附錄III 顯微鑒別法

顯微鑒別是指用顯微鏡對藥材的切片、粉末、解離組織和表面製片中的組織、細胞或內含物等特徵進行鑒別的一種方法。選取具代表性的藥材樣品，按下列方法進行鑒別。

(1) **橫切面及 / 或縱切面製片** — 選取具代表性的樣品，軟化，用徒手或滑走切片法切成10-20 μm的薄片。經甘油醋酸試液、水合氯醛試液或其他適合的試液處理後，用顯微鏡觀察。必要時可用蠟封包埋後切片。

(2) **粉末製片** — 置粉末少量於載玻片上，攤平，用甘油醋酸試液、水合氯醛試液或其他適合的試液處理後觀察。必要時，按上法加熱透化。

(3) **表面製片** — 將樣品濕潤軟化後，切取一部分或撕取其表皮，加適合的試液處理後觀察。

(4) **解離組織製片** — 將樣品切成厚約2 mm的小片，然後按藥材材料的性質，用以下其中一種方法進行組織解離：

(a) **氫氧化鉀法** — 置樣品於試管中，加5%（v/v）氫氧化鉀溶液適量，加熱直至用玻璃棒擠壓能將殘渣離散為止。傾去鹼液，加水洗滌後，取出少量解離組織置載玻片上，用解剖針撕開，以稀甘油裝片觀察。

(b) **硝鉻酸法** — 置樣品於試管中，加入硝鉻酸試液適量，放置直至可用玻璃棒容易壓散為止。傾去酸液，加水洗滌後，依照上述4(a) 所示裝片。

(c) **氯酸鉀法** — 置樣品於試管中，加50%(v/v) 硝酸溶液及氯酸鉀少量，緩緩加熱，至產生的氣泡緩和時，再加入氯酸鉀少量，使氣泡穩定地產生。當組織傾向離解時，用玻璃棒將之分離。傾去酸液，加水洗滌後，依照上述4(a) 所示裝片。

藥材樣品含少量或呈分散狀的木質組織或薄壁細胞組織，可用氫氧化鉀法進行測試。而主要含木質組織或木質組織群束的堅硬樣品，則可用硝鉻酸法或氯酸鉀法。

(5) **細胞及其細胞內含物大小的測量** — 在顯微鏡下測量樣品細胞及內含物的大小時，可用目鏡測微尺測量。將目鏡測微尺裝入目鏡內，用鏡台測微尺標化。標化時，轉動目鏡，移動鏡台測微尺，使兩種量尺的刻度平行，左邊的"0"刻度重合，再找第二條重合刻度。

根據兩條重合刻度間兩種量尺的小格數，計算出目鏡測微尺每小格在該物鏡條件下所相當的大小(微米)。

測量時，以目鏡測微尺測量目的物的小格數，乘以每一小格的大小值(微米)。通常是在高倍物鏡下進行，測量較長的纖維如非腺毛等的長度時，則以在低倍物鏡下測量較為方便。

記錄最大值與最小值(微米)，可允許有少量略高或略低於各藥材品種項下規定的數值。

(6) **細胞壁性質的檢定**

(a) **木質化細胞壁** — 加間苯三酚試液1-2滴，稍放置，然後加鹽酸1滴，根據木質化的程度，木質化細胞壁顯紅色或紫紅色。

(b) **木栓化或角質化細胞壁** — 加蘇丹III試液1-2滴，稍放置數分鐘或微微加熱，木栓化或角質化細胞壁顯橘紅色或紅色。

(c) **纖維素細胞壁** — 加氯化鋅碘試液1-2滴，稍放置數分鐘；或加碘試液1-2滴後，稍放置，然後加66%（v/v）稀硫酸溶液。纖維素細胞壁顯藍色或紫色。

(d) **硅質化細胞壁** — 加硫酸1-2滴，無變化。

(7) **細胞內含物性質的檢定**

(a) **澱粉粒** — (i) 加碘試液，顯藍色或紫色。(ii) 用甘油醋酸試液裝片，置偏光顯微鏡下觀察，未糊化的澱粉粒顯偏光現象；已糊化的無偏光現象。

(b) **糊粉粒** — (i) 加碘試液，顯棕色或黃棕色。(ii) 加硝酸汞試液，顯磚紅色。材料中如含有多量脂肪油，可用乙醚或石油醚浸洗脫脂後，再進行試驗。

(c) **脂肪油、揮發油或樹脂** — (i) 加蘇丹III試液，顯橘紅色、紅色或紫紅色。(ii) 用90%乙醇濕潤材料，揮發油溶解於溶液中，而脂肪油則不溶解（蓖麻油及巴豆油例外）。

(d) **菊糖** — 加10% (w/v) α-萘酚乙醇溶液，再加硫酸，菊糖晶體顯紫紅色並很快溶解。

(e) **黏液** — 加釕紅試液，顯紅色。

(f) **草酸鈣結晶** — (i) 不溶解於6% (v/v) 稀醋酸，溶解於9.5-10.5% (v/v) 稀鹽酸而無氣泡產生。(ii) 逐漸溶解於50% (v/v) 硫酸溶液中，片刻後析出針狀硫酸鈣結晶。

(g) **碳酸鈣（鐘乳體）** — 溶解於9.5-10.5% (v/v) 稀鹽酸，並有氣泡產生。

(h) **硅質** — 不溶解於硫酸。

(8) **顯微試液配製法**

(a) **水合氯醛試液** — 取水合氯醛50.0 g，溶解於水15 mL與甘油10 mL的混合液中，即得。

(b) **銅氨試液** — 取碳酸銅0.5 g，加水適量，置乳缽中研磨，再加濃氨溶液10 mL使溶解，即得。

(c) **三氯化鐵試液** — 取三氯化鐵1.0 g，加水使溶解成100 mL的溶液。

(d) **品紅甘油膠** — 取動物膠1.0 g，溶解於6 mL水中，然後加甘油7 mL，加熱並輕輕攪拌至完全混勻。用紗布濾於培養皿中，加鹼性品紅溶液適量（取鹼性品紅0.1 g，溶解於600 mL無水乙醇及80 mL樟油的混合液中），混勻，凝固後即得。

(e) **甘油醋酸試液** — 取甘油、醋酸及水各等份，混勻，即得。

(f) **碘試液** — 直接用0.1 M碘液。

(g) **硝酸汞試液** — 取汞4.5 g，加發煙硝酸3 mL，待作用完畢，加等量水稀釋，即得。置本液於具塞棕色玻璃瓶內，避光儲存。

(h) **α-萘酚試液** — 取 15%（w/v）α-萘酚乙醇溶液10.5 mL，緩緩加硫酸6.5 mL，混勻。然後加乙醇40.5 mL及水4 mL，混勻，即得。

(i) **間苯三酚試液** — 取間苯三酚1.0 g，溶解於100 mL 90%乙醇中，濾過，即得。置本液於棕色玻璃瓶內，避光儲存。

(j) **釕紅試液** — 取10%（w/v）醋酸鈉溶液1-2 mL，加釕紅適量使呈酒紅色，即得。臨用配製。

(k) **蘇丹III試液** — 取蘇丹III 0.01 g，溶解於5 mL 90%乙醇中。再加甘油5 mL，混勻，即得。置本液於棕色玻璃瓶內，2個月之內適用。

(l) **組織解離液（硝鉻酸試液）**— (i) 取硝酸10 mL，加水100 mL中，混勻；及 (ii) 取三氧化鉻10 g，加水100 mL使溶解，用時將二液等量混合，即得。

(m) **氯化鋅碘試液** — 取碘化鉀8.0 g，溶解於8.5 mL水中，再加無水氯化鋅2.5 g，然後加碘適量至混合液飽和，即得。置具塞棕色玻璃瓶內保存。