

哺乳动物消化道内食物通过速率 的测定方法^{*}

裴艳新 王德华^{**}

(中国科学院动物研究所农业虫鼠害综合治理研究国家重点实验室 北京 100080)

摘要 通过速率是消化道功能的一个重要量度,通常采用平均滞留时间来描述食物的通过速率。测定平均滞留时间的方法很多,实验条件不同,所采用的测定及计算方法也不同。本文对主要测定方法进行了介绍。

关键词 通过速率;平均滞留时间;哺乳动物;消化道

中图分类号 Q48 **文献标识码** :A **文章编号** 10250-3263(2000)06-48-05

^{*} 国家自然科学基金资助项目(No. 39770122 和 39970128);

^{**} 通讯作者;

第一作者介绍:裴艳新,女,29岁,硕士,研究方向:动物生理生态学;

收稿日期:1999-01-12,修回日期:2000-04-05

The Measuremental Methods of Passage Rate of Digesta through the Gut in Mammals

PEI Yan-Xin WANG De-Hua

(Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences Beijing 100080, China)

Abstract The rate of passage of digesta through the digestive tract, which is best described by the mean retention time, is an important measure of gut function. Many methods for the measurement of mean retention time are used. Different methods should be used under different experimental conditions. The main methods were reviewed in this paper.

Key words Passage rate; Mean retention time; Mammal; Digestive tract

食物在消化道内的通过速率直接决定着动物能够从食物中获得多少营养物质,随着食物的通过速率加快,食物滞留在消化道内的时间缩短,消化率降低,导致了动物在单位时间内获得的营养物质减少。通过速率 (passage rate) 是指食物的各种组分在消化道中经混合、消化、发酵和吸收等过程后滞留在消化道内时间长度的一个量度。研究通过速率的最好量度是部分流通率 (fractional flow rate), 即整个消化道部分内容物的流通率或者在单位时间内流出消化道某一器官的部分内容物的流通率。应用这一概念的前提条件是流通速率和消化道容量都是常量。通过速率是评价动物营养物质需求、能量代谢及估计主动取食量的基础。因此,通过速率的确定具有重要的理论和实践意义。

由于通过速率很难直接测定,故常借助于标记物,用平均滞留时间 (mean retention time, MRT) 来描述通过速率。通常的标记物有液相标记物和颗粒标记物两种。通过将标记物与食物混合饲喂动物,收集粪便,从而可测定其粪便中的标记物含量,以确定平均滞留时间。常用的液相标记物有聚乙二醇 (PEG)^[1], 钴-乙二胺四乙酸 (Co-EDTA)^[2]; 常用的颗粒标记物元素有 Eu^[1], Tm^[1], Yb^[1], Dy^[1], Ru^[2] 及聚苯乙烯颗粒^[3]、染色到细胞壁上的铬颗粒 (Cr-CWC)^[15] 等。近年来文献中最常用的液相标记物为 Co-EDTA, 颗粒标记物为 Cr-CWC。

测定通过速率的方法很多,本文对其主要方法做一简述。

通过速率的测定方法常用三个字母编码来表示。第一个字母代表摄入标记物的方法, P: 从口摄入 (pulse dose by mouth); F: 用瘘管注入消化道 (pulse dose by fistula into the gut); R: 从口反复或持续摄入 (repeated or continuous dose by mouth)。第二个字母代表实验材料

的收集方法, T: 收集所有含有标记物的粪便 (total collection of faeces); F: 收集通过瘘管的全部消化道内容物 (total collection of digesta through a fistula); S: 收集含有标记物的粪便样品 (collection of samples); X: 在体外测定消化道内的标记物 (marker in the gut measured by external means); K: 处死动物并收集所有消化道内容物 (killing the animal and collecting all digesta); L: 非特定的方法 (non-specific, at liberty to use any of several methods)。第三个字母代表实验数据的数学处理方法, D: 平均滞留时间的直接估计 (direct estimates of mean retention time); C: 分室分析 (compartmental analysis); E: 利用方程计算 (solution of equations); A: 利用其它算法 (use of other algorithms); O: 滞留时间其它的测定方法 (other measures of retention time)。该分类是根据 Faichney^[4] 的分类确定的。

1 通过总消化道速率的估计

主要包括摄入标记物,收集所有含标记物的粪便,直接估算平均滞留时间 (PTD); 摄入标记物,收集含有标记物的粪便样品,直接估算平均滞留时间 (PSD) 和重复摄入标记物,收集全部含标记物的粪便,直接估算平均滞留时间 (RTD) 等方法。

1.1 PTD 法 把少量标记物和食物混在一起饲喂动物,使动物尽可能在最短的时间内把标记物吃进去,然后收集所有的粪便。可设一定的时间间隔进行粪便收集。时间间隔可视动物种类和预备实验而定,如第 1 天每小时收集一次,第 2 天每 2 小时收集一次,第 3、4 天每 4 小时收集一次,第 5、6、7 天每 8 小时收集一次,直到收集的粪便中不再有标记物。粪便中标记物的浓度在开始阶段迅速增加,然后慢慢减少,因此标记物的累积排泄曲线是 S 型的。有时如不便于记录每次排便

的时间及分别分析每次所排的粪便,可在一定的时间限度内收集、混合、分析所有的粪便,每次以收集粪便(样品)时间间隔的中点作为排便时间。

Blaxter 等⁵提出用如下公式计算平均滞留时间:

$$MRT = \frac{\sum_{i=1}^n m_i t_i}{\sum_{i=1}^n m_i} \quad (1)$$

其中 m_i 是动物摄入标记物之后在 t_i 时刻第 i 次排便时所排出的标记物数量, n 为排便的总次数。在排出所有标记物之前不得中止实验,采用该方法。

Coombe 和 Kay⁶试图排除在计算平均滞留时间过程中由于排便时偶然因素引起的差异,提出用下式计算平均滞留时间:

$$MRT = \frac{\sum_{i=1}^n m_i f_i}{\sum_{i=1}^n m_i} \quad (2)$$

其中 m_i 的含义同前所述, f_i 表示从开始摄入到 t_i 时刻粪便中的干物质总量除以干物质的平均排泄率。如果排泄率近于常数,这两个方程的结果应该相等。如果排泄率波动很大,结果差异亦很大。

许多学者把排出 $P\%$ 的标记物所需的时间记为 t_p , 其中 P 的范围从 $0 \sim 100$ 。有些量度具有特定的意义,如标记物在粪便中第一次出现的时间是 t_0 , 通常称之为流通时间(transit time, TT)。精确测定 t_0 很困难,尤其是比重很小的液相标记物,经常很快地穿过消化道。因此, Balch⁷ 推荐使用 t_5 作为流通时间, t_5 是指排出 5% 的标记物所需时间,但它高估了穿过管状消化道部分所需时间。排出所有标记物所需时间 t_{100} , 则更不能象测定 t_0 那样精确测定,因为少量标记物滞留的时间可能很长,所以 Hinton⁸ 等提出用排出 80% 的标记物所需时间作为消化道内容物的总滞留时间。

Brandt 和 Thacker⁹ 提出用下式计算总平均滞留时间:

$$MRT = 1/k + TT \quad (3)$$

其中 TT 为标记物在粪便中第一次出现的时间。该方程只能计算总平均滞留时间。而 k 值的计算则按下列方程求出:

$$Y = Y_0 E^{-kt} \quad (4)$$

其中 Y 为粪便中标记物的浓度, Y_0 为标记物的初始浓度, k 为常量, t 为摄入标记物的时间间隔。该方程要求粪便中标记物浓度达到最大以后,实验数据能很好地符合方程(4)对数形式的线性方程,即消化道应处于稳定状态,排便应非常有规律。如果实验数据较大地偏离方程(4)则不能如此计算总平均滞留时间。

1.2 PSD 法 只收集粪便样品并测定标记物在其中的浓度,其它实验设计与 PTD 方法中的设计相同。这

种方法不需要收集每次所排的粪便和所有粪便。

Thielemans 等(转引自 Warner)¹⁰ 提出了一种根据浓度计算 MRT 的方法:

$$MRT = \frac{\sum_{i=1}^n t_i c_i \Delta t_i}{\sum_{i=1}^n c_i \Delta t_i} \quad (5)$$

其中 c_i 是第 i 次样品中标记物浓度,该样品是在 t_i 时刻,时间间隔 Δt_i 时收集的。该方程要求消化道应处于近似稳定状态,即标记物的输入量与输出量相等,并且排便的时间间隔应小于平均滞留时间,如果较大地偏离这些条件,平均滞留时间的估计就会出现误差。

1.3 RTD 法 在多次取食循环中重复摄入标记物,测定一次粪便或多次粪便中的标记物数量。某些动物,尤其是人,体内平均滞留时间的差异是非常大的,用 PTD 和 PSD 方法反复估计滞留时间比较费时。Cummings 等¹¹ 提出了如何在较短的时间内反复估计滞留时间,选择一种已知恢复率为 100% 的标记物,每天在固定的时间,以固定的剂量摄入多天(在某些实验中摄入 40 天以上),收集整个实验过程中排出的所有粪便,可以随时计算消化道内标记物的数量,一段时间以后对标记物的数量进行平均。所用公式为:

$$MRT = P/M \quad (6)$$

计算连续多天的平均滞留时间,其中 M 是每小时摄入标记物的平均数。 P 是计算当天标记物的平均数量:

$$P = \frac{\sum_{i=1}^n x_i t_i}{\sum_{i=1}^n t_i} \quad (7)$$

x_i 是 t_i 时刻消化道中出现的标记物数量, n 是当天有不同的 x_i 的阶段数, Cummings 和 Wiggins¹² 还提出了根据一次排便的分析数据估计平均滞留时间的方法,使得测定平均滞留时间的样品数目最小。连续 3 天每天给动物饲喂 1 次标记物,每天使用的标记物不同但可进行比较,然后在第 4 天收集第 1 次排出的粪便(如果滞留时间比正常情况长,那么排便时间就会后推),则:

$$MRT = (x_1 s_1 + x_2 s_2) / (s_1 + s_2) \quad (8)$$

其中 x_1, x_2 是液相标记物和颗粒标记物从摄入到排出在粪便中的数量达到最大的时间, s_1, s_2 是粪便中两种标记物的数量。

2 消化道各器官通过速率的估计

主要包括摄入标记物,体外定位,直接计算平均滞留时间(PXD);摄入标记物,从内容物取样(PFL)或注入标记物,从粪便取样(FTL);排泄曲线的分室分析(PTC和PSC);摄入标记物,处死动物,直接计算平均

滞留时间(PKD)和重复摄入标记物,处死动物,直接计算平均滞留时间(RKD)等方法。

2.1 PXD法 除了一小部分中等大小分散的颗粒能计数以外,通常定量测定标记物较困难,因为不能确定消化道中所有标记物的准确位置,所以应该选择能从体外探测并能定位的标记物,用来测定从开始摄入到排出所有标记物的一系列时间段内消化道每个器官末端(包括粪便中)标记物的数量,就可以计算出在每一时间段内通过每一器官标记物的数量,也可以计算出从口到每一器官末端的平均滞留时间,这是PKD方法的一种变型。

2.2 PFL法或FTL法 把标记物注入消化道,测定粪便中标记物的浓度,或者使动物摄入标记物,测定消化道内容物中标记物的浓度。这两种方法中的平均滞留时间可用上面讨论的方法计算。把标记物注入消化道可以通过插管,理论上肠内插管较好。从Balch^[7]开始,反刍动物后肠中的通过速率都是利用插管把标记物注入胃来测定的。Faichney^[13]对绵羊进行胃和回肠插管,Coombe和Kay^[6]对绵羊进行十二指肠插管,Pickard和Stevens^[14]对野兔的盲肠插管等都很成功。显然,无论是插管、注入标记物还是取样都不能干扰消化道的正常功能。从插管中获得可靠的消化道内容物样品有时较困难,最理想的是用不同但可进行比较的标记物同时测定消化道不同器官的滞留时间,但把消化道分成几部分,还存在技术上的局限。

2.3 PTC和PSC法 在许多实验中,标记物的排泄是相当有规律的,可能遵守某一简单的数学模式。描述消化道模型的参数应该能估计相关器官的平均滞留时间,否则就应该直接计算平均滞留时间,而不应该迫使实验数据符合无生物学意义的任意模式。消化道最简单的生物模型近似于管状并且各分室是混合的,在管状腔内,其内容物所有相似组分有相同的滞留时间,进入分室中的标记物产生相同的离散反应,混合分室提供了瞬间完全的混合。在稳定状态下(内外流通率相等且恒定),分室内的标记物产生瞬间的上升反应,随后指数下降。但从这一模型得到标记物反应曲线的数学分析既不能计算管状分室的个数(只能计算所有分室中的总滞留时间),也不能区分各分室排定的顺序。在理想条件下,可以测定混合分室的数目和特征,但是得到的结果将随着分室数目的增加、分室大小的差异增大、或者远离理想状态等而越来越不确定。

Blaxter等^[5]第一次提出反刍动物消化道模型由两个混合分室和一个管状分室组成。为了估计指数常量和延滞(或者在混合分室和管状分室中的平均滞留时

间),使排出标记物数量的实验数据符合标记物累积排泄和时间相关的方程(1)(PTC),也就是说这些数据包含无规律排便的影响。Brandt和Thacker^[9]使实验数据符合标记物浓度达到最大以后与时间相关的方程(4)之后,有些学者使标记物浓度的数据符合浓度与时间相关的方程(2)(PSC)用来估计相同的参数,也就是说,所用实验数据比Blaxter等^[5]的还少。三个方程都严格的只适用于稳定状态,但是符合方程(1)的数据可以更远离稳定状态。如果排便是持续、恒定的,那么从方程(1)(2)计算得到的参数应该相等。

2.4 PKD法 在取食过程中把标记物同时喂给假设有相似滞留时间的多只动物,动物的数量要充足,能够提供有代表性的样品。摄入标记物以后以一定的时间间隔从数只动物中选择一只处死。开始处死的时间间隔应该是每次在胃中都能发现标记物,以后间隔可以加长,最后的时间间隔应该是最后一批处死的动物在处死之前排出所有的标记物。计算消化道不同器官中以及粪便中标记物的数量,计算出平均值。如果几种标记物有相同的滞留时间,并且可以分别估计,就可减少所需的动物数量,这样每只动物都可以在被处死之前的 $t, t+24$ 小时, $t+48$ 小时……等时间内摄入标记物。每次处死动物,都要计算消化道各器官末端标记物的平均数量(包括粪便),从而计算在两次取样之间滞留在每个器官中标记物的平均数量。若为负值则表示消化道内容物具有回流运动或者样品不具有代表性,然后用PTD方程来计算从口到消化道每一器官末端平均滞留时间和取样的中点,从而可以通过差分方程计算出每一器官的平均滞留时间。

2.5 RKD法 有些动物,当它们的消化道处于近似稳定状态的时候,消化道各器官中内容物流速近似相等并为常量。把食物和标记物充分混匀喂给动物,计算这些动物各器官的平均滞留时间;可以取粪便样品测试其中标记物浓度是否为常量。然后处死动物,估计消化道各器官中标记物的含量。某一器官中标记物的平均滞留时间等于该器官中标记物的数量除以每小时平均摄入的标记物数量。显然,平均滞留时间的第一个估计值就是用这种方法得到的。

食物通过速率的测定方法中,PTD^[15,16]、PSD^[2]、PKD^[3,17]应用比较广泛,多用于小型动物。PKD要求实验动物的数量足够多,动物应允许被处死。FTL^[11]多用于大型反刍动物。

测定通过速率的其它一些方法,如PLA、PTE、PTO等方法不经常使用,有些甚至不再使用,在此不一叙述。

参 考 文 献

- [1] Mambrul, M. , J. L. Peyraud. Retention time of feed particles and liquids in the stomach and intestines of dairy cows : Direct measurement and calculations based on faecal collection. *Reprod. Nutr. Dev.* ,1997 ,**37** :427~442.
- [2] Lee ,W. B. ,D. C. Houston. The role of coprophagy in digestion in voles (*Microtus agrestis* and *Clethrionomys glareolus*). *Functional Ecology* ,1993 ,**7** :427~432.
- [3] Jilge. B. Rate of movement of marker particles in the digestive tract of the rabbit. *Laboratory Animals* ,1982 ,**16** :7~11.
- [4] Faichney G. J. The use of markers to partition digestion within the gastro-intestinal tract of ruminants. In :“ McDonald, I. W. , A. C. I. Warner eds. Digestion and Metabolism in the Ruminant. Armidale. Australia : University of New England Publishing Unit. , 1975. 77 ~ 291. ”
- [5] Blaxter K.L. ,N. McC.Graham ,F. W. Waiman. Some observations on the digestibility of food by sheep , and on related problems. *British Journal of Nutrition* , 1956 ,**10** :69~91.
- [6] Coombe , J. B. , R. N. B. Kay. Passage of digesta through the large intestines of the sheep : retention times in the small and large intestines. *British Journal of Nutrition* ,1965 ,**19** :325~338.
- [7] Balch , C. C. Factors affecting the utilization of food by dairy cows : the rate of passage of food through the digestive tract. *British Journal of Nutrition* , 1950 ,**4** :361~388.
- [8] Hinton , J. M. , J. E. Lennard-Jones , A. C. Young. A new method for studying gut transit times using radioopaque makers. *Gut* ,1969 ,**10** :842~847.
- [9] Brandt , C. S. , E. J. Thacker. A concept of rate of food passage through the gastrointestinal tract. *Journal of Animal Science* ,1958 ,**17** :218~223.
- [10] Warner , A. C. T. Rate of passage of digesta through the gut of mammals and birds. *Nutrition Abstracts and Reviews* ,1981 ,**51** :790~807.
- [11] Cummings , J. H. , D. J. A. Jenkins , H. S. Wiggins. Measurement of the mean transit time of dietary residue through the human gut. *Gut* ,1976 ,**17** :210~218.
- [12] Cummings , J. H. , H. S. Wiggins. Transit time through the gut measured by analysis of a single stool. *Gut* , 1976 ,**17** :219~223.
- [13] Faichney , G. J. The effect of formaldehyde treatment of a concentrate diet on the passage of solute and particle markers through the gastrointestinal tract of sheep. *Australian Journal of Agricultural Research* ,1975 ,**26** :319~327.
- [14] Pickard , D. W. , C. E. Stevens. Digesta flow the rabbit large intestine. *American Journal of Physiology* , 1972 ,**222** :1161~1166.
- [15] Moyle , D. I. , I. D. Hume , D. M. Hill. Digestive performance and selective digesta retention in the long-nosed bandicoot (*Perameles nasuta*) , a small omnivorous marsupial. *J. Comp. Physiol. B.* 1995 ,**164** :552~560.
- [16] Luckey , T. D. , R. Hartman , T. Knox *et al.* Lanthanide marker transit times , and rate of flow and passage for three meals in humans. *Nutrition Reports International* , 1979 ,**16** :339~347.
- [17] Bjornhag G. , I. Sperber. Transport of various food components through the digestive tract of turkeys , geese and guineal fowl. *Swedish Journal of Agricultural Research* , 1977 ,**7** :57~66.