

УДК 661.124

ИНТЕНСИФИКАЦИЯ ПРОЦЕССА СИНТЕЗА КОКАРБОКСИЛАЗЫ С ПОМОЩЬЮ МИКРОВОЛНОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

В роботі представлено результати моделювання процесів отримання кокарбоксілази – приготування поліфосфорної кислоти та фосфорилювання тіамінхлориду – за допомогою мікрохвильового випромінювання як альтернативи термічному нагріванню. Наведено розрахунки витрат часу та енергоспоживання при масштабуванні мікрохвильових процесів та показано ефективність від заміни традиційних джерел нагріву на мікрохвильове випромінювання в промислових масштабах

Ключові слова: мікрохвильове випромінювання, термічний нагрів, фосфорилювання, дегідратація, поліфосфорна кислота, енергозбереження, масштабування

В работе представлены результаты моделирования процессов получения кокарбоксілазы – приготовления полифосфорной кислоты и фосфорилирования тиаминхлорида – с помощью микроволнового излучения как альтернативы термическому нагреву. Приведены расчеты затрат времени и энергии при масштабировании микроволновых процессов и показана эффективность от замены традиционных источников нагрева на микроволновое излучение в промышленных масштабах

Ключевые слова: микроволновое излучение, термический нагрев, фосфорилирование, дегидратация, полифосфорная кислота, энергосбережение, масштабирование

Н. А. Пинчукова

Младший научный сотрудник*

E-mail: pinchukova@isc.kharkov.com

К. Н. Беликов

Заведующий отделом*

E-mail: belikov@isc.kharkov.com

А. Ю. Волошко

Старший научный сотрудник*

E-mail: voloshko@isc.kharkov.com

Н. Ю. Горобец

Старший научный сотрудник*

E-mail: nikolay.gorobets@gmail.com

Л. В. Гудзенко

Младший научный сотрудник*

E-mail: gudzenko@isc.kharkov.com

В. А. Чебанов

Заместитель генерального директора по научной работе

E-mail: chebanov@isc.kharkov.com

*ГНУ НТК «Институт монокристаллов» НАН Украины
пр. Ленина, 60, г. Харьков, Украина, 61001

1. Введение

Кокарбоксілаза являється відомою лікарською субстанцією, біологічною активною формою вітаміну В₁, випускаємою промисловістю переважно в формі кокарбоксілази гідрохлориду (ККГХ). В медицині ККГХ використовується в комплексній терапії для лікування цілого ряду захворювань, пов'язаних з порушенням обміну речовин.

Синтез кокарбоксілази включає в себе отримання фосфорилюючого агента - поліфосфорної кислоти (ПФК) і фосфорилювання тіаміна, які потребують використання нагріву і вимагають значительних витрат енергії і часу. Тому їх оптимізація з точки зору зниження енергопотреблення і скорочення енергозатрат представляє актуальною задачею.

Відомо, що застосування микроволнового випромінювання (МВИ) як альтернативного джерела нагріву призводить не тільки до зниження витрат енергії, але в деяких випадках дозволяє також підвищити вихід продуктів реакцій, їх чистоту, прискорити фізико-хімічні процеси і плавно варіювати їх параметри [1]. При отриманні кокарбоксілази як вихідного сировини і продуктів реакцій використовуються полярні

речовини – ортофосфорна кислота, поліфосфорна кислота, тиаминхлорид, вода. Всі вони, як і сам ККГХ здатні поглинати МВИ і конвертувати його в тепло, тому існують підстави передувати, що використання МВИ буде сприяти інтенсифікації даних процесів.

2. Анализ литературных данных и постановка проблемы

К. Ломанн и Ф. Шустер [2] в 1937 году впервые выделили кофермент кокарбоксілазу из дрожжей в виде хлорида тиаминпирофосфата. В последующие годы найдено множество методов получения кокарбоксілазы [3 – 6].

Обширные исследования по синтезу, выделению и очистке кокарбоксілазы проводились также группой Березовского В. М. и сотр [7, 8]. Промышленное производство ККГХ на основе данного метода было освоено в 70-х годах прошлого века и с тех пор практически не претерпело изменений.

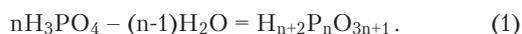
В общем виде схема фосфорилювання тіаміна представлена на рис. 1.

теля LTHS 250 (Чехия) (объем реакционной колбы – 250 мл).

По окончании процесса остаток в колбе взвешивали и рассчитывали концентрацию полученной ПФК (% P₂O₅). Образцы ПФК анализировали на содержание фосфорных кислот (индивидуально определяли орто-, пиро- и метафосфорные кислоты, и суммарное содержание всех кислот), содержание высших поликислот с количеством атомов фосфора 3 и более определяли по разности между общим кислотным содержанием и суммой всех кислот, определяемых индивидуально [14].

Для сравнения кинетики вакуумной дегидратации (давление 10-15 мм рт. ст.) ортофосфорной кислоты в МВ поле и при термическом нагреве был проведен ряд экспериментов с заданием различных конечных температур смеси: 210, 230 и 250 °С. Выбор данного температурного диапазона обусловлен тем, что ниже 200 °С кислоты получаются с низкой степенью конденсации (дегидратации), а также техническими возможностями оптоволоконного датчика температуры. В данном диапазоне температур, согласно литературным данным [15, 16], получают линейные фосфорные кислоты.

Реакцию дегидратации в общем виде можно представить следующим образом:



Масса кислоты во всех опытах составляла 200 г. Подробности проведения экспериментов по МВ дегидратации H₃PO₄ и изучению кинетики процесса в сравнении с термическими экспериментами описаны в [17]. Авторами статьи экспериментально установлено, что скорость реакции дегидратации при оптимальной мощности источника излучения в микроволновом поле увеличивается вдвое по сравнению с термическим процессом при получении ПФК одной и той же концентрации. В данной работе также представлены расчеты сравнительного энергопотребления при проведении дегидратации с использованием термического и микроволнового нагрева, в том числе с учетом промышленного масштабирования. Показано, что при замене традиционных источников тепла на МВИ энергозатраты снижаются втрое.

4. 2. Фосфорилирование тиамин

В предварительных экспериментах с использованием установки МВ синтеза Emrys™ Creator EXP from Biotage (рабочий объем до 20 мл), проводимых с целью определения оптимальных параметров фосфорилирования в МВ поле, максимальный объем реакционной смеси составлял 5 мл.

Процедура фосфорилирования следующая. В специальный сосуд (виал) для проведения реакций под действием МВИ загружают отмеренное количество предварительно нагретой фосфорилирующей смеси, добавляют расчетное количество тиаминхлорида и облучают смесь МВ излучением при заданной температуре. После охлаждения до 50 °С стравливают избыточное давление, возникающее в реакционном сосуде из-за выделения хлористого водорода. При охлаждении водой со льдом

(для предотвращения гидролиза эфиров тиамин) медленно прикапывают к полученному плаву концентрированный раствор аммиака до достижения значения pH = 4÷5 (сильное вспенивание и разогрев реакционной массы). По окончании нейтрализации пробу анализируют на содержание продуктов фосфорилирования.

Опыты осуществляли с небольшими нагрузками реактивов и под давлением. Для проведения реакций использовали 3,9 г ПФК (13,8 ммоль P₂O₅ + 16,9 ммоль H₃PO₄), нагретой до разжижения и добавляли 0,78 г (2,3 ммоль) тиаминхлорида (ТХ). Содержание P₂O₅ в ПФК также несколько отличалось от литературного (81 % вместо 83 % P₂O₅), так как для получения однородной смеси приходилось добавлять больше H₃PO₄. Хотя параметры процесса не соответствовали описанным методикам, такой подход позволил быстро и эффективно найти нужные условия процесса для его дальнейшего масштабирования и оптимизации.

4. 2. 1 Определение оптимальной температуры фосфорилирования

Первую серию опытов провели в широком температурном диапазоне от 100 до 160 °С с шагом 30 °С (табл. 1). Было обнаружено, что повышение температуры от 100 до 130 °С практически не приводит к повышению выхода продукта реакции, однако позволяет минимизировать содержание исходного тиамин и повысить содержание неидентифицированной примеси (которой, по-видимому, является смесь эфиров тиамин и высших фосфорных кислот).

Следующую серию опытов провели в более узком диапазоне температур с шагом в 5 °С (табл. 2). Результаты анализа полученных смесей показывают, что повышение температуры выше 110 °С практически не сказывается на содержании целевого продукта, при этом нарастает содержание той же примеси. Кроме того, образцы, синтезированные при температурах 100-110 °С окрашены в светло-карамельный цвет, в то время как пробы полученные уже при температурах 115 °С более темные. Таким образом, температурный диапазон 100-110 °С является оптимальным для получения максимального выхода дифосфорного эфира тиамин.

Таблица 1

Результаты ВЭЖХ анализа смесей, полученных в Emrys™ Creator EXP при разных температурах процесса (от 100 до 160 °С с шагом 30 °С)

Наименование	Температура, °С		
	100	130	160
ТХ	15,7	2,3	-
ТМФ	53,2	58,1	45,7
ТДФ (кокарбоксилаза)	21,3	22,1	15,8
ТТФ	2,4	4,0	2,0
Неидентифицированная примесь	2,2	9,25	32,9

Таблица 2

Результаты ВЭЖХ анализа смесей, полученных при нагревании в МВ поле при температурах 110-125 °С с шагом 5 °С

Наименование Эфира	Температура, °С			
	110	115	120	125
ТХ	2,8	2,4	-	-
ТМФ	70,0	70,0	67,0	66,5
ТДФ (кокарбоксилаза)	21,0	20,0	20,0	19,0
ТТФ	2,3	2,7	2,1	1,8
Неидентифицированная примесь	3,9	4,9	8,8	9,2

4. 2. 2. Влияние соотношения ПФК/тиаминхлорид

Для проведения серии экспериментов с варьируемым соотношением ПФК/тиамин была приготовлена порция ПФК по методике, описанной в начале раздела 4. 2 (содержание P_2O_5 81 %). Далее эксперименты по фосфорилированию проводили при температуре 105 ± 5 °С, в течение 30 мин. Количество используемого тиаминхлорида во всех опытах было одинаковым – 0,6 г, а варьировали только количество ПФК.

Видно (табл. 3), что увеличение количества ПФК до определенного предела повышает содержание дифосфорного эфира, однако дальнейшее добавление ПФК (опыты 3 и 4) не приводит к пропорциональному увеличению выхода ТДФ. Такой перерасход ПФК неоправдан с точки зрения методики масштабирования. При этом если учесть погрешность методики анализа, то результаты опытов 2-4 можно считать довольно близкими.

Таким образом, ключевыми факторами, определяющими выход ТДФ, являются концентрация ПФК, соотношение P_2O_5 /ТХ и температура фосфорилирования.

Таблица 3

Результаты ВЭЖХ анализа реакционных смесей, полученных при МВ нагреве при 110 °С, в течение 30 мин. с различным соотношением P_2O_5 /ТХ

№ опыта	1	2	3	4
Масса ПФК, г	1.5	2.1	2.8	4.2
P_2O_5 /ТХ моль/моль	5,6: 1	7,8:1	10,4:1	15,7:1
Соединение				
ТХ	12,5	1,35	0,85	1,4
ТМФ	52,6	50,5	48,3	48,0
ТДФ (кокарбоксилаза)	23,2	28,2	27,0	33,9
ТТФ	4,6	9,7	13,1	10,0
Неидентифицированная примесь	2,1	1,4	4,5	3,3

В результате проведения экспериментов были найдены следующие оптимальные параметры процесса, протекающего под воздействием МВИ, позволяющие получать максимальный выход ТДФ:

- температура: 100-110 °С,
- продолжительность – 30 мин.,
- мольное соотношение ПФК/ТХ - 7,8:1.

4. 3. Масштабирование процесса фосфорилирования тиаминхлорида

Опираясь на полученные данные, были проведены эксперименты по масштабированию стадии фосфорилирования тиаминхлорида до объема ~200-250 мл с использованием МВ ректора MARS. Вместо холодильника Либиха и приемника конденсата устанавливали газотводную трубку и поглотительную склянку с водой (для поглощения паров хлористого водорода). Фосфорилирование проводили при атмосферном давлении или при легком разрежении для лучшего газоотвода. Перемешивание массы осуществляли с помощью магнитной мешалки, контроль температуры – с помощью оптоволоконного датчика. После охлаждения плава поступали, как описано для экспериментов, проводимых в Emrys™ Creator. Для сравнения проводили эксперименты с термическим нагревом при тех же нагрузках реагентов, что и в микроволновых экспериментах, а также с использованием аналогичной установки для проведения синтеза.

Объемы реакционных смесей в данных экспериментах были примерно в 50 раз больше, чем в модельных. Кроме того, для выяснения влияния на состав продуктов фосфорилирования природы полученной ПФК в качестве ФА мы использовали образцы ПФК, полученные разными способами:

- путем смешения ортофосфорной кислоты и фосфорного ангидрида;
- термической дегидратацией H_3PO_4 ;
- микроволновой дегидратацией H_3PO_4 .

Кроме общего содержания P_2O_5 , образцы ПФК, используемые в синтезе, были проанализированы на содержание отдельных фосфорных кислот, таких как орто-, пиро- и метафосфорная кислоты, а также оценена сумма остальных кислот, вычисленная по разности между общей кислотностью и суммой указанных фосфорных кислот.

Результаты анализов полученных плавов представлены в табл. 4.

Таблица 4

Результаты анализа составов ПФК и продуктов фосфорилирования тиаминхлорида при проведении процесса в МВ поле. Количество тиаминхлорида 50 г, температура -105 ± 5 °С, средняя вводимая СВЧ-мощность – 50 Вт

Способ получения ПФК	Состав ПФК, % от общего содержания P_2O_5				Состав плава, %		
	Общее содержание P_2O_5 , %	орто	пиро	поли	ТМФ	ТДФ	ТТФ
МВ дегидратация	81	22,4	35	43,1	56,0	35,5	8,5
$P_2O_5 + H_3PO_4$	81	24,8	36,7	38,4	59,0	33,1	7,9
Термическая дегидратация	81	28,3	42,8	28,9	57,5	34,4	7,1
[8]	83	4,2-8	44-50	45,5-48	37,7-39	35,7-41	18-22

Интересно отметить, что составы ПФК отличаются в заметной степени в зависимости от того, каким методом они получены. Например, при дегидратации H_3PO_4 в микроволновом поле образуется больше поликислот, чем при ее термической дегидратации или

при смешении P_2O_5 и H_3PO_4 . Тем не менее, результаты анализа смесей фосфорных эфиров, полученных с использованием ПФК с равным содержанием P_2O_5 , схожи между собой. Таким образом, выход продуктов фосфорилирования не зависит от состава ПФК и способа ее получения, а только от общего содержания в ней P_2O_5 , что расширяет технологическую вариативность методов получения ПФК и кокарбоксилазы. Однако, как и в модельных опытах, нам не удалось ни одним из методов получить гомогенные образцы ПФК с содержанием P_2O_5 , указанным в литературе (~83 %), поэтому эксперименты проводили с фактически полученными образцами ПФК, однако выдерживали соотношение $P_2O_5/ГХ$ за счет увеличения количества ПФК. Для сравнения были поставлены опыты с менее концентрированными образцами ПФК, в которых наблюдался, как и ожидалось, более низкий выход ТДФ и повышение выхода ТМФ. Кроме того, при использовании 81 %-ной ПФК во всех опытах наблюдался более высокий выход ТМФ и снижение выхода ТДФ. При этом содержание ТДФ – целевого продукта – довольно близко к выходу, приведенному в [8], с использованием 83 %-ной ПФК. Таким образом, концентрация ФА может быть снижена на 2 % в расчете на содержание P_2O_5 без снижения выхода целевого продукта – кокарбоксилазы.

Для сравнения были проведены термические эксперименты с использованием тех же соотношений реагентов, массы веществ и аналогичной установки синтеза. Времена процессов и рассчитанные энергозатраты представлены в табл. 5. Показано, что времена нагрева реакционной массы до достижения температуры реакции (105 ± 5 °С) в термических экспериментах в 3,8 раза выше, чем в микроволновых, при этом времена выдержки по достижении указанной температуры одинаковы для обоих способов нагрева.

Дальнейшее масштабирование термического процесса осуществляли с использованием 10 л реактора с электрическим обогревом. Для сравнения параметров термического синтеза с микроволновым процессом параметры последнего были рассчитаны, исходя из теплофизических расчетов, определения диэлектрических характеристик веществ (см. далее по тексту) и с учетом эффективности использования микроволнового излучения [18], а также исходя из предположения, что номинальная мощность микроволнового источника соответствует мощности электрического обогревателя в термических экспериментах (5 кВт).

Параметры процесса фосфорилирования различного масштаба (200 г и 8 кг смеси) с применением обоих видов нагрева времена процессов и количество вводимой энергии приведены в табл. 5.

Количество вводимой энергии рассчитывалось согласно уравнению:

$$Q_{\text{input}} = P \times t, \quad (2)$$

где P – средняя вводимая мощность (Вт), t – время сушки (сек.).

На основании данных таблицы 5 легко рассчитать, что при масштабировании реакции фосфорилирования длительность термического нагрева увеличивается в 2,13 раза по сравнению с лабораторными экспериментами, в то время как длительность МВ

нагрева увеличивается только в 1,15 раз. Данный факт можно объяснить уменьшением при масштабировании удельной площади поверхности нагрева реакционной смеси, что для термического процесса является критическим параметром, т.к. скорость нагрева лимитирована теплопроводностью реакционной смеси. При этом, очевидно, уменьшается КПД системы нагрева. В то же время, в микроволновом поле скорость нагрева определяется только вводимой СВЧ-мощностью и не ограничена теплопроводностью, при условии, что габариты реактора меньше глубины проникновения МВИ в вещество.

Таблица 5

Параметры фосфорилирования тиаминхлорида с применением термического и микроволнового нагрева

Способ нагрева/ масса реакционной смеси	Время нагрева, ч	Время выдержки, ч	Общее время, ч	Количество вводимой энергии, МДж
Термический/ 200 г	0,3	0,5	0,8	0,144
Термический/ 8 кг	1,2	0,5	1,7	21,5
МВ/200г	0,08	0,5	0,58	0,104
МВ*/8 кг	0,17	0,5	0,67	4,3

*Примітка * - Параметры масштабированных микроволновых процессов рассчитаны, исходя из теплофизических расчетов, а также с учетом диэлектрических свойств реагентов и эффективности использования микроволнового излучения [18].*

Глубина проникновения МВИ в вещество (скин-слой) рассчитывается по формуле [19]:

$$\zeta = \frac{\lambda}{\pi \times \text{tg} \delta \times \sqrt{\epsilon'}}, \quad (3)$$

где: ζ – это глубина проникновения МВИ (скин-слой), см; λ – длина волны, см; ϵ' – диэлектрическая проницаемость вещества; $\text{tg} \delta$ – тангенс угла диэлектрических потерь.

Для определения величин скин-слоя для ортофосфорной кислоты, полифосфорных кислот, и смеси фосфорных эфиров тиамин были измерены их диэлектрические параметры (ϵ' и $\text{tg} \delta$). Для этой цели использовали прибор, разработанный сотрудниками ГНУ НТК «Институт монокристаллов» НАН Украины совместно с сотрудниками ЗАО «Технопарк «Институт монокристаллов» [20].

Методика определения следующая. В цилиндрический резонатор с геометрическими размерами $a=4,7$ см, $l=10,4$ см вдоль оси резонатора помещали ячейку из радиопрозрачного материала (кварц) с размерами: $a=0,845$ см, $l=10,4$, и измеряли резонансные частоты и добротность цилиндрического резонатора с волновым колебанием типа E_{010} в отсутствие и при наличии исследуемого вещества. При последующей обработке результатов измеряли резонансные частоты добротностей резонатора на волнах высших мод E_{01n} , а обработку результатов измерений осуществляли по следующим формулам:

$$\epsilon' = 1 + 0.539 \cdot V / V_c \cdot (f_{0n} - f_{1n}) / f_{0n} \cdot [1 + 6.818 \cdot (a / \lambda_n)^2], \quad (4)$$

$$\begin{aligned} \operatorname{tg} \delta &= 0.269 / \epsilon \cdot V / V_c \times \\ &\times (1 / Q_{1n} - 1 / Q_{0n}) \cdot [1 + 6.818 \cdot (a / \lambda_n)^2] \end{aligned} \quad (5)$$

где: f_{0n}, f_{1n} – резонансные частоты в отсутствие и при наличии материала, соответственно;

Q_{0n}, Q_{1n} – добротности резонатора в отсутствие и при наличии материала, соответственно;

V, V_c – объем резонатора и материала, соответственно; при этом:

$$V = \pi \cdot a^2 \cdot l, \quad (6)$$

$$V_c = \pi \cdot b^2 \cdot h, \quad (7)$$

где a, b, l, h – радиусы и длины резонатора и материала, соответственно,

$$\text{при этом: } \lambda_n = 2l / n, \quad (8)$$

где n – целое число, равное 0, 1, 2 и т. д.

В табл. 6 приведены измеренные значения ϵ' и $\operatorname{tg} \delta$ и рассчитанные по формуле (3) значения скин-слоя для ортофосфорной кислоты, ПФК и смеси фосфорных эфиров тиаминина, полученных в результате фосфорилирования.

Таблица 6

Значения диэлектрических констант и глубины проникновения СВ излучения (2450 МГц) для реагентов и продуктов, участвующих в синтезе кокарбоксилазы

Наименование	ϵ'	$\operatorname{tg} \delta$	Глубина скин-слоя ζ , см
Ортофосфорная кислота	28	0,015	49
ПФК (~80 %)	25	0,01	78
Смесь фосфорных эфиров тиаминина (плав)	30	0,02	35

В наших экспериментах радиус реактора составлял ~12 см, что почти в 3 раза меньше глубины скин-слоя для смеси фосфорных эфиров тиаминина (табл. 6). На основании полученных данных можно с уверенностью утверждать, что в СВ поле в реакционной смеси при аналогичных габаритах реактора будет достигаться равномерное температурное распределение, и роль теплопроводности сведется к минимуму. При этом, как следует из табл. 5, суммарное потребление энергии при микроволновом нагреве уменьшается в 5 раз в сравнении с термическим процессом.

Значения глубины скин-слоя для H_3PO_4 и ПФК также составляют десятки сантиметров, что позволяет масштабировать процессы дегидратации H_3PO_4

до промышленных объемов, причем осуществлять их в реакторах как непрерывного, так периодического действия.

На основании полученных экспериментальных и расчетных данных был оценен экономический эффект от замены традиционного нагрева на микроволновый на стадиях получения ПФК и фосфорилирования тиаминина (табл. 7).

Таблица 7

Относительное уменьшение затрат времени и энергии при замене термического нагрева на микроволновое излучение в процессе синтеза кокарбоксилазы

Наименование стадии синтеза	Коэффициент уменьшения затрат при замене термического нагрева на МВИ	
	Время	Энергопотребление
Получение ПФК	2	3
Фосфорилирование тиаминина	2,5	5

5. Выводы

Проведены эксперименты по моделированию процессов получения кокарбоксилазы, включающих приготовление фосфорилирующего агента – полифосфорной кислоты – и фосфорилирования тиаминхлорида, с применением микроволнового нагрева. Получены образцы полифосфорной кислоты различными методами: смешения фосфорного ангидрида с ортофосфорной кислотой и дегидратацией ортофосфорной кислоты с использованием термического нагрева и микроволнового излучения. Показано, что метод получения фосфорилирующего агента не влияет на соотношение фосфорных эфиров тиаминина. Метод дегидратации ортофосфорной кислоты в микроволновом поле является экономически наиболее предпочтительным, так как позволяет снизить стоимость сырья за счет исключения использования фосфорного ангидрида, а использование микроволнового излучения снижает энергозатраты на приготовление полифосфорной кислоты в 3 раза при сокращении времени ее получения вдвое.

Изучение стадии фосфорилирования тиаминхлорида показало, что замена термического нагрева на микроволновый приводит к сокращению времени процесса в 2,5 раза и снижению энергозатрат в 5 раз без изменения выхода целевого продукта.

Расчет значений глубины проникновения микроволнового излучения в слой реагентов и полупродуктов, используемых для получения кокарбоксилазы, дает основания прогнозировать успешное масштабирование процессов дегидратации ортофосфорной кислоты и фосфорилирования тиаминхлорида с помощью микроволнового излучения до промышленных объемов.

Литература

- Loupy, A. *Microwaves in Organic Synthesis* [Текст] / A. Loupy. - Weinheim : Wiley-VCH - 1007 p.
- Lohmann, K. *Untersuchungen über die Cocarboxylase* [Текст] / K. Lohmann, P. Schuster // *Biochem. Z.* – 1937. – Issue 294. – P. 188-214.
- Stern K. G. *Synthesis of co-carboxylase from vitamine B1* [Текст] / K. G. Stern, J. W. Hofer // *Science.* – 1937. – Vol. 85, Issue 2211. – P. 483-484.

4. Weijlard J. Synthesis, Isolation and Identification of Cocarboxylase [Текст] / J. Weijlard, H. Tauber // J. Am. Chem. Soc. – 1938. – Vol. 60, Issue 9. – P. 2263-2264.
5. Weil-Malherbe H. On the synthesis of cocarboxylase [Текст] / H. Weil-Malherbe // Biochem. J. – 1940. – Vol. 34, Issue 7. – P. 980-990.
6. Karrer P. Zur Frage des Wirkungsmechanismus des Vitamins B1 und zur Kenntnis der Cocarboxylase [Текст] / P. Karrer, M. Visconti // Helv. Chim. Acta. – 1946. – Vol. 29, Issue 3. – P. 711-718.
7. Синтез монофосфорного эфира тиаминфосфата [Текст] / В. М. Березовский [и др.] // Журнал общей химии. – 1962. – Т. 32, № 12. – С. 3890-3892.
8. Синтез кокарбоксилазы [Текст] / В. М. Березовский [и др.] // Журнал общей химии. – 1963. – Т. 33, № 1. – С. 49-55.
9. А. с. 1542895 СССР, МПК С 01 В 25/24. Способ получения полифосфорной кислоты / С. П. Кочетков, Е. П. Парфенов, Е. В. Бабарыка. - № 4279940/23-26; заявл. 07.07.87; опубл. 15.02.90, Бюл. № 6. – 6 с.
10. А. с. 1699907 СССР, МПК С 01 В 25/24. Способ получения полифосфорной кислоты / О. М. Сowiщева, А. Н. Детковская, Л. Л. Альперина. - № 4680054/26; заявл. 08.04.89; опубл. 23.12.91, Бюл. № 47. - 8 с.
11. А. с. 1604735 СССР, МПК С 01 В 25/24. Способ получения полифосфорной кислоты / В. Н. Грамотков, В. И. Катков, В. И. Козлов. - № 4367495/23-26; заявл. 23.12.87; опубл. 07.11.90, Бюл. № 41. – 6 с.
12. А. с. 1430343 СССР, МПК С 01 В 25/24. Способ получения суперфосфорной кислоты / Б. Б. Копылева, А. М. Кержнер, Л. Н. Сыркин. - № 4131697/23-26; заявл. 09.10.86; опубл. 15.10.88, Бюл. № 38. - 4 с.
13. Пат. 2991284 США. НКИ 260-256.6. Novel derivatives of cocarboxylase / A. Wenz, G. Gottmann, H. Koop. - № 763218; заявл. 28.09.1957; опубл. 04.07.1961, Бюл. № 23. - 8 с.
14. Гудзенко Л. В. Экспресс-метод для количественной оценки общего содержания фосфора в конденсированной фосфорной кислоте [Текст] / Л. В. Гудзенко, Р. П. Панталер // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2010. – Т. 76, № 6. – С. 12-15.
15. Popp, F. D. Polyphosphoric acids as a reagent in organic chemistry [Текст] / F. D. Popp, W. E. McEwen // Chem. Rev. – 1958. – Vol. 58, Issue 2. – P. 321-401.
16. Van Wazer J. R. Phosphorus And Its Compounds: Volume I: Chemistry [Текст] / J. R. Van Wazer. – New York.: Interscience Publishers, Inc., 1958. – 687 с.
17. Beneficial energy-efficiencies in the microwave-assisted vacuum preparation of polyphosphoric acid [Текст] / N. A. Pinchukova [et al.] // Chemical Engineering and Processing : Process Intensification. – 2011. – Volume 50, Issue 11-12. – P. 1193–1197.
18. A Facile Microwave-Mediated Drying Process of Thermally Unstable/Labile Products [Текст] / N. A. Pinchukova [et al.] // Org. Process Res. Dev. – 2010. – Vol. 14, Issue 5. – P. 1130–1139.
19. Okress, E. C. Microwave power Engineering. Volume 2. Applications [Текст] / Ed. by E. C. Okress. - New York and London : Academic Press, 1968. - 272 p.
20. Пат. 34146 Україна, МПК G01R 27/26, G01N 22/00. Спосіб визначення діелектричної проникності та тангенса кута втрат матеріалу / О. Ю. Волошко, Г. Д. Крамський, Є. Д. Крамський В. Л. Самойлов, В. П. Семиноженко, О. А. Чепкій, О. В. Шишкін. - № u 2008 03757; заявл. 25.03.2008; опубл. 25.07.2008, Бюл. № 14. -6 с.