

## General information-Self Revision

### Units as powers of 10

Powers of 10 <span style="float: right; font-size: small;">sciencenotes.org</span>				
Prefix	Exponent	Number	Scientific Notation	Name
Exa (E)	18	1,000,000,000,000,000,000	$10^{18}$	quintillion
Peta (P)	15	1,000,000,000,000,000	$10^{15}$	quadrillion
Tera (T)	12	1,000,000,000,000	$10^{12}$	trillion
Giga (G)	9	1,000,000,000	$10^9$	billion
Mega (M)	6	1,000,000	$10^6$	million
kilo (k)	3	1,000	$10^3$	thousand
hecto (h)	2	100	$10^2$	hundred
deca (da)	1	10	$10^1$	ten
	0	1	$10^0$	one
deci (d)	-1	0.1	$10^{-1}$	one tenth
centi (c)	-2	0.01	$10^{-2}$	one hundredth
milli (m)	-3	0.001	$10^{-3}$	one thousandth
micro ( $\mu$ )	-6	0.000001	$10^{-6}$	one millionth
nano (n)	-9	0.000000001	$10^{-9}$	one billionth
pico (p)	-12	0.000000000001	$10^{-12}$	one trillionth
femto (f)	-15	0.000000000000001	$10^{-15}$	one quadrillionth
atto (a)	-18	0.000000000000000001	$10^{-18}$	one quintillionth

x 1000

( x 10 )

( x 10 )

( x 10 )

( ÷ 10 )

( ÷ 10 )

( ÷ 10 )

( ÷ 1000 )

One can be any unit, for example meter, Liter, gram, byte, etc ....

Scientific notation is a useful means to write out very large or very small numbers using powers of ten and exponents.

Each prefix has a symbol as shown between brackets in the table above.

In this lab we are more focused on very small numbers.

### Unit conversion:

Unit	Standard form for metres
<b>Metre (m)</b>	1
<b>Millimetre (mm)</b>	$x 10^{-3} m$
<b>Micrometre (<math>\mu m</math>)</b>	$x 10^{-6} m$
<b>Nanometre (nm)</b>	$x 10^{-9} m$
<b>Picometre (pm)</b>	$x 10^{-12} m$

X1000

X1000

X1000

X1000

÷1000

÷1000

÷1000

÷1000

The prefixes milli, micro, nano and Pico will always follow this rule.

Irrespective of the unit used:

For example:

Grams to milligrams (multiply by 1000).

Microliter to millilitre (divide by 1000)

يعد تحضير المحاليل والتعامل معها جزءاً أساسياً من الكيمياء الحيوية التجريبية. ومن أهم الأدوات التي يجب أن يمتلكها أي خريج علوم جديد هي الكفاءة في تحضير الكواشف والمحاليل المنظمة، والدقة في استخدام الماصات. أكثر ثلاث تعابير تركيز شيوغاً لدى علماء الكيمياء الحيوية هي: المولارية، والعيارية، والنسبة المئوية (حجم/حجم، وزن/حجم، ملغم/وزن، وزن/وزن)، والتركيز "X".

## Experiment 1

### Calculations in biochemistry

Preparing and handling solutions is an essential part of experimental biochemistry. One of the key tools any new science graduate can have is to be competent in preparing reagents, buffers, and accuracy in pipetting. The three most common concentration expressions biochemists use are molarity, normality, percent (vol/vol, wt/vol, mg% and wt/wt) and "X" concentration.

**SOLUTIONS:** Several methods have been developed for the preparation of solutions, the following methods are used in biochemistry:

1. Percent solution. (%)
2. Molar solution (Molarity)
3. Normality
4. "X" concentration.

غالباً ما يتم تعريف حلول المخزون (أو المحاليل المركزة) على أنها نسبة مئوية أو مولية أو عادية أو تركيز "X" غير الرسمي. إذا كان المحلول مكوناً من مكون واحد، فعادةً ما يتم عرض المولارية. عند استخدام عدد من المواد الكيميائية لصنع محلول مركز، يتم استخدام عامل التركيز X.

Stock solutions (or concentrated solutions) are often defined as percent, Molar, Normal or the informal "X" concentration. If a solution is made of one component, then the molarity is usually shown. When a number of chemicals are used to make a concentrated solution, the concentration factor X is used.

### PREPERATION OF SOLUTIONS:

#### 1. Concentrations in percent:



##### A. Percent by weight (w/w)

$$(X \text{ g of solute} / 100 \text{ g of solvent}) * 100 = X\%$$

Ex. a 10% (wt/wt) solution would be 10 g of solute and 90 g of solvent. total هو يلي 100 مش ال solvent

**Example**  
 A pharmacist asks a pharmacy technician to remove 30 gm of hydrocortisone from a tube of 1% hydrocortisone cream. How many grams of hydrocortisone are in 30 gm of the 1% product?  
 Set up a proportion  $\rightarrow 1 \text{ gm} : 100 \text{ gm} :: X : 30 \text{ gm}$   
 Solve:  $(100)(X) = (30)(1) \rightarrow 100X = 30 \rightarrow X = 30 \div 100 = 0.3 \text{ gm}$   
 Therefore, 30 gm of a 1% product contains 0.3 gm of hydrocortisone.

Fig. 25

$$\begin{array}{l}
 1 \text{ g hydro} \rightarrow 100 \text{ g cream} \\
 X \text{ g hydro} \rightarrow 30 \text{ g cream} \\
 \hline
 100X = 30 \\
 X = 0.3 \text{ g hydro.}
 \end{array}$$

6 ml Phenol → 200 ml product  
~~X ml phenol → 100 ml product~~  
 $200 \times = 600$   
 $X = 3 \text{ ml phenol in } 100 \text{ ml}$

**B. Percent by volume (v/v)**

$(X \text{ ml}/100 \text{ ml of total solution}) \times 100 = X\%$

Ex. A 10% (v/v) solution would be made by adding 10 ml of concentrated solution to 90 ml of diluent.

**Example**

In the preparation of 200 mL of a topical product, the pharmacist added 6 mL of liquefied phenol. What is the percentage (v/v) of liquefied phenol in the topical product?

In other words, if there are 6 mL of phenol in 200 mL, how much phenol is in 100 mL of this solution? This will give you the v/v percentage for the solution.

Solve by setting up a fractional equation and cross multiply.

$\frac{6 \text{ mL}}{200 \text{ mL}} = \frac{X}{100 \text{ mL}} \rightarrow (200)(X) = (100)(6) \rightarrow X = 600 \div 200 = 3 \text{ mL in } 100 \text{ mL or } 3\%$

Fig. 24

↓  
 3%  
 (v/v)  
 Phenol

**Drug Facts**

**Active ingredient**

Isopropyl alcohol 70% v/v..... Antiseptic

**Purpose**

**Uses**

Hand sanitizer to help reduce bacteria that potentially can cause disease. For use when soap and water are not available.

**C. Percent by weight per volume (w/v)**

$(X \text{ g of solute}/100 \text{ ml total volume}) \times 100 = X\%$

Ex. A 30% NaCl solution would be prepared by adding 30 g of salt to a vessel containing 50 ml of water then QS (fill to Quantity Sufficient) to measure 100ml.



الكمية الكافية للملء



Do not add 30 g to 100 ml of water, the resulting solution would be more dilute than planned.

سهل بإمكانك  
 تضرب مباشرة  
 وهو الاسهل او  
 نسبة وتناسب  
 وبرزو سهل

**Example**

How many grams of sodium chloride are in 500 mL of 0.9% NaCl solution?

$\frac{0.9 \text{ gm}}{100 \text{ mL}} \times 500 \text{ mL} = (0.9 \times 500) \div 100 \text{ mL} = 4.5 \text{ gm of sodium chloride}$

Using a fractional equation:

$\frac{0.9 \text{ gm}}{100 \text{ mL}} = \frac{X}{500 \text{ mL}} \quad 500 \text{ mL} \times 0.9 \text{ gm} = 100 \text{ mL} \times X \rightarrow 450 = 100X \rightarrow X = 4.5 \text{ gm sodium chloride}$

**Example**

How many grams of dextrose are required to prepare 3000 mL of a 10% solution? Remember 10% means 10 gm in 100 mL of solution.

$3000 \text{ mL} \times \frac{10 \text{ gm}}{100 \text{ mL}} = (3000)(10) \div 100 = 30,000 \div 100 = 300 \text{ gm}$

Therefore, 300 gm of dextrose is needed to prepare 3000 mL of a 10% solution.

Fig. 23

برزو سهل بس اضرب

جدا صغيرة وقليلة

#### D. Percent by mg per volume (mg %)

mg of solution/100 ml of total volume

Milligram % is often used in clinical laboratories. For example, a clinical blood sugar value of 225 means 225 mg of glucose per 100 ml of blood serum.

- Somehow similar to w/v, however here we use mg/100ml, rather than g/100ml.

#### 2. Concentration in molarity

المولارية هي وحدة التركيز الأكثر شيوعا في الكيمياء الحيوية. تأكد من أن الاختصار هو M كبير. تشير الأقواس ( ) إلى التركيز المولي، عادةً بوحدة M.

Molarity is the most common concentration unit in biochemistry. Make certain that it the abbreviation is a capital M. Brackets [ ] indicate molar concentration, usually in M.

$$\text{Molarity (M)} = \frac{\text{Number of Moles}}{1 \text{ liter of solution}} = \frac{\frac{\text{gram of solute}}{\text{molecular weight}}}{1 \text{ liter of solution}}$$



**Example:** How many moles of NaCl are present in 150 mL of a 1.5 M solution?

number of moles = M x V

easy one

where  $V = \frac{150 \text{ ml}}{1000 \text{ ml/L}} = 0.15 \text{ L}$ , and  $M = 1.5 \text{ moles/L}$

number of moles =  $1.5 \text{ moles/L} \times 0.150 \text{ L}$   
 = 0.225 mole NaCl;

MW NaCl= 58.5 g/mole, which is also equal to  $0.225 \times 58.5 = 13.1125 \text{ g NaCl}$ .

Dilute solutions are often expressed in terms of a smaller unit therefore,

if you divide both units by 1000 , this will convert the unit from liter to ml and from mmol to μmol and so on

1mM =  $10^{-3} \text{ M}$  = 1mmole/liter = 1 μmole/ml

1μM =  $10^{-6} \text{ M}$  = 1μmole/liter = 1nmole/ml

1 nM =  $10^{-9} \text{ M}$  = 1nmole/liter = 1pmole/ml =  $1 \times 10^{-12} \text{ mol/ml}$

1 mmol/Liter =  $\frac{1 \times 10^{-3} \text{ mol}}{1 \text{ L}}$  divided by 1000 for both

$$= \frac{1 \times 10^{-3} \text{ mol}}{1 \times 10^3 \text{ ml}} = \frac{1 \times 10^{-6} \text{ mol}}{1 \text{ ml}} = \frac{1 \mu\text{mol}}{\text{ml}}$$

تشير العيارية إلى تركيز المحلول معبراً عنه بعدد مكافئات المذاب في 1 لتر من المحلول. وهذا هو نفسه عدد الأوزان المكافئة بالمليغرام (الأوزان المكافئة بالمليغرام، المكافئات الملي "meq") في 1 مل من المحلول. يُشار إلى العيارية بالرمز N وتُستخدم في الحسابات التي تتضمن تفاعلات الحمض والقاعدة (التعادل) و تفاعلات الأكسدة والاختزال (ريدوكس).

### 3. Concentration in normality

Normality refers to the concentration of a solution expressed in terms of the number of equivalents of solute in 1 L of solution. This is same as the number of milliequivalent weights (milligram-equivalent weights, milli equivalents "meq") in one mL of solution. Normality is indicated by the symbol N and is used, in calculations involving acid-base (neutralization) and oxidation-reduction (redox) reactions.

$$\text{Normality (N)} = \frac{\text{Number of equivalents}}{\text{Volume (1 liter)}}$$

No. of equivalent = (weight ÷ EW)

EW = molecular weight / n

n هي عبارة عن ال H و ال OH يلي بإمكان الحمض او القاعدة يستبدلهم او يطلعهم فمثلا ال HCl عندو وحده ال HCOOH برضو عنده وحده فقط هون النقطة انه بقدر يطلعهم بس

The EW is the mass of one mole of ion (either H<sup>+</sup> or OH<sup>-</sup>)

Where n is the number of replaceable H<sup>+</sup> or OH<sup>-</sup> per molecule for acids and bases

$$N = (n * \frac{\text{weight}}{\text{molecular weight}}) / \text{volume in litre}$$

$$N = [(n * (\text{weight} / \text{molecular weight}))] / \text{volume litre}$$

$$N = [n * \text{no of moles}] / \text{volume in litre}$$

$$N = n * M$$

Example:

Calculate the no of moles and molarity of 0.5 N solution of H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> made using 500 ml?

$$N = n * M$$

$$0.5 = 2 * M \text{ -----} \rightarrow M = 0.5 / 2 = 0.25 M$$

M = No of moles / volume in litre

No of moles = M \* volume in litre

$$= 0.25 * (500 / 1000)$$

$$= 0.125 \text{ mole.}$$

\* While Molarity refers to the concentration of a compound or ion in a solution, normality refers to the molar concentration only of the acid component or only of the base component of the solution. Thus, normality offers a more in-depth understanding of the solution's concentration in acid-base reactions.

بينما تشير المولارية إلى تركيز مركب أو أيون في محلول، تشير العيارية إلى التركيز المولي للمكون الحمضي فقط أو المكون القاعدي فقط في المحلول. وبالتالي، توفر العيارية فهماً أعمق لتركيز المحلول في تفاعلات الحمض والقاعدة.

$$N = n * M \Rightarrow M = 0.25 M$$

$$0.5 = 2M$$

$$M = \frac{\text{moles}}{V}$$

$$0.25 = \frac{\text{mole}}{0.5 L} \rightarrow 500 \text{ ml} = 0.5 L$$

$$\text{moles} = 0.125 \text{ moles}$$

غالبًا ما يكون من الضروري تغيير تركيز محلول ما إلى تركيز محلول أكثر تخفيفًا. في عملية التخفيف، تبقى الكمية الإجمالية للمذاب ثابتة، بينما ينخفض تركيزه فقط. يمكن القيام بذلك باستخدام العلاقة الأساسية التالية:

## Dilutions

It is often necessary to change the concentrations of one solution to that of a more dilute solution. In the process of dilution, the total amount of solute remains unchanged, only its concentration is decreased. This can be done by utilizing the fundamental relationship just as follows:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

where:

C1 = concentration of initial solution.

V1 = volume of initial solution.

C2 = concentration of desired (final, diluted) solution.

V2 = volume of desired (final, diluted) solution.

يتم استخدام هذا الحساب لتخفيف المحاليل المركزة، عادةً تلك التي تكون بالنسبة المئوية أو المولي أو الوحدات الطبيعية، كما يمكن استخدام العامل X.

- This calculation is used for diluting concentrated solutions, usually those that are in percent, molar, or normality units, also X factor can be used.
- It is NOT intended to be used when dealing with serial type of dilutions.
- However, it is very easy to use, but can be a large source of error for if the calculations are not performed correctly. The biggest problem in using this method is when you don't keep the units the same. When using millilitres on one side of the equation then you need to use millilitres on the other. The same goes for concentration units.

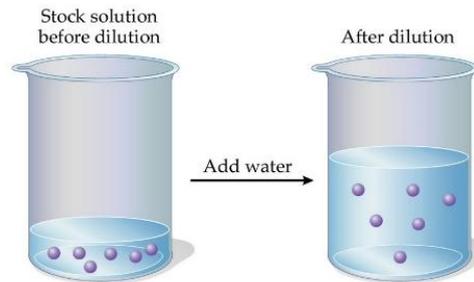
يس المقصود استخدامه عند التعامل مع النوع التسلسلي من التخفيفات.

ومع ذلك، إنه سهل الاستخدام للغاية، ولكنه يمكن أن يكون مصدرًا كبيرًا للخطأ إذا لم يتم إجراء الحسابات بشكل صحيح. أكبر مشكلة في استخدام هذه الطريقة هي عدم الاحتفاظ بالوحدات كما هي. عند استخدام المليلتر في أحد طرفي المعادلة، فإنك تحتاج إلى استخدام المليلتر في الطرف الآخر. وينطبق الشيء نفسه على وحدات التركيز.

When additional diluent is added to an aqueous solution, the concentration of that solution decreases. This is because the number of moles of the solute does not change, while the volume of the solution increases. the number of moles are the same before and after dilution.

عند إضافة مادة مخففة إضافية إلى محلول مائي، ينخفض تركيز هذا المحلول. وذلك لأن عدد مولات المذاب لا يتغير بينما حجم المحلول يزداد. عدد الشامات هو نفسه قبل وبعد التخفيف.

$$\text{No of moles} = \text{no of moles}$$
$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$



The two beakers contain the same number of moles of solute.

**Example:** Prepare 50.0 mL of a 2.0 N solution from a 5.0 N stock solution.

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$5.0 \times V_1 = 2.0 \times 50$$

$$V_1 = 20.0 \text{ mL}$$

To 20.0 mL of stock solution add 30.0 mL of diluent.

**Example:** Dilute 7.0 mL of a 5.0% (w/v) solution to a 3.0% (w/v) solution.

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$5.0\% \times 7.0 = 3.0\% \times V_2$$

$$V_2 = 11.7 \text{ mL}$$

To 7.00 mL of initial solution add 4.7 mL of diluent.

#### 4. The “X” Factor

عندما يحتوي المحلول على خليط (أكثر من مادة كيميائية واحدة)، يدخل عامل X حيز التنفيذ. عادةً ما تحتوي المحاليل المنظمة المستخدمة في مختبرات الكيمياء الحيوية على ثلاثة أو أربعة مكونات. بدلاً من سرد التركيز المولي لكل مادة كيميائية في المحلول، قد يُصنف المحلول المركز الأساسي على أنه محلول منظم 10X. هذا يُخبر الباحث أن المحلول الأساسي أكثر تركيزًا بعشر مرات مما هو مطلوب للاستخدام. وبالتالي، يُوصى بالتخفيف.

When a solution contains a mixture (more than one chemical) in a solution, the X factor comes into play. The buffers used in biochemistry laboratory usually have three or four components. Instead of listing the molar concentration of each chemical in the solution, a stock concentrated solution might be labelled as 10X Buffer. This tells the researcher that the stock solution is ten times more concentrated than it needs to be for use. Thus, a dilution is in order.

Components	1X (working concentration)	10X (stock concentration)
A	1 M	10 M
B	0.5 M	5 M
C	0.3 M	3 M
D	2% w/v	20% w/v
E	0.1% v/v	1% v/v

When making a concentrated stock solution (e.g 10X buffer) you need to know the “working” concentration which is the concentration of each of the chemicals when the solution is at the correct concentration to use. This is called 1X. All concentrated stock solutions that use the X factor, uses the working concentration as 1 X. However sometimes it can be 2X or 5X.

عند صنع محلول مخزون مركز (على سبيل المثال 10X عازلة)، فإنك تحتاج إلى معرفة تركيز العمل وهو تركيز كل مادة كيميائية عندما يكون المحلول عند التركيز الصحيح للاستخدام. وهذا ما يسمى 1X. جميع محاليل المخزون المركزة التي تستخدم العامل X، تستخدم تركيز العمل كـ 1 X. ولكن في بعض الأحيان يمكن أن يكون 2X أو 5X.

$$\text{Volume of stock solution (A) needed} = \frac{\text{Volume of 1X needed}}{\text{Concentration factor}}$$

Ex Let's say you need 50 ml of 1X running buffer to perform an experiment and the stock concentration is 50X.

$$= \frac{50 \text{ ml}}{50 X} = 1 \text{ ml is required from A} + 49 \text{ ml diluent.}$$

يعني باخذ 1ml و يضيف عليها 49ml diluent

Or you can use

$$C1 * V1 = C2 * V2$$

$$50X * V1 = 1X * 50 \text{ ml} \rightarrow V1 = 1 \text{ ml is required from A} + 49 \text{ ml diluent.}$$

### ❖ Dilutions

There are two main methods for interpreting dilutions 1 to 10

(أ) تعني وجود جزء واحد من المركز لكل 10 أجزاء من المحلول النهائي (على سبيل المثال، 1 مل من المركز و 9 مل من المذيب بحجم نهائي 10 مل)

a) means that there is one part of concentrate in 10 parts of final solution (e.g. 1 ml of concentrate and 9 ml solvent with a final volume of 10 ml)

(ب) يعني وجود جزء واحد من المحلول المركز إلى 10 أجزاء

b) means that there is one part of concentrate to 10 parts of solvent (or 1 in 11) (e.g. 1 ml of concentrate and 10 ml vehicle with a final volume of 11 ml).

من المذيب (أو 1 في 11) (على سبيل المثال، 1 مل من المحلول المركز و 10 مل من المذيب بحجم نهائي 1 مل).

The former convention (one part / total parts) is frequently used because the dilution factory is easy to work with. In this case it is best to read "dilute 1:10" meaning "add one part of the sample plus nine parts of diluent". Now it is easier to determine the calculations.

يستخدم الاصطلاح السابق (جزء واحد / إجمالي الأجزاء) بشكل متكرر لأن عملية التخفيف سهلة. في هذه الحالة، من الأفضل قراءة "تخفيف 1:10" بمعنى "إضافة جزء واحد من العينة بالإضافة إلى تسعة أجزاء من المخفف". الآن أصبح من الأسهل تحديد الحسابات.

If you wish determine the volumes of each part. A dilution of 1:X means your concentrated solution should be diluted to 1Xth of its current concentration.

إذا رغبت، حدد حجم كل جزء. التخفيف بنسبة 1:X يعني أنه يجب تخفيف المحلول المركز إلى عُشر تركيزه الحالي.

$$\text{Volume of each part.} = \frac{\text{total volume}}{\text{total parts "X"}}$$

Add the concentrated solution to (X-1) volumes of diluent. Always add a small amount to a larger amount.

أضف المحلول المركز إلى (X-1) حجفاً من المخفف. أضف دائماً كمية صغيرة إلى كمية أكبر.

$$V \text{ of each part} = \frac{100}{5} = 20 \text{ ml} \quad / \quad (X-1) = 5-1 = 4 \text{ parts}$$

$$\Rightarrow V \text{ of each part} * \text{no. of parts} = 20 \times 4 = 80 \text{ ml}$$

Example: a dilution of 1:5, means that the concentrated solution should be diluted to 5<sup>th</sup> of its current concentration



I have 100 ml solution of concentration 10%,

Volume of each part =  $100/5 = 20 \text{ ml}$  for each part

Add 20 ml from concentrated stock to X-1 parts

i.e.  $5-1 = 4 \text{ parts}$

4 parts \* volume of each part

=  $4 * 20 \text{ ml} = 80 \text{ ml}$  diluent (final solution concentration is 2%)

$$\begin{array}{l} \text{مثله} \\ \text{بقسمه على} \\ 5 \end{array} \rightarrow \frac{10\%}{5} = \underline{\underline{2\%}}$$

### ❖ Serial dilution: التخفيف التسلسلي:

Serial dilution is used when you need a volume or amount that is too small to measure (example, prepare 0.00007 mg/ml, there are no balances to measure this small weight amount), options in this case is:

يستخدم التخفيف التسلسلي عندما تحتاج إلى حجم أو كمية أكبر من اللازم. صغير جدا للقياس (مثال: تحضير 0.00007 ملغم/مل، لا توجد موازين لقياس هذه الكمية الصغيرة). الخيارات في هذه الحالة هي:

- 1- Prepare larger volumes than what you need. -1 حضر أحجامًا أكبر من الحجم المطلوب.
- 2- Make a small volume of a higher concentration and then perform multiple dilution steps (serial dilution) to reach the required concentration. A serial dilution is a stepwise series of dilutions which starts with a small amount of starting material and amplifies the dilution factor serially by using diluted material as a source for subsequent dilutions.

قم بتحضير حجم صغير من تركيز أعلى، ثم قم بإجراء خطوات تخفيف متعددة (التخفيف التسلسلي) للوصول إلى التركيز المطلوب. التخفيف التسلسلي هو سلسلة متدرجة من التخفيفات تبدأ بكمية صغيرة من المادة الأولية وتزيد عامل التخفيف بشكل تسلسلي باستخدام المادة المخففة كمصدر للتخفيفات اللاحقة.

Serial dilution advantages include:

- 1- Saving reagents/spaces
  - 2- Used in experiments which require standard curve.
- ✓ Serial two-fold and ten-fold dilutions are commonly used to prepare diluted analytes. Serial dilutions are also commonly used to avoid having to pipette very small volumes

✓ تُستخدم التخفيفات المتسلسلة بمقدار الضعف والعشرة أضعاف بشكل شائع لتحضير المحاليل المخففة. كما تُستخدم التخفيفات المتسلسلة بشكل شائع لتجنب الحاجة إلى استخدام الماصة لسحب أحجام صغيرة جدًا

$$1 \text{ mg/ml} = 1 \times 10^6 \text{ ng/ml}$$

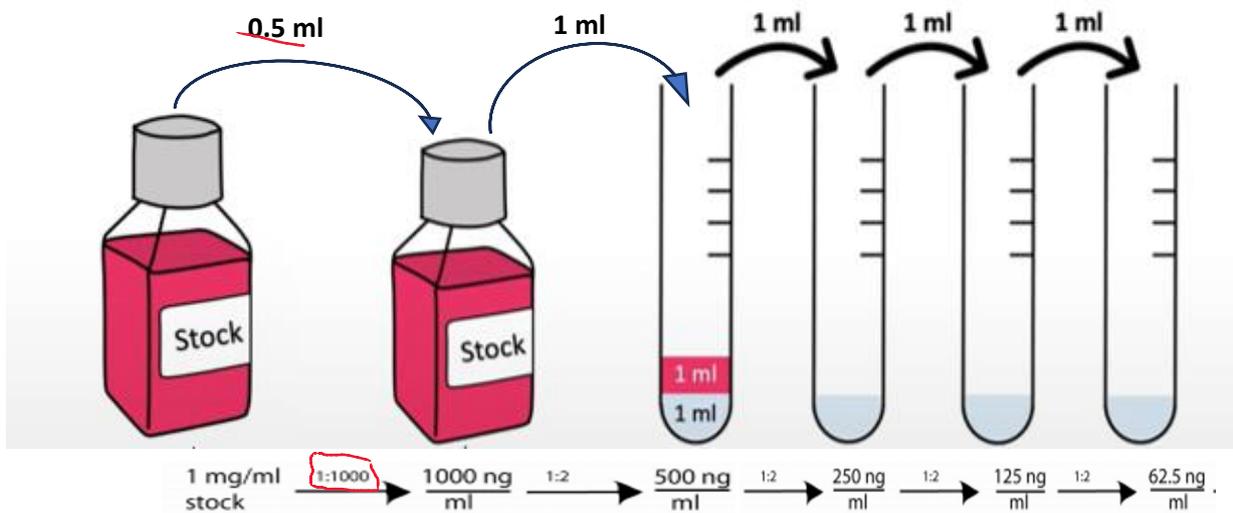
**Example:**

في شرح للخطوات بالصفحة قبل الاخيرة

I want to prepare various concentration of solution Y in the range of 1000 ng/ml to about 60 ng/ml, and the stock concentration is 1 mg/ml

**Answer:** we cannot weigh any amount in nanogram, therefore a serial dilution is required.

1- The first step: dilute the stock to get the highest primary concentration required (1000 ng/ml). This will be done by performing an initial 1: 1000 dilution.



To prepare 500 ml of 1000 ng/ml (you can prepare any volume, e.g. 1000 ml, 250 ml, as long as your concentration calculation is correct):

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2$$

1,000,000 ng/ml \* V<sub>1</sub> = 1000 ng/ml \* 500 ml → V<sub>1</sub> = 0.5 ml is required from stock + 499.5 ml diluent.

OR

$$\frac{C_1}{C_2} = \text{dilution factor}$$

$$\frac{1,000,000 \text{ ng/ml}}{1,000 \text{ ng/ml}} = 1000 \text{ dilution factor}$$

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

$$(1 \times 10^6)_{\text{ng/ml}} V_1 = 1 \times 10^3 \text{ ng/ml} (500) \text{ ml}$$

$$V_1 = 0.5 \text{ ml}$$

Then divide the volume required by the dilution factor:

= 500 ml/1000= 0.5 ml from stock + 499.5 ml diluent.

2- To obtain the range required, **two-fold dilutions** can be performed.

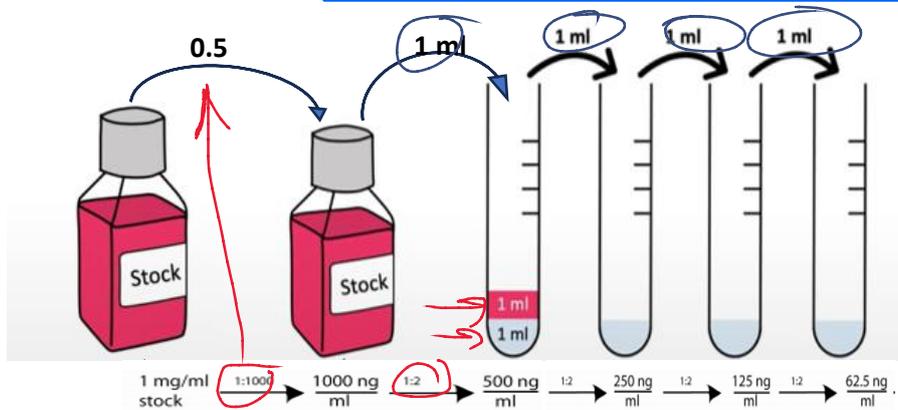
لأول تخفيف 1:2، نأخذ 1 مل من المحلول بتركيز 1.000 نانوغرام/مل ونضيفه إلى 1 مل من المخفف في الأنبوب التالي. سينتج عن ذلك محلول بتركيز 500 نانوغرام/مل.

For the first 1:2 dilution we would take 1 ml of the 1,000 ng/ml solution and add it to 1 ml of diluent in the next tube. This will result in a solution with a concentration of 500 ng/ml.

This solution is then used in a subsequent or serial dilution by taking 1 ml of the previous 500 ng/ml solution and adding it to the next tube containing ml of diluent.

This dilution will now result in a solution with a concentration of 250 ng/ml. This process is repeated until a final solution at a concentration near 60 ng/ml is made.

In the example below, the highest dilution has a concentration of 62.5 ng/ml.



يمكن حساب عامل التخفيف الإجمالي لأي من الحلول الناتجة عن طريق ضرب كل عامل تخفيف يؤدي إلى تخفيف معين. على سبيل المثال، إذا أردنا إيجاد التخفيف الإجمالي لمحلول 125 نانوجرام/مل:

The total dilution factor for any of the resulting solutions can be calculated by multiplying each dilution factor leading up to a particular dilution. For example if we wanted to find the total dilution for the 125 ng/ml solution:

$$DF_{total} = DF1 \times DF2 \times DF3 \times DF4$$

$$DF_{total} = 1000 \times 2 \times 2 \times 2$$

$$DF_{total} = 8000$$

You can use the  $DF_{total}$  to calculate the concentration from the stock. The stock is  $1,000,000 \text{ ng/ml} / 8,000 = 125 \text{ ng/ml}$ .

Note: you can use various volumes, add 0.5 ml from the dilution to 0.5ml, or 1 ml from the dilution you want to 1 ml, or 2 ml from the dilution you want to 2 ml, this depends on the volume you want for your experiment, and the diluent quantity available in your lab.

ملاحظة: يمكنك استخدام أحجام مختلفة، أضف 0.5 مل من التخفيف إلى 0.5 مل، أو 1 مل من التخفيف الذي تريده إلى 1 مل، أو 2 مل من التخفيف الذي تريده إلى 2 مل. يعتمد هذا على الحجم الذي تريده لتجربتك، وكمية المخفف المتوفرة في مختبرك.

## YouTube Link:

### Serial dilution

<https://www.youtube.com/watch?v=vYWFX4IXc5Y>

### Drug reconstitution

<https://www.youtube.com/watch?v=8ECYuiHFObU>

### Dosage Calculations Made Easy

<https://www.youtube.com/watch?v=TK3ZAaMuhYk>  
<https://www.youtube.com/watch?v=TK3ZAaMuhYk>

والمطلوب انه نحضر تراكيز تكون ما بين ال 60-1000 ng/ml وبالتاكيد من الصعب انه نوزن على الميزان اوزان بال

فعشان هيك بنعمل سلسلة من التخفيفات لحتى نوصل للتركيز المطلوب

طيب هسا لازم نخفف فبالبداية عشان نحضر 500ml بدنا 1:1000

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$
$$1 \times 10^6 \text{ ng/ml} \cdot V_1 = 1000 \text{ ng/ml} \cdot 500$$
$$V_1 = 0.5 \text{ ml from Stock}$$

هذا يلي لازم نضيفه لحتى نخفف

هو معطينا بالسؤال كالاتي : انه ال stroke volume=1mg/ml

فأول اشي بنعمله انه بنساوي الوحدات ال stroke volume

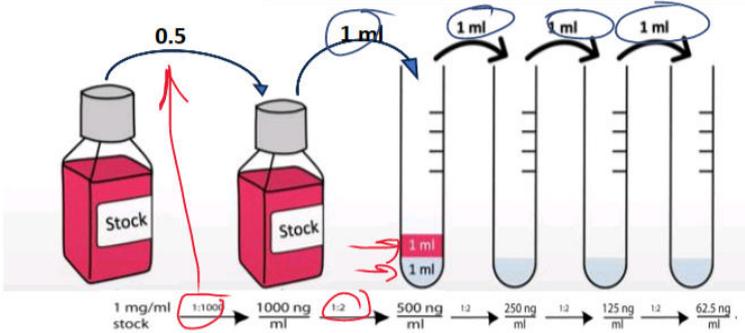
$$1 \text{ mg/ml} = 1 \times 10^6 \text{ ng/ml}$$

وهسا هيك خففنا اول مره وخلصنا ووصلنا ل 1000nm/ml وبدنا نضل نخفف لحتى نوصل ل 60

شو نعمل ؟ بنوخذ 1ml من العبوة الجديدة يلي حضرناها الي هي 500ml ونضيفه على 1ml من المخفف

وبعدنا بنخلط وبنرجع نوخذ 1ml من يلي خلطناه ونضيفه على المخفف وبنضل نكرر لحتى نوصل للتركيز المطلوب او قريب منه يعني

وهون ضلينا نوخذنا 1ml مغل ما شفنا



ضلينا نخفف مغل ما قلنا لحتى وصلنا 62.5 قريب كفاية

طيب شو بنستفيد احنا من هاي الطريقة 1:2 ؟

احنا لما قعدنا نضيف كميات متساوية ويالي هي 1ml على بعضهم هيك قاعدين بنخفف للنص بكل مره بنعمل هذه الخطوات

ومعلومه مهمه مش شرط دايما 1ml لهم نضيف تراكيز متساوية على بعضها عشان يخفف للنص

القانون الاخير بس لحتى تحسب انه كم نسبة يلي خففته من ال stock volume لحتى وصلت التركيز الفلاني

فمثلا لو انا وصلت تركيز 125 وبدي اعرف انا كم سحبت بستخدم القانون DF total = DF1 × DF2 × DF3 ....

$$DF_{Total} = 1000 \times 2 \times 2 \times 2$$

$$= 8000$$

$$\frac{\text{Stroke V}}{DF_{Total}} = \frac{1 \times 10^6 \text{ ng/ml}}{8000} = 125 \text{ ng/ml}$$

طيب شو هو ال DF ؟ هي النسبة يلي كنا بنخفف فيها فمثلا اول مره خففنا ب 1:1000 وبعدين ضلينا نخفف 1:2 فبنحسبو كالاتي

طيب لو كان هو معطيني ال DF total وانا بطبيعة الحال معي ال stroke volume فهل بقدر اطالع التركيز يلي وصلته ؟ طبعاً بقدر

## Experiment 2

### Experimental applications on solution preparation and dilution.

In this laboratory you will be preparing and diluting solution as per given in the lab. In all steps distilled water will be used as a diluent

Using the following materials, prepare the solution below

#### Materials

- NaCl
- KCl
- Red buffer
- 10% bromophenol blue stock (3mls)
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- Volumetric flasks (50 mL)
- Digital balance
- Graduated pipettes
- Pipette filler.
- Distilled water
- Test tubes
- Erlenmeyer flask
- Beaker

- 1- Prepare 4 mls of 0.078% of bromophenol blue, given that the stock concentration is 10% bromophenol blue. Write down the procedure you followed in your report sheet.
- 2- Prepare 50 ml of 20% w/v NaCl?
- 3- Prepare 50 ml of 136.8 mM NaCl using the stock solution (20 % w/v) you prepared in the last step, knowing that the molecular weight of NaCl is 58.44 g/mole.
- 4- You have a 10X red buffer, prepare 10 ml of 1X buffer.
- 5- Prepare 50 ml of 150 mM KCl knowing that the molecular weight of KCl is 74.5513
- 6- Prepare 50 ml of 0.2 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, from a stock of 2 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> found in the fume hood?