

Гомогенизация с помощью размольных элементов: краткий курс для начинающих

Введение

Гомогенизация с помощью размольных элементов – это эффективный метод разрушения различных биологических образцов. Измельчение достигается за счёт быстрого встряхивания образцов с элементами (шариками или зёрнами) в специальном измельчителе. Образцы могут быть обработаны как с добавлением, так и без добавления буферов и растворителей при комнатной или пониженной температуре.

GG и MiniG – это высокопроизводительные гомогенизаторы, которые могут обрабатывать образцы как в планшетах с глубокими ячейками, так и в других ёмкостях (включая пробирки на 50 мл) При размоле происходит быстрое возвратно-поступательное движение образца по вертикали, таким образом, кинетическая энергия фокусируется на размольные элементы, а не на стенках контейнера с пробой. При помощи данного оборудования эффективно гомогенизируются даже такие трудно поддающиеся измельчению образцы, как семена.

Зависимость от типа образца

Образцы отличаются по степени устойчивости к измельчению. Даже образцы со средней устойчивостью можно легко гомогенизировать приборами, подобными GG и MiniG.

Ключ к эффективному размалыванию – это баланс между массой образца, объёмом ёмкости, материалом и размером размольных элементов. Метод, эффективный для одного типа образцов может быть бесполезен для другого, поэтому часто необходимо разрабатывать отдельный протокол под конкретный образец для достижения наилучшего результата.

Параметры гомогенизации

Независимо от типа используемой ёмкости она должна быть способной выдерживать воздействие размольных элементов – шариков и зёрен. Отличным выбором являются поликарбонатные ёмкости – прочные, чистые, устойчивые к ударному воздействию и пониженным температурам. Однако, поликарбонат несовместим со многими органическими растворителями, и в таком случае могут быть использованы полиэтиленовые и полипропиленовые пробирки и планшеты с глубокими ячейками, даже несмотря на их слабую устойчивость к механическим повреждениям при применении в качестве измельчительных элементов металлических шариков.

Для эффективной гомогенизации размер и тип образца должен соответствовать объёму ёмкости и типу измельчительных элементов. Элементам необходимо пространство для свободного перемещения внутри пробирок, поэтому их не следует чрезмерно заполнять буфером или зёрнами. Общее правило: образец не должен занимать более 1/6 ёмкости, а измельчительные элементы – более 1/3.

Существуют следующие типы размольных элементов:

Зёрна – имеется выбор зёрен с размерами внутри определённого диапазона. Зёрна малого диаметра хорошо подходят для разрушения мелкодисперсных образцов, таких, как дрожжи и бактерии, зёрна большего размера или шарики наиболее эффективны для растительных и животных тканей.

Шарики – имеют сферическую форму и точный размер. В случае использования буферов, с которыми реагирует нержавеющая сталь, альтернативой являются керамические элементы.

Керамические элементы/размольные композиты – элементы неправильной формы с острыми краями.

Размольные элементы с высокой плотностью, изготовленные из таких материалов как сталь и цирконий, более эффективны, чем кремниевые, однако, в процессе измельчения с их помощью температура может повышаться. Более того, откалываемые от некоторых зёрен частички могут ингибировать ряд ферментативных реакций – поэтому не существует элементов, годящихся для выполнения всех задач одновременно.

Обычно размольные элементы очищают перед использованием – удаляют разного рода загрязнители. Промывка кислотой – это наиболее распространённый способ очистки, а прокаливание позволяет избавиться от нуклеаз и нуклеиновых кислот. Предлагаются также зёрна с низкой связывающей способностью, при их использовании в суспензии остаётся большее количество аналита.

Криогенная гомогенизация

Некоторые сложные для размолла образцы необходимо измельчать при пониженных температурах. Оба прибора - как GG, так и MiniG могут обрабатывать образцы, помещённые в специальные крио-блоки. Данная техника применима и к трудно-измельчаемым, и к термолабильным пробам.

Гомогенизация образцов

МИКРООРГАНИЗМЫ

Бактерии

Важными параметрами для выбора условий измельчения являются размер и плотность клеток в среде. Циркониевые или кремниевые зерна размером 100 мкм наиболее эффективны, потерь анализа можно избежать при использовании зёрен со слабым связыванием. Пробы можно помещать в многоячеистые планшеты, виалы на 0,5 мл, 2 мл, 4 мл или 15 мл. Рекомендуется высокая скорость размолла.

	Пробирки на 2 мл	Планшеты с глубокими ячейками (квадратными)	Виалы на 4 мл	Виалы на 15 мл
Объём буфера	600 мкл	600 мкл	1.5 мл	6 мл
Объём зёрен (100мкм зёрна)	400 мкл	300 мкл	0.8 мл	3 мл
Время измельчения	2-5 мин.	5 мин.	5 мин.	5-10 мин.
Скорость	Высокая	Высокая	Высокая	Высокая

Предлагаемая продукция:

100 мкм зёрна - 2168 (Кремний, слабосвязывающие, 200г в бутылочке); 2081 (Цирконий, слабосвязывающие, 250г в бутылочке)

100 мкм зёрна в виалах на 2 мл - 2301-100 MB, 100 мкм кремниевые зёрна, степень чистоты MB; 2302-100 AW, 100 мкм циркониевые зёрна, промытые кислотой.

Образцы окружающей среды

В эту категорию попадают воздух, вода, почва, осадки и поверхности с биоплёнками. Общим свойством таких образцов является наличие биотического и абиотического компонентов. В зависимости от плотности расположения биотических элементов, образцы могут быть подвергнуты концентрированию путём центрифугирования или фильтрации.

При исследовании проб окружающей среды, как правило, необходимо использовать смесь различных шариков и зёрен для эффективного разрушения присутствующих в образце компонентов. Зёрна большего размера разбивают частицы почвы, а меньшего – разрушают микроорганизмы, такие, как бактерии и грибы. Пробы можно обрабатывать в различных виалах.

Матрица	Образец	Смесь зёрен
Мембранный фильтр	¼ часть 47 мм фильтра в пробирке на 2 мл.	По 100 мг зёрен размером 100 и 400 мкм.
Почва/осадки	250 мг в пробирке на 2 мл.	100 мг кремниевых зёрен размером 100 мкм, 500 мг зёрен размером 400 мкм, два стеклянных шарика диаметром 4 мм.
Биоплёнка	Субстрат с биоплёнкой помещают в размольную виалу (цель – отделить плёнку от субстрата)	Сначала заполнить 1/6 объёма циркониевыми зёрнами размером 1 мм. Затем добавить зёрна меньшего размера при необходимости.

Предлагаемые продукты:

Зёрна – 2181, 100 мкм цирконий ; 2168, 100 мкм кремний; 2167, 400 мкм кремний; XXXX, 1 мм циркониевые зёрна; XXXX, 4 мм стеклянные шарики.

Заполненные пробирки на 2 мл –2303-ММЗ, Смесь 100 мкм,1.4 мм циркониевых & 4 мм кремниевых зёрен.

Дрожжи

Дрожжевые клетки маленького размера, такие, как *Pichia* наилучшим образом измельчаются циркониевыми зёрнами размером 200 мкм. Для более крупных дрожжевых клеток, например, *Saccharomyces* подходят кремниевые или циркониевые зёрна размером 400 мкм. При низкой плотности клеток в среде полезно использовать слабосвязывающие зёрна. Пробы можно обрабатывать в различных виалах.

	Пробирки на 2 мл	Планшеты с глубокими ячейками (квадратными)	Виалы на 4мл	Виалы на 15 мл
Объём буфера	600 мкл	600 мкл	1.5 мл	6 мл
Объём зёрен (400 мкм)	400 мкл	300 мкл	0.8 мл	3 мл
Время измельчения	2-5 мин	5 мин	5-10 мин	5-10 мин
Скорость	Высокая	Высокая	Высокая	Высокая

Предлагаемые продукты:

Зёрна – 2182, 200 мкм - циркониевые для *Pichia*; 2167, 400 мкм - кремниевые для *Saccharomyces*

Заполненные пробирки – 2304-400, 400 мкм кремниевые зёрна; 2302-200 AW, 200 мкм циркониевые.

Грибы

Мицелиальные грибы, псевдомицелии и плодовые тела можно гомогенизировать различными зёрнами. Рыхлые мицелии хорошо разрушаются 800 мкм- или 1.7 мм- циркониевыми или кремневыми зёрнами. При увеличенной плотности мицелия, например для плодовых тел, необходимы зёрна большего размера или небольшие шарики – они позволят разрушить таллом и клетки. Твёрдые плодовые тела можно измельчить с помощью стальных шариков диаметром 2.8 мм. Некоторые грибные структуры и составные организмы, такие, как лишайники, могут потребовать смеси элементов различного размера, как и большинство образцов окружающей среды. Использование зёрен со слабым связыванием минимизирует потери аналита. Пробы можно обрабатывать в различных виалах.

Тип образца	Пробирки на 2 мл	Планшеты с глубокими ячейками (квадратными)	Виалы на 4 мл	Виалы на 15 мл
<i>Мицелий</i>				
Размер образца	50 мкл	50 мкл	??	??
Размер зёрен	800 мкм Zr (Zr - Цирконий)	800 мкм Zr	800 мкм Zr	800 мкм Zr
Масса зёрен	600 мг	600 мг	1200 мг	3 г
<i>Кожица</i>				
Сырой вес	200 мг	200 мг	500 мг	До 2 г
Размер шариков	1.7 мм Zr	1.7 мм Zr	1.7 мм Zr	1.7 мм Zr
Масса шариков	570 мг	570 мг	1200 мг	3г
<i>Таллом</i>				
Сырой вес	200 мг	200 мг	500 мг	До 2 г
Размер шариков	2.8 мм SS (SS - Нержавеющая сталь)	2.8 мм SS	2.8 мм SS	2.8 мм SS
Кол-во шариков	8	8	15	30
Время измельчения	2-5 мин.	2-5 мин.	5 мин.	5-10 мин.
Объём буфера	600 мкл	600 мкл	1.5 мкл	6 мкл
Скорость	Высокая	Высокая	Высокая	Высокая

Предлагаемые продукты:

Зёрна – XXXX, 800 мкм-циркониевые зёрна для мицелия; XXXX, 1.7 мм-циркониевые зёрна для грибных тел; XXXX, 2.8 мм-шарики из нержавеющей стали для таллома (включая плодовые тела).

Заполненные пробирки на 2 мл – XXX, 800 мкм-циркониевые зёрна для мицелия; 2302-1700AW, 1.7 мм-циркониевые зёрна для кожицы; 2305-2800SS, 2.8 мм-стальные шарики для таллома.

РАСТЕНИЯ

Пыльца

Пыльца имеет твёрдую клеточную стенку и наиболее эффективно разрушается циркониевыми зёрнами. Поскольку размер частиц пыльцы варьируется в широком диапазоне, размер зёрен должен ему соответствовать. Слишком маленькие зёрна не смогут сломать оболочку пыльцы, слишком крупные будут также малоэффективны из-за редких столкновений с частицами. Для пыльцы с частицами размером менее 10 мкм следует брать 200 мкм-циркониевые зёрна, для пыльцы 10-50 мкм – 400-мкм циркониевые зёрна, а для пыльцы более 50 мкм лучше всего подходят зёрна размером 800 мкм. Пробы можно обрабатывать в различных виалах.

	Пробирки на 2 мл	Планшеты с глубокими ячейками (квадратными)	Виалы на 4 мл	Виалы на 15 мл
Масса образца	10 мг	10 мг	До 25 мг	До 100 мг
Объём буфера	500 мкл	500 мкл	1 мл	5 мл
Объём зёрен	400 мкл	300 мкл	1 мл	3 мл
Время измельчения	2-5 мин.	2-5 мин.	5 мин.	5-10 мин.
Скорость	Высокая	Высокая	Высокая	Высокая

Предлагаемые продукты:

Зёрна –2181, 100 мкм цирконий; XXXX, 400 мкм цирконий; XXXX, 800 мкм цирконий

Заполненные пробирки на 2 мл –2302-100AW2, 100 мкм-циркониевые зёрна; XXXX, 400 мкм цирконий; XXXX 800 мкм цирконий

Листовая ткань

В качестве образца часто берут вырезанный кусочек листа. Небольшие образцы весом до 50 мг для экстракции генетического материала можно измельчать в планшетах с глубокими ячейками, используя циркониевые или стальные шарики диаметром примерно 4 мм. При обработке плотной листовой ткани может потребоваться использование более крупных зёрен и шариков.

Образцы весом более 100 мг следует обрабатывать в правильно выбранных размольных виалах. Для навесок до 200 мг хорошо подходят поликарбонатные виалы на 4 мл с одним 8-мм или 9-мм шариком. Для навески до 1 г используйте поликарбонатные пробирки на 15 мл с двумя шариками диаметром 11 мм. Если нержавеющая сталь реагирует с буфером, возьмите циркониевые шарики.

Измельчение с элементами в растворе может быть использовано для генерации маленьких фрагментов ДНК для ПЦР. Для поддержания образцов в замороженном виде и рассеяния тепла используйте криоблоки.

	Пробирки на 2 мл	Планшеты с глубокими ячейками (квадратными)	Виалы на 4 мл	Виалы на 15 мл
Масса образца	50 мг	50 мг	200 мг	До 1 г
Объём буфера	600 мкм	600 мкм	2 мл	6 мл
Шарики	8 x 2.8 мм	1 x 4 мм	1 x 9 мм	2 x 11 мм
Время измельчения	1 мин.	1 мин.	2 мин.	2-5 мин.
Скорость	2/3	2/3	2/3	2/3

Предлагаемые продукты:

Шарики – XXXX, 2.8 мм - стальные шарики; 2150, 4 мм - стальные шарики; 2155, 9.5 мм - стальные шарики; 2156, 11 мм- стальные шарики

Заполненные пробирки на 2 мл – 2302-3000AW, 3 мм Цирконий; 2305-2800SS, 2.8 мм-стальные шарики

Стебли растений

Стебли содержат много сосудистой ткани, устойчивой к размалыванию. Небольшие молодые стебли можно измельчать также, как и листья – образцы массой менее 50 мг в планшетах с глубокими ячейками с одним шариком диаметром 4 мм.

Образцы крупных жёстких стеблей лучше всего обрабатывать в размольных виалах на 4 или 15 мл. Для навесок до 200 мг используйте виалы на 4 мл с одним шариком диаметром 8 мм или 9 мм; для навесок до 1 г возьмите поликарбонатные виалы на 15 мл с двумя 11 мм-стальными шариками.

	Пробирки на 2 мл	Планшеты с глубокими ячейками (квадратными)	Виалы на 4 мл	Виалы на 15 мл
Масса образца	50 мг	50 мг	200 мг	До 1 г
Объём буфера	600 мкл	600 мкл	2 мл	6 мл
Шарики	8 x 2.8 мм	1 x 4 мм	1 x 9 мм	2 x 11 мм
Время измельчения	2 мин.	2 мин.	2 мин.	2-5 мин.
Скорость	Высокая	Высокая	Высокая	Высокая

Предлагаемые продукты:

Шарики – XXXX, 2.8 мм стальные; 2150, 4 мм стальные; 2155, 9.5 мм стальные; 2156, 11 мм стальные.

Наборы виал – 2240-PC – 24 поликарбонатных виалы на 5мл, в каждой по стальному шариком диаметром 9.5 мм; 2250, набор из очищенных коротких поликарбонатных виал на 15 мл, в каждой по стальному шариком размером 11 мм.

Семена

Образцы семян лучше всего поддаются сухой гомогенизации с непропорционально большим шариком, который разбивает твёрдую оболочку. Высушенные на воздухе или лиофильно-высушенные семена с достаточно низким содержанием влаги при размоле превращаются в мелкодисперсный порошок.

Важен правильный выбор ёмкости, поскольку пластик имеет тенденцию к нагреванию и размягчению в процессе гомогенизации. Для большинства семян необходим стальной шарик диаметром минимум 9 мм в поликарбонатной виале. Одно семя обычно обрабатывают в одной виале на 4 мл, для большего количества семян требуются поликарбонатные виалы на 15 мл. Если стальным шарикам не хватает энергии для размалывания, их можно заменить шариками из карбида вольфрама. Некоторые виды семян, например, пальмовый орех, хорошо размалываются только с помощью FreezerMill.

	Виалы на 4 мл	Виалы на 15 мл
Кол-во образца	Одно семя	До 5 г
Шарики	1 x 9 мм	2 x 11 мм
Время измельчения	2-3 мин.	3-5 мин.
Скорость	Высокая	Высокая

Предлагаемые продукты:

Шарики –2155, 9.5 мм стальные шарики; 2156, 11 мм стальные шарики.

Наборы виал – 2240-PC – 24 поликарбонатные виалы на 5 мл, в каждой – стальной шарик диаметром 9.5 мм; 2250, набор очищенных коротких поликарбонатных виал на 15 мл, в каждой – стальной шарик диаметром 11 мм.

Животные ткани

Мягкие ткани животных, печень/мозг

Мягкие ткани животных легко гомогенизируются размольными элементами, как с добавлением буфера, так и в криогенных условиях (при необходимости получения высокомолекулярной ДНК). Образцы массой менее 100 мг можно обрабатывать в пробирках с циркониевыми зёрнами размером 1.4-3.0 мм. Эффективны также глубоко-ячеистые планшеты и размольные элементы размером 4 или 6 мм.

Пробы навеской до 200 мг лучше всего гомогенизировать в размольных виалах с шариками диаметром 8 или 9 мм. До 2 г животной ткани можно обрабатывать в пробирках на 15 мл с шариками диаметром 11 мм. При контакте с агрессивной средой, такой как буферы на основе фенола, следует использовать полиэтиленовые виалы и циркониевые шарики.

	Пробирки на 2 мл	Планшеты с глубокими ячейками (квадратными)	Виалы на 4 мл	Виалы на 15 мл
Масса образца	20 мг	20 мг	100-200 мг	До 2 г
Объём буфера	600 мкл	200 мкл	1 мл	6 мл
Шарики	8 x 2.8 мм	1 x 4 мм	1 x 9 мм	2 x 11 мм
Время измельчения	2 мин.	2 мин.	2-3 мин.	3-5 мин.
Скорость	Высокая	Высокая	Высокая	Высокая

Предлагаемые продукты:

Шарики – XXXX, 2.8 мм, сталь; 2150, 4 мм, сталь; 2155, 9.5 мм, сталь; 2156, 11 мм, сталь.

Заполненные пробирки - 2305-2800SS, стальные шарики диаметром 2.8 мм.

Наборы виал – 2240-PC – 24 поликарбонатные виалы на 5 мл, в каждой – стальной шарик диаметром 9.5 мм; 2250, набор очищенных коротких поликарбонатных виал на 15 мл, в каждой – стальной шарик диаметром 11 мм.

Волокнистая животная ткань, мышцы/сердце/лёгкие

Данные образцы содержат много соединительной ткани и микрофиламентов, поэтому для их измельчения требуются значительно большие усилия, чем для мягких тканей. Волокнистые ткани можно гомогенизировать в буфере или при низких температурах.

Для проб менее 50 мг используйте пробирки с циркониевыми шариками диаметром 1.7-3.0 мм или маленькие стальные шарики. В качестве альтернативы возьмите планшеты с глубокими ячейками и шариками диаметром 4 или 6 мм.

Более крупные образцы можно гомогенизировать в размольных виалах. До 200 мг – в виалах на 4 мл с одним 9 мм-шариком; до 2г – в 15 мл пробирках с двумя 11 мм-шариками. При применении органических растворителей, реагирующих с поликарбонатом, используйте полиэтиленовые пробирки или планшеты. Размольные элементы из оксида циркония устойчивы к коррозионным реагентам, их можно использовать вместе с гранатовыми частицами для разрыва и разрезания тканей.

	Пробирки на 2 мл	Планшеты с глубокими ячейками (квадратными)	Виалы на 4 мл	Виалы на 15 мл
Масса образца	20 мг	20 мг	100-200 мг	До 2 г
Объём буфера	600 мкл	200 мкл	1 мл	6 мл
Шарики	8 x 2.8 мм	1 x 4 мм	1 x 9 мм	2 x 11 мм
Время измельчения	2 мин	2 мин	3-5 мин	5-10 мин
Скорость	Высокая	Высокая	Высокая	Высокая

Прилагаемые продукты:

Шарики – ХХХХ, 2.8 мм, сталь; 2150, 4 мм, сталь; 2155, 9.5 мм, сталь; 2156, 11 мм, сталь.

Заполненные пробирки - 2305-2800SS, стальные шарики диаметром 2.8 мм.

Наборы виал – 2240-PC – 24 поликарбонатные виалы на 5 мл, в каждой – стальной шарик диаметром 9.5 мм; 2250, набор очищенных коротких поликарбонатных виал на 15 мл, в каждой – стальной шарик диаметром 11 мм.

(Для пробирок на 4 и 15 мл рассмотрите варианты с измельчением при пониженной температуре)

Эластичные животные ткани, кожа, склера/хрящи

Ткани со значительным содержанием коллагена сложны для гомогенизации. В порядке повышения её эффективности, масса образца должны быть относительно мала по сравнению с измельчительными элементами и ёмкостью. Образцы менее 20 мг лучше всего обрабатывать в поликарбонатных виалах на 4 мл с одним стальным шариком диаметром 9 мм. Более крупные в виалах на 15 мл с двумя 11 мм-шариками. Для измельчения эластичных тканей часто требуется создание пониженных температур.

	Виалы на 4 мл	Виалы на 15 мл
Масса образца	20 мг	До 250 мг
Объём буфера	1 x 9 мм	2 x 11 мм
Шарики	5 мин.	5-10 мин.
Время измельчения	Высокая	Высокая

Предлагаемые продукты:

Шарики –2155, 9.5 мм стальные шарики; 2156, 11 мм стальные шарики.

Наборы виал – 2240-PC – 24 поликарбонатные виалы на 5 мл, в каждой – стальной шарик диаметром 9.5 мм; 2250, набор очищенных коротких поликарбонатных виал на 15 мл, в каждой – стальной шарик диаметром 11 мм.

(Для пробирок на 4 и 15 мл рассмотрите варианты с измельчением при пониженной температуре)

Твёрдые животные ткани, кости, шерсть/когти

Данные образцы лучше всего гомогенизировать, используя непропорционально большие шарики, чтобы раздробить ткань. Часто требуется охлаждение до низких температур, чтобы сделать образец хрупким. Для этого типа проб наиболее эффективным является применение FreezerMill.

Учитывая природу образцов, для размолла нужны пробирки из прочного пластика, например поликарбоната. Образцы массой менее 100 мг лучше всего гомогенизировать в виалах на 4 мл с одним 9 мм-шариком из нержавеющей стали или карбида вольфрама. Более крупные образцы эффективно обрабатывать в 15-мл поликарбонатном виале с двумя 11-м шариками из стали или карбида вольфрама.

	Виалы на 4 мл	Виалы на 15 мл
Масса образца	100 мг	До 1г
Объём буфера	1 мл	6 мл
Шарики	1 x 9 мм	2 x 11 мм
Время измельчения	3-5 мин.	5-10 мин.
Скорость	Высокая	Высокая

Прилагаемые продукты:

Шарики –2155, 9.5 мм стальные шарики; 2156, 11 мм стальные шарики.

Наборы виал – 2240-PC – 24 поликарбонатные виалы на 5 мл, в каждой – стальной шарик диаметром 9.5 мм; 2250, набор очищенных коротких поликарбонатных виал на 15 мл, в каждой – стальной шарик диаметром 11 мм.

(Для пробирок на 4 и 15 мл рассмотрите варианты с измельчением при пониженной температуре)

Заключение

Измельчители тканей GG2010 и MiniG полностью доказали свою эффективность и высокую производительность. Эти измельчители характеризуются гибкими настройками и способностью к одновременной обработке множества образцов.

Режим возвратно-поступательного движения размольных элементов эффективен для разрушения тканей и лизиса клеток при решении разного рода задач: от выделения генетического материала и белков до экстракции пестицидов в низкой концентрации.

Для обеспечения надлежащего качества аналитических результатов эффективная и однородная пробоподготовка существенно важна во всех видах анализа. Выше освещён ряд вопросов, которые следует принимать во внимание. Приведённые материалы помогут приступить к работе с разными типами образцов.

Однако, для оптимизации процедуры измельчения, в каждом конкретном случае требуется разработка отдельного протокола, который можно затем постоянно использовать для образцов данного типа с целью гарантии точности анализа.

Если Вам требуются какие-либо другие советы и рекомендации, пожалуйста, свяжитесь со Spex Europe по телефону +44 208 204 6656 или с представителем Spex в Вашем регионе по телефону +7 495 707 2868

Приложение

Свойства измельчительных элементов:

	Кремний	Силикат циркония	Оксид циркония 1	Оксид циркония 2	Нежавеющая сталь
Плотность (г/см³)	2.25	3.84	6.0	6.2	7.9
Износостойкость	Низкая	Средняя	Высокая	Высокая	Средняя
Относительная твёрдость	+	++	++++	++++	++

MRT, Февраль 2016

AVG, Апрель 2016

Официальный представитель в России и странах ближнего зарубежья

stylab[®]

123022, Москва, Звенигородское шоссе, 5, ВНИИВСГЭ
телефон/факс: (+7 495) 662-64-15, 707-28-68, (+7 499) 256-23-13
телефон: (+7 495) 729-17-04
stylab.ru, stylab-shop.com, stylab-test.com
info@stylab.ru

Страница 15 из 15