

Osnovni pojmovi. Metode kalibracije. Validacija rezultata.

Osnovni pojmovi

Analit: konstituent uzorka koji se određuje.

Element, jon ili molekul u hemijskoj analizi

Osnova ili matriks: svi ostali konstituenti u uzorku sem analita

Analiza je proces u kome dolazimo do hemijske ili fizičke informacije o konstituentima uzorka.

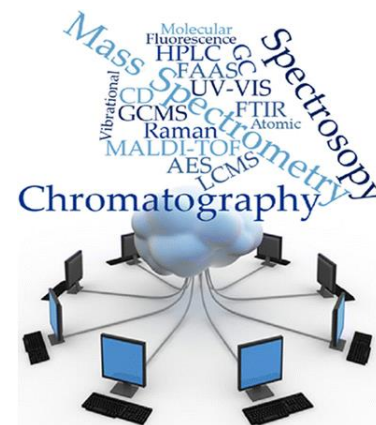
Određivanje je uži pojam od analize i obično se odnosi na određivanje informacije o jednom analitu.

Merenje je proces u kome direktno merimo hemijsku ili fizičku (u instrumentalnoj analizi) osobinu analita.

Analiziramo uzorak da bi smo odredili koncentraciju analita merenjem fizičke osobine analita proporcionalne njegovoj koncentraciji.

Tehnika tj. analitička odnosno instrumentalna tehnika primenjuje neki hemijski ili fizički princip (ili više njih) za određivanje analita.

npr. tehnike su atomska apsorpciona spektrometrija sa elektrotermalnom atomizacijom, anodna stripping voltametrija, gasna hromatografija sa masenom detekcijom, kompleksometrijska titracija...



Metoda je primena određene tehnike na određivanje datog analita u datoj vrsti uzorka (tj. u datoj osnovi odnosno matriksu).

Metodu čine **tehnika-analit-uzorak**, bilo koja promena jednog pojma je već neka druga metoda.

Npr. određivanje olova u pijaćoj vodi atomskom apsorpcionom spektrometrijom:

Procedura je detaljnija razrada metode, obuhvata preciziranje postupaka kao što su uzorkovanje, čuvanje uzoraka, razaranje, koncentrovanje, uklanjanje efekta osnove...

Protokol je detaljna procedura koju obično usvaja odnosno propisuje neko regulaciono telo, nakon njene pažljive provere odnosno validacije. U protokolu svu svi detalji precizno opisani i po njemu se mora postupati da bi rezultat imao punu zakonsku vrednost.

Analitički signal se generiše tokom analize i njegova veličina je proporcionalna količini (masi) odnosno koncentraciji analita.

Instrumentalna analiza (fizička analiza)

- Uzorak se izlaže nekom spoljašnjem fizičkom dejstvu/sili (elektromagnetno zračenje, toplota, električni napon)
- Dolazi do promena osobina uzorka koje se mere kao električni, mehanički, termički ili optički signal
- Neophodna je kalibracija uređaja

Hemijska analiza

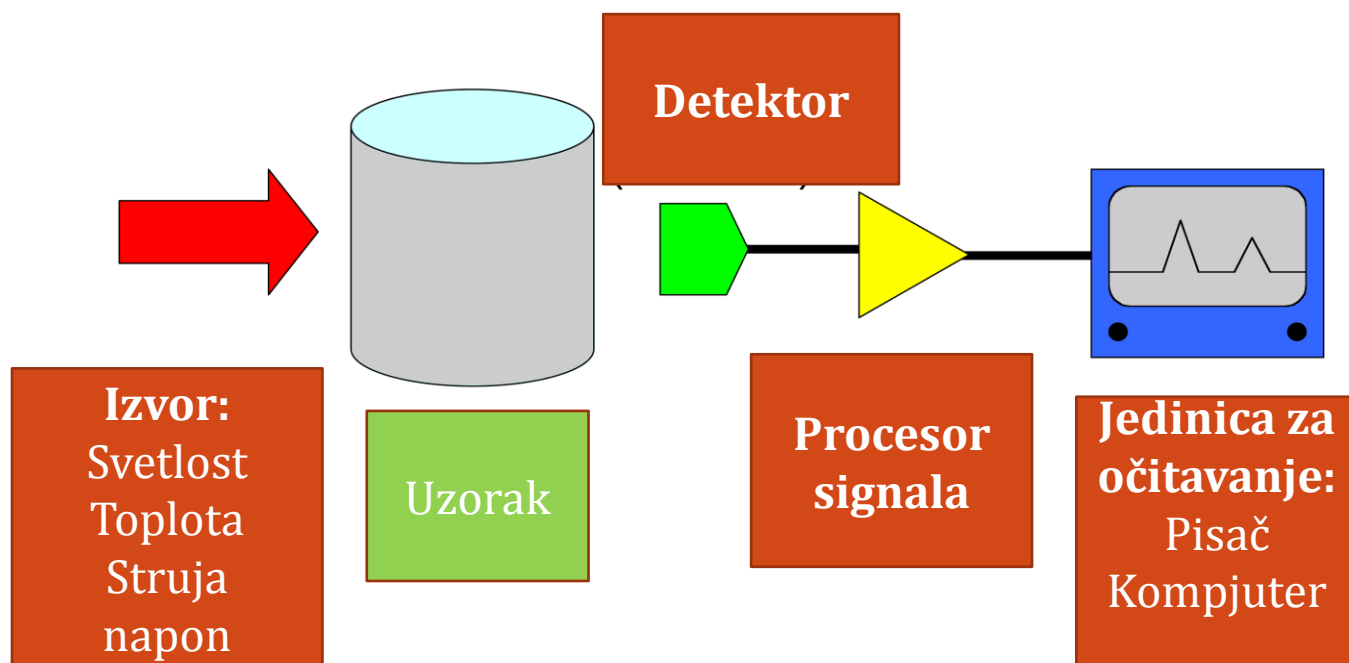
Hemijske/klasične analitičke metode (titracija ili gravimetrija) se zasnivaju na stehiometriji hemijske reakcije tako da se iz merenja mase ili zapremine reaktanata može izračunati koliko je utrošeno analita .

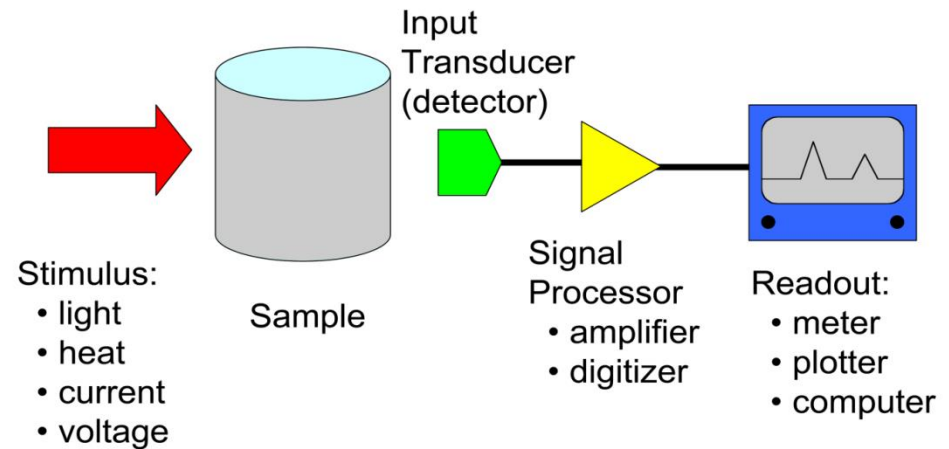
Signal	Analitička metoda na bazi merenog signala
volumen	volumetrijska analiza
emisija	zračenja emisijske spektrometrije
apsorpcija	zračenja apsorpcijske spektrometrije
raspršivanje	zračenja turbidimetrija, nefelometrija, Ramanova spektrometrija
refleksija zračenja	refraktometrija, interferometrija
difrakcija zračenja	difrakcija rendgenskog zračenja, elektronska difrakcija
polarizacija (zakretanje) zračenja	polarimetrija
električni potencijal	potenciometrija, hronopotenciometrija
električna struja	polarografija, amperometrija, kulometrija ,
električni otpor	konduktometrija
odnos mase i naelektrisanja	masena spektrometrija
termička svojstva	TGA, DTGA, DSC, termička provodljivost i određivanje entalpije

Uređaji za instrumentalnu analizu pretvaraju signal koji se uglavnom ne može direktno detektovati i nije razumljiv u signal koji to jest.

Bez obzira o kojem se instrumentu radi, sastoji se od samo četiri osnovne komponente:

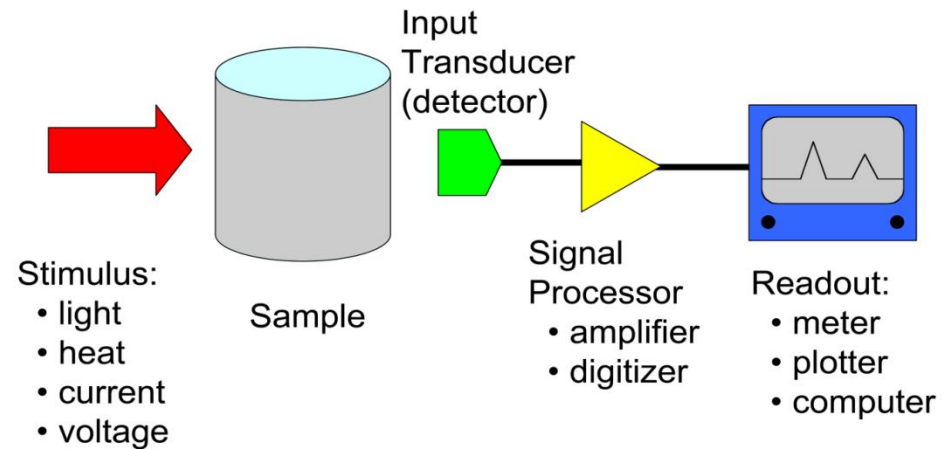
izvor signala,
detektor,
procesor signala
jedinicu za očitavanje





Izvor signala. Izvor signala daje analitički signal pojedinih sastojaka uzorka. Izvor signala može biti sam uzorak. Na primer signal za analitičku vagu je sama masa uzorka, za pH-metar signal je aktivitet vodonikovih jona u rastvoru. Kod mnogih instrumenata izvor signala nije tako jednostavan. Čine ga izvor energije i uzorak koji u interakciji daju analitički signal.

Detektor. Detektor je uređaj koji pretvara jedan tip signala u drugi, na primer termopar pretvara toplotni signal u električni signal. Najveći broj detektora pretvara analitički signal u električni. Pretvoreni analitički signal u električni ili mehanički ulazi dalje u procesor signala.



Procesori signala. Procesor signala modifikuje signal na taj način da se može jednostavnije i brže obrađivati u jedinici za zapis i eventualno obradu podataka. Najčešća modifikacija je pojačanje signala množenjem s veličinom većom od jedinice. Električni signal može se pojačati čak za faktor 10^6 . Razne su druge modifikacije električnog signala moguće: integriranje, diferenciranje, oduzimanje ili dodavanje, itd.

Jedinica za očitavanje. Moderni instrumenti danas kao jedinicu za očitavanje imaju računar. Uređaja starije generacije kao jedinicu za očitavanje imaju uređaj sa skalom (analogni prikaz), pisač ili uređaj s digitalnim zapisom.

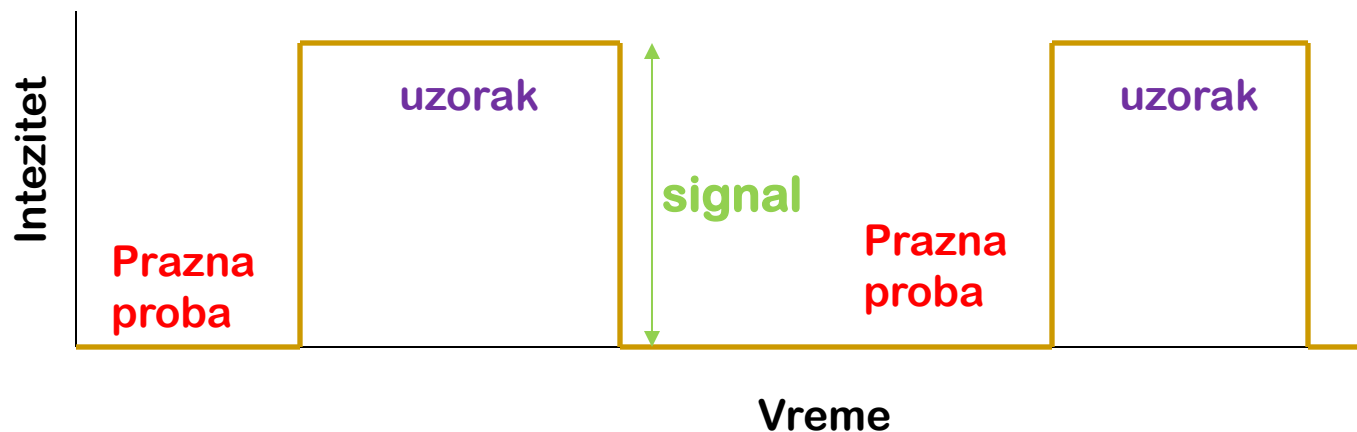
Signal

U svim eksperimentima postoji:

Odgovor uzorka: odgovor instrumenta kada je analit prisutan.

Odgovor prazne probe: odgovor instrumenta kada je analit odsutan.

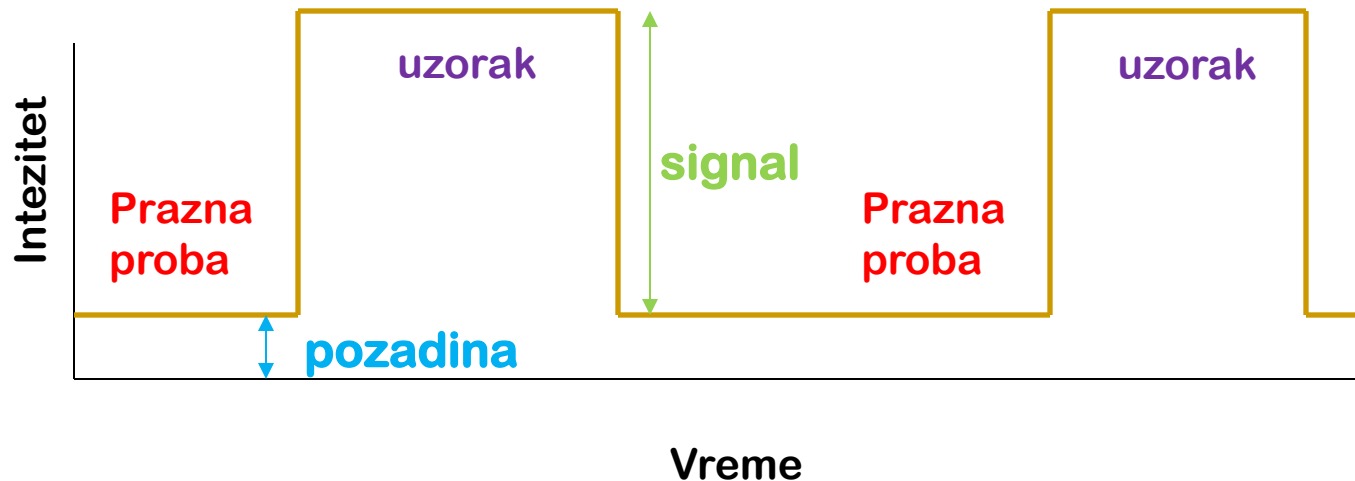
Signal: razlika između odgovora uzorka i prazne probe.



Background/pozadina ili bazna linija

U idealnom slučaju, odgovor instrumenta za praznu probu će biti 0. Tada je odgovor uzorka jednak signalu. Ovo gotovo nikada nije slučaj, iako se često može podesiti da bude blizu 0.

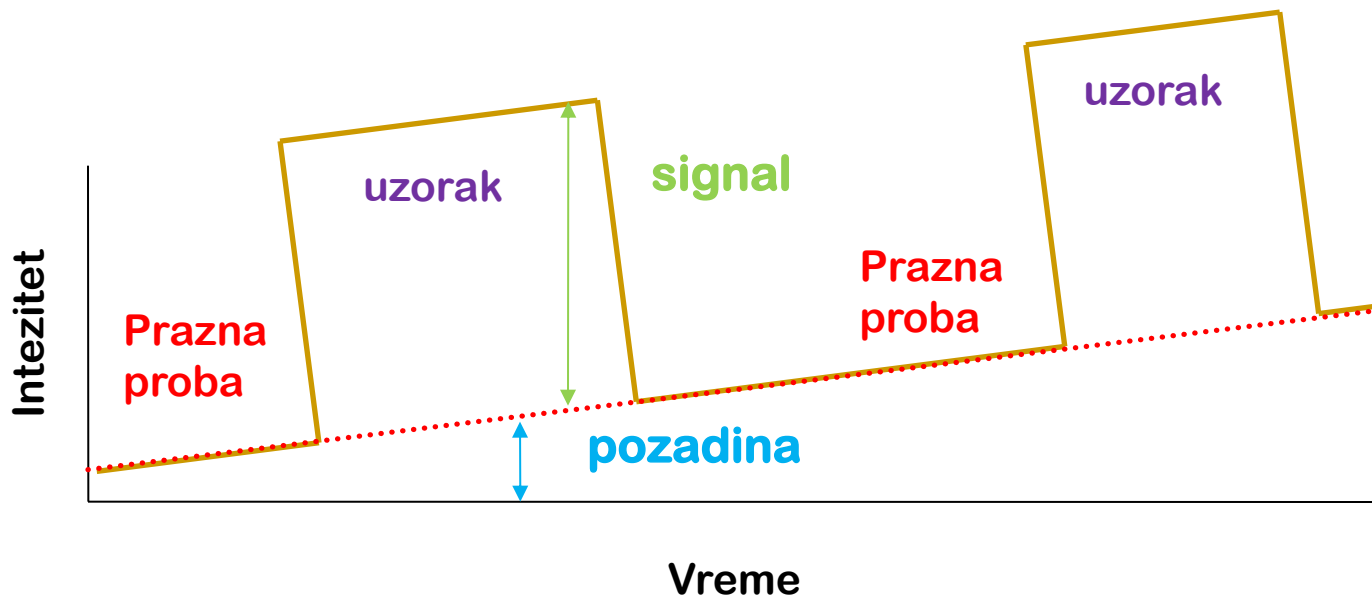
Pozadina ili bazna linija: signal koji daje instrument za slučaj kada nema prisutnog analita tj. za praznu probu.



Pomeraj

U idealnom slučaju, bazna linija je konstantna u vremenu. U tom slučaju, korektivni faktor je stalan.

Međutim, često se bazna linija menja sa vremenom. Pomeraj može da se menja linearno sa vremenom, ali često je složeniji i teško je predvideti tu promenu.

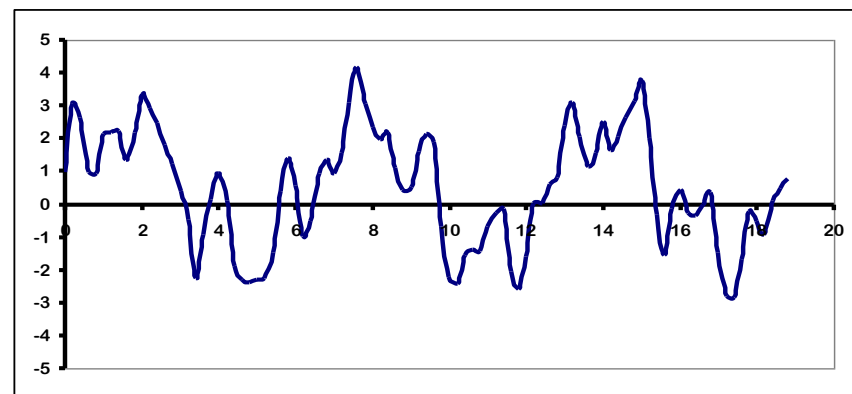
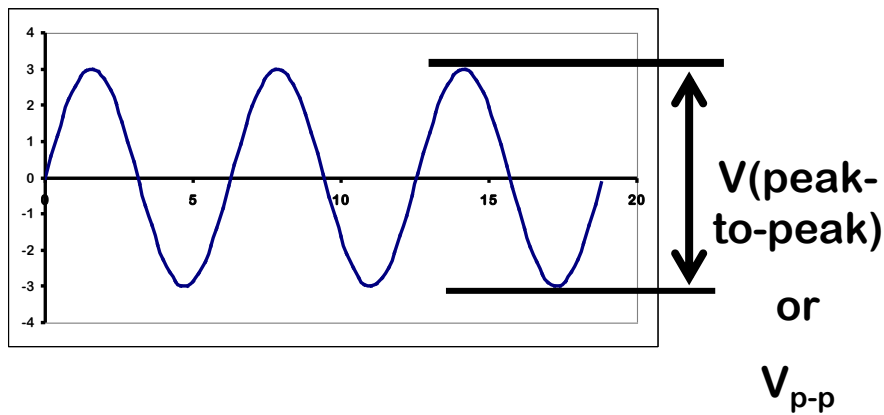


Buka ili šum

Buka/šum je slučajna promena u izlaznom signalu instrumenta koji nije u vezi sa odgovorom analita. Ova promena otežava precizno merenje signala analita, prazne probe i bazne linije.

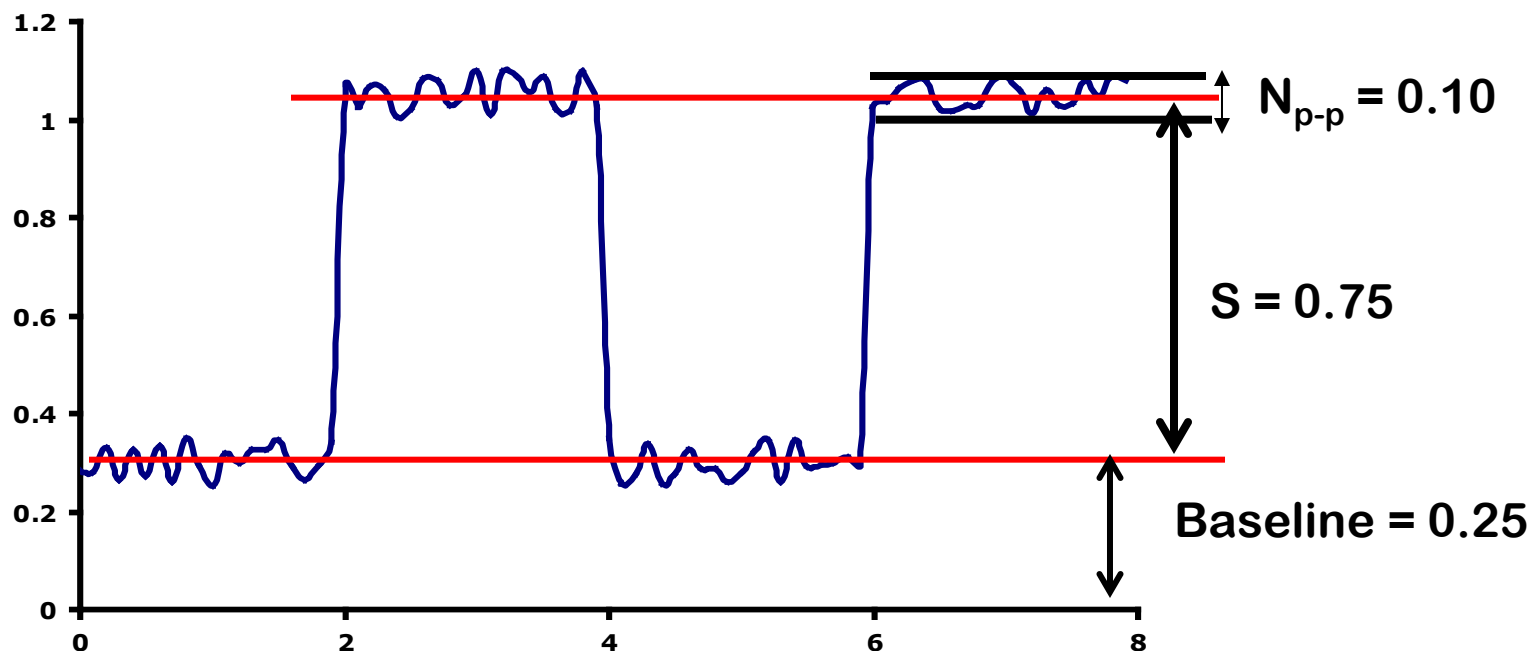
Iako je buka nije savršena sinusoida, može se predstaviti kao zbir sinusnih talasa.

Merenje intenziteta buke i upoređivanje sa signalom utiče na tačnost merenja i određuje limit detekcije.



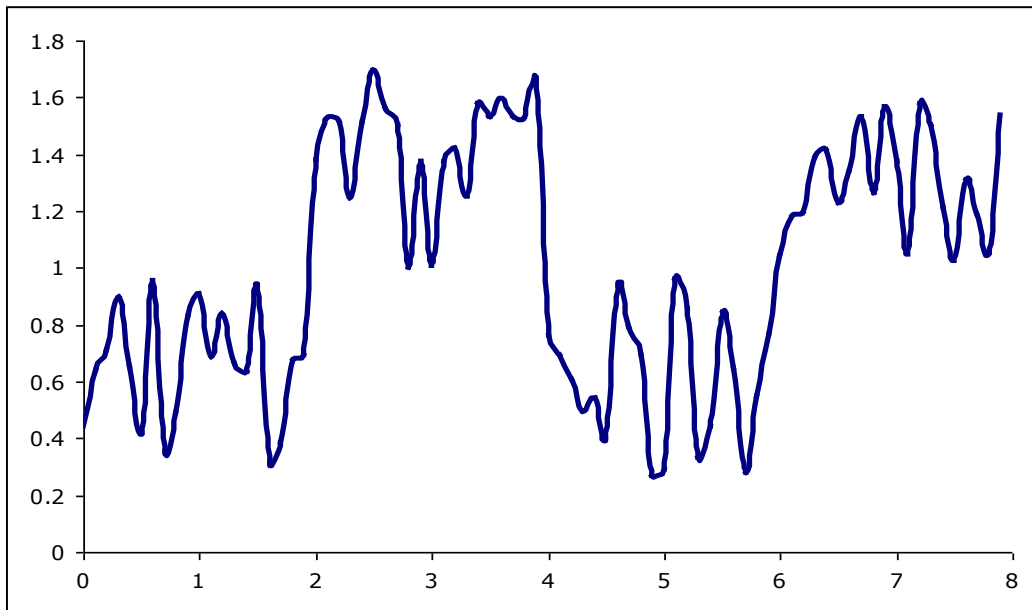
Odnos Signal/Šum

Koren srednjeg kvadrata $N_{RMS} = \frac{1}{2\sqrt{2}} N_{p-p}$



$$N_{RMS} = 0.354 N_{p-p} = 0.354 \times 0.10 = 0.035$$

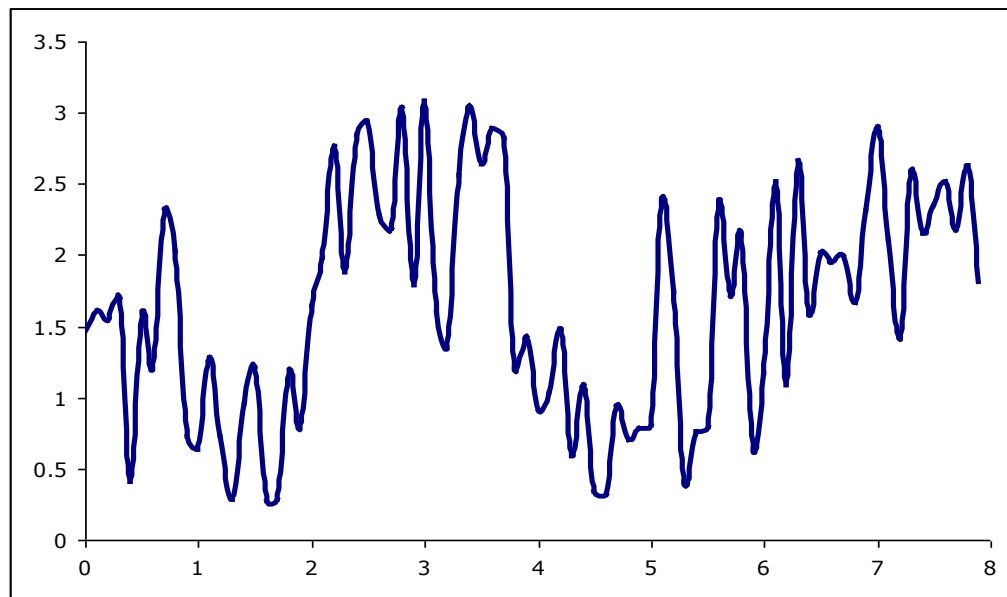
$$S/N = 0.75/0.035 = 21.4$$

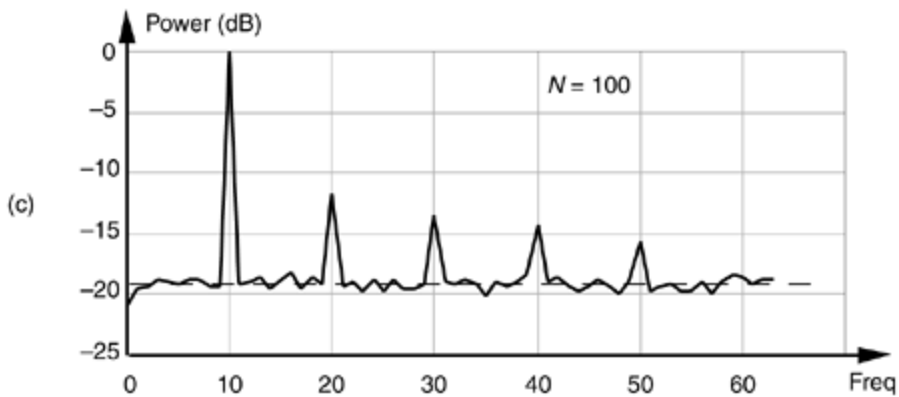
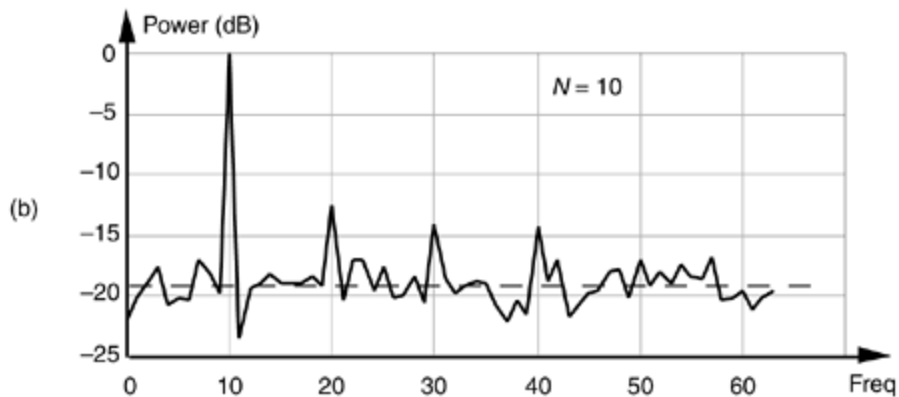
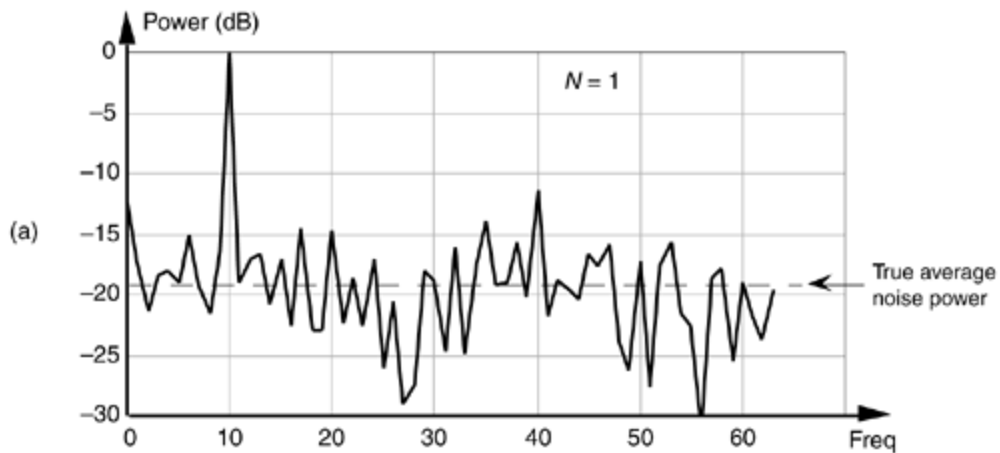
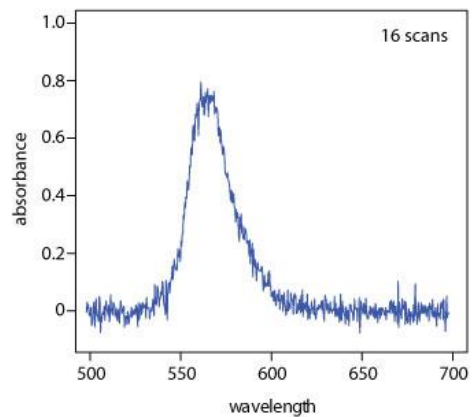
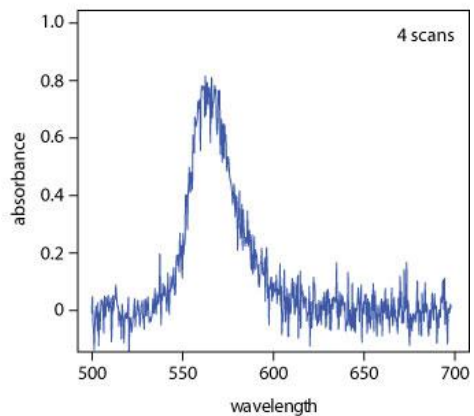
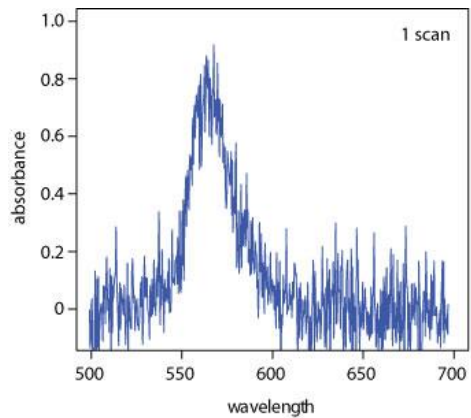


$S/N = 3$

Minimalni odnos!

$S/N = 1$





Kalibracijski postupci

U svrhu kvantitativnog određivanja sastava uzorka, metode instrumentalnih određivanja koncentracije analita mogu biti *apsolutne* ili *relativne*.

Apsolutne instrumentalne metode ne zahtevaju kalibraciju da bi se dobio podatak o koncentraciji iz izlaznog signala instrumenta. Osetljivost određivanja može se odrediti direktno iz teoretske zavisnosti signala i koncentracije analita. Takve su metode npr. kulometrija i kulometrijska titracija ili elektrogravimetrija.

Sve ostale instrumentalne metode su relativne i time zahtevaju kalibraciju.

Kalibracija je postupak u kome se proverava signal instrumenta merenjem signala uzorka koji ima definisan signal. Npr. kod spektrofotometra se kalibriše talasna dužina i apsorpcija preko standardnih filtara

Standardizacija je postupak u kome se uspostavlja veza između merenog signala za dati analit i koncentracije analita u uzorku

Analitička ili kalibraciona kriva daje vezu između signala i koncentracije analita, dobija se merenjem nekoliko standarda

Standard

Standard ili koncentracioni standard, bi trebalo da odgovara po hemijskom sastavu i fizičkim osobinama uzorku, kako bi efekat osnove bio manji. Standard treba da bude i homogen.

Može biti čvrsti, praškasti i tečni standardi.

Kupljeni i standardni pravljene u laboratoriji.

Stabilnost standarda.

Multistandardi (više analita u istom rastvoru ili prahu) su standardi sa definisanim koncentracijama više analita tkz. multistandardi.

Standard

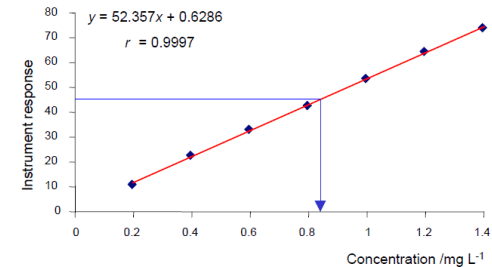
Standardi koncentracije, za dobijanje analitičke krive, moraju imati tačne koncentracije i osnovu koja odgovara osnovi uzorka.

Primarni standardi koncentracije, imaju koncentraciju analita za nekoliko redova veličine veću od onih koje se javljaju u analitičkoj krivoj (obično 1000 ppm u atomskoj spektrohemiji) i stabilni su tj. imaju veći rok trajanja, obično godinu dana. Ambalaža i sastav su prilagođeni konzervaciji sastava standarda. Primarni standardi se mogu kupiti i imaju deklarisan sastav.

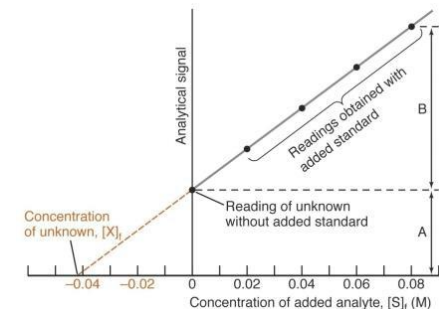
Primarni standardi koncentracije se mogu praviti u laboratoriji, od supstanci dovoljno tačnog sastava (obično soli, koje se predhodno suše ako su hidroskopne). Često su za pravljenje standarda dovoljne i PA hemikalije (osnovna supstanca više od 99.5%) a na tržištu postoje i znatno čistije hemikalije.

Tri su postupka za određivanje koncentracije iz podataka izlaznog signala bilo kojeg instrumenta.

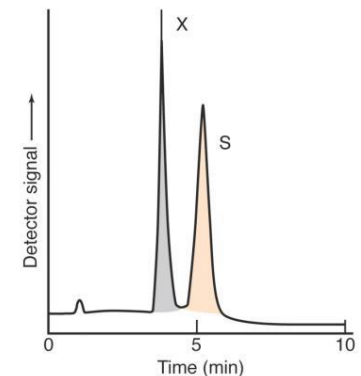
- Metoda spoljašnjeg standarda



- Metoda poznatog ili standardnog dodatka



- Metoda unutrašnjeg standarda

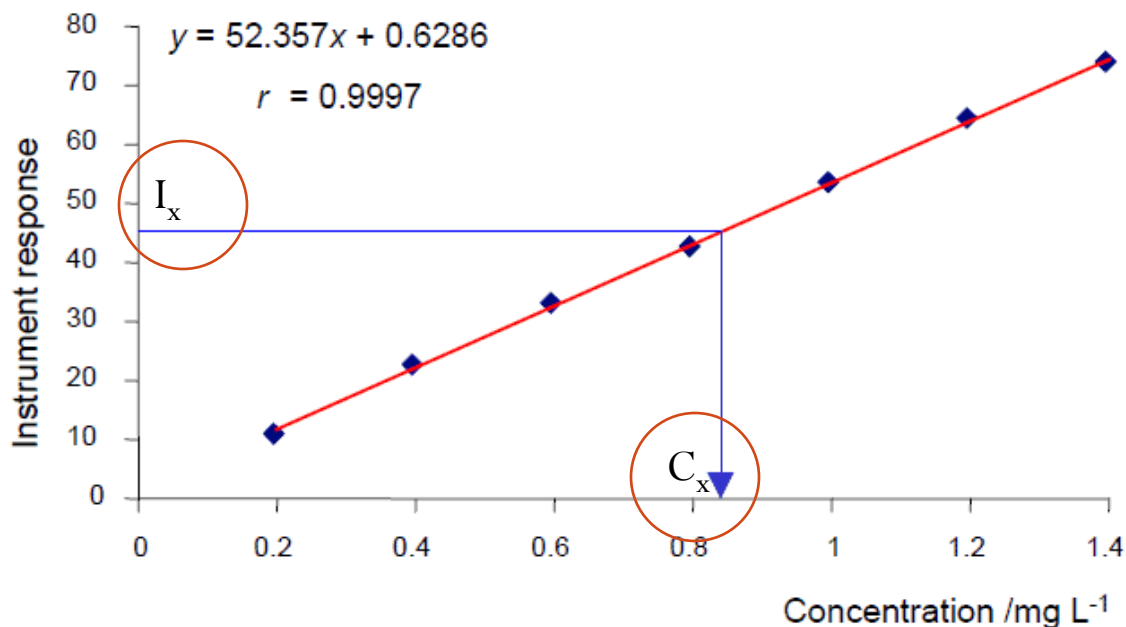


Metoda spoljašnjeg (eksternog) standarda

Kalibracijski dijagram prikazuje zavisnost signala od količine analita (npr. koncentraciji) dobijen merenjem signala serije standarda (standardnih rastvora) pri tačno određenim uslovima.

Napravi se niz rastvora tačno određenih koncentracija i za svaki od njih se izmeri vrednost signala.

Na osnovu dobijenih podataka crta se kalibracioni dijagram Signal u funkciji koncentracije sa kojeg je moguće odrediti nepoznatu koncentraciju analita u uzorku na osnovu izmerenog signala.



Metoda spoljašnjeg (eksternog) standarda

Kalibracijski dijagrami nisu uvek linearni, često su kod niskih ili visokih koncentracija zakrivljeni a linearni je deo u sredini takovog dijagrama. Takav linearni deo odnosa signala prema koncentraciji često nazivamo dinamičkim područjem.

$$y = a + bx$$

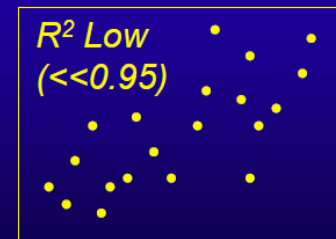
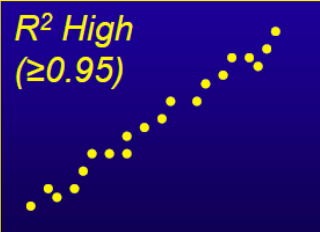
gdje je y signal dobijen s instrumenta, a je signal slepe probe (tj. odsečak na osi signala (y)), b je nagib pravca za ispitivani sastav (signal vs. koncentracija) koji odgovara osetljivosti postupka, a x je koncentracija analita.

Koeficijent
determinacije

Square of Correlation Coefficient

$$R^2 = \frac{[\sum(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]^2}{\sum(x_i - \bar{x})^2 \sum(y_i - \bar{y})^2}$$

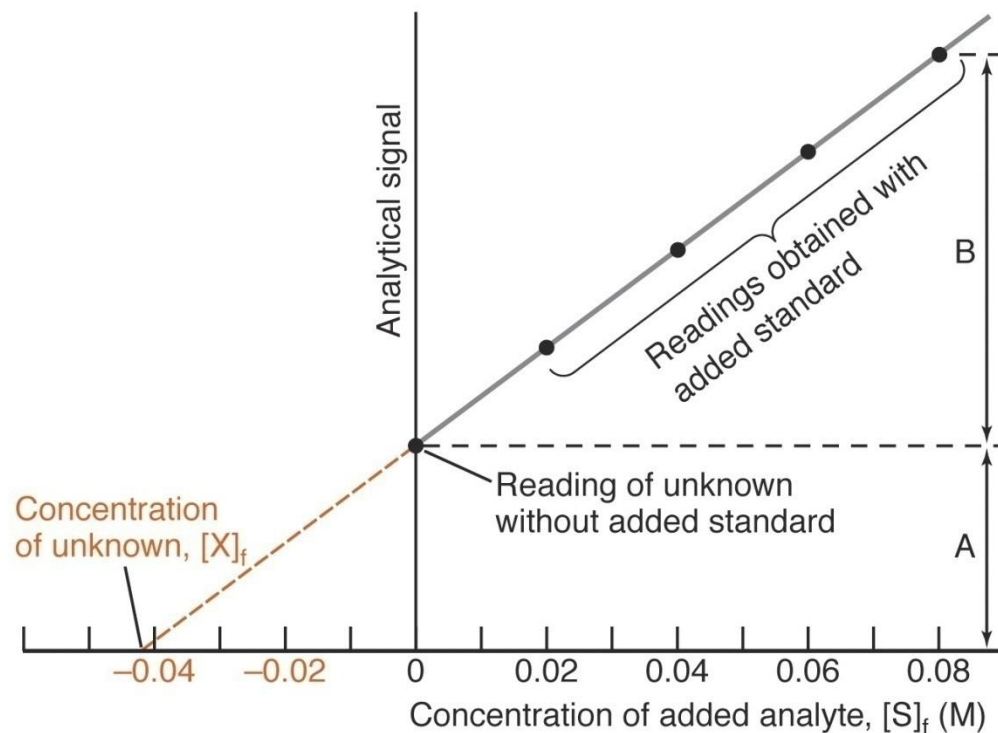
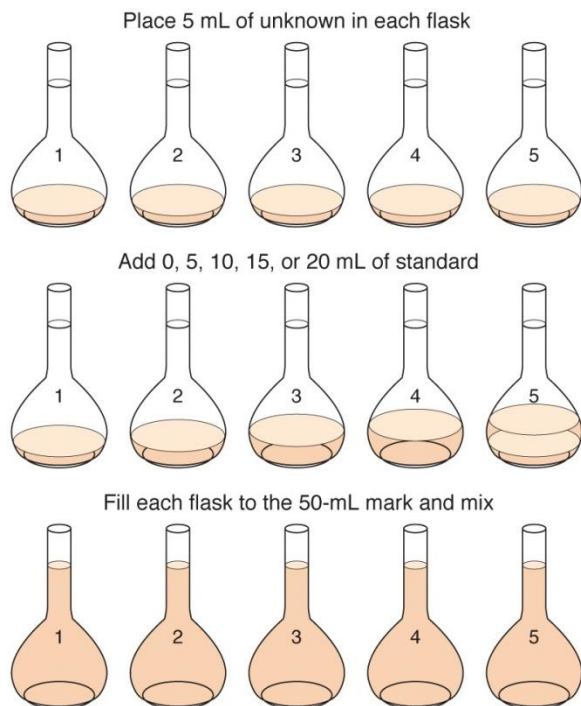
Linearity: R^2 close to 1
(e.g. $\geq 0.99, 0.98, 0.95$)



Metoda poznatog ili standardnog dodatka

Metoda standardnog (poznatog) dodatka sastoji se od najmanje tri koraka. **Prvi** je merenje signala analita iz uzorka, **drugi** dodavanje poznate koncentracije analita a **treći** ponovljeno merenje signala analita

- ✓ Sa samo jednim dodatkom poznate koncentracije analita (drugi i treći korak) nužna je pretpostavka da smo u linearnom delu odnosa signala i koncentracije analita.
- ✓ Najprecizniji rezultati se dobiju ako je koncentracija prvog dodatka jednaka najmanje dvostrukoj koncentraciji analita u uzorku.
- ✓ Metoda standardnog dodatka je posebno korisna kada je uticaj matrice na određivanje analita znatan ili kada su koncentracije analita u uzorku vrlo blizu granice određivanja.
- ✓ Metodom standardnog dodatka uticaj matrice postoji ali je konstantan za sva merenja.
- ✓ Kalibracija je važna za stabilnost mernog instrumenta.



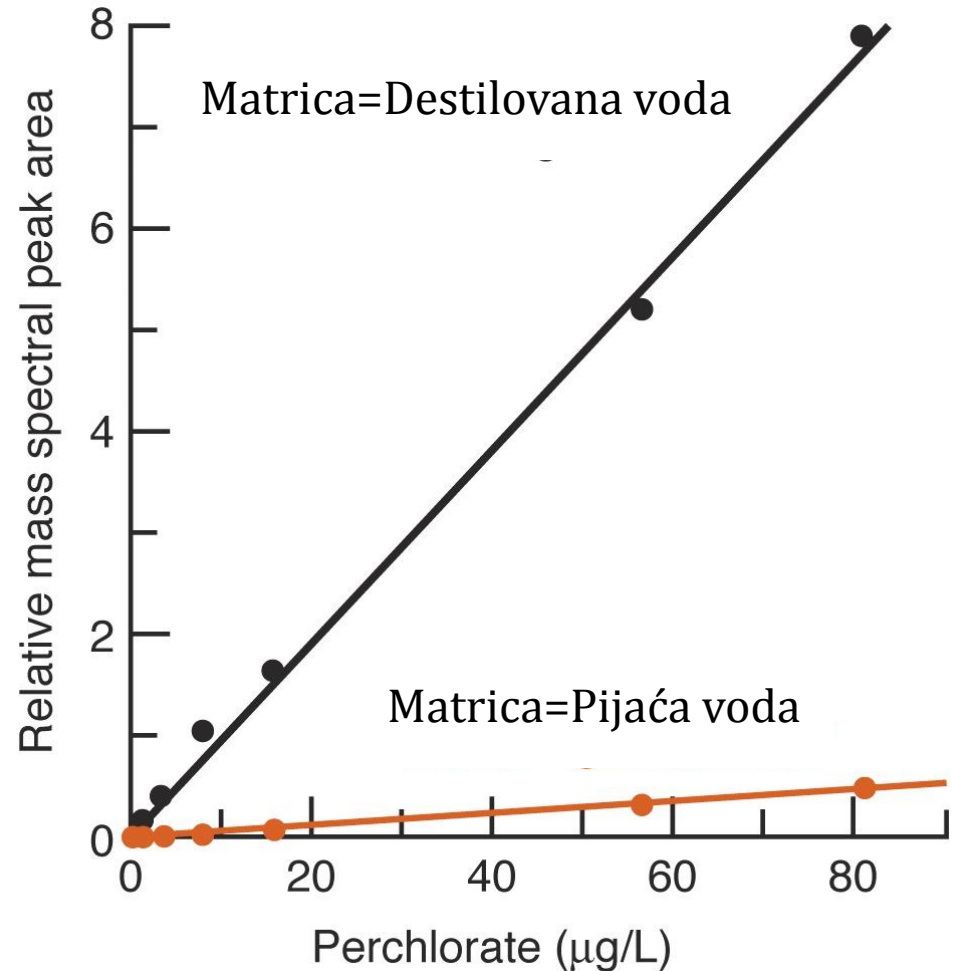
Iz grafičkog prikaza koncentracija analita u nepoznatom uzorku očita se kao apsolutna vrednost na osi x u četvrtom kvadrantu (negativni deo ose x).

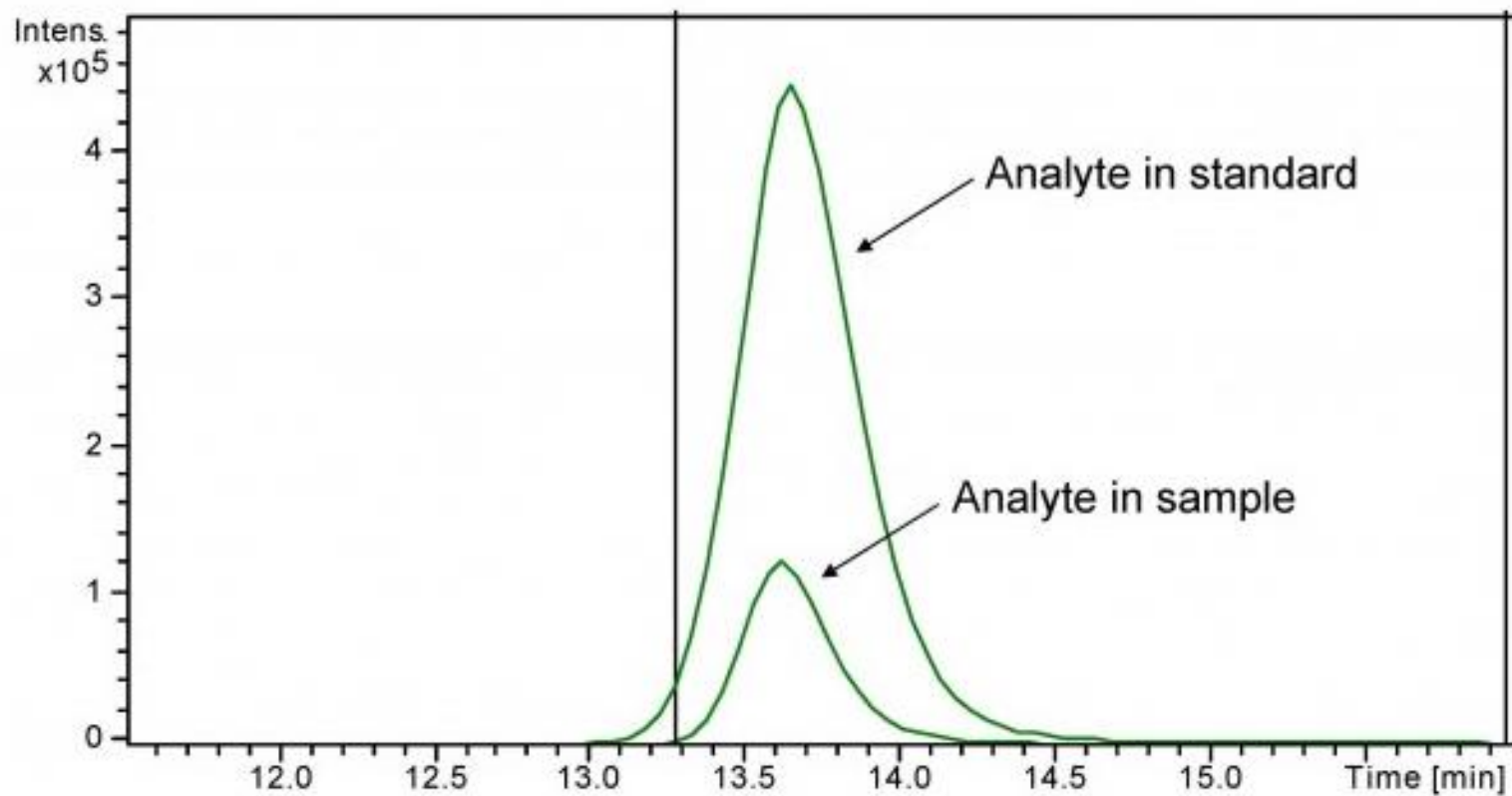
$$\frac{[X]_i}{[S]_f + [X]_f} = \frac{I_x}{I_{S+X}}$$

$$[X]_f = [X]_i \left(\frac{V_0}{V_f} \right) \quad \text{and} \quad [S]_f = [S]_i \left(\frac{V_s}{V_f} \right)$$

Efekat matrice

- Efekat matrice je prisutan kada u uzorku ima različitih nečistoća
- Ako prisutne nečistoće reaguju sa analitom u smislu promene odgovora ili njihov produkt daje neki odgovor kalibracione krive dobijene korišćenjem čistog analita neće moći da daju dobar rezultat.





Efekat osnove: koncentracija analita je ista ali se površine pikova značajno razlikuju u zavisnosti od osnove

Metoda unutrašnjeg standarda

Unutrašnji standard je drugačija hemijska vrsta u odnosu na analit, dodaje se i uzorcima i standardima tako da je svuda njegova koncentracija ista.

Osnovna pretpostavka je da će neželjeni efekti podjednako uticati i na analit i na unutrašnji standard.

Dodaje se da se smanji uticaj nestabilnosti tj. fluktuacija pri merenju ili da bi se smanjile greške u toku pripreme uzorka.

Na analitičkoj krivoj se nanosi odnos signala analita i signala unutrašnjeg standarda.

Metoda unutrašnjeg standarda

Ova metoda se koristi kada je osetljivost instrumentalne metode promenjiva s vremenom, kada je moguć gubitak uzorka za vreme određivanja i kod nestabilnog rada instrumenta (brzina protoka u hromatografiji). Uglavnom kada se količina uzorka i signal instrumenta menjaju od merenja do merenja iz nekog razloga koje je teško ili nemoguće kontrolisati.

Često se upotrebljava u hromatografskim određivanjima, emisijskim spektrometrijama (spektrografiji, plamenoj spektrometriji), rendgenskoj difrakciji.

Signal unutrašnjeg standarda se meri istovremeno sa signalom analita. Priprema se poznata smeša unutrašnjeg standarda i analita za merenje relativnog signala detektora.

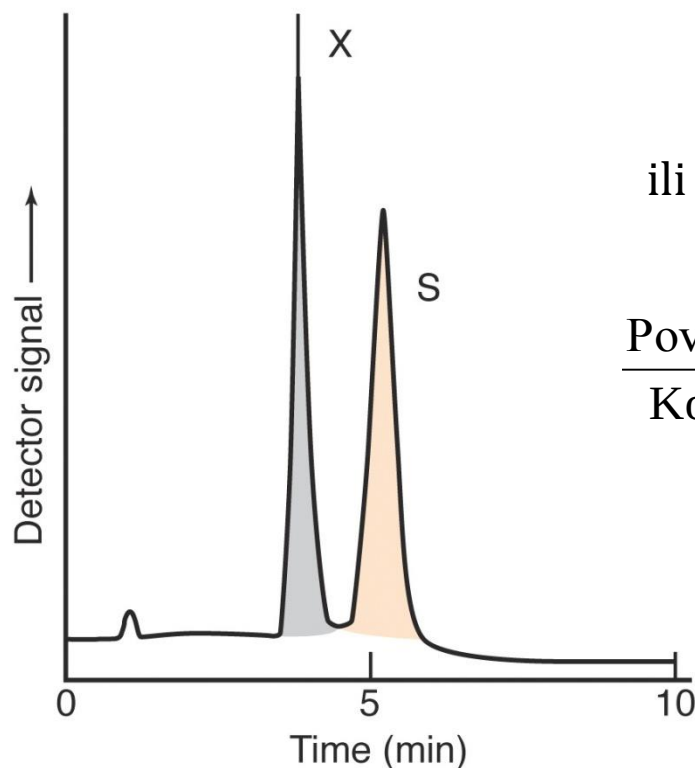
Površine ispod krive za komponentu A (analit) i B (unutrašnji standard) proporcionalne su koncentracijama. Detektor pak daje najčešće različit odziv za svaku komponentu.

Odnos površina ispod kriva (ili bilo kojeg signala pri merenju) za iste koncentracije analita i unutrašnjeg standarda naziva se **odnos /faktor odziva** (F)

$$F = \text{signal A} / \text{signal B}$$

ili preko koncentracije analita i unutrašnjeg standarda:

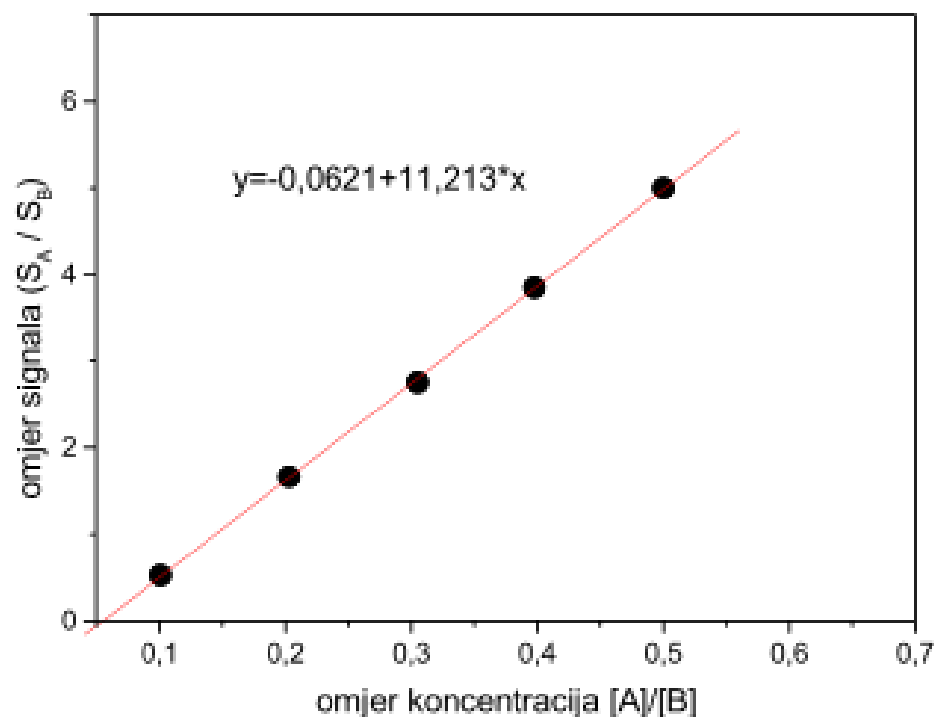
$$\frac{\text{Površina signala analita}}{\text{Koncentracija analita}} = F \left(\frac{\text{Površina signala standarda}}{\text{Koncentracija standarda}} \right)$$



Hromatogram uz dodatak unutrašnjeg standarda: S analit i X unutrašnji standard

Odnosa signala analita prema signalu unutrašnjeg standarda može se prikazati i grafički prema odnosu koncentracije analita i unutrašnjeg standarda kao kod kalibracijske krive.

Odnos odziva je u tom slučaju nagib pravca i daje osetljivost postupka.

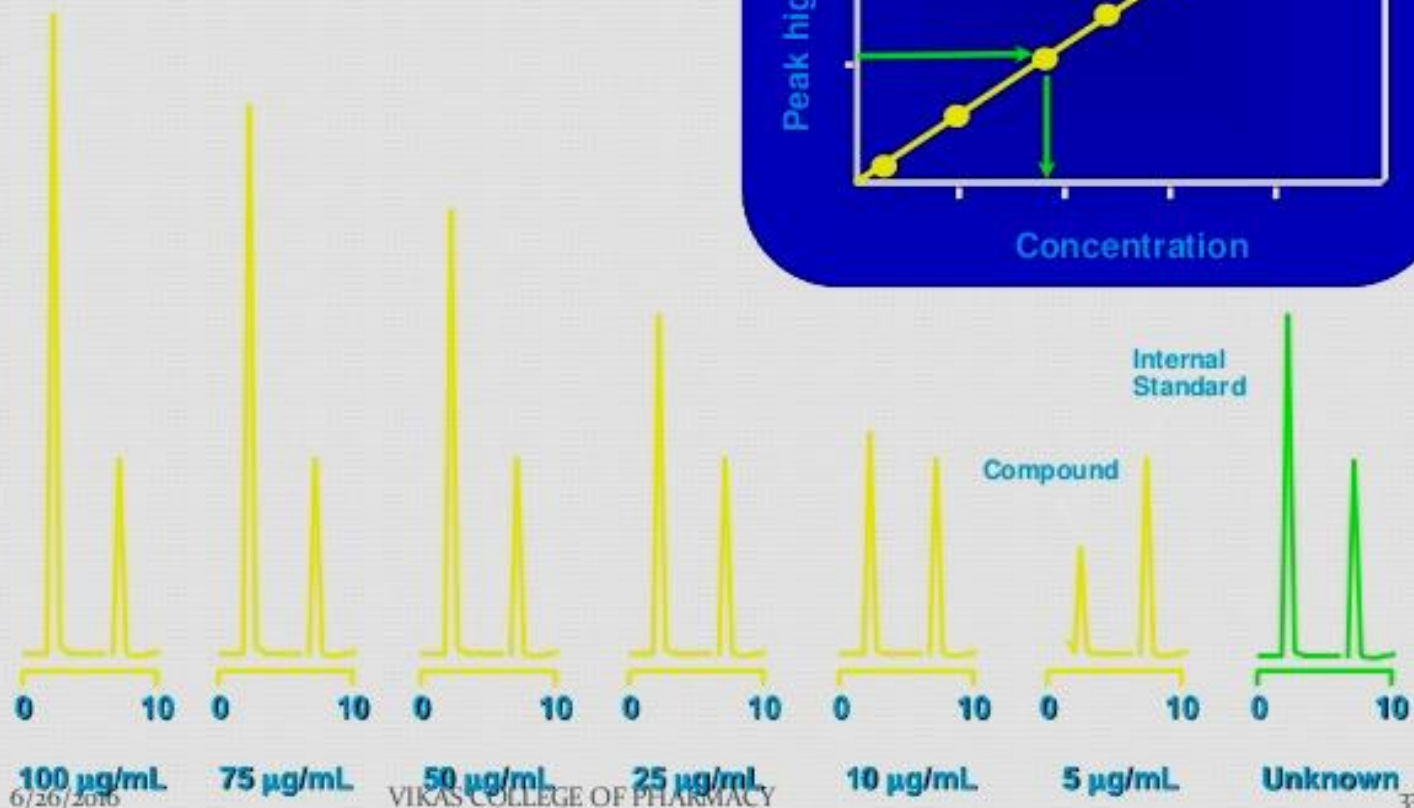
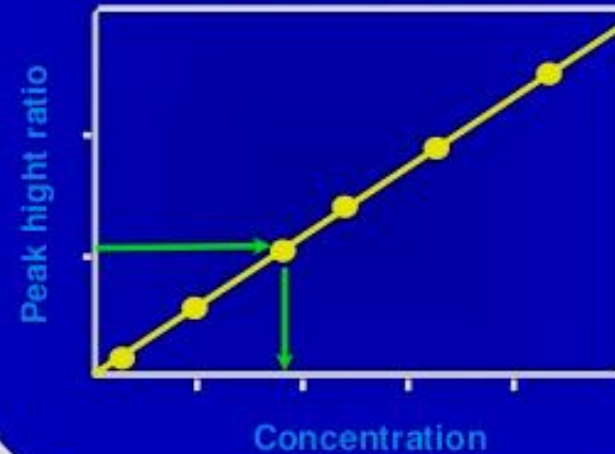


Sa istim unutrašnjim standardom moguće je u jednom hromatografskom određivanju odrediti koncentraciju svih separiranih komponenti uz prethodno određivanje odnosa odziva za svaku komponentu smese.

Quantitative Analysis

Internal Standard Method

Calibration curve



6/26/2016

VIKAS COLLEGE OF PHARMACY

Analitički parametri validacije

Validacija – eksperimentalni postupak-procedura utvrđivanja i provere karakterističnih analitičkih parametara na osnovu kojih se utvrđuje da je metoda pouzdana i primenjiva.

Analitički parametri validacije

- ✓ Specifičnost/selektivnost
 - ✓ Linearnost
 - ✓ Osetljivost
- ✓ Linearni analitički opseg
 - ✓ Tačnost
 - ✓ Preciznost
- ✓ Limit detekcije – dokazivanja (LOD)
- ✓ Limit kvantifikacije –određivanja (LOQ)
 - ✓ Robustnost
 - ✓ Prenosivost
 - ✓ Ekoefikasnost
 - ✓ Cena

Specifičnost analitičke metode

Specifičnost – postoji mogućnost određivanja samo jednog analita (analitički signal daje samo jedan analit) u analiziranom uzorku i pored prisustva drugih jedinjenja u uzorku.

Mali broj analitičkih metoda daje odgovor na samo jedan analit, ali je često dovoljno da metoda bude selektivna.

Selektivnost analitičke metode

Selektivnost – određivanje više sličnih jedinjenja u uzorku, metoda daje zasebne signale koji međusobno ne utiču na rezultat, bez interferencija od strane drugih komponenta te smeše.

Selektivnost opisuje koji deo signala potiče od analita a koji deo od interferenata:

$$S_u = S_a + S_i = k_a C_a + k_i C_i$$

koeficijent selektivnosti analita u odnosu na dati interferent

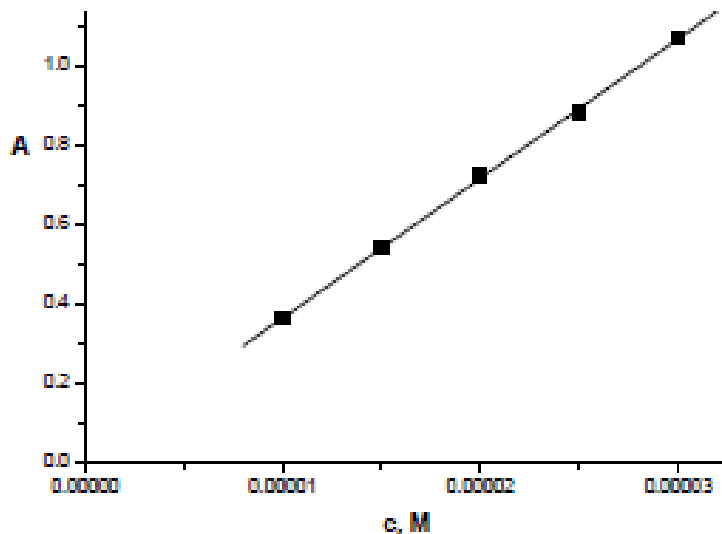
$K_{a,i} = k_i/k_a$, treba da bude što manji

Linearnost

Mogućnost da se metodom, u određenom opsegu koncentracije analita, dobije linearna zavisnost analitičkog signala od koncentracije analita, bilo direktno, ili nakon određenih matematičkih transformacija.

Postupak utvđivanja linearnosti metode je kalibracija (najmanje pet merenja).

Ako se dobija linearna zavisnost, neophodno je izvršiti njenu statističku evaluaciju/procenu: npr. metodom najmanjih kvadrata.



$$y = ax + b$$

a = nagib

b = odsečak

r = koeficijent korelacije
(r = 0,99969)

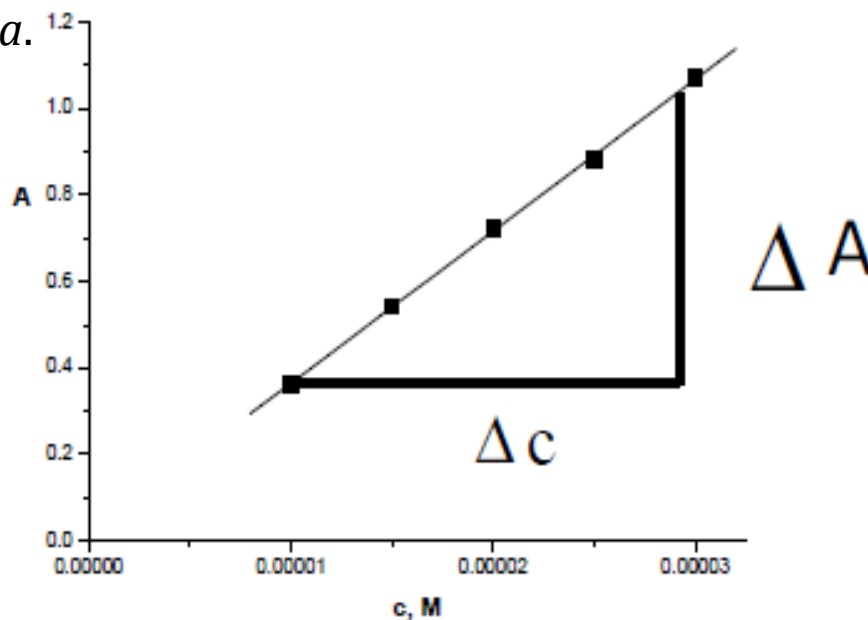
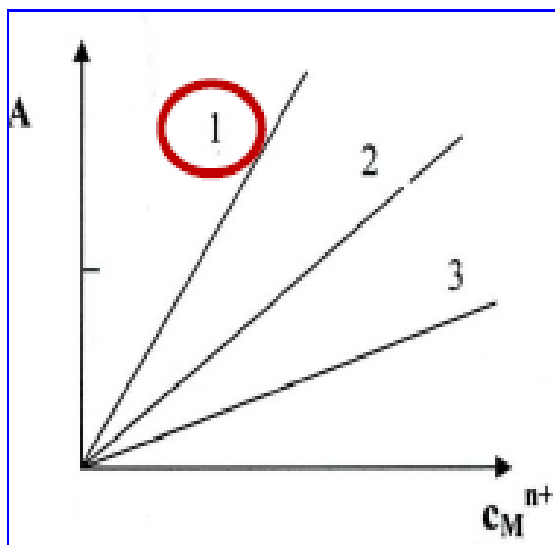
Osetljivost

Svojstvo (karakteristika) metode – određivanje malih količina analita.

Osetljivost predstavlja brzinu promene analitičkog signala sa koncentracijom analita.

Određuje se iz nagiba kalibracione krive – a .

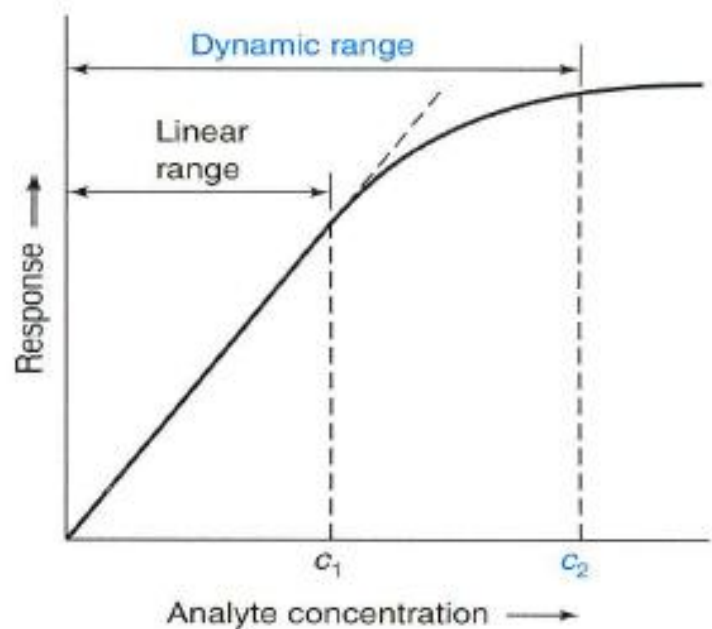
$$\text{nagib} = a = \frac{\Delta A}{\Delta c}$$



Za određivanje analita u tragovima primenjuje se metoda sa najvećom osetljivošću, najvećim nagibom - kriva 1

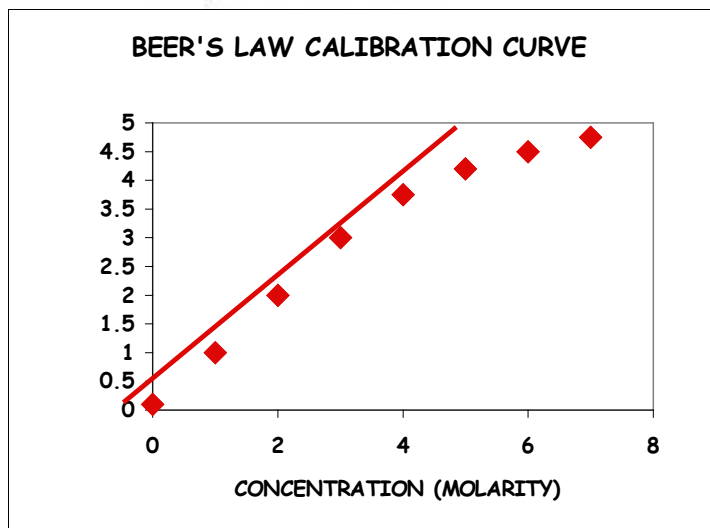


Linearni analitički opseg metode



Opseg koncentracija analita tj. interval između gornje i donje koncentracije merenog analita u uzorku (uključujući i te konc.) u kome se dobija prihvatljiva linearnost, tačnost, preciznost.

Dobija se iz studija linearnosti: jednačina prave definiše opseg unutar koga postoji linearna zavisnost



Tačna (prava) vrednost μ je srednja vrednost najboljih rezultata dobijenih odiskusnih eksperimentatora u više laboratorija, različitim metodama uz korišćenje standardnog uzorka SRM (Standard Reference Materials, sadrže **jedan ili više analita** tačno poznate koncentracije).

Primenom metode (određivanjem) dobija se vrednost x_i opterećena greškom. Veličina greške određuje TAČNOST dobijenog rezultata.

Tačnost

Slaganje izmenu eksperimentalno dobijenih rezultata za sadržaj analita određen predloženom metodom i stvarnog sadržaja analita u datom uzorku. To je mera pouzdanosti/sigurnosti analitičke metode.

Tačnost analitičke metode je stepen do koga određena vrednost analita u uzorku odgovara stvarnoj/tačnoj vrednosti.

Smatra se da je tačan onaj broj koji ne odstupa mnogo od prave vrednosti.

Definisana je:

-apsolutnom greškom A

- relativnom greškom R

Apsolutna greška:

$$A = x_i - x$$

**x_i - pojedinačna vrednost merenja
 x - prava vrednost**

kako se apsolutna vrednost ne može odrediti, apsolutna greška se izračunava iz srednje vrednosti i tada se naziva *prividna greška ili apsolutna greška pojedinačnog merenja*:

$$\Delta x = x_i - \langle x \rangle$$

Relativna greška:

$$R = \frac{x_i - \langle x \rangle}{\langle x \rangle}$$

$$R = \frac{x_i - \langle x \rangle}{\langle x \rangle} \cdot 100\%$$

Preciznost analitičke metode

Označava bliskost ili slaganje između serije ponovljenih merenja sprovedena pod istim uslovima.

Definisana je standardnom devijacijom S , varijansom ili parcijalnom disperzijom, relativnom standardnom devijacijom RSD, koeficijentom varijacije K , itd.

Standardna devijacija

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \langle x \rangle)^2}{n-1}}$$

$$\langle x \rangle = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

Varijansa (parcijalna disperzija)

$$S^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \langle x \rangle)^2}{n-1}$$

Koeficijent varijacije

$$K = \frac{S}{\langle x \rangle} \cdot 100\%$$

Relativna standardna devijacija

$$RSD = \frac{S}{x} \cdot 1000\%$$

Standardna devijacija - ili standardno odstupanje neograničenog broja merenja:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \langle x \rangle)^2}{n-1}}$$

$$\langle x \rangle = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

$$n \rightarrow \infty$$

$$\bar{x} = \mu$$

$$\bar{x} \neq \mu$$

U praksi se koristi standardna devijacija ograničenog broja merenja – s, izražena u istim jedinicama kao i merena veličina

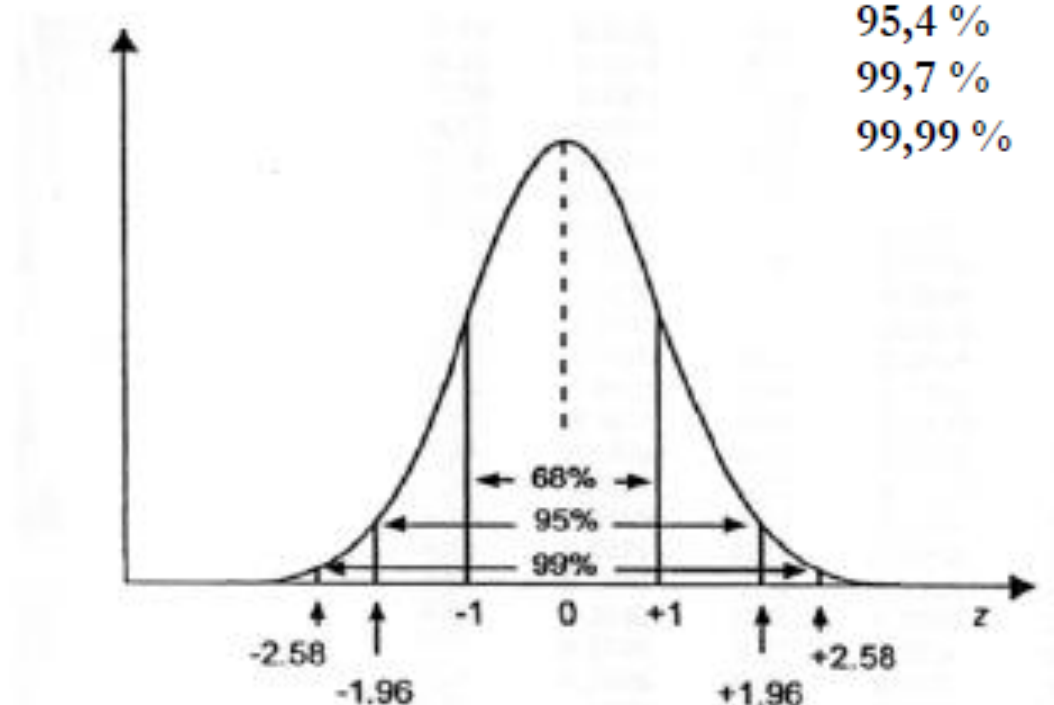
100% svih rezultata

68,2 % $\bar{x} \pm 1 \sigma$

95,4 % $\bar{x} \pm 2 \sigma$

99,7 % $\bar{x} \pm 3 \sigma$

99,99 % $\bar{x} \pm 4 \sigma$



Limit detekcije

LD, LOD, LoD (Limit of Detection)

Granica detekcije (енгл. *limit of detection, LOD*) – minimalna koncentracija analita koja daje signal različit od signala prazne probe za izabracionu detekcionu tehniku.

Najčešće korišćen termin za distribuciju podataka u instrumentalnim metodama.

Tri sigma metod za određivanje granice detekcije

$$LOD = \frac{3\sigma}{b}$$

σ – standardna devijacija y –koordinate sa prave najboljeg fitovanja

b – nagib iste prave (osetljivost)

Odnos signal/šum (S/N): Prihvatljiv 2:1 ili 3:1.

Limit kvantifikacije (određivanja)

LQ, LOQ, LoQ (Limit of Quantification)

Najniža koncentracija analita koja se može meriti (određivati) u uzorku datom analitičkom metodom pod optimalnim uslovima, sa prihvatljivom tačnošću i preciznošću.

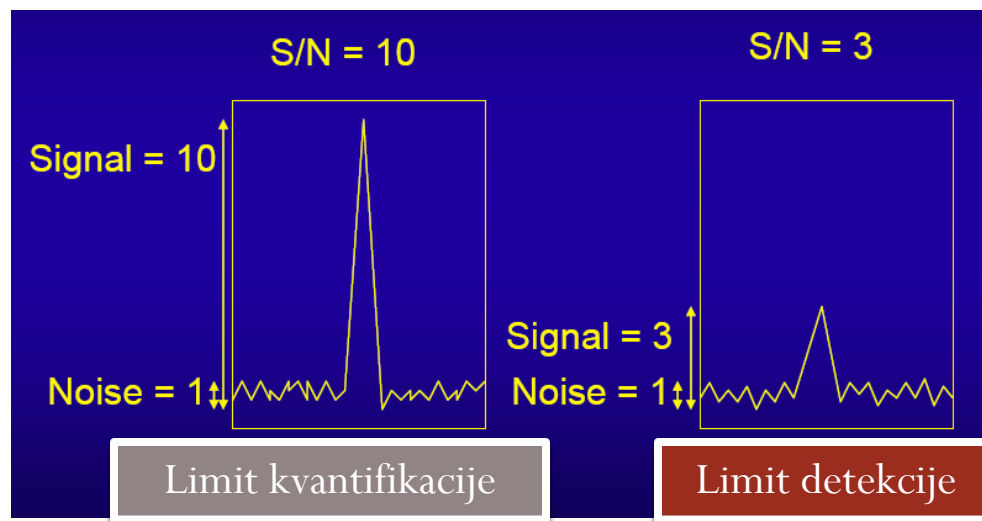
Određuje se isto kao i LD – ali se nivoi značajnosti razlikuju.

$$LOD = \frac{10\sigma}{b}$$

σ – standardna devijacija y –koordinate sa prave najboljeg fitovanja

b – nagib iste prave (osetljivost)

Odnos signal/šum S/N: prihvatljivo 10:1.



Granica linearnog odgovora

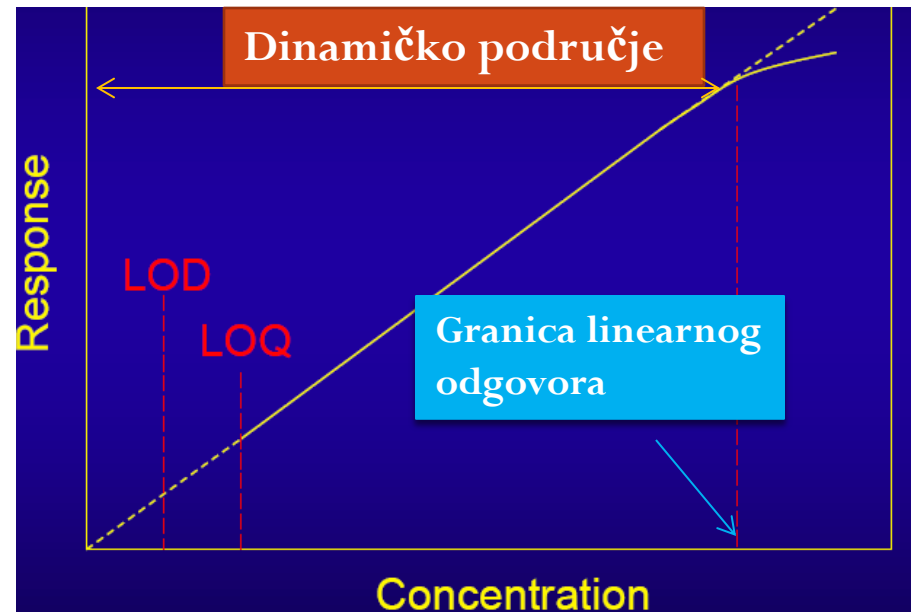
Limit of Linear Response (LOL)

Zasićenje detektora instrumenta tako da veće koncentracije analita ne daju linearni odgovor.

Dinamičko područje

Dynamic Range

Opseg koncentracija u kojima kalibraciona kriva pokazuje linearnost.



Robustnost

Pokazuje koliko je metoda osetljiva na nekontrolisane promene parametara kao što su: količina uzorka, temperatura, pH rastvora, koncentracija reagenasa, vreme reakcije, itd. ili instrumentalne parametre koji se ciljano menjaju, sa namerom da se metoda testira koliko je ne/osetljiva na ove promene (u realnim uslovima)

Robustnost je osobina metode da je slabo osetljiva na hemijske interferencije pa se zato može primeniti na veći broj tipova osnove uzorka tj. može se primeniti za određivanje datog analita u većem broju tipova uzorka

Prenosivost:

mogućnost prenošenja instrumenta

Ekoefikasnost (*greenness*):

-da li se primenom metode stvara otpad

- potrošnja energije

Cena:

- poželjna je što manja cena i što bolje performanse metode odn. instrumenta