

Electronic Supplementary Information

Remarkably selective biocompatible turn-on fluorescent probe for detection of Fe³⁺ in human blood samples and cells

Vishaka V H¹, Manav Saxena¹, GeethaBalakrishna R^{1*}, Sachin Latiyan^{2, 3}, Shilpee Jain³

¹Center for Nano and Material Science, Jain University, Jakkasandra post, Bangalore Rural-562112

²Metallurgical and Materials Engineering, National Institute of Technology, Tiruchirapalli-620015

³Centre for Biosystems Science and Engineering, Indian Institute of Science, Bangalore-560012

Corresponding Author*: br.geetha@jainuniversity.ac.in

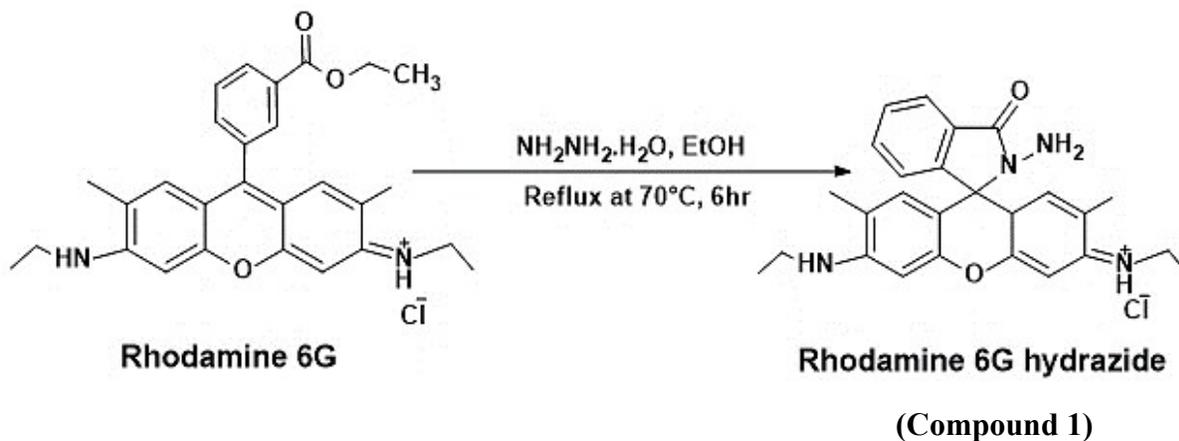
SL. No.	Table of Contents	Page No.
1	Materials and Methods	3
2	Synthesis of Rhodamine 6G hydrazide	4
3	NMR spectra of Rhodamine 6G hydrazide	5
4	Mass spectrum of Rhodamine 6G hydrazide	6
5	Synthesis of RG5NC	7
6	NMR spectra of RG5NC	8
7	Mass spectrum of RG5NC	9
8	Synthesis of [RG5NC-Fe ³⁺] complex	10
9	FT-IR spectrum	10
10	Preparation of Stock solution for spectral determination	11
10	Absorption and Emission spectral studies	11
11	Details of the Certified reference material used	12-15

1. Materials and Methods

Analytical grade solvents were used without further purification, unless stated. All metal nitrates salts of Hg^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} , Ag^+ , and chlorides of Cr^{3+} , Ca^{2+} , Al^{3+} , Fe^{3+} , Pb^{2+} and Cu^{2+} were purchased from Sigma-Aldrich Chemicals Co., and used. All the experiments were carried out in deionized water. All reactions were magnetically stirred and monitored by thin-layer chromatography (TLC) using Merck TLC Silica gel 60 F₂₅₄ coated plates. As pressed KBr pellets FT-IR spectra of the samples were recorded using JASCO-460 plus FT-IR spectrophotometer. AAS measurements were carried out using Agilent 55B AA spectrometer. ICP-OES measurements were recorded Agilent 5100 VDV ICP-OES instrument. NMR spectroscopic measurements in CDCl_3 were recorded with an Agilent spectrometer 400. The ^1H NMR and ^{13}C NMR chemical shift values are expressed in ppm (δ) relative to CDCl_3 . Waters SynaptG2 LC-MS spectrometer was used to analyze the mass spectra. Absorbance (UV-Vis) spectroscopic study was carried out with a Shimadzu UV-1800 spectrophotometer using 10 mm quartz cuvette. Fetal bovine serum (FBS), 0.25% trypsin-EDTA solution, 3(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) and antibiotic-antimycotic solution were obtained from Sigma Aldrich, USA. Dimethyl sulfoxides (DMSO) were bought from Fischer Scientific, USA. Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) from HiMedia Laboratories Pvt. Ltd, Paris, France. Hoechst 33342 from Molecular Probes VR by Life TechnologiesTM, USA.

2. Synthesis of Rhodamine 6G hydrazide:

Excess hydrazine hydrate (80%, 5 g, 80 mmol) was added dropwise to the rhodamine 6G (2.30 g, 5 mmol) in 50 mL absolute ethanol. After the addition the mixture was refluxed in an oil bath with continuous stirring for 6 hr., soon after the mixture was heated orangish pink precipitate was observed. Then the precipitate was filtered, washed with ethanol (3 x 15 mL) and dried in vacuum a light pink colored solid rhodamine 6G hydrazide (1.70 g, yield 89%) was obtained. ESI-MS : m/z. Calculated for $C_{26}H_{38}O_2N_4$ [M] = 429.15 and found [M-H] = 428.66. 1H NMR ($CDCl_3$), δ (ppm): 1.3 (t, 6H, $NHCH_2CH_3$), 1.90 (s, 6H, xanthene- CH_3), 3.20 (q, 4H, $NHCH_2CH_3$), 3.56 (b, 4H, N- NH_2 , $NHCH_2CH_3$), 6.24 (s, 2H, xanthene-H), 6.39 (s, 2H, xanthene-H), 7.04 (dd, 1H, Ar-H), 7.42 (dd, 2H, Ar-H), 7.93 (dd, 1H, Ar-H). ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ (ppm): 14.6, 16.7, 38.5, 65.9, 76.7, 77.0, 77.3, 97.1, 105.1, 118.1, 123.0, 123.7, 127.7, 128.1, 129.8, 132.5, 147.2, 151.6, 152.1, and 166.1. IR (ν , cm^{-1}): 3341, 2964, 2860, 1677, 1612, 1509, 1459, 1343, 1143, 1096, 999, 949, 821, 738 and 628.



Scheme.1 Synthesis scheme for Rhodamine 6G hydrazide

3. NMR spectra of Rhodamine 6G hydrazide:

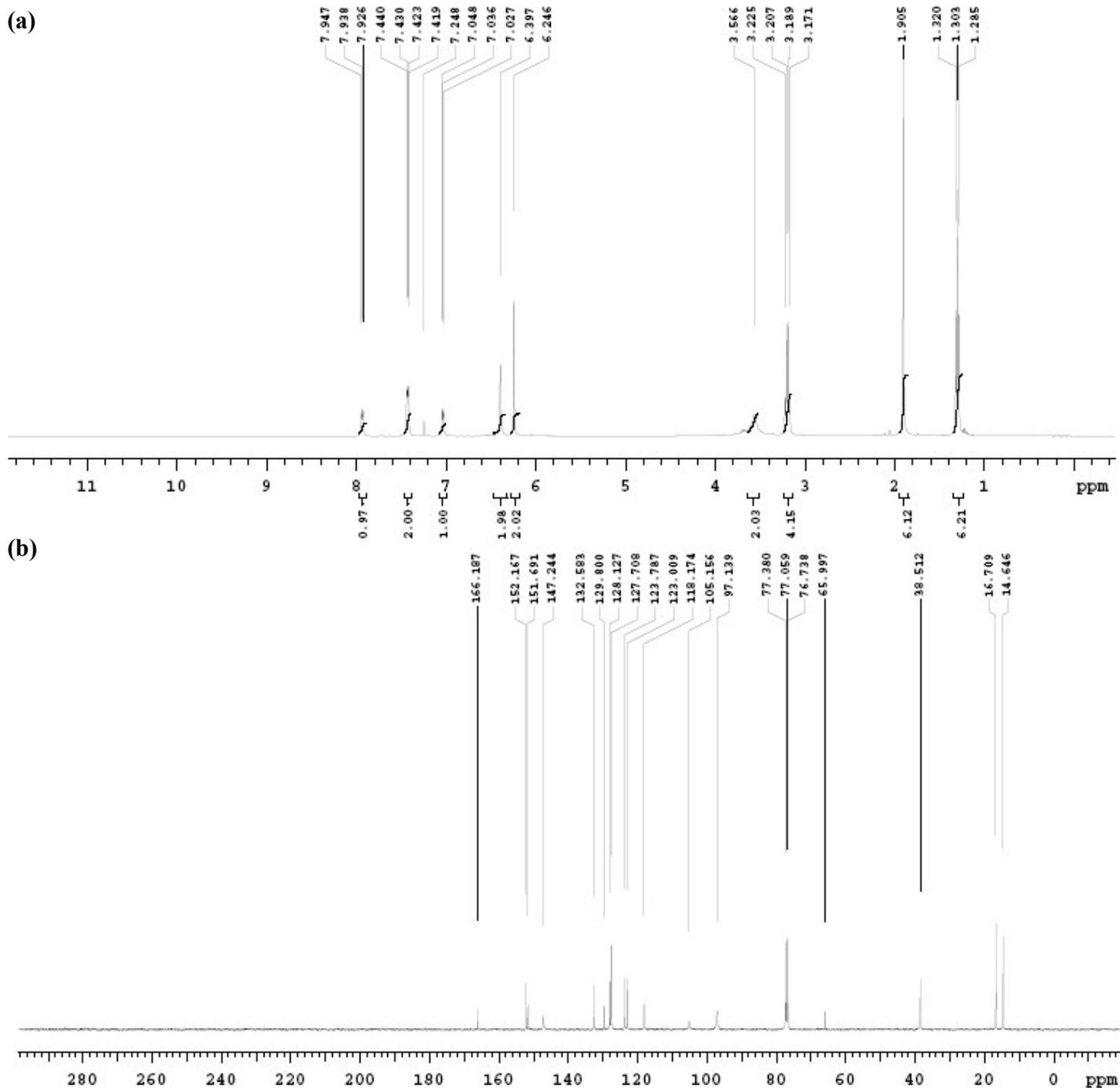


Figure S1. (a): ^1H NMR spectrum of Rhodamine 6G Hydrazide (b): ^{13}C NMR spectrum of Rhodamine 6G Hydrazide

4. Mass spectrum of Rhodamine 6G hydrazide

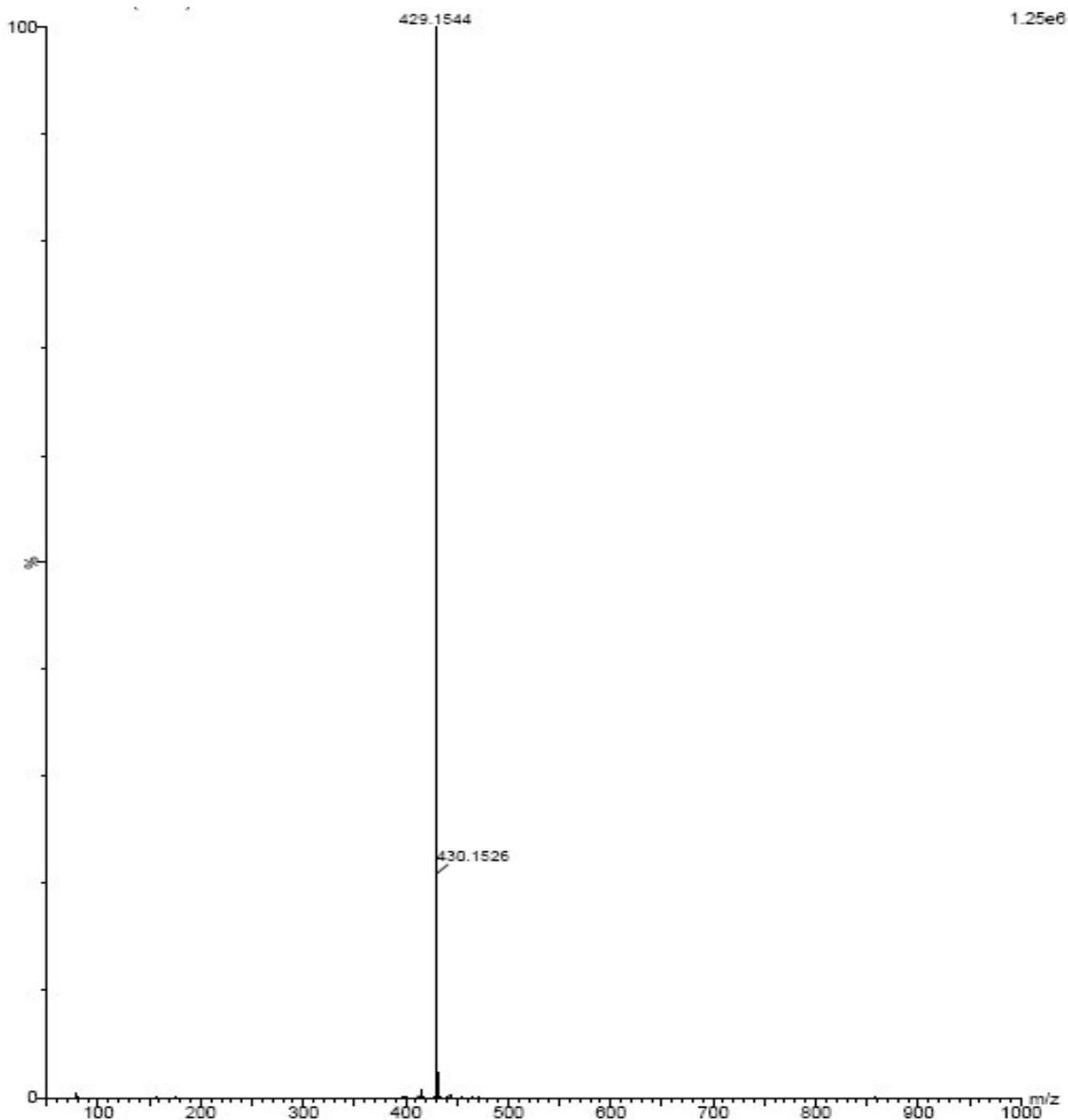
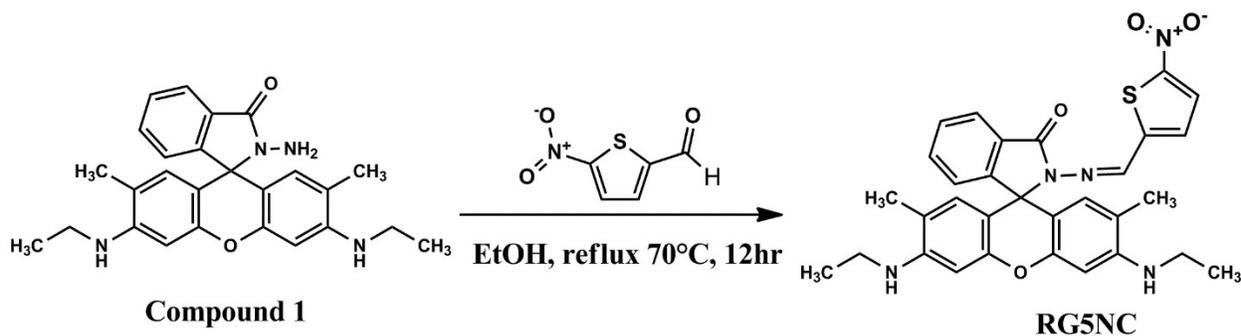


Figure S2: Mass spectrum of Rhodamine 6G hydrazide

5. Synthesis of RG5NC

Rhodamine 6G hydrazide (0.25 g, 0.44 mmol) and 5-nitro-2-thiophenecarboxaldehyde (0.07 g, 0.44 mmol) were combined in absolute ethanol (30mL). The reaction mixture was refluxed for 12hr to form a yellow precipitate. The crude product was purified by recrystallization from ethanol to give 0.195g yellow solid in 78% yield. M.P., 242°C ($\pm 3^\circ\text{C}$); $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) (Fig.S2-S4): 1.27 (t, 6H), 2.12 (s, 6H), 3.47 (m, 4H), 6.06 (m, 2H), 6.84 (m, 2H), 7.04 (d, 1H), 7.18 (d, 1H), 7.43 (s, 1H), 7.58 (t, 1H), 7.91 (d, 1H), 8.07 (s, 1H) and 9.27 (s, 1H). ESI-MS $m/z = 568.07$ $[\text{M} + \text{H}]^+$, calcd, for $\text{C}_{31}\text{H}_{29}\text{N}_5\text{O}_4\text{S}$ 568.20. FTIR (cm^{-1}): $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1620.1, $\nu(\text{C}=\text{O})$ 1696.0.



Scheme.2 Synthesis scheme for the RG5NC

6. NMR spectra of RG5NC

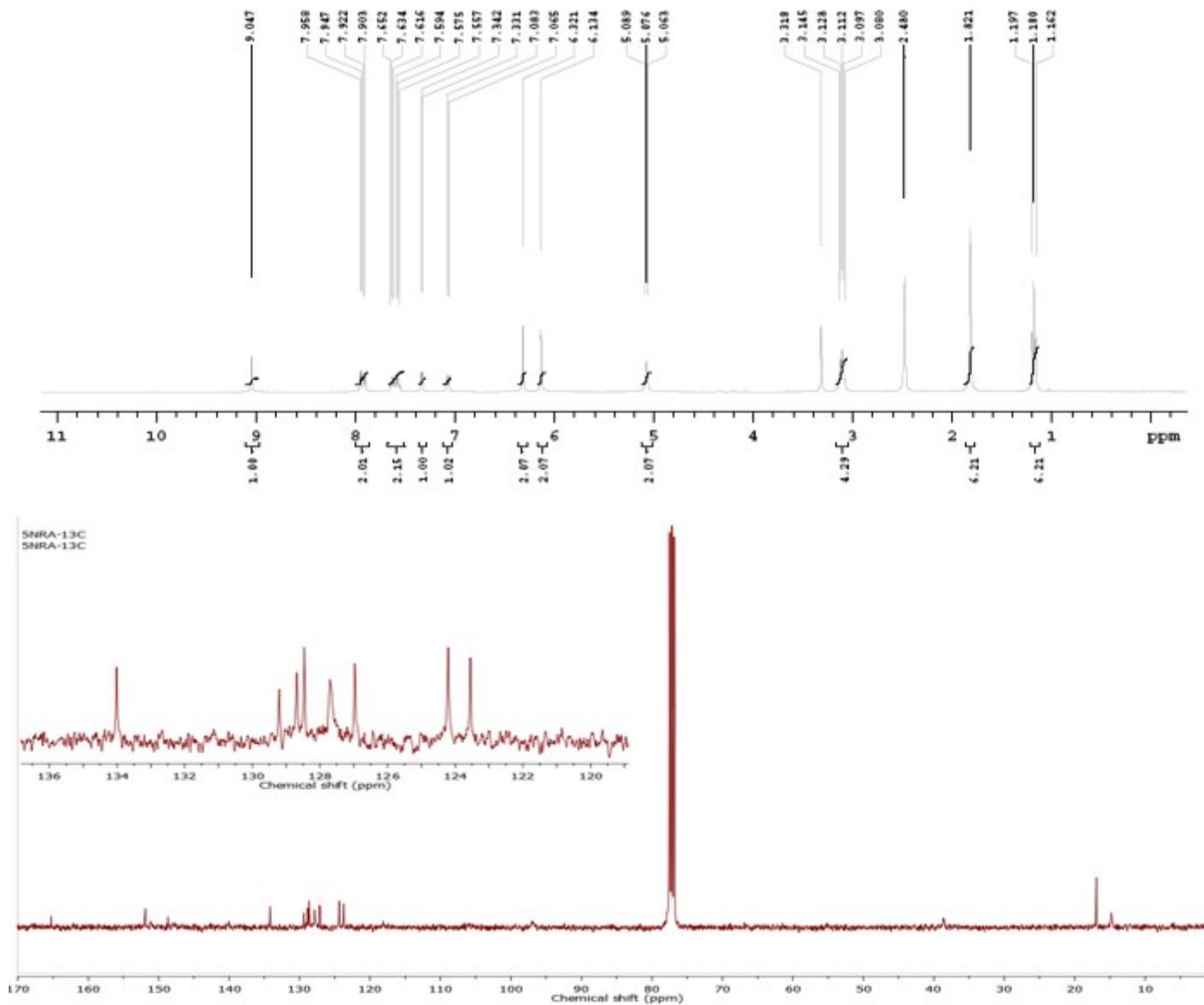


Figure S3. (a): ^1H NMR spectrum of RG5NC (b): ^{13}C NMR spectrum of RG5NC

7. Mass spectrum of RG5NC

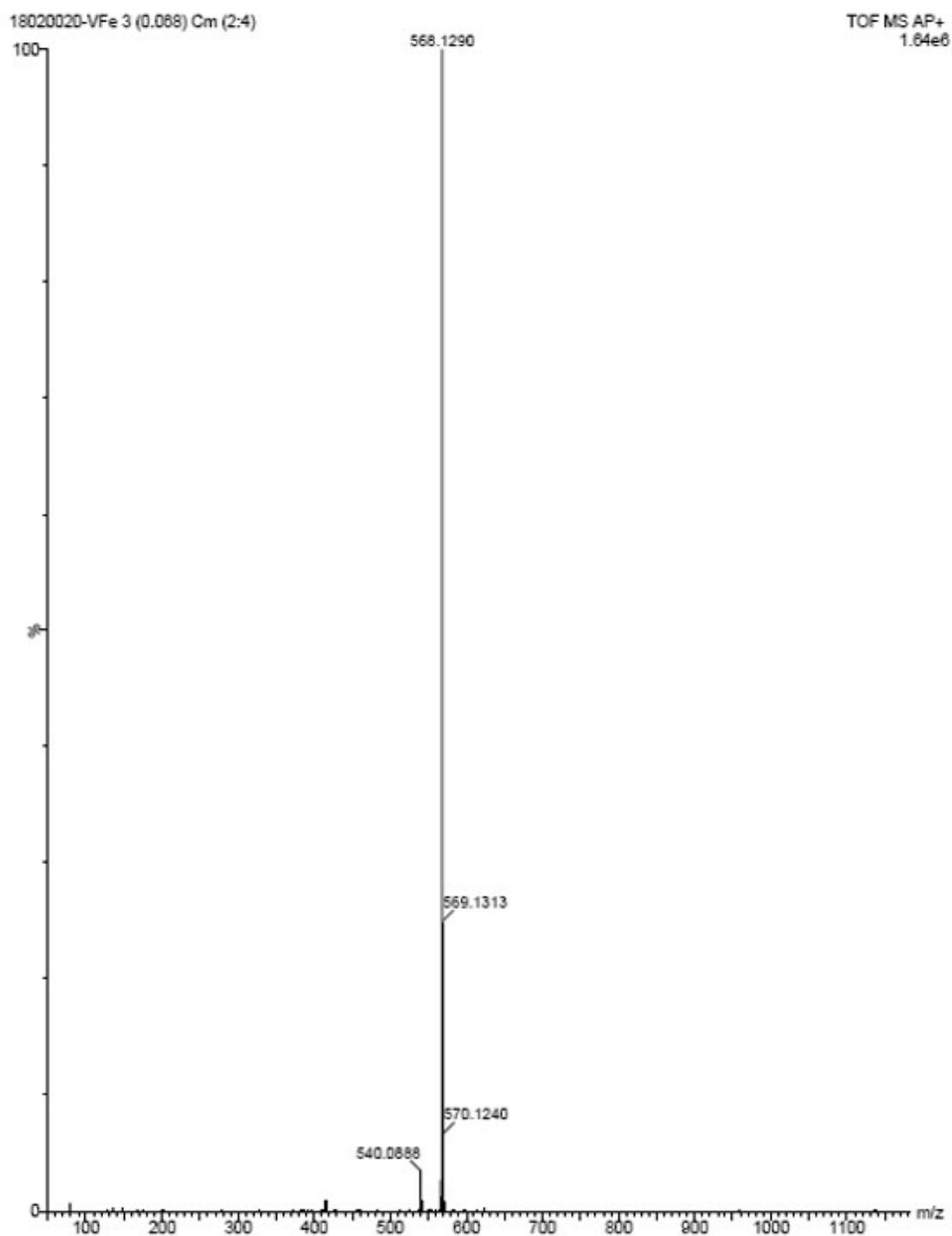


Figure S4: Mass spectrum of RG5NC

8. Synthesis of [RG5NC-Fe³⁺] complex

A 10mL $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (0.01 g, 0.02 mmol) aqueous solution was added slowly to a magnetically stirred ethanol solution of **RG5NC** (0.4 g, 0.74 mmol, 10mL) with continuous stirring for 10min. A deep brown colored compound was obtained on slow evaporation of the solvent. The compound was recrystallized from MeCN. FTIR (cm^{-1}): $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1625.2 as shown in **ESI. 9**. Both the probe and the complex are highly stable.

9. FTIR Spectrum

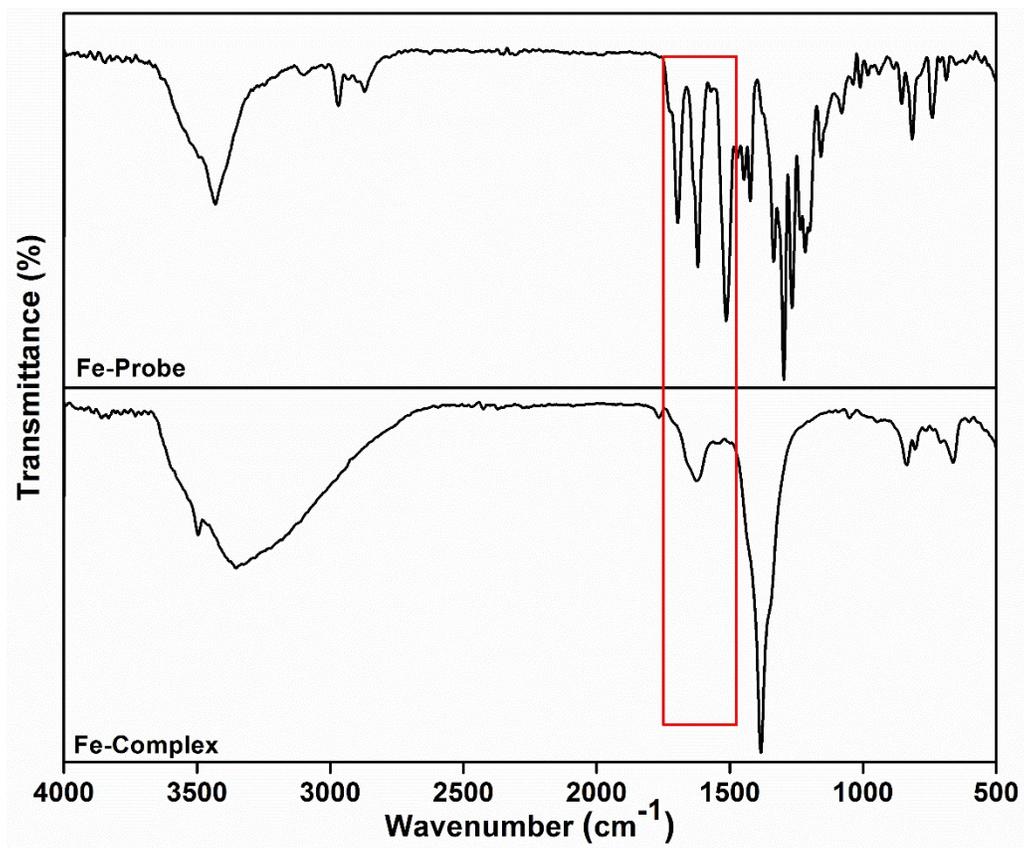


Figure. S5 FT-IR of RG5NC and $[\text{RG5NC}] + [\text{Fe}^{3+}]$ complex

10. Preparation of Stock solution for spectral determination

Stock solution concentration of 2×10^{-3} M of Fe^{2+} , Al^{3+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Fe^{3+} , Cr^{3+} , Hg^{2+} , Mg^{2+} and Co^{2+} were prepared by dissolving their nitrate and chloride salts in distilled water. The probe **RG5NC** solution concentration of 2×10^{-4} M stock solution was prepared by dissolving the requisite amount in MeCN. However, when both these solutions are mixed, a homogeneous solution facilitates accurate detection.

11. Absorption and Emission spectral studies

All the experiments were carried out in MeCN. In selectivity experiment, the samples were prepared by adding the $10\mu\text{M}$ metal ion solution to 2mL the RG5NC solution. In titration experiment, RG5NC was titrated at room temperature by adding incremental amount of metal ion stock solution into a quartz cell using micropipette. The absorption and fluorescence measurements of the solution were carried out after stirring for 10 s and waiting for about 5 min at room temperature. In fluorescence measurements, provided excitation at 532 nm and emission at 553 nm, the measurements were recorded from 525 to 700 nm. To determine the binding stoichiometry of **[RG5NC-Fe³⁺]** complex, solutions of **RG5NC** and Fe^{3+} ion were prepared as 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2 and 9:1 in MeCN.

12. Details of the Certified reference material used

Seronorm™ Trace Elements Whole Blood L-1



NDP 210105

LOF 1702821



2022-04

10 x 3 mL



IVD

CE

Collaborating laboratories

The analytical data of Seronorm™ Trace Elements Whole Blood have been elaborated in collaboration with the following independent laboratories:

+ ALS Scandinavia AB, Luleå, Sweden

EN

Storage and stability

This product will be stable until the expiry date when stored unopened at 2-8 °C. No claims for MeHg.

After reconstitution, all elements are stable for 7 days when stored tightly capped at 2-8 °C.

Vials aliquoted and frozen within 30 minutes at ≤ -20 °C in screw cap tubes with O-ring are stable for 1 month.

Discard the remaining material after each use.

Limitations

All stability data require that bacterial contamination is avoided. Increased turbidity may indicate bacterial growth.

Sample preparation before analysis

Samples were prepared by closed vessel MW-assisted digestion with concentrated nitric acid.

For MeHg measurement, please refer to Baxter, Roduškín et al «Clinical Chemistry 531 000-000 (2007)»

Assignment of values

Table 1: The mean analytical values are derived from replicate analyses obtained through collaboration with independent laboratories and they are specific for this lot. The uncertainty of the analytical value is presented as a single number U (with a coverage factor $k = 2$), which takes into account various factors including imprecision of the method applied for the assignment as well as the stability of the given element. The analytical uncertainty (95 % confidence interval) is calculated from the analytical value $\pm U$. The analytical value for each element may vary due to differences in sample preparation, instrument and/or method used. It is therefore recommended that each laboratory establishes its own analytical mean and acceptable range.

The value assignment procedures have been established in accordance with the ISO 17021 International standard using reference method procedures traceable to primary international standards.

Table 2: The approximate values should only be considered as an indication of the analyte concentration. No precise analytical values have been established for the elements reported in table 2 and lot to lot variation for these elements may occur.

FR

Conservation et stabilité

Ce produit est stable jusqu'à la date de péremption lorsqu'il est conservé non ouvert à 2-8 °C. Aucune indication pour MeHg.

Après reconstitution, tous les composants sont stables pendant 7 jours si la solution est conservée, bien fermée, entre 2 et 8 °C.

Les flacons aliquotés en aliquots et congelés dans les 30 minutes à une température ≤ -20 °C dans des tubes à bouchon fileté avec joint lorsque sont stables pendant un mois.

Jeter le matériel restant après chaque utilisation.

Limitations

Toutes les données de stabilité exigent l'absence de contamination bactérienne. Une solution trouble du contenu du flacon peut signifier la croissance de bactéries.

Préparation de l'échantillon avant l'analyse

Les échantillons ont été préparés par digestion assistée par MW à volume fermé avec de l'acide nitrique concentré.

Pour la mesure du MeHg, veuillez consulter la publication Baxter, Roduškín et al «Clinical Chemistry 531 000-000 (2007)»

Attribution des valeurs

Tableau 1 : Les valeurs analytiques moyennes sont dérivées d'analyses en parallèle obtenues par le biais d'une collaboration avec des laboratoires indépendants ; elles sont spécifiques à ce lot. L'incertitude des valeurs analytiques est présentée sous la forme d'un nombre unique, U (avec un facteur de couverture $K = 2$), qui tient compte de différents facteurs, notamment l'imprécision de la méthode appliquée dans le cadre du projet, ainsi que la stabilité dudit composant. L'incertitude analytique (intervalle de confiance de 95 %) est calculée à partir de la valeur analytique $\pm U$. La valeur analytique de chaque composant est susceptible de varier en raison de différences dans la préparation des échantillons, l'instrument et/ou la méthode employée. Chaque laboratoire est donc invité à établir une moyenne analytique et une plage acceptable qui lui sont propres.

Les procédures d'attribution de valeurs ont été établies conformément à la norme internationale ISO 17021, à l'aide de procédures méthodologiques de référence dérivées de normes internationales essentielles.

Tableau 2 : Les valeurs approximatives doivent uniquement être considérées comme une indication de la concentration d'analyte. Aucune valeur analytique précise n'a été établie pour les composants indiqués dans le tableau 2, et des variations de ces composants peuvent être constatées d'un lot à un autre.

DE

Lagerung und Stabilität

Dieses Produkt ist bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum stabil wenn es bei 2-8 °C ungeöffnet gelagert wird. MeHg: Keine Angaben vorhanden.

Nach der Rekonstitution sind alle Elemente für 7 Tage stabil, wenn sie dicht geschlossen bei 2-8 °C.

Der Inhalt von Fläschchen, die aliquotiert und innerhalb von 30 min bei ≤ -20 °C in Röhrchen mit Schraubverschluss und Dichtungsgang erneut eingefroren wird, ist 1 Monat lang stabil.

Überschüssiges Material ist nach der Verwendung zu verworfen.

Einschränkungen

Stabilitätsdaten gelten nur, wenn bakterielle Kontamination vermieden wird. Verdächtige Trübung kann ein Hinweis auf Bakterienwachstum sein.

Aufbereiten von Proben vor der Analyse

Proben wurden durch Mikrowellenaufschluss im geschlossenen Behälter mit konzentrierter Salpetersäure aufbereitet.

Für MeHg-Messungen siehe Baxter, Roduškín et al «Clinical Chemistry 531 000-000 (2007)»

Zuordnung von Werten

Table 1: Die durchschnittlichen analytischen Werte sind von der wiederholten Analyse abgeleitet, die durch eine Zusammenarbeit mit unabhängigen Laboratorien erfolgt wurde, und sind spezifisch für diese Charge. Die Unsicherheit der analytischen Werte wird in einer einzigen Zahl, U (mit einem Abdeckungsfaktor $K = 2$) dargestellt, die verschiedene Faktoren berücksichtigt, darunter die Ungenauigkeit des für die Zuordnung angewandten Verfahrens sowie die Stabilität der gegebenen Elemente. Die analytische Unsicherheit (95 %-Konfidenzintervall) wird anhand des analytischen Werts $\pm U$ berechnet. Der analytische Wert für jedes Element kann aufgrund von Unterschieden bei der Probenaufbereitung, des verwendeten Instrumentes und/oder Verfahrens variieren. Deshalb wird empfohlen, das jedes Labor seinen eigenen analytischen Durchschnittswert und zulässigen Bereich festlegt.

Die Verfahren der Zuordnung der Werte erfolgen in Übereinstimmung mit dem internationalen Standard ISO 17021, der Referenzverfahren verwendet, die auf primäre internationale Standards zurückzuführen sind.

Table 2: Die ungefähren Werte sollten nur als Hinweis auf die Analytkonzentration betrachtet werden. Für die in Tabelle 2 angegebenen Elemente wurden keine präzisen analytischen Werte bestimmt. Bei diesen Elementen kann zu Unterschieden zwischen Chargen kommen.

ES

Conservación y estabilidad

Este producto permanecerá estable hasta la fecha de caducidad cuando se conserve sin abrir a 2-8 °C. Se declara toda responsabilidad por la estabilidad de MeHg.

Tras la reconstitución, todos los elementos son estables durante 7 días cuando se conservan tapados herméticamente a 2-8 °C.

Los viales aliquotados y congelados en menos de 30 minutos a ≤ -20 °C en tubos con tapón de rosca y junta tórica serán estables durante un mes.

Desecha el material sobrante después de cada uso.

Limitaciones

Todos los datos de estabilidad requieren que se evite contaminación bacteriana. Un aumento de la turbidez puede ser un indicio de crecimiento bacteriano.

Preparación de la muestra antes del análisis

Las muestras se prepararon mediante digestión por microondas en vaso cerrado con ácido nítrico

Asignación de valores

Table 1: Los valores analíticos medios provienen de análisis repetidos obtenidos a partir de la colaboración con laboratorios independientes y son específicos para este lote. La incertidumbre del valor analítico se presenta como un número único U (con un factor de cobertura $k = 2$), que tiene en cuenta diversos factores, incluida la imprecisión del método aplicado para la asignación, así como la estabilidad del elemento dado. La incertidumbre analítica (intervalo de confianza del 95 %) se calcula a partir del valor analítico $\pm U$. El valor analítico de cada elemento puede variar por motivo de diferencias en la preparación de la muestra, del instrumento y/o del método utilizado. Por tanto, se recomienda que cada laboratorio establezca su propio media analítica y su propio intervalo aceptable.

Los procedimientos de asignación de valores han sido establecidos de conformidad con la norma internacional ISO 17021 cuando procedimientos de método de referencia trazables a los estándares internacionales primarios.

Table 2: Los valores aproximados solo deben considerarse como una indicación de la concentración del analito. No se han establecido valores analíticos precisos para los elementos indicados en la table 2 y pueden producirse variaciones entre los lotes con estos elementos.

IT

Conservazione e stabilità

Il prodotto è stabile fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta se conservato chiuso a 2-8 °C. Nessuna garanzia su MeHg.

Dopo la ricostituzione, tutti gli elementi sono stabili per 7 giorni, se conservati con il coperchio ben chiuso a 2-8 °C.

I flaconi aliquotati e congelati entro 30 minuti a ≤ -20 °C in provette con tappo a vite e O ring sono stabili per 1 mese.

Dopo ogni uso eliminare il materiale rimanente.

Limiti

Tutti i dati relativi alla stabilità richiedono di evitare la contaminazione batterica. Una maggiore turbidità potrebbe essere indice di proliferazione batterica.

Preparazione del campione prima dell'analisi

I campioni sono stati preparati con digestione assistita da microonde a vascio chiuso con acido nitrico concentrato.

Per la misura di MeHg, consultare Baxter, Rodushkin et al «Clinical Chemistry 53:1 000-000 (2007)»

Assegnazione di valori

Tabella 1: I valori analitici medi derivano da analisi replicate ottenute grazie alla collaborazione con laboratori indipendenti e sono specifici di questo lotto. L'incertezza dei valori analitici viene presentata come numero singolo U (con un fattore di copertura $k = 2$), che prende in considerazione vari fattori, compresa l'incertezza del metodo applicato per l'assegnazione e la stabilità dell'elemento dato. L'incertezza analitica (intervallo di confidenza del 95%) è calcolata dal valore analitico +/- U. Il valore analitico di ogni elemento può variare a causa delle differenze a livello di preparazione del campione, di strumento utilizzato e/o di metodo utilizzato. È quindi consigliabile che ogni laboratorio stabilisca la propria media analitica e un intervallo accettabile.

Le procedure di assegnazione dei valori sono state stabilite in conformità alla norma internazionale ISO 17021¹⁾, applicando procedure per il metodo di riferimento basate su norme internazionali primarie.

Tabella 2: I valori approssimati devono essere considerati unicamente come indicazioni della concentrazione dell'analisi. Non è stato stabilito alcun valore analitico per i componenti riportati nella tabella 2 e tali componenti potrebbero variare da lotto a lotto.

PT

Armazenamento e estabilidade

Este produto permanecerá estável até à data de validade se guardado por abrir a 2-8 °C. Nenhuma garantia de MeHg.

Depois da reconstituição, todos os elementos permanecerão estáveis durante 7 dias, se guardados bem fechados no a 2-8 °C.

Os frascos distribuídos em alíquotas e congelados no espaço de 30 minutos a ≤ -20 °C em tubos com tampa de enroscar com vedação mantêm-se estáveis durante um mês.

Descarte o material restante após cada utilização.

Restrições

Todos os dados indicadores de estabilidade requerem a não contaminação bacteriana. O aumento da turbidez pode indicar desenvolvimento bacteriano.

Preparação da amostra antes da análise

As amostras foram preparadas por digestão assistida por MW em recipiente fechado com ácido nítrico concentrado.

Para a medição de metilmercúrio (MeHg), consulte Baxter, Rodushkin et al «Clinical Chemistry 53:1 000-000 (2007)»

Atribuição de valores

Quadro 1: Os valores médios analíticos derivam de réplicas de análises obtidas através da colaboração de laboratórios independentes e são específicos deste lote. A incerteza dos valores analíticos apresenta-se como um número angular U (com um fator de cobertura $k = 2$), tendo em consideração vários fatores, incluindo a imprecisão do método aplicado para a atribuição, bem como a estabilidade do elemento em questão. A incerteza analítica (95 % de intervalo de confiança) é calculada a partir do valor analítico +/- U. O valor analítico para cada elemento pode variar devido a diferenças na preparação da amostra, bem como no instrumento e/ou método utilizado(s). Recomendamos, assim, que cada laboratório estabeleça a sua própria média analítica e intervalo aceitável.

Os procedimentos de atribuição de valores foram estabelecidos em conformidade com a Norma Internacional ISO 17021¹⁾ utilizando procedimentos metodológicos de referência, rastreáveis em relação às principais normas internacionais.

Quadro 2: Os valores aproximados devem ser considerados somente como uma indicação de concentração de análises. Não foram estabelecidos valores analíticos precisos para os elementos registados no quadro 2 e pode ocorrer uma variação de lote para lote em relação a estes elementos.

NL

Opslag en stabiliteit

Dit product is stabiel tot de houdbaarheidsdatum, mits ongeopend bewaard bij 2-8 °C. Geen eisen voor MeHg.

Na reconstitutie zijn alle elementen gedurende 7 dagen stabiel, mits goed gesloten bewaard bij 2-8 °C.

Flacons die worden gealiquoteerd en binnen 30 minuten opnieuw bij ≤ -20 °C in flacons met schroefdeksel en O-ring worden ingevroren, zijn nog gedurende 1 maand stabiel.

Gooi het resterende materiaal na elk gebruik weg.

Beporingen

Alle stabiliteitsdata vereisen dat bacteriële contaminatie wordt vermeden. Een verhoogde troebelheid kan op bacteriële groei wijzen.

Monstervoorbereiding vóór analyse

Monsters werden voorbereid met microgolfverwarming in een gesloten vat met geconcentreerd salpeterminzuren.

Raadpleeg Baxter, Rodushkin et al «Clinical Chemistry 53:1 000-000 (2007)» voor MeHg-meting.

Toekenning van waarden

Tabel 1: De gemiddelde analytische waarden zijn afgeleid van replicatieanalyses die zijn verkregen door samenwerking met onafhankelijke laboratoria. Ze zijn specifiek voor deze partij. De onzekerheid van de analytische waarden wordt als enkel nummer weergegeven, U (met een dekingsfactor van $k = 2$), waarbij rekening gehouden wordt met verschillende factoren inclusief de onzekertheid van de toepaste methode voor de toekenning en de stabiliteit van het bepaalde element. De analytische onzekerheid (95%-betrouwbaarheidsinterval) wordt berekend aan de hand van de analytische waarde +/- U. De analytische waarde van ieder element kan variëren als gevolg van verschillen in voorbereiding van het monster en in het gebruikte instrument en/of de gebruikte methode. Daarom wordt aangeraden dat elk laboratorium zijn eigen analytisch gemiddelde en scheidbare bereik vaststelt.

De procedures voor waarde-toekenning zijn vastgesteld overeenkomstig de internationale norm ISO 17021¹⁾ met behulp van procedures voor referentiemethoden die herleidbaar zijn tot primaire internationale normen.

Tabel 2: De geschatte waarden dienen slechts te worden beschouwd als een indicatie van de analytische concentratie. Er zijn geen exacte analytische waarden vastgesteld voor de elementen die worden vermeld in tabel 2 en deze waarden kunnen per partij verschillen.

CS

Skladování a stabilita

Při skladování v nastaveném stavu za teploty 2-8 °C bude tento produkt stabilní až do data expirace. Neuvádí se žádná prohlášení k MeHg.

Po rekonstituci jsou všechny prvky stabilní po dobu 7 dnů při skladování v těsně za teploty 2-8 °C.

Ampule aliquotně rozdělěné a do 30 minut znovu zamražené ve zkumavkách se šroubovým uzávěrem s O-kroužkem při teplotě ≤ -20 °C zůstávají stabilní po dobu 1 měsíce.

Zbývající materiál po každém použití zlikvidujte.

Omezení

Všechná data týkající se stability předpokládají zamezení bakteriální kontaminaci. O bakteriální kontaminaci může svědčit zvýšená zkalení.

Příprava vzorku před analýzou

Vzorky byly připraveny v uzavřené nádobě mikrovlnným rozkladem a koncentrovanou kyselou destilovanou vodou.

Informace o měření MeHg naleznete v publikaci Baxter, Rodushkin et al «Clinical Chemistry 53:1 000-000 (2007)».

Přiznání hodnot

Tabulka 1: Střední analytické hodnoty jsou odvozeny z opakovaných analýz získaných prostřednictvím spolupráce a nezávislými laboratorii a jsou příznačné pro tuto partii. Nejistota analytických hodnot představuje jedno číslo U (s koeficientem rozdílení $k = 2$), se zřetelím k různým faktorům včetně nepřesnosti metody aplikované na přípravě a stabilitě daného prvku. Analytické nejistota (95% interval spolehlivosti) se vypočítává z analytické hodnoty +/- U. Analytické hodnoty pro každý prvek se mohou lišit z důvodu rozdílu v přípravě vzorků, přístroje či používané metody. Doporučuje se tedy, aby si každý laborator stanovil vlastní střední analytickou hodnotu a přijatelný rozsah.

Postupy přiřazování hodnot byly stanoveny v souladu s mezinárodní normou ISO 17021¹⁾ a využitím postupů referenční metody sledovaných dle primárních mezinárodních standardů.

Tabulka 2: Přibližné hodnoty je třeba pokládat pouze za indikaci koncentrace analytu. Pro prvky uvedené v tabulce 2 nebyly stanoveny žádné přesné analytické hodnoty a může u nich docházet k variabilitě mezi partiy.

NO

Oppbevaring og stabilitet

Denne produktet er stabilt inntil utløpsdato ved oppbevaring ved 2-8 °C som uåpnede glass. SEHO genererer ikke for Meig.

Etter rekonstitusjon er alle elementer stabile i 7 dager, gitt oppbevaring i lukkede glass ved 2-8 °C.

Glass som allykteres og frysas ned innen 30 minutter på ≤ -20 °C i nær med skrukork og O-ring er stabile i én måned.

Kast det gjenværende materialet etter hvert bruk.

Begrensninger

All stabilitetsdata forutsetter at bakteriel kontaminasjon unngås. Forhøyet turbiditet kan tyde på bakterievækst.

Bearbeidelse av materialet forut for analyse

Prøve ble fremstilt ved lukket beholder MW -assatert oppløsning med koncentrert salpeternyre.

For måling av Meig, se Baxter, Rodushkin et al «Clinical Chemistry 531 000-000 (2007)».

Tildeling av verdier

Tabell 1: De gjennomsnittlige analysesverdier er hentet fra repeterte analyser utført ved en rekke uavhengige laboratorier, og de er spesifikke for denne lot. Usikkerheten til hver enkelt analytisk verdi er presentert som et enkelt tall U (med en dekningsfaktor $k = 2$), som tar hensyn til en rekke faktorer inkludert metodens usikkerhet så vel som stabiliteten av det enkelte element. Analysesikkerheten (95 % konfidansintervall) beregnes ut fra analysesverdiene +/- U. Analysesverdiene for hvert enkelt element kan variere som følge av forskjeller i prøveopparbeidelse, analyseinstrument og/eller anvendt metode. Det anbefales derfor at hvert laboratorium etablerer sine egne analytiske middelevier og akseptable måleområder.

Prosedurene for etablering av analysesverdiene er utført i henhold til ISO 17017¹⁾ ved bruk av referansemetoder som kan spores tilbake til primære internasjonale standarder.

Tabell 2: Oriksverdiene bør kun betraktes som en veiledende angivelse av analytkonsentrasjonen. Det er ikke tillagt noen presise analysesverdier for elementene som er angitt i tabell 2, og lot til lot variasjon for disse elementene kan forekomme.

DA

Opbevaring og stabilitet

Denne produkt vil være stabilt inntil utløpsdatoen, hvis det oppbevares uløst ved 2-8 °C. SEHO genererer ikke for Meig.

Etter rekonstitusjon er alle elementer stabile i 7 dage, hvis de oppbevares i lukket ved 2-8 °C.

Helttåle, der portjonsmåle og frysas inden for 30 minutter ved ≤ -20 °C i nær med skrukork og O-ring, er stabile i én måned.

Kast det tilgjengelige materialet etter hver anvendelse.

Begrensninger

Alle stabilitetsdata forutsetter, at bakteriel kontaminering er undgått. Øget uklarehet kan være tegn på bakterievækst.

Klargjøring af prøve før analyse

Klargjøring af prøver skele ved mikrobølgeassisteret fordejsle med koncentreret salpeternyre i lukket beholder.

Der henvises til Baxter, Rodushkin et al «Clinical Chemistry 531 000-000 (2007)» vedrørende Meig-måling.

Tildeling af verdier

Tabell 1: De gennemsnitlige analysesverdier er udført af gentagne analyser, der er opført via et samarbejde med uafhængige laboratorier, og de er spesifikke for denne batch. Usikkerheden ved analysesverdiene er angivet som et enkelt tall U (med en dekningsfaktor $k = 2$), der medregner forskellige faktorer, herunder usikkerhed ved metoden, der er anvendt til tilblirningen, samt stabiliteten af det enkelte element. Analysesikkerheden (95 % konfidansintervall) beregnes ud fra analysesverdiene +/- U. Analysesverdiene for hvert element kan variere som følge af forskelle i klar-gjøring af prøver og anvendte instrumenter og/eller metoder. Det anbefales derfor, at hvert laboratorium fastlægger sit eget analysegenomsnit og acceptable område.

Procedurerne for tilblirning af verdier er fastlagt i overensstemmelse med ISO 17017¹⁾ international standard ved brug af referencemetodeprocedurer, der kan spores tilbage til primære internationale standarder.

Tabell 2: Oriksverdiene bør kun betragtes som vejledende angivelse af analytkonsentrasjonen. Der er ikke fastlagt præcise analysesverdier for elementene angivet i tabell 2, og der kan være forskelle i disse elementene fra lot til lot.

SV

Förvaring och stabilitet

Denne produkt är stabil inntil utgångsdatum vid förvaring vid 2-8 °C i oböppnade glas. Inga generer för Meig.

Etter rekonstitusjon, alle element är stabile i 7 dagar vid förvaring vill förslutet vid 2-8 °C.

Flaskor som portionerats och husas inom 30 minuter vid ≤ -20 °C i när med skrukork och O-ring är stabila under en måned.

Kassas återstående material efter varje användning.

Begränsningar

Alla stabilitetsdata kräver ett bakteriekontaminering undviks. Ökad turbiditet kan indikera bakterieväxt.

Provberedning innan analys

Provena beredda genom att mikrovågar i ett slutet kärl applicer med koncentrerad salpeternyre.

För mätning av Meig, se Baxter, Rodushkin et al «Clinical Chemistry 531 000-000 (2007)».

Fastställande av värden

Tabell 1: De genomsnitliga analysvärdena hämtas från replikatanalyser som erhålls genom samarbete med flera oberoende laboratorier. De är specifika för denna lot. Analysvärdenas osäkerhet anges som en enda siffra, U (med täckningsfaktor $k=2$) som tar hänsyn till olika faktorer inklusive osäkerheten för den metod som används liksom det givna elementets stabilitet. Analysosäkerheten (95 % konfidansintervall) beräknas från det analytiska värdet +/- U. Analysvärdet för varje element kan variera på grund av skillnader i prepareringen av provet, instrument och/eller den använda metoden. Det rekommenderas att varje laboratorium fastställer ett eget analytiskt medelvärde och godtagbart intervall.

Värde tilldelningsmetoderna har fastställts i enlighet med ISO 17017¹⁾ internationell standard som använder referensmetoder som är spårbara till primära internationella standarder.

Tabell 2: De osäkerliga värdena ska endast betraktas som en indikation på analytkonsentrasjonen. Inga exakta analysvärden har fastställts för de rapporterade elementen i tabell 2. Det kan även förekomma variation mellan olika lots för dessa element.

FI

Säilytys ja kestävyys

Tämä tuote on vakaa viikkään käyttöikänsä saakka, kun sitä säilytetään avamattomana 2-8 °C:n lämpötilassa. Ei vaurioita Meig.

Kaikki käyttökuntoon saatavat elementit ovat vakaita 7 päivän ajan, kun niitä säilytetään tiukasti suljetuina alkuperäisessä injektiofialissa 2-8 °C:n lämpötilassa.

Alkuvuotoja ja 30 minuutin kuluessa uudelleen ≤ -20 °C:ssa pakastetut, o-keuhkallisia korrekorkilla suljetut injektiofialit ovat vakaita yhden kuukauden ajan.

Jäljelle jäänyt materiaali hävitetään kunkin käyttökerran jälkeen.

Rajituksot

Kaikki säilytyystiedot edellyttävät että bakteerikontaminaatioita vältetään. Lisääntynyt sameus johtuu yleensä bakteerien kasvusta kontrollifialissa.

Näyttöiden valmistelu ennen analyysiä

Näytteet valmistetaan suljetussa astiassa mikroaaltovätelevä hajotuskaula, jossa käytetään konsentroitua salpeternyrea.

Lisätietoja määrittelyohjeen mittaamisesta: Baxter, Rodushkin et al «Clinical Chemistry 531 000-000 (2007)».

Arvojen määrittäminen

Tabell 1: Analyttiset keskiarvot on johdettu rinnakkaismäärittelyistä, jotka on saatu tekemällä yhteistyötä riippumattomien laboratorien kanssa, ja ne ovat spesifisiä tälle lotille. Analyttisten arvojen epävarmuus on esitetty yhtenä numerona U (käyttävuuskerroin $k=2$). Sillä huomioidaan eri kerran mukaan lukien määrittelyssä käytetyn metodin epätarkkuus sekä kyseisen lotin stabiliteetti. Analyttisten epävarmuus (95 prosentin luotettavuusväli) on laskettu analyttisistä arvoista +/- U. Jokaisen lotin analyttinen arvo voi vaihdella, mikä johtuu eroista näytteen valmistuksessa, työssä jne./tai käytetyssä menetelmässä. Sen vuoksi jokaisen laboratorion on suositeltavaa määrittää oma analyttinen keskiarvonsa ja hyväksyttävät vaihteluvälinsä.

Arvomäärittelyprosessit on laadittu kansainvälisen ISO 17017¹⁾ -standardin mukaisesti käyttäen vertailumenetelmiä, jotka ovat jäljitettävissä alkuperäisiin kansainvälisiin standardeihin.

Tabell 2: Laskennalliset arvot tulee pitää vain analyttipitoisuuden osoituksena. Taulukossa 2 esitetyille lotteille ei ole annettu tarkkoja analyttisiä arvoja, ja on otettava voi esiintyä näiden lotteiden arvovaihteluja.

Additional approximate values for Seronorm™ Trace Elements Whole Blood L-1 LOT 1702821

Element		Approximate value	Method
Barium	Ba	427 µg/L	ICP-SFMS
Bromine	Br	753 µg/L	ICP-SFMS
Cerium	Ce	75 ng/L	ICP-SFMS
Cesium	Cs	2,3 µg/L	ICP-SFMS
Dysprosium	Dy	10 ng/L	ICP-SFMS
Erbium	Er	7 ng/L	ICP-SFMS
Europium	Eu	<5 ng/L	ICP-SFMS
Gadolinium	Gd	13 ng/L	ICP-SFMS
Gallium	Ga	48 ng/L	ICP-SFMS
Gold	Au	<2 ng/L	ICP-SFMS
Hafnium	Hf	5 ng/L	ICP-SFMS
Holmium	Ho	<2 ng/L	ICP-SFMS
Iridium	Ir	<0,5 ng/L	ICP-SFMS
Iron	Fe	357 mg/L	ICP-SFMS
Iron	Fe	334 mg/L	ICP-AES
Lanthanum	La	73 ng/L	ICP-SFMS
Lutetium	Lu	<1 ng/L	ICP-SFMS
Neodymium	Nd	66 ng/L	ICP-SFMS
Niobium	Nb	30 ng/L	ICP-SFMS
Phosphorus	P	207 mg/L	ICP-SFMS
Phosphorus	P	203 mg/L	ICP-AES
Platinum	Pt	3,8 ng/L	ICP-SFMS
Potassium	K	1153 mg/L	ICP-SFMS
Potassium	K	1089 mg/L	ICP-AES
Praseodymium	Pr	17 ng/L	ICP-SFMS
Rhenium	Re	1,4 ng/L	ICP-SFMS
Rubidium	Rb	1,42 mg/L	ICP-SFMS
Samarium	Sm	12 ng/L	ICP-SFMS
Sodium	Na	1679 mg/L	ICP-SFMS
Sodium	Na	1598 mg/L	ICP-AES
Sulfur	S	1032 mg/L	ICP-SFMS
Sulfur	S	957 mg/L	ICP-AES
Tantalum	Ta	<1 ng/L	ICP-SFMS
Tellurium	Te	7 ng/L	ICP-SFMS
Terbium	Tb	1,3 ng/L	ICP-SFMS
Thorium	Th	9 ng/L	ICP-SFMS
Thulium	Tm	<1 ng/L	ICP-SFMS
Uranium	U	0,13 µg/L	ICP-SFMS
Ytterbium	Yb	8 ng/L	ICP-SFMS
Yttrium	Y	65 ng/L	ICP-SFMS
Zirconium	Zr	0,41 µg/L	ICP-SFMS