

全 国 高 等 中 医 药 院 校 教 材

中药品种品质与化学成分实验

供中药专业实验课用)

主 编 董小萍 成都中医药大学)

副 主 编 吴赵云 上海中医药大学)

潘超美 广州中医药大学)

刘大有 长春中医学院)

主 审 肖崇厚

编 委 按姓氏笔画为序)

上海中医药大学：可 燕 吴赵云

广州中医药大学：周国平 黄海波 潘超美

云 南 中 医 学 院：张庆芝

长 春 中 医 学 院：刘大有 张亚芝

成都中医药大学：严铸云 邱明丰 董小萍

黑龙江中医药大学：苏连杰 赵丽芬

福 建 中 医 学 院：郭素华 黄如栋

上 海 科 学 技 术 出 版 社

全国高等中医药院校教材

中药专业实验课)

编审委员会名单

主任委员 童 瑶

副主任委员 董小萍 江 滨 李永吉 李 伟

委 员 按姓氏笔画排列)

王喜军	付超美	冯 怡	刘大有	江 滨
孙秀梅	贡济宇	李永吉	李 伟	吴赵云
吴清和	沙 玫	张大方	张 梅	陈 丹
范广平	金若敏	孟宪丽	胡昌江	姜大成
洪筱坤	郭 力	陶建生	曾元儿	董小萍
程 怡	童 瑶	潘超美		

内 容 提 要

本书为上海中医药大学、成都中医药大学、广州中医药大学、黑龙江中医药大学、山东中医药大学、长春中医学院、福建中医学院等院校联合编写的中医药专业实验课程教材之一。

本书将药用植物学、中药鉴定学和中药化学等相关学科的实验内容有机地结合起来。全书分上篇基本知识和技能、下篇实验内容及附录三部分。实验内容中共编写了 26 个实验,增加了中药品种品质研究的现代科技手段,如‘药用植物的组织培养’、‘中药材的显微鉴别’等实验内容,并通过综合与设计性实验将中药品种品质和中药化学知识与技能融会贯通。

本书以培养学生综合能力为主线,将相关课程的实验内容互相结合,使学生能循序渐进地、系统地掌握药用植物学、中药鉴定学和中药化学等相关课程的实验理论、方法和技能,培养高素质、复合型中药创新人才。

本实验教材可供全国高等医药院校及大中专、职业学校中药类专业师生作为教材选用。

前 言

根据国家教育部有关高校实验教学改革的要求,要提高中药专业学习者的实践动手能力,必须通过推进实验课程的重组、加强不同学科之间的交叉和融合等方式,改变原有教学内容划分过细、各门课程过分强调自身特点的状况,注意整个专业课程的系统性、完整性以及与边缘学科的结合,推进教学内容、教学方法、教学手段改革的进程,形成与科学技术发展趋势、新时期人才培养模式相适应的现代教学内容和课程体系。为了更好地开展高等中医药院校实验教学改革,推动实验教学改革的进程,适应教材改革的需要,由上海中医药大学、成都中医药大学、广州中医药大学、黑龙江中医药大学、山东中医药大学、福建中医学院、长春中医学院、安徽中医学院、广西中医学院等全国 30 所中医药院校联合编写了中药专业实验课程系列教材,包括《理化基础实验》、《中药品种品质与化学成分实验》、《中药炮制与制剂实验》、《中药质量分析实验》、《药理与中药药理实验》、《综合性实验》。本系列教材供全国高等中医药院校中药专业本科、专科教学使用。

本系列教材均由从事多年实验教学的各院校骨干教师参加编写,在查阅大量最新实验文献的基础上,并结合作者自己的教学、科研工作体会,不断汲取教学中的反馈意见,经过 3 年通力合作,完成本教材的全部编写工作。

本系列教材在内容上力求突出中医药特色,充分吸取先进的实验技术和手段,去粗取精,根据中药学专业各学科内在的规律和联系,进行相关内容的重组、交叉、融汇、整合,将中药专业的实验教学内容归纳为五大板块,形成了一个具有紧密内在联系,更有利于培养和提高学生素质水平的新实验体系。同时,本系列教材还注重加强基础实验知识,循序渐进,开拓和加强实验动手能力的培养,旨在提高学生综合分析问题和解决问题的能力,适应社会的需求。

本系列教材在编写过程中,作者虽努力按照科学性、实践性和先进性的要求严格编写,但由于时间仓促,编者水平有限,书中难免有不当和错误之处,恳请各位读者在使用过程中提出宝贵意见和建议,以便再版修订时不断完善本系列教材。

全国高等中医药院校教材 中药专业实验课)

编审委员会

编委:上海

编写说明

《中药品种品质与化学成分实验》系上海中医药大学、成都中医药大学、广州中医药大学、黑龙江中医药大学、山东中医药大学、长春中医学院、福建中医学院等院校联合编写的《中药类专业实验教学系列教材》之一。是针对当前中药类专业高等教育发展的需要,改革过去实验课教学从属于理论教学的模式,建立新的以“加强基本训练,着重能力培养,强化创新意识”为出发点、以培养学生综合能力为主线的相对独立的中药学实验教学体系,将相关课程的实验内容融会贯通,使学生循序渐进地、系统地掌握药用植物、中药鉴定和中药化学相关课程的实验理论、方法和技能,培养适应 21 世纪需要的高素质、复合型中药创新人才。

本实验教材将药用植物学、中药鉴定学和中药化学相关学科的实验内容有机地结合起来,全书分为基本知识与技能、实验内容和附录三大部分,共编写了 26 个实验,且增加了中药品种品质研究的现代化科技手段,如现代生物技术“药用植物的组织培养”、“中药材的显微鉴定”等实验内容,并通过综合与设计性实验将中药品种品质和中药化学知识与技能融会贯通。

本实验教材可供全国高等医药院校及大中专、职业学校中药类专业师生作为教材选用。使用时应结合全国不同地区和院校的情况,选取合适的实验材料。

本教材由董小萍(成都中医药大学)为主编,吴赵云(上海中医药大学)、潘超美(广州中医药大学)、刘大有(长春中医学院)为副主编,严铸云、邱明丰(成都中医药大学)、可燕(上海中医药大学)、周国平、黄海波(广州中医药大学)、苏连杰、赵丽芬(黑龙江中医药大学)、郭素华、黄如栋(福建中医学院)、张亚芝(长春中医学院)、张庆芝(云南中医学院)等老师为编委合作编写。

在本教材的编写中得到各参编单位和上海科学技术出版社的大力支持,在此谨以表示衷心的感谢。

教学改革是一项长期的任务,尤其是实验教学,更需要在实践中不断地探索。由于我们水平有限,编写中一定存在不少缺点和不足,衷心希望广大读者在使用过程中提出宝贵意见。

《中药品种品质与化学成分实验》

编写委员会

2008 年 5 月

学生实验守则

员援遵守纪律,不迟到,不早退,保持实验室严肃、安静。

圆援实验操作前应预习有关实验内容,明确并掌握实验目的、原理、方法、步骤。

猿援每次实验必须携带实验指导书及记录本,其他无关物品不得带入实验室,实验室内严禁饮食、吸烟。

源援实验过程中应培养严谨求实的学风和实事求是的科学态度,认真按规程操作,仔细观察并如实记录,要求独立完成实验报告,不得抄袭或拼凑数据。

缘援遵守实验室的各项制度,爱护仪器、设备及其他一切设施,使用精密仪器时须经指导教师同意,用毕要登记、签名。

远援保持实验桌上的整洁。取用试剂、药品时应仔细观察标签,防止试剂、药品交叉污染,要杜绝错盖瓶盖或不随手加盖的现象发生。取出的试剂、药品不可再倒回原瓶,公用桌上的试剂不可拿到个人桌上使用。要节约使用实验材料和药品,节约水、电、煤气。

苑援遵守实验室安全卫生制度,严防火灾、烧伤或中毒等事故的发生。使用有毒及强腐蚀性试剂应按规定小心操作,妥为保管,不得乱放,不懂时不要擅自动手处理。

愿援学生在实验中因不慎或违反操作规程损坏的仪器和设备,均应酌情进行赔偿。

怨援实验结束后应将所有仪器用具整理洗涤干净,妥善保存。值日生应负责整理公用器材,打扫实验室卫生,检查水、电、煤气,关好门窗,经指导教师同意后方可离开实验室。

目 录

上篇 基本知识和技能

一、腊叶标本的制作	员
二、显微镜的使用与保养	圆
三、中药显微标本的制作技术	苑
四、绘图技术	猿
五、测微尺和描绘仪的使用	缘
六、细胞壁及后含物的显微化学鉴别法	缘
七、显微摄影技术	远
八、扫描电镜的原理及应用	怨
九、浸渍法	園
十、渗漉法	園
十一、煎煮法	園
十二、回流提取法	園
十三、连续提取法	園
十四、挥发油的蒸馏提取法	園
十五、薄层色谱法	園
十六、柱色谱法	園
十七、纸色谱法	園
十八、载射线衍射技术原理及应用	園

下篇 实 验 内 容

第一章 药用植物的基本特征与分类	猿
实验 员 植物细胞的显微结构及主要后含物	猿
实验 员 分生组织、基本组织和保护组织	猿
实验 员 机械组织、分泌组织、输导组织和维管束的类型	猿
实验 员 根的形态、类型以及根的变态 根的初生构造	猿
实验 员 根的次生构造和异常构造	猿
实验 员 茎的形态和变态类型 茎的初生构造	源

实验 员原苑	双子叶植物和裸子植物茎的次生构造	源
实验 员原愿	单子叶植物茎和根状茎的构造双子叶植物茎和根状茎的异常构造	缘
实验 员原怨	叶的形态和内部构造	缘
实验 员原园	花的形态和花序	缘
实验 员原员	花的内部结构 花粉的形态和类型	缘
实验 员原圆	果实的类型	缘
实验 员原猿	果实的构造 种子的构造和类型	缘
实验 员原源	藻类、菌类和地衣植物	远
实验 员原缘	苔藓和蕨类植物	远
实验 员原远	裸子植物	远
实验 员原苑	桑科、蓼科和樟科	远
实验 员原愿	毛茛科、木兰科和芍药科	远
实验 员原怨	罂粟科、十字花科和蔷薇科	源
实验 员原圆	豆科和芸香科	苑
实验 员原员	大戟科、锦葵科、五加科和伞形科	苑
实验 员原圆	木犀科、夹竹桃科、萝藦科和龙胆科	愿
实验 员原猿	马鞭草科、唇形科、玄参科和爵床科	愿
实验 员原源	茄科、茜草科和忍冬科	愿
实验 员原缘	葫芦科、桔梗科和菊科	缘
实验 员原远	石蒜科、鸢尾科、天南星科、百合科	苑
实验 员原苑	禾本科、姜科、兰科	怨

第二章 中药的鉴定

实验 圆原员	根和根茎类中药 川牛膝、牛膝、商陆	怨
实验 圆原圆	根和根茎类中药 何首乌、大黄、黄连	怨
实验 圆原猿	根和根茎类中药 板蓝根、甘草、黄芪	怨
实验 圆原源	根和根茎类中药 人参、三七及其伪品	怨
实验 圆原缘	根和根茎类中药 当归、川芎、柴胡	怨
实验 圆原远	根和根茎类中药 龙胆、黄芩、丹参	圆
实验 圆原苑	根和根茎类中药 木香、苍术	圆
实验 圆原愿	根和根茎类中药 半夏、石菖蒲	圆
实验 圆原怨	根和根茎类中药 百部、麦冬、川贝母、浙贝母	圆
实验 圆原圆	根和根茎类中药 天麻及其伪品	圆
实验 圆原员	茎木类中药 关木通、苏木、沉香	圆
实验 圆原圆	皮类中药 厚朴、肉桂	圆
实验 圆原猿	皮类中药 黄柏、秦皮、杜仲	圆
实验 圆原源	叶类中药	源
实验 圆原缘	花类中药 金银花、洋金花、红花、丁香	怨
实验 圆原远	果实、种子类中药 五味子、小茴香、补骨脂、吴茱萸、陈皮	圆

实验 图原苑	果实、种子类中药 马钱子、苦杏仁、牵牛子	图苑
实验 图原愿	果实、种子类中药 槟榔、砂仁	图愿
实验 图原怨	全草类中药 麻黄、金钱草	图怨
实验 图原圈	全草类中药 薄荷茎叶、穿心莲茎叶	图圈
实验 图原园	藻菌、地衣、树脂及其他类中药 茯苓、猪苓	图园
实验 图原园	动物药 蟾酥、麝香	图园
实验 图原猿	矿物药 朱砂、赭石、自然铜、石膏、雄黄	图猿
实验 图原源	扫描电镜观察 药粉粒或蛇鳞片	图源
实验 图原缘	载射线衍射实验 植物药、动物药或矿物药	图缘
实验 图原远	中成药的显微鉴定	图远

第三章 中药化学

实验 猿原员	黄柏中生物碱的提取、分离和鉴定	猿原员
实验 猿原圆	防己中生物碱的提取、分离和鉴定	猿原圆
实验 猿原猿	大黄(虎杖)中蒽醌类成分的提取分离和鉴定	猿原猿
实验 猿原源	秦皮中七叶苷和七叶内酯的提取分离和鉴定	猿原源
实验 猿原缘	补骨脂中香豆素类化合物的提取分离和鉴定	猿原缘
实验 猿原远	黄芩中黄酮类化合物的提取、分离和鉴定	猿原远
实验 猿原苑	穿山龙中薯蓣皂苷元的提取、分离和鉴定	猿原苑
实验 猿原愿	甘草中甘草酸和甘草次酸的提取、分离和鉴定	猿原愿
实验 猿原怨	陈皮挥发油的提取及鉴定	猿原怨
实验 猿原园	中药化学成分的系统预试	猿原园

第四章 现代生物技术

实验 源原员	药用植物的组织培养	源原员
实验 源原圆	中药材的 DNA 鉴定	源原圆

第五章 综合与设计实验

实验 缘原员	黄连的品种鉴别及化学成分的提取、分离和鉴定	缘原员
实验 缘原圆	槐米及其伪品的鉴别和主要活性成分研究	缘原圆

附 录

附录 员	常用试剂及配制方法	猿猿
附录 圆	常用吸附剂	猿愿
附录 猿	常用色谱滤纸的规格及性能	猿怨

基本知识和技能

一、腊叶标本的制作

(一) 标本的压制

将采得的标本,压在标本夹(夹板)内。适当的时间(依据材料的不同而异)后用纸更换并加整理。整理时要使花、叶展平,姿式美观,不能使多数叶片重叠,要压有正面叶片,也要压有反面叶片。落下来的花、果或叶片,要用小纸袋装好,袋外写上该标本的采集号,并与标本放在一起,以后贴在台纸上。标本与标本之间必须隔数层吸水纸,夹在标本夹内,并加适当的压力,用粗绳将标本夹捆起,放在通风处。次日换干纸时,必须再仔细加工、整理标本。以后每日均需更换干纸至少 1 次,并应随时再加整理。在第三日换干纸后,可增加压力。夹有圆形、狭长形标本一夹的标本夹,可施加压力,用粗绳捆紧标本夹后放在日光下,使水分迅速蒸发以防止标本变色过度或发霉。通常在北方干燥地区,约换干纸 2 次后,标本即可干燥。若遇阴雨天,可用微火烘烤。换下的湿纸,要及时放日光下晒干或用火烤干,以备换纸时用。肉质的球茎、鳞茎、果实可切开压制。南方多雨地区,每日应换干纸 1 次,并可放在微火上烘烤。已干的标本要及时提出另放,即每隔 1 张单纸放 1 张标本。并应将同号标本放在一起,外用一张单纸夹起,在夹纸的右下角,写上该号标本的采集号。最后小心地将每包标本用细绳捆好,放在干燥通风处。

(二) 标本的消毒

野外带回的标本或外单位交换来的标本,可能带有害虫卵或真菌孢子。故在标本入柜之前必须进行消毒。消毒方法可用含升汞(氯化高汞)0.5%~1%的乙醇溶液放在搪瓷盘内,将标本浸透静置 24 小时左右,用竹夹夹取,放在干的吸水纸中,压干后即可上台纸。升汞有剧毒,操作时应注意房间要通风,切忌用手直接操作,要带橡胶手套和口罩,操作后要洗手,以免中毒。剩余消毒液要妥善保管。

(三) 标本的装订

已经消毒的标本,用毛笔将胶水(最好用植物胶)刷在标本背面,花的部分不必上胶以便解剖观察花部形态。然后移至贴台纸上(可用约 1mm 厚的卡片纸),稍加压力,放置使干。贴时应注意在左上角和右下角分别留出贴野外记录签和定名签的位置,然后用纸条(载线)将叶片和植物粗壮部分穿钉固定在台纸上即成。

四) 标本的鉴定

标本经过分科、分属和分种鉴定后,可将定名签贴在台纸右下角,野外记录签贴在左上角,最后可加贴一张薄而韧性强的封面衬纸,以免标本间互相摩擦损坏,这样即成为完整的标本。随后将同种植物标本放在一起,用一种夹夹起(可用牛皮纸按台纸大小制作),并在种夹外注明该种植物学名,按科、属顺序放入标本柜中密闭保存。柜中可放入一些樟脑球防虫。整个标本室可用硫酸氟或溴代甲烷熏蒸消毒,但消毒后要打开窗户通风数日方可进入。

二、显微镜的使用与保养

(一) 显微镜的类型

显微镜是研究植物细胞结构、组织特征和器官构造最常用的重要仪器。显微镜的类型很多,主要分为光学显微镜和电子显微镜两大类。根据其功能的不同,光学显微镜又分为普通光学显微镜、相差显微镜、暗视野显微镜和荧光显微镜等。

普通光学显微镜 是由一组光学放大系统和机械支持及调节系统组成,以可见光作光源,用玻璃制作透镜的显微镜,可分为单式显微镜与复式显微镜两类。单式显微镜由一个透镜组成,放大倍数在 500 倍以下。构造稍复杂的单式显微镜为解剖显微镜,是由几个透镜组成,其放大倍数在 1000 倍以下。复式显微镜至少由 4 组以上透镜组成,是植物形态解剖实验最常用的显微镜,其有效放大倍数可达 1500 倍,最高分辨力为 0.2 μm。

相差显微镜 是一种将光线通过透明标本细节时所产生的光程差(即相位差)转化为光强差的特种显微镜。其特点是利用光的干涉现象,将人眼不可分辨的相位差转化为人眼可以分辨的振幅差,从而使活体透明标本清晰可见。

暗视野显微镜 是一种通过观察样品受侧光照射时所产生的散射光来分辨样品细节的特殊显微镜。其特点是不让光束由下至上地通过被检物,而是将光线改变途径,使其斜射投向被检物,使照明光线不直接进入物镜,利用被检物体表反射或衍射光而形成明亮图像。当照明光有足够的强度而背景黑暗时,这些散射光便可通过物镜和目镜被观察到,从而分辨出普通光学显微镜所不能分辨的 0.2 μm 大小的细节。

荧光显微镜 是一种通过观察样品受紫外线照射后所产生的荧光来分辨不同类型样品的特殊显微镜。多用于细菌的鉴别。

电子显微镜 使用电子束作光源的一类显微镜。电子显微镜以特殊的电极和磁极作为透镜代替玻璃透镜,能分辨相距 0.1 nm 左右的物体,放大倍数可达 10⁵ ~ 10⁶ 倍,其分辨力比光学显微镜大 1000 倍,是观察超微结构的重要精密仪器。

(二) 普通光学显微镜的构造

普通光学显微镜是由一组光学放大系统和机械支持及调节系统组成(图 1-1)。

机械支持及调节系统 显微镜的机械部分,是整个显微镜装配的骨架,它是安装光学放大系统的基座。显微镜的机械部分包括镜座、镜柱、镜臂、载物台、物镜转换器、镜筒和调焦装置等。

镜座 镜座是显微镜的基本支架,支持整个镜体,使显微镜放置稳固。

镜柱 镜座上面直立的短柱,支持镜体上部的各部分。

镜臂 弯曲如臂,下连镜座,上连镜筒,为取放镜体时手握的部分。直筒显微镜臂的

下端与镜柱连接处有一活动关节,可使镜体在一定范围内后倾,便于观察。

源 载物台 (镜台) :为放置玻片标本的平台,中央有一通光孔。两旁装有一对压片夹,或装有标本移动器,一方面可固定玻片标本,同时可以用标本移动器 (或称推进器),转动旋钮,可以使标本前、后、左、右移动。有的标本移动器带有标尺,可指明标本所在位置。

缘 物镜转换器 :为接于镜筒下端的圆盘,可自由转动。盘上有猿个安装物镜的螺旋孔。当旋转转换器时,物镜即可固定在使用的位置上,保证物镜与目镜的光线合轴。

迄 镜筒 :为显微镜上部圆形中空의长筒,其上端置目镜,下端与物镜转换器相连,并使目镜和物镜的配合保持一定距离。镜筒能保护成像的光路和亮度。物镜的放大率是对一定的镜筒长度而言的。镜筒长度的变化,不但放大倍率随之变化,而且成像质量也受到影响。因此,使用显微镜时,不能任意改变镜筒长度。国际上将显微镜的标准筒长定为 员圆缘皂,此数字标在物镜的外壳上。

苑 调焦装置 :用以调节物镜和标本之间的距离,得到清晰的物像。在镜臂两侧有粗、细调焦螺旋各一对 (弯筒显微镜的调焦螺旋在镜柱两侧),旋转时可使镜筒上升或下降,大的为粗调焦螺旋,旋转 员圈可使镜筒移动 圆皂左右。小的一对为细调焦螺旋,旋转 员圈可使镜筒移动约 园缘皂。

愿 聚光器调节螺旋 在镜柱的一侧,旋转它时可使聚光器上下移动,借以调节光线强弱。
圆 光学放大系统 由成像系统和照明系统组成。成像系统包括物镜和目镜,照明系统包括反光镜和聚光器。

员 物镜 安装在镜筒前端物镜转换器上的透镜。利用光线使被检物体第一次造像,因而直接关系和影响着重成像的质量,对分辨力有着决定性的影响。物镜可分低倍、高倍和油浸物镜三种。物镜的性能可以从物镜外壳上标志着的数值孔径 (它等于物镜焦距与物距之差的平方根的倒数) 大小来表示。数值孔径的大小又是衡量一台显微镜分辨力强弱的依据。不同放大倍数物镜的数值孔径范围如表 员所示。

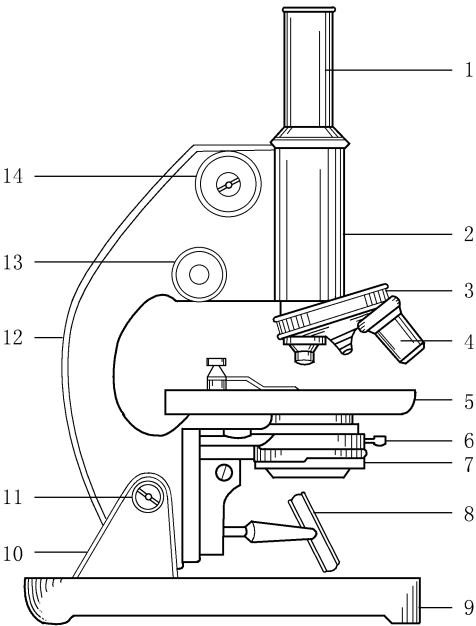


图 员 普通光学显微镜

员 目镜 圆 镜筒 猿 物镜转换器 源 物镜
缘 载物台 远 聚光器 苑 虹彩光圈 愿 反光
器 怨 镜座 员 镜柱 员 倾斜关节 员 镜臂
员 细调焦螺旋 员 粗调焦螺旋

表 员 不同放大倍数物镜的数值孔径

物镜倍数		数值孔径	物镜倍数		数值孔径
低倍物镜	员~ 远	园缘~ 园缘	高倍物镜	圆~ 远	园缘~ 园缘
中倍物镜	远~ 圆	园缘~ 园缘	油浸物镜	怨~ 员	员缘~ 员缘

物镜的放大倍数愈高,它的工作距离愈小,即物镜最下面透镜的表面与盖玻片上表面间

的距离就越小。所以使用时要特别注意。

目镜 安装在镜筒上端,目镜的作用是把物镜放大的实像再放大一次,并把物像映入观察者的眼中。其上刻有放大倍数,如 10× 和 15× 等。目镜的结构较物镜简单,普通光学显微镜的目镜通常由 2 个透镜组成,上端的一块透镜称“接目镜”,下端的透镜称“场镜”。上下透镜之间或在两个透镜的下方,装有由金属制的环状光阑或叫“视场光阑”,物镜放大后的中间像就落在视场光阑平面处,所以其上可安置目镜测微尺。

反光镜 是普通显微镜的取光设备。反光镜是个圆形的两面镜。一面是平面镜,能反光;另一面是凹面镜,兼有反光和汇集光线的作用。反光镜具转动关节,可作各种方向的翻转,将光线反射在聚光器上。

聚光器 聚光器安装在载物台下,由聚光镜和虹彩光圈等组成,其作用是将光源经反光镜反射来的光线聚焦于样品上,以得到最强的照明,使物象获得明亮清晰的效果。聚光器可以上下移动以调节视野的亮度,使焦点落在被检物体上,以得到最适亮度。

虹彩光圈 装在聚光器内,它可以开大和缩小,影响成像的分辨力和反差。拨动操作杆,可调节光圈大小,控制通光量。

三) 显微镜的使用方法

观察前的准备

取镜 显微镜从显微镜柜或木盒内取出时,要用右手紧握镜臂,左手托住镜座,保持镜体直立,平稳地将显微镜搬运到实验桌上。严禁用单手提着镜臂走,防止目镜滑出。

放置 将显微镜放在自己身体的左前方,离桌子边缘约 10 cm,右侧可放记录本或绘图纸。用显微镜观察时,必须用双眼,切勿紧闭一眼。要反复训练用左眼窥镜,右眼作图。

对光 一般可利用日光灯或自然光做光源,避开直射阳光。直射阳光会影响物像的清晰度,损坏光源装置和镜头,并刺激眼睛。对光时先把低倍镜转到中央,对准载物台上的通光孔,然后在左眼观察目镜中视野的同时转动反光镜,使视野的光线最明亮最均匀为止。如果靠近光源,或光线较强时,宜用平面的反光镜;如果光源较远或光线较弱时,宜用凹面的反光镜。当在镜筒内见到一个圆形而明亮的视野时,再利用聚光镜或虹彩光圈调节光的强度,使视野内的光线均匀而明亮。

低倍镜的使用 镜检任何标本要养成必须先用低倍镜观察的习惯。因为低倍镜视野较大,易于发现目标和确定要观察的位置。

放置切片 升高镜筒,把玻片标本放在载物台中央,使材料正对通光孔,然后用压片夹压住载玻片的两端。

调整焦点 两眼从侧面注视物镜,并慢慢按顺时针方向转动粗调焦螺旋,使镜筒徐徐下降至物镜离玻片约 2 mm 处。用左眼或双目注视镜筒内,同时按反时针方向转动粗调焦螺旋使镜筒上升,直到看见清晰的物像为止(注意不可在调焦时边观察边下降镜筒,否则会使物镜和玻片触碰,压碎玻片,损伤物镜)。如一次看不到物像,应重新检查材料是否放在光轴线上,重新移正材料,再重复上述操作过程直至物像出现和清晰为止。

为了使物像更加清晰,此时可轻微转动细调焦螺旋使物像最清晰。当细调焦螺旋向上或向下转不动时,即表明已达极限,切勿再硬拧,而应重新调节粗调焦螺旋,拉开物镜与标本间的距离,再反拧细调焦螺旋,约 1/4 圈左右,一般可动范围为 1/4 圈。有的显微镜可把微调基线拧到指示微调范围的两条白线之间,再重新调整焦点至物像清晰为止。

猿 低倍镜的观察 焦点调好后,可根据需要,移动玻片使要观察的部分在最佳位置上。找到物像后,还可根据材料的厚薄、颜色、成像反差强弱是否合适等再调节,如视野太亮,可降低聚光器或缩小虹彩光圈,反之则升高聚光器或开大光圈。

猿援高倍物镜的使用

员 选好目标 因高倍物镜只能将低倍视野中心的一部分加以放大,故在使用高倍镜前应在低倍镜中选好目标并移至视野的中央,转动物镜转换器,把低倍物镜移开,换上高倍物镜,并使之与镜筒成一直线 因高倍镜工作距离很短,操作要小心,防止镜头碰击玻片)。

圆 调整焦点 在正常情况下,当高倍物镜转正之后,在视野中即可见模糊物像,只要稍调动细调焦螺旋,即可见到最清晰的物像。

初用一台显微镜时,要注意它的高、低倍物镜是否能如上述情况能很好配合,如果高倍物镜离盖玻片较远而看不到物像时,则需重新调整焦点。此时应从侧面注视物镜,并小心转动粗调焦螺旋使镜筒慢慢下降到高倍物镜头几乎要与切片接触时为止,小心勿压碎玻片标本和损坏镜头),然后再由目镜观察,同时转动粗调焦螺旋,稍微升高镜筒至见到物像后,换调细调焦螺旋,使物像更加清晰为止。

猿 调节亮度 在换用高倍镜观察时,视野变小变暗,所以要重新调节视野的亮度,此时可以升高聚光器或放大虹彩圈。

源援油镜的使用 在使用油镜之前,也要先用低倍镜找到被检部分,变换成高倍镜调整焦点,并将被检部分移到视野中心,然后再换用油镜。油浸物镜的工作距离(指物镜前透镜的表面到被检物体之间的距离)很短,一般在 0.05mm 以内,再加上一般光学显微镜的油浸物镜设有“弹簧装置”,因此使用油浸物镜时要特别细心,避免由于“调焦”不慎而压碎标本制片,使物镜也受到损害。

使用油镜时,可先在盖玻片上滴加一滴香柏油,才能使用。用油镜观察标本时,绝对不许使用粗调焦螺旋,只能用细调焦螺旋调节焦点。如盖玻片过厚,必须换成薄片方可聚焦,否则会压碎玻片,损伤镜头。

油镜使用后,应立即以拭镜纸蘸少许清洁剂 乙醚和无水乙醇 $1:1$ 的混合液擦去镜头上的油迹。

缘援收镜 观察结束,应先升高镜筒,转动物镜转换器,使物镜镜头与通光孔错开,取下玻片,再降下镜筒,并将反光镜还原成与桌面垂直,擦净镜体,罩上防尘罩。仍用右手握住镜臂,左手平托镜体,按号放回镜箱中。

四) 指针的安装及测微尺的使用

员援安装指针的简易方法 如果新购置的显微镜没有指针,可以自行安装。具体方法是先将目镜的上盖旋下,剪取缘 0.5mm 一段头发,用镊子夹住,在另一头蘸上加拿大树胶,将其粘贴在目镜内壁的金属铁圈上,并使指针的尖端位于视野的中央,稍干后,旋紧上盖即可使用。

圆援测微尺的使用

员 镜台测微尺 一种特制的载玻片,中央有一个具刻度的标尺,全长为 2mm ,共分 100 小格,每小格长 0.01mm ,即 $10\mu\text{m}$ 。

圆 目镜测微尺 放在目镜内的一种标尺,为一块圆形的玻璃片,直径 10mm ,上面刻有不同形式的标尺。有直线式和网格式两种,测量长度一般用直线式,共长 2mm 分成 100

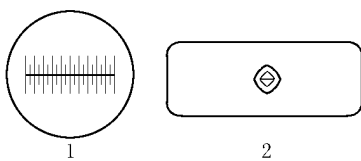


图 员原圆 镜台测微尺
员缘标尺的放大 圆缘具标尺的载玻片

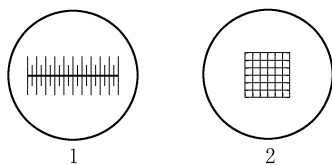


图 员原猿 目镜测微尺
员缘直线式 圆缘网格式

大格,每大格又分成 圆小格,共 员圆小格 图 员原猿。网格式测微尺用于计算数目和测量面积 图 员原猿。

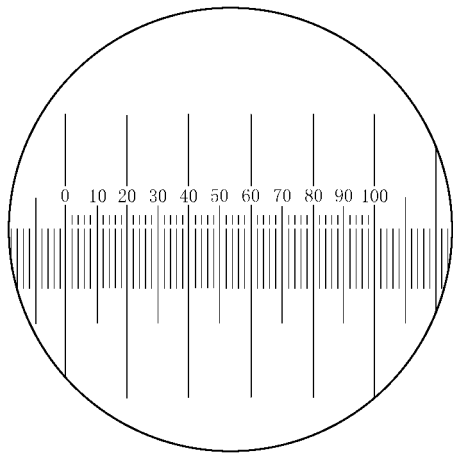


图 员原源 目镜测微尺每格实际长度的测定
目镜测微尺每格的实际长度 毫
两重合线间镜台测
微尺的格数 伊 圆
越 目镜测微尺的格数

猿 细胞及细胞内含物等的测量 :先将目镜测微尺装入目镜内的铁圈上,用镜台测微尺标化。标化时,转动目镜,移动镜台测微尺,使两种量尺的刻度平行,并使它们的一端重合,再找出另一端的重合刻度,分别记录目镜测微尺和镜台测微尺重合范围内的刻度,计算出目镜测微尺每小格在该物镜条件下所相当的大小 (皂)。如用 缘伊目镜和 源伊物镜,测得目镜测微尺的 员圆格,等于镜台测微尺的 缘皂,即目镜测微尺在这一组合中每格实际长度为 缘皂 测量时,以目镜测微尺测量被检物的小格数,乘以每小格的大小 (皂) 即得。如果用不同倍数的目镜,必须重新标化和计算 图 员原源。

五) 显微镜的保养

员缘随时保持清洁 机械部分可用软毛巾擦拭。光学部分的灰尘必须用镜头毛刷拂去,或用吹风球吹去,再用拭镜纸轻擦,切忌用手指或其他粗糙物如纱布等擦拭,以免损坏镜面。

圆缘做好‘四防’工作

员 防潮 :显微镜应放在干燥的地方。如果长期放在潮湿的地方不使用,透镜容易发霉,不仅影响成像质量,还会腐蚀透镜表面,造成透镜损坏,显微镜的金属部分也容易生锈。特别在高温多雨季节,一定要采取防潮措施。不经常使用的显微镜,擦拭干净后放在镜箱内保存。镜箱内一般都要有 员- 圆袋干燥剂,要经常检查干燥剂是否失效。在使用过程中也要注意防潮,特别是临时装片,水分切勿过多,观察时不能倾斜显微镜或倾斜角度过大,以免水流到显微镜上,万一水沾在镜身上,要及时擦干。冬季在低温的环境中进行观察时,观察者呼出的水汽会在镜臂上凝聚成水珠,也要及时擦拭干净。

圆 防腐蚀 :显微镜不要与腐蚀性的酸类或碱类化学物品放在一起,观察液体标本时,一般都要盖上盖玻片,如液体中有酸碱或腐蚀性化学物质时,要特别小心,观察完后要立即擦净镜头和载物台。

猿 防热 :显微镜不应在阳光下曝晒,以免造成损坏。

源 防撞击 :搬动显微镜时千万不可碰撞。如遇机件失灵,使用困难时,绝不可强行转

动,更不能任意拆修,应立即报告指导教师解决,以免造成损坏扩大。

三、中药显微标本的制作技术

中药显微标本片根据制作目的的不同可分为临时制片、半永久制片和永久制片 獾种。临时制片是供临时观察中药显微构造用,一般不作保存,制片简单,封藏剂(装置液)为水、稀甘油、水合氯醛等。半永久制片常用于需要保存一段时间的中药制片,保存时间为 獾 獾个月,制片的封藏剂常用甘油冻胶。永久制片是作长期保存的标本片,如标准中药的标本片等,制作工序多,时间较长,制片的封藏剂常用加拿大树胶。

(一) 徒手切片法

徒手切片法是中药显微鉴定中最常用的制片方法之一。其特点是工具简单、操作简便,无需特定场所,随看随制。切片用具有单面刀片、双面刀片、镊子、培养皿等。适用对象为中药横切面组织观察、纵切面组织观察、显微化学反应观察等。

獾獾临时制片法

獾 取材 根据鉴定的要求,选取有代表性的药材样品进行制片。根类药材分别在根头部、根中部和较细的尾部取材 根茎类药材和茎类药材一般在节间取材 叶类药材分别在叶基、叶中和叶端三处中脉部位取材。其他有特殊要求的,根据具体要求取材。

徒手切片用的材料,一般可用单面刀片切成约 獾 獾长的短段。

獾 切片 将刀片和材料在水中湿润,用左手拇指和示指夹持材料,示指略高于拇指,用环指(无名指)或小指从下部托住材料。右手示指和拇指持刀片,从左前方向右后方平行地、较快速地拉拽刀片,材料即被切下。连续切下几片后,把刀在盛水的培养皿中轻轻荡涤,使材料由刀片荡入水中。切片后,需调整左手所持材料高度。重复上面操作,直到切出满意的切片为止,即肉眼看去呈半透明状的切片。

獾 装片 选择较完整的切片。将载玻片斜向浸入水中,用镊子轻轻地把切片移至载玻片中央,取出后用白布擦尽两面的水渍,在材料上滴加装置液 獾 獾滴。镊取盖玻片,使盖玻片一边接触装置液边缘,待装置液沿边缘扩散后渐渐盖下盖玻片,以防止产生气泡。装片后如装置液过多,流溢到盖玻片以外,要用吸水纸将多余的装置液吸去,以免盖玻片滑动和浸蚀显微镜,如装置液少,没有在盖玻片下充满,可用滴管在盖玻片的边缘小心将装置液滴入,使其充满。如在显微镜下观察有气泡存在,可用解剖针轻轻压迫盖玻片,使里边气体逸出,如气泡太多,将会影响观察效果,这样的装片必须重新制作。

獾 永久制片法 徒手切片经过脱水、染色、透明、封藏等过程,可制成永久制片。

(二) 表皮撕片法

表皮撕片法是为了观察表皮细胞垂周壁、气孔及其类型、毛茸等显微特征而采用的一种制片方法。制片用具有无齿镊子、解剖针、培养皿等。适用对象为中药叶的上下表面,草本茎、花冠表面的组织观察。

獾 临时制片法 左手拇指和示指夹持叶片,必要时可用中指由下方托住叶片。右手持镊子,用尖部在叶片适当部位插入,撕取表皮一小块,浸入盛水的培养皿中。左手持洁净载玻片,将载玻片一端斜向浸入水中,靠近撕下的叶表皮,右手持镊子或解剖针,将叶表皮移到载玻片上,擦尽载玻片两面的水渍,加装置液 獾 獾滴,加盖玻片即成。

永久制片法 将撕下的表皮经固定、脱水、染色、透明、封藏等过程,可制成永久制片。整个操作可在培养皿中进行。

制片方法 在培养皿中进行,分别加入 70%乙醇 10ml、80%乙醇 10ml、90%乙醇 10ml、100%乙醇 10ml、番红乙醇 (1%) 染色液 10ml、70%乙醇 10ml、90%乙醇 10ml、100%乙醇 10ml、固绿乙醇 (1%) 染色液 10ml、70%乙醇 10ml、100%乙醇 10ml、无水乙醇 10ml、无水乙醇 原二甲苯混合液 10ml、二甲苯 10ml 圆次,取材料于载玻片上,滴加加拿大树胶,盖上盖玻片,贴上标签即成。

三) 粉末制片法

粉末制片法是针对破碎的和粉末状的中药而采用的一种制片方法,是中药显微鉴定中常用的制片方法之一。制片用具主要有镊子、解剖针、试管、离心机、玻璃棒等。适用对象为粉末状药材,粉末中药制成的丸、散、膏、丹等中成药,易破碎的中药材以及贮藏年久而变得十分疏松的药材。

临时制片法

水装片法 取过 100目筛的中药粉末少许,置载玻片中央,加水 1滴,用解剖针拨匀并使它浸润粉末,再加 1滴圆水后盖上盖玻片即成。本法适用于观察淀粉粒。

水合氯醛透化装片法 取粉末少许,置载玻片中央,加水合氯醛液 1滴,用解剖针拨匀并使它浸润粉末,在酒精灯上加热,沸即离火,再加水合氯醛液 1滴,用解剖针拨匀,再加热,如此反复 3次。离火,加稀甘油 1滴,拌匀,盖片即成。本法用于观察除淀粉粒和菊糖外的大部分组织、细胞和细胞后含物。

永久制片法 取粉末适量于离心管中,加入 70%乙醇 10ml,离心,倾去乙醇,加番红染色剂 1滴,用玻璃棒轻轻搅动使分散,静置 10min,离心,倾去染剂,加入 90%乙醇 10ml,离心,倾去乙醇液,加入固绿乙醇溶液 1滴,离心,倾去染剂,依次经 90%、无水乙醇 圆次,无水乙醇 原二甲苯混合液 1滴,二甲苯 圆次,每次 10ml,最后用吸管吸取材料于载玻片上,滴加加拿大树胶,盖上盖玻片,贴上标签即成。

四) 组织解离制片法

组织解离法是借药物的作用,将组织软化并使各组织细胞之间的果胶质被溶化而分离的一种制片方法,适用于观察各种细胞完整的形态。解离前,需将材料切成 1mm 厚的小片。

临时制片法

氢氧化钾法 适用于组织柔软的材料,如叶、花、根尖等。

取材料薄片置试管或小烧杯中,加 10%氢氧化钾溶液 10ml,沸水浴加热 10min,至用玻璃棒轻压材料能散开为度,倾去碱液,用水洗涤,取少量材料置载玻片上,用玻璃棒压碎后,以水合氯醛试液或稀甘油装片即成。

铬酸—硝酸法 适用于木化组织较多的药材,如木质的根、根茎类药材,木类药材等。

解离液的配制 取 10%铬酸 1份,10%硝酸 1份,等量混合。

取材料薄片置试管或小烧杯中,加解离液适量,浸泡 1h,夏天室温即可,冬天需加温到 60℃,至用玻璃棒搅拌轻压材料时能离散开为度,用清水离心洗涤数次,洗净酸液,取少量材料置载玻片上,用玻璃棒压碎后,以水合氯醛试液或稀甘油装片即成。

氯酸钾法 适用于木类、坚硬的果皮及种皮等药材。其特点是解离迅速,有漂白作