

4 讨论

4.1 测定方法的选择: 硫在药材中主要以游离硫和结合硫的形式存在, 游离硫多以硫酸氢盐 (HSO_3^{2-})、 SO_2 分子 (或活性) 和亚硫酸盐 (SO_3^-) 存在, 它们之间存在动态平衡, 随环境酸碱度而转化。硫酸氢盐是漂白作用的主要成分, SO_2 分子是抗氧化作用的主要形式, 而亚硫酸盐是唯一能与氧气直接反应的形式。在食品行业, 检测二氧化硫的法定方法和研究报道很多, 特别是近年来随着分析技术的提高, 新的方法也不断被采用。常见的二氧化硫的检测方法有: 盐酸副玫瑰苯胺法和酸蒸馏法碘液直接滴定法^[2]、MW 法^[3]、流动注射分析法^[3~5]、离子排斥液相色谱法^[3,6~8]及各种液相色谱法和离子色谱法, 以及化学发光法、电化学法、脉冲极谱法、酶法等。通过分析比较各种方法, 认为改良 MW 法对仪器装置要求简单, 一般检验机构均能达到, 且能测定总二氧化硫量, 因而比较适合用于对药材中 SO_2 残留量的检测, 其他如目前报道中较为常见的流动注射法和液相色谱法或离子色谱法虽能比较全面真实反映残留二氧化硫的情况, 但由于对设备要求高, 难以普及。

4.2 测定条件的选择: 由于本研究的主要目的在于了解目前市售药材中的 SO_2 量情况, 且 MW 法也是比较成熟的方法, 因而未进行全面的方法学验证, 仅对装置进行回收率试验以及空白试验。经空白试验 (蒸馏水), 结果用 0.01 mol/L 氢氧化钠液滴定, 消耗在 0.05 mL 以内。采用亚硫酸钠 (AR, 质量分数大于 97%) 作为对照进行回收率试验, 其回收率为 99%, 表明装置和试液均能满足测定总硫量的要求。为方便测定及减少氮气的消耗, 实验过程中, 采用三

套装置连接后进行, 但必需注意因压力差异所造成的倒流等情况。

5 结论

从调查的情况及二氧化硫检测的结果来看, 药材中熏制硫黄的现象确实比较普遍, 因此, 有关部门应将加强对药材中熏制硫黄的控制作为“食品药品放心工程”的一个重要内容, 在更为全面的调查研究 (包括硫黄熏制的必要性, 替代硫黄熏制的方法, 控制硫黄残留的措施与限度指标, 二氧化硫的危害等) 基础上, 将 MW 法作为法定测定药材中 SO_2 的标准方法, 尽快制订出适合我国实际的控制措施, 防止因使用硫黄熏制的药材而造成的人体伤害事件的发生, 确保用药安全。

References:

- [1] Wang Z J, Guan X Y, Wang J, et al. Determination of sulfur dioxide in Chinese herbal medicines by iodine titration method [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31(2): 97-99.
- [2] *Methods of Food Hygienic Analysis—Physical and Chemical Section* (I) [S]. 2004.
- [3] AOAC International. *Official Methods of Analysis of AOAC* [M]. 16th ed. Arlington: AOAC International, 1995.
- [4] Sullivan J J, Hollingworth T A, Wekell M M, et al. Determination of free (pH 2.2) sulfite in wines by flow injection analysis; collaborative study [J]. *Assoc Anal Chem*, 1990, 73(2): 223-226.
- [5] Sullivan J J, Hollingworth T A, Wekell M M, et al. Determination of sulfite in food by flow injection analysis [J]. *Assoc Anal Chem*, 1986, 69(3): 542-546.
- [6] Kim Y K, Koh E, Park S Y, et al. Determination of sulfite in Oriental herbal medicines [J]. *J AOAC Int*, 2000, 83(5): 1149-1154.
- [7] Kim H J. Comparison of the ion exclusion chromatographic method with the Monier-Williams method for determination of total sulfite in foods [J]. *J Assoc Anal Chem*, 1989, 72(2): 266-272.
- [8] Lawrence J F, Chadha R K, Menard C. Comparison of three liquid chromatographic methods with FDA optimized Monier-Williams method for determination of total sulfite in foods [J]. *J Assoc Anal Chem*, 1990, 73(1): 77-79.

海南山蛭对温度、湿度和光强度的反应

谭恩光

(中山大学中山医学院, 广东 广州 510089)

有关山蛭对温度、湿度、光强度适应的研究较少。Stammers^[1]认为山蛭吸附到 37℃ 物体。海南山蛭喜欢爬向 30~35℃, 栖息于 15.1%~25.73% 含水量的土壤^[2]。

本文研究海南山蛭对温度、湿度、光强度 3 个单因子及 3 个因子综合的反应。山蛭是陆生吸血蛭类, 唾液腺内含有抗血液凝固的山蛭素, 山蛭作为中药材也有活血化瘀作用^[3]。本研究为山蛭防治提

收稿日期: 2004-11-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (3880086, 39160017); 广东省医学基金资助 (1996); 广东省中医药基金资助 (200011)

作者简介: 谭恩光, 男, 广东阳江人, 教授, 研究方向为蛭类及在医学上应用。 E-mail: Tananguang@21cn.com

供科学依据,为山蛭人工饲养繁殖利用提供基础资料。

1 材料与与方法

1.1 山蛭:海南山蛭 *Haemadipsa hainana* Song 来自海南岛五指山腹地橡胶农场。

1.2 海南山蛭对温度、湿度、光强度单因子和 3 因子综合作用的反应试验

1.2.1 装置:在高 50 cm,直径 23 cm 的长圆形标本缸内,底下放入用以调节湿度的硅胶,标本缸内壁挂上一个干湿球温度计。大标本缸内再放入高 22 cm、直径 13 cm 的小标本缸,作为装试验山蛭用,其口用三层纱布紧绑,防止山蛭外爬,纱布中间留一个小孔。大标本缸口用一块玻璃(大小与玻璃缸口一致)盖住,其与标本缸接触处涂上凡士林达到密封。玻璃盖中间钻一小孔,供一胶管穿入通过小标本瓶的沙布中间孔到达小标本瓶内。

1.2.2 方法:试验在装有空调机的室内进行,可以调节不同的温度,光强度用黑布遮盖试验装置不同面积调节。再用光照度计测量。用不同量的硅胶放入大标本瓶底下,来调节所需的湿度。

试验前把温度、光、湿度大体调节好,然后把 30 条活力正常的山蛭放入小标本瓶内,用沙布盖好绑紧,纱布中间插入一条胶管,通过大标本瓶玻璃盖中间孔伸出外面。进一步调节好所需的试验温度、光、湿度,定为 1 h,然后再通过胶管吹入暖湿气流,观察记录山蛭活动数和活动情况,作为山蛭对该温度、光、湿度单个和 3 因子综合的反应数据。

1.3 设定 25 ℃、0.79 lx,不同湿度 RH 98%、88%、80%、73%、66%、45%、40%对海南山蛭活动的影响,方法同 1.2.2。

1.4 设定 25 ℃,RH 98%条件下,不同光强度对海南山蛭活动的影响,方法同 1.2.2。

1.5 不同的温度、湿度、光强度的结合对海南山蛭活动的影响,方法同 1.2.2。

2 结果

2.1 在 25 ℃,0.79 lx 光强条件下,山蛭对不同湿度的反应:实验表明在 25 ℃,0.79 lx 条件下,相对湿度 88%~98%有 80%以上山蛭对人吹出暖湿气流有反应。相对湿度 73%~80%有 50%山蛭对人吹出的暖湿气流有反应。相对湿度 66%条件下有 37.5%山蛭对人吹出的暖湿气流有反应。相对湿度 40%以下无一条山蛭对吹出的暖湿气流有反应。结果表明,在上述条件下山蛭活动最适宜湿度为 88%以上,随湿度下降,活动山蛭数量下降,湿度 40%以

下山蛭不活动。

2.2 在 25 ℃,相对湿度 98%条件下,山蛭对不同光强度的反应:在 0.48 lx 光强度下有 93.5%山蛭对人吹出的暖气湿气流有反应。14 lx 光强度下有 81.25%山蛭对人吹出的暖湿气流有反应。31 lx 光强度下有 37.5%山蛭对人吹出的暖湿气流有反应。64 lx 光强度条件下有 31.5%山蛭对人吹出的暖湿气流有反应。结果表明山蛭在相当暗的条件下最活跃,在茂密的热带雨林地面是非常阴暗潮湿的,山蛭密度最大,在未成林的橡胶树底下地面无山蛭。在橡胶树长大,树冠茂密,地面荫蔽潮湿才有山蛭分布,但在中午太阳光强度大,山蛭也不活动的。在早晨山蛭最活跃。上述表明山蛭夜间和早晨最活跃。

2.3 温度、湿度、光强度 3 因子综合作用:结果见表 1。通过温、湿、光 3 因子不同组合,作用于海南山蛭。山蛭的反应数量,通过一次多元回归,二次多元回归,共拾多条回归方程及其分析,最后确定二条方程,计算出其理论反应蛭数。

$$Y_1 = -86.577 + 1.536 X_1 + 1.429 X_2 - 0.0648 X_3, F=35.405, P=0.002, R^2=0.888$$

$$Y_2 = -52.098 + 0.172 X_1 + 0.956 X_2 - 0.118 X_3 + 0.0196 X_1 \cdot X_2, F=27.922, P=0.000, R^2=0.885.$$

X_1 代表温度, X_2 代表湿度, X_3 代表光强

表 1 山蛭对温、湿、光 3 因子不同组合的反应 实测值和理论值

Table 1 Detection and theory value of *H. ainana* to various combination of temperature, humidity, and light

组合 编号	温度/℃	湿度/%	光强度 /lx	实际反 应蛭/%	理论反应 蛭数 Y_1	理论反应 蛭数 Y_2
1	12	50	37	0	0.92	5
2	15	53	42	6.25	9.49	11.82
3	16	68	50	25	31.95	31.14
4	16	50	70	12.5	4.93	5.91
5	17	40	18	6.25		0.3
6	17	81	23	68.5	53.81	52.61
7	18	70	42	25	38.4	37.72
8	18	87	46.5	56	62.4	59.45
9	19	58	47	37.5	22.46	22.73
10	19	88	9.5	68.5	67.77	67.03
11	20	60	46	31.25	26.92	26.85
12	21	80	33	50	57.88	57.11
13	22	53	15.5	12.5	21.96	23.44
14	24	98	0.48	93.75	90.32	91.88
15	25	88	0.7	80	77.55	79.48

Y_1 与 Y_2 方程为什么存在差异,从山蛭的生物学特性来说,笔者发现,同一条件下的试验,在早晨和中午做的结果存在差异,一般山蛭是早晨较活跃和觅食时间,中午随温度升高,太阳光较强而不活动,潜伏在落叶底下,因此,存在早晨山蛭对温度、湿

度及光强度单因子或综合作用刺激的敏感性较中午强,同样这种敏感性差异也表现在春夏季和秋冬季节的差异。

两条方程共同表明:1)在室内试验条件下,随温度和湿度升高,反应的山蛭数量增多,表明山蛭喜欢高温高湿环境条件。2)随着光强度增加反应山蛭数减少,表明山蛭喜暗,怕光环境条件,上述结果与山蛭生物学特性一致。两条方程也有不同之处; Y_1 方程表明温度、湿度作用差异不大。 Y_2 方程表明湿度作用最大,温度次之而温度湿度有交互作用。

从表1看出,最好的组合为:24℃、RH 98%、0.48 lx;25℃、RH 88%、0.7 lx;最差的组合为:12℃、RH 50%、37 lx;中等组合为:19℃、RH 88%、9.5 lx;17℃、RH 81%、23 lx。

3 讨论

温度、湿度、光强度是重要的气候因子。对动物生长、发育、繁殖行为有重要作用。就单因子而言,极端温度、湿度、光强度,对山蛭都是有害的。如8~9℃海南山蛭不活动,9℃停止觅食行为^[4]。中午直射太阳光强烈刺激下,海南山蛭身体高度缩短,两吸盘不能吸附物体,身体卷流成团,脱水、分泌黏液,0.5 h后会死亡^[1]。光润金线蛭当水温14~15℃时才开始活动,16~18℃较活跃,20~25℃最活跃^[5]。在气温7℃,水温6.5℃水蛭不活动。

关于山蛭对各种物理、化学和生物(包括宿主)刺激反应,有不同表现形式,其中动物(包括人)呼(吹)出的暖湿气流通过山蛭时,山蛭对此暖湿气流最敏感,反应较迅速,可作为山蛭对环境因素刺激反应的最好指标^[1,4]。

(上接第1380页)

益精髓;山药滋脾补肾;山茱萸滋阴养肝,共成肝、脾、肾三阴并补之功;茯苓、泽泻健脾利水消肿;丹皮清虚热,活血化瘀;现代药理学研究证明,六味地黄制剂可以降低血糖,减轻肾脏肥大和高滤过,改善肾功能,抗过氧化损伤来防治DN^[2~4]。

本实验结果显示:注射STZ后动物皆出现糖尿病“三多一少”的典型症状。模型组动物体重明显减轻,血糖升高,尿蛋白排泄率增加,肌酐清除率、BUN明显升高,经六味地黄制剂治疗后,与模型组相比血糖、肾脏功能有明显的改善,提示六味地黄制剂可以降低血糖,调整糖代谢紊乱,改善肾脏功能,对糖尿病肾病有一定的防治作用。但其治疗DN

本研究在25℃、0.79 lx条件下山蛭对不同湿度的反应,在25℃、RH 98%条件下山蛭对不同光强度的反应。在一定湿度和光强度下山蛭对温度的不同反应已有报道,即山蛭爬向30~35℃的热试管^[2],30~35℃热试管的辐射热到达一定距离的山蛭时,山蛭感受到25~30℃,与本次实验结果也基本一致。自然状态是温度、湿度、光强度共同的综合作用。因此,山蛭对3个因子综合作用,更接近实际,有重要应用价值,为田间棚架内饲养山蛭提供控制温度、湿度、光强度提供依据。

本室内温、光、湿3因素对山蛭作用研究结果,与野外自然状态,山蛭种群数量动态与气候因素关系研究表明^[6],影响海南山蛭种群数量主要气候因素是月雨量、月雨日数和风速,这些因素的本质是湿度(水分)问题,与本实验的3因素最优组合24℃、RH 98%、0.48 lx一致。湿度是重要因素。

References:

- [1] Stammers F M G. Observation on the behaviour of land leeches (*Haemadipsa*) [J]. *Parasitology*, 1950, 40: 237-246.
- [2] Tan E G. The adaptation of leech (*Haemadipsa hainana*) to temperature and soil humidity [J]. *Acta Ecol Sin* (生态学报), 2001, 21(3): 458-461.
- [3] Tan E G, Liang Y J. Expression of haemadin HS gene in methylophilic yeast *Pichia Pastoris* [J]. *Acad J Sun Yat-sen Univ Med Sci* (中山医科大学学报), 2002, 23(1): 21-23.
- [4] Tan E G, Chen J, Huang L Y. The behavior of *Haemadipsa hainana* and its ecological significance [J]. *Nat Sci J Hainan Univ* (海南大学学报:自然科学版), 1994, 12(1): 25-32.
- [5] Tan E G, Pan Z G, Huang L Y. Relationship between population dynamic of freshwater leech *Whitmania laevis* and chemical factors of water [J]. *J Appl Ecol* (应用生态学报), 2002, 13(5): 593-595.
- [6] Tan E G, Liang Q J. Studies on the relationship between the population dynamic of *Haemadipsa hainana* and climatic factors [J]. *Acta Eco Sin* (生态学报), 2000, 20(4): 611-614.

的机制及改善肾脏病变的作用有待于进一步的研究。

References:

- [1] Liu Z H, Li L S. Inflammatory mechanism of diabetic nephropathy [J]. *Chin J Nephrol* (中华肾脏病杂志), 1999, 15(2): 120-123.
- [2] Qiu Xia. Clinical application and analysis of Liuwei Rehmannia Pill [J]. *Mod Med Health* (现代医药卫生), 2002, 18(9): 797.
- [3] Xi Y P. 48 Examples of Liuwei Rehmannia Pill with plus treatments I on diabetic nephropathy [J]. *Clin J Anhui Tradit Chin Med* (安徽中临床杂志), 2002, 14(11): 5.
- [4] Lai Y Z, Huang Z W. New development of modern study on Liuwei Rehmannia Pill (Decoction) [J]. *Inf Tradit Chin Med* (中医药信息), 1999, 1: 13-15.