

ZHONGCAOYAO
HE XIANWEI

XINGZHUANG
JIANDINGFA

高等医药院校教材

中草药性状 和显微鉴定法

楼之岑 李胜华 主 编

北京医科大学
中国协和医科大学 联合出版社

R285.1

170

104888

中草药性状和显微鉴定法

主 编 楼之岑 李胜华

著 者 (依姓氏笔划为序)

王 璇 李胜华 金延明 郑俊华

罗集鹏 秦 波 楼之岑 蔡少青

北京医科大学 联合出版社
中国协和医科大学



59076105

(京)新登字 147 号

图书在版编目 (CIP) 数据

中草药性状和显微鉴定法/楼之岑, 李胜华主编. -北京:
北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1997.8
ISBN 7-81034-706-3

I. 中… II. ①楼… ②李… III. ①中草药-中药性味
②中草药-中药鉴定学 IV. R285.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (97) 第 06184 号

内 容 提 要

本书共分七章。第一章到第四章详细介绍了中草药的性状与显微鉴定, 重点是显微鉴定的各种基本技术以及各类中草药的鉴定方法。第五章至第七章系统叙述了中成药的显微鉴定法、中草药的摄影技术、电子显微镜及其在中草药鉴定中的应用等。书末附有中草药鉴定实验及与实验材料相关的组织图、性状和显微特征的描述。

本书可供医药院校的中药或生药鉴定教师、学生、研究生以及从事中草药鉴定工作和研究人员参考, 也可作为中药或生药鉴定课程的实验指导书。

2013/2/27

北京医科大学 联合出版社出版发行
中国协和医科大学

(100083 北京学院路 38 号 北京医科大学院内)

责任编辑: 冯晓燕

责任校对: 王怀玲

责任印制: 张京生

泰山新华印刷厂莱芜厂印刷 新华书店经销

※ ※ ※

787×1092 开本 1/16 印张 14 插页 4 页 字数 363 千字

1997 年 7 月第 1 版 1997 年 7 月山东第 1 次印刷 印数 1~2000 册

定价: 25.00 元

本书由
北京医科大学科学出版基金
资助出版

前 言

中草药是祖国医学的宝贵财富，具有悠久的历史，在当前“回归大自然”的呼声，越来越受到广泛的重视。由于中草药的真伪和质量优劣对人们身体健康关系重大，因此，药材的真伪鉴别工作，对提高中草药质量、保证用药安全有效、促进社会的发展与进步具有重大而深远的意义。

中草药的性状和显微鉴定是中草药鉴定的主要技术方法之一，在保障中草药的临床应用以及中成药的原料供应品种准确性方面，占有重要的地位。

我国中草药资源丰富，药材种类繁多，基源复杂，同名异物现象非常普遍。因此，如何对中草药进行准确的鉴定，以保证中草药品种的正确无误是极为重要的问题。近年来，随着科学技术的飞速发展，各种新技术、新方法不断地被引入到中草药研究领域，极大地促进了中草药学科的发展，其中一些技术方法也在中草药鉴定中得到广泛应用。

但是，由于中草药自身的复杂性及变异性，目前尚无任何一种技术方法能够充分替代中草药的性状和显微鉴定这个古老的技术方法。特别是显微鉴定对来源于同属植物的中草药、破碎的中草药及仅有少量样品的中草药的鉴定，仍然有其独特的优势和独到之处。

本书以总结和整理编者近四十余年从事中草药鉴定的科研和教学工作的经验和资料为主，并吸收和引用了前人的经验及当前同道们的科研成果。内容重点在于介绍显微鉴定的基本技术方法以及根、茎、叶、花、果实等各类中草药的组织结构特征及其鉴别方法。

本书的编写，曾多次易稿修订，历时十年有余，今日终于得以出版与读者见面，可作为从事中草药鉴定工作的各级人员以及医药院校教师、研究生的参考书籍。

本书的主编楼之岑教授不幸于1995年3月23日逝世，是本书编著的巨大损失。幸有李胜华教授毅然承担起主编责任，组织编者们继续完成此书。今以本书的圆满完成告慰九泉之下的楼之岑教授。

书中如有内容不妥或错误之处，敬请读者批评指正。

本书的出版承蒙北京医科大学科学出版基金会、北京医科大学研究生院及北京医科大学药学院领导的支持，在此一并致以衷心的感谢。

编者

1996年12月于北京

目 录

第一章 显微鉴定基本技术	(1)
第一节 显微镜的构造与使用	(1)
第二节 组织透化剂及其应用	(13)
第三节 显微标本片的制法	(14)
第四节 常用的显微化学反应	(21)
第五节 微量升华法	(24)
第六节 显微测量法	(25)
第七节 显微绘图法	(28)
第八节 石蜡切片法	(33)
第二章 植物性中草药显微特征的描述	(53)
第一节 完整药材	(53)
第二节 粉末药材	(54)
第三节 显微特征描述要点及举例	(55)
第三章 中草药性状和显微鉴定的一般方法	(58)
第一节 概述	(58)
第二节 性状鉴定	(59)
第三节 显微鉴定	(60)
第四节 显微鉴定操作中易发生的问题及其解决办法	(61)
第五节 显微标本片及粉末药材制片注意点	(61)
第四章 植物性中草药的鉴定	(63)
第一节 淀粉类	(63)
第二节 孢子类和花粉类(孢粉类)药材	(63)
第三节 木类药材	(64)
第四节 皮类药材	(68)
第五节 木质茎类药材	(71)
第六节 叶类药材	(72)
第七节 花类药材	(78)
第八节 种子类药材	(80)
第九节 果实类药材	(82)
第十节 根茎类药材	(84)
第十一节 根类药材	(86)
第十二节 全草类药材	(89)
第五章 中成药的显微鉴定	(92)
第一节 处方分析	(92)
第二节 处方分析举例	(92)
第三节 检品的预处理	(94)
第六章 中草药照相技术	(96)

第一节	标本照相	(96)
第二节	显微照相	(97)
第三节	黑白底片的冲洗与印像	(104)
第四节	常用药品性能和配方	(109)
第七章	电子显微镜及其在中草药鉴定中的应用	(112)
第一节	电子显微镜的原理	(112)
第二节	样品的制备	(115)
第三节	电子显微镜技术在中草药鉴定中的应用	(121)
附 录		
一、	试剂配制法	(124)
二、	中草药鉴定实验	(129)
实验一	淀粉类 马铃薯 玉蜀黍 麦 米 甘薯	(129)
实验二	孢子类和花粉类药材 石松子 海金沙 松花粉 蒲黄	(130)
实验三	木类药材 松节 苏木	(133)
实验四	皮类药材 肉桂 厚朴 黄柏	(137)
实验五	木质茎类药材 关木通 络石藤	(145)
实验六	叶类药材 番泻叶 洋地黄叶 曼陀罗叶 颠茄叶 莨菪叶 薄荷叶	(149)
实验七	花类药材 丁香 曼陀罗花 番红花	(160)
实验八	种子类药材 马钱子 决明子 白芥子	(167)
实验九	果实类药材 小茴香 白豆蔻 橘皮	(174)
实验十	根茎类药材 甘草 大黄 黄连 姜 川贝母 白茅根	(180)
实验十一	根类药材 黄芩 龙胆 秦艽 牛膝 何首乌 麦冬	(194)
实验十二	全草类药材 苧麻黄 老鹳草 淡竹叶	(206)

第一章 显微鉴定基本技术

第一节 显微镜的构造与使用

一、显微镜的基本构造

显微镜的基本构造可以分为机械装置 (mechanical set) 和光学系统 (optical system) 两大部分。机械装置包括: 镜座、镜臂、镜台、镜筒、物镜转换器和调焦装置等; 光学系统包括物镜、目镜和照明装置 (聚光器、反射镜、滤光器、照明光源等)。

(一) 显微镜的机械装置

1. 镜座 (foot) 和镜臂 (limb) 镜座是显微镜的底座, 它的作用是支撑整个显微镜, 有的显微镜镜座内有照明光源和反射镜。镜臂的作用是支撑镜筒。

2. 镜台 (载物台 stage) 为方形或圆形的平台, 分为固定式与移动式两类, 现多用固定式。它的作用是安放标本片, 台面平滑, 中心有一个圆形通光孔, 通光孔左右侧各有一个小孔, 可安装片夹, 用以夹持标本。观察时用手指移动标本片, 或装上一个标本移动器。标本移动器是由纵横两个金属架组成, 操纵两个调节钮, 可使标本片前后左右移动。标本移动器的 A 纵横坐标上装有游标尺, 读数可精确到 0.1mm, 它可以用来测定标本的大小, 也可以用来标记某一显微特征的位置, 以便下次镜检时重新找到其位置。

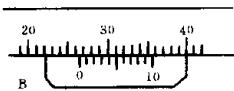


图 1.1.1 游标尺

游标尺的用法: 如图 1.1.1 所示, A 为主标尺, B 为副标尺, 副标尺的分度为主标尺的 9/10。先看副标尺的 0 点位置, 它在 26 与 27 之间, 然后看副标尺刻度与主标尺刻度的一致点或最接近点。如图中副标尺的 6 与主标尺一致, 则标尺所示的数值为 26.6mm。

此外, 还有一种圆形旋转镜台, 周边有 0° 到 360° 的刻度, 常安装于偏光显微镜中。当用于结晶性物质的偏振光检查时, 可将镜台旋转。

3. 镜筒 是金属制的圆筒, 上端放置目镜, 下端连接物镜。镜筒内壁涂有黑色无光漆, 以避免光线的反射。镜筒有单筒和双筒两类。单筒又可分为直筒式和倾斜式两种, 双筒则都是倾斜式的。

直筒式的目镜和物镜的中心在同一直线上。斜筒式的目镜和物镜中心线互成 45° 角, 在筒中转折处装有棱镜, 使光线转折 45°。

斜筒式显微镜较为先进, 使用较方便, 双筒之间的距离可以调节, 以适应各人的眼距。有的双筒中有一个目镜带有屈光度调节 (即视力调节) 装置, 便于两眼视力不同的人使用。

从镜筒上端 (目镜管上缘) 到镜筒下端 (物镜转换器旋口下缘) 的距离称为镜筒长度或机械筒长, 一般为 160mm, 也有的为 170mm。

4. 物镜转换器 由上下两个凸形金属圆片组成，固定在镜筒下端，下片可以旋转，称为旋转盘，其上设有3~5个物镜螺旋口。物镜按放大倍数高低顺序排列，旋转转换器时，应该用手指捏住旋转盘与物镜基部旋转（不要用手指推动物镜），这样，物镜可以一个换一个地被推到正确的使用位置上，并与目镜的光轴同心，即合轴。

要注意的是：镜筒直径和物镜的螺旋口径在国际上有统一规定，不同厂家制造的显微目镜和物镜一般可以互换，但镜筒长度必须一致。

5. 调焦装置 为了得到清晰的物像，必须调节物镜和标本之间的距离，使它和物镜的工作距离（即物镜前透镜与标本间的距离）相等，这种操作叫做调焦。显微镜上装有粗细两种调焦螺旋，先用粗调焦螺旋作粗略的调节，调到能大致看到物像为止，然后改用细调焦螺旋做精确的调焦，使物像看得最清晰。

粗细两种调焦螺旋有分开安置的，也有合装在同一个轴上的，大的为粗调，小的为细调，调焦可以通过镜筒或镜台的升降来达到。

（二）显微镜的光学系统

1. 物镜（接物镜 objective） 安装在镜筒下端，它的作用不仅是利用通过标本的人射光造成标本的第一次放大实像，而且关系到分辨力和各种像差、色差（见后）的矫正程度，所以是决定显微镜性能的最重要部件。每个物镜都由1~5组复式透镜构成，位于下端的透镜称前透镜，位于上端的称后透镜。接物镜管越长，透镜组数越多，前透镜越小，则放大率越大。习惯上把放大率为10倍以下的物镜叫做“低倍物镜”，放大率在40倍以上的叫做“高倍物镜”。

物镜根据使用条件的不同分为干燥物镜，水浸物镜和油浸物镜三类。用于干燥物镜观察标本时，在物镜与标本之间不加任何液体介质；使用水浸或油浸物镜时，在物镜前透镜与盖玻片之间需加水或香柏油（cedar oil）作为介质，油浸物镜（简称油镜）的放大率一般为90~100倍。

物镜按其色差矫正情况，可分为消色差物镜（achromatic objectives）和复消色差物镜（apochromatic objectives）。消色差物镜是最常见的物镜，它能矫正光谱中红光和蓝光的色差，镜管外侧刻有“achr”字样。复消色差物镜的大部分或全部透镜是用萤石（fluorite）制成，能矫正光谱中红、蓝、黄三种色光的色差，因此性能很高，镜管外侧刻有“apo”、“apochr”或“fl”等字样。此外，较先进的显微镜还使用平视场物镜，它不仅能矫正红光和蓝光的色差，主要还能矫正像场弯曲，多用于显微摄影，镜筒外侧标有“plan ach”字样。

物镜的主要参数是放大倍数（magnification）、数值孔径（numerical aperture）和工作距离。物镜上通常标有物镜主要性能的参数，如10倍物镜上标有10/0.25和160/0.17，此处的10为物镜的放大倍数（有的写成 $10\times$ ），0.25为数值孔径（有的写成N.A.或A.0.25）；160为镜筒长度（单位mm），0.17为所要求的盖玻片厚度（单位mm）。

2. 目镜（接目镜 eyepiece, ocular） 插在镜筒上端，它的作用是把已被物镜放大的实像再一次放大。目镜通常由上下两组透镜组成，上面的透镜叫做接目透镜，下面的透镜叫做会聚透镜或场镜。上下两组透镜之间或场镜下面装有一个环状金属横隔，称为光阑。这个光阑的大小决定了视场的大小，光阑的边缘就是视场的边缘，因此也叫做视场光阑。目镜中的指示标志及目镜测微尺应该放在这个位置。目镜的表面都刻有放大率，如 $5\times$ ， $6\times$ ， $8\times$ ， $10\times$ ， $16\times$ 等。

目镜由于结构和性能不同而有许多类型:

(1) 惠更斯目镜 (Hyghenian ocular) 是最常用的目镜, 接目透镜和场镜都是凸面朝下的平凸单透镜, 它的光阑在两个透镜之间, 通常配合消色差物镜应用。

(2) 兰姆斯登目镜 (Ramsden ocular) 它是由凸面相对的两块平凸单透镜组成, 它的光阑位于场镜下面, 这种目镜主要用于测微目镜, 因为它对测微尺的像差比较小。

(3) 补偿目镜 (compensating ocular) 这是专为配合复消色差物镜使用的特殊目镜。因为使用高倍率复消色差物镜时, 视场边缘部分常产生一些像差, 补偿目镜就是为了矫正这种像差而设计的。但也可和高倍率的消色差物镜配合应用。此种目镜的视场边缘平坦, 适用于显微摄影, 它们的表面刻有“K”字和放大率, 如 K15 $\times$ 等。

(4) 平视场目镜 (complanatic 或 periplanatic ocular) 这是另一种可以矫正像的弯曲使视场平广的补偿目镜, 适用于显微摄影, 它们的表面刻有 P 或 P1 字样及放大率, 如 P10 $\times$ 等。

(5) 广视场目镜 (wide-angle ocular) 一般目镜的放大率越高则视场越窄小, 这种目镜可以克服这方面的缺陷而使视场宽广。广视场目镜通常配合消色差物镜使用, 适用于显微摄影, 它们的表面刻有 W 字样及放大率, 如 W15 $\times$ 等。

此外, 由于特殊的使用目的可以有特殊构造的目镜。如测微目镜 (micrometer ocular)、指针目镜 (pointer ocular)、描绘用目镜 (drawing ocular) 等。

3. 聚光器 (集光器 condenser) 安装在镜台下方, 它的主要作用是把光线集中到所要观察的标本上。除使用低倍物镜时不需要聚光器外, 在使用中倍或高倍物镜 (N.A. 0.34 以上) 时, 都需要聚光器以增强光量。

聚光器由一片或数片透镜组成。上透镜的上面是平面的, 光线聚集在平面上方约 1.25mm 处。由两块以上透镜组成的聚光镜, 最上面的一块透镜可以移出光路之外, 使聚光镜的数值孔径变小, 以适应较低倍物镜观察的要求。

数值孔径 (N.A.) 是聚光镜的主要参数, 它有一定的可变范围, 通常刻在透镜边框上的数字代表它最大的数值孔径, 通过调节它下都可变光阑的开放程度, 可以得到此数字以下的各种不同数值孔径, 以适应不同物镜的需要。因为聚光镜和物镜的数值孔径应当一致, 才能充分发挥显微镜的性能。聚光镜通常有消球差聚光镜 (aplanatic condenser) 和消色差聚光镜 (achromatic condenser, 兼消球差) 两种, 通常使用消色差物镜时应配合用消色差聚光镜。

可变光阑 (光圈) 装在聚光器的下方, 用来控制进入聚光镜的光束大小, 以调节照到标本上的光线强度和聚光镜的数值孔径, 使与物镜的数值孔径相对应。一般使用的是虹彩光圈 (iris diaphragm), 是由许多镰刀形金属薄片环状组合而成, 在中心部位形成圆孔, 孔的大小可移动操纵杆随意调节。

4. 滤光片 (light filter) 通常安装在虹彩光圈下方的滤光片架内, 它的作用是改变入射光的组成 (即色调), 使适宜于观察或摄影。滤光片分为中性滤光片 (用毛玻璃或乳白玻璃制成) 和有色玻璃滤光片 (用各种颜色玻璃制成), 以毛玻璃滤光片和兰绿色玻璃滤光片最为常用。

5. 反射镜 (refractive mirror) 是一个双面镜, 一面平, 一面凹, 装在设有内光源的显微镜的聚光器下方的镜座上, 可以在弧弓上翻转, 它的作用是使光源射出的光线或天然光射向聚光器。不用聚光器时用凹面镜, 凹面镜能起会聚光线的作用; 用聚光器时一般都

用平面镜。

6. 照明光源 显微镜的成像质量和照明光源有密切关系，必须使标本得到充分而均匀的照明，才能使观察到的物像清晰。显微镜的照明可以用天然光源或人工光源。

用天然光源时，不可利用直射日光，因为它亮度太强，不但影响观察，也有害眼睛。常用的人工光源有装在显微镜内部的照明光源和日光灯及普通台灯。显微镜的镜座中常装有照明光源，使用较为方便。

7. 盖玻片和载玻片 由于它们位于显微镜的光路中，所以对显微镜的成像质量有影响。一般应选用厚度合乎标准、表面平坦、无气泡、无划痕、无色而透明度好的，使用前洗净。盖玻片的标准厚度是 $0.17 \pm 0.02\text{mm}$ ，载玻片的标准厚度是 $1.1 \pm 0.04\text{mm}$ ，一般可用范围是 $1 \sim 1.2\text{mm}$ ，太厚影响聚光器效能。

二、显微镜的光学原理

(一) 显微镜的成像原理

物镜和目镜虽然都是复式透镜，但其组合仍为一凸透镜。根据凸透镜成像原理，若物体放在物镜前焦距与两倍焦距之间，则物体 AB 成一倒立实像 A_1B_1 ，此像正好位于目镜的光阑面上（在目镜前焦距以内），然后由目镜将此像造成一个同侧的放大像 A_2B_2 ，这就是眼睛从目镜中观察到的比原物放大很多倍的倒立虚像（图 1.1.2）。

通过显微镜的调焦装置，可以使虚像 A_2B_2 的位置处于眼睛的明视距离处（从眼球的水晶体到虚像间的距离称作明视距离，一般为 25cm ），使所看到的物像最清晰。

(二) 透镜的像差

一个物体通过透镜后所成的像和原来的物体并不是完全一样的，这种差异称为像差。透镜的像差可分为球面像差、色散差、像场弯曲、畸变、彗星差、像散等，其中以球面像差、色散差和像场弯曲较重要，简介如下：

1. 球面像差 (spherical aberration) 简称球差，是由于透镜呈球面所造成。它把近轴光线会聚得较远，而把远轴光线会聚得较近，因此，所成的像不在一个平面上，而造成物像模糊。由于凸透镜和凹透镜所产生的球差方向相反，所以把这两种透镜适当地组合成透镜组，就可以把球差基本上消除。

2. 色散差 (chromatic aberration) 简称色差。由于透镜对不同波长的光有不同的折射率，因此，当白光通过透镜后，分散成各种色光，分别会聚在光轴的不同处，紫光离透镜最近，红光离透镜最远。由于光波波长不同，不仅成像不在同一平面上，使物像模糊，并且边缘还带有色彩，这种现象，称为色差。但单色光并不发生色差，用这一原理制成的物镜称消色差物镜，但它只能对红光和蓝光矫正色差。如果再加上萤石透镜，可制成复消色差物镜，则可对红、蓝、绿光矫正色差。

3. 像场弯曲 (curvature of field) 简称场曲。应用消色差物镜观察时，往往整个视场不是同样清晰；如果调焦使中央清晰则周围模糊，如果调焦使周围清晰则中央模糊。这是由于物像的中央部分和周围部分不是聚焦在同一平面的缘故。采用补偿目镜有助于矫正场曲现象。平视场物镜的视场最为平坦，但因价格昂贵，而且要求标本片的制备，特别是盖玻片厚度极为严格，所以除显微照相外，一般少用。

(三) 数值孔径 (numerical aperture)

也称镜口率，简写为 N.A. 或 A.，在物镜和聚光器上都标有数值孔径。物镜是决定

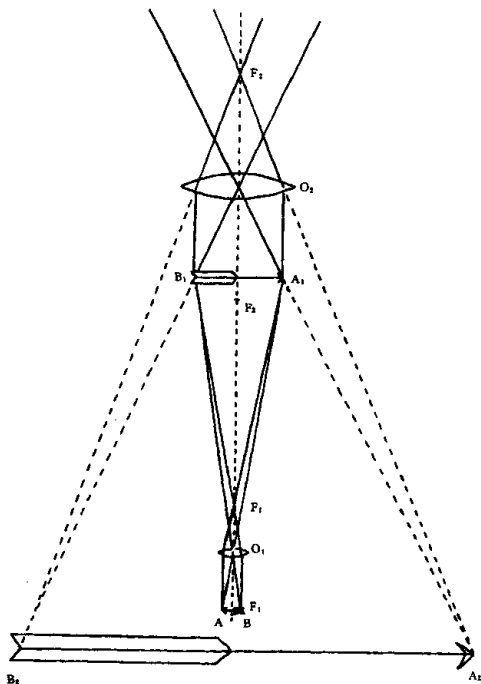


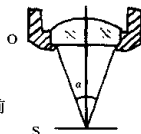
图 1.1.2 显微镜的成像原理简图

显微镜成像、分辨力大小的关键部分，而其分辨力的大小可用数值孔径 $N.A.$ 表示。它的计算公式是：

$$N.A. \approx n \times \sin \frac{\alpha}{2}$$

式中 n 是物镜与标本之间介质的折射率。

α 是物镜的镜口角，镜口角是指物镜光轴上的物点与物镜前透镜有效直径所成的角度（图 1.1.3）。



由此可知，镜口角或介质的折射率愈大，则数值孔径也愈大。图 1.1.3 物镜的镜口角
因为镜口角总是 $< 180^\circ$ ，所以 $\sin \alpha/2$ 总是 < 1 ；因为空气的折射率为
O: 物镜
S: 标本面 α : 镜口角
1，所以干燥物镜 $N.A. < 1$ ，一般为 $0.05 \sim 0.95$ ；水的折射率为

1.33, 水浸物镜的 $N.A.$ 一般为 $0.1 \sim 1.25$; 油浸物镜如用香柏油 (折射率 1.515) 浸没, 则 $N.A.$ 一般为 $0.85 \sim 1.4$ 。聚光镜的 $N.A.$ 也影响物镜的有效 $N.A.$, 为了获得最大的分辨力, 聚光镜的 $N.A.$ 不得小于所用物镜的 $N.A.$ 。聚光镜下面的可变光阑可以用来减小聚光镜的数值孔径 ($N.A.\text{cond.}$), 所以, 光阑孔径的变化可引起整个光学系统的有效数值孔径 ($N.A.\text{eff.}$) 的改变。

(四) 分辨力 (resolving power)

也称为分辨率。正常人眼能看清相距 0.073mm 的两个物点而不会误看成是一个点, 这个 0.073mm 的数值, 便是正常人眼的分辨距离。假如两个物点之间的距离小于这个数值, 那么人眼就分辨不出来, 会误看成是一个点, 所以分辨距离就是所能分辨开的两个物点之间的最小距离, 或称分辨限度 (limit of resolution)。分辨力与分辨距离成反比, 分辨力的大小是用分辨距离的数值来表示的。显微镜的性能越好, 则分辨力越高, 也就是分辨距离越小。显微镜分辨力的大小是由物镜的分辨力来决定的, 而物镜的分辨力又是由它的数值孔径 ($N.A.$) 和照明光线的波长 (λ , 单位 nm) 来决定的。当用普通的中央照明法时, 显微镜的分辨距离 (d) 与分辨率 (p) 可用下式计算:

$$d = \frac{0.5\lambda}{N.A.} \quad (1) \quad p = \frac{2N.A.}{\lambda} \quad (2)$$

根据上式, 可知物镜的 $N.A.$ 越大或照明光线的波长越短, 则分辨距离越小。一般油浸物镜的最大 $N.A.$ 约为 1.4, 照明用的可见光的波长范围为 $400 \sim 700\text{nm}$, 平均波长为 550nm , 代入 (1) 式:

$$d = \frac{0.5\lambda}{N.A.} = \frac{0.5 \times 550}{1.4} \text{nm} = 196\text{nm} \approx 0.2\mu\text{m}$$

结果表明: 在用可见光照明时, 即使最好的显微镜, 其分辨距离也不能小于 $0.2\mu\text{m}$; 距离小于此值的二点, 就分辨不清了。分辨不清的图像即使放大到很高的倍数还是分辨不清的。如果要进一步提高显微镜的分辨率, 只能改变照明光线的波长, 例如采用紫外光显微镜, 分辨率约可提高一倍。电子显微镜利用波长很短的电子射线, 因而分辨率更高。

(五) 放大倍数 (magnification)

又称放大率, 是指眼睛看到的物像的大小与实物的大小的比值。注意这里所说的大小是指长度 (或宽度) 而不是指面积。例如长度 $1\mu\text{m}$ 的标本放大 100 倍后, 像的长度是 $100\mu\text{m}$; 要是以面积计算, 则放大了 10 000 倍。

显微镜的总放大倍数 (Mt) 等于物镜放大倍数 (Mo) 和目镜放大倍数 (Me) 的乘积。

$$Mt = Mo \cdot Me$$

这种算法只有在使用标准的光学筒长 (一般是 160mm) 时才是正确的。如果光学筒长有变化, 则放大倍数也要发生变化, 须按下式计算:

$$Mt = Mo \cdot Me = \frac{L}{f_1} \cdot \frac{250}{f_2}$$

式中 L 为光学筒长, 250 为明视距离, f_1 与 f_2 分别为物镜和目镜的焦距 (单位均为 mm)。

由上式可知, 总放大倍数随着光学筒长的增加而增大。目前使用的显微镜大多数装有固定式镜筒, 其光学筒长不能改变。

当显微摄影或显微投影时, 影像的放大倍数 (Mp) 可按下式计算:

$$M_p = M_o \cdot M_e \frac{D}{250}$$

式中 D 为目镜至影像（或照相底片）的距离（单位 mm）。如果光学筒长有改变，则尚须乘以实际光学筒长与标准光学筒长的比值。

分辨率的高低主要取决于物镜的数值孔径，而目镜只能把物镜所分辨并放大的物像作进一步的放大，而无助于分辨率的提高；物镜不能分辨的细节，经目镜放大后仍然是看不清楚的。因此，总放大倍数是受物镜的分辨率所制约的，也就是取决于物镜的分辨距离或数值孔径。总放大倍数太低，则物镜能分辨的细节未能放大到能被肉眼分辨的程度，也就不能充分利用物镜的分辨力；如果总放大倍数太高，则不但不能增加物像的清晰度，反而由于视场亮度减弱和像差被放大而使清晰度降低，所以称为“无效放大”。有效的总放大倍数为数值孔径（N.A.）的 300~1000 倍，可以根据这个数值的计算，选用适宜的目镜。例如采用 10/0.25 物镜时，有效的总放大倍数为 75~250 倍，因此可配用 7× 以上的目镜；采用 40/0.65 物镜时，有效的总放大倍数为 195~650 倍，因此可配用 5× 至 16× 的目镜。但一般最实用的总放大倍数为数值孔径的 500~700 倍。

相同的总放大倍数并不意味着具有同样的分辨率。例如 40/0.65 物镜与 20× 目镜配合或 100/1.32 物镜与 8× 目镜配合，虽然总放大倍数都是 800 倍，但后者的分辨率比前者要高 1 倍。

（六）焦点深度

进行显微观察时，当调焦到标本的某一层时，不仅这一层物像而且连同其上下侧在一定范围内也能看清，这段上下距离的厚度称为焦点深度。焦点深度深，便于同时看到物体上下层的全貌；焦点深度浅，则便于分别观察物体上下层的细节，而不致互相干扰。所以焦点深度的深浅各有优点，要根据观察者的意图来选择。焦点深度与物镜的数值孔径和显微镜的总放大率成反比。要求高分辨率和放大倍数的，焦点深度自然就变浅。因此，在使用高倍镜时，必须灵活运用细调焦装置，从上到下观察被检物全层，这样就可弥补这一缺点。但是，在进行显微摄影时则不能如此，而要尽量利用焦点深度大的物镜。

（七）视场（视野）

就是在显微镜中看到的图形面，它是由目镜光阑围绕成的，这个圆形面的直径称为视场宽度。视场越宽，看到的标本范围越大。但视场宽度与总放大率成反比，即放大倍数越高，视场越小，所能观察到的标本范围也越小。视场宽度应根据工作要求和标本情况适当选择。

（八）镜像亮度

在一定的照明条件下，镜像亮度与数值孔径的平方成正比，与总放大率的平方成反比。即数值孔径越大，镜像亮度越亮；而放大率越高，镜像亮度越暗。例如，在其它条件相同时使用 15× 目镜比使用 5× 目镜镜像亮度低 9 倍。所以要使镜像亮度大，应选用高数值孔径的物镜与低倍目镜相配合。如使用 40/0.65 物镜配以 5× 目镜与使用 10/0.25 物镜配以 20× 目镜相比，虽然总放大率都是 200×，但前者的镜像亮度比后者高近 7 倍。镜像亮度过亮也不好，观察者会感到刺眼难受。为了减低亮度，有人喜欢用缩小聚光器光阑的办法，但是这样做会降低物镜的分辨力，比较好的办法是采用乳白玻璃，毛玻璃滤光片或磨砂的蓝绿色滤光片。

三、显微镜的使用和注意事项

(一) 光学系统的安装和照明调节

先插好目镜，然后转动粗调焦螺旋升高镜筒（或降低镜台）到适当距离，把所需用的物镜按顺时针方向从低倍到高倍依次装在物镜转换器上。在转动物镜转换器时，手指应捏住旋转盘或物镜与旋转盘的接触部位，而不可用手指推动接物镜，以避免引起光轴的偏斜。最后在聚光器支架上安装好聚光器和反光镜。

照明调节通称对光。显微镜的照明方法主要有两种：一种是中央照明法，最为常用；另一种是柯勒照明法，此法可得到较均匀而强的照明。

1. 中央照明法 本法适用于天然光、日光灯、各种没有会聚透镜反光阑的显微镜灯，或用普通台灯作为照明光源。因为射来的光速宽，也比较均匀，操作较为简单，具体步骤是：

(1) 使显微镜对正光源，让反射镜镜面充分接受射来的光，把聚光器上升到上透镜平面稍稍低于载物台平面的高度，注意对于装有聚光器的显微镜，一般都要用平面反射镜，以保证发挥显微镜的分辨力。在光源强度不足或利用天然光照明而窗格或窗外的树影也被映入视场时，可以使用凹面反射镜。对于不用聚光器的显微镜，则一般都要用凹面反射镜，它能起一些聚光器的作用。

(2) 将低倍物镜转到工作位置上，在载物台上放好标本片，把聚光器下的可变光阑开到最大，调节反射镜，使光线透过标本，进入物镜。

(3) 先用粗螺旋后再用细螺旋调焦到初步能看清标本，去掉标本片，再仔细地调节反射镜，使视场得到最亮和最均匀的照明，或照明最亮的区域正好处在视场的中央，然后就可放上标本片进行观察。

2. 柯勒照明法 (Kohler method) 本法是一种非平行光照明法，须用带有会聚透镜及可变光阑的显微镜灯，它有两个基本特点：即光源灯丝在显微镜聚光器的可变光阑平面上成像；显微镜灯的可变光阑在标本平面上成像。因而它能够控制标本的照明面积，特别适用于高倍的精细的观察和显微摄影。

当显微镜的光源部分装在镜座内，并带有可变光阑，则用柯勒照明法较为简便。主要是调节聚光器高度，使光源光阑在标本上成像，然后关闭光源光阑，观察照明面积是否随着改变，把光源光阑开到其边缘恰能在视场周围看到为止。

(二) 滤光片的使用

其目的有三：①减低视场亮度，减轻眼睛疲劳，并增进视场照明的均匀度。可采用乳白玻璃、毛玻璃滤光片或一面磨砂的蓝绿色滤光片；②增进分辨力，特别是用钨丝灯做光源时，用蓝绿色滤光片可以吸收掉一部分波长较长的光波，以增进分辨力；③增大明暗反差，对于无色的标本，选用蓝绿色滤光片可以增大明暗反差，有利于辨别标本的细节。如标本染有颜色，则可选用与标本颜色互补的滤光片。各种颜色的互补色见下表。例如标本呈蓝色，可用一个黄色滤光片来得到最大的反差。只要有红、黄、蓝三种原色的滤光片，互相叠加使用，便可得到多种不同的过渡色。

表 1.1.1 各种色光的波长及其互补色

色	波长 (nm)	互补色
紫	300 ~ 420	黄
蓝	430 ~ 490	
青	490 ~ 510	
绿	510 ~ 570	橙
黄	570 ~ 600	红
橙	600 ~ 620	紫红
红	620 ~ 750	紫蓝
		青

(三) 聚光器与物镜的配合

每个聚光器有一个最大的可用数值孔径数字, 通过改变它的可变光阑的开放程度可使聚光器的数值孔径相应变小, 使聚光器与所用物镜的数值孔径取得一致, 充分发挥各个物镜的分辨力, 取得最好的观察效果, 这对于较为精细的观察是很重要的。这种配合的操作方法是: 在完成上述照明操作之后, 取下目镜, 直接向镜筒中看, 把聚光器下的可变光阑关到最小, 再慢慢地开大, 开到它的口径与所见视场的直径恰好一样大, 然后安上目镜, 进行观察。每转换一次物镜, 都要随着做一次这样的配合操作。操作的目的是: ①使物镜接受到足够宽的人射光束, 而且入射光束所展开的角度正好符合物镜的镜口角的要求, 以保证充分发挥物镜的分辨力; ②把物镜所能接受的光束以外的多余光线挡掉, 以排除干扰。后面这一点对于显微摄影是特别重要的。

(四) 显微镜使用方法

1. 标本片的放置 将低倍物镜转到工作位置, 然后把标本片放在镜台上, 用标本压夹或标本移动器夹好, 并使所需观察的部分位于通光孔中央。注意: 在高倍物镜下观察后, 取下标本时, 也应先把低倍物镜转到工作位置, 或适当升高镜筒, 以防标本片撞击物镜。

2. 调焦和观察 将物镜焦点对准标本称为调焦。调焦时先转动粗调焦螺旋使镜筒慢慢下降, 同时在侧面细心观察, 待物镜接近标本片时为止 (即略小于物镜的工作距离)。此时一边从目镜中观察, 一边慢慢转动粗调焦螺旋, 使镜筒上升, 等到视场中显出物像时, 再转动细调焦螺旋使物像最清晰时为止。

细调焦螺旋使用不当容易损坏, 其活动范围一般以不超过 1 周为宜。有些显微镜上刻有标志其位置和规定移动范围的横线, 如发现标记已靠近停止线时, 应倒转细调焦螺旋使其退回中央位置, 用粗调焦螺旋调焦后, 再转动细调焦螺旋做精密的调焦。

对准焦点时, 物镜前透镜与标本片间的距离称为工作距离。物镜的工作距离与其焦距有关, 但不同于焦距。物镜的焦距越短, 放大倍数越高, 其工作距离越短; 反之亦同。由于焦距越短的物镜镜管越长, 焦距越长的物镜镜管越短, 所以同一工厂生产的同型号显微镜物镜可以进行同高调焦, 即在低倍物镜已准确调焦后, 转换其原配件的任何高倍物镜时, 均不需要另行调焦 (但油浸系物镜例外)。

在低倍镜下全面观察标本的概况后, 再进行目的部分的详细观察。方法是移动标本位置使目的部分位于视场中心, 再转换高倍物镜适当调节焦距和光线后, 即能观察到清晰的

物像。必要时也可换用不同放大率的目镜。目镜的更换不会影响焦点，只是放大率越高，视场越小，焦点深度越浅。

3. 镜筒下滑及加润滑油问题 显微镜的粗调焦螺旋的松紧度要合适，过紧时操作不灵活；过松时镜筒由于本身的重量而容易向下滑动，不能维持调好的焦点位置。

如发现粗调焦螺旋太松或太紧时，可用一只手握紧粗调焦螺旋，作适当的调节，直到松紧度合适时为止；有的显微镜则是通过调节安装在粗调焦螺旋横轴上的小螺旋钉，来调节粗调焦螺旋的松紧度。

显微镜的机械装置表面要经常擦拭，但不要常上油，以免灰尘沾入，操作反而不灵活。调焦装置和聚光器升降装置的齿轮、齿条及导轨等部分均涂有优质的润滑油，不要再加机油或质量不好的润滑油；有时新购来的或多年不用的显微镜操作有些不灵活，只要来回拧动数次，就会逐渐灵活起来。有时因为室内温度过低，润滑油凝固而引起操作不灵活，只要温度升高些就能克服。

(五) 显微镜的保养

1. 收藏 将显微镜从镜箱中取出或放入时，应用右手紧握镜臂，左手托住镜座，使镜身保持直立姿势，防止目镜、滤光片及反射镜掉地，并应轻拿轻放。使用前后，要做必要的清洁工作。观察完毕后，把物镜转离光轴，使镜筒下端正好对在两个物镜之间，如物镜转换器上有空位时可使空位对准光孔，这样，万一镜筒上端受到意外压力时，不致发生物镜撞击聚光器的危险。与此同时，要把载物台上的压夹或标本移动架移到适当的位置，以避免任何一个物镜的前端碰到其上。

2. 保管

(1) 防潮 显微镜不用时应放入显微镜箱中，再放入包好的适量干燥剂，然后贮存在干燥的地方。干燥剂要经常检查是否已经失效。要及时擦掉观察者呼出的水汽在镜壁上凝成的水珠。

(2) 防尘 室内要保持清洁、安静，避免灰尘落到显微镜上，特别是物镜上。暂时不用的显微镜可用软塑料布或细绸布做成的防尘罩保护。镜筒上应经常有目镜放着，以防止灰尘落入镜筒中。

(3) 防腐蚀 显微镜不可与腐蚀性的酸类、碱类或挥发性强的化学物质放在一起，以免被侵蚀，缩短使用年限。原则上，当观察含液体的标本时，一般都要盖上盖玻片；假如液体中含有酸、碱等腐蚀性化学物质时，应把盖玻片四周用石蜡或凡士林封住，然后再观察。但是由于中草药显微鉴定时，经常要用这一类试剂，不可能都封固，所以要特别小心，防止液体流到载物台上，更不可沾在物镜上，因此要求显微标本片必须做得干净整齐，不可有多余的液体留在盖玻片四周，更不可有液体沾在盖玻片上。

3. 清洁方法

(1) 机械装置 如有污秽，可用干净的柔软细布擦拭。如有擦不掉的污迹，可用细绸布或擦镜纸蘸点二甲苯擦拭；不得用酒精或乙醚擦，因为这些溶剂会侵蚀油漆。

(2) 光学镜头 必须特别小心，一般不要随便擦拭，如有灰尘附着可用吹气球吹去；吹不掉时，可用干净毛笔或用羽毛轻轻刷去。如有擦不掉的灰尘、油污或指印时，可用棉签或擦镜纸稍蘸一点二甲苯轻擦；一定不要重擦、乱擦，因为灰尘中有许多比玻璃还硬的沙粒，乱擦很容易划出条纹。另外，要顺着镜头的直径方向擦，而不可顺着镜头的圆周方向擦，因为万一不慎划出条纹，直径方向的条纹比圆周方向的条纹对成像质量的影响要