



中国科学院教材建设专家委员会规划教材  
全国高等院校医学实验教学规划教材

# 生药学实验

主 编 姬生国 高建平



科学出版社

中国科学院教材建设专家委员会规划教材  
全国高等院校医学实验教学规划教材

# 生药学实验

主 编 姬生国 高建平

副主编 苟占平 刁云鹏 吴修红 车苏容

编 者 (按姓氏汉语拼音排序)

蔡广知 (长春中医药大学)

马鸿雁 (广东药科大学)

车苏容 (福建中医药大学)

孟令锴 (牡丹江医学院)

陈全成 (厦门大学)

潘利明 (广东药科大学)

刁云鹏 (大连医科大学)

税丕先 (西南医科大学)

董永和 (包头医学院)

王 飞 (辽宁中医药大学)

高建平 (山西医科大学)

王晓琴 (内蒙古医科大学)

苟占平 (广东医科大学)

吴修红 (黑龙江中医药大学)

黄泽豪 (福建中医药大学)

杨光义 (湖北医药学院)

姬生国 (广东药科大学)

赵云生 (宁夏医科大学)

刘 芳 (长治医学院)

周玉生 (南华大学)

刘恩荔 (山西医科大学)

科 学 出 版 社

北 京

## 内 容 简 介

本教材分为基础性实验、综合性实验、研究创新性实验三部分,依据生药学的教学大纲,注重结合实际操作技能的训练。以基源、性状、显微、理化鉴定的基本操作技能归到基础性实验内容;以常用代表性生药的全面鉴定内容归到综合性实验,培养学生对生药鉴定的综合试验能力;以生药质量评价方法、中成药鉴定、未知生药混合粉末鉴定、含量测定及 DNA 条形码鉴定归到研究创新性实验,培养学生的创新研究能力。

本教材可供药学类各专业、制药工程、医药营销、临床药学等专业及本科、专科、成教等各层次学生使用,也可以作为从事药学专业人员及医药工作者的参考书。

### 图书在版编目(CIP)数据

生药实验 / 姬生国, 高建平主编. —北京: 科学出版社, 2016.7  
中国科学院教材建设专家委员会规划教材·全国高等院校医学实验  
教学规划教材

ISBN 978-7-03-049379-8

I. ①生… II. ①姬… ②高… III. ①生药学-实验-高等学校-教学参考资料 IV. ①R93-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2016)第 160916 号

责任编辑: 赵炜炜 胡治国 / 责任校对: 赵桂芬

责任印制: 赵 博 / 封面设计: 陈 敬

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

三河市骏杰印刷有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2016 年 7 月第 一 版 开本: 720×1000 1/16

2016 年 7 月第一次印刷 印张: 9 1/2

字数: 183 000

定价: 29.80 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

## 前 言

《生药学实验》是《生药学》(案例版)教材的配套实验教材。本教材的编写以新形势下生药学教学的特点为依据,结合实际工作中真实操作的内容,以指导学生实际动手能力为指导原则,结合教学大纲,优化实验内容,加强了创新实验,探索推进实验教学改革,更加适合教学需要和人才培养目标。

本教材注重整体内容的优化,体现实验内容的创新性和实践性相结合。全书按照基础性实验、综合性实验、研究创新性实验三大部分,将生药鉴定中传统四大鉴别方法来源鉴定、性状鉴定、显微鉴定、理化鉴定归入基础性实验;综合性实验是按照教材编写顺序选取有代表性的生药,体现了生药在基源、性状、显微、理化鉴定上的主要鉴别特征;创新性实验分为未知混合生药粉末的鉴定、中成药的鉴定,旨在对生药学研究内容的综合能力培养,有效成分的含量测定是对生药质量评价方面问题能力的培养,DNA 条形码鉴定是生药鉴定的发展方向,本教材安排了 2015 年版《中国药典》收载的乌梢蛇一个品种的实验内容。这些实验教学内容可以供药学专业、药物制剂专业、制药专业及各层次学生使用,也可以作为从事药学专业人员及医药工作者的参考书。

本教材由主编、副主编及有关院校编委审阅编写。由于水平有限,教材中难免存在缺点,敬请批评指正,对本教材中参考的文献资料的编创人员表示感谢。

《生药学实验》编委会

2016年5月

# 目 录

第一章 基础性实验	1
实验一 基源鉴定	1
实验二 性状鉴定	2
实验三 显微鉴定(一)(显微制片方法及显微特征鉴定)	7
实验四 显微鉴定(二)(显微测量及显微描绘技术与显微绘图)	13
实验五 理化鉴定(一)(生药水分及灰分测定)	17
实验六 理化鉴定(二)(生药浸出物及挥发油的含量测定)	20
实验七 理化鉴定(三)(薄层色谱鉴定)	22
实验八 理化鉴定(四)(化学定性鉴别)	24
实验九 理化鉴定(五)(荧光分析鉴定)	27
实验十 理化鉴定(六)(微量升华鉴定)	28
第二章 综合性实验	30
实验一 藻、菌、蕨类及裸子植物类生药	30
实验二 双子叶植物生药(一)	33
实验三 双子叶植物生药(二)	36
实验四 双子叶植物生药(三)	41
实验五 双子叶植物生药(四)	44
实验六 双子叶植物生药(五)	48
实验七 双子叶植物生药(六)	52
实验八 双子叶植物生药(七)	55
实验九 双子叶植物生药(八)	58
实验十 双子叶植物生药(九)	61
实验十一 双子叶植物生药(十)	64
实验十二 双子叶植物生药(十一)	69
实验十三 双子叶植物生药(十二)	72
实验十四 双子叶植物生药(十三)	76
实验十五 双子叶植物生药(十四)	80
实验十六 双子叶植物生药(十五)	83
实验十七 双子叶植物生药(十六)	86
实验十八 单子叶植物生药(一)	89
实验十九 单子叶植物生药(二)	93
实验二十 动物类生药(一)	98
实验二十一 动物类生药(二)	100
实验二十二 矿物类生药	104
第三章 研究创新性实验	106
实验一 生药的质量标准制定	106

实验二	中成药的鉴定	109
实验三	未知生药混合粉末的鉴别	110
实验四	生药的含量测定——高效液相色谱法	111
实验五	生药的含量测定——气相色谱法	113
实验六	生药的含量测定——薄层扫描法	114
实验七	生药的含量测定——紫外分光光度法	115
实验八	DNA 条形码鉴定	116
附录 1	常用试剂的配制方法	118
附录 2	常用试纸的制备方法	130
附录 3	常用缓冲溶液的配制方法	131
附录 4	中药材 DNA 条形码分子鉴定法指导原则	138
附录 5	生药性状鉴定中常用鉴定术语	142
参考文献		145



# 第一章 基础性实验

## 实验一 基源鉴定

### 【目的要求】

1. 掌握生药基源鉴定的目的。
2. 掌握生药基源鉴定的方法

### 【仪器、试剂、材料】

1. 仪器 放大镜、解剖针、刀片、中国国家植物标本馆(PE)模式标本集、植物检索表、植物志。
2. 材料 当地能够采集到的中药标本及完整植物。

### 【实验内容】

1. 观察植物形态 对具有较完整植物体的生药检品，应注意其根、茎、叶、花和果实等部位的观察，其中对花、果、孢子囊、子实体等繁殖器官尤应仔细观察，借助放大镜或解剖显微镜观察其形态构造，写出花程式。观察植物特征时，应以典型材料为依据，不应以个别变异材料为标准。在实际工作中经常遇到的检品是不完整的，一般都要追究其原植物，包括深入到产地调查，采集实物，进行对照鉴定。

根据已观察到的形态特征和检品的产地、别名、效用等线索，查阅全国性或地方性的植物检索表，进行检索。

在鉴定植物标本时，应根据观察到的特征，应用检索表依次向下或向后查找，不要跳过一项或几项。同时，每查一项，都应该看看检索表中相对编写的另一项，两项比较，看看哪一项最符合待检索植物的特征。检索表上相应的两个分支的序号相同，两个分支是根据相对的性状编写的。在整个检索过程中，只要有一项出错，就可能导致鉴定的失败。为确保鉴定结果的正确性，不要先入为主、主观臆断和倒查检索表。

2. 核对文献 鉴定结束后，还应该找有关专著或相关资料进行核对，看鉴定结果是否完全符合该植物的特征，该植物标本上的形态特征是否和书上的图、文描述符合。

在核对文献时，首先应查考植物分类学著作，如《中国植物志》、《中国高等植物图鉴》等，以及有关的地区性植物志等；其次再查阅中药品种方面的著作，如《中药志》、《中药材品种论述》等。由于各书记载原植物形态的详略不同，对同一种植物的记述有时也会不一致，因此，必要时，须进一步查对原始文献，以

便正确鉴定。原始文献，即指第一次发现该种(新种)植物的植物工作者，描述其特征，予以初次定名的文献。

**3. 核对标本** 当知道未知种是什么科属时，可以到标本室核对已定学名的该科属标本，或根据文献核对已定学名的某种标本。通过对照中国国家植物标本馆(PE)模式标本集中已定学名的标本，确定鉴定的正确性。在核对标本时，要注意同种植物在不同生长期的形态差异，需要参考更多一些标本，才能使鉴定的学名准确。如有条件，能与模式标本(发表新种时所被描述的植物标本)核对，这对正确鉴定更为有利。对一些难以定名的标本，可寄请专家或植物分类研究单位协助鉴定。

原动物的鉴定，应按动物学分类方法进行。

### 【作业】

记录本次试验内容及过程。

## 实验二 性状鉴定

### 【目的要求】

1. 掌握性状鉴定的目的。
2. 掌握性状鉴定的方法。
3. 掌握水试、火试鉴定方法。

### 【仪器、试剂、材料】

1. 仪器 放大镜、解剖针、刀片、酒精灯、烧杯、火柴。
2. 试剂 蒸馏水、乙醇。
3. 材料 大黄、何首乌(生首乌、制首乌)、人参(生晒参、糖参、西洋参、高丽参)、黄连(味连、雅连、云连)、辛夷、五味子、南五味子、板蓝根、黄芪、番泻叶、黄柏(黄柏、关黄柏)、五倍子(角倍、肚倍)、沉香、厚朴、肉桂、丁香(去油丁香、非去油丁香)、白芷(杭白芷、祁白芷)、薄荷、黄芩、地黄、红花、苍术、海金沙、蒲黄、青黛、槟榔、川贝母、西红花、天麻、鹿茸、僵蚕、蕲蛇。

### 【实验内容】

**1. 大黄** 表面黄棕色至红棕色，具类白色网纹，根茎顶部横切面，可见排成1~3环的“星点”(异常维管束)，并有部分散在，中下部横切面“星点”多排成一环或渐散在，而根的横切面不具“星点”，有放射状纹理。气香，味苦涩，嚼之黏牙，染唾液成黄色。

**2. 何首乌** 不规则块状，表面红棕色或红褐色，质坚体重，横切面黄棕色，显粉性，可见云锦状花纹(异常维管束)，中央木心明显。

### 3. 人参(生晒参、糖参、西洋参、高丽参)

(1) 人参：商品主要有野山参和圆参。圆参的规格主要有生晒参、红参、白参等。



**野山参**：主根粗短，多具2个分支，有的呈“人”形“短横体”，上端有细密而深陷的环纹“铁线纹”。芦(根茎)细长“雁脖芦”，几与主根等长，芦碗(茎痕)密集(堆花芦)，其下有1~3个下垂生长的不定根(芋)“枣核芋”。支根有许多细长的须根，可见疣状突起“珍珠须”。

**生晒参**：主根圆柱形，长3~15cm，具疏浅断续的环纹，灰黄色，芦头上芦碗较少，须根上疣状突起不明显。横切面形成层环明显，散有棕色小点。味苦而回甜。

**红参**：全体红棕色，角质样，主根圆柱形或加工成长方形。

**白参**：类白色，表面可见点状针刺痕。味甘。

(2) **西洋参**：主根呈长圆锥形、纺锤形或圆柱形。芦头多已除去，表面浅黄褐色或黄白色，有细密浅纵皱纹及横向环纹。主根中、下部可见一至数条侧根，多折断。气微而特异，味微苦而甘。

**4. 黄连(味连、雅连、云连)** 圆柱形，具结节状突起，部分节间较长而光滑，习称“过桥”，有时可见残存的须根或膜质鳞叶。断面木部黄色，髓部、皮部红棕色。味极苦。

**味连**：根茎多分枝集聚成簇，形如鸡爪。

**雅连**：根茎多单枝，较粗壮，“过桥”较长。

**云连**：根茎多单枝，细小，略弯曲，无“过桥”或“过桥”短。

**5. 辛夷** 毛笔头形。苞片外表面密被灰白色或淡黄白色有光泽的长茸毛，内表面无毛，棕紫色或棕褐色。除去花被，可见多数雄蕊和雌蕊，分离，螺旋状排列于伸长的花托上。

**望春花**花蕾：6片花瓣，3片小型萼片。

**湖北木兰花**花蕾：花被片多为12，同型。

**玉兰花**花蕾：花被片9，同型。

**6. 五味子** 不规则的球形或扁球形。表面红色、紫红色或暗红色，皱缩，显油润。果肉柔软，有的表面出现“白霜”。种子1~2，肾形。果肉味酸；种子表面平滑，味辛，微苦。

**7. 南五味子** 粒较小。表面棕红色至暗棕色，干瘪，皱缩，果肉薄，紧贴种子上，种子表面不平滑。

**8. 板蓝根** 圆柱形，表面黄白色至棕黄色，根头略膨大，可见轮状排列的叶柄残基和虎状突起。断面皮部白色“玉栏”，木部黄色“金井”，较窄射线放射状排列“菊花心”。气微，味微甜而后苦涩。

**9. 黄芪** 圆柱形或上粗下细。表面灰黄色或黄白色，外皮脱落露出网状纹理。质较韧，断面纤维性，又显粉性，皮部黄白色“玉栏”，木部淡黄色“金井”，可见放射状纹理“菊花心”。气微，味微甜，并有豆腥味。

#### 10. 番泻叶

(1) **狭叶番泻叶**：叶片披针形至狭长披针形，叶端急尖或渐尖，中脉突出，叶基楔形，略不对称。黄绿色，有疏毛或光滑。叶片纸质。叶柄圆柱形，疏生柔

毛。气无，味苦而稍有黏性，

(2) 尖叶番泻叶：叶片略小，基部不对称。

### 11. 黄柏

(1) 黄柏：板片状，外表面黄棕色或黄褐色，栓皮较薄，没有弹性，内表面暗黄色。断面深黄色，裂片状分层，纤维性。味极苦，嚼之有黏性。

(2) 关黄柏：外表面黄绿色或淡黄棕色，残有栓皮；内表面黄棕色，断面鲜黄色或黄绿色。

**12. 五倍子(角倍、肚倍)** 按外形不同分“肚倍”和“角倍”。肚倍呈纺锤形囊状，被灰黄色柔毛，壁较厚。角倍呈菱形，有不规则角状分枝，被灰白色柔毛，壁较薄。口尝味涩。

**13. 沉香** 多为进口品，呈不规则形，有刀劈痕。黄棕色，密布棕黑色或黑褐色的树脂条纹或斑痕。质致密而重，能沉于水或半沉于水。

火试：取少量药材燃烧可见冒浓烟，香气浓烈，并有黑色的油状物渗出。

**14. 厚朴** 干朴呈卷筒状或双卷筒状，近根部的干皮一端展开如喇叭口。外表粗糙，有明显的椭圆形皮孔，内表面较平滑，紫棕色，划之显油痕。质坚硬。断面外侧颗粒性，内侧纤维性，有时可见多数发亮的细小结晶(厚朴酚结晶)。气香，味苦，带麻辛辣感。根朴似鸡肠。枝朴皮薄呈单筒状，断面纤维性。

**15. 肉桂** 槽状或卷筒状，外表面有横向突起的皮孔，内表面红棕色，用指甲刻划可显油痕。断面外层颗粒性，内层油润，红棕色，中间有一条黄棕色的线纹(石细胞环带)。香气浓烈，味甜辣。根据采收加工方法不同，可分为桂通、企边桂、板桂、桂碎等。

**16. 丁香(去油丁香、丁香)** 呈研棒状，上部花冠近球形。下部萼筒呈圆柱形而稍扁，红棕色或暗棕色，表面有颗粒状突起，指甲刻划有油痕，萼筒先端4裂，裂片三角形肥厚，十字分开。花瓣4片，覆瓦状排列，内包多数雄蕊。质坚而重，入水则萼管垂直下沉。香气浓郁，味辣，后有微麻舌感。

水试：在烧杯中装入蒸馏水使水面至烧杯中部，取5粒丁香，放入水中，稍微搅拌，静止5min后，可见花萼筒垂直向下，沉或半沉于水。另取提取过挥发油的去油丁香，同法放入水中，可见花萼筒漂浮在水面上。

### 17. 白芷(杭白芷、祁白芷)

(1) 祁白芷：长圆锥形，根头部圆柱形。表面有横向突起的唇形皮孔。断面白色，有粉性，环圆形，皮部可见棕色小点，木部占断面的1/3。气香，味辛微苦。

(2) 杭白芷：皮孔约排成4行，环类方形，木部占断面的1/4。

**18. 薄荷** 茎方形，单叶对生，多卷缩，完整叶深绿色，呈长圆形或卵形，稀被茸毛，有凹点状腺鳞，叶揉搓有特异清凉香气。

**19. 黄芩** 根圆锥形，扭曲，外皮多除去，表面棕黄色，断面黄色，味苦。

**20. 地黄** 纺锤形或椭圆形。断面有光泽，灰黑色或黑色，维管束不明显。口嚼粘牙，味甜微苦。

**21. 红花** 为不带子房的管状花，条形，长约 1.5 cm。红黄色或红色，全为筒状花，花冠先端 5 裂。聚药雄蕊，花药黄色。柱头露出花药，顶端 2 分叉，淡黄色。

水试：取烧杯加入少量水，放入少量红花，5 min 后可见水溶液被染成金红色。

**22. 苍术** 不规则连珠状或结节状圆柱形，表面灰棕色或棕褐色，断面黄白色，散有少数橙黄色或棕红色油点，习称“朱砂点”，暴露稍久，可析出白毛状结晶“起霜”或“吐脂”。香气特异，味微甘、辛、苦。

北苍术：呈疙瘩块状或结节状圆柱形，表面棕黑色，断面散有黄棕色油点，无毛状结晶析出。香气较淡，味辛、苦。

**23. 海金沙** 孢子呈颗粒状粉末，黄棕色，质轻，能浮于水面。火烧有爆鸣声并闪光，无渣。

水试：取烧杯加蒸馏水至中部，在水面上撒入少量海金沙，可见海金沙漂浮在水面上，将烧杯放在酒精灯上加热，可见随着温度的升高，海金沙逐渐沉入水底。

**24. 蒲黄** 细粉状，鲜黄色，易飞扬，手捻之有润滑感。含有花丝者，花丝呈黄棕色。

水试：取烧杯加蒸馏水至中部，在水面上撒入少量蒲黄，可见蒲黄漂浮在水面上，将烧杯放在酒精灯上加热，可见随着温度的升高，蒲黄仍然漂浮在水面上。

**25. 青黛** 为深蓝色细粉，体轻，易飞扬，能浮于水面。

火试：取少量青黛放在白纸上，点燃可见冒出紫红色烟雾。

**26. 槟榔** 扁球形或圆锥形，高 1.5~3.5 cm。表面淡黄棕色或淡红棕色，具稍凹下的网状沟纹，底部中心有珠孔，其旁有疤痕状种脐。质坚硬，断面可见棕色种皮与白色胚乳相间的大理石样花纹。

大腹皮：槟榔的果皮。呈椭圆形或长卵形瓢状，外果皮深棕色至近黑色，具不规则的纵皱纹及隆起的横纹。内果皮凹陷，光滑，呈硬壳状。质硬，纵向撕裂后可见中果皮纤维。果皮打松后又称大腹毛，外果皮多已脱落，中果皮棕毛状，内果皮硬壳状。

**27. 川贝母**

(1) 松贝：小圆锥形，高 3~8 mm，直径 3~9 mm，外层两鳞叶大小悬殊，紧密合抱“怀中抱月”，顶端闭合，基部平坦。表面白色，富粉性。

(2) 青贝：扁球形或圆锥形，直径 0.4~1.6 cm，高 0.4~1.4 cm，外层两鳞叶大小相近，相对合抱“观音合掌”，顶端开裂。

(3) 炉贝：长圆锥形，较大，直径 0.5~2.5 cm，外层两鳞叶大小相近，顶端长尖，开裂。表面具棕色斑点“虎皮斑”。

**28. 西红花** 弯曲的细线形，红棕色，长约 3 cm，柱头顶端具 3 裂齿。有特异香气。

水试：将少量西红花放入水中，可见柱头呈喇叭状，开口处波状，具细齿，内方有一裂缝，长 1.5~2 cm，呈一条黄线下沉，水染成黄色。

**29. 天麻** 扁长椭圆形，一端有红棕色干枯芽苞(鹦哥嘴或红小瓣)或茎基，另一端为圆形疤痕。表面环节上具凹陷圆点，半透明，断面角质样。

### 30. 鹿茸

(1) 花鹿茸：呈圆柱状分枝，具一个分枝者习称“二杠”，主枝习称“大挺”，长 17~20 cm，圆柱形，顶端钝圆，离锯口约 1 cm 处分出侧枝，习称“门庄”；外皮红棕色或棕色，光滑，密生红黄色或棕黄色细茸毛；锯口黄白色，外围无骨质，中部密布细孔；体轻。具两个分枝者习称“三岔”，主枝略呈弓形，微扁，枝端略尖，下部多有纵棱筋及突起疙瘩；皮红黄色，茸毛较稀而粗；锯口外围多已骨化。二茬茸与头茬茸相似，但挺长而不圆或下粗上细，下部有纵棱筋。皮灰黄色，茸毛较粗糙，锯口外围多已骨化。体较重。无腥气。

(2) 马鹿茸：较花鹿茸粗大，分枝较多，侧枝 1 个者习称“单门”，二个者习称“莲花”，三个者习称“三岔”，四个者习称“四岔”或更多。按产地分为“东马鹿茸”和“西马鹿茸”。

东马鹿茸“单门”大挺长 25~27 cm，直径约 3 cm，外皮灰黑色，茸毛灰褐色或灰黄色，锯口外面皮较厚，灰黑色，中部密布细孔，质嫩；“莲花”大挺长可达 33 cm，下部有棱筋，锯口面蜂窝状小孔稍大；“三岔”皮色深，质较老；“四岔”茸毛粗而稀，大挺下部具棱筋及疙瘩，分枝顶端多无毛，习称“捻头”。

西马鹿茸大挺多不圆，长 30~100 cm。表面有棱，多抽缩干瘪，分枝较长而弯曲，茸毛粗长，灰色或黑灰色。锯口色较深，常见骨质。气腥臭，味咸。

**31. 僵蚕** 圆柱形，多弯曲皱缩。表面灰黄色，被白色粉霜。头部较圆，黄棕色，体节明显，体腹有足 8 对，尾部略呈二叉分枝状。质硬而脆，易折断，断面平坦，外层白色，中间有亮棕色或亮黑色呈角质状的丝腺环 4 个(胶口镜面)。

**32. 蕲蛇** 圆盘状，盘径 17~34 cm，体长可达 2 m。头在中间稍向上，呈三角形而扁平，吻端向上，习称“翘鼻头”。上腭有管状毒牙，中空尖锐。背部有 17~25 个“方胜纹”。腹部撑开或不撑开，灰白色，鳞片较大，有黑色类圆形斑点，习称“连珠斑”，腹内壁黄白色，脊椎骨的棘突较高，呈刀片状上突，前后椎体下突多为弯刀状，向后倾斜，尖端明显超过椎体后隆面。尾部骤细，末端有长三角形角质鳞片 1 枚，习称“佛指甲”。

### 【作业】

1. 解释生药性状鉴定的方法？
2. 写出常见生药(10种)性状鉴定时“看”所描述的常见鉴定术语？
3. 写出生药性状鉴定中水试、火试鉴定的含义？

## 实验三 显微鉴定(一)

### (显微制片方法及显微特征鉴定)

#### 【目的要求】

1. 掌握显微制片方法。
2. 掌握常用细胞壁及细胞内含物的鉴定方法。

#### 【仪器、试剂、材料】

1. 仪器 生物显微镜、镊子、解剖针、载玻片、盖玻片、试管、烧杯、滑走式切片机。

2. 试剂 乙醇、石蜡、甘油、乙酸、盐酸、硫酸、硝酸、水合氯醛、氢氧化钾、硝酸铬、氯酸钾、浓硝酸、番红染色液、固绿染色液、加拿大树胶、F. A. A 固定液、二甲苯、间苯三酚试液、钨红试液、苏丹III试液、碘试液。

3. 药材 大黄、肉桂、山药、黄柏、桔梗、穿心莲；新鲜叶材料、新鲜幼茎材料。

#### 【实验内容】

利用显微镜对生药及成方制剂中药材的组织、细胞或内含物等特征进行鉴别的一种方法，是生药鉴别的重要手段之一。适用于性状鉴定不易识别的生药，性状相似不易区别的多来源生药、破碎生药、粉末生药以及用粉末生药制成的丸、散、锭、丹等中药成方制剂的鉴定。进行显微鉴定，首先要根据观察的对象和目的，选择具有代表性的生药，制作不同的显微制片。

### 一、常见的封藏剂

1. 水合氯醛溶液 常用透明剂，具有三大特点：①能使皱缩的细胞壁复原。②能溶解细胞内有颜色的成分，如色素、蛋白质、多糖、树脂等，使细胞组织变得清晰透明。③能溶解细胞间质，使细胞分离，更有利于观察。直接装片不加热可以观察聚糖、橙皮苷等结晶。

2. 稀甘油 一般封藏剂，可形成良好的透光条件，具有保湿作用，可用于观察户分离、菌丝、水合氯醛透化后滴加，具有保湿和防止水合氯醛析出结晶的作用。

3. 甘油乙酸溶液 (斯氏液) 观察淀粉类或测量其大小时可用。

4. 乙醇 观察聚糖时可用。

5. 蒸馏水 观察淀粉类时可用。

### 二、常见的制片方法

#### (一) 粉末制片法

用于粉末状生药及中成药的显微鉴别，是生药鉴别最常用方法之一，一般用

于临时观察。

**1. 蒸馏水(或斯氏液)装片法** 用于观察淀粉粒。取粉末适量,置载玻片中央,然后滴加蒸馏水(或斯氏液)1~2滴。用解剖针拌匀,盖上盖玻片,用吸水纸吸去多余的试液,即得。

**2. 水合氯醛透化法** 取适量粉末置载玻片上,滴加水合氯醛液 1~2 滴,置酒精灯上加热,待液体渗入粉末内部,渐成透明状(透化),试液因加热而渐渐挥干,再滴加水合氯醛液 1~2 滴,加热,透化,防止沸腾。然后滴加稀甘油 1~2 滴,用解剖针将粉末混匀,盖上盖玻片,用吸水纸吸去多余的试液,即得。

## (二) 表面制片法

适用于观察叶片、花萼、花瓣、草质茎等表皮的显微特征。

**1. 材料的预处理** 干材料可用冷水浸泡,如急用,可用温水浸泡,亦可煮沸,加速软化和恢复原样。鲜材料洗净即可。

**2. 撕取方法** 取材料用刀片在表面轻轻浅划一刀,再用镊子从切口处撕取表皮,将表皮外表面向上置于载玻片上,以稀甘油装片即可观察。或用镊子将细小的叶脉挑起,顺着叶脉而起的表皮,可用刀片划开。

**3. 削取方法** 用于表皮不易与其他组织分离的材料。用徒手切片的方法,使刀片与材料表面平行削取表皮,带 1~2 层表皮下组织亦可。如材料颜色过深,则应用水合氯醛液透化后再用稀甘油装片即可,或直接加稀甘油装片。

**4. 整体封藏法** 用于扁平而薄又难撕取表皮的材料。如花瓣、花粉、孢子等。既可用于观察表皮,亦可用于观察叶肉组织等。将材料切成 2~5 mm 的小方块,一正一反置载玻片上,用水合氯醛液透化后,加稀甘油 1~2 滴,盖上盖玻片,用吸水纸吸去多余的试液,即得。花粉、孢子等可用水合氯醛液直接透化后制成临时标本片。

## (三) 解离组织制片法

利用化学试剂使组织中各细胞间的胞间层溶解而使细胞互相分离的一种制片方法。主要观察纤维、石细胞、导管及管胞的完整形态及主体形状。

预处理:先将材料切成边长约 2 mm 的立方体或条状,然后再添加各种解离试剂,依所用的化学试剂不同可分为 4 种,即氢氧化钾法、硝酸法、氯酸钾法、浓硝酸法。木化程度较高的生药,可采用硝酸法、氯酸钾法与浓硝酸法;木化程度较低、薄壁细胞占大部分的生药,可采用氢氧化钾法。具体方法如下:

**1. 氢氧化钾法** 用于软或稍硬的材料,也适于薄壁组织多、木化程度低的生药。将约 2 mm 的长条状、细块状材料置小烧杯或表面皿中,加 5% 氢氧化钾试液适量,以淹没材料为度,置沸水浴中加热至用玻棒轻压材料能离散,材料较软呈透明状(一般需 10~20 min),小心倾去碱液。用滴管吸入蒸馏水或清水冲洗干净,取少许材料于载玻片上,用解剖针尽量撕开离散,滴加稀甘油 1~2 滴,装片镜检。

**2. 硝酸法** 适于木化组织较多或较硬的材料。将处理好的材料放入烧杯中

或表面皿中，加入 10%硝酸与 10%铬酸等量混合液，以淹没材料为度，室温放置或稍加热至材料用玻棒轻压即散为止，倾去酸液，小心用清水冲洗干净，取少许材料于载玻片上，用解剖针离散材料，滴加稀甘油 1~2 滴，轻放盖玻片，即得。

**3. 氯酸钾法** 将处理好的材料置于小烧杯或试管中，加 50%(V/V)硝酸适量投入量氯酸钾粉，并在火焰上或沸腾水浴中加热，待产生的气泡平息后，再及时投入少量氯酸钾，以维持气泡稳定发生，时间为 5~15 min，应根据材料的硬度和木化程度而定。再用玻棒挤压材料能离散为止。注意，每次投入的氯酸钾不可过多，温度不宜太高。否则产生大量气泡溢出杯外，在加热过程中，还能产生有毒的氯气。

**4. 浓硝酸法** 将材料置于装有 1~2 ml 浓硝酸小试管中，在酒精灯上加热至微沸，见材料上下翻腾，起泡即可。稍冷后用水洗涤。洗涤后即可取材料封片检查。注意安全或在通风处进行，因浓硝酸沸腾时会冒出大量黄色的有毒烟雾。

#### (四) 徒手切片法

利用刀片或徒手切片器固定材料直接切片。该法简单易行，快速，能保持植物体原有结构和内含物，能及时得到观察结果，用途很广，适合于临时观察或显微化学实验，是生药显微鉴定的一项基本技能，缺点是不适合长期保存。

**1. 材料预处理** 将新鲜的材料或已软化的材料，选择适当部位，置于小烧杯中可直接加水浸泡，或酒精灯上加热煮软，一般沸腾后 20~30 min。也可以将材料放入玻璃干燥器中，放入含 0.5%苯酚的水，密封，一般药材在 12~24 h 后均可吸湿软化，以供切片用。新鲜材料两端削平，切成宽不超过 1 cm，长不超过 3 cm 为宜。切成长 2~5 cm 的小段，切面削平。

**2. 切片** 左手拇指及食指夹住材料，中指略抵住药材，右手持刀，刀口向内，自左向右沿平面切片。注意切片要保持平整，刀口轻轻压住材料，切时要用臂力而不用腕力。亦可视材料不同，将较小的种子、果实类，较细的根类药材两端置载玻片，以左手拇食二指轻轻按住，右手持刀片自上而下切薄片。

**3. 选片** 毛笔轻轻将刀片上的切片移入盛有水的培养皿中，选取较薄的切片(常浮在水面上)置载玻片。

**4. 透化** 切片上滴加 1~2 滴水合氯醛试液，于酒精灯上加热，微沸后离开火焰，冷后再加热，当水合氯醛液明显减少时，及时补充后再加热，直至切片透明。

**5. 封片** 加 1~2 滴稀甘油，用镊子夹洁净的盖玻片，从左至右沿液面轻轻放下，防止气泡的产生，多余的液体用吸水纸吸去，不要去擦拭盖玻片，保持盖玻片和载玻片的干净，以保证能清晰观察显微特征。

#### (五) 机械切片法

**1. 滑走切片法** 利用滑走切片机切片的一种简单的机械操作。适用于较硬的材料，材料不需要经过特殊的处理。

(1) 软化材料：60℃以下水浸泡 1~2 日，或用温水浸泡用软化 1~2 h；如为

鲜材料则不用软化，材料切成长 2~3 cm，两端务必切平。

(2) 切片：调整切片刀，刀口与材料切面平行，将处理好的材料固定在推进器上的夹子中，其高出约 0.5 cm，在刻度盘上调节好需要切片的厚度(10~20 μm)，然后在夹刀器上安装切片刀，调整刀锋与材料切面以及刀口 0.5~1 mm，即可切片。左手用笔蘸水加在材料切面上，右手牵动切片刀夹，使刀口由前向后移动切片，左手用毛笔将切片刀上的切片轻轻刷下，在清水的培养皿中，然后将刀推回。反复操作，挑选较薄而完整的切片，供临床观察用的薄片的透化、封藏同徒手切片法。供作永久切片的，则作染色处理。

### (3) 脱水及染色

1) 将完整的切片置清洁的载玻片上，加 30%乙醇 1~2 滴，片刻后倾去，再加 50%乙醇 1~2 滴置 1 min 倾去，再加番红染色液 1~2 滴，放置 2~3 min。

2) 倾去番红染色液，加 50%乙醇，继续以 70%、80%、85%、90%、95%等浓度乙醇脱水，各 1~2 min。每次倾去乙醇后，应将玻片四周的液体擦干，再一次加入浓度较高的乙醇。

3) 固绿染色液 1~2 滴，约 1 min。如上法加无水乙醇 2~3 次，倾之后，再加 1/2 二甲苯与 1/2 无水乙醇，2/3 二甲苯与 1/3 无水乙醇，纯二甲苯，到纯二甲苯如有浑浊，须退回 95%酒精再脱水透明，直至切片透明清晰为止。

(4) 封片：在切片上滴加 1 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，以去除水分，然后小心夹住盖玻片轻盖在切片上。

(5) 贴标签：载玻片的左边贴上标签，写上中文名、学名、日期等。

**2. 石蜡切片法** 石蜡切片法是利用石蜡能渗透到药材组织内部，以石蜡作材料的填充剂和包埋剂，然后用切片机切片的方法。许多材料如根茎、根、皮以及叶、花、果实、种子等均可作石蜡切片。此法适用于教学用片及研究工作，一般材料切成 8~20 μm，所制作的切片可以长期保存。石蜡切片步骤较多，操作精细。前后需 1~4 周时间，其基本操作步骤为：

取材→固定→冲洗→脱水→透明→浸蜡及包埋→切片→粘片→脱蜡→染色→透明→封藏。

(1) 取材：选择有代表性的材料，用毛笔小心地洗净，干材料需用水浸泡使其恢复原状，如为坚硬的材料尚需软化处理(方法同徒手切片法)，用刀切割，材料大小一般为 0.5~1 cm<sup>3</sup>，端面切平。

(2) 固定：将准备好的新鲜材料或材料片块，投入固定液甲醛-冰乙酸-乙醇(F. A. A)中，浸泡 12~24 h。

附：F.A.A 固定液基本配方：50%或 70%乙醇 90 ml，冰乙酸 5 ml，甲醛 5 ml。

(3) 冲洗：洗涤剂一般用水或与固定剂中相近浓度的乙醇，将材料冲洗干净。一般需冲洗 10~24 h，多次更换冲洗液。一般用 50%乙醇洗涤 3~4 次或更多。

(4) 脱水：将新鲜材料浸于各级不同浓度的乙醇中，以逐渐除去水分，使透明剂易渗入组织中。因用 50%乙醇制固定液，脱水用各级乙醇浓度为：



60%~70%~80%~95%~无水乙醇~无水乙醇,乙醇用量为材料的2~3倍,在70%~95%各级乙醇中,柔软材料为1~2 h,过于坚硬的材料3~4 h,无水乙醇中需2次,每次1 h,以利于将水脱净,若脱水不彻底,石蜡不能溶入组织中,从而使制片失败。

(5) 透明:用二甲苯作为透明剂,以使材料透明,便于浸蜡。常见的透明剂为二甲苯,在透明过程中,为防止材料收缩变脆,应由低浓度到高浓度分级进行,一般用:1/3二甲苯+2/3纯乙醇→1/2二甲苯+1/2纯乙醇→2/3二甲苯+1/3纯乙醇→纯二甲苯→纯二甲苯。材料经各级溶剂的时间一般为约30 min。如材料尚未完全透明,则必须重新透明;材料完全透明时,细胞内均匀充满二甲苯,即可浸蜡。

(6) 浸蜡:使石蜡慢慢溶于材料中,然后以石蜡代替透明剂而进入组织内,其过程如下:3/4二甲苯+1/4石蜡(2~3 h)→1/2二甲苯+1/2石蜡(2~3 h)→1/4二甲苯+3/4石蜡(2~3 h)→纯石蜡(2~3次),每次2~4 h。

(7) 包埋:种子类和叶类生药,可将熔化的石蜡连同透蜡后的材料一并倾入纸盒,然后用烧热的镊子将材料排好,注意材料的切面及间距。慢慢放入冷水中,使其凝固。其他的生药,可将熔化的石蜡倾入折好的纸盒中,在纸盒底层石蜡稍凝固时,将材料放入纸盒内,以烧热的镊子赶去材料周围的气泡,将纸盒半浸入冷水中,待石蜡表面凝结后,全部浸入冷水中,即成蜡块,供切片用。

(8) 切片:将包埋有材料的蜡块切成适当大小(1 cm),黏固于小木块上,并将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,调整材料固着器,使材料平面与切片刀口平行,材料纵轴与刀口平直,否则切片不正,移动夹刀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为所要厚度。然后转动切片机进行切片,通常切成10~15 μm厚薄的蜡带。切出的薄片需在显微镜下检查方向是否正确,常以导管为基准检查。

(9) 粘片:在洁净的载玻片上涂一小滴粘贴剂(1%甘油明胶溶液),涂匀,将蜡片放在液面上,置于烫片台上(50℃),将蜡片完全伸直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,待其干燥后放于30℃温箱中1天。切片一般竖放,放于切片篮中,烘片。

(10) 脱蜡:将粘有蜡片的玻片浸于纯二甲苯中,10~15 min,使材料组织中浸入的石蜡全部溶去,以便染色。

(11) 染色:常用番红和固绿二重染色法。染色结果是木质化细胞壁染成红色,纤维素细胞壁染成绿色。操作过程如下:1/2二甲苯+1/2纯乙醇→纯乙醇→95%→80%→70%→60%乙醇(每级1~2 min)→番红溶液(2~24 h)→50%→60%→70%→80%→95%乙醇(每级2 min)→固绿溶液(1 min),取出,擦净残留液体,检查木质化组织是否为红色,薄壁组织是否染成绿色→95%乙醇→纯乙醇(30 s)→纯乙醇(1~2 min)→1/2纯乙醇+1/2二甲苯(3 min)→二甲苯(3 min)→二甲苯(5~30 min)→封片。如发现溶液或切片出现乳浊现象,说明脱水不完全,应重新脱水。