

實驗用嚙齒動物飼料配方 AIN-93G 之 鐵質生體可用率

張美鈴 彭珍芳 蕭寧馨*

Iron Bioavailability of AIN-93G Purified Diets for Laboratory Rodents

Mei-Ling Chang, Jen-Fang Perng
and Ning-Sing Shaw*

Department of Agricultural Chemistry, National Taiwan University
Taipei, Taiwan 106

(Accepted for publication September 8, 1998)

The American Institute of Nutrition published the AIN-76 purified diets for laboratory rodents in 1977. As the diet was used over the years and some problems were discovered, the AIN-93 diets were formulated as substitutes. Some major differences in the formulation of AIN-93G compared with AIN-76 are the reduction of the amount of phosphorous from 5 g/kg diet to 3 g/kg diet, replacement of CaHPO_4 with CaCO_3 and KH_2PO_4 , and increased Ca:P molar ratio from 0.75 to 1.3. Since calcium salts and Ca:P molar ratio may affect iron absorption, our objective was to compare the iron bioavailability of AIN-76 and AIN-93G diets using a rat hemoglobin repletion bioassay. Weanling male Wistar rats were first rendered anemic and fed AIN-76 diets or AIN-93G diets supplemented with 6, 12, 18 ppm iron supplied as ferrous sulfate for 14 days. The major effect of diet types on repleted hemoglobin concentrations and the gain of hemoglobin iron was not significant ($P > 0.1$) based on two-way ANOVA. Significant linear dose-response correlation was obtained between hemoglobin gains and added iron concentrations, and between hemoglobin iron gains and intake of added iron by regression analysis at $P = 0.0001$. Calculated from the regression coefficient of the latter, the relative biological value of iron for AIN-93G diets was 94.5. It is concluded that iron bioavailability of AIN-93G is similar to that of AIN-76.

Key words: iron bioavailability, rodents, AIN-76, AIN-93G, hemoglobin repletion bioassay

* To whom correspondence should be addressed.

前 言

嚙齒類動物在實驗營養、毒理、癌瘤發生學與老化等方面的研究有廣泛的應用。進行動物實驗時，飼料的營養組成對研究結果有重要的影響。為了避免天然原料的組成不穩定，並為了有助於實驗或研究之間的相互比較，設定實驗飼料的標準配方有其必要。因此，美國營養學會 (American Institute of Nutrition) 於 1977 年訂定了嚙齒類動物適用的純化飼料 (purified diet) 配方 AIN-76⁽¹⁾，並於 1980 年加以修訂⁽²⁾，以供研究人員利用。多年的使用經驗突顯出 AIN-76 配方的一些問題，乃於 1989 年開始研議修訂改善⁽³⁾，於 1993 年提出新配方 AIN-93^(4,5)，分有 AIN-93G 與 AIN-93M 兩種，前者適用於成長、懷孕和哺乳期，後者適用於成鼠之維持。與 AIN-76 比較，AIN-93G 在原料與成分上主要的變動包括：碳水化合物來源以玉米澱粉為主，含硫胺基酸的補充採用胱胺酸，油脂來源採用黃豆油並提高用量，維生素 E、K 和 B-12 用量增加，微量礦物質增加鋁、矽、氟、鎳、硼、鋰和鈾，錳的用量降低，硒的形式改變；另外，降低磷的含量。調整飼料磷的含量是因為配方 AIN-76 長期飼養時會引發雌鼠腎臟鈣化 (nephrocalcinosis) 與鈣堆積，此現象與鈣磷比例有關⁽⁶⁾。與配方 AIN-76 比較，AIN-93G 的鈣含量維持每公斤飼料 5 公克，磷的總含量則從每公斤 5 公克降為 3 公克，造成鈣磷莫耳比例從 0.75 升高到 1.3；AIN-76 以磷酸氫鈣作為鈣和磷的來源，AIN-93G 則改用碳酸鈣作為鈣源，以磷酸二氫鉀作為磷源^(4,5,7)。

人體實驗與動物實驗都指出鈣鹽形式與鈣磷比例會影響鐵的吸收。人體實驗方面，碳酸鈣^(8,9)，磷酸鈣與檸檬酸鈣⁽⁹⁾，鈣鹽與磷酸鹽共存時⁽¹⁰⁾，都會抑制人體對放射性鐵同位素的吸收。動物實驗方面，升高飼料的鈣磷比例會減少貧血大鼠血紅素上升的速率，也減少肝臟的鐵量⁽¹¹⁾；玉米飼料添加碳酸鈣會減少大鼠對放射性鐵的吸收⁽¹²⁾；對貧血大鼠鐵利用的抑制，碳酸鈣的效應比硫酸鈣或碳酸鈉為強⁽¹³⁾。食物鐵質與各種鐵化合物生體利用率 (bioavailability) 的評估經常利用動物實驗⁽¹⁴⁾，因此，針對 AIN-93G 鈣磷組成的改變，在應用於鐵營養研究之前，必須了解其對鐵利用率的影響。本研究乃利用大鼠血紅素再生法⁽¹⁴⁾，比較 AIN-76 與 AIN-93G 對鐵利用效率的影響。

材料與方法

大鼠血紅素再生法 (rat hemoglobin repletion bioassay) 乃先餵動物缺鐵的基礎飼料，使動物體內儲存的鐵用盡而貧血，血紅素值降到 6 g/dL 以下，然後進入血紅素再生期，此時動物分組飼以不同鐵源的飼料，為期兩週，以血紅素值與血紅素總鐵量的變化做為鐵利用效率的指標。基礎飼料為不添加鐵的 AIN-76 與 AIN-93G，其配方列於表一。耗鐵期採用 AIN-76 基礎飼料。血紅素再生期所用的 AIN-76 實驗飼料有 C0, C6, C12, C18, C35 等五組，乃是以 AIN-76 基礎飼料添加硫酸亞鐵配製而成，添加鐵量分別是：0 ppm, 6 ppm, 12 ppm, 18 ppm, 35 ppm；C0 代表飼料完全缺鐵，C35 代表飼料含鐵量正常。再生期所用的 AIN-93G 飼料有 G6, G12, G18 三組，乃是以 AIN-93G 基礎飼料添加硫酸亞鐵配製而成，添加鐵量分別是 6 ppm, 12 ppm, 18 ppm。由於所用酪蛋白的磷含量為平均每公斤 8.74 公克，相當於提供每公斤飼料 1750 mg 磷，故 AIN-93G 礦物質配方中磷酸二氫鉀的用量調整為每公斤 157 克，檸檬酸鉀的用量調整為 102 克。各組實驗飼料之鈣磷鐵均加以定量，飼料以微波爐 (MLS-1200 MEGA, Milestone) 消化後，經適當稀釋，以原子吸光法定量鈣與鐵，以比色法定量磷⁽¹⁵⁾。

表一 齧齒動物基礎飼料 AIN-76 與 AIN-93G 的組成

Table 1 Components of AIN-76 and AIN-93G purified diets for rodents

AIN-76 ¹ (g/kg)		AIN-93G ² (g/kg)	
Casein	200.000	Casein	200.000
Cornstarch	650.000	Cornstarch	629.486
Soybean oil	50.000	Soybean oil	70.000
Fiber	50.000	Fiber	50.000
Mineral mix AIN76, Fe free ³	35.000	Mineral mix AIN93G, Fe free ⁵	35.000
Vitamin mixture AIN76 ⁴	10.000	Vitamin mix AIN93G ⁶	10.000
		L-cystine	3.000
DL-methionine	3.000	Choline bitartrate	2.500
Choline bitartrate	2.000	BHT	0.014
Total	1000.000	Total	1000.000

¹ AIN 1977⁽¹⁾

² Reeve et al. 1993⁽⁵⁾

³ Iron-free mineral mix AIN-76 contains the following components in g per kg mixture: calcium phosphate, dibasic, dihydrate, 624; tri-potassium citrate, monohydrate, 220; NaCl, 74; K₂SO₄, 52; MgO, 24; zinc carbonate, 1.6; manganous carbonate, 3.5; cupric carbonate, 0.3; KIO₃, 0.01; sodium selenite, 0.01; chromium potassium sulfate, 12 hydrate, 0.55.

⁴ Vitamin mix AIN 76 contains the following components in g per kg mixture: thiamin.HCl, 0.6; riboflavin, 0.6; pyridoxine. HCl, 0.7; nicotinic acid, 3.0; D-calcium pantothenate, 1.6; folic acid, 0.2; D-biotin, 0.02; cyanocobalamin, 0.001; retinyl palmitate, 400,000 IU; (all-rac- α -tocopheryl acetate, 5000 IU; cholecalciferol, 100,000 IU; menadione, 0.005; powdered sucrose, 980.

⁵ Iron-free mineral mix AIN-93G contains the following components in g per kg mixture: calcium carbonate, 357; potassium phosphate, monobasic, 157; tri-potassium citrate, monohydrate, 102; NaCl, 74; K₂SO₄, 46; MgO, 24; zinc carbonate, 1.65; manganous carbonate, 0.63; cupric carbonate, 0.3; KIO₃, 0.01; sodium selenite, 0.01025; chromium potassium sulfate, 12 hydrate, 0.275; ammonium paramolybdate, 4 hydrate, 0.00795; sodium meta-silicate, 9 hydrate, 1.45; lithium chloride, 0.0174; boric acid, 0.0815; sodium fluoride, 0.0635; nickel carbonate, 0.0318; ammonium vanadate, 0.0066; powdered sucrose, 235.

⁶ Vitamin mix AIN 93G contains the following components in g per kg mixture: thiamin. HCl, 0.6; riboflavin, 0.6; pyridoxine. HCl, 0.7; nicotinic acid, 3.0; D-calcium pantothenate, 1.6; folic acid, 0.2; D-biotin, 0.02; cyanocobalamin, 0.0025; retinyl palmitate, 400,000 IU; (all-rac- α -tocopheryl acetate, 7500 IU; cholecalciferol, 100,000 IU; K-1, 0.075; powdered sucrose, 974.655.

實驗動物購自台灣大學醫學院附設醫院的實驗動物中心，雄性離乳 Wistar 大鼠起始體重平均為 61 公克，以基礎飼料餵養 27 天，血紅素值均降至 6 g/dL 以下；然後依照體重分組，除了 C0 組為 5 隻之外，其餘各組每組六隻，各組之平均體重沒有顯著的差異，分別飼以實驗飼料，進入血紅素再生期。再生期開始與結束時分別測量大鼠體重，並以尾巴採血法取得全血以供血紅素定量。血紅素定量採用 cyano-methemoglobin 法，以 Drabkin's 試劑呈色⁽¹⁶⁾，測量波長 540 nm 的吸光值，經乘以 36.8 而得血紅素濃度。

大鼠的血液體積以每公克體重有 0.067 mL 估計，血紅素的含鐵量以 0.335% 計算，配合血紅素濃度可以計算血紅素鐵總量⁽¹⁷⁾；再生期前後血紅素濃度差即為血紅素變化量，血紅素鐵總量的差額即為血紅素鐵增加量；鐵利用效率 (iron efficiency) 等於血紅素鐵增加量對攝取鐵量的百分比。八個實驗組之間各項指標的差異以單因子變方檢定 (generalized linear model) 後，再以 Duncan's multiple range test 分析；AIN-76 與 AIN-93G 配方間的差異乃是對 C6, C12, C18, G6, G12, G18 等六組進行雙因子變方分析 (ANOVA) 以評估不同配方與飼料鐵濃度主效應之影響。飼料鐵濃度與血紅素變化量的關係以直線迴歸模式檢定，根據 AOAC 方法⁽¹⁴⁾，其中不包含 C0 與 C35 組；添加鐵攝取量與血紅素鐵增加量的關係亦以直線迴歸模式檢定，其中包含 C0 組而不含 C35 組，因為理論上，當鐵供應量低於需要量時應該有劑量反應關係存在。迴歸係數之差異以 Student's t test 檢定。利用迴歸係數，以 AIN-76 之值為 100，計算鐵相對生物價 (RBV, relative biological value)。各項統計分析均採 SAS 程式 (SAS 6.11, Cary, CN) 以電腦執行。

結 果

血紅素再生期中大鼠的生長狀況列於表二。再生期開始時，大鼠的平均體重為 198 公克，各組之間沒有顯著差異。再生期間，大鼠的體重、體重增加量、飼料攝取量以及飼料利用效率均以 C0 組顯著最輕，顯示其受缺鐵的限制。體重方面，除了 C6 之外，其他各組均與 C35 相當。體重增加量方面，以 C6 與 G6 顯著低於 C35，其他各組均達到 C35 水準。攝食量方面，只有 C18 與 C35 相當，其他各組均顯著少於 C35。飼料利用效率方面，除了 C6 顯著低於 C35 之外，其他各組均與 C35 沒有差異。雙因子變方分析顯示飼料鐵濃度主效應對體重增加量、攝食量與飼料利用效率的影響達到統計顯著水準，都是以添加鐵量 6 ppm 顯著低於其他兩種鐵含量；表示飼料鐵濃度偏低時，不敷大鼠生長之需要，故對某些生長指標有所限制。配方主效應對體重增加量與飼料利用效率有顯著的影響，都是以 AIN-93G 顯著高於 AIN-76。

再生期大鼠的血紅素與血紅素鐵的變化列於表三。再生期結束時之血紅素值、血紅素變化量與血紅素鐵增加量均以 C0 最低，以 C35 最高，其他各組則居於這兩組之間，並且有隨著飼料鐵濃度升高而增加的現象。變方分析亦顯示血紅素、血紅素變化量與血紅素鐵增加量受飼料鐵濃度主效應之影響 ($P = 0.0001$)，而飼料配方的主效應則不顯著 ($P > 0.1$)。變方分析可見鐵總攝取量與鐵利用效率分別受到配方主效應與鐵濃度主效應的影響，兩者都達到顯著水準；總鐵攝

取量以 AIN-93G 高於 AIN-76，三種鐵濃度之間顯著不同；鐵利用效率以 AIN-76 顯著高於 AIN-93G，並且以 18 ppm 者顯著高於兩個鐵量較低的組別；不過配方之差異導因於 C18 顯著高於 G6，其他組別並無差異。各實驗組飼料之鈣、磷、鐵含量分析結果列於表四，隨著添加鐵量依序由低而高，鈣對鐵的莫耳數比則依序降低；達到 AIN-76 或 AIN-93G 建議的鐵量 35 ppm 時，鈣對鐵的莫耳比是 200。

迴歸分析的結果如圖一所示，無論是 AIN-76 或是 AIN-93G 配方，血紅素鐵增加量與添加鐵攝取量之間具有線性關係（圖一 A），相關係數 R^2 分別是 AIN-76 為 0.967，AIN-93G 為 0.981；迴歸係數分別是 AIN-76 為 0.982，AIN-93G 為 0.928，在統計上沒有差異（ $t < t_{0.05/2, 44}$ ）；根據迴歸係數計算 AIN-93G 之鐵相對生物價是 94.5。血紅素變化量與飼料添加鐵濃度之間也具有顯著的線性關係（圖一 B）， R^2 值分別是 AIN-76 為 0.936，AIN-93G 為 0.961；迴歸係數分別是 AIN-76 為 0.424，AIN-93G 為 0.377，兩者之差異顯著；依此關係而得 AIN-93G 之鐵相對生物價是 88.9。

表二 血紅素再生期貧血大鼠的生長與攝食狀況¹

Table 2 Growth and feed consumption of rats during the hemoglobin-repletion period¹

Group	n	Body weight (g/rat)		Weight gain (g/rat)	Feed intake (g/rat)	Feed efficiency (g/g feed)
		beginning	end			
C0	5	193±19	230±19 ^c	37±11 ^d	190±22 ^c	0.19±0.06 ^c
C6	6	195±27	263±31 ^b	68±9 ^c	252±13 ^{cd}	0.27±0.04 ^b
C12	6	190±13	282±12 ^{ab}	92±7 ^{ab}	267±9 ^{bcd}	0.35±0.03 ^a
C18	6	198±17	291±23 ^{ab}	93±11 ^{ab}	284±22 ^{ab}	0.33±0.02 ^a
C35	6	201±21	301±21 ^a	101±21 ^a	309±37 ^a	0.33±0.04 ^a
G6	6	197±26	276±30 ^{ab}	80±10 ^{bc}	249±22 ^d	0.32±0.03 ^a
G12	6	200±23	298±13 ^a	98±11 ^a	267±16 ^{bcd}	0.37±0.05 ^a
G18	6	194±16	289±25 ^{ab}	95±11 ^a	278±22 ^{bc}	0.34±0.02 ^a

P-value from Two-way ANOVA of C6, C12, C18, G6, G12 and G18

Feed formula	0.254	0.0492	0.6231	0.0137
Dietary Fe concentration	0.066	0.0001	0.0008	0.0005
Interaction	0.603	0.4997	0.9280	0.4122

¹ Values in each column are mean ± SD, and values in each column not sharing the same superscript letters are significantly different by Duncan's multiple range test at $P < 0.05$

表三 血紅素再生期大鼠的血紅素濃度與血紅素鐵增加量¹Table 3 Hemoglobin concentrations and gains of hemoglobin iron in rats during the hemoglobin-repletion period¹

Group	n	Hemoglobin (g/dl)		Hemoglobin	Fe intake	Fe
		end ¹	gain	Fe gain (mg/rat)	(mg/rat)	efficiency ² (%)
C0	5	4.9±1.0 ^c	-0.7±0.4 ^f	0.12±0.28 ^e	0.49±0.06 ^e	22±54 ^c
C6	6	6.1±0.5 ^d	1.3±0.3 ^e	1.5±0.2 ^d	1.96±0.10 ^d	75±13 ^{ab}
C12	6	8.2±0.9 ^c	3.5±0.8 ^d	3.2±0.4 ^c	4.17±0.15 ^c	76±9 ^{ab}
C18	6	11.0±0.7 ^b	6.4±0.5 ^b	5.1±0.6 ^b	5.71±0.43 ^b	90±9 ^a
C35	6	15.1±0.9 ^a	10.3±0.5 ^a	8.0±0.6 ^a	11.8±1.4 ^a	69±6 ^{ab}
G6	6	5.7±0.7 ^{de}	1.2±0.3 ^e	1.6±0.3 ^d	2.46±0.21 ^d	63±7 ^b
G12	6	8.1±0.7 ^c	3.4±0.5 ^d	3.3±0.3 ^c	4.35±0.26 ^c	76±5 ^{ab}
G18	6	10.3±0.6 ^b	5.7±0.4 ^c	4.7±0.5 ^b	5.98±0.46 ^b	78±4 ^{ab}
<i>P</i> -value from Two-way ANOVA of C6, C12, C18, G6, G12 and G18						
Feed formula		0.1072	0.1726	0.6892	0.0034	0.0109
Dietary Fe concentration		0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0006
Interaction		0.6523	0.2634	0.2025	0.4349	0.1547

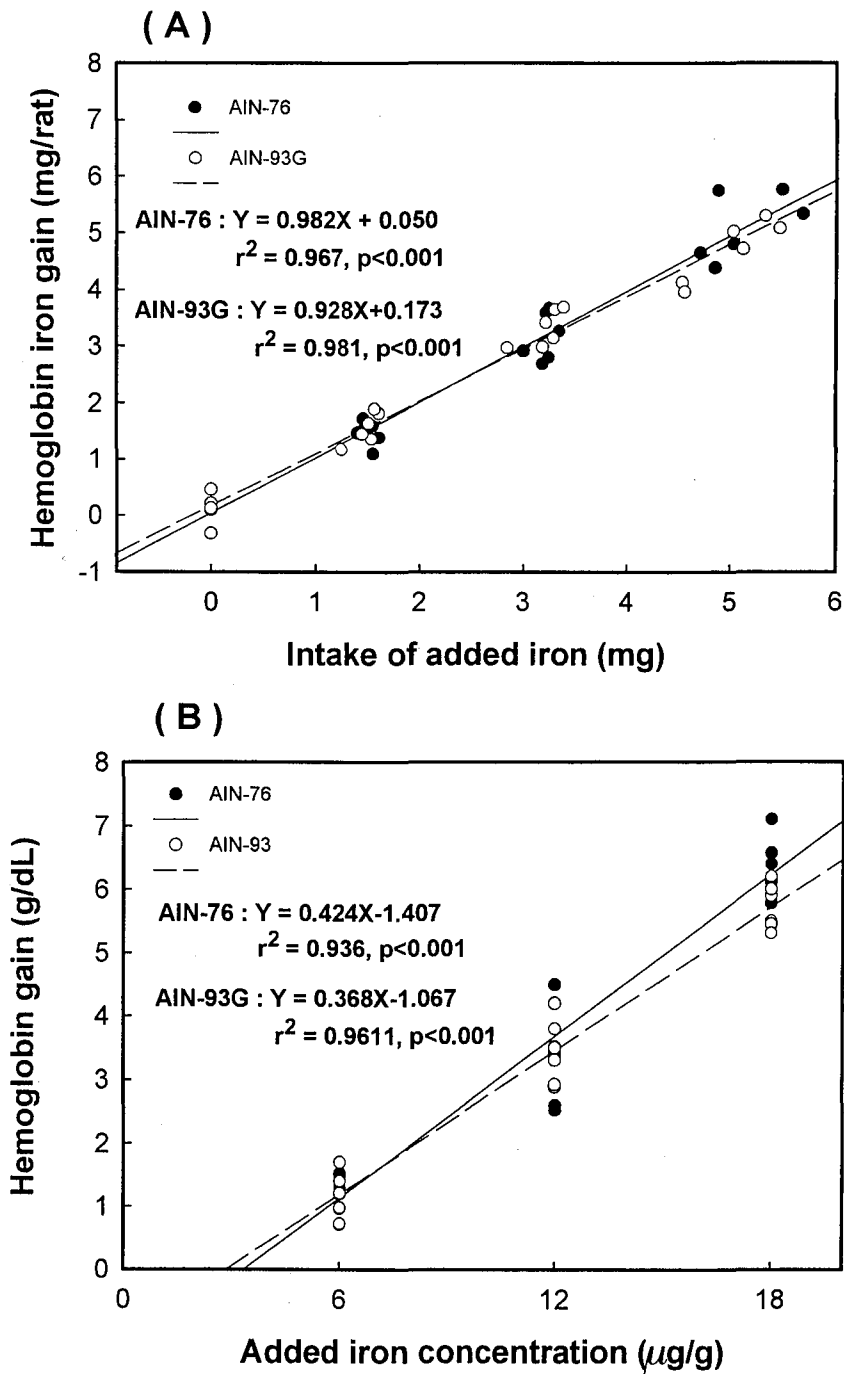
¹ Values in each column are mean ± SD, and values in each column not sharing the same superscript letters are significantly different by Duncan's multiple range test at $P < 0.05$

² Fe efficiency = hemoglobin Fe gain ÷ Fe intake × 100%

表四 血紅素再生期各組實驗飼料鈣磷鐵含量分析結果

Table 4 Measured contents of calcium, phosphorous and iron of diets used for hemoglobin repletion

Diet	Ca (g/kg)	P (g/kg)	Fe (mg/kg)	Ca : P (mol : mol)	Ca : Fe (mol : mol)
C0	4.6±1.0	5.4±0.3	2.6±0.1	0.67	2470
C6	4.9±0.2	5.4±0.2	7.8±0.6	0.70	870
C12	4.9±1.0	5.3±0.6	15.6±0.5	0.71	440
C18	5.0±0.4	5.7±0.6	20.1±0.1	0.68	350
C35	4.8±0.2	5.2±0.2	38.0±0.5	0.72	180
G6	4.9±0.3	3.0±1.0	9.9±0.3	1.27	690
G12	4.9±0.1	2.8±0.2	16.3±0.3	1.34	420
G18	4.9±0.2	3.0±0.3	21.5±0.5	1.25	320



圖一 血紅素再生期大鼠攝取 AIN-76 或 AIN-93G 飼料的迴歸分析結果
(A) 血紅素鐵增加量對添加鐵攝取量，(B) 血紅素濃度變化量對飼料添加之鐵濃度

Figure 1 Regression analysis of (A) hemoglobin iron gain versus intake of added iron, and (B) hemoglobin gain versus concentration of added iron, in rats fed on AIN-76 or AIN-93G diets, respectively, during the hemoglobin repletion period

討 論

飼料配方 AIN-93G 在巨量礦物質營養素的主要調整是降低磷的總含量，從每公斤 5 公克降為 3 公克，調降的幅度達 40%。飼料磷的來源一般採用磷酸鹽類，如磷酸氫鉀或磷酸氫鈣等。早期的研究指出，大量磷酸鹽會抑制動物對鐵的利用，飼料磷含量在 0.04% 到 0.8% 之間，與大鼠肝鐵含量呈負相關性⁽¹⁸⁾。根據水溶液中的化學性質，磷酸鹽可以和鐵形成不溶性的鹽類，在 pH 中性或鹼性的條件下，鈣離子的共存會促進鈣磷與鐵形成複合鹽類的沉澱⁽¹⁹⁾。人體實驗在同一餐中單獨的鈣鹽或是磷酸鹽都不會明顯抑制鐵的吸收利用，但是供應磷酸鈣或是鈣鹽與磷酸鹽共存則有明顯的抑制效應⁽²⁰⁾，這種效應可能與小腸鹼性環境中有利於不溶性鈣磷鐵複合物的產生有關。AIN-93G 的磷量降低，應該有助於避免磷酸根對鐵吸收的干擾作用，不過，鐵利用率並沒有明顯的提高，反映 AIN-76 配方的磷含量雖然較高，但是並沒有達到對鐵吸收不利的程度。

早期的研究也指出貧血大鼠對鐵的利用率以鈣磷重量比例為 0.45（相當於莫耳比例 0.36）時最高，鈣磷比例增高時鐵利用率則隨之降低⁽¹¹⁾；研究中所用的磷含量是 0.4% 與 0.65%，與 AIN-76 或 AIN-93G 相近，主要的變動來自鈣量的增減。AIN-93G 的鈣磷莫耳比值為 1.3，主要的原因是磷的含量降低而鈣的含量並沒有改變，因此其鈣磷比值增高之意義與文獻不盡相同。AIN-93G 的鐵利用效率並不因鈣磷比值改變而增減，表示鈣磷比值並不是決定因子，而必須考慮其鈣磷成分個別的改變。對照本實驗與 Anderson 等的結果可見鈣含量的影響比較重要⁽¹¹⁾。

動物實驗與人體實驗都指出鈣具有抑制鐵吸收利用的效應。給大鼠氯化鈣溶液會抑制放射性鐵進入小腸黏膜的細胞，鈣的濃度越高，放射性鐵的吸收率越低⁽²⁰⁾。當鐵供應量接近需要量時，要產生抑制效應，動物實驗中鈣的劑量都必須比正常的 0.5% 為多；鈣量從 0.75% 到 1.25% 都抑制大鼠對鐵的利用^(13,21)，也減少懷孕母鼠多種組織的鐵含量，更進一步使胚胎組織的含鐵量降低⁽²¹⁾。成長中的大鼠餵食三倍於正常量的鈣時，飼料 20 ppm 的鐵濃度不足以維持正常的血漿鐵濃度，必須提供四倍的鐵量才能達到正常；不過降低鈣量到 0.3% 並不會增強鐵的利用⁽²⁰⁾。鈣的作用還受其鹽類型式的影響，除了飼料的正常鈣量之外，另以碳酸鈣額外提供 0.25% 鈣時，足以抑制貧血大鼠的鐵利用效率，若是以硫酸鈣形式則需要額外提供 0.75% 才有抑制效應⁽¹³⁾。雖然 AIN-93G 採用碳酸鈣，但是鈣含量仍屬正常，故對接近需要量之鐵濃度應不至於產生抑制作用。然而本實驗中鐵利用效率並沒有遵循攝取量與吸收率呈負向關係的營養原則，AIN-76 各組的鐵利用效率與飼料鐵濃度的關係略呈「 \cap 」形，效率最高的是 C18 組；鐵濃度低或接近正常時，鐵利用效率都略有下降；兩種配方合併分析時，鐵利用效率受鐵濃度主效應之影響，以 18 ppm 組顯著高於 12 ppm 與 6 ppm 組；這些現象反映：即使是正常鈣含量，當鐵濃度低時，鈣鐵莫耳比偏高，可能加強了鈣對鐵吸收的干擾。

理想的生物分析法 (bioassay) 應該與人體的反應有高度的相關性而具有預測 (prediction) 的功用，根據 INACG (International Nutritional Anemia Consultative Group) 的報告⁽²²⁾，在鐵化合物可用率之評估上，AOAC 法與臨床實驗的結果高

度相關；可是用於評估飲食成分的效應時則可能有其限制。人體實驗採用紅血球利用法 (red blood cell incorporation)，以放射性鐵同位素追蹤其在紅血球的利用效率，實驗飲食中若添加鈣鹽使鈣量達到 75mg，就有抑制鐵利用的現象⁽²³⁾；此時的鈣鐵莫耳比為 30，比兩種飼料標準配方之值為小，因此動物模式中以標準配方作為對照組，無法代表人類飲食的某些性質。AOAC 大鼠血紅素再生法所建議的飼料配方採用碳酸鈣，而且鈣與磷的含量都是 0.8%⁽¹⁴⁾，比 AIN-76 或 AIN-93G 都高，可能是不利於鐵吸收的條件，應用於評估鐵鹽或含鐵食物的鐵生體可用率時，可能不盡理想，值得重新加以評估。

執行迴歸分析時，AOAC 的血紅素再生法採用的一組指標是血紅素濃度的變化量與飼料添加的鐵濃度，Miller⁽²⁴⁾ 指出這兩項指標沒有考慮大鼠飼料攝取量與體重增加量的個別差異，前者是決定鐵實際攝取量的因素之一，後者與血液體積有關而影響血紅素濃度的表現；採用添加鐵攝取量與血紅素鐵增加量則可以彌補其不足，而改善相關性。本實驗分別利用兩組指標進行迴歸分析的結果，兩種配方均是以添加鐵攝取量與血紅素鐵增加量這組指標的相關係數較高。兩組指標所決定的 RBV 值略有差異，根據相關性較高之結果，飼料配方 AIN-93G 的鐵質相對生物價為 94.5，而且迴歸係數之間沒有差異，表示與 AIN-76 沒有明顯的差異。

誌 謝

本研究承蒙衛生署專題研究計劃編號 DOH87-TD-1119 經費補助。

參考文獻

1. AIN: Report of the American Institute of Nutrition ad hoc Committee on standards for nutritional studies. *J. Nutr.* 107:1340-1348 (1977)
2. AIN: Second report of the ad hoc Committee on standards for nutritional studies. *J. Nutr.* 110:1726 (1980)
3. Reeves, P.G.: AIN-76 diet: should we change the formula? *J. Nutr.* 119:1081-1082 (1989)
4. Reeves, P.G., Rossow, K.L. and Lindlauf, J.: Development and testing of the AIN-93 purified diets for rodents: results on growth, kidney calcification and bone mineralization in rats and mice. *J. Nutr.* 123:1923-1931 (1993)
5. Reeves, P.G., Nielsen, F.H. and Fahey, G.C.: AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J. Nutr.* 123:1939-1951 (1993)
6. Hoek, A.C., Lemmens, A.G., Mullink, J.W.M.A. and Beynen, A.C.: Influence of dietary calcium:phosphorous ratio on mineral excretion and nephrocalcinosis in

- female rats. *J. Nutr.* 118:1210-1216 (1988)
7. Reeves, P.G.: Components of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76A diet. *J. Nutr.* 127:838S-841S (1997)
 8. Dawson-Hughes, B., Seligson, F.H. and Huges, V.A.: Effects of calcium carbonate and hydroxyapatite on zinc and iron retention in postmenopausal woman. *Am. J. Clin. Nutr.* 44:83-88 (1986)
 9. Cook, J.D., Dassenko, S.A. and Whittaker, P.: Calcium supplementation: effect on iron absorption. *Am. J. Clin. Nutr.* 53:106-111 (1991)
 10. Monsen, E. R. and Cook, J.D.: Food iron absorption in human subjects IV. The effects of calcium and phosphate salts on the absorption of nonheme iron. *Am. J. Clin. Nutr.* 29:1142-1148 (1976)
 11. Anderson, H.D., McDonough, K.B. and Elvehjem, C.A.: Relation of the dietary calcium-phosphate ratio to iron assimilation. *J. Lab. Clin. Med.* 25:464-471 (1940)
 12. Amine, E.K. and Hegsted, D.M.: Effect of diet on iron absorption in iron-deficient rats. *J. Nutr.* 101:927-936 (1971)
 13. Prather, T.A. and Miller, D.D.: Calcium carbonate depresses iron bioavailability in rats more than calcium sulfate or sodium carbonate. *J. Nutr.* 122:327-332 (1992)
 14. AOAC: Bioavailability of iron, rat hemoglobin repletion bioassay. In: *Official Methods of Analysis*, 14th ed. (Williams, S. ed) pp.880-881. Association of Official Analytical Chemists (1984)
 15. Osborne, D.R. and Voogt, P.: *The analysis of nutrients in foods*. pp.178-180. Academic Press Inc. (1978)
 16. Oser, B.L.: *Hawk's Physiological Chemistry*. 14th ed. p.1096. McGraw-Hill, New York (1965)
 17. Mahoney, A.W. and Hendricks, D.G.: Efficiency of hemoglobin regeneration as a method of assessing iron bioavailability in food products. In: *Nutritional Bioavailability of Iron* (Kies, C. ed.) pp.1-10. American Chemical Society, Washington D.C. (1982)
 18. Hegsted, D.M., Finch, C.A. and Kinney, T.D.: The influence of diet on iron absorption. II. The interrelation of iron and phosphorus. *J. Exp. Med.* 90:147-156 (1949)
 19. Hsu, P.H.: Complementary role of iron (III), sulfate, and calcium in precipitation of phosphate from solution. *Environ. Letters* 5:115 (1973)
 20. Barton, J.C., Conrad, M.E. and Parmley, R.T.: Calcium inhibition of inorganic iron absorption in rats. *Gastroenterology* 84:90-101 (1983)
 21. Shackelford, M.E., Collinns, T.F.X., Black, T.N., Ames, M.J., Dolan, S., Sheikh, N.S., Chi, R.K. and O'Donnell, M.W.: Mineral interactions in rats fed AIN-76A diets with excess calcium. *Fd. Chem. Toxic.* 32:255-263 (1994)
 22. Forbes, A.L., Adams, C.E., Arnaud, M.J., Chichester, C.O., Cook, J.D., Harrison, B.N., Hurrell, R.F., Kahn, S.G., Morris, E.R., Tanner, J.T. and Whittaker, P.: Comparison of in vitro, animal, and clinical determinations of iron bioavailabil-

- ity: International Nutritional Anemia Consultative Group Task Force report on iron bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* 49:225-238 (1989)
23. Hallberg, L., Brune, M., Erlandsson, M., Sandberg, A. and Rossander-Hulten, L.: Calcium: effect of different amounts on nonheme- and heme-iron absorption in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 53:112-119 (1991)
24. Miller, J: Study of experimental conditions for most reliable estimates of relative biological value of iron in bread. *J. Agric. Food Chem.* 25:154-158 (1977)



實驗用齧齒動物飼料配方 AIN-93G 之 鐵質生體可用率

張美鈴 彭珍芳 蕭寧馨

台灣大學農業化學系

摘 要

美國營養學會於 1977 年訂定齧齒類實驗動物飼料配方 AIN-76，歷經研究人員廣泛利用，由於該配方的一些缺點，乃提出修訂配方 AIN-93。與 AIN-76 比較，AIN-93G 的礦物質配方維持鈣的含量為每公斤 5 公克，但是磷的含量由每公斤 5 公克減少為 3 公克；礦物質配方以碳酸鈣與磷酸二氫鉀取代磷酸氫鈣；鈣磷的莫耳比由 0.75 升高為 1.3。由於鈣的形式與鈣磷的比例可能會影響鐵質的吸收，乃以貧血大鼠血紅素再生法比較 AIN-76 與 AIN-93G 兩種配方的鐵質生體可用率。雄性離乳 Wistar 大鼠經耗鐵貧血後，分組飼以三種含鐵量的 AIN-76 (C6、C12、C18) 與 AIN-93G 飼料 (G6、G12、G18) 以進行血紅素再生，兩週後分析血紅素值，並計算血紅素鐵增加量。雙因子變方分析可見血紅素值與血紅素鐵增加量受配方主效應的影響並不顯著 ($P > 0.1$)。迴歸分析可知再生期之血紅素濃度變化量與添加鐵濃度之間，或血紅素鐵增加量與添加鐵攝取量之間均具有線性關係 ($P = 0.0001$)。根據後者的迴歸係數計算而得之 AIN-93G 的鐵質相對生物價為 94.5。可見 AIN-93G 的鐵質利用效率與 AIN-76 相當，並不因礦物質配方之改變而有大幅的差異。

關鍵詞：鐵生體可用率、齧齒動物、AIN-76、AIN-93G、血紅素再生法

