

WOLNORODNIKOWY CHARAKTER PRODUKTÓW TERMOLIZOWANEJ SKROBI

W. Ciesielski, J. Kapuśniak, J.J. Kozioł
Instytut Chemii, Wyższa Szkoła Pedagogiczna,
42 200 Częstochowa, al. Armii Krajowej 13/15

Przeprowadzone badania dotyczą termolizy skrobi oraz interpretacji zachodzących przemian na poziomie mikrostruktury tego sacharydu. Zbadano wpływ temperatury i czasu ogrzewania oraz rodzajów skrobi na powstawanie i stężenie wolnych rodników. Zbadano również wpływ dodatku mono- i oligosacharydów, białek i lipidów na wolnorodnikowy rozpad skrobi w podwyższonej temperaturze.

WSTĘP

Skrobia natywna, skrobia modyfikowana i hydrolizaty skrobi (dekstryny i syropy), są szeroko stosowane zarówno do celów konsumpcyjnych jak i przemysłowych. Tradycyjnymi zastosowaniami niespożywczymi skrobi i modyfikowanych skrobi są papier, tekstura falista, fermentacja i przemysł chemiczny, środki wiążące i adhezyjne, biodegradowalne termoplastyczne materiały opakowaniowe.

Otrzymano szereg produktów opartych na wykorzystaniu skrobi, uzyskując przez to ekologiczność samych procesów przemysłowych. Prognozy Unii Europejskiej dotyczące rozwoju przemysłu chemicznego do roku 2040 wskazują na 300% wzrost produkcji tego przemysłu, przy czym cały ten wzrost odbędzie się dzięki wykorzystaniu naturalnych polisacharydów tj. celulozy i skrobi [1].

Ponieważ w czasie termicznej obróbki skrobi i celulozy może zachodzić rozkład wolnorodnikowy, budzi to zainteresowanie producentów i konsumentów, mimo, że jak wcześniej pokazano rodniki te nie są mutagenne [2-4].

MATERIAŁY I METODY

Do badań użyto 11 rodzajów skrobi: skrobia ziemniaczana *Superior*, PPH „MATIZOLBUD” w Zalesicach, 1995 (PM), skrobia ziemniaczana, Niechlów, 1993 (PD), skrobia żytnia z odmiany „Dańkowskie złote” (R), skrobia pszenżytnia z odmiany „Dargo” (T), skrobia owsiana wyodrębniona z mieszanki handlowej owsa (O), skrobia pszenna z odmiany „Emika” (WE), skrobia pszenna (WH), skrobia kukurydziana (M), skrobia tapiokowa (C), skrobia kukurydziana woskowa (WM), skrobia woskowa amarantusa (A). Obiektami badań były także produkty mączne: mąka kukurydziana (M), dwie mąki żytnie (R1 i R2), mąka sojowa (S), mąki pszenne (W1 - W5), owsiana (O), jęczmienna (B), ryżowa (R), tritcale (T). Przeprowadzono termolizę skrobi, samych białek, tłuszczu i mono- i disacharydów oraz ich mieszanin ze skrobią. Wymienione wyżej obiekty badań poddawano ogrzewaniu przez 30, 60, 90 i 120 minut w różnych temperaturach przedstawionych w tablicy 1 i we wszystkich możliwych kombinacjach obu parametrów.

Tablica 1. Zakres temperatur termolizy skrobi, mąk oraz badanych mieszanin:

Rodzaj mieszaniny	Temperatury termolizy [°C]
Skrobie	170, 250, 285, 300, 325
Mąki	250, 285, 300, 320, 335, 350
Skrobie + cukry	230, 265, 285, 300
Skrobie + stearynian etylu	200, 230, 270, 300, 325
Skrobie + albumina	200, 230, 265, 285, 300
Wieloskładnikowe mieszaniny	160, 200, 230, 270, 300
skrobi (cukry, białko, tłuszcz)	

Termolizę prowadzono przy użyciu pieca ELF 11/6 firmy EUROTHERM CARBOLITE z wbudowanym cyfrowym stabilizatorem temperatury. Temperaturę stabilizowano z dokładnością $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

Pomiary EPR wykonano dla sproszkowanych produktów termolizy w zakresie pasma X ($\nu \approx 9,5$ GHz, $\lambda = 3,2$ cm) w temperaturze pokojowej za pomocą spektrometru skonstruowanego w Politechnice Wrocławskiej. Do określenia stężenia wolnych rodników jako wzorzec zawierający określoną liczbę spinów ($2,4 \cdot 10^{21}$ spinów/g) stosowano CuSO_4 . Standardowym wzorcem czynnika g był DPPH.

W celu określenia stopnia zniszczenia matrycy skrobiowej produkty termolizy (0,01g) ogrzewano z wodą destylowaną (5cm^3) i po dodaniu po 2 cm^3 wodnego roztworu jodu w KI o stężeniu 1×10^{-4} mol/dm³ mierzono dla nich wartości absorbancji przy długości fali $\lambda = 625$ i 545nm , które odpowiadają maksimum absorpcji kompleksów jodu z amylozą i amylopektyną [5].

Absorpcyjne widma elektronowe w zakresie UVVIS rejestrowano przy użyciu spektrofotometru SPECORD UVVIS oraz VSU 2P firmy Carl Zeiss Jena. Widma rejestrowano w kuwetach kwarcowych o długości drogi optycznej $l = 1$ cm dla roztworów wodnych w zakresie 200 - 700 nm w temperaturze pokojowej.

W celu potwierdzenia lub wykluczenia obecności i trwałości wolnych rodników przeprowadzono ekstrakcję produktu termolizy skrobi owsianej ogrzewanej w temperaturze 300°C przez 120 min. wodą w temperaturze ok. 100°C . Ekstrakty wodne zdekantowano i do części każdego z nich dodano alkohol etylowy w celu wytrącenia skrobi. Wszystkie ekstrakty jak i pozostałości poddano badaniom EPR. Ponadto ekstrakty wodne odparowano do sucha, a pozostałość poddano badaniu na obecność wolnych rodników.

WYNIKI I DYSKUSJA

Wraz ze wzrostem czasu i temperatury ogrzewania wszystkie rodzaje skrobi oraz ich mieszaniny z mono- i disacharydami, lipidami i białkiem próbki zmieniają barwę od białej, poprzez żółtą, różne odcienie brązu aż

do czarnej. Tylko w przypadku próbek zwęglonych udało się zarejestrować sygnały w widmach EPR. W przypadku badań wyodrębnionych skrobi jakiegokolwiek sygnał o charakterze wolnorodnikowym otrzymano po raz pierwszy w próbce skrobi owsianej, ogrzewanej w temperaturze 285°C przez 90 min (tab. 2.).

Tablica 2. Stężenie wolnych rodników względem wzorca (CuSO_4) dla skrobi.

Temp.	Czas	Stężenie $\times 10^{15} / \text{g}$										
		PM	PD	T	O	WE	R	WH	M	C	WM	A
[°C]	[min.]											
285	90	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-
285	120	-	-	5	20	6	8	4	1	2	-	2
300	90	5	7	2	10	2	2	6	-	6	3	5
300	120	6	10	3	30	3	4	5	3	7	2	5
325	60	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-
325	90	40	10	4	80	3	4	70	2	10	4	12
325	120	200	80	8	1000	40	60	600	7	50	10	40

Z obserwacji otrzymanych widm dla próbek ogrzewanych przy różnych kombinacjach temperatury (285 - 325°C) i czasu ogrzewania (30 - 120 minut) można stwierdzić, że największe stężenie wolnych rodników występuje w przypadku skrobi owsianej, najmniejsze natomiast dla skrobi kukurydzianej i kukurydzianej woskowej.

Największą zawartością białka i tłuszczów charakteryzuje się mąka sojowa. Drugą z kolei pod względem zawartości tychże składników jest mąka owsiana. Zawiera ona jednak dużo większą w stosunku do mąki sojowej ilość węglowodanów. Te różnice mają zasadnicze znaczenie w ich odporności na rozkład wolnorodnikowy. Wraz ze wzrostem czasu i temperatury ogrzewania podobnie jak w przypadku skrobi we wszystkich

rodzajach mąk wzrasta zbrązowienie próbek od żółto aż do czarnego, jednakże proces ten przebiega wolniej niż w przypadku termolizowanych skrobi. Sygnał w widmie EPR obserwuje się po raz pierwszy dla próbki mąki owsianej (O), ogrzewanej w temperaturze 285°C przez 120 min, a najpóźniej dla mąk jęczmiennej i kukurydzianej, bo dopiero w 335°C po 60 minutach ogrzewania.

Ogólne zależności stężenia wolnych rodników w badanych próbkach mąk pokazuje tab. 3.

Tablica 3. Stężenie wolnych rodników względem wzorca (CuSO_4) w badanych próbkach mąk.

Temp.	Czas	Ilość spinów $\times 10^{15} / \text{g}$												
[°C]	[min.]	O	B	M	W1	W2	W3	W4	W5	T	R	S	R1	R2
285	120	5									1			
300	60	6												
300	90	10												
300	120	20					8	4	5	10	20	6	10	
320	60	10									4		1	
320	90	20							6		15		3	
320	120	60			2	4	10	8	10	20	40	10	8	4
335	30	10								2				
335	60	30	3	4			8	10	6	10	15	7	6	2
335	90	80	10		8	5	20	30	10	20	30	20	10	10
335	120	200	40	20	20	10	50	80	60	70	40	60	40	30
350	30	20	10	5		3	8	20	10	10			10	
350	60	60	20	10	8	10	10	30	30	20	8	5	15	3
350	90	200	30	20	10	20	30	80	60	50	20	10	40	20
350	120	500	90	50	40	70	80	200	100	90	50	70	80	40

Względne stężenie niesparowanych elektronów w danych warunkach było dużo większe w produktach otrzymanych w wyniku termolizy skrobi niż badanych mąk. Dodatek różnych substancji miał na celu wykazanie ujemnego ich wpływu na odporność skrobi na rozpad rodnikowy. Skrobia owsiana najłatwiej generowała wolne rodniki. Dodatek białek i tłuszczów, a także mono- i disacharydów jednoznacznie wykazał ich wpływ na powstawanie wolnych rodników (tab. 4.).

Tablica 4. Stężenie wolnych rodników względem wzorca (CuSO_4) dla mieszanin skrobi z mono- i disacharydami, albuminą i stearynianem etylu.

Temp	Czas	Stężenie x 10 ¹⁵ / g										
[°C]	[min.]	PM	PD	T	O	WE	R	WH	M	C	WM	A
skrobia + fruktoza (1 : 1)												
230	120	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-
265	90	-	-	-	8	3	4	-	-	2	-	-
265	120	-	-	3	12	5	8	2	-	2	-	-
285	60	2	-	5	20	6	8	5	2	7	-	2
285	90	5	5	8	60	20	30	6	5	10	4	6
285	120	10	10	20	80	50	40	20	10	20	8	10
300	30	30	30	60	100	80	60	40	20	40	20	30
300	60	80	70	80	200	100	90	50	50	70	30	60
300	90	100	100	100	400	200	100	90	70	100	50	100
300	120	200	200	300	900	400	300	200	100	300	80	300
skrobia + D-glukoza (1 : 1)												
		PM	PD	T	O	WE	R	WH	M	C	WM	A
265	60	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
265	90	-	-	-	4	-	1	-	-	-	-	-
265	120	-	-	1	9	2	2	-	-	3	-	-
285	60	-	-	2	14	3	2	1	2	6	-	1
285	90	1	2	6	20	9	5	2	4	10	1	5
285	120	4	5	10	40	20	10	8	10	30	4	10
300	30	10	5	20	50	20	20	8	20	40	5	10
300	60	20	10	40	100	50	40	20	30	50	10	20
300	90	40	30	80	200	90	100	50	60	90	30	50
300	120	100	80	200	600	200	300	100	100	200	60	100
skrobia + sacharoza (1 : 1)												

265	90	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-
265	120	-	-	2	7	-	-	-	-	-	-	-
285	60	1	-	2	8	-	2	-	-	-	-	-
285	90	2	4	6	20	5	7	1	-	5	-	3
285	120	5	6	10	30	8	10	6	4	10	3	10
300	30	10	10	10	50	8	10	9	5	20	5	10
300	60	20	20	30	90	20	30	20	10	50	10	20
300	90	50	40	80	200	80	90	40	30	100	30	50
300	120	100	100	200	500	200	200	90	90	200	70	200
skrobia + stearynian etylu (2 : 1)												
270	120	-	-	-	20	-	-	-	-	-	-	-
300	90	-	2	-	30	-	-	5	-	-	-	-
300	120	1	4	-	70	2	-	8	1	2	-	1
325	30	-	-	-	20	-	-	1	-	-	-	-
325	60	2	-	4	50	-	1	6	-	4	1	-
325	90	20	8	20	200	1	8	20	6	20	3	1
325	120	90	50	100	900	10	40	200	80	90	70	30
skrobia + stearynian etylu (10 : 1)												
		PM	PD	T	O	WE	R	WH	M	C	WM	A
270	120	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-
300	90	-	-	-	40	-	-	4	-	-	-	-
300	120	-	2	-	60	1	-	10	1	-	2	1
325	30	-	-	-	30	-	-	-	-	-	-	-
325	60	6	1	1	50	-	8	-	4	1	2	5
325	90	20	10	10	100	2	20	10	10	10	6	9
325	120	70	40	100	800	10	50	100	90	60	50	40

skrobia + albumina (2 : 1)												
200	120	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
230	90	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-
230	120	-	-	2	5	2	-	1	-	1	-	-
265	60	-	-	1	5	1	-	-	-	1	-	-
265	90	1	-	3	10	3	1	1	-	2	-	-
265	120	3	1	6	20	15	10	3	1	6	2	1
285	60	2	2	7	30	10	8	5	2	9	1	2
285	90	6	10	15	80	20	20	10	8	15	9	10
285	120	15	30	20	100	50	40	30	20	20	10	10
300	30	30	40	60	200	60	60	40	20	40	20	30
300	60	60	80	100	500	100	90	50	30	60	40	50
300	90	90	100	200	700	200	100	100	60	90	50	100
300	120	200	200	400	1200	300	200	200	100	200	80	200

Największe stężenie niesparowanych spinów występuje w przypadku dodania albuminy. Wolne rodniki pojawiają się już przy 200°C po 120 min termolizy. Stearynian etylu sam nie tworzy podczas termolizy wolnych rodników i zmienia nieznacznie odporność układu skrobia – tłuszcz na rozpad wolnorodnikowy. Wynika stąd, że tłuszcze nie zwiększają odporności na wolnorodnikowy rozpad skrobi zawierających małe stężenie amylozy (pszenżytnia, kukurydziana woskowa, kukurydziana). Za wyjątkiem skrobi żytniej i z amarantusa, zwiększenie stężenia stearynianu etylu powoduje nieznaczne zwiększenie ich odporności na rozpad rodnikowy. Sugeruje to możliwość powstawania większej ilości helikalnego kompleksu skrobi z tłuszczem.

Mieszaniny skrobi z równoczesnym dodatkiem białka, cukrów oraz tłuszczu radykalnie zmieniają swoją odporność na wolnorodnikowy

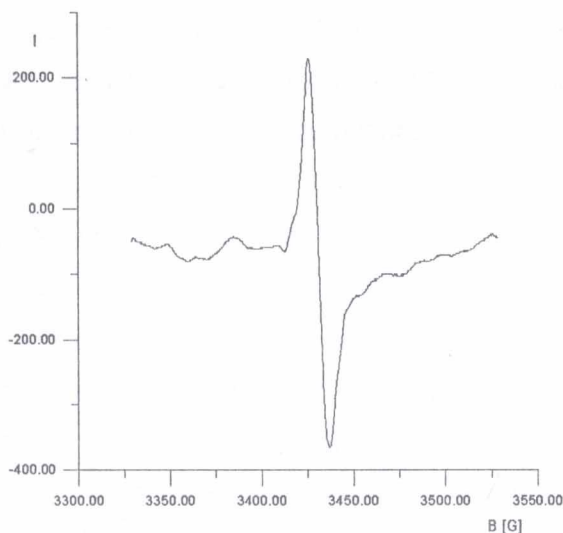
rozpad. Niesparowane spiny powstają w dużo niższych temperaturach niż w przypadku podobnych mieszanin dwuskładnikowych.

Obecność wszystkich tych dodatków w mieszaninie ze skrobią tworzy układ bardzo nieodporny na rodnikowy rozkład. Procesy tworzenia wolnych rodników rozpoczynają się w tym przypadku już w temperaturze 160°C po 120 min termolizy (skrobia owsiana, żytnia i amarantusowa) (tab. 5.).

Tablica 5. Stężenie wolnych rodników względem wzorca (CuSO_4) dla mieszanin skrobi z mono- i disacharydami, albuminą i stearynianem etylu.

Temp.	Czas	Stężenie x 10 ¹⁵ / g										
skrobia + cukier (glukoza, fruktoza, sacharoza) + albumina + stearynian etylu (10:1:1:1)												
[°C]	[min.]	PM	PD	T	O	WE	R	WH	M	C	WM	A
160	120	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	2
200	90	-	-	1	4	1	2	-	-	1	-	1
200	120	1	-	-	20	2	4	-	-	-	-	6
230	90	-	-	1	40	5	6	2	1	-	1	10
270	60	2	1	6	80	10	30	2	5	-	1	5
270	90	2	6	4	100	40	50	8	10	2	6	8
270	120	4	10	10	100	50	40	10	8	4	6	9
300	30	-	-	2	40	2	1	-	-	-	-	-
300	60	10	8	20	100	4	10	2	1	4	1	5
300	90	20	20	50	300	20	20	8	2	6	2	10
300	120	50	40	100	600	30	80	20	10	40	8	60

Wartość czynnika g dla wszystkich układów mierzonych przy $\nu \approx 9.5$ GHz wynosi ≈ 2.003 i jest bardzo zbliżona do wartości czynnika g dla sygnału swobodnego elektronu [6].



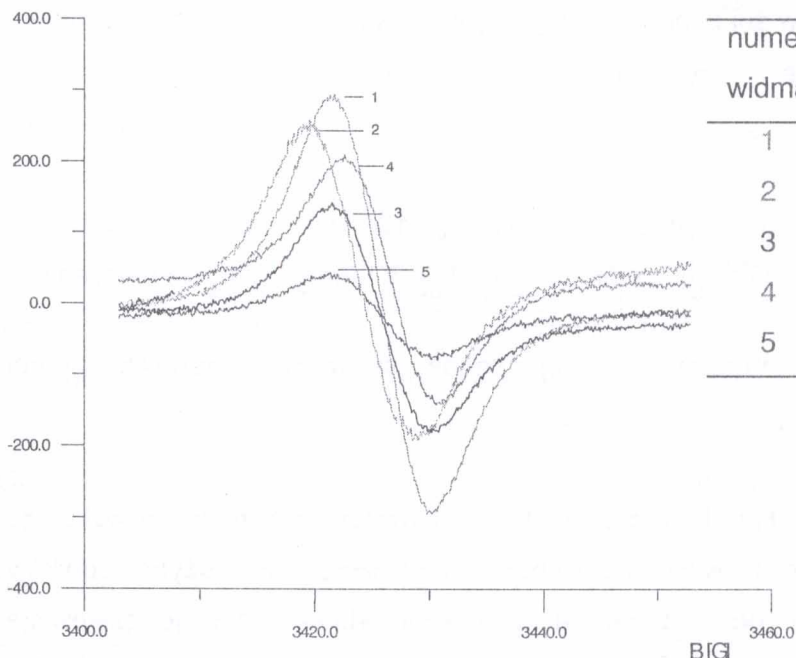
Rysunek 1. Widmo EPR otrzymane w wyniku termolizy skrobi ziemniaczanej.

Widmo EPR (rys. 1.) swoim kształtem i wartością czynnika g wykazuje podobieństwo do wielu widm charakterystycznych dla dużych rodników organicznych, gdzie degeneracja spinowo-orbitalna zostaje całkowicie usunięta i występuje duża delokalizacja niesparowanego elektronu [7]. Różnice w wartości czynnika g przekraczające 0,020 wskazują, że w poszczególnych przypadkach występują również rodniki mające niesparowany spin nie tylko na atomach węgla ale też i tlenu bądź azotu. Rodniki te mogłyby powstawać przez termolizę białek zawartych w niektórych rodzajach skrobi.

Mała aktywność chemiczna badanych rodników jest najprawdopodobniej spowodowana silną delokalizacją niesparowanego elektronu w obrębie licznych sprzężonych podwójnych wiązań węgiel - węgiel.

Dodatkowo przeprowadzono badania EPR ekstraktów oraz pozostałości po ekstrakcji zarówno samej skrobi jak i też mieszanin skrobi z cukrami prostymi (rys. 2.). W pozostałości po odparowaniu ekstraktów do sucha również nie obserwowano sygnałów w widmach EPR. Stwierdzono, że

roztwory zarówno wodne jak i alkoholowe nie zawierały wolnych rodników. Jednak pozostałość po ekstrakcji zawsze zawierała rodniki, przy czym ich ilość w stosunku do sygnału substancji wyjściowej była zmniejszona.



Rysunek 2. Zmiana kształtu sygnału w widmach EPR osadów, gdzie:

1. próbka wyjściowa ($m = 0,0141\text{g}$)
2. osad otrzymany po odparowaniu próbki wyjściowej z roztworu wodnego do sucha ($m = 0,0138\text{g}$)
3. osad otrzymany po ekstrakcji próbki wyjściowej gorącą wodą ($m = 0,0081\text{g}$)
4. osad otrzymany po ekstrakcji próbki wyjściowej zimną wodą ($m = 0,0143\text{g}$)
5. osad otrzymany po ekstrakcji próbki wyjściowej alkoholem etylowym ($m = 0,0153\text{g}$).

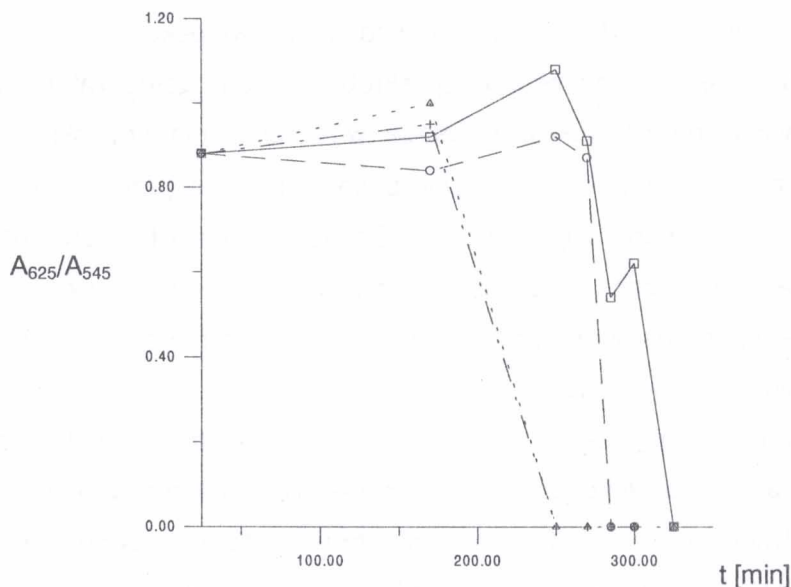
Zaobserwowano znaczne zmniejszenie stężenia wolnych rodników (prawie 6-krotne) w pozostałości po ekstrakcji w przypadku produktu termolizy skrobi ziemniaczanej alkoholem etylowym.

Również dla termolizowanych skrobi zaobserwowano w widmach UVVIS zmiany absorpcji kompleksu skrobi z KI_5 przy $\lambda = 580$ i 280-300 nm, a także przesunięcie położenia pasma przy $\lambda = 580$ nm. Skrobia kukurydziana wykazuje dużą odporność na obróbkę termiczną, w przeciwieństwie do skrobi owsianej, która jest na nią zupełnie nieodporna. Opisane powyższe obserwacje prowadzą do wniosku, że zarówno temperatura jak i czas ekspozycji skrobi na daną temperaturę mają istotny wpływ na destrukcje powstałe w obrębie matrycy skrobiowej podczas procesu termolizy. Zanikanie pasma absorpcji przy $\lambda = 580$ nm oraz jego przesuwanie się w stronę krótszych długości fal potwierdzają postępujące podczas ogrzewania zniszczenie matrycy skrobiowej. Podobnie na proces degradacji skrobi działa wydłużanie czasu termolizy, przy ustalonej temperaturze.

Przesuwanie się położenia maksimum pasma w stronę fal krótszych potwierdza proces dekstrynizacji. Na podstawie otrzymanych wyników można stwierdzić, że dekstrynizacja skrobi nie zależy w sposób liniowy od temperatury, co dodatkowo potwierdza obserwowany nieliniowy wzrost stężenia wolnych rodników w widmach EPR. Powodem tego stanu rzeczy mogą być uboczne lub wtórne, równoczesne reakcje tworzenia kompleksów niezniszczonej jeszcze matrycy skrobiowej z dekstrynami i niskocząsteczkowymi cukrami. Proces ten jest bardzo wyraźnie widoczny w przypadku ogrzewania skrobi kukurydzianej.

Stosunek wartości absorpcji mierzonych przy $\lambda = 625$ i 545 nm, a także przesunięcie pasma absorpcji wynoszącego odpowiednio dla skrobi ziemniaczanej, owsianej, kukurydzianej i kukurydzianej woskowej od $\lambda = 626, 583, 598$ i 614 nm do około $\lambda = 515$ nm jest wynikiem niszczenia matrycy skrobiowej. Zmniejszanie wartości stosunku A_{625}/A_{545} może

oznaczać szybszy rozkład amylozy. Sytuacja odwrotna oznacza, że podczas termolizy amylopektyna szybciej ulega rozkładowi niż amyloza. Obserwuje się to dla wszystkich czterech badanych układów (rys. 3.). Rozmiar zniszczenia matrycy skrobiowej, a także jej makrocząsteczek nie jest proporcjonalny ani do czasu ani do temperatury termolizy. Różny przebieg zmian A_{625}/A_{545} dla różnych skrobi wynika przede wszystkim z różnego rozkładu i ilości obu składników (amylozy, amylopektyny) w gałeczkach skrobiowych skrobi owsianej.



Rysunek 3. Zależność stopnia zniszczenia matrycy skrobiowej od czasu ogrzewania.

WNIOSKI

Podatność na rozpad rodnikowy badanych układów zależy w dużej mierze od rodzaju skrobi, wzajemnego stosunku składników w mieszaninach a także od temperatury i czasu termolizy.

Termiczny wolnorodnikowy rozpad czystej skrobi bez względu na jej pochodzenie w dającym się zarejestrować stopniu następuje w temperaturach o około 100°C wyższych, niż te, które stosuje się przy

termicznym przygotowaniu i obróbce żywności. Produkty zbożowe będące natywnymi kompleksami skrobi z lipidami i/lub białkami są na ogół co najmniej tak samo termicznie trwałe jak skrobia z nich wyizolowana. Kompleksowanie skrobi i produktów zbożowych cukrami prostymi, lipidami i/lub białkami (tworzenie kompleksów "syntetycznych") obniża temperaturę, w której pojawiają się rodniki do poziomu normalnie stosowanego przy przygotowaniu żywności. Rodniki sacharydowe i polisacharydowe są trwałe dzięki daleko idącej delokalizacji niesparowanych spinów oraz osłonom sterycznym.

Mierzona stężeniem niesparowanych spinów czułość skrobi na rodnikowy rozpad w danej temperaturze wzrasta w następującym szeregu: skrobia kukurydziana woskowa < kukurydziana = żytnia = ziemniaczana (I) < amarantus = pszenna (I) < tritcale < tapioka < pszenna (II) < ziemniaczana (II) << owsiana. Szereg ten nie pokrywa się z szeregami czułości syntetycznych kompleksów skrobi na rodnikową termolizę, co wskazuje, że stężenie rodników odzwierciedla nie tylko samą podatność na rozpad, ale też wpływ na niego oddziaływań międzycząsteczkowych i zachodzące rekombinacje wolnych rodników.

LITERATURA

1. H. Röper, VII ISC, 12 – 14.06. 1996, Kraków
2. W. Barabasz, L. Brzózka L., J. Krzeczek, P. Tomasik, Starch, 42, 69 (1990)
3. W. Ciesielski W., Tomasik P., Carbohydr. Polym., 31, 205 (1996)
4. W. Ciesielski W., Tomasik P., Carbohydr. Polym., 34, 303 (1997)
5. R. R. Baldwin, R. S. Bear, R. E. Rundle, J. Am. Chem. Soc., 66, 111 (1944)
6. B. Staliński, Magnetochemia, PWN, Warszawa (1966)
7. H. A. Staab, Wstęp do teoretycznej chemii organicznej, PWN, Warszawa (1966)