

## Θεωρία δειγματοληψίας

Η χρησιμότητα ενός αναλυτικού αποτελέσματος ποτέ δεν μπορεί να είναι καλύτερη από την ποιότητα του χρησιμοποιηθέντος δείγματος.

Ο ασθενέστερος κρίκος σε μια διαδικασία αξιολόγησης ποιότητας συνήθως εντοπίζεται στη δειγματοληψία.

### Επιθυμητές ιδιότητες δείγματος:

- Να αντιπροσωπεύει πιστά τις ιδιότητες της υπό έλεγχο ύλης: σύνθεση, χρώμα, κρυσταλλικότητα κ.λπ.
- Να έχει κατάλληλο μέγεθος για χειρισμό του από τη συσκευή δειγματοληψίας.
- Να έχει κατάλληλο μέγεθος για τον χειρισμό από τον αναλυτή (π.χ. 0,001-1 g).
- Να διατηρεί τις ιδιότητες της ελεγχόμενης ύλης κατά τη δειγματοληψία ή αυτές να μεταβάλλονται με τον ίδιο ρυθμό όπως και σε εκείνη.
- Να είναι κατάλληλο για να δώσει την απαραίτητη πληροφορία, π.χ. τη μέση σύνθεση ή τη σύνθεση ως συνάρτηση του χώρου και του χρόνου.
- Να διατηρεί την ταυτότητά του καθ' όλη τη διαδικασία μεταφοράς και ανάλυσης.

## Αντικείμενα και δείγματα

Ως **αντικείμενο** (object) ορίζεται η "οντότητα" (entity) της οποίας ζητείται η περιγραφή.

Τυπικά αντικείμενα:

- Ένα φορτίο ορυκτού
- Ένας κόκκος λιπάσματος / ένας σάκκος λιπάσματος / η εβδομαδιαία παραγωγή λιπάσματος
- Ένας ποταμός κατά τη διάρκεια του έτους / το νερό του ποταμού σε ένα σημείο κατά τη διάρκεια της ημέρας / το νερό του ποταμού σε ένα σημείο μια δεδομένη χρονική στιγμή.

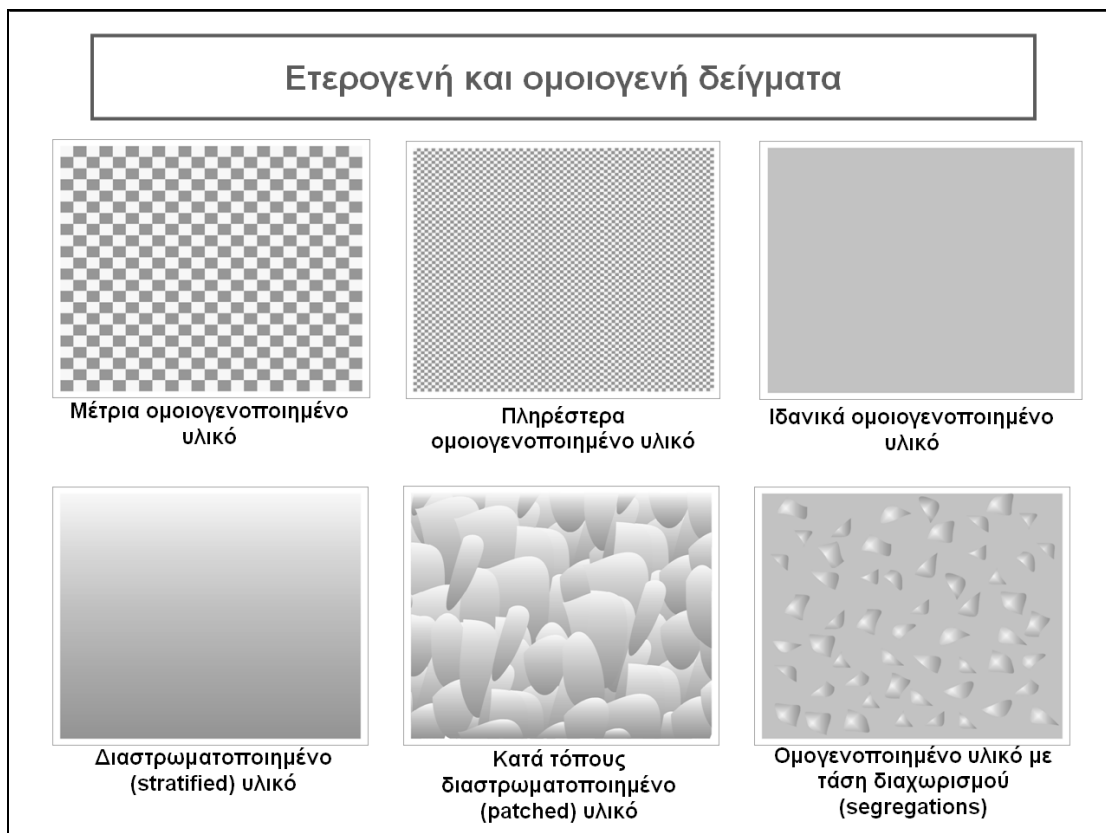
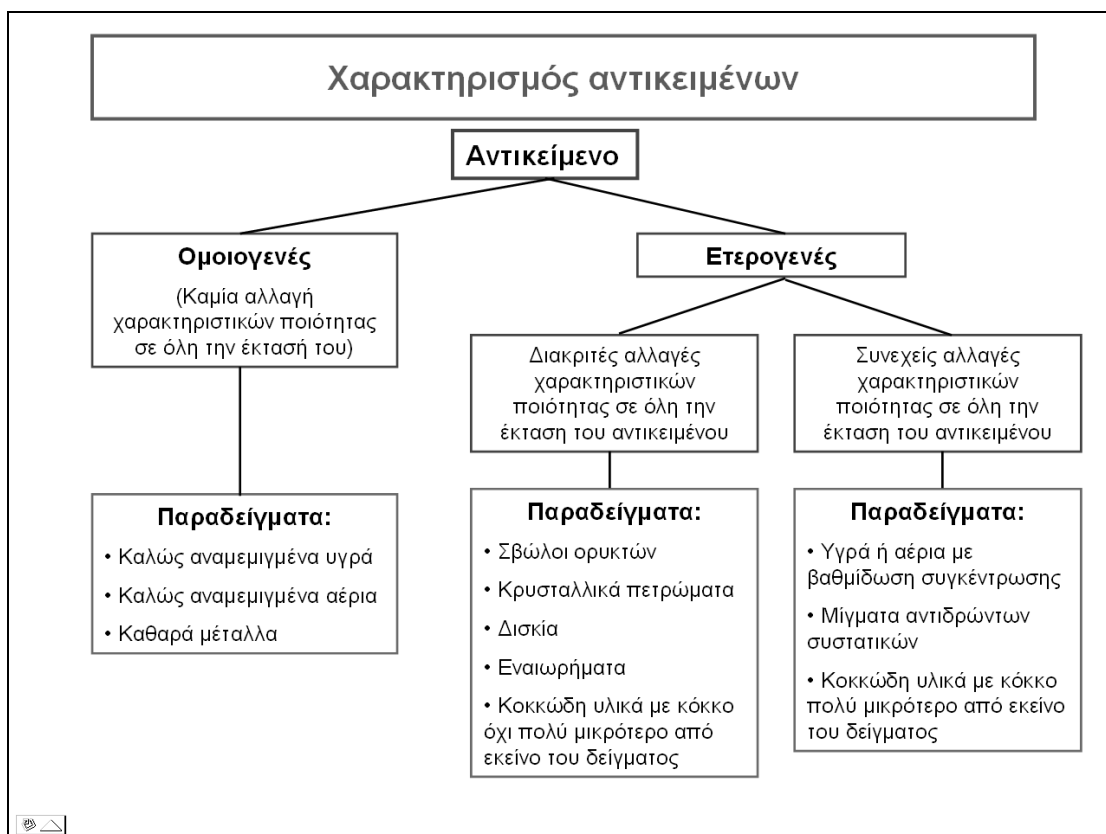
Καταστατικές ιδιότητες του αντικειμένου που δεν είναι δυνατόν να συντηρηθούν (θερμοκρασία, πίεση) μετρούνται επί τόπου

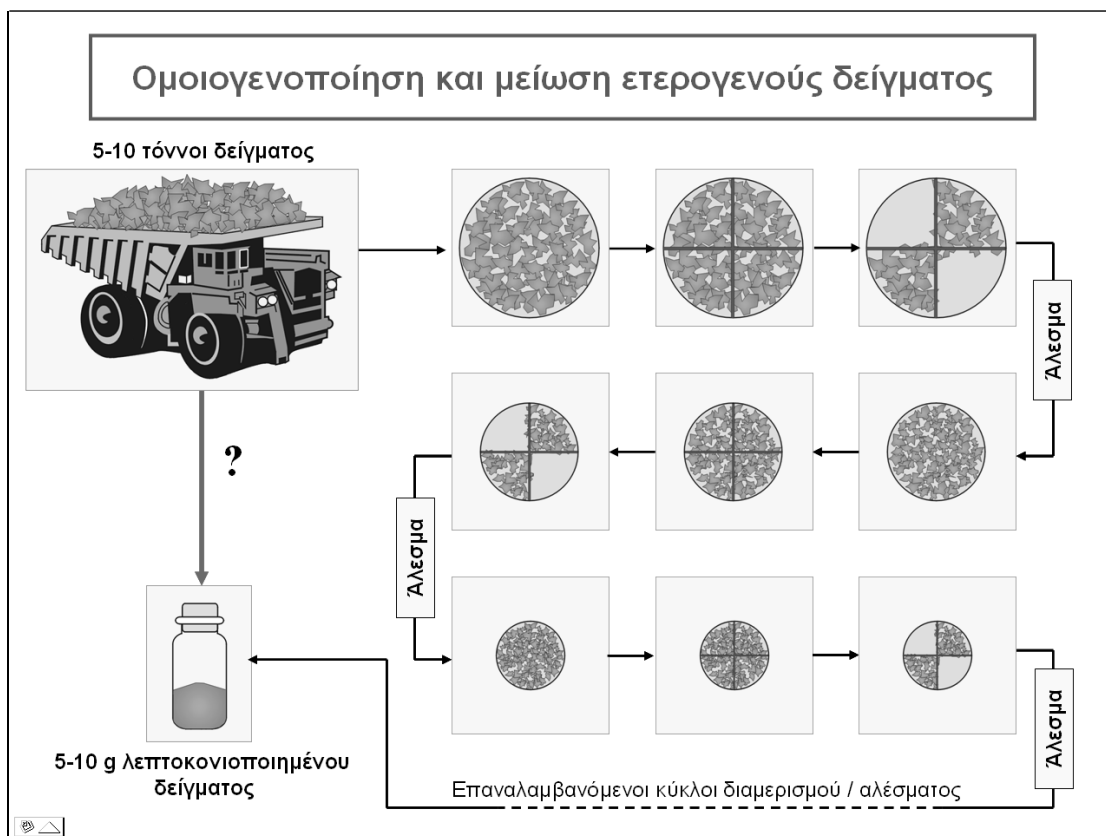
Ως **δείγμα** (sample) ορίζεται το αντιπροσωπευτικό τμήμα ενός αντικειμένου

Επειδή η αντιπροσωπευτικότητα μπορεί να αφορά συγκεκριμένα χαρακτηριστικά, πλέον λειτουργικός ορισμός είναι ο ακόλουθος:

Ως **δείγμα** (sample) ορίζεται το τμήμα του αντικειμένου που επιλέγεται κατά τρόπο που να διαθέτει τις εξεταζόμενες ιδιότητες του αντικειμένου.







### Διακύμανση υλικού

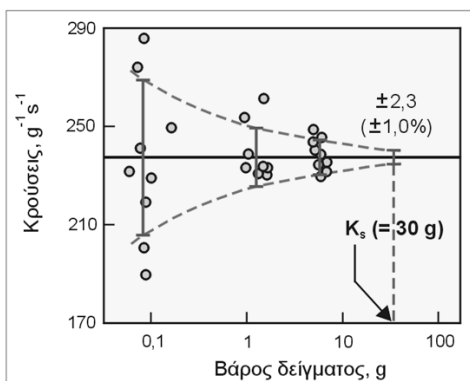
Υποθέτουμε ότι έχουμε την τέλεια αναλυτική μέθοδο προσδιορισμού μιας ουσίας A σε ένα δείγμα (συστηματικό λάθος = 0, διακύμανση αποτελέσματος = 0).

Πραγματοποιούμε άπειρο πλήθος αναλύσεων στο ίδιο δείγμα χρησιμοποιώντας πάντοτε την ίδια ποσότητα δείγματος ( $W_1$ ).

Τότε κάθε παρατηρούμενη διακύμανση (διασπορά τιμών) οφείλεται στην έλλειψη ομοιογένειας του δείγματος.

Εάν επαναλάβουμε τις μετρήσεις χρησιμοποιώντας όμως μεγαλύτερη ποσότητα δείγματος ( $W_2$ ) θα παρατηρήσουμε μικρότερη διασπορά στις τιμές.

### Σταθερά δειγματοληψίας Ingamells



Εξίσωση Ingamells:

$$WR^2 = K_s$$

W : ποσότητα δείγματος (g)

R : % σχετ. τυπική απόκλιση (%RSD)

$K_s$  : σταθερά δειγματοληψίας (σταθερά Ingamells)

Μετρήσεις περιεκτικότητας δειγμάτων ήπατος σε  $^{24}\text{Na}$  μέσω μέτρησης της ραδιενέργειάς του.

Η σταθερά δειγματοληψίας αντιστοιχεί στην ποσότητα δείγματος που παρέχει σχετική δειγματική τυπική απόκλιση 1%.

C.O. Ingamells, P. Switzer, Talanta, 20, 547 (1973).

C.O. Ingamells, Talanta, 21, 141 (1974).

### Ελάχιστος αριθμός δειγμάτων

Για δείγματα κανονικής κατανομής: Εάν το δείγμα δεν είναι ομογενές ή το δείγμα δεν είναι "αντιπροσωπευτικό", πρέπει το πλήρες αναλυτικό πρωτόκολλο να εφαρμοσθεί σε πολλά επιμέρους δείγματα.

Εάν  $s_s^2$  η δειγματική διακύμανση και η μέση περιεκτικότητα είναι  $\bar{x}$  και ζητούμε σχετική τυπική απόκλιση R, τότε ο αριθμός των δειγμάτων  $n_s$  δίνεται από την εξίσωση:

$$n_s = \frac{t_{\text{theor}}^2 S_s^2}{R^2 \bar{x}^2}$$

$t_{\text{theor}}$  είναι η κρίσιμη τιμή t για  $\nu = n_s - 1$  βαθμούς ελευθερίας. Το παράδοξο της εκ των προτέρων γνώσης της  $n_s$  για χρήση της κατάλληλης τιμής  $t_{\text{theor}}$  παρακάμπτεται με εφαρμογή επαναληπτικής μεθόδου ξεκινώντας με  $n_s = \infty$ .

**Παράδειγμα:** Υλικό περιέχει ουσία X σε αναλογία περίπου 10 mg/g. Η δειγματική τυπική απόκλιση έχει εκτιμηθεί στο 0,1 mg/g για δείγμα 1 g. Πόσα δείγματα 1 g πρέπει να αναλυθούν, ώστε να επιτευχθεί  $R = 0,01$  (δηλ.  $\pm 1\%$ ), σε στάθμη εμπιστοσύνης 95%;

**Λύση:** Για  $\nu = \infty$  είναι:  $n_s = (1,96^2 \times 0,1^2) / (0,01^2 \times 10^2) = 3,84 \approx 4$   
 Για  $\nu = 4 - 1$  είναι:  $n_s = (3,182^2 \times 0,1^2) / (0,01^2 \times 10^2) = 10,12 \approx 10$   
 Για  $\nu = 10 - 1$  είναι:  $n_s = (2,262^2 \times 0,1^2) / (0,01^2 \times 10^2) = 5,12 \approx 5$   
 Για  $\nu = 5 - 1$  είναι:  $n_s = (2,776^2 \times 0,1^2) / (0,01^2 \times 10^2) = 7,71 \approx 8$   
 Για  $\nu = 8 - 1$  είναι:  $n_s = (2,365^2 \times 0,1^2) / (0,01^2 \times 10^2) = 5,59 \approx 6$   
 Για  $\nu = 6 - 1$  είναι:  $n_s = (2,571^2 \times 0,1^2) / (0,01^2 \times 10^2) = 6,61 \approx 7$   
 Για  $\nu = 7 - 1$  είναι:  $n_s = (2,447^2 \times 0,1^2) / (0,01^2 \times 10^2) = 5,98 \approx 6$

Εδώ επανεμφανίζεται ο αριθμός 6 και τερματίζεται η επαναληπτική διαδικασία με αποτέλεσμα  $n_s = 6$

**Έλεγχος:** Για  $n_s = 6$ , τα όρια εμπιστοσύνης είναι:  $\pm t_{\text{theor}} s / \sqrt{n} = \pm 2,571 \times 0,1 / \sqrt{6} = \pm 0,105$  ή  $\pm(0,105 \times 100 / 10) = \pm 1,05\%$ . (Για  $n_s = 7$ , θα υπολογίζαμε:  $\pm 0,89\%$ )

### Σταθερά δειγματοληψίας Visman

Εάν ληφθούν υπόψη τάσεις διαχωρισμού στο δείγμα, τότε η δειγματική διακύμανση παρέχεται από την εξίσωση Visman:

$$s_s^2 = \frac{A}{wn_s} + \frac{B}{n_s}$$

Όπου:

**A:** η σταθερά ομοιογένειας (homogeneity constant), που συνδέεται με τη σταθερά Ingamells με τη σχέση:

$$A = 10^{-4} \bar{x}^2 K_s$$

**B:** η σταθερά διαχωρισμού (segregation constant). Εάν B = 0 δεν υπάρχουν διαχωριστικές τάσεις και η εξίσωση Visman αποκτά τη μορφή της εξίσωσης Ingamells.

Ο υπολογισμός των A και B γίνεται με τη διενέργεια δύο σειρών μετρήσεων, μία με μικρά δείγματα (μικρές τιμές w) και μία με μεγάλα δείγματα (μεγάλες τιμές w). Υπολογίζονται οι δειγματικές διακυμάνσεις, οπότε από το προκύπτον σύστημα 2 εξισώσεων - 2 αγνώστων υπολογίζονται οι τιμές των A και B.



### Τυχαία δειγματοληψία: Ολική διακύμανση

$$\text{Ολική διακύμανση: } \sigma_o^2 = \sigma_s^2 + \sigma_a^2$$

Δειγματική διακύμανση

Αναλυτική διακύμανση

Αν μετρηθούν  $n_s$  δείγματα (περίπου ίδιου μεγέθους) και το καθένα μετρηθεί  $n_a$  φορές, τότε:

$$\sigma_o^2 = \frac{\sigma_s^2}{n_s} + \frac{\sigma_a^2}{n_s n_a}$$

$$\text{Θέτοντας: } \sigma_a^2 = a \sigma_s^2$$

$$\sigma_o^2 = \frac{\sigma_s^2}{n_s} + \frac{a}{n_a} \left( \frac{\sigma_s^2}{n_s} \right)$$

Συμπεράσματα από την τελευταία εξίσωση:

1. Για δεδομένες τιμές  $a$ ,  $n_s$ ,  $n_a$  η ολική διακύμανση είναι ανάλογη της δειγματικής διακύμανσης  $\sigma_s^2$ .
2. Για δεδομένο αριθμό αναλύσεων  $N = n_s \times n_a$  είναι προτιμότερο να είναι μεγάλος ο αριθμός δειγμάτων  $n_s$  παρά ο αριθμός επαναληπτικών αναλύσεων/δείγμα  $n_a$ .
3. Όταν το  $a$  είναι πολύ μικρό (μεγάλη δειγματική διακύμανση, μικρή αναλυτική διακύμανση), μόνο ο πρώτος όρος έχει σημασία, οπότε προκύπτει ο εξής πρακτικός κανόνας:

Αν η διακύμανση του αναλυτικού προσδιορισμού είναι ίση ή μικρότερη από το 1/3 της δειγματικής διακύμανσης, τότε κάθε προσπάθεια μείωσης του αναλυτικού σφάλματος με χρήση ακριβότερων ή περισσότερο εξελιγμένων τεχνικών δεν έχει νόημα.

Στις περιπτώσεις αυτές είναι προτιμότερη η αναζήτηση μιας φθηνής και ταχείας μεθόδου περιορισμένης ακρίβειας για την πραγματοποίηση όσο το δυνατόν περισσότερων μετρήσεων με διαφορετικά δείγματα.

### Μοντελοποίηση ανομοιογενών μιγμάτων: Μοντέλα Benedetti-Pichler

**Απλό μοντέλο**

Υλικό προς δειγματοληψία  
 $W_A\%, W_B\%, \rho$   
 $W_A\% + W_B\% = 100$

Ισομεγέθη κυβικά σωματίδια A, B  
 $X\%, \rho$   
Προσδιοριζόμενη ουσία X

0%,  $\rho$

R% : σχετική % δειγματική τυπική απόκλιση.  
w : βάρος δείγματος  
 $\rho$  : πυκνότητες συστατικών  
x% : περιεκτικότητα % σε A κάθε συστατικού του μίγματος.

$$R\% = \sqrt{\frac{\rho u^3}{w} W_A (100 - W_A)}$$

**Πληρέστερο μοντέλο**

Υλικό προς δειγματοληψία  
 $W_A\%, W_B\%, \rho$   
 $W_A\% + W_B\% = 100$

Ισομεγέθη κυβικά σωματίδια A, B  
 $X_A\%, \rho_A$   
Προσδιοριζόμενη ουσία X

$X_B\%, \rho_B$

$$R\% = \sqrt{\left(\frac{\rho_A \rho_B}{\rho}\right) \frac{u^3}{w} \left(\frac{X_A - X_B}{100}\right)^2 W_A (100 - W_A)}$$

### Κατανομή Poisson

- N (= 500) σημεία κατανέμονται τυχαία στην παραπάνω επιφάνεια
- Ο επιφάνεια χωρίζεται σε 100 τμήματα ίσης επιφάνειας
- Ο αριθμός των σημείων ανά τμήμα δείχνεται στον παραπλεύρωσ πίνακα
- Το ιστόγραμμα συχνότητας κάθε αποτελέσματος δείχνεται δίπλα

3	4	8	5	4	5	3	6	6	4
2	5	6	2	5	3	3	9	8	1
3	4	2	4	5	5	4	7	5	7
8	7	11	4	2	5	8	3	4	3
6	6	4	12	5	10	5	5	7	4
3	8	2	2	5	6	1	7	4	2
6	9	4	4	3	9	5	3	5	6
6	3	3	5	5	5	4	7	5	3
6	7	5	5	4	11	8	3	3	6
4	8	8	2	4	6	3	4	4	2

- Το παραπάνω διάγραμμα αποδίδει μια τυπική κατανομή Poisson

## Κατανομή Poisson: ορισμοί - ιδιότητες

Η κατανομή Poisson αποδίδει την πιθανότητα εμφάνισης δεδομένου αριθμού διακριτών (discrete) γεγονότων στον χώρο ή στον χρόνο, όταν είναι εκ των προτέρων γνωστή η αναμενόμενη μέση τιμή (expected mean).

Ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της κατανομής Poisson:

1. Οι μετρήσεις των γεγονότων είναι πάντοτε ακέραιοι αριθμοί και δεν εμπεριέχουν σφάλμα.
2. Η αναμενόμενη μέση τιμή  $m$  μπορεί να μην είναι ακέραιος αριθμός.
3. Η πιθανότητα  $P(k)$  εμφάνισης  $k$  (: ακέραιος αριθμός) γεγονότων σε μία μέτρηση παρέχεται από τη σχέση:

$$P(k) = \frac{m^k e^{-m}}{k!}$$

4. Η τυπική απόκλιση των μετρήσεων είναι ίση προς  $\sqrt{m}$ .
5. Όσο αυξάνει η αναμενόμενη μέση τιμή  $m$ , τόσο η κατανομή Poisson πλησιάζει την κανονική κατανομή (κατανομή Gauss).

## Κατανομή Poisson: Παράδειγμα

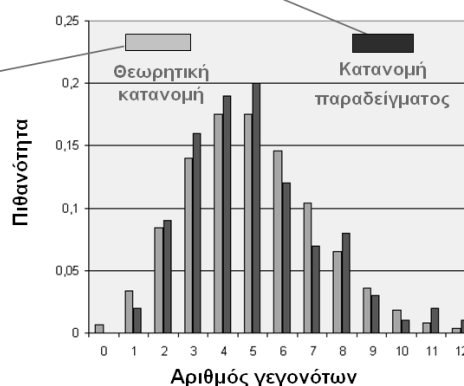
Σύνολο γεγονότων  $N = 500$ , κατανέμονται σε 100 ίσες "μερίδες", οπότε η αναμενόμενη μέση τιμή θα είναι:  $m = 500 / 100 = 5,00$ . Επομένως θα έχουμε:

$P(0) = 5,0^0 e^{-5,0} / 0! = 0,007$
$P(1) = 5,0^1 e^{-5,0} / 1! = 0,034$
$P(2) = 5,0^2 e^{-5,0} / 2! = 0,084$
$P(3) = 5,0^3 e^{-5,0} / 3! = 0,140$
$P(4) = 5,0^4 e^{-5,0} / 4! = 0,175$
$P(5) = 5,0^5 e^{-5,0} / 5! = 0,175$
$P(6) = 5,0^6 e^{-5,0} / 6! = 0,146$
$P(7) = 5,0^7 e^{-5,0} / 7! = 0,104$
$P(8) = 5,0^8 e^{-5,0} / 8! = 0,065$
$P(9) = 5,0^9 e^{-5,0} / 9! = 0,036$
$P(10) = 5,0^{10} e^{-5,0} / 10! = 0,018$
$P(11) = 5,0^{11} e^{-5,0} / 11! = 0,008$
$P(12) = 5,0^{12} e^{-5,0} / 12! = 0,003$

**Θεωρητικά:**  
 $m = 500 / 100 = 5,00$   
 $\sigma = \sqrt{5,00} = 2,24$

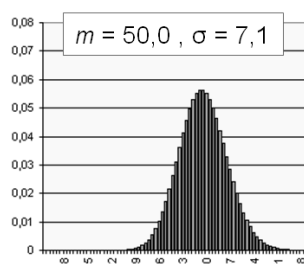
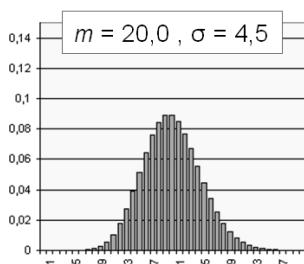
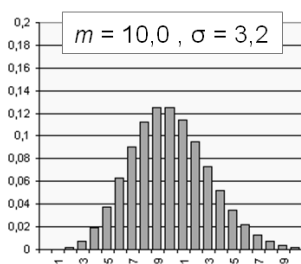
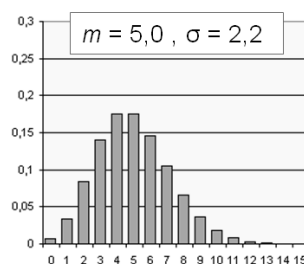
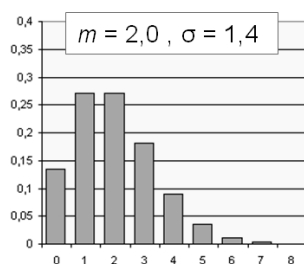
**$m = 5,00$**   
 **$\sigma = 2,25$**

3	4	8	5	4	5	3	6	6	4
2	5	6	2	5	3	3	9	8	1
3	4	2	4	5	5	4	7	5	7
8	7	11	4	2	5	8	3	4	3
6	6	4	12	5	10	5	5	7	4
3	8	2	2	5	6	1	7	4	2
6	9	4	4	3	9	5	3	5	6
6	3	3	5	5	5	4	7	5	3
6	7	5	5	4	11	8	3	3	6
4	8	8	2	4	6	3	4	4	2



## Κατανομή Poisson: πότε γίνεται Gauss

Όσο αυξάνει η αναμενόμενη μέση τιμή ( $m$ ), τόσο η κατανομή Poisson τείνει προς την κανονική (Gauss) κατανομή.



## Προθέματα μονάδων

Δεκαδικά πολλαπλασιαστικά και υποπολλαπλασιαστικά προθέματα (prefixes) που χρησιμοποιούνται με τις μονάδες SI

Υποπολλαπλάσιο	Πρόθεμα	Σύμβολο	Πολλαπλάσιο	Πρόθεμα	Σύμβολο
$10^{-1}$	deci	d*	$10^1$	deca*	da
$10^{-2}$	centi	c*	$10^2$	hecto*	h
$10^{-3}$	milli	m	$10^3$	kilo	k
$10^{-6}$	micro	$\mu$	$10^6$	mega	M
$10^{-9}$	nano	n	$10^9$	giga	G
$10^{-12}$	pico	p	$10^{12}$	tera	T
$10^{-15}$	femto	f	$10^{15}$	peta	P
$10^{-18}$	atto	a	$10^{18}$	exa	E
$10^{-21}$	zepto	z	$10^{21}$	zetta	Z
$10^{-24}$	yocto	y	$10^{24}$	yotta	Y

\* γενικά δεν συνιστάται η χρήση αυτών των πολλαπλασίων και υποπολλαπλασίων

Η ελάχιστη ποσότητα ύλης (από αναλυτική άποψη) είναι 1 μόριο, το οποίο αντιστοιχεί προς:  $1 \text{ μόριο} / (N_A \text{ mol}^{-1}) = 1 / (6,022 \times 10^{23}) \text{ mol} = 1,66 \times 10^{-24} \text{ mol} = \mathbf{1,66 \text{ ymol}}$ .

Στις συγκεντρώσεις δεν νοείται ελάχιστη δυνατή τιμή.





### Δειγματική διακύμανση 'υπεραραιών' διαλυμάτων

**Παράδειγμα:** Ένα υπερραιό διάλυμα περιέχει 3200 μόρια ουσίας A / L.

α) Ποια η συγκέντρωσή της σε mol/L:

β) Ποια η πιθανότητα 1.00 mL διαλύματος να περιέχει 0.1, 2,...10 μόρια της ουσίας A:

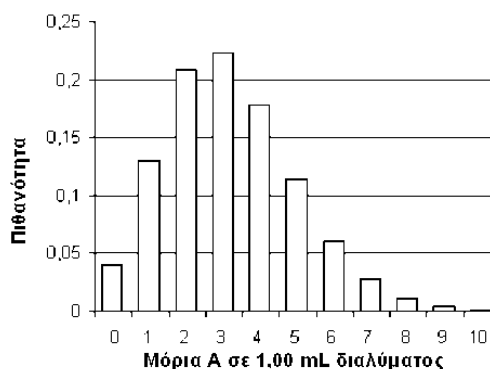
**Λύση:**

α) Η συγκέντρωση της ουσίας A είναι:

$$(3200 \text{ μόρια/L}) / (N_A \text{ μόρια / mol}) = (3200 \text{ μόρια/L}) / (6.022 \times 10^{23} \text{ μόρια / mol}) = 5.31 \text{ zmol/L (ή zM)}.$$

β) Η αναμενόμενη μέση τιμή μορίων A / mL είναι  $m = 3200 / 100 = 3.20$ , οπότε:

$$\begin{aligned} P(0) &= 3.20^0 e^{-3.20} / 0! = 0.0408 \text{ ή } 4.08\% \\ P(1) &= 3.20^1 e^{-3.20} / 1! = 0.1304 \text{ ή } 13.04\% \\ P(2) &= 3.20^2 e^{-3.20} / 2! = 0.2087 \text{ ή } 20.87\% \\ P(3) &= 3.20^3 e^{-3.20} / 3! = 0.2226 \text{ ή } 22.26\% \\ P(4) &= 3.20^4 e^{-3.20} / 4! = 0.1781 \text{ ή } 17.81\% \\ P(5) &= 3.20^5 e^{-3.20} / 5! = 0.1140 \text{ ή } 11.40\% \\ P(6) &= 3.20^6 e^{-3.20} / 6! = 0.0608 \text{ ή } 6.08\% \\ P(7) &= 3.20^7 e^{-3.20} / 7! = 0.0278 \text{ ή } 2.78\% \\ P(8) &= 3.20^8 e^{-3.20} / 8! = 0.0111 \text{ ή } 1.11\% \\ P(9) &= 3.20^9 e^{-3.20} / 9! = 0.0040 \text{ ή } 0.40\% \\ P(10) &= 3.20^{10} e^{-3.20} / 10! = 0.0013 \text{ ή } 0.13\% \end{aligned}$$



### Δειγματική διακύμανση 'υπεραραιών' διαλυμάτων\*

Ποια είναι η σχετική (%) δειγματική τυπική απόκλιση (RSD%) ενός διαλύματος ουσίας X συγκέντρωσης  $C_X$  (mol/L) και όγκου  $V_s$  (L);

**Λύση:**

Η αναμενόμενη μέση τιμή ( $m$ ) του αριθμού των μορίων της ουσίας X στο παραπάνω δείγμα είναι:

$$m = (C_X, \text{ mol/L}) \times (V_s, \text{ L}) \times (N_A, \text{ μόρια/mol}) \quad (N_A : \text{αριθμός Avogadro} = 6,022 \times 10^{23})$$

Η δειγματική τυπική απόκλιση είναι:  $\sigma_s = \sqrt{m}$

Οπότε:  $\text{RSD}\% = (\sigma_s / m) \times 100 = (\sqrt{m} / m) \times 100 = 100 / \sqrt{m}$  ή

$$\text{RSD}\% = 100 / \sqrt{V_s C_X N_A}$$

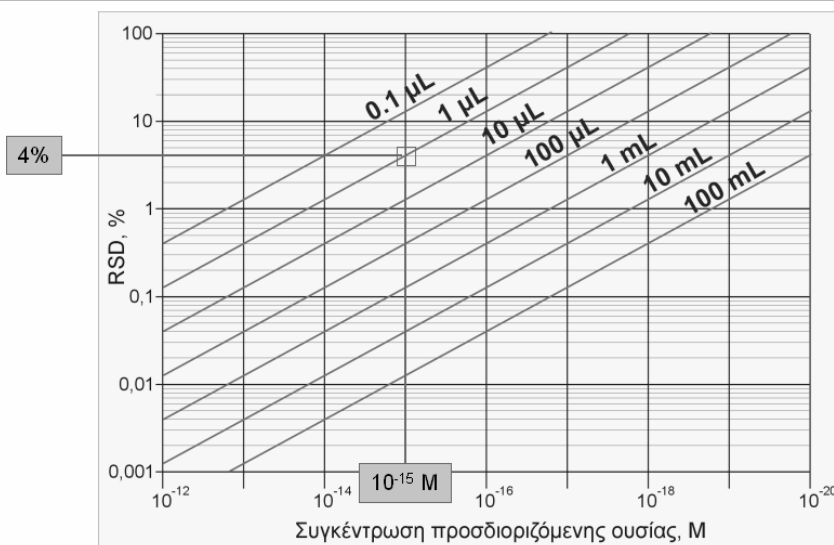
**Παράδειγμα:** Ποια η σχετική δειγματική τυπική απόκλιση 1,0 μL διαλύματος 1,0 fM;

Λύση:  $\text{RSD}\% = 100 \times [(1,00 \times 10^{-6} \text{ L}) \times (1,00 \times 10^{-15} \text{ mol/L}) \times (6,022 \times 10^{23} \text{ mol}^{-1})]^{-1/2} = 4,07\%$

**Παρατήρηση:** Ποσότητα ύλης που περιέχει 10.000 μόρια (= 16,6 zmol) παρέχει σχετική δειγματική τυπική απόκλιση 1% (εφόσον:  $(\sqrt{10000} / 10000) \times 100 = 1$ ).

\* C. E. EFSTATHIOU: "On the Sampling Variance of Ultradilute Solutions", Talanta, 52, 711-715 (2000).

### Δειγματική διακύμανση 'υπεραραιών' διαλυμάτων



**Παράδειγμα:** Δείγμα διαλύματος ουσίας A όγκου 1  $\mu$ L συγκέντρωσης 1 fM ( $=10^{-15}$ M), έχει ενδογενή δειγματική διακύμανση αντίστοιχη προς 4%. Δηλαδή: και η τελειότερη μέθοδος μέτρησης της A να χρησιμοποιηθεί δεν πρόκειται να επιτευχθεί επαναληψιμότητα στις μετρήσεις καλύτερη από 4%.