

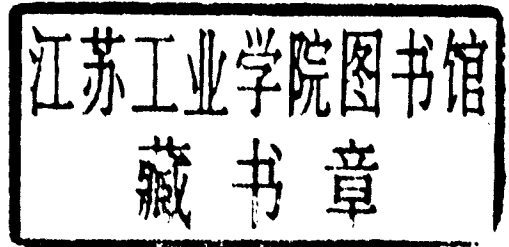
中 国 药 品 检 验 标 准 操 作 规 范

卫 生 部 药 政 局 编
中 国 药 品 生 物 制 品 检 定 所

中 国 医 药 科 技 出 版 社

中国药品检验 标准操作规范

卫生部药政局 编
中国药品生物制品检定所



中国医药科技出版社

内 容 介 绍

《中国药品检验标准操作规范》是一部内容充实、体例完善、实用性强的药学专业书,是执行中国药典标准的重要依据和补充。本书汇集了全国药检系统专业技术人员多年的实际操作经验,比较详细地介绍了中国药典附录方法、各个品种项下的测试方法和各种分析仪器的使用、校正、操作步骤、注意事项、试液的标定及实验数据修约等。是从事药检和新药研究与开发等及有关分析技术人员必备的工具书。

图书在版编目(CIP)数据

中国药品检定标准操作规范/卫生部药政局,中国药品生物制品检定所编. —北京:中国医药科技出版社,1996.6

ISBN 7-5067-1578-3

I. 中… I. ①卫… ②中… Ⅲ. 药品-检定-规程-中国 IV. R927-65

中国版本图书馆 CIP 数据核字(96)第 08246 号

中国药品检验标准操作规范

卫 生 部 药 政 局 编
中国药品生物制品检定所

*

中国医药科技出版社 出版
(北京西直门外北礼士路甲 38 号)

(邮政编码 100810)

北京科技印刷厂 印刷

全国各地新华书店经销

*

开本 787×1092mm¹/27 印张

字数 648 千字 印数 1—5000

1996 年 7 月第 1 版 1996 年 7 月第 1 次印刷

ISBN 7-5067-1678-31R · 1376

定价:125.00 元

名誉主编 周海钧 潘学田
主 编 汪开敏 张世臣
副主编 周元瑶 孙曾培 程述祖 邵明立 周静远

常务编委(按姓氏笔划)

冷 炜 李昭暄 范积芬 金慧薇 柯若伦 唐秋瑾 徐康森

编 委(按姓氏笔划)

于廷华	方 颖	王元度	王宝琴	王海子	王素兰	邓兆勇	史志强
冯国康	邝培英	宁雅君	申蕴如	刘子斌	刘凡亮	毕秀玲	孙树荣
孙树琴	朱斐斐	任强华	李 勤	李九丹	李君实	杜占明	吴 铨
应必文	杨仲元	杨耀廷	张启国	张叔良	张秋生	张爱萍	张福元
陈我菊	陈香元	陈德昌	劳家华	何铭新	金少鸿	周有元	周进军
周国雄	尚明远	赵鲁青	钟化人	俞如英	凌大奎	党合群	徐连连
徐诗伦	陆惠文	傅先珏	盛曙光	童炳润	董晓鸥	蓝小禄	谭凤门
蔡景蓉	颜康林						

实现药品检验操作
标准化、规范化，加
强药品检验，保证人
民用药安全有效。

潘学田
一九九六年七月

加強藥品檢驗，提高檢測
技術，規範頭驗操作，管好
藥品質量。

周海鈞

一九九二年一月

中国药品检验标准操作规范

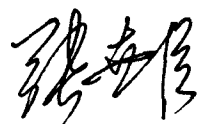
序

药品检定(Drug Quality Control)是保证人民用药安全、有效和质量的重要手段。国家法定的药品检验是贯彻“药品管理法”,实施国家药品质量保证(Quality Assurance)体系和执行《中国药典》的重要环节。

建国以来,在党和政府的关怀和支持下,为适应国家医药事业的发展,药品检验所实验室不断建立和健全,国家授权承担国产药品和进出口药品的法定检验任务。

我国药检所和实验室不仅数量多,而且实验条件、仪器、设备和技术水平的差别也很大。如何保证全国各药检所及实验室检测数据、结果和结论的正确、可靠和一致,国家采取了一系列的措施:首先全国药检系统在《中国药典》的起草、复核和实际检验过程中,提供必需的、足够的资料和数据,证明其可靠性和可行性,在严格的方法和操作条件下,考核其精密度、准确性、检测限度、定量限度、选择性、定量范围和线性关系、重现性等。重现性包括同一样品在同一实验室,不同人操作,不同仪器型号及其它不同条件下,以及在不同实验室,检验人员,仪器型号,试剂批号,时间,温度等条件下检验和分析的数据,结果和结论的一致。同时还采取了其它措施,如改进实验室建筑,配备仪器设备,培训检测人员,统一操作方法,实样复试考核,订立和实施各种程序,规章和制度并实施药检实验室认证验收等,建立和健全全国药检系统的质量保证体系,取得了良好的效果。在药检的实际工作中,我们认识到:检验操作的标准化,规范化占有特别重要的地位和作用。全国药检所技术人员和专家经过三年的共同努力,以《中国药典》为依据,对附录方法,仪器分析和特殊品种检测技术操作,充分分析了各种因素和条件,总结了实验操作技术中的经验和教训,成功和失误,编写了这本《中国药品检验标准操作规范》(DCSOP),它是我国几代药检技术人员和专家几十年实际检测工作的结晶和成果。严格、严谨地按规范进行检验,进行实验室认证,培训新一代药检技术人才,开展国内和国际技术交流、仲裁、复核等,并不断充实和完善,坚持实施和贯彻,我们相信,将有力地促进全国药检的技术和管理水平的提高,进入国际先进行列。同时必将指导新药研究、开发,生产质量控制,上市药品的监督检验,进出口药品检验,药品质量的仲裁、复核、评价,以及药品质量评价和合理应用等多方面检测技术和方法的发展。

总结药检操作经验,并进一步标准化和规范化,是一项全新的工作,颁发“规范”并在全国各药检实验室统一实施更是新的尝试。新品种,新技术与方法在不断发展、完善和更新,对检测的操作技术必将提出更高要求。



一九九六年三月

前 言

《中国药品检验标准操作规范》(Standard Operation Procedures for Drug Control 简称 SOPDC)一书的编写工作,经过3年多的努力,终于正式出版了。该书在编写的过程中得到了卫生部药政局的领导和全国各药品检验所的药检专家及技术人员的大力支持,在此表示衷心地感谢。

药品检验所是国家药品监督保证体系的重要组成部分,是在各级卫生行政部门领导下执行国家对药品质量监督、检验的法定专业机构;它所出具的检验报告书是具有法律效力的技术文件。由于我国地域辽阔,各地情况各不相同,各药检所的技术力量、检测及业务技术管理的水平也各不相同,为了使全国各地药检所之间的检验数据,结果与结论报告的正确、可靠和一致,实验操作的标准化,是重要的基础和关键,全国药检工作者在执行药典标准的基础上,参考国外的SOP资料,编写了这本《中国药品检验标准操作规范》。

本书是40多年来药品检验两代专业人员对检测操作经验的结晶,是一笔很宝贵的财富,是执行药典标准的重要依据和补充,也是实验操作的更具体、更详细,更易于掌握以及方法技术和注意点等多方面的指南。

本书主要包括3个方面内容:

- 1 药典附录方法。
- 2 各个品种项下的测试方法。
- 3 仪器设备的使用、校正、操作步骤及注意事项。

本书在编写过程中由于时间仓促,许多内容还未完全收录,更重要的是SOP本身是要发展的,经过大量的实践,必然会进一步修改,补充和完善,希望广大药检工作者在使用过程中提出宝贵意见,使我国的SOP不断发展、丰富、规范,并能早日和国外SOP接轨,在国际和国内的药检实验认证中发挥重要的作用。

中国药品生物制品检定所

汪开敏

目 录

药材及成方制剂显微鉴别法.....	1	上分 7530 型紫外可见分光光度计操作规程	78
片剂检查法.....	8	上分 7530-G 型紫外可见分光光度计操作规程 ...	80
注射剂检查法	11	红外分光光度法	84
栓剂检查法	16	岛津 IR-435 型红外分光光度计操作规程	87
胶囊剂检查法	18	上分 4010 型红外分光光度计操作规程	88
眼膏剂检查法	21	PE 983G 型红外分光光度计操作规程	89
滴丸剂检查法	23	天光 TJ270-30 型红外分光光度计操作规程	90
滴眼剂检查法	25	日立 270-30 型红外分光光度计操作规程	91
气雾剂检查法	27	Bio-Rad FTS-45 型付里叶变换红外分光光度计操作 程	92
膜剂检查法	29	Bio-Rad FTS-7R 型傅立叶变换红外分光光度计操作 规程	93
相对密度测定法	30	原子吸收分光光度法	96
沸程测定法	33	日立 170-50A 型原子吸收分光光度计操作规程	101
熔点测定法	35	101
熔点测定第三法	38	日立 180/80-偏振塞曼原子吸收分光光度计操作 规程	102
凝点测定法	40	102
旋光度测定法	41	岛津 AA-670 型原子吸收分光光度计操作规程	103
WZZ-T 型投影式自动指示旋光仪操作规程	43	103
WZZ-1 型自动指示旋光仪操作规程	44	荧光分析法.....	107
PE-241MC 型旋光仪操作规程	45	日立 650-40 型荧光分光光度计操作规程	109
折光率测定法	47	岛津 RF-540 荧光分光光度计操作规程	111
WZS 型折光计操作规程	49	薄层扫描法.....	113
Zeiss Opton 投影式折光计操作规程	49	岛津 CS-910 型薄层扫描仪操作规程	115
粘度测定法	51	岛津 CS-930 型薄层扫描仪操作规程	118
脂肪与脂肪油检验法	56	岛津 CS-9000 型双波长飞点薄层扫描仪操作 规程	119
紫外分光光度法	59	119
岛津 UV-240 型紫外可见分光光度计操作规程	64	CAMAG 薄层扫描仪- I 型操作规程	123
.....	64	气相色谱法.....	125
岛津 UV-265 型紫外可见分光光度计操作规程	65	岛津 GC-7AG 型气相色谱仪操作规程	132
.....	65	岛津 GC-9A 型气相色谱仪操作规程	133
岛津 UV-2100 型紫外分光光度计操作规程	67	岛津 GC-RIA 型气相色谱仪操作规程	135
岛津 UV-2201 型紫外可见分光光度计操作规程 ...	69	岛津 GC-14A 型气相色谱仪操作规程	140
.....	69	岛津 GC-15A 型气相色谱仪操作规程	143
日立 320 型紫外可见分光光度计操作规程.....	72	惠普 5890A 型气相色谱仪操作规程	144
日立 3210 型紫外可见分光光度计操作规程	73	上分 103 型气相色谱仪操作规程	146
Perkin-Elmer 554 型紫外可见分光光度计操作 规程	75	北分 SQ-203 型气相色谱仪操作规程	147
.....	75	北分 SQ-204 型气相色谱仪操作规程	149
北分 WFZ800-D2 型紫外可见分光光度计操作 规程	76	岛津 GC-17A 气相色谱仪操作规程	151
.....	76	瓦里安 3700 型气相色谱仪操作规程	170
上分 751 型紫外分光光度计操作规程	77		

高效液相色谱法.....	172	含量均匀度检查法.....	259
SP8810 型高效液相色谱仪操作规程	175	溶出度测定法.....	260
SP8800 型高效液相色谱仪操作规程	177	氮测定法.....	263
SP8810-Focus 型高效液相色谱仪操作规程	178	乙醇量测定法.....	266
岛津 LC-4A 型高效液相色谱仪操作规程.....	180	费休氏水分测定法.....	267
岛津 LC-6A 型高效液相色谱仪操作规程.....	182	无菌检查法.....	273
岛津 LC-10AD 型高效液相色谱仪操作规程	183	肝素生物检定法.....	279
日立 638-50 型高效液相色谱仪操作规程.....	185	绒促性素生物检定法.....	286
日立 655 型高效液相色谱仪操作规程	186	胰岛素生物检定法.....	293
Waters 990 型高效液相色谱仪操作规程	188	硫酸鱼精蛋白生物检定法.....	300
Waters 高效液相色谱系统及 991 型二极管阵列检测器 操作规程	189	缩宫素(催产素)生物检定法.....	304
HP1050 型高效液相色谱仪操作规程	195	洋地黄生物检定.....	310
BIO-RAD700 型高效液相色谱仪操作规程	197	异常毒性检查法.....	315
色谱数据处理机.....	199	热原检查法.....	317
Spectra Physics SP-4270/4290 型积分仪操作规程	206	升压物质检查法.....	321
岛津 C-R3A 型色谱数据处理机操作规程	209	降压物质检查法.....	324
氧瓶燃烧法.....	214	葡萄糖酸锑钠毒力检查法.....	327
一般鉴别试验.....	216	精蛋白锌胰岛素注射液延缓作用检查法	329
pH 值测定法	218	抗生素微生物检定法.....	332
雷磁 25 型酸度计操作规程.....	220	滴定液.....	339
雷磁 PHS-2 型精密 pH 计操作规程.....	221	三磷酸腺苷二钠.....	352
雷磁 PHS-3B 型 pH 计操作规程	221	三磷酸腺苷二钠注射液	353
电位滴定法与水停滴定法.....	223	注射用三磷酸腺苷二钠	354
ZYD 型自动永停滴定仪操作规程	225	肌苷.....	356
非水溶液滴定法.....	226	肌苷片	357
氯化物检查法.....	229	肌苷注射液	358
硫酸盐检查法.....	231	抑肽酶.....	359
硫化物检查法.....	232	注射用抑肽酶	362
硒检查法.....	234	含糖胃蛋白酶.....	363
氟检查法.....	236	尿激酶.....	365
氰化物检查法.....	237	注射用尿激酶	370
铁盐检查法.....	239	细胞色素 C	371
重金属检查法.....	240	细胞色素 C 注射液	374
砷盐检查法.....	244	注射用细胞色素 C	375
易炭化物检查法.....	248	玻璃酸酶.....	376
干燥失重测定法.....	249	注射用玻璃酸酶	379
炽灼残渣检查法.....	251	胃膜素.....	380
溶液颜色检查法.....	253	胰蛋白酶.....	382
澄清度检查法.....	255	注射用胰蛋白酶	385
注射液中不溶性微粒检查法.....	257	胰酶.....	386

辅酶 A	392	腺苷辅酶维生素 B ₁₂	403
注射用辅酶 A	393	溶菌酶.....	405
辅酶 Q ₁₀	394	溶菌酶口含片	406
辅酶 Q ₁₀ 注射液	396	溶菌酶肠溶片	407
弹性酶.....	397	糜蛋白酶.....	408
弹性酶片	399	注射用糜蛋白酶	410
硫酸软骨素.....	400	分析天平使用与称量.....	411
硫酸软骨素片	402	有效数字和数值的修约及其运算.....	414

药材及成方制剂显微鉴别法

1 简述

药材及成方制剂显微鉴别法就是应用动植物细胞、组织学和矿物晶体光学等知识鉴别中药材或中成药的一种方法。通常是借助显微镜进行观察,故通称“显微鉴别法”。此法适用于:

- (1) 药材性状鉴别特征不明显或外形相似而组织构造不同;
- (2) 药材破碎不易辨认或区分;
- (3) 药材呈粉末状或为成方制剂;
- (4) 用显微化学方法确定药材中有效成分在组织中的分布状况及其特征。

在进行显微鉴别时,首先要将“检样”制成适于镜检的标本。对于完整的药材可制成各种切面的切片;对于粉末药材(包括丸、散等中成药)可直接装片或作适当处理后制片。

药材切片标本的制作方法较多。在药材鉴定的研究工作中往往将其制成石蜡切片(永久切片),因制成的石蜡切片外形较完整,厚薄均匀,且可制得连续切片,观察时方便,又能长期保存。但由于制片技术复杂,费时太多,不适于日常药检工作。所以在中药鉴定工作中通常采用滑走切片或徒手切片法制片;为观察叶类、花类及全草类药材的叶片、花冠、萼片、苞片等的表皮组织,还需要将其制成表面片;为清楚地观察比较坚硬的细胞组织,如导管、纤维、石细胞等的形态,往往还要进行“解离组织”后装片;观察花粉粒、孢子等的形态特征或构造,需用花粉粒与孢子制片法制片;观察矿物药或有些坚硬的动物类药材如珍珠、石决明及动物骨骼,可采用磨片法制片。这些镜检标本片一般都是在观察前临时制备,故统称其为“临时制片技术”。

本规程以中国药典现行版和部颁标准收录的显微鉴别项目要求为主,故主要介绍与临时制片技术有关的仪器、用具、试液和操作方法等。

2 仪器和用具

2.1 仪器 生物光学显微镜(最好具 $2.5\times$ 或 $4\times$ 物镜头及偏光镜)、显微描绘器、滑走切片机或徒手圆筒生物切片器、镜台测微尺、目镜测微尺、离心机。

2.2 用具

2.2.1 放大镜、刀片、解剖刀、镊子(包括粗镊及眼科弯镊与直镊)、剪(眼科剪与手术剪)、解剖针。

2.2.2 载玻片、盖玻片。

2.2.3 吸湿器(即玻璃干燥器改装蒸馏水加微量苯酚,潮气润湿药材样品用)、培养皿或小烧杯(放切片用,切片后的处理均可在其中进行)、酒精灯、铁三角架、石棉网、滴瓶、试管、试管架、滴管、玻璃棒(粗与细)、乳钵、量筒。

2.2.4 毛笔(从刀上刷取切片用)、铅笔(HB、4H、6H绘图用)、带盖搪瓷盘(装切片标本用)、纱布、吸水纸(滤纸)、火柴等。

3 试液

3.1 水合氯醛试液 取水合氯醛50g,加水15ml与甘油10ml使溶解,即得。

此液为透化剂,可使干缩的细胞壁膨胀而透明,并能溶解淀粉粒、树脂、蛋白质及挥发油等。

3.2 甘油醋酸试液(斯氏液) 取甘油、冰醋酸与水各等份,混合即得。

此液专用于观察淀粉形态,可使淀粉粒不膨胀变形,便于测量其大小。

3.3 甘油-乙醇溶液 取甘油1份,50%乙醇1份,混合即得。

此液为封藏液,用于保存植物材料及临时切片,有软化组织的作用。

3.4 苏丹Ⅲ试液 取苏丹Ⅲ 0.01g,加90%乙醇5ml溶解后,加甘油5ml,摇匀即得。本液应置棕色玻璃瓶内保存,在2个月内应用。

此液可使木栓化、角质化细胞壁及脂肪油、挥发油、树脂等染成红色或淡红色。

3.5 钨红试液 取10%醋酸钠溶液1~2ml,加钨红适量使呈酒红色即得。本液应临用新制。此液可使粘液染成红色。

3.6 间苯三酚试液 取间苯三酚1g,加90%乙醇100ml使溶解,滤过即得。应置棕色玻璃瓶内,在暗处保存。

此液与浓盐酸合用,可使木化细胞壁染成红色或紫红色。

3.7 碘试液 取碘化钾0.5g,溶于少量水中,加碘1g,使溶解,加水至100ml即得。应用时通常再加水稀释成淡棕色或淡黄色。本液应置棕色瓶内保存。

此液用于检查淀粉,染成蓝色或紫色;蛋白质或糊粉粒呈黄色。

3.8 硝酸铬试液 取硝酸10ml,加入100ml水中,混匀。另取铬酸10g,加水100ml使溶解。用时将二液等量混合,即得。

此液为常用的“植物组织解离液”。检品的解离浸泡时间,按材料的质地不同而异。

3.9 α -萘酚试液 取15%的 α -萘酚乙醇溶液10.5ml,缓缓加入硫酸6.5ml,混匀后再加乙醇40.5ml及水4ml,混匀即得。

此液用于检查菊糖,染成紫红色,并很快溶解。

3.10 硝酸汞试液(米隆氏试液) 取汞4.5g,加发烟硝酸3ml,俟作用完毕,加等量水稀释即得。本液应置棕色玻璃塞瓶内,在暗处保存。

此液用于检查糊粉粒,染成砖红色。

3.11 氯化锌碘试液 取碘化钾8g,加水8.5ml使溶解,再加无水氯化锌2.5g使溶解,加碘适量至饱和,即得。本液应置棕色玻璃塞瓶内。

此液用于检查木质化与纤维素细胞壁,前者显黄棕色,后者显蓝色或紫色。

4 显微标本片的制作

4.1 切片制做标本片(横切或纵切)

4.1.1 药材的预处理 先将药材表面泥沙刷洗干净,将应观察的部位,切成适当大小的块或段,一般以宽1cm、长3cm为宜,切面削平整。质地软硬适中的药材可直接进行切片;质地坚硬的则须先使其软化后再切片。软化方法可放在吸湿器(即玻璃干燥器底部盛蒸馏水并滴数滴苯酚防霉,上部瓷板上置药材样品吸湿)中闷润,或在水中浸软或煮软。有些根、根茎、茎及木类药材,质地虽坚实,可将削平的切面浸水中片刻,表面润湿时取出,直接切片也能切成较完整的薄片。过于柔软的材料,可将其浸入70%~95%乙醇中,约20分钟后可变硬些,即可进行切片。对于细小、柔软而薄的药材,如种子或叶片,不便直接手持切片,种子类可放在软木塞或橡皮片中(一侧切一窄缝,将种子嵌入其中),叶类药材可用质地松软的通草或向日葵的茎髓作夹持物进行切片。

药材在预处理时应注意不能影响要观察的显微鉴别特征。如要观察菊糖、粘液等在软化、切片、装片等过程中,均不可与水接触,以免溶解消失;观察挥发油、树脂等则不可与高浓度乙醇或其它有机溶媒接触。

4.1.2 徒手切片 在检验工作中,此法最常用,操作简便,迅速,制成的切片保持其细胞内含物的固有形态,便于进行各种显微化学反应观察。

4.1.2.1 切片 右手持刀片,左手拇指和食指夹持药材,中指托着药材的底部,使药材略高出

食、拇二指，肘关节应固定，使材料的切面保持水平，刀口向内并使刀刃自左前方向右后方切削，即可切得薄片。操作时，材料的切面和刀刃须经常加水或 50%乙醇保持湿润，防止切片粘在刀片上。切好的切片用毛笔蘸水轻轻从刀片上推入盛有水或 50%乙醇的培养皿中。

4.1.2.2 徒手圆筒生物切片器切片 将药材用通草或软木夹持，固定于切片器持物筒中；具有一定硬度的材料（如木本植物的茎干等）可直接固定于持物筒中；左手持切片器，拇指与小指持底盘的边缘，食指端顶动中柱上的固定螺帽，可使材料无级上升，每动一格材料上升约 10 μ m，顶动螺帽时，同时将底盘向反方向略转动，使切片器整体方向不变，以保持材料的切片方向固定；右手持切片刀，刀柄靠于拇指与食指根部，食指与中指轻压于刀片的上面，刀片平贴于切片器圆台上，由左上方至右下方迅速滑动，切下的切片用毛笔沾水取下置盛水的培养皿中。

4.1.2.3 装片 选取薄而平整的切片置载玻片上，根据所要观察的内容要求，滴加适宜的试液 1~2 滴，盖好盖玻片，即可在显微镜下观察。如加水合氯醛试液透化，将薄片移栽玻片上，滴加 1~2 滴水合氯醛试液，在酒精灯上微微加热，至边缘起小泡即停止加热，继续补充试液再加热，以不烧干为度直至透化完全为止；加热温度不能过高，以防水合氯醛试液沸腾，使组织内带入气泡；加热时应将载玻片不断移动，不宜对准一处烧，以免受热不均而炸裂；透化后放冷，加甘油乙醇试液 1~2 滴后加封盖片，贴上标签。冬日室温较低时，透化后不待放冷即滴加甘油乙醇液，以防水合氯醛结晶析出而妨碍观察。水合氯醛试液有洁净透明作用，并能使已收缩的细胞膨胀，能清楚观察组织构造，可溶解淀粉粒、蛋白质、叶绿体、树脂、挥发油等，对草酸钙结晶无作用，为观察草酸钙结晶的良好试剂。如需观察菊糖等一些多糖物质则加水合氯醛试液不加热。

4.1.3 滑走切片机切片 此法不需要较高的技巧，只要了解掌握操作方法，短时间内即可学会并切出较薄的切片，适用于切质地坚实、形状较大的药材，柔软的材料经冷冻处理亦可切得较薄的切片。

4.1.3.1 材料制备 经软化处理的材料，检查软化是否合适，可用刀片切割材料，若较容易切下薄片，则表示软化适宜。柔软的材料可直接用胡萝卜或土豆、软木作夹持物。新鲜材料则直接浸入石蜡中，使材料外面包上一层石蜡。

4.1.3.2 切片器调试及材料安装 切片前，先安置好切片器使稳固，进行调试检查。将切片刀夹持在夹刀器上夹紧，调整刀的角度（约 0°~15°）；调整厚度调节器到所需厚度。把制备好的材料用两块软木夹住或直接放在切片器的材料固定器上夹紧夹正，使材料露出软木块或固定器上端约 0.5cm，调整好材料高度，使刀刃靠近材料的切面，使材料切面与刀刃平行并略高于刀刃约 0.5~1mm。

4.1.3.3 切片 用右手握夹刀器柄。往操作者方向迅速拉动，便切下切片，且附着于刀的表面上，用毛笔蘸水把切片取下放于盛水的培养皿中。将刀推回原处，转动厚度推进器，用毛笔蘸水润湿材料切面及刀刃，再拉切片刀，往返推拉，可得到许多厚度均匀完整的切片。若切片不成功，应检查切片刀是否太钝，则应磨刀或换锋锐的切片刀，若切得太薄而破碎，则逐渐增加厚度至能切得完整的薄片为度。注意：夹持在材料固定器上的材料切面接近平于固定器上端时，必须注意防止切片刀刃碰撞固定器而损毁切片刀。

4.1.3.4 装片 为防止切片弯卷，可选取理想的切片，用两张载玻片夹住，浸于水中放置 4 小时使材料压平，放入 95%乙醇中固定，甘油装片观察。

4.2 粉末制片 主要用于粉末状的药材及药材粉末制成的成方制剂观察。

4.2.1 粉末制备 药材要先干燥，磨或锉成细粉，装瓶，贴上标签。粉末制备时，注意取样的代表性，应注意各部位的全面性，例如：根要切取根头、根中段及根尾等部位，必须全部磨成粉，不得丢

弃渣头。并需通过4号筛,混合均匀。干燥时,一般温度不能超过60℃,避免经受高温,使淀粉粒糊化,难以观察其完整者。

4.2.2 制片法 用解剖针挑取粉末少许,置载玻片的中央偏右的位置,加适宜的试液1滴,用针搅匀(如为酸或碱时应用细玻棒代替针),待液体渗入粉末时,用左手食指与拇指夹持盖玻片的边缘,使其左侧与药液层左侧接触,再用右手持小镊子或解剖针托住盖玻片的右侧,轻轻下放,则液体逐渐扩延充满盖玻片下方。如液体未充满盖玻片,应从空隙相对边缘滴加液体,以防产生气泡;若液体过多,用滤纸片吸去溢出的液体,最后在载玻片的左端贴上检品的标签或书写上标记。

4.2.3 中药成方制剂的鉴别 按剂型不同,分别将样品处理后,按粉末制片法装片观察。

4.2.3.1 散剂、胶囊剂,可直接取出粉末装片或透化装片。

4.2.3.2 片剂,可取2~3片研细后,取粉末适量装片或透化装片。

4.2.3.3 水丸剂,可取数丸置乳钵中(若系包衣水丸,可刮除包衣)研细,取粉末适量装片,或取粉末适量置小容器内,加水合氯醛液透化(加适量甘油以防水合氯醛结晶析出),搅匀,用吸管吸取混悬液装片。

4.2.3.4 蜜丸剂,样品可用两种方法处理

(1) 用解剖刀沿蜜丸正中切开,从切面由外至内刮取少许样品,置载玻片中央偏右,滴加适宜的试液,用玻璃棒搅匀。按上述粉末制片法制片,或透化装片。

(2) 将样品切碎放入容器,加水搅拌洗涤,然后置离心管中离心沉淀,如此反复以除尽蜂蜜后,取沉淀或透化后装片。

4.2.3.5 含挥发性成分的制剂,取其粉末进行微量升华装片。

4.2.4 粉末制片的注意事项

4.2.4.1 粉末加液体搅拌及加盖玻片时容易产生气泡。如用水或甘油装片时,可先加少量乙醇使其润湿,可避免或减少气泡的形成,或反复将盖玻片沿一侧轻抬,亦可使多数气泡逸出。搅拌时产生的气泡可随时用针将其移出。

4.2.4.2 装片用的液体如易挥发,应装片后立即观察。用水装片也较易蒸发而干涸,通常滴加少许甘油可延长保存时间。

4.2.4.3 需用水合氯醛试液透化时,应注意掌握操作方法。装片后用手执其一端,保持水平置小火焰上约1~2cm处加热,并缓缓左右移动使之微沸,见气泡逸出时离开火焰,待气泡停止逸出再放在小火上,并随时补充蒸发的试液,如此反复操作,直至粉末呈透明状为止,放凉后滴加甘油镜检。

4.2.4.4 粉末药材制片时,每片取用量宜少不宜多,为使观察全面,可多做些制片。如取量多,显微特征单一轮廓不清,反而费时,不易得出准确结论。中成药制剂的粉末检查,因在多味药材粉末中寻找某一味药的某一显微特征,有时较难查见,可以取粉末量多些,置试管或小烧杯中,加入水合氯醛试液,加热透化。透化后再用吸管吸出,滴在载玻片上,加盖玻片,即可观察。

4.3 表面标本片 主要用于叶类、花类(萼片、花瓣)、果实、草质茎及鳞茎等药材的表面特征如毛茸、气孔、表皮细胞等的观察。质地菲薄的药材可以整体装片;较厚的药材则须撕下表皮然后装片。

4.3.1 整体装片 适用于较薄的叶片、萼片和花瓣。剪取欲观察部位约4mm²的两小片,一反一正放在载玻片上,加水合氯醛试液,加热透化至透明为止,盖好玻片即得。

另法:剪取欲观察薄片8mm²,置试管中加水合氯醛试液加热透化,然后移至载玻片上,切成相等两部分,将其中一片翻过来,与另一片并列,再加1~2滴封藏液,盖好玻片即得。

4.3.2 表面撕离装片 凡较厚的或新鲜药材,用上法不能使之透化或不便于整体装片。将软化了或新鲜材料固定住,然后用镊子夹住要剥取撕离的部分,小心的撕离,或用解剖刀轻轻割(刮)去不需要的各层组织,只保留表皮层(上层或下层),将欲观察的表皮表面观朝上,置载玻片上,加透化剂透化后,放冷,加稀甘油1滴,盖上玻片,贴品名签,即得。

4.4 解离组织片 适用于厚壁组织或输导组织等的单个细胞的显微观察。将样品切成段(长约5mm,粗约2mm)或片(厚约1mm),对于木类或茎类木质部,最好切成纵长的小段。然后根据细胞壁的性质,按照下列方法之一进行处理:如样品坚硬,木化组织较多或集成较大群束,可用硝酸法或氯酸钾法;对于薄壁组织占大部分,木化组织少或分散存在的样品,可用氢氧化钾法。

4.4.1 氢氧化钾法 置样品于试管中,加5%氢氧化钾溶液2~5ml。加热至用玻璃棒挤压,能离散为止,倾去碱液,加水洗涤后,取出少量置载玻片上,用解剖针撕开,以稀甘油装置观察。

4.4.2 硝酸法 置样品于小烧杯中,加20%硝酸与20%铬酸的等量混合液适量,使之浸没样品,放置约30~60分钟,坚硬的样品需时要长些,也可在水浴上微温,至用玻璃棒挤压能离散为止,倾去酸液,用水洗涤后,取出少量置载玻片上,用解剖针撕开,以稀甘油装置观察。

4.4.3 氯酸钾法 置样品于试管中,加硝酸溶液(1~2ml)及氯酸钾少量,缓缓加热,待产生的气泡渐少时,再及时加入氯酸钾少量以维持气泡稳定地发生,至用玻璃棒挤压能离散为止。倾去酸液,用水洗涤后,撕开,封藏。

4.4.4 注意事项 用氯酸钾法制片时,每次加入的氯酸钾不可过多,加热温度不宜过高,否则突沸容易使液体逸出管外。加热时间长短因样品的硬度和木化程度而异,通常约需5~15分钟。操作过程中产生的氯气有毒,应注意通风。

用硝酸法解离也可在载玻片上进行。即取一块厚度适当的切片,置载玻片上,滴加硝酸试液使之浸没,放置约20分钟后,轻轻压下或移动盖玻片使之分离,其余操作同前,此法解离的细胞,可以看清其分离的组织部位。

4.5 花粉粒与孢子制片 取花粉、花药(或小的花)或孢子囊群(干燥样品浸于冰醋酸中软化),用玻璃棒捣碎,纱布过滤,滤液置离心管中,离心,取沉淀加新鲜配制的醋酐与硫酸(9:1)的混合液1~3ml,置水浴上加热2~3分钟,离心,取沉淀,用水洗涤2次,加50%甘油与1%苯酚3~4滴,用品红甘油胶封藏观察。也可直接用水合氯醛试液装片,具体操作同粉末标本片。

4.6 磨片 凡需观察断面,以一般切片法无法制作的标本,如坚硬的动物类药材珍珠、石决明、动物骨骼、矿物药等可采用磨片法制片。片的厚度一般为20~50 μm 。磨片方法有手工磨制与机器磨制。

4.6.1 手工磨制 选取合适的材料,一般以1~2mm为度,先置粗磨石(或磨砂玻璃板)上,加适量水,用食指、中指夹住材料,在磨石上往返研磨,待两面磨均匀,厚度约数百 μm 后,改用软木塞压在上面,再在细磨石上加水磨,磨至透明时(20~50 μm),用水冲洗,再用95%乙醇处理,封藏。

4.6.2 机器磨制 地质矿产部门有专门人员机构与设备制造。

5 显微测量

显微鉴定时应用测量方法以测定细胞及细胞内含物等的大小,应用最多的则是长度测定。常用的量具是目镜测微尺与载物台测微尺。

5.1 目镜测微尺,又称目镜量尺或目微尺。它是放在目镜内的一种标尺,是一个直径18~20mm的圆形玻璃片,中央刻有精确等距离的平行线刻度,常为50或100条。

目镜测微尺是用以直接测量物体用的,但其刻度所代表的长度是根据显微镜放大倍数不同而改变,故使用前必须用载物台测微尺来标化。

5.2 载物台测微尺,又称镜台测微尺或台微尺。它是一种特制的载玻片,中央粘有一小圆形玻片、上刻有将1mm(或2mm)精确等分为100(或200)小格的细线,每一小格长为 $10\mu\text{m}$,它是用以标化目镜测微尺的。

5.3 目镜测微尺的标化,以确定使用同一显微镜及特定倍数的物镜、目镜和镜筒长度时,目镜测微尺上每一格所代表的实际长度。

标化方法:将载物台测微尺置于显微镜镜台上,按常规对光调焦,并移动测微尺物象于视野中央;从镜筒中取下目镜,旋下接目镜的目镜盖,将目镜测微尺放入目镜筒中部的光栏上(应正面向上),旋上目镜盖后返置镜筒上。此时在视野中,除镜台测微尺的象外,还同时可观察到目镜测微尺的分度小格,移动镜台测微尺和旋转目镜,使两种量尺的刻度平行。左边的“0”刻度重合,寻找第二条重合刻度。记录两刻度的读数,并根据比值计算出目镜测微尺每小格在该物镜条件下所相当的长度(μm)。例如:接目镜头为 $10\times$,接物镜头为 $40\times$ 时,目镜测微尺每17小格相当于载物台量尺4小格,则目镜测微尺每1小格的长度为 $4\times 10\mu\text{m}\div 17=2.35\mu\text{m}$ 。

5.4 测定细胞及细胞内含物的方法

将载物台测微尺取下,换以装有待测的标本载片。对光,调焦,移动载片,使需测量的目的物置于目镜量尺范围内,调清物象,计数出目的物占测微尺的小格数,乘以目镜量尺每1小格的长度值即得。

计算公式:

$$\text{待测物体长度}(\mu\text{m}) = \frac{\text{镜台测微尺与目镜测微尺重合时所具的长度}(\mu\text{m})}{\text{目镜测微尺与镜台测微尺重合时所占的格式占有目镜测微尺的格数}} \times \text{所测物体}$$

例如:测得淀粉粒长径为20小格,每小格长 $2.35\mu\text{m}$, $20\times 2.35\mu\text{m}=47\mu\text{m}$ 。

5.5 注意事项

5.5.1 测量通常是在高倍镜下进行,因目镜量尺的每一小格的长度值较小,结果较为准确。但如测量较长的物体如纤维、非腺毛等的长度时,则在低倍镜下测量较为方便。

5.5.2 每次测量记下数据,并分析数据最小量值、最大量值和多见量值(μm)。如浙贝母淀粉粒直径为 $6\sim 56\mu\text{m}$,表示最小量值和最大量值;如为 $6\sim 40\sim 56\mu\text{m}$,中间的数值表示多见量值。测量直径时,应以物体中部为准。

5.5.3 目镜测微尺所代表的长度值随不同目镜与物镜配合而异,因此在实验前,应将专用的目镜测微尺,在所用显微镜不同倍数的目镜与物镜组合后,进行测量其长度值,全部测定后记载于实验记录本或将数值表贴在显微镜座上,备用。

5.5.4 测量时,如大小与规定有差异时,允许有少量略高于或低于规定的数值。

6 显微鉴别法注意事项

6.1 粉碎用具用毕后,必须处理干净,干燥后才能使用于另一种药材。

6.2 所用盖玻片和载玻片应绝对干净。新片要用洗液浸泡或用肥皂水煮半小时,用水冲洗,再用蒸馏水冲洗1~2次,置于70%~90%乙醇中,取出,烘干。

6.3 进行显微鉴别实验时有一定的步骤,一般先进行甘油醋酸片的观察,后进行水合氯醛片观察,最后再进行滴加试剂或结合其它理化试剂的显微观察。所以在实验中,首先观察淀粉粒,不论其多少和大小,首先描述,其次方是其它的显微特征。

6.4 为提高显微鉴别的正确性,可与对照药材或已经鉴定品种的药材对照观察。

6.5 成方制剂鉴别前,应了解处方组成,分析处方中各种药材的主要鉴别特征及其量的多少,