

### Vraag 1 (15 pnt)

Een bereidingsapotheek maakt diazepamcapsules van 10 mg.

De keus is tussen grote of kleine capsules

- a. Wat is de invloed van de grootte van de capsules op de kwaliteit van het product? Licht het antwoord toe. (3 pnt)

*Bij grote capsules is er een grotere 'scale of scrutiny' en dus meer kans op homogene verdeling. Een grotere capsule ook meer deeltjes bevatten en hoe meer deeltjes een mengsel bevat, hoe kleiner de spreiding zal zijn.*

*Een grotere capsule zal meer vulstof bevatten waardoor de kans op een geordend mengsel groter zal zijn.*

- b. Op welke wijzen kan verschil in deeltjesgrootte ontmenging van een poedermengsel veroorzaken? Noem er drie (3 pnt)

*Percolation: kleine deeltjes zakken in de ruimte tussen de grotere deeltjes*

*Trajectory segregation: grotere deeltjes zullen verder 'weggeslingerd' worden tijdens mengen dan kleine deeltjes en zich verzamelen aan de buitenrand van het poedermengsel*

*Dusting out of fluidization segregation: hele kleine deeltjes stuiven op tijdens het mengen en bij stoppen van het mengen zullen ze als een sediment boven op het poedermengsel terecht komen.*

De apotheek heeft een werkbepreking ingelast, terwijl het gevalideerde mengproces van bulk poeder voor de capsules is ingezet. Om geen productie tijd te verliezen laat men de menger aanstaan, wat betekent dat men in plaats van de standaard 20 minuten, gedurende 35 minuten mengt.

Op 10 capsules, met gedeclareerd 10 mg diazepam per capsule, is het gehalte diazepam bepaald. De resultaten zijn hieronder weergegeven:

	<b>Diazepam (mg/capsule)</b>
1	10,37
2	9,68
3	9,02
4	9,77
5	9,35
6	8,84
7	9,51
8	9,21
9	11,26
10	9,63

NB Je mag er vanuit gaan dat de analysemethodes betrouwbaar zijn en goed zijn uitgevoerd.

- c. Controleer of de capsules voldoen aan de eisen. (6 pnt) *AV = 18,8, afgekeurd*

- d. Wat is een verklaring voor deze afwijking? Licht je antwoord toe door het verband uit te leggen tussen mengtijd en gehaltespreiding. (3 pnt)

*In het begin van het mengproces is de mengsnelheid groter dan de ontmengsnelheid. Bij langer mengen zal de ontmengings snelheid toenemen, tot evenwicht ontstaat, Bij nog langer mixen zal de ontmengingssnelheid gaan overheersen.*

## Vraag 2. (14 pnt)

Een veelgebruikt combinatiepreparaat zijn pijnstillers met paracetamol en cafeïne als actieve bestanddelen. Deze zijn onder andere verkrijgbaar als capsules met 500 mg paracetamol en 50 mg cafeïne.

Tijdens het opstellen van een analyseplan voor deze capsules worden verschillende methoden overwogen.

- a. Is het mogelijk om het gehalte van (een van) de farmaca te meten met behulp van UV-spectrofotometrie? Geef duidelijk aan bij welke golflengte en onder welke condities je deze meting zou willen uitvoeren. Ga ervan uit dat de hulpstoffen uit de capsule niet storen in het relevante golflengtegebied. (4 ptn)

*UV bepaling is moeilijk. Spectra laten absorptie zien in hetzelfde golflengtegebied en daarnaast zijn beide farmaca oplosbaar in dezelfde oplosmiddelen. De meest kansrijke optie is P meten bij het minimum van C ( $\pm 245$  nm) maar op basis van geschatte spec. extinctie en gehalte verwacht ik daar nog 2-3% storing van C.*

*Tweepuntsmeting zou een oplossing kunnen zijn (hebben ze gehad in FA104), eventueel goed rekenen.*

Voor de gehaltebepaling van de grondstof cafeïne schrijft de Europese Farmacopee een titratie voor, de EP geeft hierbij de volgende instructie;

*Dissolve 0.170 g in 50 mL of anhydrous acetic acid R. Titrate with 0.1 M perchloric acid, determining the end-point potentiometrically (2.2.20).*

*1 mL of 0.1 M perchloric acid is equivalent to 19.42 mg of  $C_8H_{10}N_4O_2$ .*

- b. Leg uit waarom de titratie op deze manier wordt uitgevoerd. (2 ptn)  
*Cafeïne is een (zeer) zwakke base (pKa -0,9). In waterig milieu is deze titratie onmogelijk maar in watervrij oplosmiddel is cafeïne goed te titreren.*
- c. Paracetamol zal naar verwachting niet storen wanneer je bovengenoemde titratie zou uitvoeren om het gehalte cafeïne in de capsules te bepalen. Leg uit waarom niet. (2 ptn)  
*Paracetamol is een zwak zuur (pKa 9,5) en zal geen storing geven bij titratie met perchloorzuur.*

Je besluit het gehalte cafeïne in een charge capsules te bepalen met de eerder beschreven titratie. Hiervoor worden tien capsules gewogen en vervolgens opgelost in waterdrij azijnzuur. De titer van het perchloorzuur wordt gesteld op kaliumwaterstoffalaat (in triplo) en bedraagt 0,09860 M.

Capsule	Titrant (ml)	mmol	mg	%
1	2,809	0,277	53,79	107,6%
2	2,950	0,291	56,49	113,0%
3	2,941	0,290	56,31	112,6%
4	2,906	0,287	55,64	111,3%
5	2,833	0,279	54,25	108,5%
6	2,976	0,293	56,98	114,0%
7	2,891	0,285	55,36	110,7%
8	2,925	0,288	56,01	112,0%
9	2,928	0,289	56,07	112,1%
10	2,887	0,285	55,28	110,6%

- d. Het gehalte paracetamol en de overige testen waren akkoord, kan deze charge tabletten worden vrijgegeven? (6 ptn)

Dit is een AV berekening op basis van CU (>25mg maar <25%). Eerst moet het gehalte per capsule berekend worden.

Let op! Hier niet rekenen met 1 ml = 19,42 mg uit farmacopee maar corrigeren voor titer HClO<sub>4</sub>.

$$\begin{aligned} \text{Caps1: } & 2,809 \text{ ml} \times 0,0986 \text{ M} = 0,277 \text{ mmol} \\ & 0,277 \text{ mmol} \times 194,2 \text{ g/mol} = 53,79 \text{ mg} \\ & 53,79/50 \times 100\% = 107,6\% \text{ van declaratie} \end{aligned}$$

daarna het gemiddelde en sd over de 10 capsules, beide als % van het gedeclareerde gehalte (111.2% en 1.99%). Met deze getallen bereken je vervolgens de AV.

$$AV = |M - \bar{X}| + k \cdot s = |101.5 - 111.2| + 2.4 \cdot 1.99 = 14,51.$$

Conclusie: AV is akkoord (<15) maar gemiddeld gehalte > 110% dus **niet** vrijgeven!  
*Wanneer de AV niet berekend is; ook akkoord maar alleen met uitleg dat dat niet nodig is omdat de capsules al zijn afgekeurd wegens  $\bar{x} > 110\%$*

### Vraag 3 (20 pnt)

Onderstaand voorschrift is afkomstig van de plaatselijke ziekenhuisapotheek te Slijmerdam. Het is een mondspoeling met glycopyrroniumbromide (een parasymphaticolyticum). Het wordt gebruikt bij overmatige speekselproductie. Glycopyrronium is een muscarineantagonist. Normaliter wordt speekselproductie gestimuleerd door binding van agonisten op de muscarinereceptor op de diverse speekselklieren in de mond.

Glycopyrronii bromidum	20	mg
Solutio sorbitoli 70%	30	g
Acidum sorbicum	100	mg
Kalii sorbas	100	mg
Aqua purificata	Ad	100mL
—————		
pH: 4,0 - 5,0.		
Uiterlijk: de mondspoeling is een heldere, kleurloze vloeistof.		

- Glycopyrroniumbromide is gevoelig voor hydrolyse. Deze is zuur of base gekatalyseerd. Teken de ontledingsproducten. (3 pnt)  
De ester wordt gehydrolyseerd. Er ontstaat een zuur (tropanzuurderivaat en een alcohol.
- Wat is de orde van deze reactie? (3 pnt)  
OH<sup>-</sup>, H<sup>+</sup>, H<sub>2</sub>O is constant (buffer + water is in overmaat aanwezig: Pseudo 1<sup>ste</sup> orde: de snelheid is alleen afhankelijk van de glycopyrroniumconcentratie.
- Het ontledingsconstante-pH profiel laat een minimum zien bij een pH van 3,8. Geef aan de hand van de structuurformule van glycopyrroniumbromide een mogelijke verklaring voor dit minimum in het zure pH-gebied. (3 pnt)  
Minimum van de snelheidsconstante in het zure gebied. Blijkbaar heeft OH<sup>-</sup> katalyse een groter effect dan H<sup>+</sup> katalyse. Dit is op zich logisch. Het glycopyrronium is zelf pos geladen. Het trekt OH<sup>-</sup> aan en stoot H<sup>+</sup> juist af.
- Bereken de pH van de mondspoeling. (3 pnt)  
De bufferformule invullen, hoeveelheden sorbinezuur/sorbaat omrekenen naar molen, en de pKa van 4,80 gebruiken. De pH wordt dan 4,67.
- Bereken de buffercapaciteit  $\beta$  van de buffer in de mondspoeling. (indien u bij vraag D geen antwoord heeft, kunt u voor de pH eventueel de waarde 4,5 gebruiken) (4 pnt)

$\beta$ : 8,76 (mMol/L nodig voor een pH verandering van 1 eenheid).

- f. 15 jaar geleden werd er in de mondspoeling geen glycopyrroniumbromide gebruikt, maar homatropine. De rest van de hulpstoffen, en de hoeveelheden waren in dat oude voorschrift hetzelfde. (Behalve natuurlijk de hoeveelheden aan werkzame stof.....) Verklaar het nadelige biofarmaceutische effect van homatropine in vergelijking met glycopyrroniumbromide. (4 pnt)

Homatropine heeft geen quaternaire stikstof, maar een basische. Een kleine fractie van de homatropine zal dus ongeladen zijn en kunnen zorgen voor bijwerkingen. (makkelijkere verplaatsing naar andere weefsels)

#### Vraag 4 (15 pnt)

Pilocarpine-oogdruppels hebben de volgende samenstelling:

Pilocarpine hydrochloride	4,00 gram
Borax	750 mg
Benzalkoniumchloride	10 mg
Dinatrium edetaat	100 mg
Gezuiverd water	ad 100 ml

In de EP staat voor de grondstof het volgende assay genoemd:

*Dissolve 0.200 g in 50 mL of ethanol (96 per cent) R and add 5 mL of 0.01 M hydrochloric acid. Titrate with 0.1 M sodium hydroxide, determining the end-point potentiometrically (2.2.20). Read the volume added between the 2 points of inflexion.*

*1 mL of 0.1 M sodium hydroxide is equivalent to 24.47 mg of C<sub>11</sub>H<sub>17</sub>CIN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.*

- a. Waarom wordt er eerst zoutzuur en daarna natronloog toegevoegd? (2 pnt)

Zodat alle pilocarpine in de geprotoneerde vorm is, waarna getitreerd wordt met natronloog.

In het HPLC-systeem staan de volgende gegevens vermeld:

pilocarpine	Select B	methanol 30% + perchloric acid 10 mM	0,2
pilocarpine	Select B	methanol 20% + perchloric acid 10 mM	0,5
pilocarpine	Select B	methanol 10% + perchloric acid 10 mM	1,5

benzalkonium	Select B	methanol 70% + perchloric acid 10 mM	3,5
benzalkonium	Select B	methanol 80% + perchloric acid 10 mM	0,9
benzalkonium	Select B	methanol 75% + perchloric acid 10 mM	2,2

Na adequate verdunning worden zowel het farmacon als het conserveermiddel gekwantificeerd met HPLC-UV. De dode tijd is 2,5 minuten en er wordt gekozen voor 10% methanol met 10 mM perchloorzuur.

Ga uit van de gebruikelijke kolommen en mobiele fases die binnen dit blok gebruikt zijn.

- b. Hoe lang is de analysetijd voor dit preparaat ongeveer? (3 pnt)

Benzalkonium zal er ERG lang over doen om van de kolom te komen. Extrapolerend vanuit 70% methanol: de capaciteitsfactor wordt dan  $3,5 \cdot 2 \cdot 2 \cdot 2 \cdot 2 \cdot 2 \cdot 2 \approx 224$

retentietijd:  $2,5 + (224 \cdot 2,5) = 560$  minuten (9,3 uur).

Een langere schatting is ook goed, want de  $k'$  wordt een factor 2 tot 3 groter. Met 3 keer groter kom je uit op ongeveer 100 uur.

Een student vindt de totale analysetijd zoals berekend bij vraag B toch te lang.

- c. Hoe kan dit preparaat toch op HPLC-UV geanalyseerd worden? Geef aan welke mobiele fase(s) je wil gebruiken. (5 pnt)

Optie 1: eerst pilocarpine meten op 10% methanol met 10mM perchloorzuur, dan de kolom spoelen met spoelmethanol om alle benzalkoniumchloride te verwijderen. Dan 75-80% methanol met 10 mM perchloorzuur aansluiten en benzalkonium analyseren (pilocarpine in/direct na de dode tijd).

Optie 2: gradient gebruiken. Beginnen bij 5% methanol, snel olopend naar 80%.

Over benzalkoniumchloride is het volgende bekend:

*UV Spectrum: Water—256 ( $A'_{1}=4.9b$ ), 262 ( $A'_{1}=5.8b$ ), 268 nm ( $A'_{1}=4.6b$ ).*

(bron: Clarke's Analysis of Drugs and Poisons)

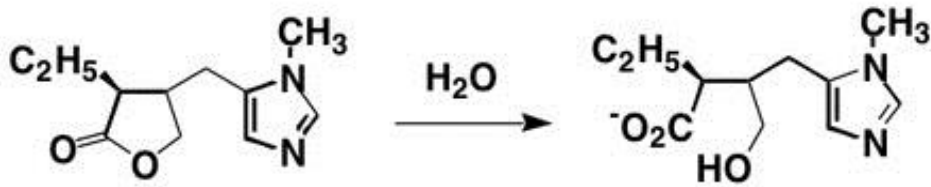
- d. Kan de benzalkoniumchloride eigenlijk wel met HPLC-UV geanalyseerd worden? Illustreer uw antwoord met een berekening. (3 pnt)

Vuistregel van Willie:  $1000/E_{11} = \dots$  mg/50 ml (10 keer hoger en 10 keer lager kan ook!)

$1000/5.8 = 172$  mg/50 ml

Dat is 335 mg/100 ml. In de oordruppel zit 10 mg/100 ml, dat is 33,5 keer zo weinig (zelfs zonder verdunnen). Dat is te laag, 10 keer lager kan nog wel, maar dit wordt te gortig.

Pilocarpine kan ontleden, de esterbinding van de lactonring hydrolyseert en er ontstaat pilocarpinezuur (zie figuur hieronder).



Er wordt een DLC uitgevoerd. De stationaire fase is een silicagel plaat en de mobiele fase is methanol. De  $R_f$ -waarde van pilocarpine is dan 0,52.

- e. Waar op de plaat verwacht u het ontledingsproduct pilocarpinezuur? (2 pnt)

Pilocarpinezuur is hydrofieler, dus zal lager dan pilocarpine op de plaat belanden.

### Vraag 5 (20 pnt)

Ondansetronzetzpillen (16 mg als HCl) worden gebruikt bij de behandeling van misselijkheid en braken t.g.v. chemotherapie.

- a. Verklaar de afnemende oplosbaarheid van ondansetronhydrochloride bij verhoging van de pH (2 pnt)

Ondansetron is een zwakke base met een  $pK_a$  van 7,4. Bij pH hoger dan 5,7 wordt blijkbaar al zoveel ondansetron gedeprotoneerd dat de oplosbaarheid van de base wordt overschreden en een neerslag ontstaat.

- b. Verwacht je een snelle systemische werking van ondansetron in deze zetpilsamenstelling? Verklaar je antwoord. (4 pnt)

Ondansetron wordt hier als zout (ondansetronHCl) verwerkt in een vette zetpilbasis (Witepsol). Zeer waarschijnlijk is het een suspensiezetpil.

Na smelten van de zetpil moeten de gesuspendeerde deeltjes migreren naar het grensvlak van vet en rectumvloeistof, gedraineerd worden en oplossen. De pH van het rectum is 7-7,5 en de oplosbaarheid is dan niet heel goed meer. De afgifte zal niet heel snel zijn (rectum bevat ongeveer 3 ml vloeistof)

Aan de andere kant zal de kleine opgeloste fractie van de niet-geïoniseerde (ongeladen/B-vorm) vorm bij de rectumwand zeer snel de rectumwand passeren (redelijk hoge  $\log P$ ) met als gevolg dat steeds meer ongeladen ondansetron kan oplossen (verdelingsevenwichten vet/water zullen richting rectumvloeistof verschuiven). N.B.  $\log P$  geldt alleen voor ongeladen stof, dus niet voor het HCl-zout!

- c. Waarvoor dient de lactose in de samenstelling? (3pnt)

Als vulmiddel om de kans op een goede content uniformity te vergroten. (Alleen vulmiddel is onvoldoende antwoord)

Tevens kan lactose toegevoegd worden voor het uiteenhalen/-houden van agglomeraten Dit is juist bij kleine hoeveelheden farmacon belangrijk, omdat een goede content

uniformity van gehalte lastiger te bereiken is naarmate de hoeveelheid farmacon per zetpil kleiner is.

Bevochtiger is hier onjuist. Ondansetron is als HCl-zout aanwezig en dat is voldoende hydrofiel.

Vaak werd gezegd dat agglomeratvorming ontstaat door of vooral ontstaat bij kleine *hoeveelheden* farmacon in de zetpil. Dat is onjuist. Bij kleine *deeltjes* is de neiging tot agglomeratvorming groot.

Naast de behandeling van misselijkheid en braken tijdens zwangerschap wordt ondansetron ook rectaal toegediend ter bestrijding van postoperatief braken en misselijkheid.

Er komt een patiënt uw apotheek binnen met een recept voor 6 ondansetron 16 mg. Een van de apothekersassistenten gaat deze zetpillen bereiden en de eindcontroles uitvoeren.

d. Hoe kan de gewichtsspreiding het beste uitgevoerd worden met slechts 6 zetpillen? (2 pnt)

Er hoeft geen gewichtsspreiding te worden uitgevoerd als eindcontrole voor zetpillen. Dit heeft geen zin. Een grote gehaltespreiding komt over het algemeen niet tot uiting in de gewichtsspreiding. Dat komt vanwege de verhouding farmacon/basis, die meestal groot is. Let op: er werd gevraagd naar de gewichtsspreiding, niet naar de afwijking van het theoretisch gewicht.

De bepaling van de vulwaarde van ondansetronHCl in witepsol H15 wordt als volgt bepaald:

Van een gietmortier, stamper en schrapkaartje wordt het leeggewicht bepaald. In die mortier wordt 10,1 g ondansetronHCl gemengd met 20,0 g gesmolten Witepsol H15.

12 zetpilvormen van 2,3 ml worden elk voor ongeveer  $\frac{3}{4}$  gevuld met dit mengsel.

Vervolgens worden de vormen tot aan de rand gevuld met gesmolten Witepsol H15 (dus zonder farmacon). Na stollen worden de vormen zorgvuldig afgeschraapt en gewogen.

De mortier (met stamper en schrapkaartje) wordt opnieuw gewogen en er blijkt 4,95 g mengsel over te zijn gebleven.

12 andere vormen van 2,3 ml worden gevuld met alleen Witepsol H15 en na stollen zorgvuldig afgeschraapt en gewogen.

Leeggewicht 12 zetpilvormen van 2,3 ml: 1,23 gram

Gewicht 12 zetpilvormen met farmacon: 29,808 gram

Gewicht 12 zetpilvormen met alleen Witepsol H15: 26,083 gram

e. Bereken de verdringingsfactor. (4 pnt)

Gemaakt mengsel:  $10,1+20= 30,1$  gram. Bevat  $10,1/30,1 = 33,6\%$  farmacon

Gegoten mengsel:  $30,1-4,95 = 25,15$  gr. Dit bevat  $33,6\%$  ondansetronHCl = 8,4504 g in 12 vormen, dus 0,704 g per zetpilvorm.

Vulwaarde vormen:  $(26,083-1,23)/12 = 2,071$  gram

Gewicht zetpil met farmacon:  $(29,808-1,23)/12 = 2,382$  gram. Hiervan is 0,704 gr farmacon, dus 1,678 gram Witepsol.



0,704 gram farmacon verdringt dus  $2,071 - 1,678 = 0,393$  gram Witepsol H15  
De verdringingsfactor is dus  $0,393/0,704 = 0,56$ .

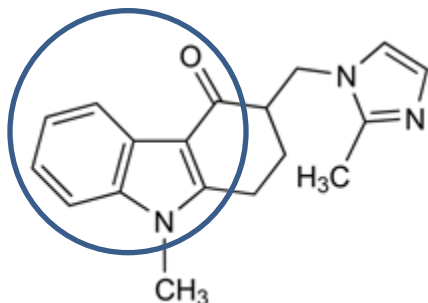
Denkfouten:

- er staat dat de vormen voor ongeveer  $\frac{3}{4}$  gevuld worden met de massa. De preciese hoeveelheid is onbekend (en dat is ook niet belangrijk) en daar mag dus niet mee gerekend worden.
- Omdat de zetpillen niet homogeen zijn (bovenste deel bevat alleen witepsol) kan de hoeveelheid farmacon per zetpil niet berekend worden door het % van het zetpilgewicht te nemen.

### Vraag 6. (11 pnt)

Witepsolzetpillen met 16 mg ondansetron (als HCl-zout) worden kwantitatief geanalyseerd.

- Is dit mogelijk met een titratie met natronloog? Beargumenteer je antwoord (3 pnt)  
Nee, het zuur (geconjugeerde base) is te zwak (tenzij in ethanol) en de dosis (erg) laag.
- Met welke oplosmiddelcombinatie kun je het farmacon extraheren voor een UV-bepaling? (3 pnt)  
Petroleumether of hexaan met (aangezuurd) water of water-ethanol.
- Omcirkel de chromofoor die absorbeert bij 310 nm. (2 pnt)



- Heeft deze golflengte de voorkeur? Beargumenteer je antwoord. (3 pnt)  
Ja, hoge golflengte is selectiever, minder kans op storing/verontreiniging.

### Vraag 7

Chroom in verf kan zeer nadelige gevolgen hebben voor de gezondheid. Om te controleren of een nieuwe meetmethode voor het gehalte chroom (% Cr) bruikbaar is, werd van vier verfmonsters met een bekend chroomgehalte acht keer een bepaling gedaan met de nieuwe methode. In onderstaande tabel staan de meetresultaten weergegeven:

Monster	Bekende waarde	gemiddelde	sd
1	0,487	0,462	0,0220
2	0,991	1,009	0,0231
3	1,501	1,509	0,0256
4	1,992	2,004	0,0231

- a. Bereken voor monster 1 of de gemeten gemiddelde waarde significant verschilt van de bekende waarde (gebruik een 95% betrouwbaarheidsinterval). (4 pnt)

$n=8$ ,  $df = 7$ , kritieke waarde is 2.356

95% betrouwbaarheidsinterval is  $0.462 \pm 2.356 * 0.0220/\sqrt{8} \rightarrow (0.444; 0.480)$

Het interval omvat niet de bekende waarde 0.487 dus de nieuwe methode geeft bij monster 1 een statistisch significante afwijking.

Je had ook mogen doen het 95% betrouwbaarheidsinterval van het verschil t.o.v. van 0.487 en dan kijken of de waarde 0 in het interval ligt:  $(0.462 - 0.487) \pm 2.356 * 0.0220/\sqrt{8} \rightarrow (-0.43; -0.007)$

De gemiddelde waarde is een gemiddelde dus je moet de sem gebruiken en niet de sd. Het gaat om een 8-voudige bepaling dus  $n=8$  en geen 2 of 4. Ook gaat het hier om een tweezijdige toets dus kritieke waarde ook tweezijdig nemen.

Betrouwbaarheidsintervallen worden altijd berekend op basis van gemeten gemiddelde (0.462) en niet op basis van verwachtte waarde in de populatie (0.487).

- b. Toets of de varianties van de metingen bij monster 1 gelijk is aan die van monster 3. Geef bij het antwoord ook berekeningen. (3 pnt)

Toetsingsgrootheid  $T = (0.0256/0.0220)^2 = 1.354$

De vrijheidsgraden zijn 7 en 7  $\rightarrow$  kritieke waarde 4.99

Conclusie: Er is geen statistisch significant verschil in varianties tussen monster 1 en monster 3.

LET OP je mag NIET zeggen dat de varianties gelijk zijn: als de nulhypothese niet verworpen mag worden dan wil dat nog niet zeggen dat de nulhypothese waar is.

De variantie is bepaald op basis van een 8-voudige bepaling dus  $n=8$  en geen 2 of 4. In tegenstelling tot de ANOVA (tweezijdige toets, maar p-waarde/kritieke waarde eenzijdig aflezen) kan de F-toets voor het vergelijken van varianties wel eenzijdig of tweezijdig zijn en dus ook het aflezen van de p-waarde/kritieke waarde een- of tweezijdig zijn. In dit geval was de toets tweezijdig dus dan ook een tweezijdige kritieke waarde.

- c. Als de varianties van monster 1 en monster 3 statistisch niet significant van elkaar verschillen, kan je dan ook concluderen dat de varianties van alle monsters gelijk zijn? Beargumenteer je antwoord. (3 pnt)

Nee, binnen de statistiek kan je nooit concluderen dat ze gelijk zijn. Je kan alleen zeggen dat hoogst waarschijnlijk de varianties niet statistisch significant van elkaar verschillen. Hoogst waarschijnlijk omdat de  $n=8$  overal gelijk is en het grootste verschil in variantie is tussen monster 1 en 3 en daar heb je bij vraag b al laten zien dat die variantie niet statistisch significant van elkaar verschillen. Dus samenvattend zou je

kunnen concluderen dat alle 4 varianties niet significant van elkaar verschillen maar niet dat ze gelijk zijn.

Een formele toets om te toetsen of de varianties gelijk zijn is de Levene toets die niet behandeld is in dit blok maar wel genoemd is in FA107 (zie voorwaarden van de ANOVA).

Opmerkingen in de trant van uitbijters of ongelijke concentraties hebben niets te maken met de beantwoording van de vraag. Alle 4 monsters zijn op exact dezelfde manier geanalyseerd en zouden op grond daarvan niet van elkaar mogen verschillen. Het zou kunnen zijn dat bij hogere concentraties er meer spreiding zou kunnen zijn maar daar zijn dus geen aanwijzingen voor. Hooguit zou je kunnen zeggen dat de relatieve standaarddeviatie (RSD) voor de 4 concentraties verschilt, maar daar ging de vraag niet over.