201080017-20XX

2.1.8.17. МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ И МИКРОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Общая фармакопейная статья устанавливает общие требования к проведению микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья.

Техника приготовления микроскопических препаратов из лекарственного растительного сырья зависит от морфологической группы исследуемого объекта, а также от состояния сырья – цельного, измельчённого или порошкообразного.

При микроскопическом исследовании лекарственного растительного сырья наиболее часто используемым реактивом является *хлоралгидрата раствор Р.* В случае, если некоторые элементы невидимы или видны нечетко, используют другие реактивы, например, 50 % (*об/об*) раствор *глицерина Р*, позволяющий обнаруживать крахмальные зерна. При необходимости в частной фармакопейной статье могут быть указаны специфические реактивы для проведения микрохимического исследования, например, *реактив молочной кислоты Р* – для обнаружения лигнифицированных элементов, эфирных масел, смол и др., 10 % (*об/об*) *спиртовой раствор флороглюцина Р* и *хлороводородная кислота Р* - для обнаружения лигнина в клетках или тканях, *рутения красного раствор Р* – для обнаружения слизи в клетках, *глицерин Р* или *раствор Люголя Р* – для обнаружения крахмала и инулина, *раствор судана III Р* – для обнаружения жирного и эфирного масел. Кроме того, исследование в поляризованном свете (в результате двойного лучепреломления) позволяет идентифицировать крахмальные зерна (эффект черного креста), кристаллы кальция оксалата (рефракция) или одревесневшие (лигнифицированные) структуры.

МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ, ИЗМЕЛЬЧЕННОГО В ПОРОШОК

Методики приготовления микропрепаратов, приведенные в данном разделе, пригодны для всех морфологических групп лекарственного растительного сырья, измельченного в порошок при отсутствии других указаний в частной фармакопейной статье.

Приготовление микропрепарата в хлоралгидрата растворе

На предметное стекло помещают 2 – 3 капли *хлоралгидрата раствора Р*. Небольшое количество измельченного в порошок лекарственного растительного сырья распределяют в жидкости и накрывают покровным стеклом. Микропрепарат очень осторожно нагревают до кипения на горячей плитке или микрогазовой горелке, поддерживая слабое кипение в течение короткого времени и обеспечивая при этом достаточное количество включающей жидкости. При необходимости включающую жидкость восполняют с помощью клиновидной стеклянной пипетки, охлаждают, а затем рассматривают под микроскопом. Повторно нагревают до тех пор, пока крахмальные зерна и водорастворимые составляющие клеток станут невидимыми. Рассматривают под микроскопом.

Хлоралгидрат имеет тенденцию к кристаллизации в форме длинных игл. Для предотвращения этого поступают следующим образом: после нагревания убирают покровное стекло, к микропрепарату прибавляют 1 каплю 10 % (*об/об*) *хлоралгидрата раствора Р* в *глицерине Р*, накрывают чистым покровным стеклом и рассматривают под микроскопом.

Приготовление микропрепарата в 50 % (*об/об*) растворе глицерина

На предметное стекло помещают 2 капли 50 % (*об/об*) раствора *глицерина Р*. Небольшое количество измельченного в порошок лекарственного растительного сырья распределяют в жидкости, накрывают покровным стеклом и рассматривают под микроскопом.

Примечание: Лекарственное растительное сырье с кожистыми листьями и жесткими стеблями после измельчения в порошок просветляют кипячением в 5 % (*м/об*) *растворе натрия гидроксида Р*.

МИКРОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ, ИЗМЕЛЬЧЁННОГО В ПОРОШОК

Приготовление микропрепарата в растворе флороглюцина и хлороводородной кислоты

На предметное стекло помещают небольшое количество измельченного в порошок сырья, прибавляют 1 - 2 капли 10 % (*об/об*) раствора *флороглюцина Р*. Перемешивают и выдерживают до полного испарения растворителя. Затем прибавляют 1 - 2 капли *хлороводородной кислоты Р*, накрывают микропрепарат покровным стеклом и тотчас рассматривают под микроскопом. Красное окрашивание указывает на наличие лигнина.

Приготовление микропрепарата в молочной кислоты реактиве

На предметное стекло помещают 2 - 3 капли *молочной кислоты реактива Р*. Небольшое количество измельченного в порошок сырья распределяют в жидкости и накрывают покровным стеклом. Микропрепарат очень осторожно нагревают до кипения, поддерживая слабое кипение в течение короткого времени и обеспечивая при этом достаточное количество включающей жидкости. При необходимости, включающую жидкость восполняют с помощью клиновидной стеклянной пипетки. Охлаждают и рассматривают под микроскопом. Лигнифицированные (одревесневшие) элементы окрашиваются в ярко-желтый цвет; элементы, содержащие целлюлозу, остаются бесцветными. Крахмальные зерна окрашиваются в светло- или темно-фиолетовый цвет; некоторые секреторные накопления (например, эфирные масла, смолы, маслянистые смолы) окрашиваются в оранжевый цвет, а пробка - в красный цвет.

Приготовление микропрепарата в растворе рутения красного

На предметное стекло помещают 2 капли *раствора рутения красного Р*. Небольшое количество измельченного в порошок сырья распределяют в жидкости и накрывают покровным стеклом. По истечении около 1 мин наносят каплю *воды Р*, позволяя проникнуть ей между предметным и покровным стеклами. Рассматривают под микроскопом. Слизь окрашивается в фиолетово-красный цвет.

Приготовление микропрепарата в растворе Люголя

На предметное стекло помещают 2 капли *раствора Люголя Р*. Небольшое количество измельченного в порошок сырья распределяют в жидкости, накрывают покровным стеклом и рассматривают под микроскопом. Крахмальные зерна окрашиваются в синий цвет.

Приготовление микропрепарата в растворе туши черной

На предметное стекло помещают 2 капли *раствора туши черной Р*. Небольшое количество измельченного в порошок сырья распределяют в жидкости, накрывают покровным стеклом и тотчас рассматривают под микроскопом (малое увеличение). Слизь заметна в виде бесцветных масс на черном фоне.

Приготовление микропрепарата в растворе судана III

На предметное стекло помещают 2 - 3 капли *раствора судана III Р*. Небольшое количество измельченного в порошок сырья распределяют в жидкости и накрывают покровным стеклом, подогревают и рассматривают под микроскопом. Капли жирного и эфирного масла окрашиваются в оранжево-розовый цвет.

Приготовление микропрепарата в растворе β-нафтола (резорцина или тимола)

На предметное стекло помещают около 0,1 г измельченного в порошок сырья, прибавляют 1 - 2 капли *раствора β-нафтола Р* (*резорцина Р* или *тимола Р*) и 1 каплю *серной кислоты Р* и рассматривают под микроскопом. Инулин окрашивается в красновато-фиолетовый цвет, при использовании резорцина и тимола - в оранжево-красный. О наличии инулина судят только при отсутствии крахмала.

МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РАЗЛИЧНЫХ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ГРУПП ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Микроскопическое исследование проводится для различных морфологических групп лекарственного растительного сырья.

ЛИСТЬЯ, ТРАВЫ, ЦВЕТКИ

Цельное и измельчённое сырье. При исследовании цельного сырья используют кусочки пластинки листа с краем и жилкой; у трав – лист, иногда кусочек стебля и цветок, у цветков отдельно рассматривают чашечку и венчик. При исследовании измельчённого сырья используют по несколько различных кусочков, предположительно относящихся к вышеперечисленным органам.

Просветление микропрепарата можно проводить двумя способами:

- кусочки сырья помещают в пробирку, прибавляют 5 % (*м/об*) раствор *натрия гидроксида Р*, разбавленный *водой Р* (1:1 *об/об*), и кипятят в течение 1 - 2 мин. Затем содержимое выливают в фарфоровую чашку, жидкость сливают, кусочки сырья тщательно промывают *водой Р* и оставляют в *воде Р*. Из *воды Р* исследуемый материал вынимают препаровальной иглой или лопаточкой и помещают на предметное стекло в каплю *раствора хлоралгидрата Р* или *глицерина Р*;
- кусочки сырья кипятят в *растворе хлоралгидрата Р*, разбавленного *водой Р* (1:1 *об/об*) в течение 5 - 10 мин (до просветления), затем помещают на предметное стекло в каплю *хлоралгидрата раствора Р* или *глицерина Р*, разделяют скальпелем или препаровальной иглой на две части, одну из них осторожно переворачивают. Объект накрывают покровным стеклом, слегка подогревают до удаления пузырьков воздуха и после охлаждения рассматривают с обеих сторон под микроскопом сначала при малом, затем при большом увеличении. При приготовлении микропрепаратов из толстых листьев их предварительно раздавливают скальпелем.

Для исследования стеблей их отрезки кипятят в 5 % (*м/об*) растворе *натрия гидроксида Р*, тщательно промывают *водой Р,* снимают эпидермис скальпелем или препаровальными иглами и рассматривают его с поверхности; из остальных тканей готовят микропрепарат, раздавливая объект скальпелем на предметном стекле в растворе *хлоралгидрата Р* или *глицерина Р*.

Для приготовления поперечных срезов цельных листьев и стеблей после кипячения в *растворе хлоралгидрата Р* в течение 10 мин делают срезы, зажимая кусочки сырья в пробку или сердцевину бузины. Готовые срезы промывают *водой Р* и готовят из них микропрепараты, помещая в *растворе хлоралгидрата Р*.

Таблица 2.1.8.17.-1 – *Диагностические признаки листьев*

№ п/п	Диагностические признаки	Характеристики
1.	Клетки верхнего и нижнего	форма: изодиаметрическая – округлая,

	эпидермиса	квадратная, многоугольная; полигональная – прямоугольная, овальная, ромбовидная, веретеновидная, комбинированная и др.); извилистость стенок клеток верхнего и нижнего эпидермиса (прямые, извилистые, волнистые, зигзагообразные, зубчатые и др.), степень извилистости; утолщённость стенок клеток верхнего и нижнего эпидермиса (равномерная, чётковидная
2.	Кутикула верхнего и нижнего эпидермиса	ровная; морщинистая, в том числе продольно-морщинистая, поперечно-морщинистая, лучисто-морщинистая; штриховатая; гребневидная и др.
3.	Наличие устьиц, форма	круглая, овальная, размеры (где применимо), частота встречаемости на верхнем и нижнем эпидермисе
4.	Тип устьичного аппарата	- аномоцитный тип (беспорядочно-клеточный) – аномоцитный (или ранункулоидный) — устьица окружены неопределённым числом клеток, не отличающихся по форме и размерам от остальных клеток эпидермиса; - диацитный тип (двуклеточный) – устьица окружены двумя околоустьичными клетками, смежные стенки которых перпендикулярны устьичной щели; - парацитный тип (параллельноклеточный) – с каждой стороны устьица, вдоль его продольной оси расположены по одной или более околоустьичных клеток; - анизоцитный тип (неравноклеточный) – устьица окружены тремя околоустьичными клетками, из которых одна значительно меньше двух других; - тетрацитный тип – устьице окружено 4 симметрично расположенными околоустьичными клетками: две клетки параллельны устьичной щели, а две другие примыкают к полюсам замыкающих клеток; - гексацитный тип – устьице окружено 6 околоустьичными клетками: две пары расположены симметрично вдоль замыкающих клеток, а две клетки занимают полярные положения; - энциклоцитный тип – побочные клетки образуют узкое кольцо вокруг замыкающих клеток; - актиноцитный тип – характеризуется несколькими побочными клетками, радиально расходящимися от замыкающих клеток. Наличие водяных устьиц – отличаются крупным размером и расположены обычно на верхушке листа или зубчика, над гидатодой

5.	Погружённость устьиц в эпидермис	выступающие над эпидермисом, погружённые в эпидермис
6.	Наличие и строение волосков на верхнем и нижнем эпидермисе	простые и головчатые, одно- и многоклеточные, одно-, дву- и многорядные, пучковые, разветвлённые и неразветвлённые), размеры (где применимо), особенности мест присоединения (наличие розетки), утолщённость стенок (толстые, тонкие стенки), характер кутикулы (ровная, бородавчатая, штриховатая
7.	Эфирно-масличные желёзки на верхнем и нижнем эпидермисе	наличие, строение, размеры (где применимо)
8.	Секреторные каналы, млечники, вместилища (в паренхиме под эпидермисом)	наличие, строение, размеры (где применимо)
9.	Кристаллические включения	наличие, строение: одиночные кристаллы различной формы, друзы, рафиды, стиллоиды, цистолиты, кристаллический песок и др.), локализация (в паренхиме под эпидермисом, в паренхиме в виде кристаллоносной обкладки вокруг проводящих пучков и групп волокон, редко в клетках эпидермиса, размеры (где применимо)
10.	Включения запасных питательных веществ	при наличии: слизи, инулина и др. (в паренхиме под эпидермисом, реже в клетках эпидермиса)
11.	Структура мезофилла	форма клеток, однородность, расположение, наличие аэренхимы
12.	Строение проводящей системы листа	форма главной жилки; количество, форма, расположение проводящих пучков в жилке; структура проводящих пучков – расположение флоэмы и ксилемы, наличие механических тканей
13.	Наличие механической ткани	колленхима, склеренхимные волокна, каменистые клетки, лубяные волокна и др.
14.	Строение черешка	на поперечном срезе черешка листа указывают его форму в средней, базальной и апикальной части (округлая, треугольная, желобчатая, серповидная, слегка крыловидная, широко-крылатая), число и расположение проводящих пучков, наличие механической ткани (колленхимы, склеренхимы)

Таблица 2.1.8.17.-2 – *Диагностические признаки цветков*

№ п/п	Диагностические признаки	Характеристики
1.	Клетки верхнего и нижнего эпидермиса лепестков	см. Таблицу 2.1.8.17.-1
2.	Кутикула верхнего и нижнего эпидермиса	ровная, морщинистая, в том числе продольно-морщинистая, поперечно-морщинистая, лучисто-морщинистая; штриховатая, гребневидная и др., степень выраженности изменения ровности кутикулы
3.	Стенки клеток верхнего и	прямые, извилистые, волнистые,

	нижнего эпидермиса	зигзагообразные, зубчатые и др., степень извилистости; наличие утолщённости
4.	Устьица на верхнем и нижнем эпидермисе	форма, размеры (где применимо), тип устьичного аппарата, количество околоустьичных клеток
5.	Волоски на верхнем и нижнем эпидермисе	наличие, размеры (где применимо), особенности места присоединения
6.	Эфирно-масличные желёзки на верхнем и нижнем эпидермисе	наличие, строение, размеры (где применимо)
7.	Секреторные каналы, млечники, вместилища	наличие в паренхиме под эпидермисом
8.	Кристаллические включения	наличие, в паренхиме под эпидермисом, редко в клетках эпидермиса), размеры (где применимо)
9.	Включения запасных питательных веществ	при наличии: слизь, инулин и др. (в паренхиме под эпидермисом, редко в клетках эпидермиса)
10.	Мезофилл анализируемых элементов цветка	обычно однороден, проводящая система чаще представлена спиральными трахеидами, механическая ткань отсутствует (диагностическое значение может иметь строение механических элементов листочков обёртки)
	Пыльца	
14.	Форма пыльцы	округлая, овальная, округло-угловатая (округло-трёхгранная, округло-четырёхгранная, округло-пятигранная, округло-шестигранная, округло-многогранная, сочетание округло-угловатой формы), комбинация нескольких типов
15.	Характер поверхности пыльцы	гладкая, шиповатая, шероховатая
16.	Характер апертур (утончённых мест) экзины	бороздные пыльцевые зёрна: трёхбороздные, четырёхбороздные, пятибороздные, шестибороздные; поровые пыльцевые зерна: трёхпоровые, четырёхпоровые
17.	Пыльца	наличие, строение, размеры (где применимо)

Исследуют для трав следующие диагностические признаки:

1. Диагностические признаки листьев (см. Таблица 2.1.8.17.-1). Для цельной травы обычно бывает достаточно определить диагностические признаки листьев. Для измельчённой травы проводят анализ диагностических признаков всех морфологических частей травы.

2. Диагностические признаки цветков (см. Таблица 2.1.8.17.-2).

3. Редко определяют диагностические признаки плодов (см. Таблица 2.1.8.17.-4).

4. Диагностические признаки стебля.

Таблица 2.1.8.17.-3 – *Диагностические признаки стебля*

№ п/п	Диагностические признаки	Характеристики
1.	Клетки эпидермиса	форма: изодиаметрическая – округлая, квадратная, многоугольная; полигональная – прямоугольная, овальная, ромбовидная, веретеновидная, комбинированная и др.
2.	Кутикула	ровная, морщинистая, в том числе продольно-морщинистая, поперечно-морщинистая, лучисто-морщинистая; штриховатая,

		гребневидная и др., степень выраженности изменения ровности кутикулы
3.	Стенки клеток эпидермиса	прямые, извилистые, волнистые, зигзагообразные, зубчатые и др.; степень извилистости, утолщённость (наличие четковидной утолщённости)
4.	Устьица	наличие, форма: круглая, овальная, размеры (где применимо); тип устьичного аппарата (**см.** Таблица 2.1.8.17.-1); погружённость устьиц в эпидермис (выступающие над эпидермисом, погружённые в эпидермис)
5.	Волоски	наличие, тип: простые и головчатые, одно- и многоклеточные, одно-, дву- и многорядные, пучковые, разветвлённые и неразветвлённые, особенности места присоединения (наличие розетки), утолщённость стенок (толстые, тонкие стенки), характер кутикулы (ровная, бородавчатая, штриховатая
9.	Эфирно-масличные желёзки	наличие, строение, размеры (где применимо)
10.	Секреторные каналы, млечники, вместилища	наличие, строение, размеры (где применимо)
11.	Кристаллические включения	наличие, строение (см. Таблицу 2.1.8.17.-1)
12.	Включения запасных питательных веществ	при наличии: слизи, инулина и др. (в паренхиме под эпидермисом, редко в клетках эпидермиса)
13.	Аэренхима	наличие, строение, форма

ПЛОДЫ И СЕМЕНА

Цельное сырье. Готовят микропрепараты кожуры семени и околоплодника с поверхности или поперечные срезы.

Микропрепараты кожуры и околоплодника с поверхности. 2 – 3 семени или плода кипятят в пробирке в 5 % (*м/об*) растворе *натрия гидроксида Р* в течение 2 – 3 мин и тщательно промывают *водой Р*. Объект помещают на предметное стекло, препаровальными иглами отделяют кожуру семени или ткани околоплодника и рассматривают их в растворе *хлоралгидрата Р* или *глицерина Р*.

Срезы. Для приготовления срезов сухие плоды и семена предварительно размягчают, поместив их на сутки во влажную камеру. Влажной камерой служит эксикатор с *водой Р*, в которую добавляют несколько капель *хлороформа Р*. В зависимости от твердости объекта, размягчение можно проводить водяным паром в течение 15 - 30 мин или более.

Мелкие плоды и семена запаивают в парафиновый блок, например, размером 0,5 см х 0,5 см х 1,5 см. Для этого кончиком нагретой препаровальной иглы парафин расплавляют и в образовавшуюся ямку быстро погружают объект (поверхность объекта должна быть сухой). Срезы объекта делают вместе с парафином и готовят микропрепараты в растворе *хлоралгидрата Р* или *глицерина Р*.

Для определения крахмала, жирного и эфирного масел, слизи дополнительно проводят микрохимическое исследования измельченного в порошок сырья в соответствии с разделом *Микрохимическое исследование*. При необходимости измельченное в порошок растительное сырье (плоды, семена) обезжиривают и просветляют.

Таблица 2.1.8.17.-4 – *Диагностические признаки плодов*

№ п/п	Диагностические признаки	Характеристики
1.	Эпидермис	характер кутикулы (отложения на ней воска), форма клеток эпидермиса (гипантия, плода, семени); извилистость стенок клеток эпидермиса; характер утолщения стенок клеток эпидермиса
2.	Устьица	наличие в эпидермисе и их форма, размеры (где применимо); тип устьичного аппарата, количество околоустьичных клеток; погружённость устьиц в эпидермис; наличие чечевичек в эпидермисе
3.	Трихомы (волоски)	размеры (где применимо), особенности мест прикрепления
4.	Секреторные каналы, млечники, вместилища	строение, размеры (где применимо)
5.	Клетки-идиобластов	при наличии: клетки, содержащие слизи, кристаллы кальция оксалата и др., их размеры
6.	Паренхима мезокарпия	форма и размер (где применимо) клеток, однородность, плотность расположения
7.	Аэренхима	наличие, строение, размеры (где применимо)
8.	Проводящая система	расположение и строение проводящих пучков
9.	Запасные питательные вещества	крахмал, жирное масло и др.
10.	Механическая ткань	при наличии: каменистые клетки, склеренхимные волокна
11.	Диагностические признаки семян	см. Таблицу 2.1.8.17.-5

Таблица 2.1.8.17.-5 – *Диагностические признаки семян*

№ п/п	Диагностические признаки	Характеристики
1.	Кутикула	отложения воска
2.	Клетки эпидермиса	форма, извилистость и утолщённость стенок
3.	Устьица	при наличии: форма, размеры (где применимо)
4.	Волоски	наличие, особенности прикрепления к эпидермису, строение и размеры (где применимо)
5.	Семенная кожура	однослойная; двухслойная; многослойная – включает одновременно или в разных сочетаниях и в разной последовательности различные слои: механический (твёрдый) (состоит из одного или нескольких рядов толстостенных склеренхимных плотно сомкнутых изодиаметрических клеток или палисадных (типа волокон), вытянутых параллельно или перпендикулярно поверхности семени), пигментный (клетки этого слоя содержат пигмент или стенки клеток пропитываются пигментом), разбухающий или слизистый (состоит из одного или нескольких рядов паренхимных клеток, которые благодаря особенностям своего химического состава могут

		впитывать большое количество воды и сильно разбухать), паренхимный (состоит из паренхимных тонкостенных клеток, которые могут содержать запасные питательные вещества, при созревании запасные питательные вещества истощаются, клетки спадаются, формируя бесструктурный слой, состоящий из деформированных сжатых элементов, утративший свой клеточный характер) и др.
6.	Секреторные каналы, млечники, вместилища	наличие, строение, размеры (где применимо)
7.	Запасные питательные вещества	крахмал, жирное масло и др.
8.	Кристаллические включения	наличие, размеры (где применимо)
9.	Проводящая система	строение
10.	Механическая ткань	при наличии: каменистые клетки, волокна и т.д.
11.	Наличие аэренхимы	строение, размеры (где применимо)
12.	Зародыш	наличие семядолей, корешка, стебелька, почечки зародыша; по форме: прямой, дугообразный, кольцевидный, спиральный, подковообразный, наподобие плоской пружины и др.
13.	Эндосперм или перисперм	Эндосперм обычно состоит из плотно сложенных клеток без межклетников с оболочкой разной толщины, более-менее изодиаметрических многоугольной формы, содержащих запасные питательные вещества, кристаллы кальция оксалата, эфирное масло. Структура перисперма и эндосперма часто бывает похожа. Существуют семена, не содержащие эндосперм и перисперм, накапливающие запасные питательные вещества в семядолях зародыша.

КОРА

Цельное и измельчённое сырьё. Кусочки коры размером 2 – 3 см х 0,5 – 1 см кипятят в пробирке с *водой Р* в течение 5 мин, затем выравнивают их скальпелем так, чтобы они имели строго поперечное или продольное сечение. Делают срезы и готовят микропрепараты в *хлоралгидрата растворе Р* или *глицерина растворе Р*.

Для обнаружения лигнифицированных (одревесневших) элементов к срезу на предметном стекле прибавляют нескольких капель раствора *флороглюцина Р* и 1 каплю 25 % (*об/об*) раствора *серной кислоты Р*. Через 1 мин жидкость удаляют полоской фильтровальной бумаги, срез заключают в *хлоралгидрата раствор Р* или *глицерина Р* и закрывают покровным стеклом (рассматривают без подогревания); одревесневшие механические элементы окрашиваются в малиново-красный цвет. Кроме того, можно использовать раствор сафранина. Срезы помещают в раствор 10 г/л *сафранина* в *50 % (об/об) спирте Р* на 30 мин (в бюксе или на часовом стекле), промывают сначала *50 % спиртом Р*, затем подкисленным *спиртом Р (96 %)* (на 100 мл *спирта (96 % об/об) Р* прибавляют 2 капли *хлороводородной кислоты Р*) и помещают на предметное стекло в *глицерин раствор Р*; лигнифицированные (одревесневшие) оболочки окрашиваются в красный цвет.

Для обнаружения крахмала проводят соскоб с сухой коры и рассматривают его в *растворе Люголя Р*; крахмальные зерна окрашиваются в синий цвет. Перед использованием раствор разбавляют *водой Р* в соотношении (1:4 *об/об*). Раствор хранят в защищенном от света месте.

Для установления наличия дубильных веществ на внутреннюю поверхность сухой коры наносят 1 каплю 1 % (*м/об*) раствора *железа (III) аммония сульфата Р* или 3 % (*м/об*) раствора *железа (III) хлорида Р*; появляется черно-синее или черно-зеленое окрашивание.

Производные антрацена определяют путем нанесения на внутреннюю поверхность коры 1 – 2 капли раствора *натрия гидроксида Р*; появляется кроваво-красное окрашивание.

Таблица 2.1.8.17.-6 – *Диагностические признаки коры*

№ п/п	Диагностические признаки	Характеристики
1.	Клетки пробки	толщина, окраска (обычно клетки имеют прямоугольную сплющенную форму с прямыми стенками, расположены ровными рядами, возможны и другие варианты)
2.	Первичной и вторичной коры	соотношение толщины
3.	Сердцевинные лучи	ширина
4.	Секреторные каналы, млечники, вместилища	наличие, строение, размеры (где применимо)
5.	Включения	наличие, клетки с эфирным маслом, клетки с флобафенами и др.
6.	Кристаллические включения	одиночные кристаллы кальция оксалата в отдельных клетках паренхимы или в клетках паренхимы, окружающих лубяные волокна, образуя кристаллоносную обкладку, размеры (где применимо)
7.	Проводящая система	характер, строение
8.	Механическая ткань	наличие колленхимы; расположение, строение лубяных волокон и каменистых клеток (других элементов механической ткани); механические элементы могут располагаться одиночно и группами, рассеянно и поясами. Стенки лубяных волокон и каменистых клеток обычно сильно утолщены и лигнифицированы.

Микрохимическое исследование измельченного в порошок сырья проводят в соответствии с указаниями в разделе *Микрохимическое исследование лекарственного растительного сырья, измельченного в порошок*.

КОРНИ, КОРНЕВИЩА, КЛУБНИ, ЛУКОВИЦЫ, КЛУБНЕЛУКОВИЦЫ

Цельное сырье. Готовят поперечные и продольные срезы. Небольшие куски подземных органов помещают в холодную воду и выдерживают около суток, затем помещают в смесь *96 % спирта Р* и *глицерина Р* (1:1) на 3 сут. Размоченные объекты выравнивают скальпелем так, чтобы они имели строго поперечное или продольное сечение. Делают срезы и готовят микропрепараты в *хлоралгидрата растворе Р* или *глицерина Р* и рассматривают диагностические признаки сначала при малом, затем при большом увеличении.

Измельчённое сырьё. Кусочки подземных органов кипятят в течение 3 - 5 мин в 5 % (*м/об*) растворе *натрия гидроксида Р*, тщательно промывают *водой Р* и готовят микропрепараты, раздавливая кусочки в растворе *хлоралгидрата Р* или *глицерина Р*.

Таблица 2.1.8.17.-7 – Диагностические признаки подземных органов

№ п/п	Диагностические признаки	Характеристики
Корни первичного строения		
1.	Покровная ткань	эпиблема или ризодерма (стенки клеток обычно тонкие, иногда утолщены с внешней стороны, могут подвергаться одревеснению или опробковению)
2.	Первичная кора широкая	
3.	Эндодерма	у однодольных эндодерма имеет подковообразное утолщение стенок клеток – представлена одним рядом клеток с утолщёнными внутренними и радиальными стенками
4.	Проводящая система	закрытый сосудисто-волокнистый радиальный пучок в центре корня
Корни вторичного строения		
5.	Покровная ткань	перидерма (состоит из более или менее толстого слоя пробки, феллогена и феллодермы)
6.	Кора	состоит из клеток паренхимы, проводящих элементов луба (флоэмы), нередко присутствуют механические элементы: лубяные волокна, каменистые клетки
7.	Древесина	(беспучковое строение) – лучистое (часто) и нелучистое строение
Корневища однодольных растений пучкового строения		
8.	Покровная ткань	эпидермис (стенки клеток могут подвергаться одревеснению или опробковению, часто эпидермис разрушен, при этом наружные слои паренхимы коры опробковевшие)
9.	Кора, эндодерма	клетки с подковообразным утолщением стенок
10.	Закрытые сосудисто-волокнистые пучки	расположены беспорядочно в коре и центральном цилиндре (камбий отсутствует), коллатеральные, концентрические
Корневища двудольных растений пучкового строения		
11.	Покровная ткань	перидерма
12.	Открытые коллатеральные и биколлатеральные сосудисто-волокнистые пучки	расположены по кругу (имеется камбий)
13.	Центральную часть	сердцевина широкая, состоящая из паренхимных клеток
Корневища двудольных растений беспучкового строения		
14.	Покровная ткань	перидерма (состоит из более или менее толстого слоя пробки, феллогена и феллодермы)
15.	Кора	паренхимные клетки
16.	Камбий	
17.	Центральную часть	сердцевина, состоящая из паренхимных клеток,

		у некоторых видов она частично разрушена
Клубни и клубнелуковицы		
18.	Паренхима (преобладающая ткань)	с запасным питательным веществом, в которой расположены проводящие пучки
19.	Пробка	форма клеток, её толщина, окраска (обычно клетки имеют прямоугольную сплющенную форму с прямыми стенками, расположены ровными рядами, возможны и другие варианты), при первичном строении корня отмечают особенности строения эпидермы или ризодермы (наличие корневых волосков)
20.	Эндодерма	внутренний слой коры, представленный основной тканью, образующей влагалище вокруг участка, занятого проводящими тканями, и характеризующейся присутствием пояска Каспари на антиклинальных стенках клеток; позже клетки могут иметь вторичные оболочки (подковообразное утолщение)
21.	Камбий	может отсутствовать, быть плохо выраженным, выраженным участками и хорошо выраженным
22.	Лучистость строения древесины	указывают ширину сердцевинных лучей или отсутствие сердцевинных лучей
23.	Проводящая система	структура и тип проводящих пучков или беспучковое строение; тип утолщённости стенок сосудов и трахеид
Диагностические признаки, которые могут встречаться во всех подземных органах		
24.	Секреторные каналы, млечники, вместилища	строение, размеры (где применимо)
25.	Кристаллические включения	наличие, структура, размеры (где применимо), одиночные кристаллы часто встречаются в отдельных клетках паренхимы или в клетках паренхимы, окружающих лубяные волокна, образуя кристаллоносную обкладку
26.	Включения	клетки с эфирным маслом, клетки со слизью, клетки с жирным маслом и др.
27.	Запасные питательные вещества	инулин (форма), крахмал (размер, форма, структура крахмальных зёрен)
28.	Волоски и сосочковидные выросты	размеры (где применимо) (обычно встречаются на поверхности корней первичного строения и корневищ)
29.	Аэренхима	строение, размеры (где применимо)
30.	Механическая ткань	расположение, строение лубяных и древесинных волокон, каменистых клеток (размеры, где применимо) и других элементов механической ткани

Наличие лигнифицированных (одревесневших) элементов, крахмала, дубильных веществ, производных антрацена определяют в соответствии с указаниями в разделе *Кора*.

С соскобом сухих подземных органов или измельченным в порошок сырьем проводят микрохимические реакции для обнаружения слизи, жирного и эфирного масла, инулина в соответствии с указаниями в разделе *Микрохимическое исследование лекарственного растительного сырья, измельченного в порошок*.

ПОЧКИ

Цельное сырьё. Готовят микропрепараты с поверхности из цельных почек, а также поперечных и продольных срезов. Поперечные срезы следует делать в средней, т.е. медиальной части почки, определяя место среза по длине почки. При необходимости выполняют поперечный срез в базальной части почки и/или радиальное продольное сечение. Просветление микропрепарата можно проводить в соответствии с указаниями в разделе *Листья, травы, цветки*.

Таблица 2.1.8.17.-8 – Диагностические признаки почек

№ п/п	Диагностические признаки	Характеристики
1.	Эпидермис примордиев и кроющих чешуй	форма клеток, кутинизация
2.	Опушение	наличие и особенности трихом, топография локализации трихом (по жилкам, по краю, по всей поверхности)
3.	Мезофилл примордиев и кроющих чешуй	структура мезофилла, пигментация, наличие включений и др.
4.	Проводящие ткани примордиев и кроющих чешуй	особенности: наличие проводящих пучков, тип, степень армированности пучков
5.	Выделительная система примордиев и кроющих чешуй	наличие вместилищ, клеток идиобластов с включениями (друзы, монокристаллы и др.)
6.	Смолистость почек	наличие смолистых веществ
7.	Типы устьичных аппаратов	встречаемость на листовых поверхностях (примордии, чешуи)
8.	Погруженность устьиц в эпидермис	выступающие над поверхностью, погруженные в эпидермис

ЛЮМИНЕСЦЕНТНАЯ МИКРОСКОПИЯ

Метод люминесцентной микроскопии применяют (где применимо) для идентификации лекарственного растительного сырья. Преимуществом метода является возможность его применения для изучения сухого растительного материала, из которого готовят толстые срезы или микропрепараты порошка и наблюдают первичную (собственную) люминесценцию. Люминесцентную микроскопию выполняют с помощью люминесцентных микроскопов, снабженных специальными люминесцентными осветителями.

Приготовление микропрепаратов

Для приготовления микропрепаратов используют сухое или измельченной в порошок лекарственное растительное сырье. Предварительное размачивание сырья исключается, так как это приводит к вымыванию веществ из клеток; допускается лишь непродолжительное размягчение во влажной камере.

Листья. Готовят обычно микропрепараты из порошка листьев, которые рассматривают без включающей жидкости. Наиболее яркая люминесценция характерна для лигнифицированных (одревесневших) элементов (сосуды жилки, механические волокна), а также кутикулы и кутинизированных оболочек различных эпидермальных образований (волоски, железки и др.). В эпидермальных клетках часто содержатся флавоноиды, обусловливающие коричневую, желтую или зеленовато-желтую люминесценцию. Клетки мезофилла в зависимости от их химического состава содержат различные включения – желтые, голубые, зеленовато-желтые, коричневые. Хлорофилл и кристаллы кальция оксалата в высушенном растительном материале не люминесцирует. При необходимости приготовления среза лист предварительно размягчают во влажной

камере и с помощью бритвы делают толстый срез (2 – 3 мм). Более тонкие срезы помещают во включающую жидкость и накрывают покровным стеклом.

В качестве включающей жидкости используют *воду Р*, *глицерин Р*, раствор 50 г/л *поливинилового спирта Р*, нефлуоресцирующее *вазелиновое масло Р*. Включающая жидкость не должна растворять содержащиеся в микропрепарате люминесцирующие вещества.

Травы. При анализе трав готовят микропрепараты листьев. При необходимости приготовления микропрепарата стебля его размягчают во влажной камере и готовят срезы. Толстые срезы (2 – 3 мм) закрепляют на предметном стекле и рассматривают без включающей жидкости; тонкие срезы помещают в подходящую жидкость и накрывают покровным стеклом. Наиболее яркую люминесценцию имеют лигнифицированные (одревесневшие) элементы проводящих пучков (сосуды и механические волокна), склеренхимные клетки, встречающиеся в коре и сердцевине стебля. В клетках эпидермиса и коры часто встречаются флавоноиды; у некоторых видов сырья в клетках обкладки вокруг проводящих пучков содержатся алкалоиды, обладающие в зависимости от состава разнообразным свечением: синим, голубым, зеленым, зеленовато-желтым, золотисто-желтым, оранжево-красным.

Цветки. Чаще готовят микропрепараты из порошка цветков или отдельных частей цветка (соцветия), которые рассматривают обычно без включающей жидкости. В цветках часто содержатся флавоноиды, каротиноиды и другие вещества, обладающие флюоресценцией. Отчетливо видны пыльцевые зерна, имеющие желтое, зеленовато-желтое или голубоватое свечение.

Плоды. Готовят обычно поперечные срезы плода после предварительного размягчения во влажной камере и рассматривают во включающей жидкости или без нее в зависимости от толщины среза. Для плодов характерна люминесценция тканей околоплодника (экзокарпия, механических клеток мезокарпия, проводящих пучков). Отчетливо видны секреторные каналы: ярко светится их содержимое; клетки выстилающего слоя обычно имеют желтовато-коричневую люминесценцию. В содержимом каналов нередко видны ярко люминесцирующие кристаллические включения, чаще всего желтого или желто-зеленого цвета.

Семена. Готовят обычно поперечные срезы семени после предварительного размягчения во влажной камере и рассматривают их во включающей жидкости или без нее в зависимости от толщины среза. Обращают внимание на характер люминесценции семенной кожуры, в которой отчетливо выделяются склеренхимные слои. Клетки эпидермиса, содержащие слизь, обычно имеют сине-голубое свечение. Эндосперм и ткани зародыша, богатые жирным маслом, характеризуются голубой люминесценцией.

Кора. Кору предварительно размягчают во влажной камере, готовят толстые поперечные срезы (до 3 – 5 мм), которые закрепляют на предметном стекле и рассматривают без включающей жидкости; тонкие срезы заключают в жидкость. Для некоторых видов сырья характерна люминесценция пробкового слоя коры: оболочки клеток пробки имеют интенсивно-синее свечение, их содержимое – темно-красное (антоцианы). Яркое и разнообразное свечение имеют механические элементы (лубяные волокна и каменистые клетки): голубое, зеленовато-голубое, желтовато-зеленое. Люминесценция паренхимы коры зависит от химического состава. Антрацен-производные обусловливают яркое оранжевое или красновато-оранжевое свечение. Дубильные вещества обладают свойством "тушить" люминесценцию, поэтому ткани, содержащие дубильные вещества, темно-коричневого, почти черного, цвета.

Микропрепарат, приготовленный из порошка коры или соскоба, рассматривают без включающей жидкости. В нем наиболее ярко видны механические элементы.

Корни, корневища, луковицы, клубни, клубнелуковицы. Готовят поперечные срезы, распилы, микропрепараты порошка или соскоба. Срезы готовят из материала, предварительно размягченного во влажной камере, распилы (из толстых корней и

корневищ) из сухого материала с помощью тонкой пилы или фрезы. С помощью бритвы с поверхности распила снимают тонкий слой для удаления слоя клеток, покрытых пылью. Толстые срезы и распилы (до 3 – 5 мм) закрепляют на предметном стекле и рассматривают без включающей жидкости. Слой пробки у подземных органов обычно тусклый, почти черный. Ярко люминесцируют древесина (у корней и корневищ) и проводящие пучки, а также склеренхимные элементы. Их свечение весьма разнообразно: от коричневато-зеленого, желто-зеленого до светло-голубого и интенсивно-синего в зависимости от вида сырья. Еще более разнообразна люминесценция паренхимных тканей и различных секреторных образований (вместилища, каналы, ходы, млечники, различные идиобласты), что определяется их химическим составом. В секреторных образованиях встречаются кристаллические включения кумаринов, алкалоидов, флавоноидов, обладающих яркой люминесценцией.

В микропрепаратах порошка видны отдельные сосуды, группы механических волокон, каменистые клетки, отдельные секреторные образования и их обрывки, ярко люминесцирующие клетки паренхимы, содержащие те или иные вещества.

Почки. Готовят микропрепараты из цельных почек, рассматривая их с поверхности на поперечных и продольных срезах. Поперечные срезы следует делать в средней, т.е. медиальной части почки, определяя место среза по длине почки. При необходимости выполняют поперечный срез в базальной части почки и/или радиальное продольное сечение.

Качественные микрохимические и гистохимические реакции проводят на поперечных и продольных срезах, микропрепаратах поверхности кроющих чешуй с целью обнаружения кутикулы, эфирного масла, слизи, смолистых веществ, лигнифицированных (одревесневших) оболочек клеток.