研究论文

酪蛋白酶解物螯合铁对大鼠的补铁效果试验

孙 宁， 王志耕*， 梅 林， 薛秀恒

（安徽农业大学 茶与食品科技学院，合肥农产品加工研究院，安徽 合肥 230036）

摘要：以甘氨酸亚铁（Fe^{2+}–Gly）为对照，比较研究酪蛋白酶解物螯合铁（Fe^{2+}–Cas hydr）对缺铁性贫血模型大鼠的治疗效应，探讨酪蛋白酶解物螯合铁作为补铁剂的可行性及效应剂量。首先建立缺铁性贫血大鼠模型，再分 Fe^{2+}–Gly 及 Fe^{2+}–Cas hydr（高、中、低）补饲组和常规日粮、低铁纯和日粮对照组，进行为期 36 d 的补铁饲喂试验。检测大鼠体重和血液学指标，分析各试验组对贫血症状的治疗效应。结果显示 Fe^{2+}–Cas hydr 高、中剂量组在 36 d 试验期后，各项血液指标恢复到正常值范围；相同铁剂量的 Fe^{2+}–Cas hydr 与 Fe^{2+}–Gly 贫血恢复效果无显著差异。Fe^{2+}–Cas hydr 在铁计量 1.818~0.363 μg/(g.d)水平之间对缺铁性贫血模型大鼠具有良好的治疗效应。

关键词：酪蛋白；螯合铁；大鼠；补铁；效应

中图分类号：Q 95-33　**文献标志码**：A　**文章编号**：1673—1689(2013)02—0330—06

Experiment on the Effects of HydrolYsed Casein Bound Iron in Iron Supplementation on Rats

SUN Ning, *WANG Zhi-geng*, *MEI Lin*, *XUE Xiu-heng*

(College of Tea&Food Science And Technology, Anhui Agricultural University, Hefei Agrotechny Research Institute, Hefei 230036, China)

Abstract: The objective of this study is to investigate the feasibility and the effective does scope of hydrolysed casein bound iron (Fe^{2+}–Cas hydr) on cure of iron deficiency anemia (IDA) with Ferrous glycinate (Fe^{2+}–Gly) as the control. The IDA model for rat was first established, and then several groups were divided: the the experimental groups with Fe^{2+}–Gly and Fe^{2+}–Cas hydr in high, medium and low doses respectively, the control group with conventional diet and the Fe-deficient diet group. After 36 days, the weight and the hematology index were measured to analyze the effect of each treatment to anemia. It was found that the hematology index of rats in experimental groups with high and medium doses of Fe^{2+}–Cas hydr recovered to normal range, and no significant differences appeared in the treatment effect of Fe^{2+}–Cas hydr and Fe^{2+}–Gly in the same doses. Fe^{2+}– Cas hydr with iron ranging from 1.818 μg/(g.d) to 0.363 μg/(g.d) is most effective in treating anemia.

Keywords: casein, chelated iron, rat, iron supplementation, effective

收稿日期：2012-02-15

基金项目：安徽省奶业产业技术体系资助项目。

*通信作者：王志耕（1956—），男，安徽萧县人，农学学士，教授，主要从事食品科学与工程研究。E-mail：wzhg56@yahoo.com.cn

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

通过对铁吸收机理的研究发现，铁主要通过十二指肠上皮细胞进入血液，参加血红素、运铁蛋白质等的合成。十二指肠上皮细胞的细胞膜由蛋白质和类脂组成，铁离子需要一种载体分子与之形成具有脂溶性表面的螯合物才能穿过细胞膜。

酪蛋白经酶水解可生成多种天然生理活性肽。其中含一类富含丝氨酰磷酸簇的活性短肽：酪蛋白磷酸肽（CPP）。有研究表明，一定条件下 Fe^{2+} 可以与 CPP 螯合，形成一种可溶性络合物——酪蛋白磷酸肽螯合铁（Fe^{2+}–CPP）。铁与酪蛋白酶解物螯合后，能有效提高铁在消化道尤其是小肠中的溶解性，而溶解率的高低与机体吸收铁呈正比[1–2]。同时，酪蛋白酶解物螯合铁可以抵御胃部低 pH 环境和酶引起的分解，保护铁以稳定状态到达小肠上皮细胞[3–5]。

本试验以实验室制备获得的酪蛋白酶解物螯合铁（Fe^{2+}–Cas hydr）为材料，开展缺铁性贫血模型大鼠的动物试验，探讨 Fe^{2+}–Cas hydr 的补铁效应剂量，并以甘氨酸螯合铁（Fe^{2+}–Gly）为对照，比较两种有机物螯合铁对缺铁性贫血大鼠的治疗效应。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂 血清铁（serum iron ，SF）测定试剂盒、血清总铁结合力（total iron binding capacity ，TIBC）测定试剂盒，南京建成生物工程研究所提供；脱脂乳粉，Fonterra Ltd 生产；胰蛋白酶 250 U/g，Sigma 公司生产；Sephadex G–15，Pharmacia 公司生产。

1.1.2 设备 Sepctr AA 220 型原子吸收分析仪，Varian 公司制造；MC99–33 型自动液相色谱分离层析仪，上海青浦沪西仪器厂制造；FD–1CE 冷冻干燥机，北京德天佑科技发展有限公司制造；半自动血常规分析仪，泰安市泰诺科贸医疗器械有限公司制造；TU–1901 型双光束紫外可见分光光度计，北京普析通用仪器有限公司制造。

1.1.3 动物 普通级 SD（Sprague Dawley）大鼠，雌性、健康、4 周龄，体质量 75~86 g，安徽医科大学动物实验中心提供。

1.1.4 酪蛋白酶解物螯合铁的制备 采用等电点沉淀法，以脱脂乳粉为原料制备酪蛋白。将所得酪蛋白与胰蛋白酶按一定比例混合，水解。水解产物在一定条件下以一定比例与 $FeCl_2$ 螯合。螯合物经 Sephadex G–15 脱盐，收集吸光度在 220 nm 吸收峰时的产物，冷冻干燥得 Fe^{2+}–Cas hydr（螯合物已经红外光谱分析证明）。

甘氨酸螯合铁（Ferrous glycinate，Fe^{2+}–Gly）：分子式 $Fe(NH_2CH_2COO)_2$，食品级 Fe^{2+} 质量分数≥20.0%，Fe^{3+} 质量分数≤2.0%，河北东华化工集团提供。

常规日粮和纯合日粮：自配，配方及铁含量（原子吸收法实测值）见表 1。

表 1 试验日粮组成及营养成分

Table 1 Composition and nutrient level of experimental diets

纯和日粮				常规日粮			
日粮成分	质量分数/%	营养指标	质量分数/%	日粮成分	质量分数/%	营养指标	质量分数/%
脱脂乳粉	50.00	消化能/(MJ/kg)	16.32	豆粕	20.00	消化能/(MJ/kg)	16.51
玉米淀粉	23.40	粗蛋白	17.84	小麦	20.00	粗蛋白	17.88
蔗糖	20.50	蛋氨酸 Met	1.00	小麦麸	4.00	蛋氨酸 Met	1.07
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	0.70	赖氨酸 Lys	1.43	玉米	34.00	赖氨酸 Lys	1.34
蛋氨酸	0.55	钙 Ca	0.82	蛋氨酸	0.69	钙 Ca	0.82
大豆油	3.00	总磷	0.61	大豆油	9.50	总磷	0.68
M–premixa[1)]	0.25	铁 $Fe^{3)}$/(mg/kg)	12.00	鱼粉	6.00	铁 $Fe^{3)}$/(mg/kg)	200.00
V–premixb[2)]	0.10			骨粉	3.60		
纤维素	1.00			磷酸氢钙 $CaHPO_4$	0.63		
食盐	0.50			M–premixa[1)]	0.25		
				V–premixb[2)]	0.10		
				食盐	0.5		
				纤维素	0.73		

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

续表 1

注:1)微量元素预混料,不含铁。每千克微量元素预混料含:$MnSO_4·H_2O$,66.5 g;$ZnSO_4·H_2O$,33.9 g;$CuSO_4·5H_2O$,9.7 g;KI (I 质量分数,0.65%),12.3 g;玉米淀粉,877.6 g。常规日粮的加入 $FeSO_4·7H_2O$,69.7 g,玉米淀粉为 808.0 g。

2)维生素预混料。每千克维生素预混料含:V_A,$4×10^7$ IU;VD_3,$1×10^7$ IU;V_E,50 g;V_{K3},50 mg;V_{B1},6 g;V_{B2},6 g;V_{B6},7 g;烟酸,30 g;泛酸,16 g;生物素,0.2 g。

3)铁的含量为实测值,其他为计算值。

1.2 试验方法

1.2.1 建立缺铁性贫血大鼠模型 健康 SD 大鼠 65 只。饲养条件:温度(23±2) ℃,相对湿度(50±10) %。预饲 5 d 后,随机分为正常组 10 只,造模组 50 只。正常组饲喂常规日粮,饮去离子水;造模组饲喂低铁纯和日粮,饮去离子水。所有大鼠自由进食,采用不锈钢笼及塑料饮水罐,试验过程避免铁污染。从第 3 周开始,每 10 d 从造模组中随机选取 30 只大鼠,尾静脉采血测血红蛋白(Hb)含量。当随机选取的大鼠 Hb 全部小于 90 g/L 时,取全部两组大鼠尾血,肝素抗凝,测定血液学指标,称体质量。详见文献[6]。血液学指标包括:血红蛋白(Hb)、红细胞压积(HCT)、红细胞数(RBC)、血清铁(SF)、血清总铁结合力(TIBC)和血清运铁蛋白饱和度(TS)。

1.2.2 补铁试验大鼠分组情况 (1)常规日粮组(正常对照组);(2)低铁纯和日粮组(贫血模型组);(3)Fe^{2+}–Gly 组(阳性对照组)*;(4)Fe^{2+}–Cas hydr 高剂量组(1.818 μg/(g.d))**;(5)Fe^{2+}–Cas hydr 中剂量组(0.363 μg/(g.d))*;(6)Fe^{2+}–Cas hydr 低剂量组(0.073 μg/(g.d))。

注:* 以铁计。本组铁剂量根据成年女性每天适宜摄入量(AI)作为参照系,C 组剂量与 E 组剂量相同。** 设高剂量组铁含量为中剂量组的 5 倍。

1.2.3 补铁试验操作过程 将造模组大鼠随机分为(2)(3)(4)(5)(6)5 个组,每组 10 只,个体喂养。试验期间,(1)组(原正常组)继续饲喂常规日粮,饮去离子水。(2)—(6)组继续饲喂纯和日粮,饮去离子水。(3)—(6)组每日定时供给定量去离子水的同时,向 4 组饮水中分别加入对应剂量的 Fe^{2+}–Cas hydr 和 Fe^{2+}–Gly。记录(3)—(6)组大鼠每日消耗的日粮量和饮水量。恢复试验期间,每 12 d 采全部大鼠尾血测 Hb 浓度。第 37 天,称全部大鼠体重,断颈处死,采动脉血,测血液学指标。

1.2.4 Fe 的生物利用率 (BioFe) 的计算[7] 根据 Fe^{2+}–Cas hydr 各剂量组和阳性对照组补铁试验期每日消耗的饲料量、饮水量,计算(3)—(6)组每只大鼠的总铁摄入量 (total iron intake in per animal, ToFeIn),再综合补铁试验前后(3)—(6)组大鼠的体质量和 Hb 浓度,计算 BioFe。详见文献 [7]。利用 Oliveira 提出的公式计算 BioFe:

$$\text{BioFe}:\frac{(\text{HbFef}^{①*}-\text{HbFei}^{②*})\times 100\%}{\text{ToFeIn}^{③}}$$

注:① HbFef(the final hemoglobin iron)表示最终血红蛋白含铁量,mg; ② HbFei (the initial hemoglobin iron) 表示最初血红蛋白含铁量,mg;③ ToFeIn(the total iron intake) 表示总铁摄入量(补铁期每只大鼠从饲料和补铁剂中摄入铁的总量,mg)。

* HbFe(HbFef and HbFei)的计算公式

$$\text{HbFe}=m_B\times 0.067\times \text{Hb}\times 3.4$$

上式中:m_B 为每只试验大鼠的体质量,g;0.067 为每克体质量的血容量为 0.067 mL,mL/g;Hb 为每只大鼠血红蛋白质量浓度(最初血红蛋白质量浓度或最终血红蛋白质量浓度),g/L;3.4 为每克血红蛋白含铁量为 3.4 mg,mg/g。

1.3 数据统计分析

采用 SAS 软件中的 ANOVA 法进行方差分析和组间比较,试验结果以 mean±SD 表示。

2 结 果

2.1 缺铁性贫血模型建立结果

见表 2。

表 2 建模后正常组与造模组结果比较

Table 2 Comparison of iron-deficient rats with control group(mean±SD)

指标项	正常组	造模组	正常值**	贫血标准 DSA**
建模初体质量/g	78.9±7.5[a]	81.9±6.8[a]		
建模终体质量/g	214.5±4.2[a]	218.4±5.1[a]		
Hb/(g/L)	128.4±3.4[a]	79.0±2.5[b]	120~175	<90
RBC/($\times 10^{12}$/L)	8.8±0.3[a]	5.8±0.5[b]	7.2~9.6	
HCT/(L/L)	0.39±0.04[a]	0.25±0.03[b]	0.39~0.53	
SF/(μmol/L)	16.89±1.34[a]	8.12±0.85[b]	9~29	<10.74
TIBC/(μmol/L)	50.21±3.67[a]	64.88±5.77[b]		>64.44
TS/%*	33.64±4.54[a]	12.65±3.02[b]	45~72	<15

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

注：同一行里字母不相同，差异显著（$P<0.05$）；字母相同，无显著差异（$P>0.05$）。*TS=(SF/TIBC)×100%，下表同。**参照文献[8]中表 4。

表 2 显示，建模前后正常组与模型组体质量无显著差异（$P>0.05$）。正常组血液学指标的 Hb、RBC、HCT、SF、TS 显著高于模型组（$P<0.05$）。模型组的 TIBC 显著高于正常组（$P<0.05$）。模型组 Hb、SF、TIBC、TS 均达到贫血诊断标准，Hb 降到（79.0±2.5）g/L，处于中度贫血状态。

2.2 补铁期间各组血红蛋白的变化趋势

图 1 显示，补铁期间，常规组 Hb 保持在 130 g/L 左右；Fe^{2+}–Cas hydr 高剂量组 Hb 提升幅度最大，试验结束时 Hb 恢复到与正常组一样的水平；Fe^{2+}–Cas hydr 中剂量组与 Fe–Gly 组 Hb 变化趋势基本一致，Hb 恢复到 120 g/L 左右，提升幅度小于 Fe^{2+}–Cas hydr 高剂量组；Fe^{2+}–Cas hydr 低剂量组试验初期 Hb 基本无变化，最终仅提升到（94.3±2.8）g/L；模型组 Hb 处于继续下降趋势，试验结束时下降到（66.8±4.9）g/L，接近重度贫血。

2.3 补铁试验后血液学指标

根据表 3，(5)组与(3)组的 Hb、RBC、HCT 指标无显著差异（$P>0.05$），而两组的 SF、TIBC、TS 值存在显著差异（$P<0.05$）。(4)组的 HCT、SF、TS 指标均显著高于其他组（$P<0.05$），Hb、RBC 指标与(1)组一致（$P>0.05$），但高于其他试验组（$P<0.05$），TIBC 值与(1)组和(5)组一致（$P>0.05$），但显著低于(6)(3)(2)组（$P<0.05$）。(5)组与(4)组相比，除 TIBC 差异不显著（$P>0.05$），其他指标均与(4)组存在显著差异（$P<0.05$）。(6)组 Hb、RBC、HCT、SF、TS 值均显著低于其他组，但显著高于(2)组（$P<0.05$）。

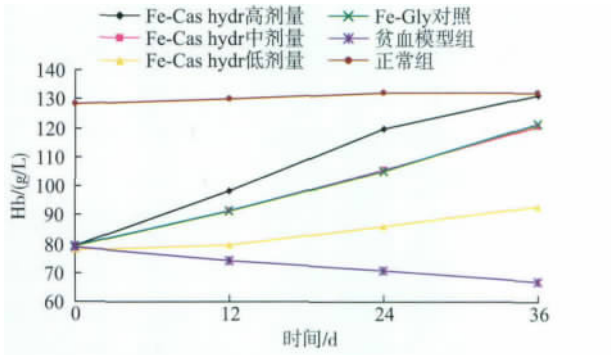


图 1 补铁期间各组血红蛋白含量变化

Fig. 1 Changes of hemoglobin in recovery test

表 3 补铁试验后各组血液学指标比较

Table 3 Haematological index for IDA cure(N=10, mean±SD)

组 别	Hb/(g/L)	RBC/($\times10^{12}$/L)	HCT/(L/L)	SF/(μmol/L)	TIBC/(μmol/L)	TS/%
(4)Fe^{2+}–Cas hydr 高剂量组	131.4±4.2^a	8.92±0.12^a	0.48±0.04^a	18.67±0.37^a	53.33±0.37^d	35.01±0.81^a
(5)Fe^{2+}–Cas hydr 中剂量组	120.7±3.3^b	8.32±0.16^b	0.42±0.01^b	15.94±0.18^c	54.18±0.30^d	29.42±0.49^c
(6)Fe^{2+}–Cas hydr 低剂量组	94.3±2.8^c	7.11±0.26^c	0.30±0.03^c	11.33±0.51^e	62.16±1.16^b	18.24±1.05^e
(3)Fe^{2+}–Gly 对照组	121.5±5.2^b	8.36±0.22^b	0.42±0.03^b	15.40±0.33^d	55.56±0.49^c	27.72±0.81^d
(2)贫血模型组	66.8±4.9^d	5.44±0.23^d	0.24±0.03^d	8.85±0.07^f	71.66±1.04^a	12.35±0.27^f
(1)正常组	132.1±3.5^a	8.89±0.12^a	0.43±0.03^b	18.23±0.14^b	53,81±1.14^d	33.89±0.99^b

注：同一列里字母不同，差异显著（$P<0.05$）；字母相同，无显著差异（$P>0.05$）。下表同。

2.4 铁的生物利用率(BioFe)

结果见表 4。

表 4 试验组铁生物利用率

Table 4 BioFe of the Studies Sources(N=10, mean±SD)

试验组	总铁摄入量/(mg/只)	BioFe 值/%
高剂量 Fe^{2+}–Cas hydr	18.78±1.17	24.20±3.20^c
中剂量 Fe^{2+}–Cas hydr	8.99±0.27	40.55±3.10^a
低剂量 Fe^{2+}–Cas hydr	6.98±0.24	28.95±3.37^b
对照组 Fe^{2+}–Gly	9.74±0.24	38.86±2.53^a

经过 36 d 铁补充试验，Fe^{2+}–Cas hydr 中剂量组与阳性对照组的 BioFe 值差异不显著（$P>0.05$），但显著高于高剂量和低剂量组（$P<0.05$）。Fe^{2+}–Cas hydr 高剂量组的 BioFe 值显著低于 Fe^{2+}–Cas hydr 低剂量组（$P<0.05$）。

3 讨 论

3.1 缺铁性贫血模型建立分析

当每日摄取的铁量少于损失（应补充）的铁量，一段时间后，储备铁用完，血液中 Hb 含量和 RBC

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

会减少,出现不同程度的贫血症状,因此降低日粮中铁含量建立缺铁性贫血模型鼠的方法简单易行。同时,机体会对死去细胞和老旧红细胞中释放的铁进行再利用,该铁与一种蛋白质结合形成运铁蛋白,该蛋白质具有缓冲作用,使短期内缺铁的情况不明显。因此,建模历程要在 30 d 以上,建模效果检查可在 30 d 后开始。

3.2 补铁试验结果分析

研究发现,直接向牛乳中加入铁盐(如 $FeSO_4$),铁离子在消化道中易受牛乳中钙和蛋白质等营养交互作用影响,使铁产生聚合和不溶解。经胰蛋白酶水解的酪蛋白酶解物与 Fe^{2+} 螯合后可以保护 Fe^{2+},避免受其他营养物负面交互作用的影响[9-10]。

现有试验研究结论认为,动物体内铁的营养状况对其吸收铁的能力有显著影响,体内铁贮低时,受试动物对铁吸收能力增强,相反则吸收能力减弱[11-12]。但本次试验并未取得一致结论,本次试验结果表明,动物对饲料中铁的吸收利用可能存在更复杂的调控机理。如本试验中,虽然高剂量组治愈贫血大鼠的贫血症状效应最好,但其 BioFe 值低于其他各试验组。同时,低剂量组的 BioFe 值(28.95%)仅优于高剂量组的(24.20%),却远低于中等剂量组的(40.55%),这有待进一步研究证明。

氨基酸作为铁离子的载体,可以增加铁的溶解性,提高铁在肠腔内的溶解度,促进小肠上皮细胞对铁的吸收[13-15]。根据本试验中甘氨酸铁和等剂量酪蛋白酶解物螯合铁试验组基本一致的补铁效应结果,可推测,氨基酸可能与酪蛋白酶解物具有基本相同的促铁吸收机理。饮食中的铁被十二指肠上皮细胞吸收进入血液后,与一种转运蛋白质结合,形成运铁蛋白质,与运铁蛋白质结合的铁即为血清铁(SF)。未被吸收的外源铁则随尿液和粪便排出体外。本试验中,等铁剂量的 Fe^{2+}–Cas hydr 组的 SF、TS(血清运铁蛋白饱和度)值显著高于 Fe^{2+}–Gly 组,表明,酪蛋白酶解物促进小肠吸收铁的能力强于甘氨酸。但两组的 RBC、Hb、HCT 和 BioFe 值差异不显著,分析原因可能是由于动物红细胞周期性更新和死亡所释放出的铁,部分可作为机体造血原料再利用所致。

有研究表明,酪蛋白经胰蛋白酶解后,除生成 CPP 外还产生具有其他功能的非磷酸肽。这些非磷酸肽会负面影响铁的溶解性,从而影响机体对铁的吸收,因此纯酪蛋白磷酸肽螯合铁的补铁效果应优于酪蛋白水解物螯合铁[16-18]。据此可预测,Fe^{2+}–Cas hydr 经过纯化后所获得的纯 Fe^{2+}–CPP 在相同的铁计量下,效果可能更优于 Fe^{2+}–Gly,这有待试验验证。

4 结 语

Fe^{2+}–Cas hydr 在铁计量为 1.818 μg/(g.d)与 0.363 μg/(g.d)之间有良好的贫血治疗作用。相同铁计量的 Fe^{2+}–Cas hydr 与 Fe^{2+}–Gly 具有同等补铁效果。Fe^{2+}–Cas hydr 在铁计量为 0.073 μg/(g.d)水平下无法改善贫血症状。

参考文献:

[1] Hurell R F,Lynch S R,Trinidad P,et al. Iron absorption in humans as influenced by bovine milk proteins [J]. **Am J Clin Nutr**, 1989,49:546-552.

[2] Lonnerdal B,Glazier C. An approach to assessing trace element bioavailability from milk in vitro [J]. **Biol Tr Elem Res**, 1989,19:57-69.

[3] Baumy J J,Guenot P,Sinbandhit S,et al. Study of calcium binding to phosphoserine residues of β-casein and its phosphopeptide (1-25) by ^{31}PNMR[J]. **Dairy Res**,1989,56:403-409.

[4] Naito H,Suzuki H. Further evidence for the formation of phosphopeptide in the intestinal lunen from dietary β-casein[J]. **Agricul Biol Chem**,1974,38:1543-1545.

[5] Brommage R,Juillerat M A,Jost R. Influence of casein phosphopeptides and lactulose on intestinal calcium absorption in adult female rats[J]. **Lait**,1997,71:173-180.

[6] **保健食品功能学评价程序和检验方法**,18 卷[M]. **北京:卫生部食检所**,1996:783-793.

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

[7] Salgueiro S M J，Arnoldi M A，Kaliski H，et al. Stabilized-Solubilized Ferric PyroPhosphate as a New Iron Source for Food Fortification. Bioavailability Studies by means of the prophylactic-Preventive Method in Rats [J]. **Biol Trace Elem Res**，2009，127：143-147.

[8] **卢蓉蓉，孙震，许时婴. 乳铁蛋白体外和体内铁结合能力的研究**[J]. **食品科学**，2006(5)：113-118.
LU Rong-rong，SUN Zhen，XU Shi-ying. Iron-Binding capacity of lactoferrin in invitroand invio [J]. **FOOD Science**，2006，5：113-118.(in Chinese)

[9] BOTHWELL T H. Overview and mechanisms of iron regulation[J]. **Nutri Rev**，1995，53：237-245.

[10] FAIRWCATHER-Tait S J，SOUTHON S. Studies of iron，zinc interactions in adult rats and the effect of iron fortification of two commercial infant weaning products on iron and zinc status of weanling rats[J]. **Nutr**，1989，119：599-606.

[11] NATHANSON M H，MUIR A，MCLAREN G D. Iron absorption in normal and iron-deficient beagle dogs：mucosal iron kinetics [J]. **Am J physiol**，1985，249：G439-G448.

[12] THANNOUN A M，ARTHUR W M. Heme and nonheme iron absorption from meat loaf By anemic and by anemic and healthy rats[J]. **Nutrition Reports International**，1988，37(3)：487-495.

[13] KROE D，KAUNMAN N. Interrelation of amino acids and pH on intestinal iron absorption[J]. **Am J Physiol**，1966，211(2)：414-418.

[14] **周桂莲，韩友文，滕冰，等. 氨基酸铁在大鼠小肠中的吸收及组织中沉积研究**[J]. **动物营养学报**，2003，15：18-24.
ZHOU Gui-Lian，HAN You-Wen，TENG Bing，et al. Study of iron absorption of iron amino acid chelates：Comparison with the amino acid and $FeCL_2$ mixtore with same moles concentration as the chelates [J]. **Acta Zoonutrimenta Sinica**，2003，15：18-24.(in Chinese)

[15] **周桂莲，韩友文，滕冰，等. 大鼠对氨基酸螯合铁吸收和转运特点的研究**[J]. **畜牧兽医学**，2004，35(1)：15-22.
ZHOU Gui-Lian，HAN You-Wen，TENG Bing，et al. Study if iron absorption and tran-sport of iron amino acid chelate by rats[J]. **Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica**，2004，35(1)：15-22.(in Chinese)

[16] SLATKAVITZ C A，CLYDESDALE F M. Solubility of inorganic iron as affected by Proteolytic digestion [J]. **Am J Clin Nutr**，1988，47：487-495.

[17] KANE A P，MILLER D D. In vitro estimation of the effects of selected proteins on iron on iron bioavailability [J]. **Am J Clin Nutr**，1984，39：393-401.

[18] NABIL Ait-oukhatar，SAiD Bouhallab，FRANCOIS Bureau，et al. Bioavailability of caseinopo sphopeptide bound iron in the young rat[J]. **Nutritional Biochmistry**，1997，8：190-194.

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net