

Über die Lumineszenz des Luminols. VI. Heterogene Katalyse der Luminolreaktion*

K. Weber und K. F. Schulz

Institut für medizinische Forschung der Jugoslavischen Akademie der Wissenschaften
und Künste, Zagreb, Kroatien, Jugoslavien

Eingegangen am 11. Juni 1954

Die Reaktion des Luminols (3-Aminophthalsäure-hydrazid) mit Wasserstoffperoxyd als Sauerstoffdonator wurde in alkalischer wässriger Lösung bei Zusatz von Eisen (II) Phthalocyanin . 6 Anilin, das bei den Versuchsbedingungen kaum im Reaktionsgemisch löslich ist, durch Messungen der emittierten Lumineszenzintensitäten in Abhängigkeit von der Reaktionszeit untersucht. Der Einfluss der Konzentration des Wasserstoffperoxyds und der Natronlauge, sowie der hinzugefügten Katalysatormenge wurde besonders erforscht. Desgleichen auch die Inhibitorwirkungen, die auf diese Reaktion durch Zusatz von Kaliumcyanid, oder von Anilin zum Reaktionsgemisch ausgeübt werden.

Alle erhaltenen Versuchsergebnisse entsprechen prinzipiell den Resultaten die früher für die selbe Reaktion bei Anwendung von homogenen Katalysen, besonders bei Zusatz von löslichen Eisen (III) Komplexverbindungen erhalten wurden. Es scheint in diesem Falle kein wesentlicher Unterschied zwischen homogener und heterogener Katalyse der Luminolreaktion vorhanden zu sein.

Versuche mit Kupfer (II) Salizylaldehydäthylendiimin als Katalysator, das gleichfalls praktisch unlöslich im Reaktionsgemisch ist, führten hingegen zu wesentlich verwickelteren Ergebnissen. Es wurde festgestellt, dass die Lumineszenzdauer und die maximale Helligkeit des emittierten Lichtes von der Vorbehandlung des Katalysators mit den einzelnen Reaktionskomponenten abhängig ist. Es wurden merkwürdige Abklingungskurven der Lumineszenz erhalten, die schwer einer Deutung zugänglich sind.

Das Lumineszenzlicht, das bei der oxydativen Zerlegung des Luminols (3-Aminophthalhydrazids) durch Wasserstoffperoxyd in alkalischer Lösung vom Reaktionsgemisch ausgestrahlt wird, hat eine verhältnismässig sehr geringe Intensität, was mit der geringen Reaktionsgeschwindigkeit der nichtkatalysierten Reaktion zusammenhängt. Durch Zusatz von entsprechenden Katalysatoren, namentlich komplexen Eisenverbindungen, wie Hämin und Häminproteiden, wird das emittierte Licht ganz unvergleichlich intensiver und erst so einer eigentlichen Erforschung zugänglich. Da von allen Katalysatoren dieser Reaktion die Komplexe mit Hämineisen sich am wirksamsten erwiesen haben, lag es nahe auch die Wirkung von anderen Schwermetall-

* V. Mitteil.: *Arhiv kem.* 23 (1951) 173. [IV. bis I. Mitteil.: *Ber.* 76 (1943) 366; 75 (1942) 2051, 1141, 565.] Eine zusammenfassende Darstellung der Arbeiten über die Lumineszenz des Luminols mit vollständigem Literaturverzeichnis gab kürzlich A. Etienne in dem Artikel: *Heterocycles Hexaminiques* in V. Grignards, *Chimie organique*, p. 1129 ff. Paris 1952.

komplexen, die eine dem Häm bzw. Hämin ähnliche chemische Konstitution besitzen, zu erforschen. So haben H. Thielert und P. Pfeiffer¹, sowie N. H. Cook² festgestellt, dass verschiedene Phthalocyanine, besonders das Eisen (II) Phthalocyanin. 6 Anilin, die Luminolreaktion sehr gut katalysieren, wenn man sie dem Reaktionsgemisch als fein verriebenes Kristallpulver hinzufügt. Da quantitative Versuche über diese heterogene Katalyse der Chemilumineszenz des Luminol in wässriger Lösung bisher nicht veröffentlicht wurden, haben wir uns entschlossen diese Erscheinung näher zu untersuchen.

DIE VERSUCHSMETHODE

Die Messung der Lumineszenzintensitäten in Abhängigkeit von der Reaktionszeit erfolgte mit einer in den früheren Arbeiten beschriebenen photoelektrischen Apparatur. Die Luminolkonzentration betrug jeweils $1,76 \cdot 10^{-2}$ Mol/l, während die Konzentrationen der Natronlauge und des Wasserstoffperoxyds in den Grenzen von: NaOH : $0,5 \cdot 10^{-2}$ — $8,5 \cdot 10^{-2}$ Mol/l und H_2O_2 : $0,88 \cdot 10^{-2}$ — $52,8 \cdot 10^{-2}$ Mol/l, variiert wurden. Das Endvolumen des Reaktionsgemisches war immer 50 ml und der Katalysator wurde in feingepulvertem Zustand (0,0071—0,1126 g) der Reaktionslösung hinzugefügt, die während der Versuchsdauer unter ständigem intensiven Rühren stand.

Die jeweiligen Katalysatormengen wurden demselben Vorrat entnommen und unterschieden sich also weder bezüglich der Vorbehandlung noch der Korngröße.

Die Galvanometerauschläge (G) der stets gleich empfindlichen photoelektrischen Apparatur, deren Zahlenwerte als Ergebnisse der Messungen mitgeteilt werden, waren den jeweiligen Lumineszenzintensitäten proportional. Als Lichtsumme wird die gesamte ausgestrahlte Lichtenergie bezeichnet, deren relatives Mass das Integral der Intensitäts-Zeitkurven der Lumineszenz darstellt.

DIE VERSUCHSERGEBNISSE

Wie schon erwähnt wurde ist die Intensität der Lumineszenz des Luminols ohne Katalysatorzusatz sehr gering. Bei unseren Versuchsbedingungen ist die Lumineszenz visuell gerade noch wahrnehmbar. Durch die hier untersuchte heterogene Katalyse werden die *maximalen Intensitätswerte* in Bezug auf die Intensitäten der nichtkatalysierten Reaktion, jedoch etwa im Verhältnis 900 : 1 erhöht. Ungefähr im gleichen Verhältnis erhöhen sich auch die *Licht-*

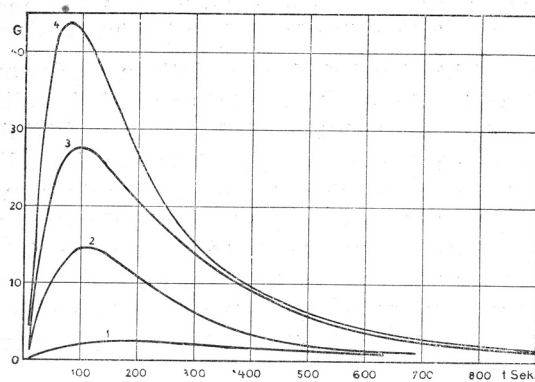


Abb. 1. Intensitäts-Zeitkurven der Lumineszenz bei verschiedenen H_2O_2 -Konzentrationen. 1. $0,88 \cdot 10^{-2}$, 2. $1,76 \cdot 10^{-2}$, 3. $2,64 \cdot 10^{-2}$ und 4. $3,52 \cdot 10^{-2}$ Mol/l H_2O_2 .

Sl. 1. Ovisnost intenziteta luminescencije o reakcionom vremenu kod različitih koncentracija vodikova peroksida. 1. $0,88 \cdot 10^{-2}$, 2. $1,76 \cdot 10^{-2}$, 3. $2,64 \cdot 10^{-2}$ i 4. $3,52 \cdot 10^{-2}$ mol/l H_2O_2 .

summen durch Zusatz des Eisenphthalocyanis. Die praktische Lumineszenzdauer, in der etwa 99% des gesamten austrahlbaren Lumineszenzlichtes emittiert werden, liegt zwischen 2 und 17 Minuten.

Bei der Untersuchung des Einflusses der H_2O_2 — Konzentration wurden Lumineszenzkurven erhalten, wie sie in der Abb. 1. dargestellt sind. Mit zunehmender H_2O_2 -Menge im Reaktionsgemisch nimmt, bei sonst konstanten Versuchsbedingungen, sowohl die maximale Intensität der Lumineszenz (G_m), als auch die Lichtsumme wesentlich zu. Steigert man jedoch die Konzentration des H_2O_2 immer weiter, so läuft die Intensitätskurve durch ein Maximum (Abb. 2.), das einer optimalen Konzentration entspricht, bei deren Überschrei-

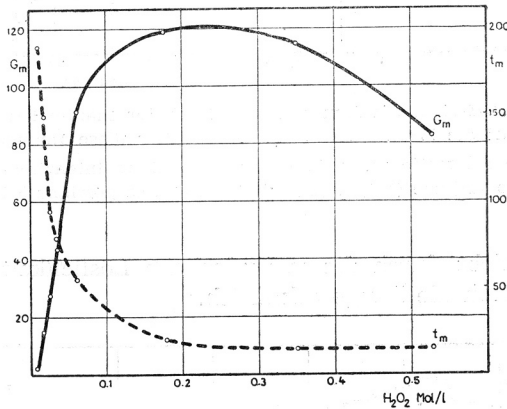


Abb. 2. Einfluss der H_2O_2 -Konzentration auf den Wert der maximalen Intensität der Lumineszenz (G_m) und auf die Reaktionszeit (t_m) in welcher diese Intensität erreicht wird.

Sl. 2. Utjecaj H_2O_2 -koncentracije na vrijednost maksimalnog intenziteta luminescencije (G_m) i na reakciono vrijeme (t_m), koje je potrebno za postizavanje tog intenziteta.

tung die maximale Lumineszenzhelligkeit wieder abnimmt. In diesem Gebiet der zu grossen H_2O_2 - Konzentrationen sind die Messungen der Lumineszenzintensitäten schwer reproduzierbar. Anscheinend verlaufen bei diesen Versuchsbedingungen ausser der eigentlichen Luminolreaktion auch noch andere Nebenreaktionen, wie z. B. die katalatische Zerlegung des H_2O_2 durch das Eisenphthalocyanin. Die Reaktionszeit (t_m) bei der innerhalb eines Versuches die Lumineszenzintensität ihren maximalen Wert erreicht, nimmt mit zunehmender H_2O_2 - Konzentration wesentlich ab und nähert sich einem Minimalwert (Abb. 2.).

Ein ähnlicher Einfluss wurde auch für die Konzentration der Natronlauge im Reaktionsgemisch erhalten. Die Kurve der maximalen Lumineszenzintensität verläuft auch hier über ein Maximum (Abb. 3.). Allzugrosse Laugenkonzentration ist demzufolge der Lumineszenz, gleichfalls nicht förderlich. Die entsprechende Kurve für die Reaktionszeit t_m weist jedoch einen sehr merkwürdigen Verlauf auf. Im Gebiete kleiner Laugenkonzentrationen erhält man mit zunehmendem Laugenzusatz längere Perioden der intensiven Lumineszenz, die aber dann wieder kürzen und nochmals länger werden (Abb. 3.). Dieses

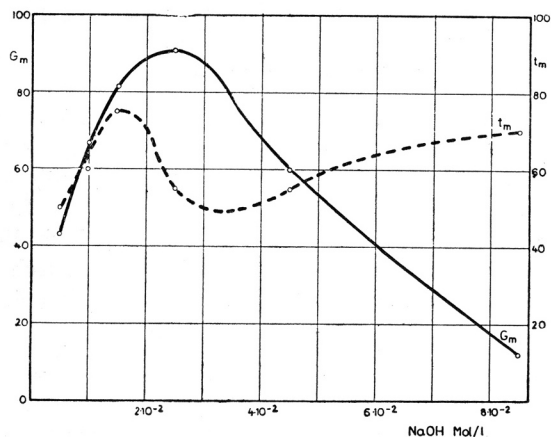


Abb. 3. Einfluss der NaOH-Konzentration auf den Wert der maximalen Intensität der Luminescenz (G_m) und auf die Reaktionszeit (t_m) in welcher diese Intensität erreicht wird.

Sl. 3. Utjecaj NaOH-koncentracije na vrijednost maksimalnog intenziteta luminescencije (G_m) i na reakciono vrijeme (t_m), koje je potrebno da se postigne taj intenzitet.

Verhalten ist vielleicht durch die veränderliche Löslichkeit bzw. Zersetzung des Katalysators durch die Lauge erklärlich.

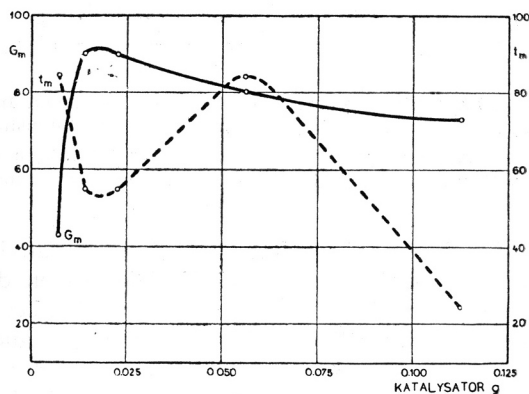


Abb. 4. Einfluss der Katalysatorkonzentration auf den Wert der maximalen Intensität der Luminescenz (G_m) und der Reaktionszeit (t_m), in welcher diese Intensität erreicht wird.

Sl. 4. Utjecaj koncentracije katalizatora na vrijednost maksimalnog intenziteta luminescencije (G_m) i na reakciono vrijeme (t_m), koje je potrebno da se postigne taj intenzitet.

Bei Änderung der *Katalysatormenge* im Reaktionsgemisch wurden für die maximale Lumineszenzintensität (G_m) und für die Reaktionszeit t_m die Kurven der Abb. 4. erhalten. Die Intensitätskurve steigt steil an mit zunehmender Katalysatormenge, um nach Erreichung eines Maximums allmählich abzufallen. Für die Katalysatormenge im Reaktionsgemisch besteht also auch ein optimaler Wert, der den günstigsten Bedingungen für die Luminescenz entspricht. Die Kurve der Reaktionszeit t_m hat wieder einen verwickelteren Verlauf, mit

einem Minimum bei der optimalen Katalysatormenge und einem zweiten Maximum, das schwer näher erklärt werden kann.

Der Einfluss der angeführten Faktoren auf die heterogene Katalyse der Lumineszenz des Luminols ist prinzipiell identisch mit dem Einfluss derselben Faktoren auf die homogenen Katalysen dieser Reaktion³. Allgemein kann man sagen, dass die Lumineszenz in verdünnten Lösungen der Reaktionskomponenten am meisten zum Ausdruck kommt und in solchen Lösungen ein normaler Einfluss der Konzentrationen der einzelnen Komponenten zu beobachten ist.

Von den bekannten *Inhibitoren* (negativen Katalysatoren), die sich besonders der katalytischen Wirkung der Eisenkomplexe gegenüber zu äussern pflegen, haben wir den Einfluss des Kaliumcyanids und des Anilins auf die heterogen katalysierte Lumineszenz des Luminols näher untersucht. Die erhaltenen Intensitäts — Zeitkurven ($G-t$) der Lumineszenz bei Ab — bzw. Anwesenheit von KCN in verschiedener Konzentration, sind in der Abb. 5. wiedergegeben. Es ist ersichtlich, dass sowohl die maximale Intensität der Lumineszenz als auch die Lichtsumme mit steigender Cyanidkonzentration wesentlich abnimmt. Die Halbwertszeit der Inhibition d. h. die molare Konzentration des KCN bei der die maximale Helligkeit der Lumineszenz auf die Hälfte herabgesetzt ist, beträgt etwa $2,5 \cdot 10^{-4}$ Mol/l KCN.

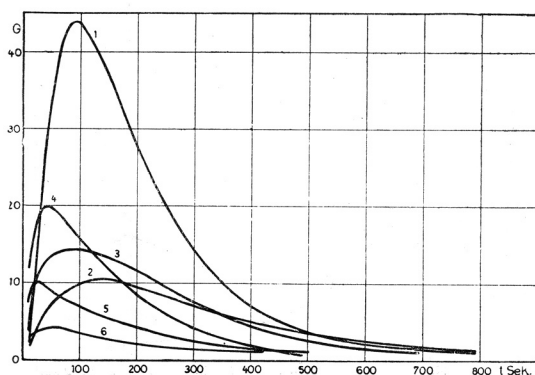


Abb. 5. Intensitäts-Zeitkurven der Lumineszenz bei Anwesenheit von KCN als Inhibitor in verschiedenen Konzentrationen. 1. Ohne KCN-Zusatz, 2. $1 \cdot 10^{-3}$, 3. $2 \cdot 10^{-3}$, 4. $4 \cdot 10^{-3}$, 5. $1 \cdot 10^{-2}$ und 6. $2 \cdot 10^{-2}$ Mol/l KCN.

Sl. 5. Ovisnost intenziteta luminescencije o reakcionom vremenu kod različitih koncentracija KCN, kao inhibitora: 1. bez dodatka KCN, 2. $1 \cdot 10^{-3}$, 3. $2 \cdot 10^{-3}$, 4. $4 \cdot 10^{-3}$, 5. $1 \cdot 10^{-2}$ i 6. $2 \cdot 10^{-2}$ ml/l KCN.

Den Mechanismus der Inhibition können wir uns so vorstellen, dass das Cyan sich an die freien Koordinationsstellen des Eisens im Phthalocyanin anlagert und dadurch die Bildung einer Additionsverbindung des Katalysators mit dem Peroxyd des Luminols verhindert. Das intermediäre Entstehen einer solchen Additionsverbindung wird aber als grundlegende Voraussetzung für eine katalytische Wirkung der Eisenkomplexe betrachtet⁴, weshalb alle Prozesse die den Eisenkomplex in anderer Richtung beanspruchen inhibierend wirken. Im Eisen (II) Phthalocyanin .6 Anilin sind zwar voraussichtlich alle

6 Koordinationsstellen des Eisens schon besetzt, die letzten zwei wohl durch das Anilin, es ist aber bekannt⁵, dass eine dieser Bindungen besonders locker zu sein scheint, wodurch Molekülgruppen die an ihr haften leicht durch andere stärker bindende Gruppen ersetzt werden können. Im gegebenen Falle scheint also ein Anilinmolekül des Komplexes bei der eigentlichen Luminolreaktion durch das Peroxyd des Luminols verdrängt zu werden, wodurch die Additionsverbindung des Katalysators und des Substrates entsteht und die katalysierte Reaktion stattfinden kann. Bei der Inhibition verdrängt hingegen das Cyan das betreffende Anilinmolekül und lagert sich so fest an den Eisenkomplex, dass die Bildung der Additionsverbindung zwischen dem Katalysator und dem als Substrat dienenden Peroxyd des Luminols verhindert wird.

Bei dem heterogenen System wird der angeführte Mechanismus der Katalyse, oder Inhibition insofern komplizierter, als man die einzelnen Teilchen der Katalysatorkristalle als Makromoleküle wird betrachten müssen, an deren Oberfläche eine Anzahl von relativ labil gebundenen Anilinmolekülen sitzen, die durch Substrat-, bzw. Inhibitormoleküle ersetzt werden können. Diese Oberflächenprozesse können dann auch wesentlich verwickelter verlaufen, als die analogen Prozesse in der homogenen Lösung. Mit solchen Prozessen scheint es Zusammenzuhängen, dass die gemessene Inhibitorwirkung eine merkwürdige

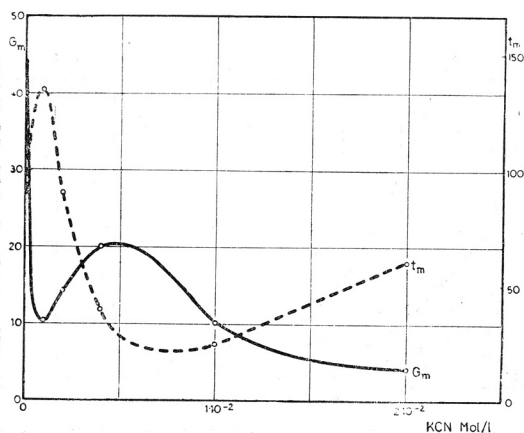


Abb. 6. Einfluss der KCN-Konzentration auf den Wert der maximalen Intensität der Lumineszenz (G_m) und der Reaktionszeit (t_m), in welcher diese Intensität erreicht wird.

Sl. 6. Utjecaj koncentracije KCN na vrijednost maksimalnog intenziteta luminescencije (G_m) i na reakciono vrijeme (t_m), koje je potrebno da se postigne taj intenzitet.

Abhängigkeit von der Inhibitorkonzentration aufweist. Wie die Kurven der Abb. 6. zeigen, nimmt die maximale Intensität der Lumineszenz mit zunehmender KCN-Konzentration zunächst steil ab, dann jedoch wieder etwas zu und schliesslich wieder in geringerem Masse ab. Diese Art von Inhibitorwirkungen werden normal in homogenen Systemen nicht beobachtet.

Für die Inhibition der heterogenen Katalyse der Luminolreaktion durch Anilin wurde ein wesentlich einfacheres Verhalten festgestellt. Mit zunehmender Anilinkonzentration nimmt die maximale Helligkeit der Lumineszenz etwa nach einer exponentiellen Beziehung stetig ab (Abb. 7.), die Reaktionszeit t_m

aber zu. Die Kurvenverlauf entspricht einer Halbwertskonzentration der Inhibition von $8,7 \cdot 10^{-4}$ Mol/l Anilin. In diesem Falle scheint der Mechanismus der

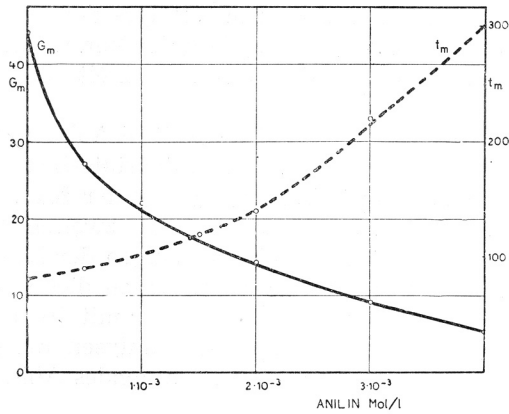


Abb. 7. Einfluss der Anilinkonzentration auf den Wert der maximalen Intensität der Lumineszenz (G_m) und der Reaktionszeit (t_m), in welcher diese Intensität erreicht wird.

Sl. 7. Utjecaj koncentracije anilina na vrijednost maksimalnog intenziteta luminescencije (G_m) i na reakciono vrijeme (t_m), koje je potrebno da se postigne taj intenzitet.

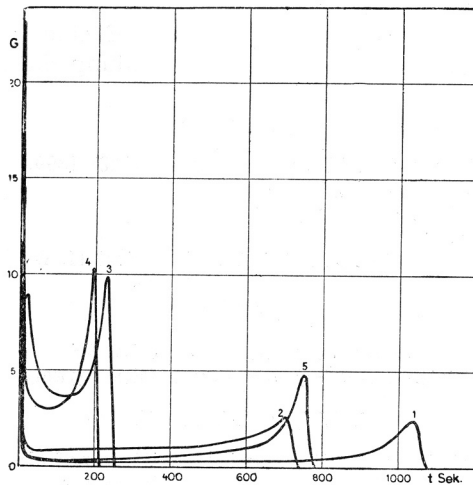


Abb. 8. Intensität-Zeitkurven der Lumineszenz bei Anwesenheit von Kupfer (II) Salizylaldehyd-äthylendiimin als Katalysator, bei verschiedenen Versuchsbedingungen. Das Katalysatorpulver wurde vor Versuchsbeginn 10 Minuten gerührt mit: 1. dem Wasser des Reaktionsgemisches, 2. mit der NaOH- Lösung (kleinere Konzentration), 3. mit der NaOH- Lösung (grössere Konzentration), 4. mit der Luminollösung und 5. mit der Luminol und Laugenlösung.

Sl. 8. Ovisnost intenziteta luminescencije o reakcionom vremenu u prisutnosti bakrenog (II) salicilaldehydtilendiimina kao katalizatora, a pod različnim pokusnim uvjetima. Prašak katalizatora miješan je 10 minuta prije početka pokusa: 1. s vodom reakcione smjese, 2. s otopinom NaOH (manje koncentracije) 3. s otopinom NaOH (veće koncentracije), 4. s otopinom luminola i 5. s otopinom luminola i NaOH.

Inhibition darin zu bestehen, dass mit zunehmender InhibitorKonzentration die Verdrängbarkeit der labil gebundenen Anilinmoleküle vom Eisenatom des Katalysatormoleküls immer schwerer wird.

Weiter Versuche über die heterogene Katalyse der Luminolreaktion haben wir mit dem Kupfer (II) Salizylaldehydäthylendiimin als Katalysator vorgenommen. Das Reaktionsgemisch (50 ml) enthielt jeweils 0,0165 g dieses Stoffes.

Bei der Messung der Lumineszenzhelligkeit in Abhängigkeit von der Reaktionszeit wurde dann festgestellt, dass die Intensitäts-Zeitkurve zwei Maximas aufweist. Das erste liegt unmittelbar am Anfang der Kurve, also beim Beginn der Reaktion, während die Lage und Höhe des zweiten Maximums von der Vorbehandlung des Katalysators mit den Lösungen der Reaktionskomponenten in weiten Grenzen abhängen. Nach dem Erreichen dieses Maximums fällt die Lumineszenzintensität steil, rasch und fast linear mit der Reaktionszeit ab. Bei den anderen homogenen und heterogenen Katalysen dieser Reaktion wurde hingegen immer ein exponentielles, lang verlaufendes Abklingen der Lumineszenzhelligkeit beobachtet.

Einige Intensitäts-Zeitkurven der heterogenen Katalyse der Luminolreaktion mit Kupfer (II) Salizylaldehydäthylendiimin sind in der Abb. 8. verzeichnet. Bei diesen Versuchen wurde der Katalysator jeweils 10 Minuten vor Reaktionsbeginn mit dem Lösungsmittel (H_2O), bzw. mit den Lösungen der einzelnen Reaktionskomponenten intensiv gerührt und erst dann die anderen Reaktionskomponenten hinzugefügt.

Die Ergebnisse dieser Messungen weisen auf einen sehr komplizierten, schwer deutbaren Reaktionsverlauf bei Verwendung dieses Katalysators hin.

LITERATUR

1. H. Thielert und P. Pfeiffer, *Ber.* **71** B (1938) 1399.
2. A. H. Cook, *J. Chem. Soc.* **1938**, 1845.
3. Vergl. die II. und III. Mitteilung.
4. Vergl. die V. Mitteilung.
5. *Abeggs. Handb. d. Anorg. Chem.* Bd. IV. Abt. 3. Teil II. B. S. 527 und 587.

IZVOD

O luminescenciji luminola. VI. Heterogena kataliza luminolske reakcije

K. Weber i K. F. Schulz

Ispitivana je kemijska reakcija luminola (3-aminoftalhidrazid) s vodikovim peroksidom u alkaličnoj otopini i u prisutnosti željeznog (II)-ftalocijanin. 6 anilina kao katalizatora, i to mjerenjima intenziteta luminescencije u ovisnosti o reakcionom vremenu kod različitih pokusnih uvjeta. Za rad je upotrebljena fotoelektrična aparatura, koja je prikazana u prijašnjim publikacijama. Kako je katalizator dodan reakcionoj smjesi — u kojoj nije topljiv — u sitno smrvljenom prahu, radi se kod ovih pokusa o heterogenoj katalizi luminolske reakcije.

Ustanovljeno je, da se *maksimalni intenziteti* luminescencije, koji se postizavaju dodavanjem ovoga katalizatora, odnose prema maksimalnom intenzitetu reakcije, bez prisutnosti katalizatora, po prilici kao 900 : 1. Po prilici u istom se omjeru povećava utjecajem toga katalizatora *zbroj svjetla*, t. j. ukupna količina svjetla emitiranog kemijskom reakcijom (integral krivulje, koja prikazuje ovisnost intenziteta luminescencije o reakcionom vremenu prikazuju slike 1. i 5.). *Vrijeme trajanja*

luminescencije, u kojem se emitira po prilici 99% ukupne energije zračenja, leži — prema pokusnim uvjetima — u granicama između 2 i 17 minuta.

Kvantitativnim mjerenjima ispitivan je utjecaj koncentracije vodikova peroksida (sl. 1. i 2.) i natrijeve lužine (sl. 3.), te utjecaj katalizatora prisutnog u reakcionoj smjesi (sl. 4.) na intenzitet luminescencije. Za ovisnost maksimalnog intenziteta (G_m) o koncentraciji reakcionih komponenata dobivene su krivulje, koje prelaze maksimum, koji odgovara optimalnim uvjetima u pogledu emisije svijetla luminescencije. Reakciono vrijeme, koje je potrebno za postizavanje maksimuma intenziteta (t_m), znatno se smanjuje u području optimalnih radnih uvjeta. U biti isti rezultati dobiveni su u prijašnjim radnjama i za homogenu katalizu luminolske reakcije.

Dodavanjem kalijeva cijanida, ili dodavanjem anilina reakcionim smjesama, znatno se smanjuje maksimalni intenzitet, kao i zbroj svijetla, luminolske reakcije (sl. 5., 6. i 7.). Na temelju rezultata dobivenih za ova inhibitorska djelovanja, dane su neke teoretske pretpostavke o mehanizmu tih procesa.

Pokusi, koji su izvedeni s bakar(II)salicilaldehidetilendiiminom kao heterogenim katalizatorom, dali su drugi oblik krivulja (sl. 8.). Ovim krivuljama pripadaju dva maksimuma, a položaj drugoga maksimuma ovisan je o predobradbi katalizatora s reakcionim komponentama. Dobiveni rezultati pokazuju, da se u ovom slučaju radi o veoma zamršenom mehanizmu katalizirane luminolske reakcije.

Opisanim pokusima s navedenim kompleksnim spojevima željeza, odnosno bakra, pripada određeno značenje i za biološke katalitičke reakcije, jer postoji određena srodnost kod vezanja teških kovina u ftalocijaninima i salicilaldehidetilendiiminu s jedne, te heminskih proteida s druge strane. Kompleksi upotrebljeni u ovoj radnji mogu poslužiti kao fermentni modeli za katalitičke, odnosno peroksidativne biološke reakcije.