

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΕΝΟΡΓΑΝΗ ΧΗΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

1. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΑΝΑΛΥΤΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ

Σύμφωνα με τους ιστορικούς της χημείας, η αναλυτική χημεία προηγείται των άλλων κλάδων της σύγχρονης χημείας μιας και η ανάλυση των διάφορων ουσιών αποτελεί την απαρχή της μελέτης τους. Η κατηγοριοποίηση των αναλυτικών μεθόδων είναι σε κλασικές (υγροχημικές) και ενόργανες. Οι μορφές της **κλασικής ποσοτικής χημικής ανάλυσης** συμπεριλαμβάνουν τη **σταθμική ανάλυση** (που γίνεται ζύγιση ενός στοιχείου ή χημικής ένωσης έπειτα από κατάλληλη χημική ή φυσικοχημική κατεργασία του δείγματος) και την **τιτλομετρική ανάλυση** (μέτρηση όγκου πρότυπου διαλύματος που αντιδρά με τον αναλύτη σύμφωνα με μια οξεοβασική ή οξειδοαναγωγική αντίδραση). Η ενόργανη χημική ανάλυση περιλαμβάνει μεθόδους που στηρίζονται στη μέτρηση φυσικοχημικών ιδιοτήτων στοιχείων και ενώσεων. Έτσι, μετρώντας την αριθμητική τιμή μιας τέτοιας ιδιότητας ενός συστατικού, είναι δυνατόν να το προσδιορίσουμε ποσοτικά.

Τα **πλεονεκτήματα** των ενόργανων μεθόδων χημικής ανάλυσης, σε σχέση με τις κλασικές, είναι:

1. Μεγάλη ευαισθησία, η οποία επιτρέπει τον προσδιορισμό ιχνοποσοτήτων (**Ιχνοανάλυση**) και την ανάλυση μικρών ποσοτήτων δείγματος
2. Ο μικρός χρόνος της ανάλυσης.
3. Δυνατότητα αυτοματοποίησης μερικών ή όλων των σταδίων μιας ανάλυσης.

Τα **μειονεκτήματα** των ενόργανων μεθόδων χημικής ανάλυσης είναι:

1. Έχουν μικρότερη ακρίβεια, με την προϋπόθεση ότι υπάρχει αρκετή ποσότητα δείγματος.
2. Χρειάζονται πρότυπες ουσίες ή διαλύματα για βαθμονόμηση των οργάνων.

Η γενική ταξινόμηση των ενόργανων χημικών μεθόδων μπορεί να επιτευχθεί με βάση τη φυσική ιδιότητα/παράμετρο που μετρείται όπως φαίνεται και στον **Πίνακα 1**.

Πίνακας 1: Γενική ταξινόμηση των ενόργανων αναλυτικών μεθόδων

Κατηγορία ενόργανων μεθόδων	Μετρούμενη ιδιότητα
Φασματομετρικές	Ένταση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας που εκπέμπεται ή απορροφάται από τον αναλύτη
Ηλεκτροχημικές	Ηλεκτρικές ιδιότητες διαλυμάτων του αναλύτη
Ραδιοχημικές	Ένταση της ραδιενέργειας που εκπέμπεται από τον αναλύτη
Φασματομετρικές μάζας	Δημιουργία ιοντικών θραυσμάτων που λαμβάνονται από τον αναλύτη
Χρωματογραφικές	Φυσικοχημικές ιδιότητες καθενός αναλύτη μετά από διαχωρισμό
Θερμομετρικές	Φυσικοχημικές ιδιότητες του δείγματος καθώς θερμαίνεται και ψύχεται

Από τις κατηγορίες μεθόδων του **Πίνακα 1** κρίνεται σκόπιμο να αναλυθούν οι παρακάτω:

A. Φασματομετρικές μέθοδοι

Βασίζονται σε φαινόμενα αλληλεπίδρασης της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας με την ύλη και είναι οι παρακάτω:

1. Φασματομετρία Vis-UV-IR.
2. Φθορισμομετρία .
3. Νεφελομετρία.
4. Φασματοσκοπία ακτίνων Χ.
5. Φλογοφασματοφωτομετρία.
6. Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού NMR.
7. Φωτοηλεκτρική φασματοσκοπία.

B. Ηλεκτροχημικές μέθοδοι

Βασίζονται στις ηλεκτροχημικές ιδιότητες των διαλυμάτων και είναι οι παρακάτω :

1. Αγωγιμομετρία.
2. Ποτενσιομετρία.
3. Πολαρογραφία.
4. Κουλομετρία.
5. Ηλεκτροσταθμική ανάλυση.

Γ. Ραδιοχημικές μέθοδοι

Βασίζονται στα διάφορα φαινόμενα που συμβαίνουν στον πυρήνα των ατόμων και είναι οι παρακάτω:

1. Ραδιομετρική ανάλυση
2. Ισοτοπική διάλυση.
3. Ανάλυση με τη βοήθεια νετρονίων (Neutron Activation Analysis).

Δ. Φασματομετρικές μάζας

Βασίζονται στην ύπαρξη μοριακών θραυσμάτων που λαμβάνονται από τον αναλύτη και ενδεικτικά δίνονται οι παρακάτω μέθοδοι παραγωγής ιοντικών θραυσμάτων

1. Ιονισμός με ηλεκτρόνια
2. Χημικός ιονισμός

Ε. Χρωματογραφικές μέθοδοι (διαχωριστικές)

Βασίζονται στις διαφορετικές φυσικοχημικές ιδιότητες κάθε αναλύτη και είναι οι παρακάτω:

1. Χρωματογραφία χάρτου (PC, Paper Chromatography)
2. Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC, Thin Layer Chromatography)
3. Αέρια χρωματογραφία (GC, Gas Chromatography)
4. Υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης (HPLC, High Pressure Liquid Chromatography)
5. Ιοντική χρωματογραφία υψηλής πίεσης (HPIC, High Pressure Ion Chromatography)
6. Χρωματογραφία πηκτής (GPC, Gel Permeation Chromatography)
7. Υπερκρίσιμη ρευστή χρωματογραφία (SFC, Supercritical Fluid Chromatography)

ΣΤ. Θερμομετρικές μέθοδοι

Βασίζονται στις διάφορες αλλαγές που παρατηρούνται στην ύλη όταν αυτή θερμαίνεται ή ψύχεται προοδευτικά και είναι οι παρακάτω:

1. Θερμοσταθμική ανάλυση.
2. Διαφορική θερμική ανάλυση.

Η απευθείας εφαρμογή των παραπάνω μεθόδων παρουσιάζει δυσκολίες κυρίως στις παρακάτω περιπτώσεις:

- α. Όταν η φυσική κατάσταση του δείγματος δεν επιτρέπει τη διενέργεια κατάλληλων μετρήσεων.
- β. Όταν η ουσία, που πρόκειται να προσδιοριστεί, συνυπάρχει με άλλες ουσίες που δρουν παρεμποδιστικά.
- γ. Όταν η συγκέντρωση της ουσίας είναι κάτω από το LOD (Limit of Detection, όριο ανίχνευσης).

Στις παραπάνω περιπτώσεις εφαρμόζεται ειδική κατεργασία για απομάκρυνση των παρεμποδισέων και αύξηση της συγκέντρωσης. Αυτά επιτυγχάνονται με τη βοήθεια **μεθόδων διαχωρισμού** όπως: **εκχύλιση, ιοντοανταλλαγή, χρωματογραφία, ηλεκτροφόρηση και ηλεκτροαπόθεση.**

3. ΣΤΑΔΙΑ ΜΙΑΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΕΝΟΡΓΑΝΗΣ ΧΗΜΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

Η επίλυση των αναλυτικών προβλημάτων, τόσο των ποιοτικών όσο και των ποσοτικών, ακολουθεί το ίδιο βασικό μοντέλο. Αυτό θα μπορούσε να αναλυθεί στα παρακάτω επτά γενικά στάδια.

1. Επιλογή μεθόδου

Η επιλογή της μεθόδου ανάλυσης είναι ένα βήμα ζωτικής σημασίας για την επίλυση ενός αναλυτικού προβλήματος. Για να γίνει αυτή η επιλογή πρέπει αρχικά να οριστεί το συνολικό πρόβλημα. Αναπόφευκτα στη μέθοδο που επιλέγεται πρέπει να γίνει ένας συμβιβασμός μεταξύ της ευαισθησίας και της επιθυμητής ακρίβειας των αποτελεσμάτων και του απαιτούμενου κόστους. Λόγω της κρισιμότητάς του το στάδιο αυτό αναλύεται περισσότερο στην παράγραφο 4.

2. Δειγματοληψία

Η σωστή δειγματοληψία είναι ο ακρογωνιαίος λίθος για μια αξιόπιστη ανάλυση. Το δείγμα πρέπει να λαμβάνεται με τέτοιο τρόπο ώστε να είναι αντιπροσωπευτικό για την παράμετρο που πρόκειται να μετρηθεί.

3. Προκατεργασία δείγματος

Το δείγμα που λαμβάνεται για ποσοτική ανάλυση μετριέται συνήθως με βάση τη μάζα ή τον όγκο. Στις περιπτώσεις που υπάρχει ήδη ένα ομογενές δείγμα μπορεί να υποδιαιρεθεί χωρίς περαιτέρω κατεργασία. Αν περιέχει πολλά σωματίδια, όπως μεταλλικά στοιχεία, θα πρέπει να γίνει σύνθλιψη και ανάμιξη. Το δείγμα επίσης απαιτεί συχνά πρόσθετη προετοιμασία, όπως για παράδειγμα ξήρανση, ανάφλεξη και διάλυση, πριν αναλυθεί.

4. Διαχωρισμοί

Σε μεγάλο ποσοστό των αναλυτικών μετρήσεων υπάρχουν παρεμβολές από άλλα συστατικά του δείγματος. Οι νεότερες μέθοδοι χρησιμοποιούν όλο και περισσότερο ενόργανες τεχνικές για να διαχωρίσουν τα σήματα μέτρησης που προέρχονται από τον αναλύτη από αυτά των παρεμβολών. Παρόλα αυτά ο διαχωρισμός δεν είναι πάντα εφικτός και ορισμένες φορές πρέπει να χρησιμοποιηθεί μια εκλεκτική χημική αντίδραση ώστε να αντιμετωπιστεί η παρεμβολή. Αν κάτι τέτοιο αποτύχει θεωρείται απαραίτητος ο διαχωρισμός του αναλύτη από το συστατικό που προκαλεί την παρεμβολή. Στις περιπτώσεις που πρέπει να γίνουν ποσοτικοί προσδιορισμοί, οι διαχωρισμοί πρέπει να είναι επίσης ποσοτικοί ή να δίνεται το ποσοστό ανάκτησης του αναλύτη.

5. Τελική μέτρηση

Αυτό το βήμα είναι συχνά το γρηγορότερο και ευκολότερο από τα επτά αλλά η αξιοπιστία του καθορίζεται από την αξιοπιστία των σταδίων που προηγούνται. Η θεμελιώδης προϋπόθεση είναι να υπάρχει μια γνωστή αναλογία μεταξύ του μετρούμενου μεγέθους και της υπάρχουσας ποσότητας του αναλύτη.

6. Επικύρωση/επαλήθευση της μεθόδου

Είναι άσκοπο να κάνουμε μια ανάλυση αν τα αποτελέσματα που λαμβάνονται δεν έχουν κάποιο νόημα. Αυτό μπορεί να εξασφαλιστεί με την κατάλληλη επαλήθευση της μεθόδου πριν από τη χρήση της καθώς και με την ακόλουθη παρακολούθηση της επίδοσής της. Η ανάλυση επικυρωμένων προτύπων είναι η πιο ικανοποιητική προσέγγιση. Αυτά θα πρέπει να έχουν αναλυθεί επαρκώς με διάφορες μεθόδους, ώστε να έχουν προκύψει αποδεκτές τιμές για τις συγκεντρώσεις του αναλύτη. Τα πρότυπα αυτά θα πρέπει να αναλύονται εκ νέου σε τακτά χρονικά διαστήματα, ώστε να εξασφαλίζουν διαρκώς την ανάλυση με την απαιτούμενη ακρίβεια.

7. Εκτίμηση των αποτελεσμάτων

Τα αποτελέσματα που λαμβάνονται από μία ανάλυση θα πρέπει να αξιολογηθούν με βάση τις κατάλληλες στατιστικές μεθόδους και το νόημα/η σημασία τους να εξεταστεί λαμβάνοντας υπόψη το αρχικό πρόβλημα.

4. ΕΠΙΛΟΓΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η επιλογή μιας μεθόδου εξαρτάται από το συστατικό που προσδιορίζουμε, από το δείγμα στο οποίο υπάρχει και από τη συγκέντρωση του.

Για παράδειγμα, κατά τον προσδιορισμό του SO₂, ανάλογα με το συστατικό που έχουμε να προσδιορίσουμε:

SO₂ > 1 mg → H₂O₂ → H₂SO₄ → σταθμικά ή τιτλομετρικά

SO₂ ~ 1 µg → φωτομετρικά

SO₂ ~ 1 ng → κουλομετρικά ή MECA (Molecular Emission Cavity Analysis, Μοριακή εκπομπή).

Κάθε μέθοδος που επιλέγεται εξαρτάται από ορισμένους **παράγοντες**, όπως:

1. Ακρίβεια των αποτελεσμάτων.
2. Διαθέσιμη ποσότητα δείγματος.
3. Περιοχή συγκέντρωσης της ουσίας που εξετάζεται στο δείγμα.
4. Παρουσία άλλων ουσιών που παρεμποδίζουν.
5. Αντιδραστήρια που απαιτούνται για την ανάλυση.
6. Συχνότητα χρήσης της μεθόδου, δηλαδή αν η ανάλυση είναι μεμονωμένη ή ρουτίνας.
7. Κόστος οργάνων που χρειάζονται για να γίνει η ανάλυση.

Κριτήρια επιλογής μιας αναλυτικής μεθόδου

Για την επιλογή μιας αναλυτικής μεθόδου υπάρχουν ορισμένα κριτήρια. Τα κριτήρια αυτά είναι:

1. Ο εξοπλισμός του εργαστηρίου που είναι διαθέσιμος.
2. Η εμπειρία του προσωπικού.
3. Η απαιτούμενη ακρίβεια.
4. Η τάξη της συγκέντρωσης του συστατικού που αναλύεται.
5. Η φύση του δείγματος (προκατεργασία, παρεμποδιστές κτλ.).
6. Η ποσότητα του δείγματος.
7. Ο αριθμός των δειγμάτων που πρέπει να αναλυθούν.
8. Το συνολικό κόστος της ανάλυσης (αντιδραστήρια, όργανα, χρόνος).

5. ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗΣ (ΚΑΜΠΥΛΕΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ) ΣΤΗΝ ΕΝΟΡΓΑΝΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

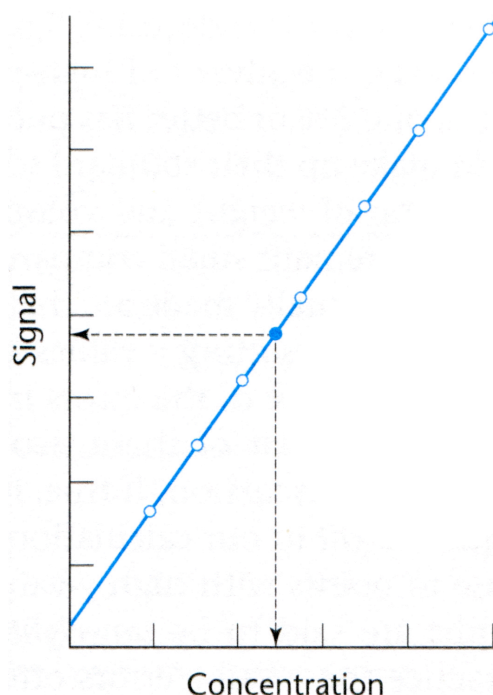
Βαθμονόμηση είναι η διαδικασία προσδιορισμού της σχέσης μεταξύ ενός μετρούμενου σήματος και της συγκέντρωσης του αναλύτη, που προκαλεί αυτό το σήμα.

Η σωστή βαθμονόμηση είναι προϋπόθεση για να λάβουμε ακριβή ποσοτικά αποτελέσματα. Η αυτοματοποίηση των αναλυτικών οργάνων τείνει να απλοποιήσει τις διαδικασίες βαθμονόμησης, είναι όμως πλέον πιο εύκολο για τον απρόσεκτο αναλυτή να χρησιμοποιήσει ακατάλληλες μεθόδους βαθμονόμησης.

5.1 Κατασκευή διαγράμματος βαθμονόμησης και ερωτήματα που πρέπει να απαντηθούν

Για την κατασκευή ενός διαγράμματος βαθμονόμησης λαμβάνεται ένας αριθμός δειγμάτων (συνήθως τουλάχιστον τρία ή τέσσερα και πολλές φορές αρκετά περισσότερα) στα οποία η συγκέντρωση του αναλύτη είναι γνωστή. Αυτά τα πρότυπα βαθμονόμησης μετρώνται με το αναλυτικό όργανο υπό τις ίδιες συνθήκες που θα χρησιμοποιηθούν ακολούθως για την ανάλυση

των άγνωστων δειγμάτων. Από τις τιμές μέτρησης που προκύπτουν κατασκευάζεται το διάγραμμα βαθμονόμησης που συνδέει τη συγκέντρωση του αναλύτη με το σήμα του αναλυτικού οργάνου. Από το διάγραμμα αυτό μπορεί να βρεθεί με παρεμβολή η συγκέντρωση κάθε άγνωστου δείγματος, όπως φαίνεται στο **Σχήμα 2.1**.



Σχήμα 2.1. Διαδικασία βαθμονόμησης στην ενόργανη ανάλυση, υπολογισμός άγνωστης συγκέντρωσης με παρεμβολή

Η παραπάνω γενική διαδικασία εγείρει διάφορα σημαντικά στατιστικά ερωτήματα:

1. Είναι το διάγραμμα της βαθμονόμησης γραμμικό; Αν είναι καμπύλη, ποια είναι η μορφή της;
2. Λαμβάνοντας υπόψη ότι καθένα από τα σημεία του διαγράμματος βαθμονόμησης υπόκειται σε σφάλματα, ποια είναι η βέλτιστη ευθεία γραμμή (ή καμπύλη) που ενώνει αυτά τα σημεία;
3. Υποθέτοντας ότι το διάγραμμα βαθμονόμησης είναι γραμμικό, ποια είναι τα σφάλματα και τα όρια εμπιστοσύνης για την κλίση και την αποτέμνουσα;
4. Όταν χρησιμοποιείται το διάγραμμα βαθμονόμησης κατά την ανάλυση ενός άγνωστου δείγματος ποια είναι τα σφάλματα και τα όρια εμπιστοσύνης για την προσδιοριζόμενη συγκέντρωση;
5. Ποιο είναι το όριο ανίχνευσης της μεθόδου; Δηλαδή, ποια είναι η ελάχιστη συγκέντρωση του αναλύτη που μπορεί να ανιχνευθεί για μια προκαθορισμένη στάθμη εμπιστοσύνης.

Πριν απαντηθούν διεξοδικά τα παραπάνω ερωτήματα θα πρέπει να ληφθούν υπόψη μια σειρά παράμετροι για το σχεδιασμό των διαγραμμάτων βαθμονόμησης.

Αρχικά, είναι σημαντικό να καλύπτουν τα πρότυπα βαθμονόμησης όλο το εύρος των συγκεντρώσεων που απαιτούνται στην επικείμενη ανάλυση. Κι αυτό γιατί αν εξαιρέσει κανείς τη «μέθοδο σταθερής προσθήκης», η οποία αναλύεται παρακάτω, οι συγκεντρώσεις των άγνωστων δειγμάτων προσδιορίζονται κανονικά με παρεμβολή και όχι με παρέκταση (extrapolation).

Είναι επίσης ζωτικής σημασίας να εντάξουμε στην καμπύλη βαθμονόμησης την τιμή ενός τυφλού δείγματος. Το τυφλό δεν περιέχει σκόπιμα προστεθειμένο αναλύτη αλλά περιέχει τον ίδιο διαλύτη, αντιδραστήρια κλπ που περιέχουν και τα άγνωστα δείγματα και υπόκειται στην ίδια ακριβώς ακολουθία αναλυτικών διαδικασιών με αυτά. Κατά τη μέτρηση του τυφλού δείγματος το όργανο που χρησιμοποιείται μπορεί να δείχνει μια ένδειξη διαφορετική από το μηδέν. Το σήμα αυτό υπόκειται σε σφάλματα, όπως ακριβώς και τα υπόλοιπα σημεία του διαγράμματος βαθμονόμησης, άρα είναι λάθος να αφαιρούμε την τιμή του τυφλού από τις τιμές των πρότυπων δειγμάτων πριν σχεδιάσουμε το διάγραμμα βαθμονόμησης. Στην περίπτωση που το κάνουμε αυτό έχουμε λάθος εκτίμηση για τα σφάλματα της βαθμονόμησης.

Τέλος, σημειώνεται ότι το διάγραμμα βαθμονόμησης σχεδιάζεται με τα σήματα των οργάνων στον κάθετο άξονα (y) και τις συγκεντρώσεις των πρότυπων δειγμάτων στον οριζόντιο άξονα (x). Κι αυτό γιατί σε πολλές από τις διαδικασίες που περιγράφονται παρακάτω υπάρχει η υπόθεση ότι τα σφάλματα υπεισέρχονται στις τιμές του y, ενώ οι τιμές του x δεν περιέχουν σφάλματα. Σε πολλές ενόργανες αναλύσεις ρουτίνας η υπόθεση αυτή επιβεβαιώνεται. Τα πρότυπα δείγματα μπορούν να παρασκευαστούν με σφάλμα 0,1%, ή και μικρότερο, ενώ οι ενόργανες μετρήσεις μπορεί να παρουσιάζουν διακυμάνσεις σε ποσοστό 2-3 %, ή και μεγαλύτερο. Έτσι το σφάλμα στον άξονα x είναι αμελητέο μπροστά σε αυτό του άξονα y.

Στη συνέχεια θεωρούμε ότι τα γραμμικά διαγράμματα βαθμονόμησης περιγράφονται από την αλγεβρική σχέση:

$$y = a + bx \quad (1)$$

όπου b είναι η κλίση της ευθείας και a η αποτέμνουσα, δηλαδή το σημείο όπου η ευθεία τέμνει τον άξονα y. Τα σημεία της ευθείας αναφέρονται ως (x_1, y_1) - συνήθως είναι η μέτρηση του τυφλού δείγματος), (x_2, y_2) , (x_3, y_3) ... (x_i, y_i) ... (x_n, y_n) , όπου n ο συνολικός αριθμός των σημείων. Ο μέσος όρος των τιμών του x συμβολίζεται ως $\bar{x}$ και ο μέσος όρος των τιμών του y ως $\bar{y}$. Το σημείο $(\bar{x}, \bar{y})$ είναι γνωστό ως «κέντρο βάρους» (centroid) όλων των σημείων.

5.2 Ο συντελεστής συσχέτισης

Στην ενότητα αυτή απαντάται το πρώτο από τα ερωτήματα που τίθενται κατά την κατασκευή ενός διαγράμματος βαθμονόμησης: είναι αυτό γραμμικό; Ένας συνηθισμένος τρόπος για να προσδιορίσουμε κατά πόσο τα πειραματικά σημεία δίνουν μια ευθεία είναι να υπολογίσουμε το συντελεστή συσχέτισης r. Η τιμή του δίνεται από τη σχέση:

$$r = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\left\{ \left[\sum_i (x_i - \bar{x})^2 \right] \left[\sum_i (y_i - \bar{y})^2 \right] \right\}^{1/2}} \quad (2)$$

Το r μπορεί να πάρει τιμές από -1 έως 1, όπου το -1 δείχνει την τέλεια αρνητική συσχέτιση και το 1 την τέλεια θετική. Όταν δεν υπάρχει γραμμική συσχέτιση μεταξύ του x και του y η τιμή του r είναι κοντά στο μηδέν. Στην αναλυτική πρακτική τα διαγράμματα βαθμονόμησης έχουν συχνά τιμές r μεγαλύτερες από 0,99, ενώ οι τιμές κάτω από 0,9 είναι σχετικά σπάνιες.

Παράδειγμα 1

Σε φασματόμετρο φθορισμού εξετάζονται πρότυπα υδατικά διαλύματα φλουορεσκεΐνης και λαμβάνονται οι παρακάτω εντάσεις φθορισμού (σε αυθαίρετες μονάδες). Να υπολογιστεί ο συντελεστής συσχέτισης r .

Ένταση φθορισμού	2,1	5,0	9,0	12,6	17,3	21,0	24,7
Συγκέντρωση (pg/mL)	0	2	4	6	8	10	12

Στην πράξη οι παρακάτω υπολογισμοί θα γίνονται στις περισσότερες περιπτώσεις με τη βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή, κρίνεται όμως σημαντικό να δοθεί και ένα παράδειγμα υπολογισμού, όπως θα γινόταν με το χέρι. Οι υπολογισμοί παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα:

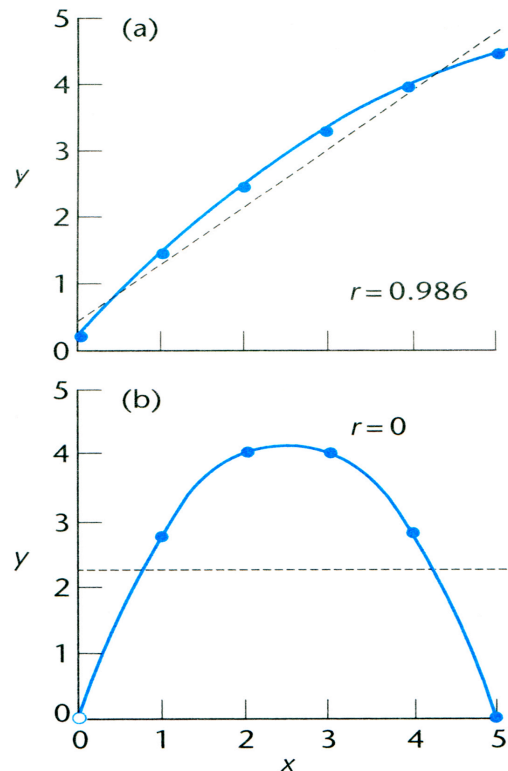
	x_i	y_i	$x_i - \bar{x}$	$(x_i - \bar{x})^2$	$y_i - \bar{y}$	$(y_i - \bar{y})^2$	$(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})$
	0	2,1	-6	36	-11,0	121,00	66,0
	2	5,0	-4	16	-8,1	65,61	32,4
	4	9,0	-2	4	-4,1	16,81	8,2
	6	12,6	0	0	-0,5	0,25	0
	8	17,3	2	4	4,2	17,64	8,4
	10	21,0	4	16	7,9	62,41	31,6
	12	24,7	6	36	11,6	134,56	69,6
Σύνολα	42	91,7	0	112	0	418,28	216,2

Στην τελευταία γραμμή του πίνακα δίνονται τα αθροίσματα της κάθε στήλης του πίνακα. Με τη βοήθεια αυτών των αθροισμάτων και της εξίσωσης (2) έχουμε:

$$r = \frac{216,2}{\sqrt{112 \times 418,28}} = \frac{216,2}{216,44} = 0,9989$$

Οι συντελεστές συσχέτισης είναι εύκολο να υπολογιστούν, είναι όμως εύκολο και να ερμηνευτούν λανθασμένα. Πρέπει να έχουμε στο μυαλό μας ότι η εξίσωση (2) θα μας δώσει μια τιμή για το r ακόμα και αν είναι φανερό ότι τα δεδομένα δεν έχουν γραμμική συσχέτιση. Το **Σχήμα 2.2.** δείχνει δύο παραδείγματα για το πώς μπορεί να είναι παραπλανητικός ο υπολογισμός του συντελεστή συσχέτισης. Στο **Σχήμα 2.2. α)** είναι εμφανές ότι τα πειραματικά δεδομένα σχηματίζουν καμπύλη. Παρόλα αυτά, καθώς η καμπύλη δεν είναι έντονη, εφαρμόζοντας την εξίσωση (2) λαμβάνουμε έναν υψηλό συντελεστή συσχέτισης. Αυτό το παράδειγμα μας δείχνει πως θα πρέπει πάντοτε να σχεδιάζουμε το διάγραμμα βαθμονόμησης με τα πειραματικά δεδομένα (είτε σε χαρτί, είτε στον

υπολογιστή), διαφορετικά μπορεί, αν υπολογίσουμε μόνο το r , να βγάλουμε λανθασμένα το συμπέρασμα μιας γραμμικής συσχέτισης για δεδομένα τα οποία δεν είναι γραμμικά. Το **Σχήμα 2.2. b)** μας υπενθυμίζει ότι ένας μηδενικός συντελεστής συσχέτισης δε σημαίνει ότι τα x και y δε συσχετίζονται καθόλου, αλλά ότι δε συσχετίζονται με γραμμική σχέση.



Σχήμα 2.2. Παραδείγματα λανθασμένης ερμηνείας του συντελεστή συσχέτισης r

5.3 Η ευθεία παλινδρόμησης

Στην περίπτωση που καταλήγουμε ότι τα δεδομένα μας συσχετίζονται με γραμμική σχέση θα πρέπει να προσδιορίσουμε και ποια είναι αυτή, δηλαδή να χαράξουμε την ευθεία που την περιγράφει. Αυτό γίνεται με τη γνωστή **μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων**. Αν η ευθεία είναι η $y = a + bx$, όπου b είναι η κλίση της ευθείας και a η αποτέμνουσα, τότε τα a και b δίνονται από τις σχέσεις:

$$a = \bar{y} - b\bar{x} \quad (3)$$

$$b = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2} \quad (4)$$

Η ευθεία που ορίζεται με βάση τις παραπάνω σχέσεις ονομάζεται **ευθεία παλινδρόμησης**.

Παράδειγμα 2

Να υπολογιστεί η κλίση και η αποτέμνουσα της ευθείας παλινδρόμησης για τα δεδομένα που δίνονται στο προηγούμενο παράδειγμα.

Με βάση τους υπολογισμούς του πίνακα του παραδείγματος 1 έχουμε:

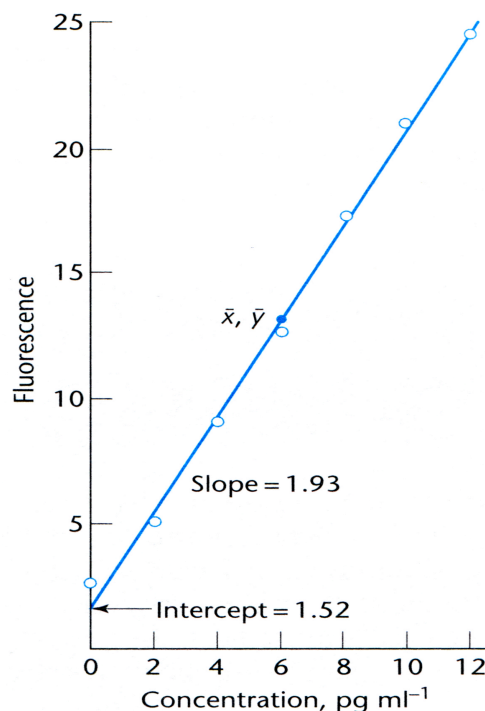
$$\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\} = 216,2 \quad , \quad \sum_i (x_i - \bar{x})^2 = 112 \quad , \quad \bar{x} = 6 \quad , \quad \bar{y} = 13,1$$

Χρησιμοποιώντας τις εξισώσεις (3) και (4) υπολογίζουμε ότι:

$$b = 216,2/112 = 1,93$$

$$a = 13,1 - (1,93 \times 6) = 13,1 - 11,58 = 1,52$$

Επομένως η εξίσωση της ευθείας παλινδρόμησης είναι η $y = 1,93x + 1,52$



Σχήμα 2.3. Ευθεία παλινδρόμησης για τα πειραματικά σημεία του παραδείγματος 1

Τα αποτελέσματα των υπολογισμών για την κλίση και την αποτέμνουσα παρουσιάζονται στο **Σχήμα 2.3**. Θα πρέπει να τονιστεί πάντως ότι οι εξισώσεις (3) και (4) δε θα πρέπει να χρησιμοποιούνται με λανθασμένο τρόπο. Δίνουν χρήσιμα αποτελέσματα μόνο όταν η μελέτη που έχει προηγηθεί (οπτική επιθεώρηση των σημείων και υπολογισμός του r έχει δείξει ότι υπάρχει γραμμική συσχέτιση για τα δεδομένα μας.

5.4 Σφάλματα στην κλίση και την αποτέμνουσα της ευθείας παλινδρόμησης

Η ευθεία παλινδρόμησης που προσδιορίσαμε θα χρησιμοποιηθεί στην πράξη για την εκτίμηση των συγκεντρώσεων των άγνωστων δειγμάτων με παρεμβολή και ίσως για να προσδιοριστεί το όριο ανίχνευσης της αναλυτικής μεθόδου. Γι' αυτό μας ενδιαφέρουν τα τυχαία σφάλματα στις τιμές της κλίσης και της αποτέμνουσας και οι εξισώσεις που τα προσδιορίζουν. Αρχικά προσδιορίζουμε την στατιστική τιμή $s_{y/x}$ που μας δίνει τα τυχαία σφάλματα στον άξονα y . Οι τιμές $\hat{y}_i$ προσδιορίζονται από τις x_i θέτοντας τις τιμές x_i στην ευθεία παλινδρόμησης.

$$s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}} \quad (5)$$

Γνωρίζοντας την τιμή του $s_{y/x}$ μπορούμε έπειτα να προσδιορίσουμε τις τυπικές αποκλίσεις s_b και s_a για την κλίση και την αποτέμνουσα αντίστοιχα.

$$\text{Τυπική απόκλιση για την κλίση: } s_b = \frac{s_{y/x}}{\sqrt{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}} \quad (6)$$

$$\text{Τυπική απόκλιση για την αποτέμνουσα: } s_a = s_{y/x} \sqrt{\frac{\sum_i x_i^2}{n \sum_i (x_i - \bar{x})^2}} \quad (7)$$

Οι τιμές s_a και s_b μπορούν να χρησιμοποιηθούν με το γνωστό από τη στατιστική τρόπο προκειμένου να εκτιμήσουμε τα όρια εμπιστοσύνης για την κλίση και την αποτέμνουσα. Λαμβάνονται έτσι οι σχέσεις: $b \pm t_{(n-2)} s_b$ και $a \pm t_{(n-2)} s_a$, όπου η τιμή t λαμβάνεται στην επιθυμητή στάθμη εμπιστοσύνης και σε $(n-2)$ βαθμούς ελευθερίας όπως θα εξηγηθεί και στο επόμενο κεφάλαιο.

5.5 Ο προσδιορισμός μιας συγκέντρωσης και το τυχαίο σφάλμα της

Εφόσον έχουμε προσδιορίσει την κλίση και την αποτέμνουσα της ευθείας παλινδρόμησης είναι πολύ απλό να προσδιορίσουμε τη συγκέντρωση (τιμή x) που αντιστοιχεί στο σήμα μέτρησης του οργάνου (τιμή y). Θα πρέπει όμως να προσδιορίσουμε και το σφάλμα που υπεισέρχεται σε αυτήν την εκτίμηση της συγκέντρωσης. Ο υπολογισμός της x τιμής από την y τιμή χρησιμοποιεί τόσο την κλίση b , όσο και την αποτέμνουσα a . Και στις δύο αυτές τιμές υπεισέρχονται σφάλματα, τα οποία αναλύθηκαν παραπάνω. Επίσης, τυχαία σφάλματα υπεισέρχονται στο σήμα του οργάνου μέτρησης. Κατά συνέπεια ο προσδιορισμός του συνολικού σφάλματος στην αντίστοιχη συγκέντρωση γίνεται αρκετά περίπλοκος. Οι περισσότεροι αναλυτές χρησιμοποιούν την ακόλουθη, κατά προσέγγιση, σχέση:

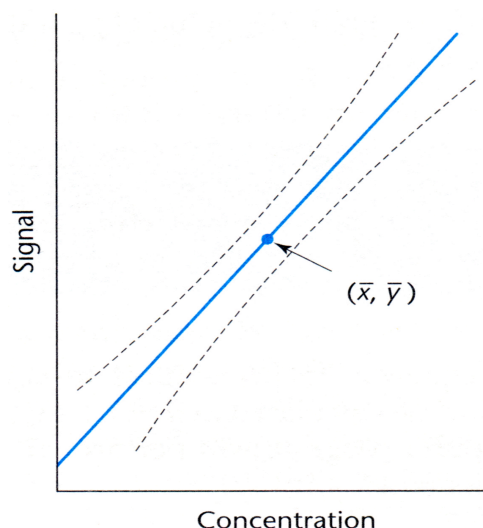
$$s_{x_0} = \frac{s_{y/x}}{b} \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y})^2}{b^2 \sum_i (x_i - \bar{x})^2}} \quad (8)$$

Στην παραπάνω εξίσωση y_0 είναι η πειραματική τιμή του y από την οποία προσδιορίζεται η άγνωστη τιμή της συγκέντρωσης x_0 και s_{x_0} είναι η τυπική απόκλιση της τιμής x_0 (τα υπόλοιπα σύμβολα έχουν οριστεί παραπάνω). Σε αρκετές περιπτώσεις ο αναλυτής λαμβάνει περισσότερες από μία μετρήσεις για να προσδιορίσει την τιμή y_0 . Με τον τρόπο αυτό βελτιώνεται αισθητά η ακρίβεια με την οποία προσδιορίζεται το y_0 και έπειτα το x_0 . Αν ο αριθμός των μετρήσεων αυτών είναι m τότε η εξίσωση (8) λαμβάνει τη μορφή:

$$s_{x_0} = \frac{s_{y/x}}{b} \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y})^2}{b^2 \sum_i (x_i - \bar{x})^2}} \quad (9)$$

Τα όρια εμπιστοσύνης της τιμής x_0 μπορούν να προσδιοριστούν από τη σχέση $x_0 \pm t_{(n-2)} s_{x_0}$, με $n-2$ βαθμούς ελευθερίας.

Στο **Σχήμα 2.4.** παρουσιάζεται η γενική μορφή των ορίων εμπιστοσύνης για την προσδιοριζόμενη συγκέντρωση. Αξίζει να παρατηρήσουμε ότι σε πειράματα βαθμονόμησης αυτού του τύπου τα πιο ακριβή αποτελέσματα λαμβάνονται όταν το μετρούμενο σήμα του οργάνου αντιστοιχεί σε κάποιο σημείο κοντά στο «κέντρο βάρους» της ευθείας παλινδρόμησης.



Σχήμα 2.4. Γενική μορφή των ορίων εμπιστοσύνης για προσδιοριζόμενη συγκέντρωση από ευθεία παλινδρόμησης.

5.6 Ευαισθησία μεθόδου (S), όριο ανίχνευσης μεθόδου (LOD) και όριο ποσοτικής αποτίμησης μεθόδου (LOQ)

A. Ευαισθησία – (Sensitivity, S)

Η ευαισθησία μιας μεθόδου δίνεται από την κλίση του διαγράμματος βαθμονόμησης:

$$S = \frac{dy}{dx} \quad (10)$$

Στην ουσία αναφέρεται στη μεταβολή του μετρούμενου σήματος y ενός οργάνου, που παρατηρείται όταν το φυσικό μέγεθος που μετριέται μεταβληθεί κατά dx . Η ευαισθησία μιας μεθόδου εξαρτάται

τόσο από την κατασκευή του οργάνου, με το οποίο γίνονται οι μετρήσεις, όσο και από το χημικό σύστημα. Τέλος, θα πρέπει να αποφεύγεται η σύγχυση μεταξύ του ορίου ανίχνευσης μιας μεθόδου και της ευαισθησίας της.

B. Όριο ανίχνευσης- (Limit of Detection, LOD)

Απόλυτο όριο ανίχνευσης – absolute detection limit

Είναι η μικρότερη ποσότητα μιας ουσίας, σε μg, ng ή pg, που μπορεί να ανιχνευτεί με μια μέθοδο.

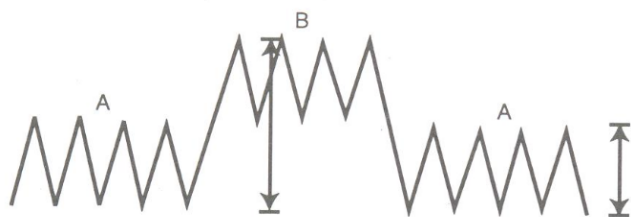
Σχετικό όριο ανίχνευσης – relative detection limit

Είναι η μικρότερη συγκέντρωση μιας ουσίας, συνήθως σε ppm, μg/mL ή μg/g, σε ένα διάλυμα, που μπορεί να ανιχνευτεί με μια μέθοδο.

Το όριο ανίχνευσης εξαρτάται από το **χημικό σύστημα** και από την **κατασκευή** του οργάνου. Η κατασκευή του οργάνου επιδρά στο **υπόβαθρο** και το **θόρυβο του σήματος**.

Υπόβαθρο σήματος: είναι οι ενδείξεις που δίνει το όργανο όταν γίνονται μετρήσεις σε δείγματα αναφοράς (signal background ή blank signal).

Θόρυβος σήματος: είναι οι απότομες και ακανόνιστες διακυμάνσεις των ενδείξεων που σχετίζονται με τα ηλεκτρονικά του οργάνου (**Σχήμα 2.5**).



Σχήμα 2.5. A= θόρυβος, B = ένδειξη $y_{\min}$ που αντιστοιχεί στο LOD.

Γενικά το όριο ανίχνευσης ενός αναλύτη περιγράφεται ως η συγκέντρωση που δίνει ικανοποιητικά διαφορετικό σήμα σε κάποιο όργανο από το σήμα του τυφλού ή το σήμα υποβάθρου. Αν και δεν υπάρχει πλήρης συμφωνία στο πώς ορίζεται το «ικανοποιητικά διαφορετικό», έχει επικρατήσει να ορίζεται ως ένα σήμα ίσο με το σήμα του τυφλού δείγματος συν τρεις φορές την τυπική απόκλιση της μέτρησης του τυφλού.

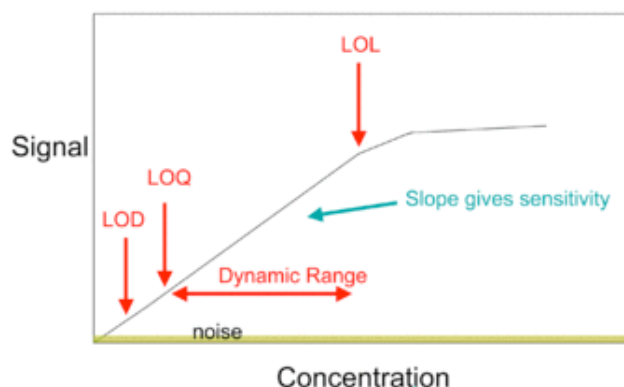
$$\text{Όριο ανίχνευσης} = y_B + 3s_B \quad (11)$$

Γ. Όριο ποσοτικής αποτίμησης- (Limit of Quantitation LOQ)

το **όριο ποσοτικής αποτίμησης**, που αναφέρεται ως το κατώτερο όριο για ακριβή ποσοτικό προσδιορισμό. Για το όριο αυτό προτείνεται η σχέση:

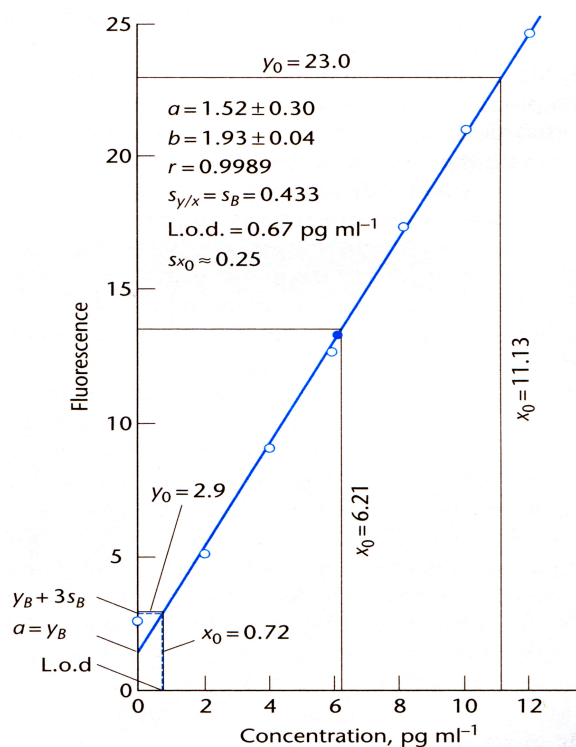
$$\text{Όριο ποσοτικής αποτίμησης} = y_B + 10s_B \quad (12)$$

Στο παρακάτω σχήμα αναπαρίσταται η εξάρτηση του μετρούμενου μεγέθους y (ως Signal) σε σχέση με τη συγκέντρωση C (concentration).



Σχήμα 2.6. Εξάρτηση του μετρούμενου μεγέθους R από τη συγκέντρωση C.

Στο **Σχήμα 2.7** συνοψίζονται όλοι οι υπολογισμοί που μπορούν να γίνουν για τη μέθοδο προσδιορισμού της φλουορεσκεΐνης με βάση τις τιμές του παραδείγματος 1 και τις σχέσεις που δόθηκαν στις προηγούμενες ενότητες.



Σχήμα 2.7. Υπολογισμοί για το διάγραμμα βαθμονόμησης του παραδείγματος 1

6. ΠΟΣΟΤΙΚΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΙ

Οι ποσοτικοί προσδιορισμοί στην ενόργανη χημική ανάλυση με χρήση βαθμονόμησης μπορούν να γίνουν:

1. Με τη μέθοδο της σταθερής προσθήκης.
2. Με καμπύλη αναφοράς με "Εξομοιωμένα Πρότυπα".
3. Με εσωτερικό πρότυπο.

6.1 Μέθοδος σταθερής προσθήκης

Το χημικό σύστημα των πρότυπων δειγμάτων πρέπει να είναι το ίδιο με το χημικό σύστημα του άγνωστου δείγματος για να αποφύγουμε πιθανές παρεμποδίσεις. Στις περιπτώσεις που αυτό δεν είναι γνωστό εφαρμόζεται η μέθοδος της **σταθερής προσθήκης** (Standard Addition Method).

Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, το ίδιο το άγνωστο δείγμα χρησιμοποιείται για την παρασκευή των πρότυπων δειγμάτων. Η μέθοδος αυτή εφαρμόζεται μόνο στην περίπτωση που η τιμή της ιδιότητας που μετράμε είναι **γραμμική συνάρτηση της C**.

Για μεγαλύτερη ακρίβεια στον προσδιορισμό της C_x γίνεται μια σειρά από δείγματα στα οποία προσθέτουμε γνωστές ποσότητες της ουσίας, αλλά για διαφορετικές τελικές συγκεντρώσεις $C_{x+\alpha}$, $C_{x+\beta}$, $C_{x+\gamma}$. Στη συνέχεια γίνονται οι μετρήσεις $y_{x+\alpha}$, $y_{x+\beta}$, $y_{x+\gamma}$, και ελέγχεται η **γραμμική εξάρτηση** των y με C . Για τα πραγματικά δείγματα με συγκέντρωση C_x (άγνωστος) και y_x ένδειξη του οργάνου, προσθέτουμε γνωστή ποσότητα της ουσίας που μετράμε σε συγκέντρωση C_s μετατρέποντας έτσι την ένδειξη του οργάνου σε y_{x+s} , οπότε και υπολογίζεται με πλάγιο τρόπο η C_x . Η μέθοδος της σταθερής προσθήκης εφαρμόζεται μόνο για την εξουδετέρωση των **πολλαπλασιαστικών παρεμποδίσεων**, δε μπορεί να εφαρμοστεί όταν στο δείγμα υπάρχουν **προσθετικές παρεμποδίσεις**.

6.2 Καμπύλη αναφοράς με “εξομοιωμένα πρότυπα”

Σε πολλές περιπτώσεις τα πρότυπα που χρησιμοποιούνται πρέπει να εξομοιώνονται – προσομοιάζουν με το δείγμα που θα αναλυθεί.

Προς το παρόν υπάρχουν τρόποι παρασκευής για τα ανόργανα συστατικά και γίνονται έρευνες και για τα οργανικά, να έχουμε δηλαδή πρότυπα δείγματα γνωστής συγκέντρωσης. Έτσι, για παράδειγμα, σε βιολογικά δείγματα μπορούμε να γνωρίζουμε τη συγκέντρωση των βαρέων μετάλλων με μεγάλη ακρίβεια και να παρασκευάζουμε διαλύματα βιολογικών δειγμάτων υψηλής ακρίβειας.

6.3 Καμπύλη αναφοράς με εσωτερικό πρότυπο

Εσωτερικό πρότυπο μιας αναλυτικής μεθόδου είναι η ουσία που προστίθεται σε σταθερή ποσότητα (συγκέντρωση) σε όλα τα δείγματα πρότυπα, τυφλά (blank) και πραγματικά. Σημειώνεται σε αυτό το σημείο ότι ως δείγματα αναφοράς ή τυφλά ορίζονται τα δείγματα που περιέχουν το ίδιο χημικό σύστημα με το άγνωστο, αλλά η συγκέντρωση που προσδιορίζουμε είναι $C = 0$.

Στην περίπτωση που εφαρμόζεται η τεχνική του εσωτερικού προτύπου, η καμπύλη αναφοράς κατασκευάζεται χρησιμοποιώντας το λόγο του σήματος του συστατικού προς το σήμα του εσωτερικού προτύπου, ως προς τη συγκέντρωση των προτύπων του συστατικού που προσδιορίζεται.

Η χρήση του εσωτερικού προτύπου επιλέγεται για να ξεπεράσουν προβλήματα που προέρχονται από τυχαία και συστηματικά σφάλματα, καθώς τα σήματα του δείγματος και του εσωτερικού προτύπου θα επηρεάζονται στον ίδιο βαθμό, με αποτέλεσμα ο λόγος των σημάτων να είναι πιο σταθερός και επαναλήψιμος.

Η κύρια δυσκολία στην εφαρμογή της τεχνικής του εσωτερικού προτύπου είναι η εύρεση της κατάλληλης ουσίας που να μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως εσωτερικό πρότυπο, και αυτό γιατί πρέπει να πληρούνται ορισμένες προϋποθέσεις. Οι προϋποθέσεις αυτές είναι:

1. Να δίνει σήμα το οποίο να διαφοροποιείται από το σήμα του προσδιοριζόμενου συστατικού στις συνθήκες ανάλυσης και ανίχνευσης της μεθόδου (π.χ. να απορροφά στο ίδιο μήκος κύματος).
2. Να μην υπάρχει στο υπόστρωμα των πραγματικών δειγμάτων που θα αναλυθούν, π.χ. η καφεΐνη δε μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως εσωτερικό πρότυπο όταν εφαρμόζεται μια μέθοδος σε βιολογικά υγρά π.χ. αίμα, ούρα, καθώς προϋπάρχει στις περισσότερες

περιπτώσεις σε αυτά λόγω διατροφής, σε άγνωστη συγκέντρωση, ενώ η ίδια ουσία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανάλυση φαρμακευτικών σκευασμάτων (με την προϋπόθεση ότι αυτά δεν περιέχουν καφεΐνη).

3. Να μην αντιδρά με την προσδιοριζόμενη ένωση και να μη φθορίζει.
4. Να είναι σταθερή για μεγάλο χρονικό διάστημα, ώστε να μη μεταβάλλεται η συγκέντρωσή της.

7. ΠΑΡΕΜΠΟΔΙΣΕΙΣ (INTERFERENCES)

Ως παρεμπόδιση ορίζεται κάθε συστατικό ενός δείγματος, το οποίο δρα με τέτοιο τρόπο, ώστε περιπλέκει τη διαδικασία ποσοτικοποίησης του αναλύτη. Οι παρεμποδίσσεις παίζουν σημαντικότερο ρόλο όσο μειώνεται η συγκέντρωση του αναλύτη και μπορούν να χωριστούν σε δύο κατηγορίες:

- **Πολλαπλασιαστικές** παρεμποδίσσεις: πρόκειται για είδη που δεν παράγουν δικά τους σήματα αλλά μεταβάλλουν το σήμα που παράγεται από μια δεδομένη συγκέντρωση ή ποσότητα αναλύτη.
- **Προσθετικές** παρεμποδίσσεις: πρόκειται για είδη που παράγουν δικά τους σήματα, τα οποία προστίθενται στο σήμα του αναλύτη και τα οποία μπορεί να ερμηνευθούν εσφαλμένα ότι προέρχονται από τον αναλύτη.

Οι περισσότερες ενώσεις δρουν είτε ως πολλαπλασιαστικές είτε ως προσθετικές παρεμποδίσσεις. Υπάρχει όμως ενίοτε η περίπτωση να δρα ένα συστατικό του δείγματος και ως προσθετική και ως πολλαπλασιαστική παρεμπόδιση.

Τρόποι αντιμετώπισης των παρεμποδίσεων

Για τις πολλαπλασιαστικές παρεμποδίσσεις:

- Αραίωση του δείγματος μέχρι το σημείο όπου η παρεμπόδιση παύει να υφίσταται.
- Χρήση ορισμένων τεχνικών βαθμονόμησης, όπως αυτές της σταθερής προσθήκης και του εσωτερικού προτύπου, όπου προστίθενται στο δείγμα γνωστές ποσότητες του αναλύτη ή κάποιας άλλης ουσίας.
- Διαχωρισμός του αναλύτη από τις ουσίες που προκαλούν παρεμποδίσσεις, με διάφορες τεχνικές, για παράδειγμα εκχύλιση, ιοντοανταλλαγή, χρωματογραφία κ.ά. Η διαδικασία αυτή μπορεί να είναι αρκετά χρονοβόρα και όχι πάντα πρακτική, ιδιαίτερα στις περιπτώσεις που η συγκέντρωση του αναλύτη είναι πολύ χαμηλή.

Για τις προσθετικές παρεμποδίσσεις:

- Η επιλογή κατάλληλης αναλυτικής μεθόδου, η οποία δε θα ανταποκρίνεται στις υπάρχουσες παρεμποδίσσεις. Κάτι τέτοιο δεν είναι δυνατό όταν δεν υπάρχει αρκετά εκλεκτική μέθοδος για τον αναλύτη ή όταν ο αναλυτής δε διαθέτει αρκετές πληροφορίες για τη φύση των πιθανών παρεμποδίσεων που υπάρχουν στο προς ανάλυση δείγμα.
- Ο διαχωρισμός του αναλύτη από τις ουσίες που προκαλούν παρεμποδίσσεις πριν από τη μέτρηση. Η διαδικασία αυτή είναι χρονοβόρα, ενώ υπάρχει και ο κίνδυνος απώλειας του αναλύτη.
- Η χρήση κατάλληλου τυφλού δείγματος. Αν είναι διαθέσιμο ένα τυφλό δείγμα, το σήμα που παράγεται από τις προσθετικές παρεμποδίσσεις μπορεί να μετρηθεί και μετά να αφαιρεθεί από το σήμα που παράγεται από το δείγμα. Κάτι τέτοιο είναι δυνατό αν υπάρχει ένα πραγματικό τυφλό δείγμα (υλικό πανομοιότυπο με το δείγμα στο οποίο απουσιάζει ο αναλύτης). Υπάρχει η δυνατότητα να παράγουμε ένα εσωτερικό τυφλό από το ίδιο το δείγμα, εξαλείφοντας τη συγκέντρωση του αναλύτη ή το σήμα που προέρχεται από αυτόν.
- Η χρήση κατάλληλων ενόργανων τεχνικών οι οποίες διαχωρίζουν τα σήματα που προέρχονται από τον αναλύτη και από τις ουσίες που προκαλούν παρεμποδίσσεις, εξαλείφοντας, ή τουλάχιστον μειώνοντας, τα σφάλματα μέτρησης. Παράδειγμα μιας τέτοιας τεχνικής είναι η διόρθωση υποστρώματος στη φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης.