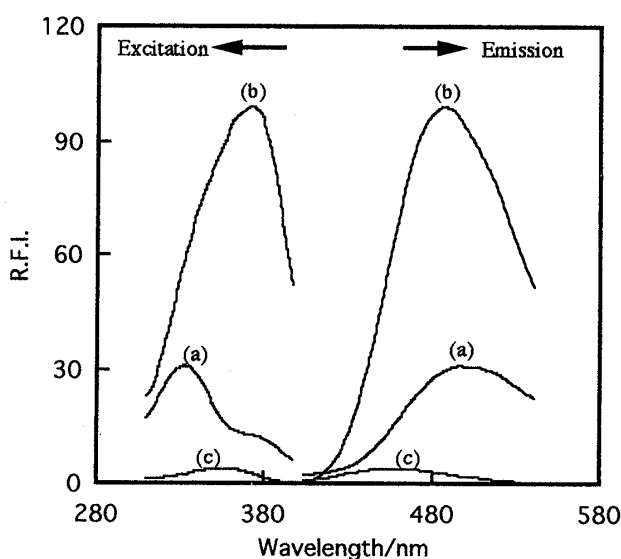


Fig. 1(b) Excitation and emission spectra of ligands in aqueous media

(a): HMBS, 8.3×10^{-6} mol/l; pH, 8.6; (b): CHBS, 5.6×10^{-6} mol/l; pH, 8.6; (c): DHBS, 8.2×10^{-6} mol/l; pH, 8.8; DMF, 16%

変化させ, La(III) の定量感度に及ぼす置換基の影響について検討した。抽出を行った際の La(III) の定量下限は錯体の抽出率及び有機相中での錯体と空試験液の蛍光強度の比で決定される。蛍光強度は蛍光物質の蛍光量子収率, モル吸光係数及び濃度の積で決定される。そこで有機相中における La(III) 錯体の蛍光量子収率, モル吸光係数, 抽出率, 蛍光の感度係数と水相中における試薬の蛍光量子収率, モル吸光係数, 蛍光の感度係数を調べた。結果を Table 1 に示す。La-HMBS, La-CHBS 錯体は抽出率がそれぞれ, 96, 98% であり, 有機相 (クロロホルム) によく抽出された。La-DHBS 錯体は抽出率が 34% であり, 抽出性は劣っていた。よって, 錯体自体の感度係数の値は HMBS と DHBS においてほぼ同様な値であったが, 抽出率の差が実際の有機相中における錯体の蛍光強度の違いを生ずる原因となっている。又, CHBS の錯体の感度係数は HMBS の 1.7 倍となった。

3.4 MOPAC から得られた電子密度による置換基効果の検討

3.4.1 ケト-エノール互変異性体の電子密度分布
一般にキレート試薬を用いて金属の定量を行う際, 試薬自身の蛍光性は錯体, 空試験液の蛍光強度に大きな影響を与える。従って, キレート試薬の置換基効果を検討す

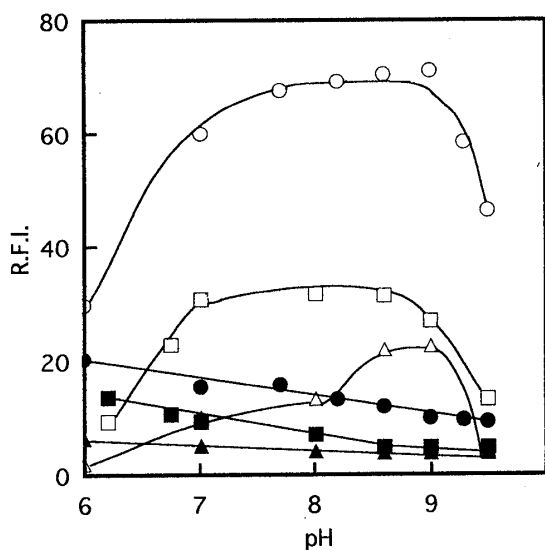


Fig. 2(a) Effect of pH on R. F. I. of La complexes
 □: La-HMBS complex; ■: HMBS blank; ○: La-CHBS complex; ●: CHBS blank; △: La-DHBS complex; ▲: DHBS blank; □, ■: HMBS, 8.3×10^{-4} mol/l; DBS, 2.8×10^{-4} mol/l; La(III), 25 μ g; ○, ●: CHBS, 5.6×10^{-4} mol/l; DBS, 2.3×10^{-4} mol/l; La(III), 25 μ g; △, ▲: DHBS, 8.2×10^{-4} mol/l; DBS, 4.6×10^{-4} mol/l; La(III), 50 μ g. DMF: 16%; Shaking time: 10 min; Aqueous phase: 25 ml; Organic phase: 10 ml

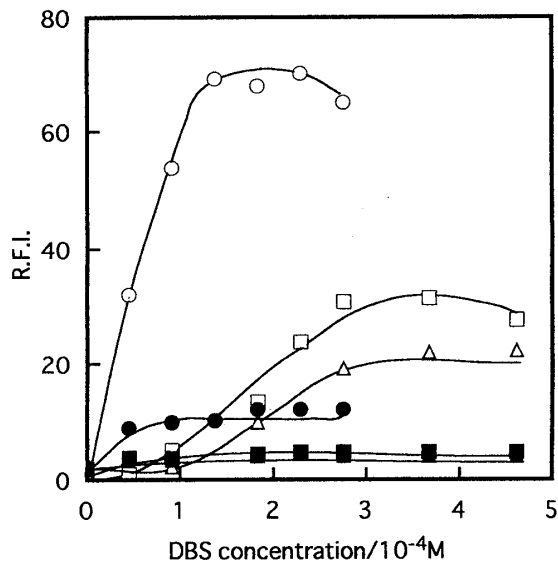


Fig. 2(c) Effect of DBS concentration on R. F. I. of La complexes
 Conditions refer to Fig. 2(a), (b).

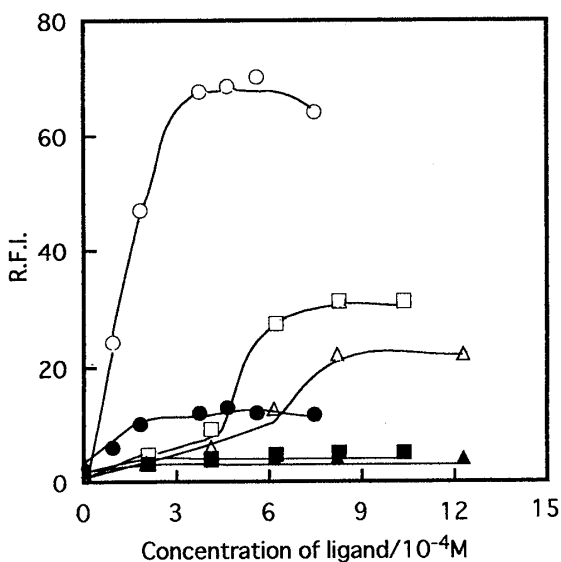
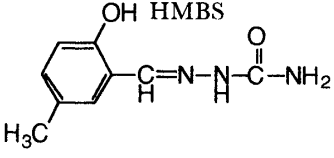
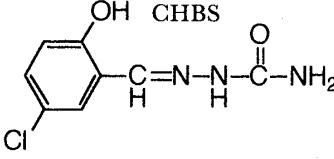
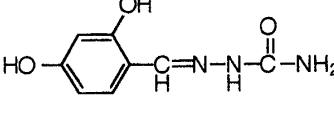


Fig. 2(b) Effect of concentration of ligands on R. F. I. of La complexes
 □, ■: pH 8.6; ○, ●: pH 8.6; △, ▲: pH 8.8; other conditions refer to Fig. 2(a).

ることは優れた蛍光試薬の開発において極めて重要な意味を持つ。そこで、サリチルアルデヒドセミカルバゾン誘導体の置換基の違いにより、試薬自身の蛍光強度の差が生じる原因について考察するため、MOPAC による電子密度分布の計算を行った。得られた電子密度分布を Table 2 に示す。この値が、マイナスのときは通常の状態（共鳴などによる電子密度の変化が全く起こらない状態）より電子が過剰にあることを示し、プラスのときは電子が不足していることを示す。サリチルアルデヒドセミカルバゾン誘導体にはケト-エノール互変異性体が存在し、その両者について計算を行った。電子密度の計算結果から全体的には、ケト型、エノール型の違いにおいてベンゼン環中のそれぞれの炭素原子（1~6）の電子密度はほとんど変化しなかった。又、置換基の違いによってセミカルバゾン中の原子（10~15）の電子密度もほとんど変化しなかった。

3・4・2 吉田の経験則に基づく検討 蛍光試薬に関する置換基の効果は吉田らの経験則⁶⁾により示されているが、この法則を置換基と芳香環の電子の授受に注目して考えると、置換基が 2 個以上存在する場合は、芳香環の中に電子を押し出し、更に芳香環中の電子が均一に分布するような位置に置換基が導入された場合に物質の蛍光強度が増すという結論が得られる。この経験則に従って置換基の違いによって蛍光強度が異なる理由について考察した。DHBS は 2 位、4 位のフェノール性水酸基の *R* 効果の結果、ベンゼン環中の炭素原子の 2,4,6

Table 1 Effect of substituents on the fluorescence intensities of Schiff base ligands

Ligand	Molecular state	Excitation wavelength/nm	ϕ	ϵ_{Max}	Extractability, † %	Sensitivity factor
 HMBS	Extracted La-complex	380	0.045	1800	96	1.23
	Undissociated	330	0.022	6300	—	1.33
	Dissociated at 2 position	366	0.12	9300	—	11.9
 CHBS	Extracted La-complex	380	0.040	4300	98	2.28
	Undissociated	330	0.047	8500	—	4.33
	Dissociated at 2 position	370	0.19	10200	—	21.6
 DHBS	Extracted La-complex	355	0.0071	8400	34	1.2
	Undissociated	344	0.0011	1200	—	0.0158
	Dissociated at 4 position	360	0.0061	6200	—	0.453
	Dissociated at 2,4 position	365	0.0009	17700	—	0.203

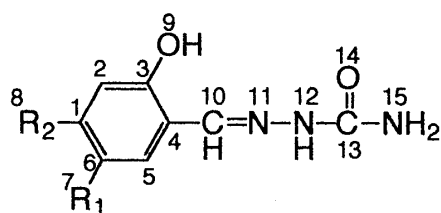
 † Organic phase: chloroformHMBS: $R_1=\text{CH}_3$, $R_2=\text{H}$ CHBS: $R_1=\text{Cl}$, $R_2=\text{H}$ DHBS: $R_1=\text{H}$, $R_2=\text{OH}$

Table 2 (a) Electron densities calculated by MOPAC

Ligand	HMBS		CHBS		DHBS	
Dissociation state	Undissociated		Undissociated		Undissociated	
	keto-type	enol-type	keto-type	enol-type	keto-type	enol-type
1C	-0.061	-0.070	-0.053	-0.061	0.175	0.166
2C	-0.190	-0.186	-0.179	-0.175	-0.290	-0.285
3C	0.146	0.133	0.164	0.151	0.290	0.193
4C	-0.174	-0.162	-0.164	-0.151	-0.231	-0.219
5C	-0.056	-0.067	-0.043	-0.055	0.001	-0.011
6C	-0.136	-0.131	-0.203	-0.198	-0.238	-0.235
7R1	-0.071 (0.054 $\times$ 3)	-0.073 (0.054 $\times$ 3)	0.058	-0.057	—	—
8R2	—	—	—	—	-0.291 (0.260)	-0.292 (0.259)
9O(H)	-0.329 (0.268)	-0.327 (0.257)	-0.328 (0.270)	-0.324 (0.258)	-0.326 (0.271)	-0.324 (0.259)
10C	-0.050	-0.092	-0.054	-0.099	-0.032	-0.075
11N	-0.138	-0.064	-0.131	-0.056	-0.153	-0.078
12N	0.073	-0.577	0.074	-0.577	0.071	-0.575
13C	0.248	0.170	0.248	0.170	0.248	0.171
14O	-0.685	-0.282	-0.685	-0.282	-0.687	-0.283
15N	0.140	0.322	0.143	0.328	0.137	0.313

The value in parenthesis indicates electron densities for protons of hydroxy group and methyl group.

Table 2 (b) Electron densities calculated by MOPAC

Ligand	HMBS		CHBS		DHBS		DHBS	
	Dissociated at 2 position		Dissociated at 2 position		Dissociated at 4 position		Dissociated at 2,4 position	
Dissociation state	keto-type	enol-type	keto-type	enol-type	keto-type	enol-type	keto-type	enol-type
1C	-0.024	-0.033	-0.019	-0.027	0.372	0.365	0.373	0.362
2C	-0.354	-0.364	-0.346	-0.356	-0.450	-0.440	-0.624	-0.620
3C	-0.363	-0.348	0.375	0.361	0.241	0.227	0.415	0.398
4C	-0.338	-0.328	-0.323	-0.311	-0.353	-0.341	-0.440	-0.432
5C	-0.020	-0.035	-0.003	-0.022	0.032	0.214	0.041	0.027
6C	-0.259	-0.263	-0.315	-0.323	-0.385	-0.385	-0.453	-0.468
7R1	-0.051 (0.044×3)	-0.051 (0.043×3)	0.022	0.023	—	—	—	—
8R2	—	—	—	—	-0.772	-0.778	-0.805	-0.820
9O	-0.735	-0.726	-0.715	-0.704	-0.336 (0.269)	-0.336 (0.259)	-0.748	-0.739
10C	0.154	-0.050	0.009	-0.059	0.015	-0.027	0.055	-0.113
11N	-0.224	-0.120	-0.213	-0.108	-0.210	-0.133	-0.287	-0.168
12N	0.059	-0.584	0.061	-0.585	0.065	-0.572	0.061	-0.579
13C	0.243	0.174	0.244	0.174	0.247	0.171	0.239	0.171
14O	-0.702	-0.296	-0.701	-0.295	-0.692	-0.285	-0.708	-0.298
15N	0.114	0.271	0.116	0.278	0.123	0.286	0.102	0.252

The value in parenthesis indicates electron densities for protons of hydroxy group and methyl group. 2-position: 2-hydroxy group, 4-position: 4-hydroxy group.

Table 3 Energy gap of salicylaldehyde semicarbazone derivatives

Dissociation state	HMBS keto-type		CHBS keto-type		DHBS keto-type		
	Undissociated	Dissociated	Undissociated	Dissociated	Undissociated	Dissociated at 4 position	Dissociated at 2,4 positions
HOMO energy (kcal/mol)	-8.786	-7.924	-8.824	-8.020	-8.697	-8.127	-7.766
LUMO energy (kcal/mol)	-0.703	-0.309	-0.794	-0.396	-0.666	-0.284	0.030
Energy gap (kcal/mol)	8.083	7.615	8.030	7.624	8.031	7.843	7.796
Dissociation state	Enol-type		Enol-type		Enol-type		
	Undissociated	Dissociated	Undissociated	Dissociated	Undissociated	Dissociated at 4 position	Dissociated at 2,4 positions
HOMO energy (kcal/mol)	-8.637	-7.782	-8.672	-7.868	-8.552	-8.042	-7.602
LUMO energy (kcal/mol)	-0.624	-0.161	-0.714	-0.244	-0.587	-0.206	0.164
Energy gap (kcal/mol)	8.013	7.621	7.958	7.624	7.965	7.836	7.766

{Table 2(a) 中の分子構造に対する番号} の電子が過剰となり, 更に *I* 効果の結果, 1,3 の電子が不足した状態

になっている. つまり, DHBS は HMBS, CHBS と比較して芳香環中の電子分布が不均一な状態となってい

た. 更に, DHBS のベンゼン環中の電子は HMBS, CHBS のものと比較すると不足している状態となっていた. この結果, DHBS の蛍光強度が HMBS, CHBS より非常に低くなったと考えられる {Fig. 1(b)}. 又, HMBS と CHBS の電子密度分布を比較した結果, 大きな違いは見られず蛍光強度の差が生じる原因は明らかでない. 次に, フェノール性水酸基が解離したものと解離していないもので蛍光強度が異なる原因について考察した. フェノール性水酸基はプロトンが解離することにより, ベンゼン環中に電子を強く供与する. Table 2(b) 中の電子密度分布からも分かるが, フェノール性水酸基が解離したもののほうが解離していないものよりベンゼン環中の電子が過剰に存在している. このため, 解離したものの蛍光強度が解離していないものと比較して非常に大きなものとなったと考えられる. 一方, DHBS において, プロトンが一つ解離したもののほうが二つ解離したものより大きい蛍光強度が得られた. 二つ目のプロトンの解離によりベンゼン環中の電子密度は一つ解離した場合より増大するが, 芳香環中の電子の分布が非常に偏りのあるものとなり, その結果, 蛍光強度が小さくなったと考えられる.

3・4・3 HOMO と LUMO のエネルギー差 MOPAC により, それぞれの試薬における分子軌道関数のエネルギー準位を計算した. その結果を Table 3 に示す. 置換基の違いにより, 分子軌道関数のエネルギー差に大きな違いは現れなかったが, 試薬の解離状態の違いにより HOMO と LUMO のエネルギー差に違いが見られた. 試薬が解離した場合には, 解離していない場合に比べてエネルギー差が小さくなっている. つまり, 試薬が解離することにより, エネルギー的に安定な状態になると考えられ, この結果は, 試薬の解離により UV スペク

トルが長波長側にシフトすることと一致した. このことは解離したもののほうがより安定な励起状態を取り得ることを示唆している. サリチルアルデヒドセミカルバゾン誘導体は試薬の解離により, 著しく蛍光強度を増すが, フェノール性水酸基の解離に伴い試薬がより安定な励起状態を取り得ることは, 先に示した電子密度分布が蛍光強度に及ぼす影響と本質的に同じであり重要な因子になると考えられる.

本研究において, 3 種類のサリチルアルデヒドセミカルバゾン誘導体について La 定量最適条件を検討した結果, HMBS を用いた際に最も低い検出限界, 25 ppb が得られた. 置換基の違いによって La(III) の検出限界に及ぼす影響について検討したところ, 抽出率, 空試験液の蛍光強度が重要な要因となった.

MOPAC による計算結果は吉田の経験則とよく一致し, シッフ塩基の一つであるサリチルアルデヒドセミカルバゾンとその誘導体の蛍光強度を推定できることが示唆された.

文 献

- 1) 平木敬三, 辻本善守, 合田四郎, 西川泰治, 重松恒信: 近畿大学理工学部研究報告, **6**, 57 (1970).
- 2) 日本分析化学会編: “分析化学実験ハンドブック”, p. 419 (1987), (丸善).
- 3) K. Morishige: *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **40**, 843 (1978).
- 4) 渡辺 邦洋, 鎌形 忠, 板垣 昌幸: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **44**, 609 (1995).
- 5) D. C. Freeman, Jr., C. E. White: *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 2678 (1956).
- 6) 吉田善一, 小田良平: 有機合成協会誌, **9**, 230 (1951).

要 旨

サリチルアルデヒドセミカルバゾン型のシッフ塩基は, 塩基性溶液中で La(III) と反応し発蛍光性の錯体を生成するが, 塩基性領域では過剰試薬が著しく強い蛍光を発するため水溶液中での La(III) の蛍光定量は困難であった. そこでドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウムを併用する抽出法を検討した. 正の電荷を持つ La 錯体はクロロホルム中に抽出され, 更にクロロホルム中において一部抽出された過剰試薬はほとんど蛍光を発しなかったため La(III) の定量が可能となった. 又, 3 種類のサリチルアルデヒドセミカルバゾン誘導体について検討を行い, 置換基の違いによって La(III) の定量感度に差が生じる原因について検討した. 更に, MOPAC の計算により置換基の違い, 解離状態の変化により試薬自身の蛍光量子収率の差が生じる原因について電子密度分布, 分子軌道関数のエネルギー差から検討を行った.