

# Pipettes 操作簡介

本文版權沒有，歡迎使用 2011-12-26  
開南大學保健營養學系 江易原 編輯

說明：

在生物與化學領域的實驗中，如何取特定量的化學藥品以進行實驗，是很重要的事情。固體的，可以用秤重；液體的可以量體積。而生物領域的實驗，多是水溶液，因此有數種工具可以用來取特定的體積。早期的科學家使用有刻度的玻璃管，配合吸球，可以取特定的體積，這樣的玻璃管稱做 pipettes，翻譯做「吸管」。因為每次取樣品，需要更換 pipettes，尤其是要無菌操作時，需要事先準備大量玻璃 pipette。後來發展出使用特定器材，配合拋棄式的塑膠尖管（叫作 tips），可以不用事先準備大量的玻璃 pipette，省下時間，同時提升工作效率。這樣的塑膠手把也叫做 pipette（或是 micropipette, pipette），是目前生物實驗室的最常用來取特定體積，尤其小於 1 mL 液體的器材。

初學者聽到吸管，會想到喝飲料的吸管（straws），為避免困擾，多數人喜歡直接叫 pipettes。但是若有機會，還是建議同學們要學會使用安全吸球與玻璃 pipette 的操作，不但是基本功夫，也因為價格不高，某些場合在現代 pipettes 無法勝任時（例如要取液面下 20 cm 的樣品），這樣的老工具還是最實用的。

一、認識 pipettes（請見代理商的[網頁說明](#)）

1. 不同容量，不同用途
  1. 100-1000  $\mu\text{L}$ （藍白外觀）
  2. 20-200  $\mu\text{L}$ （黃白外觀）
2. 塑膠尖管（tips），配合不同的 pipettes
  1. 100-1000  $\mu\text{L}$ ：經常是藍色或是無色
  2. 20-200  $\mu\text{L}$ ：經常是黃色

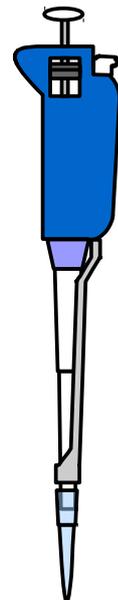
\*\*某些實驗需要無菌操作，會把 tips 放到特定的塑膠盒中先滅菌。

3. 實作
  1. 調整適當的體積
  2. 套上 tip（壓，轉半圈，若不緊則會漏水）
  3. 取液體：儘量保持筆直，下壓一段，慢慢放手（放太快可能讓液體濺到 pipette）
  4. 放出液體：慢慢下壓一段，再壓第二段，把留在 tip 末段一小段液體排出。
  5. 移除 tip
  6. 基本檢查、保養、校正

千萬小心：

- \*使用時握緊，不要掉到桌面或是地上
- \*養成習慣，無論 tip 裏面有沒有液體，手持 pipette 實儘量垂直，避免傾斜或是水平。

練習：請使用小燒杯裝自來水先練習使用 pipette。



## 連續稀釋 (serial dilution) 簡介

說明：

在生物實驗中，需要把樣品進行大量的稀釋，例如稀釋一百萬倍，經常使用的方式是 serial dilution (翻譯做連續稀釋或是循序稀釋)。而 serial dilution 是生物實驗中很實用也重要 (但不難) 的技巧。很最常用方式是 1+9 (一倍的樣品加上九倍的稀釋液)，例如 1 mL + 9 mL，或是 50 mL 加上 450 mL 都是 1+9 的方式。

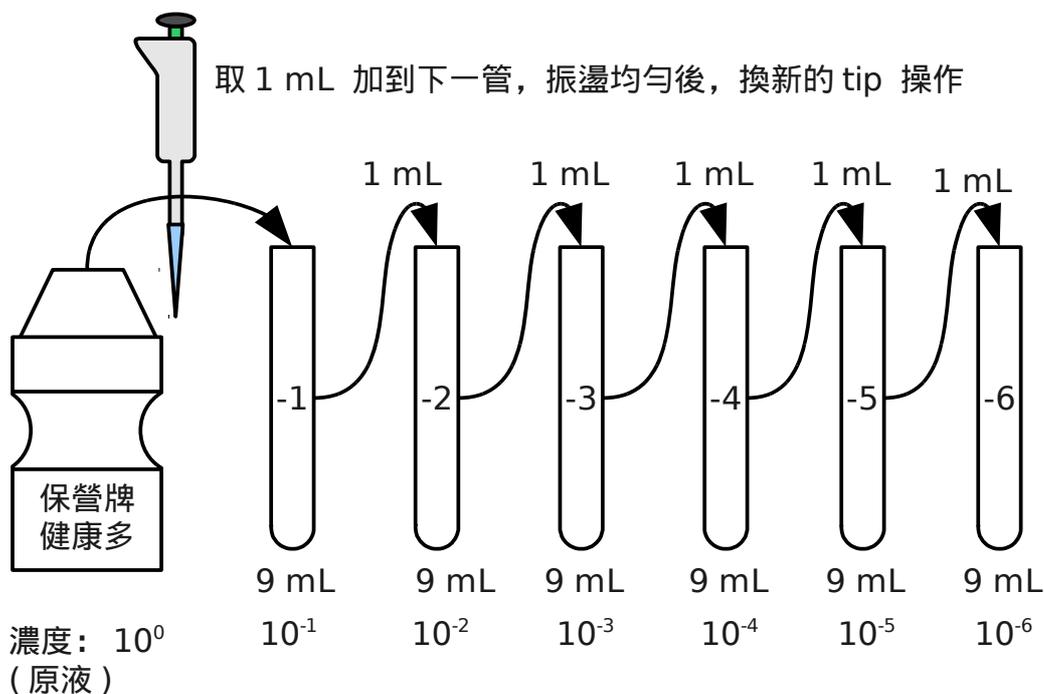
在此介紹微生物菌液進行連續稀釋的操作方式。試管中有 9 mL，0.85% NaCl 經過滅菌的水溶液 (減少微生物稀釋時受到滲透壓的改變的而影響活性)

操作：

1. 操作前，請先用 70% 酒精擦過桌面，以及噴在雙手，進行殺菌。
2. 每一組將會發給市售的乳酸飲料 (CNS3058 國家標準，稀釋發酵乳)。
3. 每組有 6 支滅過菌的稀釋液 (9 mL，0.85% NaCl)，請使用奇異筆，在試管上標示 -1 到 -6 (代表稀釋度)。
4. 使用藍色的 pipette，套上 tip 後，取 1 mL 飲料加到第一支，使用試管振盪機，將樣本混勻。換新的 tip，後取 1 mL 加到第二支試管，技巧同上，直到稀釋到第六支。

技巧：

1. 每次取用一次樣品後，將 tip 移除，一定要換用新的 tip，以免干擾濃度的準確性。
2. 手握 pipette，可以使用小指及無名指夾住塑膠蓋，過火之後取 1 mL 的樣品，再次過火之後蓋回塑膠蓋，如此重複往低濃度的試管操作。

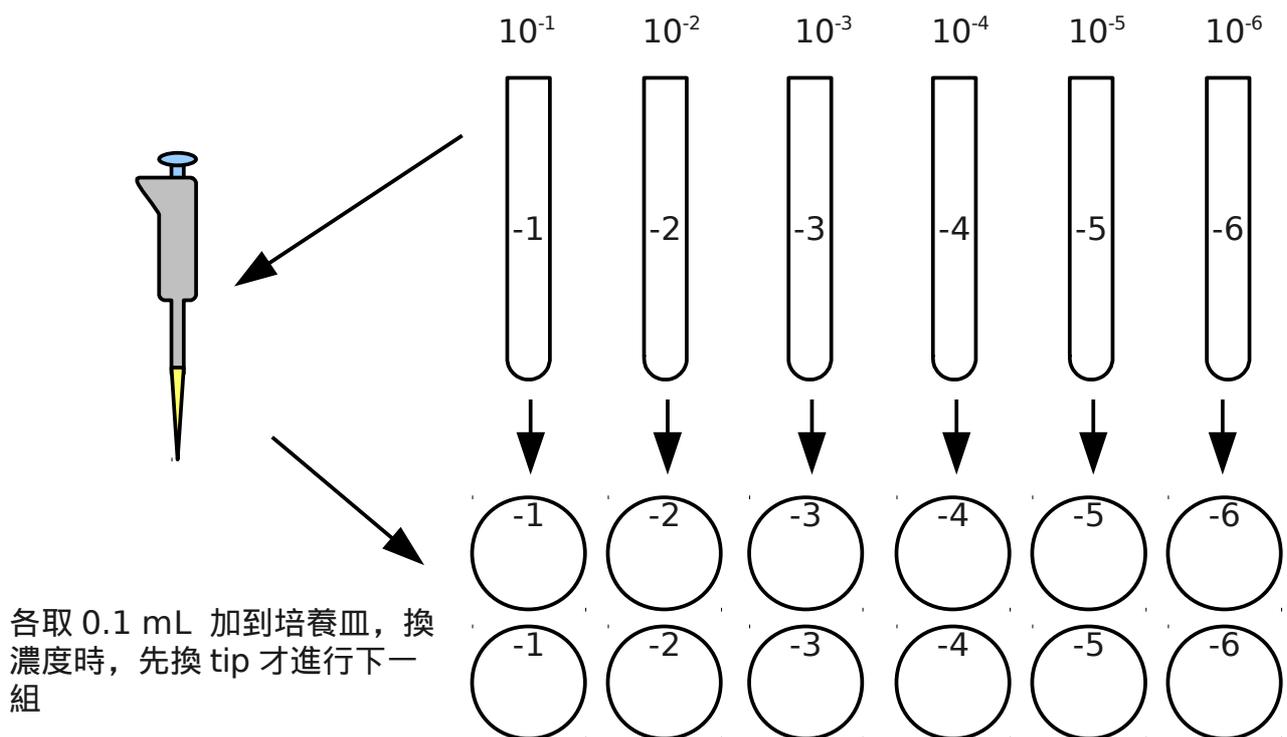


## Spread plate 簡介

說明：

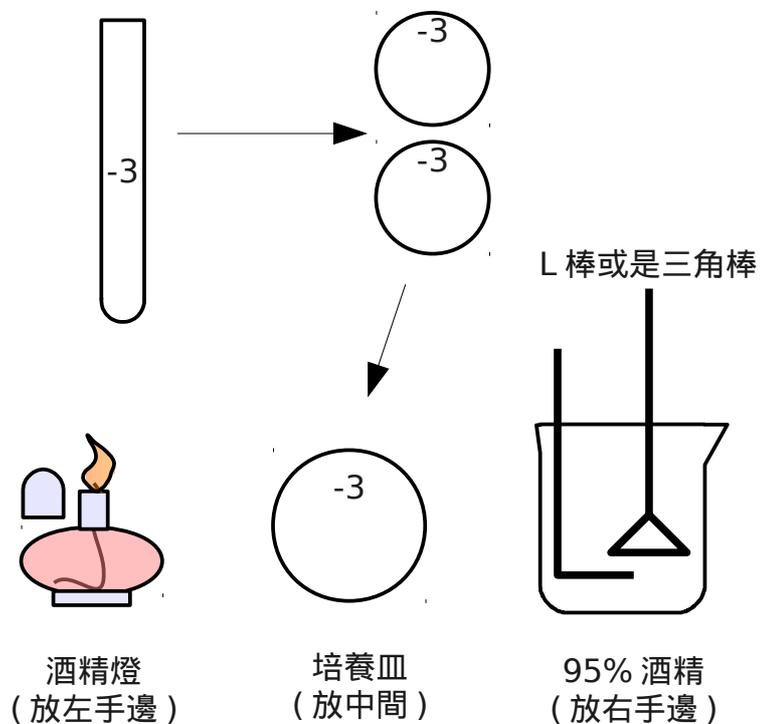
在經過連續稀釋後，將

1. 在培養皿的背面標示濃度以及實驗者的代號
2. 取用樣品前，先振盪均勻。
3. 0.1 mL (黃色 pipette 以及黃色 tip，不是使用藍色的 pipette)，加到培養皿，進行二重複。同樣的濃度，可以使用同一隻 tip 進行操作，操作不同濃度時，請更換 tip。
4. 相同的，使用小指及無名指夾住塑膠蓋以及過火的技巧。
5. 加有 0.1 mL 的培養皿準備使用玻棒進行塗抹 (請見下個單元)。



1. 為避免危險，阿原經驗上，將酒精及玻棒放在右邊，酒精燈放左邊，培養品放中間（慣用左手的人，請自行左右調換）
2. 取出玻棒，移到酒精燈上方，點燃酒精（移動過程中，避免經過培養皿的上方，以免酒精滴到培養皿）。
3. 火熄滅後，等待數秒鐘，另一手將培養皿的蓋子半開，使用玻棒進行塗抹。先用玻棒來回移動，將加入的液體塗開，把培養皿轉九十度，使用玻棒繼續來回塗開。儘量讓液體均勻散布在培養基的表面。
4. 約 48~72 小時之後進行生菌數計算，找出長有 30~300 菌落的稀釋組，換算出原來乳酸飲料的生菌數。

\*\*學生可以先從練習用的培養皿（底面有藍色圈圈），試著練習塗布，但是不要用力過度而壓破培養基。



#### 請注意

本實驗純為學生實驗，所做出的結果不代表市售稀釋性乳酸飲料正確的活菌數，因為

1. 購買的飲料保存期限不同，有的可能剛出廠，有的可能快到保存期限。
2. 商店的保存方式，與購買實驗材料後的保存方式亦可能影響測出的活菌數。
3. 本次沒有使用厭氧缸，因此像 *Bifidobacterium* 這類乳酸菌就無法生長。
4. 學生的操作技巧還在學習中，因此誤差比較大。

為避免無謂的困擾，所有的結果將使用代號取代商品名。