

АГРОХИМИЯ

М. П. ПОЛЯКОВ

НОВАЯ ТЕХНИКА МИКРОТИТРОВАНИЯ

Химическое исследование многих биологических объектов, а также новых и малодоступных препаратов часто бывает затруднительно и даже невозможно из-за ограниченного количества исследуемого материала. Только с развитием микроанализа стало возможным определять химический состав тканевых препаратов, частиц растений, микроорганизмов, почвенных растворов и т. п.

Особый интерес представляет сочетание микроанализа с распределительной хроматографией, дающее возможность полуколичественного определения ряда биологически важных веществ, находящихся в сложных смесях. Впрочем, область применения микроанализа в настоящее время нельзя ограничивать теми объектами, количество которых недостаточно для обычного анализа,— микроанализ, особенно объемный, целесообразно применять и в тех случаях, когда количество анализируемого вещества не ограничено. Это дает экономию труда, времени и реактивов и представляет удобство для аналитика, а весьма малый расход реактивов позволяет применять новые, малодоступные и дорогие реактивы.

Характерной чертой в развитии микроанализа является то, что в нем используются те же аналитические реакции, которые положены в основу классических методов анализа; так, любое объемное определение принципиально может быть выполнено в микромодификации, если применить соответствующую технику. Поэтому точность микрообъемных определений зависит не столько от методики, сколько от совершенства аппаратуры и приемов, т. е. от техники микротитрования.

На первой ступени развития техника микротитрования принципиально не отличалась от техники обычного титрования. Так, распространенная в свое время микробюретка Банга отличалась от обычных бюреток главным образом малыми размерами, но так же, как и в случае обычной макробюретки, выпускание жидкости из нее производилось через кран целыми каплями, а так как объем одной капли составлял значительную часть всего объема бюретки, то, чтобы уменьшить „капельную ошибку“, приходилось в конце титрования выпускать доли капли и снимать их с кончика бюретки. Но и этот прием, вообще довольно кропотливый, не всегда давал возможность заканчивать микротитрование с желаемой точностью, поэтому во всех случаях,

где количество титруемой жидкости позволяло, следовало предпочесть обычное титрование.

Положение коренным образом изменилось, когда Е. А. Шилов предложил микробюретку без крана [1]. Как известно, у бюретки Шилова функцию крана выполняет капиллярный кончик и пневматическое приспособление (мембрана). Скорость выпуска раствора регулируется избыточным давлением, создаваемым мембраной, а время вытекания — продолжительностью соприкосновения кончика бюретки с поверхностью титруемой жидкости. Таким образом, скорость и время вытекания устанавливаются независимо друг от друга. Эта особенность, присущая всем бескрановым бюреткам, дала возможность Шилову выработать новый, исключительно тонкий прием добавления произвольно малых объемов раствора, и тем свести капельную ошибку к исчезающей величине. Точность микротитрования сразу повысилась настолько, что оно могло бы во многих случаях заменить обычное титрование.

В дальнейшем принцип микробюретки Шилова неоднократно использовался для создания новых модификаций бескрановых микробюреток как с пневматическими, так и со ртутными приспособлениями [2, 3], а использование капиллярных сил становится характерной чертой техники микрообъемного анализа.

Используя принцип Шилова, мы в 1940 году предложили две модификации капиллярно-гидростатических микробюреток [4, 5]. Отличительные особенности наших бюреток — горизонтальное положение и сифон — позволили обойтись без пневматики*.

В дальнейшем мы разработали особый тип колб для микротитрования, в которых перемешивание жидкости осуществляется без применения сжатого воздуха — путем вращения самой колбы. Применение новых колб привело нас к новой модификации капиллярно-гидростатической микробюретки, а также к созданию микропипетки с автоматическим наполнением. Далее, мы ввели автоматическое наполнение микробюреток из ампул, содержащих титрующий раствор.

Ниже дается описание приборов и приемов микротитрования, разработанных в нашей лаборатории, и их основные производственные показатели.

Описание аппаратуры для микротитрования и приемов работы с ней

1. *Микропипетки* на 1 мл изготавливаются из трубки химически стойкого стекла (рис. 1). Один конец трубки оттянут и согнут в виде

* Независимо от нас, несколько позже к нашим идеям частично пришли: Хибиште и Бенедетти-Пихлер (1941), Конвей (1947) и Кирк (1950). Хибиште и Бенедетти-Пихлер, а также Конвей придали своим бюреткам горизонтальное положение, однако, без пневматики не обошлись. Кирк применил горизонтальное положение и сифон, но все же предлагает снабдить бюретку краном, что, по нашему убеждению, является шагом назад.

„крючка“ (а), а другой представляет собой постепенно суживающийся капилляр с достаточно прочными стенками, длиной около 10 см. Кончик капилляра (б) сужен до 0,2 мм. Полная емкость пипетки— 1000 ± 2 мкл (на выливание). Пипетка сохраняется наполненной (погруженной в дистиллированную воду).

2. *Колбочки для микротитрования* (рис. 2) имеют две особенности. Во-первых, они имеют „ножку“—стеклянную палочку, припаянную ко дну. Эта ножка позволяет перемешивать титруемую жидкость без применения сжатого воздуха. Во-вторых, колбочки не имеют горлышка, а только отверстие такого размера, что вода или водные растворы не выливаются из колбочек ни при лежачем, ни в перевернутом положении.

Для перемешивания жидкости в колбочке берут ее за ножку, сильно наклоняют, затем „крутят“—перекатывают ножку между большим и указательным пальцами взад и вперед, причем колбочка совершает по два-три оборота туда и обратно; от перемены вращения происходит интенсивное перемешивание жидкости.

3. *Пипетирование*. Особенность техники отмеривания проб, применяемой нами, заключается в том, что жидкость набирается в пипетку без насасывания ртом—автоматически—через верхний конец пипетки из колбочки, перевернутой отверстием вниз. Кроме того, пока одна проба выливается из нижнего конца пипетки—в верхний конец ее уже поступает следующая проба, или же жидкость для ополаскивания. Таким образом выливание из пипетки и ее наполнение объединяются в одну операцию.

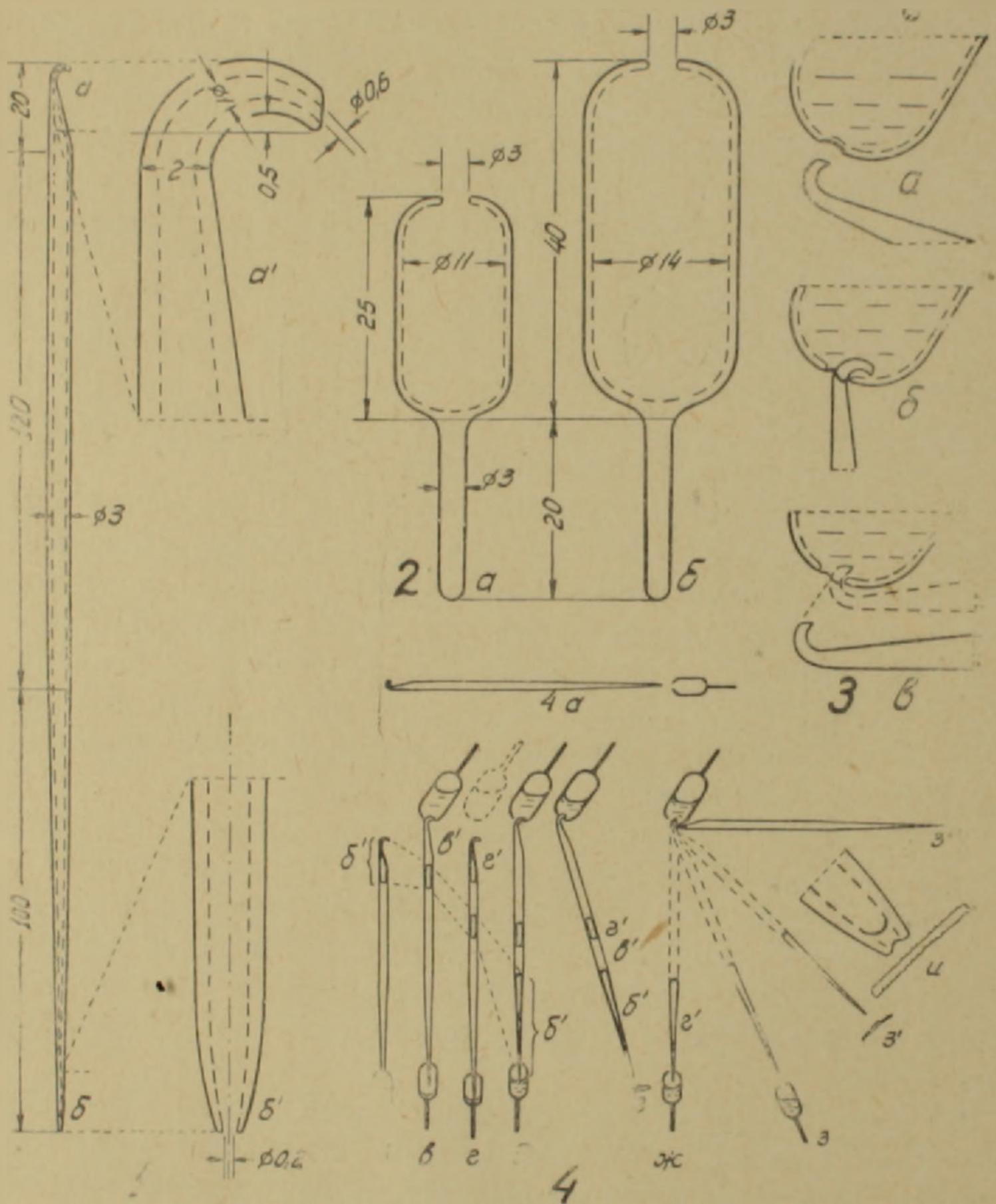
Отмеривание пробы в общем случае состоит из следующих операций: 1) выливания воды из пипетки, 2) ополаскивания пипетки жидкостью, подлежащей отмериванию, 3) набирания пробы и 4) выливания отмеренной пробы в колбочку. Как видно из дальнейшего, все эти операции в значительной мере накладываются друг на друга, поэтому времени требуется гораздо меньше, чем при работе с обычными пипетками.

На прямой конец пипетки (наполненной водой) надвигают колбочку для принятия ополосков (рис. 4а) и приводят в вертикальное положение (4б). Вода начинает выливаться, а в „крючек“ входит воздух, образующий разделительный пузырь (б'). Как только воздух заполнит около 0,1 объема пипетки, вводят крючек в колбочку с раствором, подлежащим отмериванию (рис. 3а и 3б)—раствор входит в крючек вслед за пузырем (рис. 4в').

Так как раствор поступает в пипетку, смоченную водой, то первая порция его подвергается некоторому разбавлению, поэтому ее нужно отделить и использовать для ополаскивания пипетки. Это делается так. Когда войдет столбик раствора, равный пузырю (или несколько больше) (в')—отцепляют пипетку на время (рис. 4г), дают зайти второму разделительному пузырю (г') и снова нацепляют. Столбик раствора (в'), заключенный между пузырями, проходя через

пипетку, ополаскивает ее, оставляя стенки смоченными той же жидкостью, которая подлежит отмериванию.

Дойдя до кончика, пузырь должен остановиться (для этого необходимо, чтобы диаметр отверстия в кончике был достаточно мал)



Пипетка, колба и процесс пипетирования

Рис. 1. Пипетка на 1000 мкл. (а)—ее изогнутый конец—«крючок», (б)—ее кончик, (а' и б')—то же увеличено.

Рис. 2. Колбочка: (а)—для титрования, (б)—для раствора, подлежащего отмериванию.

Рис. 3. Манипуляции пипеткой: (а)—введение крючка в отверстие колбочки, (б)—висячее положение пипетки, (в)—выведение крючка из колбочки.

Рис. 4. Процесс пипетирования: (а)—надвигание колбочки, (б)—впуск первого пузыря, (в)—впуск ополаскивающей порции раствора, (г)—впуск второго пузыря, (д)—впуск отмериваемой пробы, (е)—выпускание первого пузыря, (ж)—снятие последней капельки, (з—з'—з'')—выпускание второго пузыря—завершение наполнения, (и)—жидкая пробка (увеличено).

и чтобы пузырь (б'), подойдя к кончику, вытянулся не менее, чем до 10 см; кроме того, кончик пипетки должен быть хоть немного погружен в жидкость).

После отставления колбочки, в кончике остается ничтожная капелька— „жидкая пробка“— (и), которая препятствует выходу воздуха. Чтобы выпустить пузырь, следует прикоснуться к отверстию кончика фильтровальной бумагой (или просто пальцем). Выпустив далее ополаскивающий столбик (в'), оставляют колбочку, новым прикосновением открывают выход второму пузырю и, наконец, приводят пипетку в горизонтальное положение с таким расчетом, чтобы жидкость как раз дошла до кончика, но не выступила наружу.

Выливание отмеренной пробы, как уже говорилось, сочетается с новым наполнением, или же с ополаскиванием пипетки. Держа наполненную пипетку горизонтально, надвигают на нее колбочку для титрования, приводят в вертикальное положение, дают зайти разделительному пузырю и подвешивают к колбочке с тем же раствором (если требуется еще проба), или с водой (если требуется пипетку вымыть). Когда пузырек дойдет до кончика, выпускают его как описано выше и т. д. Таким образом, после выливания отмеренной пробы пипетка снова оказывается наполненной.

4. Микробюретки. Здесь мы даем описание последней модификации капиллярно-гидростатических микробюреток (рис. 5).

Изготавливаются микробюретки из продажных градуированных пипеток на 0,1 или на 0,2 мл. (постепенно разогрев неградуированную часть пипетки на расстоянии 3—5 см выше шкалы, немного раздувают ее и растягивают в постепенно суживающийся капилляр; затем, в месте будущего кончика, снова разогревают на очень маленьком пламени, немного растягивают и обрезают в таком месте, где внутренний диаметр имеет около 0,2 мм. В заключение кончик осторожно оплавливают, после чего должно остаться отверстие около 0,15 мм).

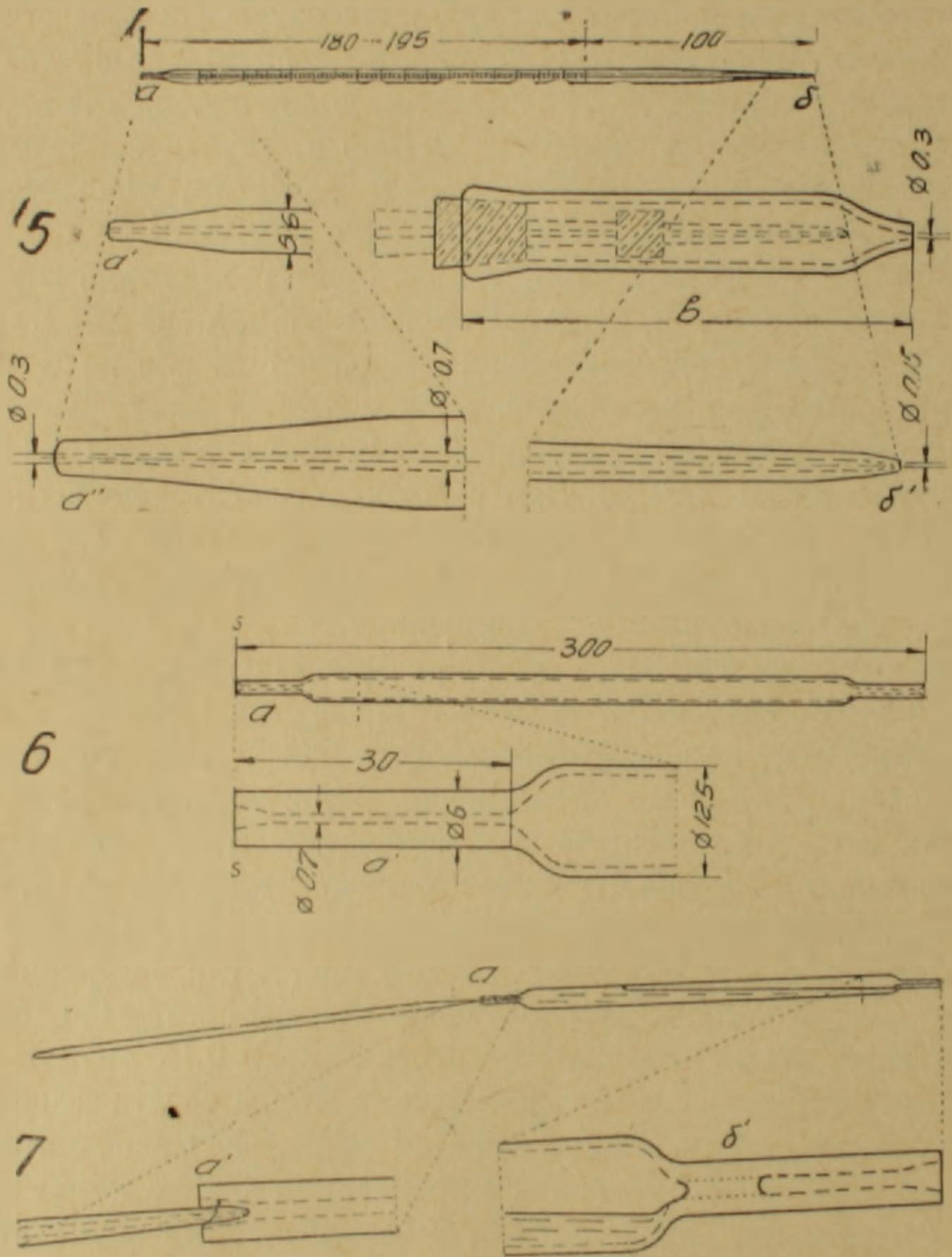
Бюретку держат всегда наполненной. Чтобы свести испарение к минимуму, после работы концы бюреток закрывают: рабочий конец—стеклянным колпачком с резиновой прокладкой (б в), а тупой конец—резиновой пластинкой, прижимаемой к шлифованному концу (а'').

5. Ампулы (рис. 6) служат для содержания титрующего раствора и для наполнения бюреток. Горлышки ампул изготавливаются из толстостенных капилляров. Концы горлышек после отжига растачиваются конически и отшлифовываются в плоскости. Закрываются ампулы резиновыми пластинками, прижимаемыми к концам.

Бюретки наполняются непосредственно из ампул автоматически. Это возможно благодаря тому, что при соответствующем наклоне, бюретка способна вобрать жидкость как раз до-полна, в то время, как ампула способна выпустить жидкости ровно столько, сколько забирает бюретка.

Ампулу устанавливают с небольшим наклоном— таким, чтобы цилиндрическая часть опущенного горлышка заполнилась жидкостью

целиком, а коническое расширение — частично (рис. 7). Кончик бюретки помещают в жидкость, находящуюся в коническом расширении, а тупой конец располагают несколько ниже (на 1—2 см). Жидкость немедленно начинает поступать из ампулы в бюретку, а в ампулу



Микробюретка, ампула и наполнение бюретки

Рис. 5. Бюретка на 100 мкл: (а)—ее тупой (шлифованный) конец, (б)—ее рабочий кончик, (а' и б') — то же увеличено, (в)—колпачек с резиновыми муфточками.

Рис. 6. Ампула: (а')—ее горлышко (увеличено).

Рис. 7. Наполнение бюретки: (а')—положение всасывающего кончика, (б')— жидкая пробка*

входит воздух через другое горлышко. Дойдя до конца бюретки, жидкость должна остановиться и не вытекать, поэтому наклон бюретки должен быть небольшой.

6. Титрование (рис. 8). Держа бюретку тремя пальцами, так, чтобы не заслонять шкалы, придают ей небольшой наклон (6—10 см) и надвигают на ее кончик колбочку до соприкосновения кончика с

титруемой жидкостью (86). В момент контакта обычно начинается вытекание (в случае задержки можно временно увеличить наклон, но затем снова уменьшить его до нормы).

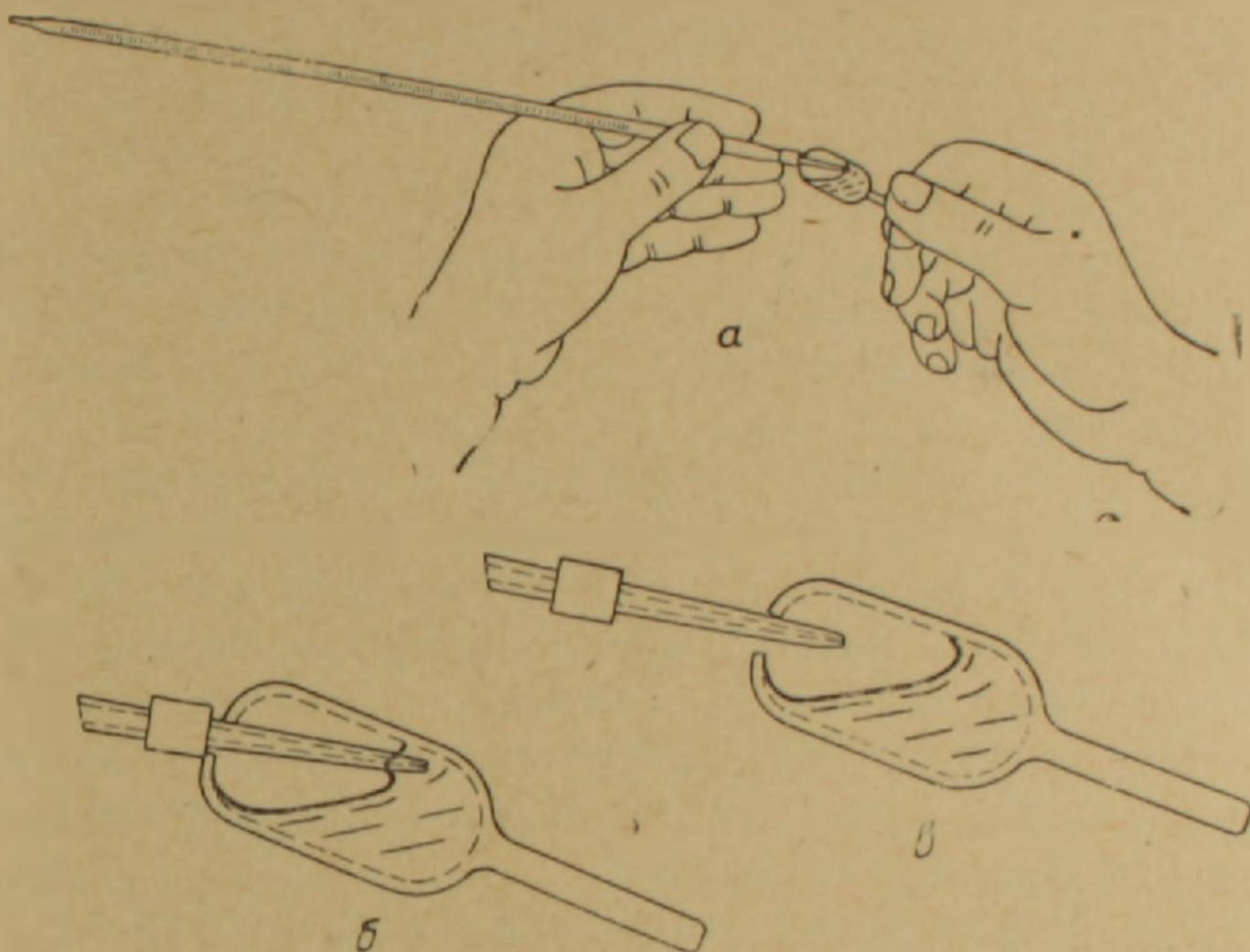


Рис. 8. Титрование: (а)—положение рук и пальцев, (б)—момент приливания, (в)—момент перемешивания.

Пока эквивалентная точка еще далека, приливание титрующего раствора делают непрерывно, а перемешивание производят, не вынимая кончика бюретки из жидкости. Для перемешивания, как уже говорилось, ножку колбочки „крутят“ — перекатывают между двумя пальцами взад и вперед, причем край отверстия колбочки скользит вокруг кончика бюретки, как опоры.

С приближением эквивалентной точки режим меняют — приливание делают малыми порциями без перемешивания, а перемешивание производят, приподняв кончик бюретки из жидкости, т. е. приостановив приливание (рис. 8в).

Малые порции — по 0,2 — 0,4 микролитра получают путем кратковременного прикосновения кончика к титруемой жидкости при уменьшенном наклоне бюретки. Установив необходимый наклон, следует держать его „твердо“ и производить манипуляции только колбочкой, а именно:

- а) сдвиг колбочки до контакта — приливание очередной порции;
- б) сдвиг колбочки до отрыва от жидкости — приливание прекращается;
- в) вращение колбочки — перемешивание; далее — снова: контакт — отрыв — вращение и так далее — до эквивалентной точки.

7. *Мытье*. Промывание пипеток растворами требуется обычно в тех случаях, когда они смачиваются плохо.

Наполнив пипетку раствором перманганата ($\sim 4\%$), выдерживают ее несколько часов (лучше на свету), затем промывают, пропуская через нее последовательно соляную кислоту (1 : 1), воду и тот раствор, который потребуется отмерять пипеткой. Каждой жидкости достаточно впускать по 1—2 столбику, чередуя их с пузырями воздуха, как это описано выше (рис. 4).

Промывание бюреток производится также путем последовательного пропускания промывающих жидкостей попеременно с пузырями воздуха (по 2—4 см длиной), но здесь для ускорения полезно применять отсасывание фильтровальной бумагой.

Ополаскивание колбочек производится на „фонтанчике“ при вращении за ножку. Запас воды для фонтанчика может быть либо в склянке со стеклянным сифоном либо в резиновом сосуде.

8. *Калибрование* (рис. 9). Простота капиллярно-гидростатических микробюреток позволяет выверять их непосредственно на весах, т. е. взвешивать не вылитую воду, а бюретку, наполненную до определенных точек шкалы. При таком способе калибрования ошибки от испарения практически исключаются.

На чашку аналитических весов помещают подставку из тонкого алюминиевого листа. Наполненную бюретку кладут так, чтобы ее кончик чуть выступал из приоткрытой дверцы. Вес бюретки определяется при наполнении ее до меток: 0, 20, 40, 60, 80 и 100 мкл.

Испарение бывает наибольшим при полной бюретке—точка „0“. Эту точку рекомендуется определить сначала грубо в целых миллиграммах, затем пополнить испарившуюся воду, прикоснувшись каплей

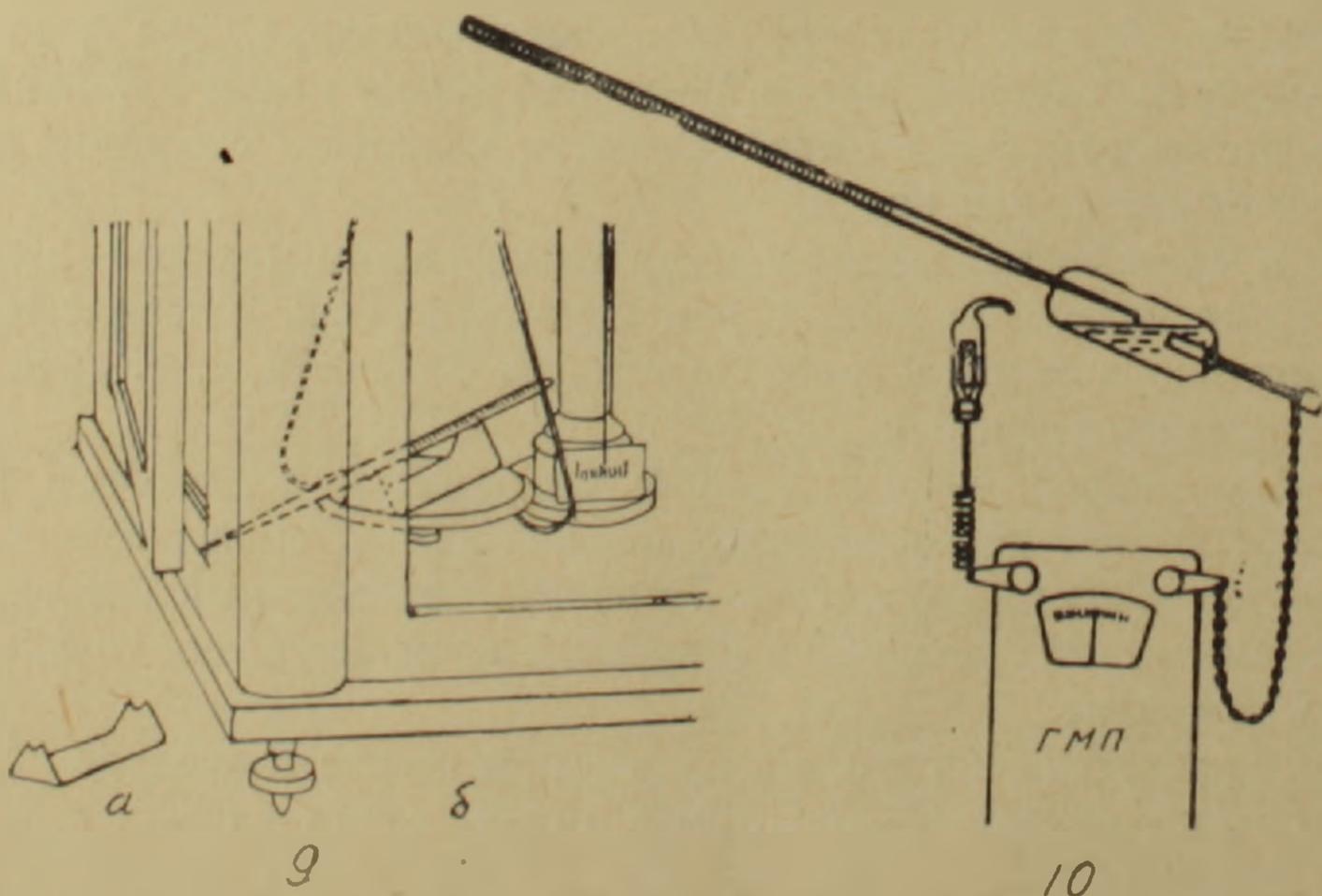


Рис. 9. Калибрование: а) подставка, б) бюретка на весах.

Рис. 10. Потенциометрическое микротитрование.

воды, помещенной на стеклянную пластинку, и сразу же определить доли миллиграмма.

Определение каждой из шести точек повторяют по три раза. В средние значения вводят температурную поправку.

Аналогично производится и выверка пипеток.

9. *Потенциометрическое микротитрование.* Колбочки для потенциометрического титрования имеют ножку в виде трубочки, через которую пропущен проводник электрода (например сурьмяного). Ввод электрода заплавлен парафином (рис. 10).

Конец проводника, выступающий из колбочки, присоединяется с помощью цепочки к одной клемме гальванометра, а электрод сравнения — к другой клемме.

Приливание титрующего раствора и перемешивание производится так же, как и при обычном титровании. Время от времени ЭДС цепи проверяется путем прикосновения кончика электрода сравнения к титруемой жидкости при соответствующем наклоне колбочки.

Производственные показатели новой техники титрования

Чтобы определить точность, характеризующую новую технику титрования и сравнить ее с классической, мы провели два ряда титрований одного и того же раствора буры азотной кислотой в присутствии метилового красного, как индикатора. В первом ряду определений применялась классическая макро техника, а во втором — новая микро техника, при следующих нормах растворов:

	Макро	Микро
Титруемый раствор (бура)	0,005 M	0,005 M
и его количество	50 мл	1 мл
Титрующий раствор (HNO ₃)	0,02 N	0,1 N
Индикатор (метилрот 0.05%)	4 капли	10 мкл

Так как переход окраски метилового красного очень ясен и легко воспроизводим, то большая или меньшая способность наблюдателя различать оттенки не должна заметно отражаться на точности данного титрования, поэтому рассеяние результатов, полученное нами в каждом из двух рядов должно быть обусловлено почти всецело техникой и может служить характеристикой ее точности.

Приводим данные сравнения:

	Макро	Микро
Результаты отдельных титрований; для макрометода—в миллилитрах, для микрометода—в микролитрах. В скобках—отклонение от среднего	23,18 (—0,05)	96.1 (—0,1)
	23,18 (—0,05)	96.2 (0,0)
	23,21 (—0,02)	96.2 (0,0)
	23,25 (+0,02)	95.8 (—0,4)
	23,17 (—0,06)	96.2 (0,0)
	23,23 (0,00)	96.3 (+0.1)
	23,21 (—0,02)	96.5 (+0.3)
	23,25 (+0,02)	96.3 (+0.1)

(Продолжение сравнения)		
	Макро	Микро
Результаты отдельных титрований; для макрометода—в миллилитрах, для микрометода—в микролитрах. В скобках—отклонение от среднего	23,25 (+0,02)	96,5 (+0,3)
	23,25 (+0,02)	96,2 (0,0)
	23,20 (−0,03)	96,0 (−0,2)
	23,21 (−0,02)	96,0 (−0,2)
	23,25 (+0,02)	96,2 (0,0)
	23,23 (0,00)	95,8 (−0,4)
	23,20 (−0,03)	96,2 (0,0)
	23,23 (0,00)	96,0 (−0,2)
	23,26 (+0,03)	96,2 (0,0)
	23,22 (−0,01)	96,2 (0,0)
	23,25 (+0,02)	96,2 (0,0)
	23,23 (0,00)	96,3 (+0,1)
Средняя квадратичная ошибка	0,0061 мл	0,042 мкл
	т. е. 0,03%	т. е. 0,04%
Расход рабочего времени на одно титрование	7 минут	3 минуты

ВЫВОДЫ

1. Автором разработана новая аппаратура для микротитрования, а именно: прямая капиллярно-гидростатическая микробюретка, колбочка, микропипетка с автоматическим наполнением и ампула для титрующего раствора. Предложенная аппаратура и приемы работы с ней коренным образом отличаются от общепринятых и описанных ранее другими авторами.

2. Прямая капиллярно-гидростатическая микробюретка отличается предельной простотой, так как она не имеет для выпуска жидкости ни крана, ни пневматических или ртутных приспособлений, а вместе с тем:

- а) управление вытеканием производится легко и точно;
- б) соприкосновение титрующего раствора с резиной или смазкой отсутствует;
- в) микробюретка допускает наиболее простой и точный способ калибрования;
- г) наполнение микробюретки и установка жидкости на нуль осуществляются автоматически.

3. Колбочка для микротитрования благодаря особенностям своей конструкции позволяет производить перемешивание титруемой жидкости без применения сжатого воздуха и без каких-либо особых приспособлений. Кроме того, эта колбочка дает возможность применять автоматические микропипетки, описанные в статье.

4. Микропипетки с автоматическим наполнением значительно ускоряют работу и разгружают внимание. Кроме того, расход исследуемой жидкости на ополаскивание этих пипеток весьма мал.

5. Ампулы для титрующего раствора позволяют наполнять микробюретки автоматически.

6. Новая техника титрования по сравнению с классической имеет следующие преимущества:

- а) она позволяет уменьшить объем титруемой пробы до одного миллилитра и ниже,
- б) сокращает расход реактивов в десятки раз,
- в) ускоряет выполнение титрования в два и более раза, при меньшем напряжении внимания,
- г) аппаратура портативна и занимает мало места,
- д) весьма просто может быть приспособлена и для потенциометрического микротитрования.

Вместе с тем, новая техника микротитрования обеспечивает точность того же порядка, как и техника классическая.

Выражаю благодарность чл.-корр. АН АрмССР М. А. Тер-Карапетяну, а также доктору хим. наук В. М. Тараян за ценные редакционные указания.

Сектор почвоведения
Академии наук Армянской ССР

Поступило 30 XI 1955 г.

Մ. Գ. ՊՈԼՅԱԿՈՎ

ՄԻԿՐՈՏԻՏՐՄԱՆ ՆՈՐ ՏԵԽՆԻԿԱ

Ա մ փ ո փ ու մ

1. Հեղինակը միկրոտիտրման համար մշակել է նոր ապարատուրա, այն է՝ ուղիղ կապիլյարա-հիդրոստատիկ միկրոթյուրետիկա, փոքր կոլրա, միկրոպիպետ՝ ավտոմատիկ լցումով և ամպուլա՝ տիտրոդ լուծույթի համար: Առաջարկված ապարատուրան և նրանով աշխատելու եղանակները հիմնովին տարրերվում են հանրաճանաչ և նախկինում այլ հեղինակների նկարագրածներից:

2. Ուղիղ կապիլյարա-հիդրոստատիկ միկրոթյուրետիկան աչքի է ընկնում առավելագույն պարզությամբ, քանի որ հեղուկը բաց թողնելու համար չունի ոչ ծորակ, ոչ պնեմատիկ կամ սնդիկային հարմարանքներ, իսկ դրա հետ մեկտեղ՝

- ա) արտահոսման ղեկավարումը կատարվում է արագ և ճշգրիտ.
- բ) տիտրոդ լուծույթի հպումը ռետինի կամ քսուքի հետ՝ բացակայում է.

գ) միկրոթյուրետիկան հնարավորություն է ընձեռում կիրառել կալիբրրման առավել պարզ և ճշգրիտ եղանակ.

դ) միկրոթյուրետիկայի լցումը և հեղուկը դրոյի վրա գնելը իրագործվում են ավտոմատիկ կերպով:

3. Միկրոտիտրման փոքր կոլրան, շնորհիվ իր կոնստրուկցիայի առանձնահատկությունների, հնարավորություն է ընձեռում տիտրվող հեղուկը խառնել առանց ճնշված օդ կիրառելու և առանց որևէ առանձին հարմարանքների: Բացի դրանից, այդ փոքր կոլրան հնարավորություն է տալիս կիրառել ավտոմատ միկրոպիպետիկաներ, որոնք նկարագրված են հոդվածում:

4. Ավտոմատ լցումով միկրոպիպետիաներն զգալի չափով արագացնում են աշխատանքը և բեռնաթափում են ուշադրությունը: Բացի դրանից, հետադասովող հեղուկի ծախսը այդ պիպետիաների սպողման վրա՝ շատ փոքր է:

5. Տիտրոզ լուծույթի համար ամպուլները հնարավորություն են բնաձեռում միկրոբյուրետիաները լցնել ավտոմատ կերպով:

6. Տիտրման նոր տեխնիկան, կլասիկ տեխնիկայի համեմատությամբ, ունի հետևյալ առավելությունները՝

ա) այն հնարավորություն է տալիս տիտրվող նմուշի ծավալը փոքրացնել մինչև մեկ միլիմետր և ավելի ցածր:

բ) ռեակտիվների ծախսը կրճատում է տասնյակ անգամ:

գ) տիտրման կատարումն արագացնում է երկու և ավելի անգամ, ուշադրությունն ավելի քիչ լարելով:

դ) ապարատուրան պարտատիվ է և քիչ տեղ է զբաղում:

ե) շատ հեշտ կարող է հարմարեցվել նաև պատենցիոմետրիկ միկրոտիտրման համար:

Դրա հետ մեկտեղ, միկրոտիտրման նոր տեխնիկան ապահովում է այն նույն կարգի ճշգրտությունը, ինչ և կլասիկ տեխնիկան:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Шилов Е. А. Аппаратура и методика объемного микроанализа. Ж. Хим. промышл. 7, 13 1926.
2. Коренман И. М. Количественный микроанализ, 1949.
3. Кирк П. Л. Количественный ультрамикроанализ, 1952
4. Поляков М. П. О микробюретках и микропипетках, основанных на принципе капиллярности. Ж. Прикл. Химии, 13, 638, 1940.
5. Поляков М. П. Простейшая микробюретка. Заводская лаборатория, 9, 476, 1940.