

Wstępne badania w celu opracowania nowej metody wzorcowania czytników mikroplątek w GUM – analiza porównawcza wyników

Preliminary research for developing the new method of the calibration of microplate readers in GUM – comparative analysis of the results

Dobrochna Matkowska, Iwona Ostrowska, Jolanta Gębicka, Łukasz Litwiniuk (Główny Urząd Miar)

W najbliższych latach Samodzielne Laboratorium Fotometrii i Radiometrii planuje opracowanie metody pomiarowej i budowę stanowiska pomiarowego do wzorcowania czytników mikroplątek i ich wzorców kontrolnych, czyli stworzenie mechanizmów powiązania wzorca pierwotnego widmowego współczynnika przepuszczania (spektrofotometr Cary 5000) z grupą nowoczesnych przyrządów spektrofotometrycznych – czytników mikroplątek.

In the coming years, it is planned to develop measurement methods and measurement stand for the calibration of microplate readers and control standards thereof i.e. to create mechanisms linking the spectral transmittance with reference to the primary measurement standard (Cary 5000 spectrophotometer) with a group of modern spectrophotometric devices – microplate readers.

Słowa kluczowe: wzorzec pierwotny, widmowy współczynnik przepuszczania, czytniki mikroplątek.

Keywords: primary standard, spectral transmittance, microplate readers.

Wprowadzenie

Spektrofotometr służy do pomiaru wartości transmitancji – $\tau(\lambda)$ i/lub absorpcji – $D(\lambda)$ w funkcji długości fali λ . Widmowy współczynnik przepuszczania definiuje się jako stosunek energetycznego strumienia widmowego przepuszczonego do strumienia widmowego padającego, natomiast jego gęstość optyczna jest odwrotnością logarytmu dziesiętnego tego stosunku [1].

Prawidłowość wskazań spektrofotometrów można zbadać m.in. za pomocą filtrów optycznych. Filtry optyczne – wzorce odniesienia (kontrolne) mają wyznaczoną transmitancję lub absorpcję przez spektrofotometri najwyższego rzędu przy co najmniej kilku długościach fal [2]. Wzorce wykonane są różnymi technikami z różnych materiałów optycznych, np. szklanych, napyłanych lub ciekłych.

Czytniki mikroplątek są to spektrofotometry nowej generacji, służące do pomiaru $\tau(\lambda)$ lub $D(\lambda)$ wielu próbek jednocześnie, w szerokim zakresie długości fali. Wykorzystywane są do pomiaru stężenia: dsDNA, ssDNA i RNA, białek oraz pomiarów kinetycznych. Czytniki znajdują zastosowanie w diagnostyce in vitro, w kierunku nietolerancji pokarmowej. Za ich pomocą można prowadzić oznaczenia m.in. ELISA [3], cytotoksyczności, hormonów, cytokin i kinaz, dlatego znajdują one

zastosowania w wielu laboratoriach biologicznych, biotechnologicznych, diagnostycznych i przemysłowych.

Celem Głównego Urzędu Miar jest udostępnienie klientom nowej usługi, jaką będzie wzorcowanie spektrofotometrów nowej generacji – czytników mikroplątek i ich wzorców kontrolnych. Planuje się opracowanie metodyki pomiarowej i budowę nowego stanowiska. Przedstawione wyniki są efektem badań przewidzianych do realizacji we wstępnej fazie projektu, którego ostateczne zakończenie zaplanowano na rok 2021.

Część eksperymentalna

Zakupione zostały dwa czytniki mikroplątek. Za pomocą czytnika, który posiada miejsce na kufkę, zmierzono absorpcję różnego typu wzorców stosowanych w Urzędzie, jako wzorce robocze. Wzorce te są poddawane ciągłej kontroli metrologicznej.

Zmierzono również absorpcję wzorców umieszczonych w specjalnej płytce, umożliwiającej jednoczesny pomiar ośmiu filtrów w szerokim zakresie UV-VIS na dwóch czytnikach mikroplątek. Uzyskane wartości porównano z wartościami zmierzonymi na wzorcu najwyższego rzędu – wzorcu pierwotnym. Dokonano analizy otrzymanych wyników.

Aparatura

Zmierzono $D(\lambda)$ dwóch zestawów wzorców, służących jako wzorce kontrolne. Zestaw 4 filtrów neutralnych (szarych) G-250 [4], służących do sprawdzania spektrofotometrów w zakresie VIS o nominalnej transmitancji 10%, 30%, 50% i 70% w zakresie (410–880) nm oraz zestaw filtrów napylanych [5], służących do sprawdzania spektrofotometrów w zakresie UV-VIS o wartości nominalnej $\tau(\lambda)$ 3%, 10%, 30%, 50% i 90% w zakresie (235–900) nm.

Wartości $\tau(\lambda)$ i $D(\lambda)$ opisanych zestawów wzorców roboczych wyznaczono za pomocą spektrofotometru firmy VARIAN Australia typu Cary 5000. Dane techniczne spektrofotometru, służącego w Głównym Urzędzie Miar jako wzorzec pierwotny, zestawiono w tab. 1. Wybrane parametry czytników mikroplątek zestawiono w tab. 2.

Tab. 1. Wybrane parametry techniczne spektrofotometru Cary 5000 [6]

| | |
|----------------------|---|
| Zakres spektralny | (175–3300) nm |
| Szczelina spektralna | UV-VIS: (0,01–5,00) nm (krok co 0,01) |
| Monochromator | Podwójny monochromator Littrowa 2 × 400 mm |
| | Siatka dyfrakcyjna: UV-VIS 1200 linii/mm, (70 × 45) mm, |
| | Detektor: UV-VIS fotopowielacz (PMT) R928, |
| Błąd długości fali | UV-VIS: ± 0,08 nm |
| Światło rozproszone | <0,00007 % T, przy 220 nm (10 g/L NaI, metodyka ASTM) <0,00007 % T, przy 370 nm (50 mg/L NaNO ₂) |
| Zakres fotometryczny | 8,0 Abs (pomiarowy) |
| Błąd fotometryczny | ± 0,00025 Abs (przy absorbancji 0,3) |
| Szybkość skanowania | UV-Vis: 2000 nm/min (max.) |

Tab. 2. Wybrane parametry techniczne czytników mikroplątek

| | Czytnik nr 1 | Czytnik nr 2 |
|-------------------------|--|-----------------|
| Typ źródła światła | Lampa halogenowa 6 V/10 W | Lampa ksenonowa |
| Ustalanie długości fali | 3 filtry: 405 nm, 450 nm, 620 nm (maks. 8 filtrów) | Monochromator |

| | Czytnik nr 1 | Czytnik nr 2 |
|------------------------------------|--|---|
| Obsługiwane płytki | 96, 384 | 96, 384, kuwety 10 mm |
| Zakres długości fali [nm] | 340–850 | 200–1000 |
| Zakres pomiarowy [Abs] | 0–6 | 0–4 |
| Liniowość | 0–3 ± 2 % (405 nm) | 0–2,5 ± 2 % (450 nm) |
| Błąd pomiaru | ± 1 % (0–3 Abs) lub 0,003 Abs (405 nm) | 1 % +0,003 (0–2 Abs) (450 nm), 2 % (2–2,5 Abs) (450 nm) |
| Precyzja pomiaru CV | ≤ 0,2 % (0,3–3 Abs) (405 nm) | ≤ 0,5 % lub 0,003 Abs (450 nm) |
| Szybkość odczytu płytki | 96 dołkowej – 7 s, 384 dołkowej 13 s | 96 dołkowej – 6 s, 384 dołkowej 10 s |
| Zakres temperatury termostatowania | +4 °C powyżej temp. otoczenia do 50 °C | +2 °C powyżej temp. otoczenia do 45 °C |

Wyniki

Absorbancje $D(\lambda)$ dziewięciu filtrów z dwóch zestawów: G-250 (G-250-I, G-250-II, G-250-III, G-250-IV) oraz 27873 (76372, 77515, 76190, 45839, 75272) zmierzono za pomocą czytników mikroplątek: czytnika nr 1 oraz czytnika nr 2. Poszczególne zestawy filtrów umieszczono w specjalnej płytce, która umożliwia jednoczesny pomiar zestawu filtrów, każdy w dwóch miejscach. Płytke umieszczono w czytniku nr 1, a następnie w czytniku nr 2 i wyznaczono $D(\lambda)$ i $\tau(\lambda)$ przy wybranych długościach fali. Następnie filtry umieszczano kolejno w kuwecie czytnika nr 2 i mierzono ich $D(\lambda)$ przy wybranych długościach fali. Każdy pomiar $D(\lambda)$ na płytce i w kuwecie powtórzono 5 razy. Jako wynik wzięto średnią arytmetyczną wszystkich pomiarów dokonanych na poszczególnych aparatach.

Dla zestawu G-250 pomiarów dokonano przy długościach fali λ /nm: 880; 820; 800; 750; 725; 650; 620; 585; 550; 520; 470; 450; 436; 410; 405, natomiast zestaw filtrów napylanych 27873 zmierzono przy długościach fali λ /nm: 900; 820; 750; 635; 620; 590; 550; 546; 500; 465; 450; 405; 400; 375; 360; 340; 280; 250; 235.

Wyznaczone wartości transmitancji i absorbancji porównano z wartościami z aktualnych świadectw wzorcowania wystawionych przez Główny Urząd Miar. Dla zestawu wzorców napylanych dokonano porównania z aktualnym certyfikatem wystawionym przez producenta.



W tab. 3 i 4 zestawiono względne procentowe odchylenia pomiędzy wartościami wyznaczonymi dla $\tau(\lambda)$ lub $D(\lambda)$ za pomocą wzorca pierwotnego i czytnika mikroplątek. Odchylenie wyznaczono ze wzoru 1 lub 2.

$$U_{wzgl.max.\tau} = 100 \cdot \frac{\tau(\lambda)_{zmierzone} - \tau(\lambda)_{Cary\ 5000}}{\tau(\lambda)_{Cary\ 5000}} \quad (1)$$

$$U_{wzgl.max.D} = 100 \cdot \frac{D(\lambda)_{zmierzone} - D(\lambda)_{Cary\ 5000}}{D(\lambda)_{Cary\ 5000}} \quad (2)$$

Tab. 3. Odchylenie względne w procentach pomiędzy wartościami transmitancji, wyznaczonych za pomocą spektrofotometru Cary 5000 a czytnikami mikroplątek dla zestawu G-250 przy wybranych długościach fali. Względna niepewność pomiaru $U_{wzgl.max}$ w procentach wyznaczona dla zestawu G-250 zmierzonego spektrofotometrem Cary 5000.

| λ/nm | G-250 I | G-250 II | G-250 III | G-250 IV |
|-----------------------|---------|----------|-----------|----------|
| $U_{wzgl.max.\tau}$ | 0,91 | 0,67 | 0,45 | 0,38 |
| Czytnik nr 1 – płytka | | | | |
| 820 | -0,07 | 0,36 | 0,46 | 0,58 |
| 750 | 0,38 | 0,63 | 0,52 | 0,65 |
| 620 | 0,55 | 0,59 | 0,28 | 0,42 |
| 550 | 0,61 | 0,62 | 0,23 | 0,39 |
| 450 | 2,24 | 1,72 | 0,95 | 0,77 |
| 405 | 0,00 | 0,27 | -0,60 | -0,05 |
| Czytnik nr 2 – płytka | | | | |
| 880 | -0,09 | 0,04 | 0,04 | -0,03 |
| 820 | 0,14 | 0,43 | 0,37 | 0,18 |
| 800 | 0,13 | 0,24 | 0,05 | -0,10 |
| 750 | 0,55 | 0,75 | 0,41 | 0,19 |
| 725 | 0,53 | 0,52 | 0,15 | -0,12 |
| 650 | 0,54 | 0,50 | 0,11 | -0,07 |
| 620 | 0,47 | 0,55 | 0,04 | -0,14 |
| 585 | 0,66 | 0,61 | 0,09 | -0,04 |
| 550 | 0,54 | 0,66 | 0,05 | -0,08 |
| 520 | 0,48 | 0,60 | -0,07 | -0,11 |
| 470 | 0,75 | 0,92 | -0,12 | -0,07 |
| 450 | 0,00 | 0,45 | -0,30 | -0,13 |
| 436 | 0,45 | 0,69 | -0,20 | -0,05 |
| 410 | 0,78 | 0,91 | -0,08 | 0,08 |
| 405 | 0,57 | 0,76 | -0,04 | 0,08 |
| Czytnik nr 2 – kuweta | | | | |
| 880 | 0,35 | 0,17 | 0,25 | -0,03 |
| 820 | 0,55 | 0,54 | 0,53 | 0,25 |
| 800 | 0,57 | 0,31 | 0,19 | -0,03 |
| 750 | 0,71 | 0,56 | 0,41 | 0,16 |
| 725 | 0,64 | 0,34 | 0,16 | -0,07 |

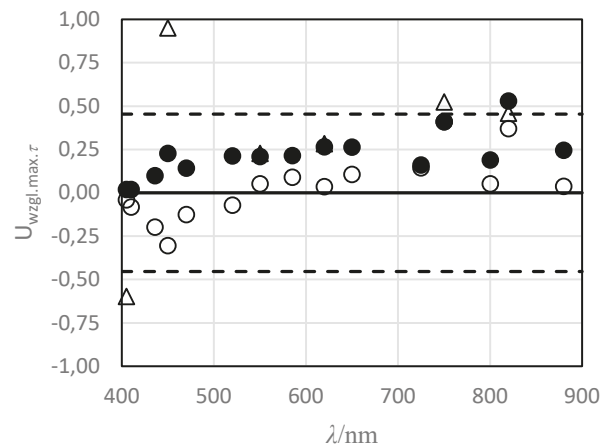
| λ/nm | G-250 I | G-250 II | G-250 III | G-250 IV |
|---------------------|---------|----------|-----------|----------|
| $U_{wzgl.max.\tau}$ | 0,91 | 0,67 | 0,45 | 0,38 |
| 650 | 0,84 | 0,47 | 0,26 | 0,00 |
| 620 | 0,78 | 0,51 | 0,27 | 0,04 |
| 585 | 0,83 | 0,49 | 0,21 | 0,04 |
| 550 | 0,77 | 0,54 | 0,21 | 0,03 |
| 520 | 0,80 | 0,64 | 0,21 | 0,28 |
| 470 | 0,82 | 0,88 | 0,14 | 0,26 |
| 450 | 0,75 | 0,90 | 0,23 | 0,27 |
| 436 | 0,63 | 0,61 | 0,10 | 0,20 |
| 410 | 0,78 | 0,73 | 0,02 | 0,17 |
| 405 | 0,57 | 0,58 | 0,02 | 0,15 |

Tab. 4. Odchylenie względne w procentach pomiędzy wartościami absorbancji, wyznaczonych za pomocą spektrofotometru Cary 5000 a certyfikatem producenta oraz czytnikami mikroplątek dla zestawu wzorców napylanych przy wybranych długościach fali. Wyznaczona względna niepewność pomiaru $U_{wzgl.max}$ w procentach dla zestawu filtrów napylanych zmierzonych spektrofotometrem.

| λ/nm | 76372 | 77515 | 76190 | 45839 | 75272 |
|-----------------------|-------|-------|-------|-------|--------|
| $U_{wzgl.max.D}$ | 0,94 | 1,24 | 1,74 | 2,90 | 20,19 |
| Certyfikat | | | | | |
| 900 | 0,71 | -0,18 | -0,69 | -0,98 | -6,01 |
| 635 | -0,15 | 0,06 | -0,19 | -0,39 | -5,46 |
| 590 | -0,15 | 0,06 | -0,19 | -0,39 | -5,47 |
| 546,1 | -0,16 | 0,04 | -0,23 | -0,36 | -5,33 |
| 500 | -0,17 | 0,06 | -0,24 | -0,34 | -5,21 |
| 465 | -0,19 | 0,04 | -0,26 | -0,30 | -5,08 |
| 400 | -0,21 | 0,09 | -0,24 | -0,22 | -4,70 |
| 360 | -0,17 | 0,04 | -0,42 | 0,01 | -3,92 |
| 340 | -0,16 | 0,14 | -0,34 | 0,16 | -3,55 |
| 280 | -0,21 | 0,24 | -0,39 | 0,13 | -3,98 |
| 250 | -0,19 | 0,29 | -0,38 | 0,15 | -3,47 |
| 235 | -0,18 | 0,29 | -0,42 | 0,10 | -3,52 |
| Czytnik nr 1 – płytka | | | | | |
| 820 | -1,26 | -1,38 | -0,81 | -1,74 | -8,98 |
| 750 | -1,14 | -1,29 | -0,82 | -1,58 | -8,95 |
| 620 | -0,90 | -1,07 | -0,62 | -1,35 | -9,15 |
| 550 | -0,77 | -0,98 | -0,67 | -1,40 | -9,04 |
| 450 | -0,60 | -0,81 | -0,65 | -1,29 | -9,38 |
| 405 | -0,54 | -0,72 | -0,66 | -1,34 | -9,83 |
| 375 | -0,56 | -0,92 | -0,95 | -1,72 | -11,02 |
| 340 | -0,53 | -0,99 | -1,19 | -1,68 | -11,61 |
| Czytnik nr 2 – płytka | | | | | |
| 900 | 0,67 | -1,43 | -1,74 | 1,29 | -4,13 |

| λ/nm | 76372 | 77515 | 76190 | 45839 | 75272 |
|-------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| $U_{\text{wzgl.max.D}}$ | 0,94 | 1,24 | 1,74 | 2,90 | 20,19 |
| 820 | -0,09 | -1,68 | -1,82 | 1,61 | -5,88 |
| 750 | 0,05 | -1,69 | -1,91 | 1,71 | -6,17 |
| 635 | 0,09 | -1,63 | -2,02 | 1,90 | -3,40 |
| 620 | 0,12 | -1,67 | -1,91 | 1,69 | -3,66 |
| 590 | 0,13 | -1,64 | -2,02 | 1,95 | -3,07 |
| 550 | 0,12 | -1,62 | -1,91 | 1,54 | -2,71 |
| 546 | 0,16 | -1,60 | -1,93 | 1,47 | -2,11 |
| 500 | 0,13 | -1,61 | -2,05 | 1,54 | 0,30 |
| 465 | 0,11 | -1,61 | -2,00 | 1,57 | 1,20 |
| 450 | 0,11 | -1,61 | -1,91 | 1,20 | -0,29 |
| 405 | 0,06 | -1,58 | -1,93 | 0,85 | -0,58 |
| 400 | 0,02 | -1,62 | -2,06 | 1,08 | 0,58 |
| 375 | 0,01 | -1,53 | -1,87 | 0,50 | -1,69 |
| 360 | 0,03 | -1,59 | -2,10 | 0,83 | 0,57 |
| 340 | -0,01 | -1,56 | -2,05 | 0,68 | -0,57 |
| 280 | -0,17 | -1,44 | -2,04 | -0,47 | -1,82 |
| 250 | -0,19 | -1,37 | -2,05 | -0,90 | -3,41 |
| 235 | -0,40 | -1,22 | -2,11 | -1,03 | -4,20 |
| Czytnik nr 2 – kuweta | | | | | |
| 900 | 0,71 | -0,03 | -0,90 | -0,06 | -1,59 |
| 820 | -0,38 | -0,19 | -1,03 | -0,81 | -2,17 |
| 750 | -0,38 | -0,23 | -1,04 | -0,85 | -3,09 |
| 635 | -0,47 | -0,30 | -1,32 | -0,69 | -4,63 |
| 620 | -0,48 | -0,49 | -1,20 | -0,92 | -5,49 |
| 590 | -0,46 | -0,50 | -1,33 | -0,77 | -3,99 |
| 550 | -0,48 | -0,54 | -1,32 | -1,02 | -5,72 |
| 546 | -0,44 | -0,52 | -1,31 | -1,06 | -5,72 |
| 500 | -0,47 | -0,59 | -1,44 | -0,85 | -4,53 |
| 465 | -0,48 | -0,64 | -1,51 | -0,84 | -4,49 |
| 450 | -0,46 | -0,61 | -1,47 | -1,14 | -6,16 |
| 405 | -0,51 | -0,69 | -1,59 | -1,19 | -5,78 |
| 400 | -0,52 | -0,72 | -1,71 | -0,89 | -4,39 |
| 375 | -0,63 | -0,83 | -1,74 | -1,37 | -5,65 |
| 360 | -0,56 | -0,96 | -2,04 | -0,83 | -3,45 |
| 340 | -0,49 | -0,93 | -2,00 | -0,76 | -3,40 |
| 280 | -0,60 | -1,38 | -1,60 | -1,03 | -3,38 |
| 250 | -0,31 | -1,33 | -2,31 | -0,88 | -2,68 |
| 235 | -0,43 | -1,22 | -2,31 | -0,94 | -3,03 |

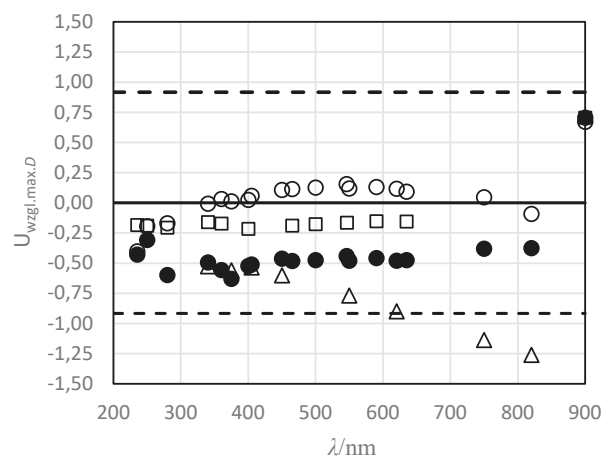
Na rys. 1 i 2 zaprezentowano względne odchylenie w procentach pomiędzy wartościami widmowych współczynników przepuszczania oraz jego gęstości optycznej, wyznaczonych za pomocą spektrofotometru Cary 5000, a czytnikami mikropłytek dla wybranych filtrów przy danej długości fali.



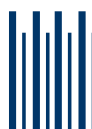
Rys. 1. Względne odchylenie w procentach pomiędzy wartościami transmitancji, wyznaczonych za pomocą spektrofotometru Cary 5000, a czytnikami mikropłytek: Δ – czytnik nr 1 – płytka, \circ – czytnik nr 2 – płytka, \bullet – czytnik nr 2 – kuweta dla wzorca G-250-III, przy wybranych długościach fali. Linia przerywaną zaznaczono względną niepewność pomiaru w procentach dla wybranego wzorca.

Średnie względne odchylenie pomiędzy wartościami transmitancji, zmierzonymi za pomocą spektrofotometru Cary 5000 a czytnikami mikropłytek dla zestawu wzorców napylanych jest najniższe dla pomiarów dokonanych za pomocą płytki na czytniku nr 2 i wynosi 1,1 %, najwyższe dla czytnika nr 1 (ok. 1,6%). Najniższą różnicę dla pomiarów $\tau(\lambda)$ dla wzorców napylanych zaobserwowano dla wzorca 45839. Wynosi ona 0,3 %, natomiast najwyższa dla wzorca 77515 – 2,4 %.

Średnie odchylenie pomiędzy wartościami $D(\lambda)$ zmierzonymi za pomocą spektrofotometru Cary 5000, a czytnikami mikropłytek dla zestawu wzorców napylanych



Rys. 2. Względne odchylenie w procentach pomiędzy wartościami gęstości optycznych widmowych współczynnika przepuszczania, wyznaczonych za pomocą spektrofotometru Cary 5000 a czytnikami mikropłytek: Δ – czytnik nr 1 – płytka, \circ – czytnik nr 2 – płytka, \bullet – czytnik nr 2 – kuweta i certyfikatem – \square dla wzorca 76372 przy wybranych długościach fali. Linia przerywaną zaznaczono względną niepewność pomiaru w procentach dla wybranego wzorca.



jest najniższe dla pomiarów dokonanych za pomocą płytki czytelnika nr 2 i wynosi 0,9%, a najwyższe dla płytki czytelnika nr 1 (ok 2,8%). Najniższą różnicę dla pomiarów $D(\lambda)$ dla wzorców napyłanych zaobserwowano dla wzorca 76372. Wynosi ona 0,4%, najwyższą natomiast stwierdzono dla wzorca 75272 – 5%.

Średnia różnica $\tau(\lambda)$ i $D(\lambda)$ dla zestawu wzorców napyłanych pomiędzy pomiarami dokonanymi na spektrofotometrze najwyższego rzędu a certyfikatem dostarczonym razem z filtrami wynosi odpowiednio 0,2% i 1%.

Dla zestawu filtrów szarych G-250 najniższe średnie odchylenie pomiędzy wartościami $\tau(\lambda)$ i $D(\lambda)$, zmierzonymi za pomocą spektrofotometru Cary 5000, a czytnikami zaobserwowano dla pomiarów dokonanych na płycie czytelnika nr 2: 0,03% i 0,08%, a najwyższe dla czytelnika nr 1: 0,5% i 1,3%. Wszystkie wzorce szare wykazują dość podobne odchylenie dla wartości widmowego współczynnika transmitancji i absorpcji i wahają się od 0,2% do 0,6%.

Nie zaobserwowano wyraźnego wpływu zakresu długości fali na różnicę w pomiarach.

Wnioski

Przedstawione wyniki są fazą wstępną przewidzianego na najbliższe lata projektu. Badania miały za zadanie sprawdzić, jak w zależności od badanego aparatu, długości fali oraz wzorca kształtuje się różnica pomiędzy wartościami transmitancji i absorpcji, zmierzonej na spektrofotometrze najwyższego rzędu, a pomiarami uzyskanymi z dwóch czytników mikropłyttek. Większość z uzyskanych różnic nie przekracza wartości względnych

niepewności pomiaru użytych wzorców. Przekroczenia, odnotowane zwłaszcza dla filtrów napyłanych, będą przedmiotem dalszych pomiarów, w których niezbędne wydaje się udoskonalenie warunków pomiarowych. Deklarowane niepewności są wynikiem błędów, wynikających m.in. z niedokładności przyrządu, nieliniowości i różnicy temperatury. Docelowo przewiduje się wyznaczenie dla czytników mikropłyttek nowego budżetu niepewności, który będzie brał pod uwagę dodatkowe parametry charakterystyczne dla specyfiki pomiarowej tych przyrządów.

Literatura

- [1] Nowicka-Jankowska T., Wieteska E., Gorczyńska K., Michalik A., Spektrofotometria UV-VIS w analizie chemicznej, Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa 1988.
- [2] Gębicka J., Rębecka A., Żórawski A., Wzorcowanie Spektrofotometrów – Źródła Błędów (Cz. 1). Prace Instytutu Elektrotechniki, zeszyt 237, 2008.
- [3] Weiland G., (1978-11-03). “[The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)--a new serodiagnostic method for the detection of parasitic infections (author's transl)]”. *MMW, Munchener Medizinische Wochenschrift*. 120 (44).
- [4] Materiał wytworzony przez Zakład Optyki na użytek GUM.
- [5] <https://www.starna.com/uv-absorbance>
- [6] <https://www.agilent.com/en/products/uv-vis-uv-vis-nir/uv-vis-uv-vis-nir-systems/cary-5000-uv-vis-nir>

Powyższy artykuł jest tekstem referatu (z drobnymi zmianami redakcyjnymi), przygotowanego na LI Międzyuczelnianą Konferencję Metrologów MKM '2019 i opublikowanego w Zeszytach Naukowych Wydziału Elektrotechniki i Automatyki Politechniki Gdańskiej Nr 66.