

· 研究报告 ·

干质中药材立式快速徒手切片法研究

李浩明^{1,2}, 洪稳稳³, 张成中⁴, 鲁 轮⁵, 周建理¹ (1. 国家中药材产品质量监督检验中心, 安徽 亳州 236800; 2. 亳州市产品质量监督检验所, 安徽 亳州 236800; 3. 安徽中医药大学药学院, 安徽 合肥 230000; 4. 海军军医大学药学院, 上海 200433; 5. 安徽省质量和标准化研究院, 安徽 合肥 230051)

[摘要] 目的 验证中药材立式快速徒手切片法的可行性及操作难易性, 并为不同类型药材徒手切片方法提供参考及思路。方法 选择不同类具有代表性的药材采用立式快速徒手切片法显微制片, 观察其切制效果。结果 实验表明, 大多数药材用此方法在几分钟之内就可获得符合检验/检测要求的显微切片。结论 立式快速徒手切片法迅速有效, 简单实用, 可广泛用于中药材显微鉴定的徒手切片, 且符合《中国药典》关于显微鉴定的要求。

[关键词] 显微鉴定; 徒手切片; 中药材

[中图分类号] R282.5

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2020)05-0458-04

[DOI] 10.12206/j.issn.1006-0111.202004115

The fast-bare-handed vertical slicing method for dry Chinese herbal medicine

LI Haoming^{1,2}, HONG Wenwen³, ZHANG Chengzhong⁴, LU Lun⁵, ZHOU Jianli¹ (1. National Quality Supervision and Inspection Center for Chinese Medicinal Materials Products, Bozhou 236800, China; 2. Bozhou Products Quality Supervision and Inspection Institute, Bozhou 236800, China; 3. School of Pharmacy, Anhui university of Chinese medicine, Hefei 230000, China; 4. School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China; 5. Anhui Institute of Quality and Standardization, Hefei 230051, China)

[Abstract] **Objective** To verify the feasibility and maneuverability of fast bare-handed vertical slicing method for dry Chinese herbal medicine, and to provide reference of this method for different types of medicinal materials. **Methods** Several representative medicinal herbs were randomly selected in the market to make micro-slices using the top-slicing method to observe its cutting effect. **Results** Experiments showed that microscopic slices can be obtained for most herbs in a few minutes, which can be used for identification and quality testing. **Conclusion** This method is fast, effective, simple and practical. It meets the requirements of pharmacopoeia for microscopic identification. This method deserves for promotion.

[Key words] microscopic identification; bare-handed section; Chinese herbal medicine

显微鉴定是中药鉴定中利用显微技术对中药进行显微分析, 以确定其品种和质量的一种常用鉴定方法, 显微制片是其主要的观察对象。组织显微鉴定则是中药显微鉴定最常用的方法之一^[1-2]。对于一些动物、植物等组织片, 徒手切片是其中最实用的方法之一^[3]。使用传统的方法需鉴定员具有很强的显微观察能力, 更需操作者有扎实的切片功底。传统的中药显微鉴定切片法是把干药材清水泡软, 端在手上, 用剃刀或刀片, 快速地从水平方向由外向内削下薄片^[4-6]。这种切片方法的缺点是: 药

材前处理耗时, 处理软硬程度不易掌握; 操作时刀口下方没有硬物抵托, 药材容易出现“让”(在刀压迫下弯曲)的情况, 难以切到薄而完整的切片。由于传统方法切片困难, 导致许多实验室不愿做此项目, 故而选择用石蜡切片^[7]的方式制片观察鉴定, 而石蜡制片需要经过蜡封、固化、切片、脱蜡等步骤, 耗时较长^[8], 相对来说不适合快速、准确检测中药的要求, 影响到药典等标准的使用, 基于上述原因, 制定标准时在方法上多选择比较容易操作的粉末制片, 但粉末制片可以提供的比对信息明显少于切片, 影响了鉴定的效率和准确性。冰冻切片技术是一种较为新颖的组织制片方法, 它将生物组织置于低温下, 迅速冻结达到一定硬度后进行切片。相对于常规的石蜡切片, 无需经过脱水、透明、浸蜡等步骤, 组织不会收缩, 易保持原有生物形态, 具有快速、简便、易操作等优点, 但新鲜植物细胞因具

[作者简介] 李浩明, 大专, 研究方向: 中药资源与质量研究, Email: 248156312@qq.com

[通讯作者] 张成中, 硕士, 讲师, 研究方向: 中药鉴定与炮制研究, Email: zhangchzh09@163.com, Tel: (021) 81871370; 鲁 轮, 硕士, 主管中药师, 研究方向: 中药鉴定和标准研究, Email: 1152799934@qq.com

有液泡,含水量较大使得在进行低温切片时易形成冰晶,造成植物组织的细胞结构受到伤害。又因为细胞壁的存在使得植物组织在冰冻后硬度变大易破碎,致使多数情况下难以切出结构完整的切片,并且操作时需要快速冷冻设备及相适应的冰冻切片机,因此该技术在植物组织切片上的应用较少^[9]。对于基层工作人员来说,如果能够掌握一种更为简单的切片操作方法,便可事半功倍。为此,笔者对传统切片方法进行了多方面的改革,建立了一种新的切片方法,称之为立式快速徒手切片法,本实验随机选择了亳州中药材市场上几种具有代表性的中药材进行切片操作,以对这一方法的可行性、精确性、操作性、实用性等进行验证。

1 仪器与材料

1.1 试验仪器

显微镜(型号:德国徕卡 DM2700P);飞鹰刀片(上海吉列有限公司);美工刀片(得力集团)老式剃刀(扬州天艺)。

1.2 材料

纯净水(自制);水合氯醛、甘油(国药集团)。广金钱草、降香、蔓荆子、山羊角、西河柳、地锦草、碱地蒲公英、益母草等(亳州中药材市场)。

2 方法与结果

2.1 切片方法

传统显微切片材料的处理沿用了国外研究植物组织学的工作方法。多采用新鲜植物,即“软”的材料。而中药材的显微鉴定,实验材料是干质药材。把干质材料用锯或小刀做出切面,再用细纹钢锉加以处理使之成平整的截面,药材下垫木板(塑料板、钢板、载玻片等硬质平面),刀口蘸水(蘸水可防止切片滑落)。刀片立起快速切下,切出薄片,切片不黏连(图 1A)。

2.2 药材处理

广金钱草、西河柳、地锦草、碱地蒲公英等脆质的叶类、草质茎类药材,水浸 10 s 后,纸巾压平,处理至微软,进行切片操作。蔓荆子、降香、人参等质地较硬的果实种子类、木类及粉质角质类药材,先在表面涂抹些许清水,让其向内浸润,数十秒之后,在已处理材料表面的浸润与未浸润之间切或削下薄片。

2.3 制片效果

草质茎类药材广金钱草茎,切片制作显微组织片(图 1B),非腺毛、薄壁细胞、韧皮部等不同的显

微鉴定特征清晰可见,符合显微组织切片要求;茎木类药材降香横切面,降香导管、纤维清晰可见,木射线特征明显,易于观察(图 1C);蔓荆子横切面干材料,制作横切面组织片(图 1D),外果皮、中果皮细胞清晰可见;角质类药材山羊角横切面(图 1E),角质细胞清晰。

2.4 对不同种类中药材切片的观察

西河柳茎的横切(图 2A),可见为叶半包茎,横切面典型特征为下陷的气孔集中在一侧,为叶所在的位置;草酸钙簇晶集中分布于皮层的内侧,在中柱鞘附近形成连续的纤维束鞘,韧皮部较明显,初生木质部中间无髓,这些特征明显的构造镜下清晰可见,较之《中国药典》(2015年版)收录的粉末鉴定图相比,其精确性、准确性均大大提高,且操作简单。地锦草叶横切面(图 2B)可见特有的 C-4 花环式结构。碱地蒲公英叶横切面(图 2C)上表皮叶脉处向上凸起;表皮细胞壁向外加厚,侧壁薄,内侧有 1~2 层纤维束。益母草叶横切(图 2D)可以见到小腺毛主要分布于上表皮,而大的腺鳞主要分布在下表皮。

生长年限较长的人参以传统切片法难以得到完整的切片。用本法易于均匀用力,材料不易弯曲和滑动,可切到完整而厚薄均匀的切片(图 2E),显微镜下可清楚地观察到其次生维管束有 3 轮,形成层以外的树脂道环有 4 轮。由此可从两个方面相互印证,确定此人参药材的种植年限为 4 年。虽然过去通过多张碎片也能得到同样的结论,但有存在偏差的可能性。在实验报告中提供这样完整的照片作为佐证,其鉴定的效力可以明显增加。

3 讨论

中药显微鉴定是由西方植物解剖学沿用而来。西方植物组织解剖研究多用新鲜材料,中药学家在使用这一技术时就自然想到先把药材泡软,使其重新恢复到新鲜植物的模样。但这个“恢复”实则很难真正做到,在药检工作实践中难以实现。故在显微鉴定时也多选用其粉末显微特征作为鉴定依据,尽管各种横切面显微特征通常都比单纯的粉末在鉴定上更有价值。

在长期的中药显微检验工作实践中,笔者逐渐摸索出了这种简单、易操作、精确性及准确性较高的显微组织制片方法,相对于传统的徒手悬空切片法,创新的切片法区别在于药材下垫有硬木板或塑料板支撑,也可操作在载玻片上,使刀片立起从上往下切。故我们把这种方法称之为“立式切片

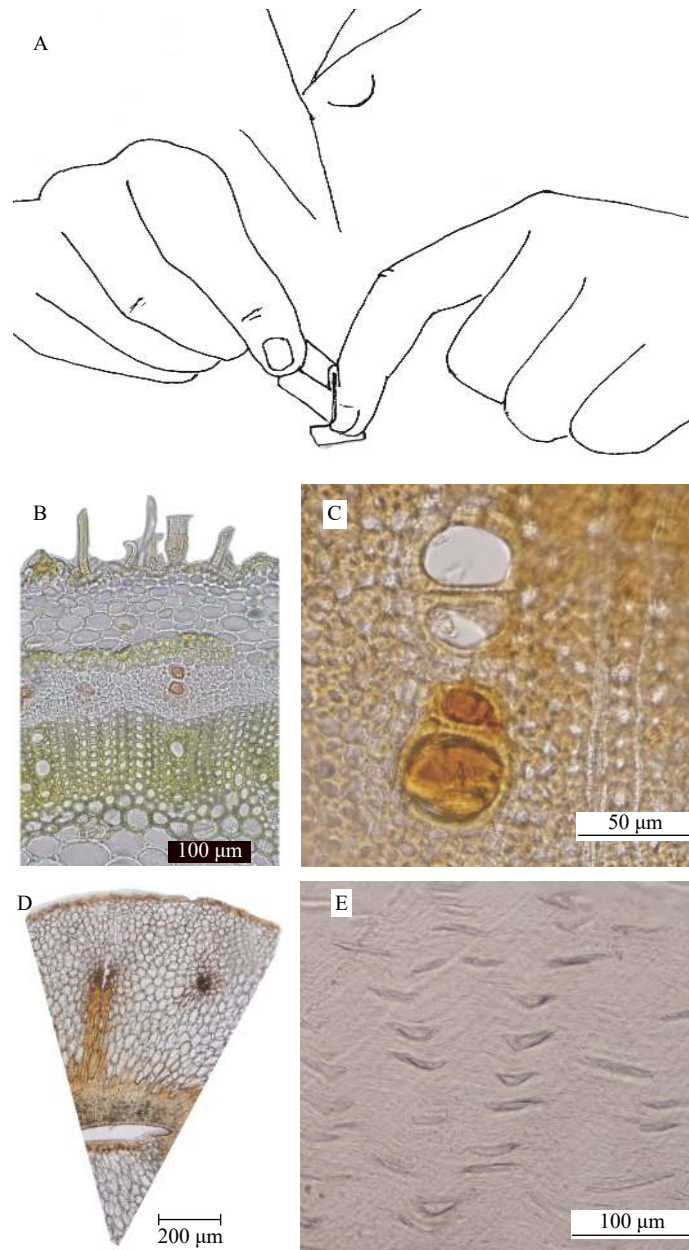


图1 中药徒手切片示意及其横切面显微图

A.徒手切片姿势; B.广金钱草茎; C.降香; D.蔓荆子; E.山羊角

法”。由于干质药材在刀下不易变形,切出的部分往往更薄、更完整、更便于操作。我们探索出的这种切片制片方法的特点是:①安全,由指甲顶住刀片,避免伤到手指;②便于用力,拇指或中指下压固定药材,便于手指用力也便于控制切片厚度;③操作时材料下垫有硬板,在切片过程中极大程度地保持切片完整不粘连。④实验过程中省去传统徒手切片法材料预处理流程,可在很短的时间内完成切片透化观察的鉴定工作,提高了显微鉴定工作的效率,且简单易学。植物分泌组织切片过程中极易因处理过度而被破坏,但用立式切片法切不同质地、不同药用部位的干质药材均得到较好的结果,故分

泌组织的特征得以显现,如广金钱草在韧皮中的黄色分泌物,在降香导管内红棕色分泌物和蔓荆子外果皮细胞的棕色颗粒状物十分明显(图1B、C、D);山羊角切片中的曲眉样(图1E)构造特点也很突出,这些都为鉴定药材提供了很好的证据。在实验过程中,针对刀片易损、刀片变钝后影响切片效果这一问题,笔者选用价格低廉的刀片,目前市面上各种美工刀与剃须刀非常锋利、价格低廉,这种刀片刀口脆硬,容易崩损变钝,但往往十分锋利。在材料前处理后,仅用数刀即可完成切片工作,在刀片未钝之前就拿到满意的切片。文中笔者并未对立式快速徒手切片法的具体切片姿势进行细致的

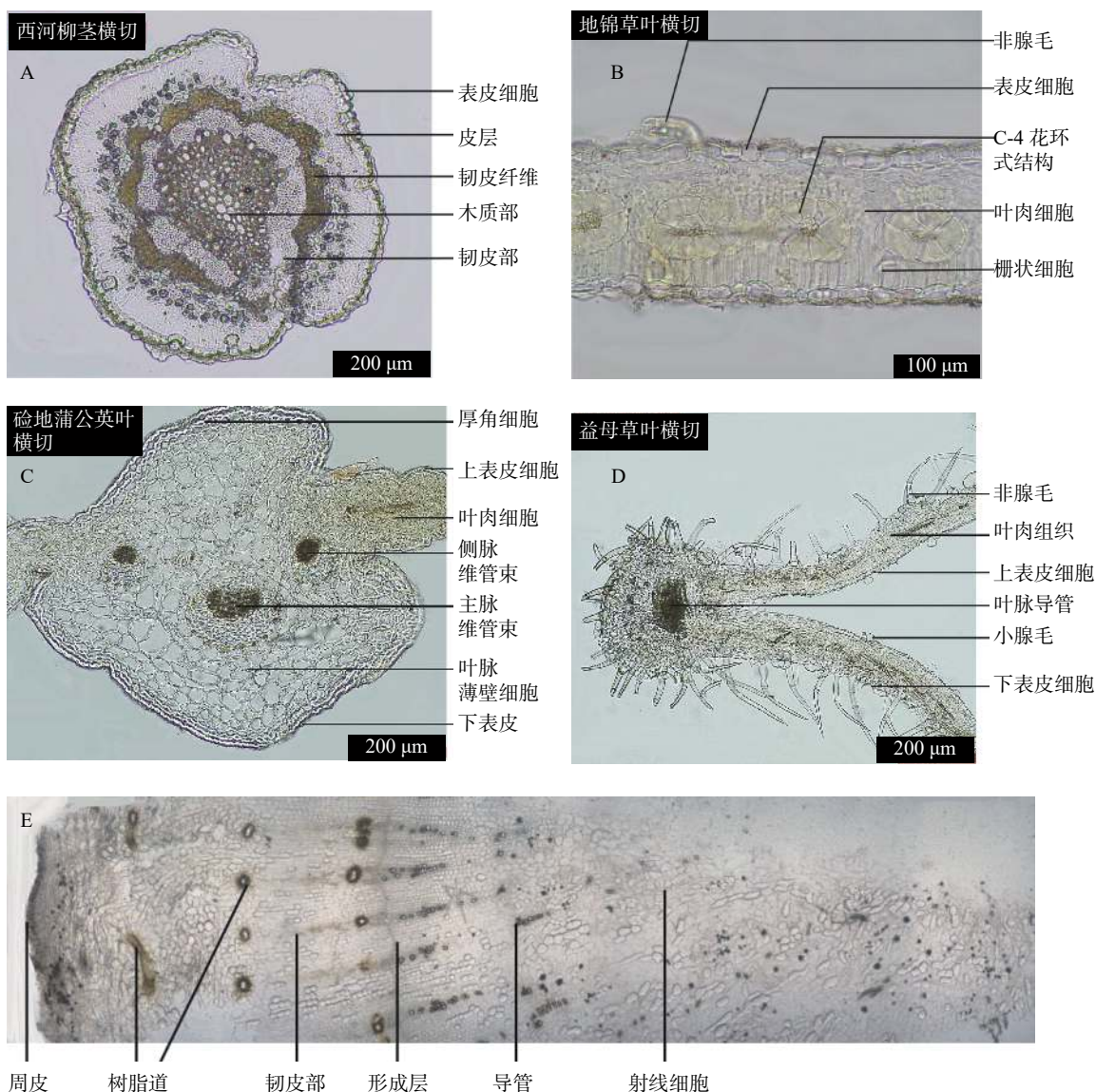


图2 立式快速徒手切片实际效果(中药材横切面显微图)

A.西河柳茎;B.地锦草;C.碱地蒲公英叶;D.益母草叶;E.人参根(红色数字表明树脂道和导管群的产生年限。图中从外向内看,形成层外方的树脂道是依次1~4年向内排列,形成层内侧的次生导管群依次是4~2年向内排列)

描述,因切药是个人惯用姿势的体现,在细微操作方面因人而异,只要经过一段时间的练习,找到适合自己的立式徒手切片法即可。

【参考文献】

- [1] 夏四喜,陈兰君.显微制片技术在碧桃干鉴定中的应用[J].湖北中医杂志,2011,33(6):71-72.
- [2] 陈兰君,刘俊钢,张志勇.显微制片技术在甜茶鉴定中的应用[J].湖北中医杂志,2010,32(7):72-73.
- [3] 安丽敏,安丽华.中药显微鉴定常用制片方法概述[J].哈尔滨医药,2016,36(1):78-79.
- [4] 李正理.植物制片学[M].北京:科学出版社,1973.
- [5] 楼之岑,李胜华.中草药性状和显微鉴定法 馆藏[M].北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社,1997.
- [6] 康廷国.中药鉴定学[M].北京:中国中医药出版社,2013:43.
- [7] 赵中振,陈虎彪.中药显微鉴定图典[M].福州:福建科技出版社,2016:14.
- [8] 关正君,霍艳林.常见生物显微制片方法的比较研究[J].安徽农业科学,2006,34(11):2395-2396.
- [9] 李建霞,张出兰,夏晓飞,等.植物冰冻切片条件的优化及其与石蜡切片在组织化学应用中的比较[J].植物学报,2013,48(6):643-650.

【收稿日期】 2020-04-24 【修回日期】 2020-07-21

【本文编辑】 李睿曼