



普通高等教育“十一五”国家级规划教材

20



全国高等医药院校药学类实验双语教材

(第2版)

中药显微鉴定 实验与指导

Experiment and
Guidance for Microscopical
Identification of Traditional
Chinese Medicines

◎ 主编 毕志明

中国医药科技出版社



普通高等教育“十一五”国家级规划教材



全国高等医药院校药学类实验双语教材

中药显微鉴定

Experiment and guidance for Microscopical
Identification of Traditional Chinese Medicines

实验与指导 (第2版)

主编 毕志明

编者 (以姓氏笔画为序)

王 龙 刘丽娟 刘惠娟

毕志明 李 健 吴凌莉

张 珊 黄 炎

中国医药科技出版社

内 容 提 要

本教材是全国高等医药院校药学类实验双语规划教材之一。全书分为2章，第一章介绍中药显微鉴定基本技术；第二章为中药显微鉴定实验操作和鉴别要点简介，全部实验除用中、英文双语描述外，对各类中药的组织构造以及粉末特征均附有原色显微图像或墨线图，使之更具科学性、真实性、可观性。

本书可作为全国高等医药院校中药学相关专业的本科学生教材，也可作为有关专业研究生教学参考和实验指导用书。

图书在版编目 (CIP) 数据

中药显微鉴定实验与指导：汉英对照 / 毕志明主编.

—2版. —北京：中国医药科技出版社，2015.8

全国高等医药院校药学类实验双语教材

ISBN 978 - 7 - 5067 - 7745 - 2

I. ①中… II. ①毕… III. ①中药鉴定学 - 显微结构
- 医学院校 - 教学参考资料 - 汉、英 IV. ①R282.5

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 202540 号

美术编辑 陈君杞

版式设计 郭小平

出版 中国医药科技出版社

地址 北京市海淀区文慧园北路甲 22 号

邮编 100082

电话 发行：010 - 62227427 邮购：010 - 62236938

网址 www.cspyp.com.cn

规格 787 × 1092mm $\frac{1}{16}$

印张 9 $\frac{1}{2}$

字数 193 千字

初版 2007 年 12 月第 1 版

版次 2015 年 9 月第 2 版

印次 2015 年 9 月第 1 次印刷

印刷 北京九天众诚印刷有限公司

经销 全国各地新华书店

书号 ISBN 978 - 7 - 5067 - 7745 - 2

定价 29.00 元

本社图书如存在印装质量问题请与本社联系调换

序

教学是学校人才培养的中心环节，实验教学是这一环节的重要组成部分。《教育部、财政部关于“十二五”期间实施“高等学校本科教学质量与教学改革工程”的意见》要求进一步推进高等学校实验教学改革与创新，促进创新人才成长。《全国高等医药院校药学类实验双语教材》是中国药科大学自 2005 年以来坚持药学实践教学改革，突出提高学生动手能力、创新思维，通过承担教育部“世行贷款——21 世纪初高等教育教学改革项目”等多项教改课题，逐步建设完善的一套与药学各专业学科理论课程紧密结合的高水平双语实验教材，也是普通高等教育“十一五”国家级规划教材。

本轮修订，适逢《全国高等医药院校药学类第四轮规划教材》及 2015 年版《中国药典》出版，整套教材的修订强调了与新版理论教材知识的结合，与 2015 年版《中国药典》、新版《药品质量管理规范》（GMP）等新颁布法规结合，为更好的服务于新时期高等院校药学教育与人才培养的需要，在上一版的基础上，进一步体现了各门实验课程自身独立性、系统性和科学性，又充分考虑到各门实验课程之间的联系与衔接，主要突出了以下特点。

1. 适应医药行业对人才的要求，体现行业特色 契合新时期药学人才需求的变化，使修订后的教材符合 2015 年版《中国药典》及新版 GMP、新版 GSP 等国家标准、法规和规范以及新版国家执业药师资格考试大纲等行业最新要求。

2. 更新完善内容，打造教材精品 在上一轮教材基础上进一步优化、精炼和充实内容。紧密结合《全国高等医药院校药学类第四轮规划教材》，强调与实际需求相结合，进一步提高教材质量。

3. 坚持双语体系，强调素质培养 教材以实践教学为突破口，采用双语体系编写，有利于加快药学教育国际接轨，提高学生的科技英语水平，进一步提升学生整体素质。

《全国高等医药院校药学类实验双语教材》历经十年三轮建设，在各个时期广大编写教师的努力下，在广大使用教材师生的支持下日臻完善。本轮教材的出版，必将对推动新时期我国高等药学教育的发展产生积极而深远的影响。希望广大师生在教学实践中对本套教材提出宝贵意见，以便今后进一步修订完善，共同打造精品教材。

吴晓明

全国高等医药院校药学类规划教材常务编委会主任委员

二〇一五年八月

前 言

中药显微鉴定技术与实验，是对中药材进行组织、粉末分析，从而达到鉴别中药真、伪、优、劣的目的。实践证明显微分析鉴定是鉴别中药快速、简便、准确的科学方法之一。因此，进行中药显微鉴定研究具有重要的科学意义和实际应用价值。

《中药显微鉴定实验与指导》是全国高等医药院校药学类实验双语规划教材之一，与《中药显微鉴定》课程的课堂教学配套使用。作者根据全国高等医药院校本科《中药显微鉴定》教学大纲，结合中国药科大学学生药学科多年的教学、科研实践成果编写成此教材。本实验教材共分两章。

第一章介绍中药显微鉴定基本技术。

第二章为中药显微鉴定实验，主要介绍各实验的操作和鉴别要点，有 20 个实验项目，包括中药显微鉴定基本技术实验 1 个，植物类中药的显微鉴定实验 13 个，动物类中药的显微鉴定实验 3 个，中成药显微分析实验 3 个。全部实验除用中、英文双语描述外，对各类中药的组织构造以及粉末特征均附有原色显微图像或墨线图，使之更具科学性、真实性、可观性。

本实验教材，可作为中药学相关专业的本科及研究生教学参考和实验指导用书。

本书的编写得到了中国药科大学的大力支持和资助；作者在编写过程中主要参考了《中药材粉末显微鉴定》《中国药材学》《常用中药材品种整理及质量研究》（南方片组及北方片组）以及《中成药显微分析》等多部科研专著；在此谨向以上单位及专著作者致谢！

由于时间关系及编者水平有限，书中难免存有不足之处，恳请各位读者批评指正，以便修改。

编 者

2015 年 4 月

目 录

第一章 中药显微鉴定基本技术 / 1

第一节 中药显微标本片的制作	(1)
一、徒手制片法	(1)
二、离析制片法	(4)
三、滑走切片法	(5)
四、石蜡切片法	(5)
五、磨片制作法	(9)
六、载玻片和盖玻片的选择及清洁	(10)
第二节 显微测量和显微描绘	(11)
一、显微测量	(11)
二、显微描绘	(13)
第三节 数码显微成像技术	(15)
一、数字视频信息获取卡	(15)
二、数字显微图像的获取	(16)
第四节 显微常数的测定	(16)
一、栅表比 (栅栏细胞比)	(17)
二、气孔数	(17)
三、气孔指数	(17)
四、脉岛数	(18)
第五节 显微化学鉴定法	(18)
一、显微化学反应	(18)
二、显微化学定位法	(22)
第六节 显微特征的描述	(23)
一、植物类药材组织、粉末特征的描述	(23)
二、动物类药材粉末特征的描述	(25)

三、矿物类药材粉末特征的描述	(25)
第七节 中药材显微鉴别要点	(25)
一、根类药材的鉴别要点	(25)
二、根茎类药材的鉴别要点	(26)
三、皮类药材的鉴别要点	(27)
四、木类药材的鉴别要点	(27)
五、叶类药材的鉴别要点	(28)
六、花类药材的鉴别要点	(28)
七、果实类药材的鉴别要点	(29)
八、种子类药材的鉴别要点	(29)
九、全草类药材的鉴别要点	(30)
十、动物类药材的鉴别要点	(30)
十一、中成药显微鉴别要点	(31)
第八节 商品药材显微鉴定方法及步骤	(32)
一、熟悉文献、资料	(32)
二、标准药材及标准粉末的收集及制备	(32)
三、性状鉴定	(32)
四、组织、粉末鉴定	(32)
五、留样复查	(33)
六、结论	(33)

第二章 中药显微鉴定实验 / 34

Chapter 2 Experiments for Microscopical Identification of Traditional Chinese Medicines / 34

实验一 显微测量和显微描绘	(35)
Experiment 1 Microscopical Measure and Microscopical Drawing	(35)
实验二 根类药材 (一) ——粉防己与广防己的鉴定	(36)
Experiment 2 Roots (I) Identification of Sterphaniae Tetrandrae Radix and Aristolochiae Fangchi Radix	(41)
实验三 根类药材 (二) ——麦冬类的鉴定	(43)
Experiment 3 Roots (II) Identification of Ophiopogonis Radix and Liriopes Radix	(46)
实验四 根茎类药材 (一) ——黄连类的鉴定	(49)
Experiment 4 Rhizomes (I) —Identification of Coptidis Rhizoma	(52)
实验五 根茎类药材 (二) ——川贝母与浙贝母的鉴定	(54)

Experiment 5	Rhizomes (II) —Identification of Fritillariae Cirrhosae Bulbus and Fritillariae Thunbergii Bulbus	(57)
实验六	皮类药材 (一) ——杜仲类的鉴定	(60)
Experiment 6	Barks (I) — Identification of Eucommiae Cortex	(65)
实验七	皮类药材 (二) ——厚朴类的鉴定	(68)
Experiment 7	Barks (II) — Identification of Magnoliae Officinalis Cortex	(77)
实验八	木类药材——降香的鉴定	(80)
Experiment 8	Woods — Identification of Dalbergiae Lignum	(82)
实验九	叶类药材——番泻叶的鉴定	(85)
Experiment 9	Leaves—Identification of Sennae Folium	(88)
实验十	花类药材——红花与西红花的鉴定	(90)
Experiment 10	Flowers—Identification of Carthami Flos and Croci Stigma	(93)
实验十一	果实类药材——枸杞子、陈皮的鉴定	(95)
Experiment 11	Fruits—Identification of LyciiFructus and Citri Reticulate Pericarpium	(99)
实验十二	种子类药材——砂仁类的鉴定	(101)
Experiment 12	Seeds—Identification of Amomi Fructus	(104)
实验十三	全草类药材 (一) ——穿心莲的鉴定	(107)
Experiment 13	Herbs (I) —Identification of Andrographis Herba	(109)
实验十四	全草类药材 (二) ——藿香类的鉴定	(111)
Experiment 14	Herbs (II) —Identification of Commercial Huoxiang	(114)
实验十五	动物类药材 (一)	(117)
Experiment 15	Animals (I)	(120)
实验十六	动物类药材 (二)	(121)
Experiment 16	Animals (II)	(123)
实验十七	动物类药材 (三)	(125)
Experiment 17	Animals (III)	(127)
实验十八	中成药 (一) ——六味地黄丸的显微鉴定	(128)
Experiment 18	Traditional Chinese Patent Medicines (I) —Microscopical Identification of Liuwei Dihuang Wan	(130)
实验十九	中成药 (二) ——小儿惊风散的显微鉴定	(131)
Experiment 19	Traditional Chinese Patent Medicines (II) —Microscopical Identification of Xiao'er Jingfeng San	(133)
实验二十	中成药 (三) ——散风活络丸的显微鉴定	(134)
Experiment 20	Traditional Chinese Patent Medicines (III) —Microscopical Identification of Sanfeng Huoluo Wan	(139)

第一章

中药显微鉴定基本技术

中药显微鉴定是应用显微鉴定的理论和实验技术，利用光学显微镜（或电子显微镜）对中药的组织、粉末进行微观分析的一项专门技术，系运用显微镜观察药材内部的组织、细胞及其后含物特征，描述显微鉴别点，并制订显微鉴别依据。鉴别时应选择有代表性的样品，制作不同的显微制片；一般作横切面片或粉末片，必要时可作纵切面片或解离组织片等。植物的根、根茎、藤茎、皮、木类药材，以组织切片为主；叶、花、果实、种子等类药材以表面制片或粉末片为主；全草类药材采用组织制片或粉末片相结合。为配合中成药的显微分析，动物类及矿物类药材均以粉末片为主。

进行中药显微鉴定，需要具备动、植物形态解剖学，矿物学的晶体光学以及显微化学的基本知识和显微标本片的制作技术。鉴定过程中一般需掌握显微制片，显微镜观察及描述，显微测量及描绘以及显微摄影等。

显微鉴定具有用料少、快速、简便以及准确的特点。《中国药典》收载的中药大多有显微鉴定项；在制订中药原料药及新产品质量标准等方面，显微鉴定具有十分重要的作用，是重要的中药鉴定方法。本章主要介绍中药显微鉴定的基本技术。

第一节 中药材显微标本片的制作

一、徒手制片法

徒手切片法为常用的基本制片方法，制成的切片可保持组织、细胞及其后含物的原有形态，便于进行观察及各种显微化学反应，方法简便，不受条件的限制，但需具备较熟练的操作技术。

1. 材料的预处理

将新鲜药材或用潮湿纱布包裹湿润 2 小时或以上的干药材切成长 3cm 以上，直径 1cm 大小的块或段，较坚硬的药材直径 0.5cm 为宜，待切面应削平。质地软硬适中的药材可直接进行切片；质地坚硬的药材则须经软化处理后方能切片。常用的软化方法是在玻璃干燥器中放入 0.5% 苯酚水液，将需软化的药材放入不加盖的小玻璃器内并置干燥器的横隔板上，密封干燥器盖即可。经 12 ~ 24 小时后，一般药材均可吸湿软化。

较坚硬的材料，可置水中浸软或煮沸，时间长短视药材坚硬程度而定（如竹茎则需煮一天）；或用纯甘油浸泡。极坚硬的材料，还可使用氢氟酸浸渍软化后切片，方法是材料用水煮过后，放入氢氟酸与水各半的溶液中；若十分坚硬，可用纯氢氟酸软化，取出后洗净备用。注意若药材组织中含硅质块，是为鉴别特征，因氢氟酸可溶解硅质块，则不可选用此法。另因氢氟酸腐蚀玻璃，故放置药材的标本瓶宜选用塑料质地。

对柔软而不便切片的药材可浸入 70% ~ 95% 的乙醇中，20 分钟后即可变得较硬；柔软而薄的叶、花等材料，则可先夹于胡萝卜、土豆或通草的茎髓中。细小的种子或果实可直接浸入熔融的石蜡中，使材料外包以石蜡；或取一小方块石蜡用烧红的解剖针在石蜡的一端烫一小孔，立即将材料放入孔中，待石蜡凝固后便可进行切片。

2. 横切面片

即与根、茎的长轴，叶柄、花梗、果柄方向相垂直的切面；种子与种脊相垂直的切面称横切面。

（1）切片 取叶、花、根、根茎类干药材，修平切面，加水于叶、花上或待切面上润湿备用；用左手拇指、食指握持并用中指抵住材料，材料上端高出手指不超过 3 ~ 4mm。右手持刀片，坚硬材料常选用单面刀片，柔软材料则选用双面刀片；刀口向内并使刀刃与材料的切面平行，移动右臂使刀口自左前方向右后方斜滑即可得到薄片。注意切片时要保持材料平整，刀口轻轻压住材料（是控制切片厚薄的关键），要用臂力而不用腕力，左手不动，并在材料和刀片上时时用水（用于坚硬材料）或稀乙醇（用于较柔软或含黏液的材料）使保持湿润，以防止材料干燥收缩和避免切出的薄片粘在刀片上不易取下。将切得的薄片用毛笔轻轻从刀片上刷下，移至蒸馏水或稀乙醇的培养皿中，选择薄而完整的切片即得。

果实、种子等视质地而定。柔软或新鲜材料可直接切片。切片时将材料置载玻片上，待切面与载玻片垂直，用左手拇指和中指固定材料，食指压在材料上方，细小果实、种子仅用食指指甲压住材料；右手持刀片，刀面与材料紧贴且垂直，由前向后作连续切片即得。

（2）选片装片 选择薄而完整的切片置载玻片上，加水或稀乙醇 1 滴于切片上，盖上盖玻片，置低倍镜下观察，选取组织构造完整、特征清晰者备用。

（3）染色及封固 徒手切片一般不染色，按照检测的需要直接封藏于适宜的试液中，如水合氯醛液、斯氏液或某种显微化学试液等。如需制作半永久性标本片，可用稀甘油洗去原切片的试液，后用溶化的甘油明胶封藏。若需制作永久显微标本片，应选用结构完美、清晰的切片，按照石蜡切片项下的脱水、染色、透明及封固等步骤完成操作即可。

3. 表面片

表面片主要用于观察叶类、花类和孢子花粉等药材的表面观显微特征。需先将样品湿润，依据材料性质的不同而选择不同的制片方法，如较薄的片状材料可采用整体封藏法；粉末状的孢子、花粉粒可采用涂铺制片法；部分较厚的材料可用表面撕离法。

（1）整体封片法 适用于质地较薄的叶片、萼片和花瓣等药材。可用刀片切取 $4 \times 8\text{mm}^2$ 所需部分，置载玻片上，加水合氯醛液 2 ~ 3 滴，在酒精灯上小火缓缓加热，直至材料透明，放置待凉后，加甘油酒精 1 ~ 2 滴，将材料切成 $4 \times 4\text{mm}^2$ 的两小块，一正

一反，盖上盖玻片。

(2) 涂片制片法 主要用于花粉和孢子的显微观察。即将材料放于载玻片上，用解剖刀压住材料并向载玻片的一边拖过去，注意用力均匀，使花粉、孢子涂铺成均匀的一薄层。也可取花粉、孢子置载玻片上，加水合氯醛液透化后，用解剖针将材料与试液轻轻拌和均匀散布于盖玻片下方。

在花粉或孢子的制片过程中，常用醋酸分解离析，以便更清晰地观察花粉壁或孢子壁的构造，具体方法如下：取花药（或小的花朵）或孢子囊群，浸于冰醋酸中软化，用玻棒捣碎，以铜筛过滤于离心管中，以离心机取沉淀备用。加新鲜配制的醋酐与硫酸（9:1）的混合液1~3ml，置水浴中加热2~3分钟，使花粉、孢子内壁与原生质完全溶解以离心机离取沉淀。沉淀（除去内壁及原生质的花粉粒）用蒸馏水洗涤2~3次。加50%甘油，再加1%醋酸3~4滴至小玻璃管中保存。取出少许保存的材料用内含复红染料的甘油明胶封藏，也可将处理过的花粉粒用水合氯醛液装置观察。

(3) 表皮撕离法 质地厚的叶片、萼片、花瓣或浆果、茎等材料需撕离表皮观察。方法是用尖头镊子将软化或新鲜材料的表皮撕下；或用解剖刀将不需观察的叶肉组织轻轻刮去，只留表皮。将所得表皮外表面向上，放在载玻片上，加水合氯醛液1~2滴加热透化，再加甘油酒精1滴，盖上盖玻片就可供临时观察。

材料经透明后的表面标本片，均可制成半永久性或永久性制片。半永久制片：将临时制片除去水合氯醛液，加1~2滴甘油浸渍片刻，用滤纸吸尽，再重复1次，以除尽水合氯醛液，滴加溶化的甘油明胶，加盖玻片，稍加压，放置待凝固后加贴标签即得。永久制片：宜用于整体封藏和涂铺制片的材料，可将材料至带塞的小试管或小瓶中，经低至高浓度乙醇、无水乙醇、丙酮、二甲苯等处理，逐步脱水经透明后封藏于中性树胶中即得。因撕离的表皮往往仅有一层细胞，脱水、透明等操作可直接在载玻片上进行。

4. 粉末制片

(1) 单味粉末制片 选取完整的药材或待鉴定部位，粉碎成细粉，过80~100目筛备用；或为粉末性药材。挑取少量粉末于载玻片上摊平，置荧光灯下观察有无荧光。①斯氏液装片：加醋酸甘油水（斯氏液）1滴，用解剖针轻轻拌匀，并使成为1cm²的薄层，加盖玻片观察。此装置主为观察淀粉粒、糊粉粒、多糖及油滴等。②水合氯醛液装片：加水合氯醛试液2~3滴，加热至材料透明，在透化过程中及时补充水合氯醛液，放冷后加1~2滴甘油酒精，加盖玻片即可。应特别注意盖玻片上方不应有液体等物；载玻片下方由于酒精灯加热常有黑烟残存应擦除干净，否则将影响观察效果。

此外，在制片时还需注意下列问题：①含多量淀粉的药材粉末，其中具鉴别意义的细胞由于大量淀粉粒的存在而影响观察、描绘及摄影等效果。因此可取一部分粉末于试管中加水煮沸，使淀粉粒糊化而溶解，放置或用离心机使所需细胞、组织下沉管底，用长吸管将沉淀物吸出供制片观察。②含多量油类的药材粉末可进行脱脂以除去大部分油脂：取少许粉末于小烧杯中，加氯仿少许搅拌浸渍，过滤，在滤纸上再加少许氯仿洗涤粉末即可。也可直接将粉末置载玻片中央，从玻片的一端加滴氯仿或乙醚，将此端微微提高，溶液即流入粉末并从另一端流出，此处理3~4次即可。③颜色很深的粉末可进行脱色处理：取粉末少许置小烧杯中或载玻片上，加少许3%的过氧化氢溶

液（过氧化氢）浸渍数分钟，待粉末颜色变浅时，除去多余液体，加新煮沸的冷蒸馏水，以除去粉末中的大量气泡即可。

（2）中成药制片

1）取样：①水泛丸：全球面取样，将丸药从中心剖开，从1/2球面上刮取；②大蜜丸：从内部挑取适量粉末；③散剂、胶囊等：挑取部分粉末；④糖衣丸、片：剥除糖衣，取适量丸或片心磨碎后，取粉末装片。

2）装片：常用两种装片方法，第一种方法用斯氏液装片，适用于观察淀粉粒、糊粉粒、多糖及油滴等。第二种方法用水合氯醛液（加热）装置观察细胞组织。具体操作要点参见粉末制片法项下。

3）观察方法：取装片置显微镜下，自左至右、从上向下，依据一个个视野连续观察，记述观察特征，并描绘鉴别特征图。

（3）粉末的半永久性制片与永久性制片

1）粉末的半永久性制片：取适量粉末药材置载玻片上，加1滴稀甘油使粉末浸润，吸除多余的甘油，再将载玻片略加温，立即用玻棒加甘油明胶1~2滴，并加盖玻片。若胶层过厚，则可在盖玻片上轻轻加压。制片所取粉末及甘油明胶的量均须适当，粉末应均匀散布于甘油明胶液中。待明胶液充分冷却凝固后，用小刀刮去溢出盖玻片的甘油明胶，并用湿布擦净，加贴标签。

2）粉末的永久性制片：制备粉末永久片需将粉末置离心管中，加50%~70%的乙醇使完全浸没，用细玻棒搅拌5~10分钟后离心，倾去乙醇液；再加95%乙醇搅拌离心，倾去乙醇液；再加无水乙醇2次，倾去乙醇液后加丙酮1次，然后用丙酮与二甲苯的等量混合液处理，每次10~20分钟。最后加入二甲苯使材料透明，搅拌均匀后用滴管吸取少量混合液至载玻片上，滴加1滴中性树胶液，盖上盖玻片并贴标签。

二、离析制片法

为研究一个细胞的立体形态结构，利用化学试剂把细胞与细胞间的中层物质溶解，使细胞分离，这种化学处理的方法称为离析法。

纤维素薄壁细胞的胞间层是由果胶纤维素构成，果胶纤维素与苛性碱溶液共热就分解，因胞间层被破坏而使细胞分离。木化细胞的胞间层常因含有木质素，不受碱液影响，需用氧化剂来破坏木质素后细胞才能分离。经氧化处理后，细胞壁的木质素被分解，故不再显木化反应；薄壁细胞因纤维素也被破坏而变形；一般的细胞后含物，如淀粉粒、糊粉粒、草酸钙结晶等也均被破坏而消失，只有石细胞、纤维、导管、管胞、角质化的表皮细胞等被保留。所以氧化处理方法适用于木质化组织。

解离组织标本片所用的化学试剂，应按药材性质不同分别选用。现依据所用试液的名称，介绍下列几种常用的离析法：

1. 酪酸、硝酸离析法

本法适用于坚硬的木化组织。方法是材料切成火柴梗粗细（长约1cm）的小条或撕成丝（纤维），放入小试管，加入10%硝酸与10%铬酸的等量混合液中，其量为材料的20倍。塞紧瓶塞，放在30~40℃的温箱中，材料在离析液中浸渍的时间，因木化程度而异，一般1~2天，若仍未离析，可更换新溶液继续离析。为加快离析的时

间,可以加热煮沸或加入少许氯酸钾加速作用,数分钟内即使组织的细胞分离。此时应注意不时检查细胞离析与否(挑取少许材料至载玻片上稍加压即散离即可),以防材料完全溶化。离析好的材料用水洗净,保存于50%酒精中,留作临时观察。亦可经染色、脱水、透明、封固制成永久制片。由于离析材料在本方法中一般为坚硬和木质化的,永久片可省去固定步骤,染色多用番红溶液。

2. 盐酸、草酸铵离析法

本法较上法缓和,适用于草本植物的髓、薄壁细胞、叶肉组织等,方法是把材料切成约 $1 \times 0.5 \times 0.2\text{cm}$ 的小块,放于70%酒精和浓盐酸(3:1)中浸24小时,然后用水洗净,放入0.5%草酸铵水溶液中,每隔一两天作检查,时间视材料而异。

3. 氢氧化钾或氢氧化钠法

取适量材料置试管中,加5%氢氧化钾或5%氢氧化钠溶液适量(2~5ml),在沸水浴中加热30分钟左右,直至用玻棒挤压材料能离散为度。倾去碱液,材料用水洗涤后,取少许在载玻片上用解剖针撕开,用稀甘油封藏后观察。

经上法处理后,木化细胞仍保留木质素,所以仍显示木化反应,草酸钙结晶也仍可见;但成群的石细胞及纤维束常难以单个分离。

欲制成半永久性解离组织标本片,可将解离后的材料封藏于甘油明胶液中。

要制成永久性的解离组织标本片,可将解离后的材料用95%乙醇浸洗2次,倾去乙醇,再加无水乙醇浸洗2次,以完全除去水分,倾去无水乙醇,加二甲苯浸洗2次,最后用中性树脂封藏。

三、滑走切片法

滑走切片法是利用滑走切片机,将材料直接夹在切片机上直接进行切片,是一种简单机械操作。其主要结构有切片刀、材料推进器及调节切片厚薄装置等机件。材料推进器上有一固定材料的夹子,它随切片刀的移动而升高,其升高的高度由调节切片厚薄的装置控制。一般制成 $10 \sim 20\mu\text{m}$ 厚的薄片。

切片方法:选择形态整齐、质地均匀,长2~3cm的材料(干材料需经软化处理),固定于固着器上,固定切片刀,使刀刃与材料平行,调节所需切片的厚度,用右手推动切片刀夹,使刀口由前向后移动。刀口经材料面时应保持平行,手腕用力均匀,并用左手取毛笔蘸水加在材料上使保持湿润,用毛笔将切片轻轻从刀面上刷下,放在盛有水的培养皿中,然后将刀推回,如此反复操作,可得许多厚度均匀的完整切片。滑走切片也可染色、封藏制成永久制片。

四、石蜡切片法

石蜡切片法是借助石蜡特性,做材料的填充剂和包埋剂,用旋转切片机进行切片、染色的制片方法。基本过程如下:

取材→固定→冲洗→脱水→透明→透蜡及包埋→切片→粘片→脱蜡→染色→透明→封固。

1. 取材

取材很重要,是整个工作成败的关键。选择好的材料,用毛笔细心洗净。干材料

需用水浸泡恢复原状。如为坚硬的材料尚需软化处理，可用水煮法、氢氟酸浸渍软化或浸入甘油酒精溶液中，直至试切合适为度。切割组织一般为 $0.5 \sim 1\text{cm}^3$ ，只要能达到观察要求，组织块愈小愈好。切取时应用锐利刀片，不可来回切割，更不可用剪刀剪取，以免挤压损坏组织。

2. 固定和常用固定剂

固定的主要作用是杀死原生质，保持原来微细结构，并能凝固和沉淀各种蛋白质，使组织变硬，便于切片。干材料需用水浸泡至组织恢复原状后再固定。为使溶剂进入组织内，需将材料中空气抽去。抽气可应用于固定、脱水和透明等过程中。

固定剂的种类繁多，最常用的固定剂为 FAA，也称标准固定液，其同时可作保存剂。

常用的 FAA 标准溶液的配制：

福尔马林 (formalin) (36% ~ 40%)	5ml
乙醇 (ethyl alcohol) (50% 或 70%)	90ml
冰醋酸 (glacial acetic acid)	5ml

其中冰醋酸能使组织膨胀，而乙醇可使组织收缩，所以在实际使用中应视材料的软硬适当增加或减少两者的配比。

固定剂的用量一般为材料的 25 ~ 50 倍，不可太少以免被材料中的水分过度稀释。固定时间视材料而定，一般在 12 ~ 24 小时，木质茎类应在 7 天左右；材料亦可长期保存在固定剂中。

3. 冲洗

经固定的材料，必须洗去内部沉淀物，以利材料的保存、切片及染色。一般用水或与固定剂中相近浓度的乙醇，冲洗 3 ~ 4 次，将材料冲洗干净。

4. 脱水

材料经冲洗后，组织中含大量水分，不能直接进入透明剂和石蜡中，故需脱水。脱水的目的是完全除去组织的水分，使透明剂易渗入组织中，且可使材料变硬，便于切片和封藏时形状不变，常用的脱水剂有乙醇、丙酮、正丁醇、叔丁醇、二氧杂环己烷等。现将乙醇和叔丁醇脱水法分述如下：

(1) 乙醇 脱水用的乙醇浓度须有低到高逐渐增加，以免发生原生质收缩或细胞壁变形的现象。常用乙醇梯度浓度为：50% ~ 60% ~ 70% ~ 80% ~ 95% ~ 无水乙醇。脱水用第一级乙醇的浓度，应根据材料的含水情况而定，如材料经 FAA 固定，用 50% 乙醇冲洗，则可用 50% 乙醇开始脱水；如材料是经水洗或水浸，则需从 5% 乙醇开始脱水，逐级提高乙醇的浓度。梯度乙醇的用量为材料的 2 ~ 3 倍。在 70% ~ 95% 各级乙醇中，柔软材料为 1 ~ 2 小时，过于坚硬材料 3 ~ 4 小时。替换无水乙醇需 2 次，每次 1 小时，务必脱水干净。材料可在 70% 或 95% 乙醇中过夜，但在无水乙醇中时间不宜过长，以免材料变脆。脱水过程也可借助超声波处理，这样可大大缩短脱水的时间。总之，脱水是制片过程中十分关键的步骤。脱水后的材料进入透明剂时，如产生混浊现象，需退回脱水剂中重新进行脱水。

(2) 叔丁醇 能与水及乙醇等混合，也是石蜡溶剂。脱水时，可经下列各级脱水剂，每级 1 小时，在 II 级中可过夜，在纯叔丁醇中 2 次，每次 2 ~ 3 小时。

各级浓度的叔丁醇配法

(单位: ml)

品名	级别					
	I	II	III	IV	V	VI
蒸馏水	40	30	15	0	0	0
乙醇	50	50	50	50	25	0
叔丁醇	10	20	35	50	75	100

脱水后的材料, 在经叔丁醇和石蜡等量混合液中 1~3 小时后即可移入纯石蜡中。

5. 透明与透明剂

脱水后, 材料经透明剂, 可使材料透明干净, 便于进入埋藏剂(封藏剂)。常用的透明剂有二甲苯、甲苯、苯、氯仿、丁香油、香柏油、冬绿油等。二甲苯是应用最广的透明剂, 其作用迅速, 可与封藏剂混合, 但易使组织收缩、变脆, 所以用二甲苯作透明剂时要呈梯度逐级进行, 从无水乙醇到二甲苯逐级置换的浓度如下:

$\frac{1}{3}$ 二甲苯 + $\frac{2}{3}$ 纯乙醇 $\rightarrow$ $\frac{1}{2}$ 二甲苯 + $\frac{1}{2}$ 纯乙醇 $\rightarrow$ $\frac{2}{3}$ 二甲苯 + $\frac{1}{3}$ 纯乙醇 $\rightarrow$ 纯二甲苯

材料经各级溶剂时间一般为半小时, 如材料尚未透明干净, 则必须重新透明。

6. 浸蜡及包埋

(1) 浸蜡 使石蜡慢慢溶于有材料的透明剂中, 最后使石蜡完全代替透明剂进入组织内的过程称浸蜡或渗蜡。浸蜡时可略加温约 40℃, 最后为使二甲苯完全蒸发, 可逐渐加温, 温度应比蜡的熔点高 1~2 度, 注意温度不可过高, 否则将引起组织脆化。具体过程如下:

$\frac{3}{4}$ 二甲苯 + $\frac{1}{4}$ 石蜡(2~3 小时) $\rightarrow$ $\frac{1}{2}$ 二甲苯 + $\frac{1}{2}$ 石蜡(2~3 小时) $\rightarrow$
 $\frac{1}{4}$ 二甲苯 + $\frac{3}{4}$ 石蜡(2~3 小时) $\rightarrow$ 纯石蜡(2~3 次, 每次 2~4 小时)

最终使石蜡充满全部组织细胞中, 以保持完整的组织细胞形状, 并能承受切片时的压力, 防止组织细胞的破碎损坏。

(2) 包埋 将浸蜡后的材料和熔化的石蜡置于包埋容器中, 调整好各材料的位置, 迅速冷却, 使其凝固成蜡块, 包埋操作简介如下:

将熔化的石蜡连同材料一并倾入包埋容器(常用的容器是纸盒或铜模)中, 然后用烧热的镊子将材料排好, 注意所需材料的切面及间距, 慢慢放入冷水中, 使其凝固。或者将熔化的石蜡倾入包埋容器中, 在容器底层石蜡稍凝固时, 将材料放入容器中, 以烧热的镊子赶去材料周围的气泡。将容器半浸于冷水中, 待石蜡表面凝结后, 全部浸入冷水中。

7. 切片

切片前, 先用刀分切蜡块, 使每个蜡块含一个材料, 再将蜡块修整成六面体, 并将蜡块用解剖刀熔粘于固着器或木块上, 再挑取石蜡碎屑熔粘于石蜡块四周, 使石蜡块牢固地粘在固着装置上。切片时, 将材料固定, 装好切片刀, 并调整材料固着器, 使材料平面与切片刀口平行, 材料纵轴与刀口垂直, 否则切片不正; 移动夹刀部使石

蜡块表面刚贴近刀口，旋紧固定器，再调整厚度测微计使所指刻度适合所要厚度。然后左手握毛笔，右手转动切片机进行切片，用毛笔把蜡带托住，即可得到连续切片，如蜡片卷曲或蜡带不直，可能由于下列原因，应予纠正。

(1) 切片刀不锋利，应换刀。

(2) 切片刀口某处已钝，应将切片刀移动一个位置。

(3) 切片刀角度不正确（以 $15^{\circ} \sim 30^{\circ}$ 左右为宜），应调整切片刀固着器，改变刀口角度。

(4) 切片太薄或太厚。

(5) 石蜡太软或太硬。

(6) 材料浸蜡不足。

(7) 蜡块中材料不在中央。

(8) 蜡块上、下两边和刀口不平行。

切片的厚度视材料而异，一般为 8、10、12、15、18、20、25 μm 。药材切片厚度为 10 ~ 20 μm 。

切片过程中，要选择蜡片，加二甲苯溶蜡，置显微镜下检查质量，如切片中组织不正或破碎应立即纠正。

8. 粘片

将切好的蜡片贴在载玻片上称粘片。要求黏附牢固，蜡片伸展平正。方法是在洗净的载玻片上涂一小滴粘贴剂（1% 甘油明胶溶液），用量不可多，用无名指涂匀，然后加一滴 4% 福尔马林溶液，用解剖刀轻轻取蜡片放在液面上。再将载有蜡片的载玻片放在烫片台上（烫片台温度约 50°C ），待蜡片完全伸展后，用解剖刀将材料在载玻片上的位置放好，倾去多余的液体，将其干燥或放于 30°C 温箱中一天加速其干燥，注意应将蜡片的光亮面和载玻片相粘贴，并保持载玻片的绝对清洁，否则在脱蜡、染色时材料易脱落。

清洗载玻片：清洁液浸泡一夜 → 自来水冲洗干净 → 蒸馏水洗一次，擦干 → 70% 酒精中浸泡 24 小时，擦干。

9. 脱蜡及染色

(1) 脱蜡 切片干燥后，要脱蜡，再按各种不同的方法染色。脱蜡就是将包埋在材料外面及渗透到组织中的石蜡溶解掉，常用二甲苯、苯等。一般将切片置二甲苯中 5 ~ 10 分钟可溶去石蜡，气温低时，要延长时间，并可置烘箱中（不超过 40°C ）以加速脱蜡，直到石蜡完全脱去。

(2) 染色及透明 在植物制片中应用的染色剂种类很多，但高等植物的根茎、叶组织切片，一般用番红、固绿二重染色法。染色结果是木质化细胞壁及细胞核染成红色，纤维素细胞壁和细胞质染成绿色。

脱蜡后的切片经各级乙醇至染色液中，称染色。再经纯乙醇液至二甲苯中，称透明。操作过程如下：

$\frac{1}{2}$ 二甲苯 + $\frac{1}{2}$ 纯乙醇 → 纯乙醇 → 95% → 80% → 70% → 60% 乙醇（每级 1 ~ 2 分钟）→ 番红（1% 的 50% 乙醇溶液 2 ~ 24 小时）→ 50% → 60% → 70% → 80% → 95% 乙醇（每级 2 分钟）→ 固绿（0.5% 的乙醇溶液，1 分钟）→ 95% 乙醇（或省去）→ 纯乙醇（30

秒) → 纯乙醇 (1~2 分钟) → $\frac{1}{2}$ 纯乙醇 + $\frac{1}{2}$ 二甲苯 (3 分钟) → 二甲苯 (3 分钟) → 二甲苯 (3~5 分钟) → 封固。

注意:

①全部操作在染色缸中进行。

②番红和固绿在乙醇中易掉色, 因此脱水时间不宜过长, 30 秒至 1 分钟。

③固绿染色前, 需检查番红染色是否合适, 颜色要过深一些, 因脱水过程中仍会脱色, 如太浅, 应退回重染。

10. 封固

封固是制片的最后步骤。封固一方面为保存已染色的材料, 同时有合适折光率的封固剂能使材料清楚地显现出来。加拿大树胶折光率与玻璃相近, 而与组织不一样, 是普遍应用的一种封固剂, 通常用二甲苯稀释使用。树胶液放置一些时间会渐变酸性, 使切片褪色, 故可加入数块豆粒大小的纯大理石, 以缓慢中和酸性。

封片前应在显微镜下检查切片, 选择质量完好者, 加一滴加拿大树胶于材料上, 用镊子夹住盖玻片在酒精灯火焰上通过, 以除去水分, 然后盖上盖玻片。注意加拿大树胶的量及浓度要适中, 封固剂应轻轻滴下, 迅速盖上盖玻片, 严防气泡的产生。

切片要检查质量, 标签贴在载玻片左方, 写上中名及学名, 制作者, 年、月、日等项目。

五、磨片制作法

磨片制作法适宜于坚硬的动、植物类药材如珍珠、石决明、桃核 (内果皮) 及矿物类药材等的断面观察。因不能制作切片, 则可用磨制标本片法制作薄片。磨片有手工磨制和机器磨制两种方法, 磨片厚度一般为 $20 \sim 30 \mu\text{m}$ 。现将手工磨制法简述如下:

将适宜材料锯成长 $2 \sim 3 \text{cm}$ 、厚度 0.5cm 的小片块, 先用粗磨石, 后用细磨石将一面磨平, 并充分洗净, 干燥。然后用加拿大树胶或冷杉胶将磨平的一面粘在载玻片上 (载玻片黏合面应预先磨成毛面): 即先在药材平面和载玻片上各涂一层浓稠的加拿大树胶或冷杉胶, 放在加热板上至 $150^\circ \pm 5^\circ\text{C}$, 至用针挑取少量树胶立即变硬为止, 取下, 将材料聚贴在载玻片上加压、放冷。当黏合剂烘干硬固后, 再把材料的另一面先用粗磨石磨到相当薄度, 再改用细磨石磨到很薄。最后用极细的研磨粉 (如玻璃砂) 或氧化铝粉末加水或油调成糊状, 将研磨粉调制物和材料放在平玻璃板上磨, 直至其厚度不超过 $30 \mu\text{m}$ 为宜。然后冲洗干净, 干燥后用加拿大树胶或冷杉胶封片, 硬固后即得。若为桃核 (内果皮) 的磨片, 洗净后可用番红染色, 各级酒精脱水, 再经二甲苯透明后, 用加拿大树胶封固更佳。

磨制标本的材料如比较松脆, 磨时为防止破碎, 可选用适当的包埋剂将材料包埋后再磨。如无磨石, 亦可用不同细度的砂纸代替, 但也必须先粗后细, 用力轻重均匀, 这样才能获得厚薄均匀的薄片。

(一) 骨磨片制作法

1. 陈旧骨磨片法

取骨类药材用锯子锯成 $1 \sim 2 \text{mm}$ 厚的薄片 (为横断面或纵断面), 放在粗磨石或粗