

東海大學畜產與生物科技學系  
Department of Animal Science and Biotechnology  
Tunghai University

# 博 士 論 文

Doctor Thesis

鐵劑種類、機能性添加物及包裝保存條件對  
鐵強化乳粉鐵質生物可利用效率之影響  
Effect of Different Iron Source, Functional  
Ingredients, Package and Storage Condition on Iron  
Bioavailability of Iron Fortified Milk Powder

指導教授：周繼發 博士  
Advisor：Chi-Fa Chow, Ph. D.

研究生：李丹昂 撰  
Graduate Student：Tan-Ang Lee

中華民國一百零五年一月  
Jan, 2016

鐵劑種類、機能性添加物及包裝保存條件對  
鐵強化乳粉鐵質生物可利用效率之影響

Effect of Different Iron Source, Functional  
Ingredients, Package and Storage Condition on Iron  
Bioavailability of Iron Fortified Milk Powder

# 博 士 論 文

Doctor Thesis

指導教授：周繼發 博士  
Advisor：Chi-Fa Chow, Ph. D.

李丹昂  
Tan-Ang Lee

東海大學畜產與生物科技學系  
Department of Animal Science and Biotechnology  
Tunghai University

中華民國一百零五年一月  
Jan, 2016

# 致謝

學生不才，今日有幸能完成博士學業及論文，承蒙恩師周繼發老師於專業領域與待人處世上啟蒙與指導，並不厭其煩糾正學生缺點，且給予最有力之支持與鼓勵，使學生於此環境中，能克服種種，在此致上學生最高的敬意與由衷謝忱。

復蒙口試委員羅能文博士、蘇和平博士、曾再富博士、徐詮亮博士於論文口試期間詳細審閱及斧正，並提供多方面寶貴意見，使學生獲益良多，並順利完成論文，特此謹致謝忱。

在學期間承蒙系上各位老師們在各領域之課業及思維上給予相當之指正與期許，學生深表感謝。助教、實驗室同伴、同學及學弟妹，非常感謝您們給予的溫暖與各方面協助或解惑，使我在東海時倍感溫馨，充滿美好回憶，此外在學期間承蒙公司許多同事給予支援與激勵，謹此獻上由衷的謝意。

最後，本論文獻給我最親愛的家人，感謝支持與愛護，作為我人生中重要之精神支柱及強而有力的依靠。要感謝的貴人實在無法一一勝數，僅以誠摯的敬意感謝所有人。

李丹昂 謹誌

東海大學畜產與生物科技學系

中華民國 105 年

# 目次

## 頁次

I、中文摘要.....	01
II、前言.....	03
III、文獻檢討.....	04
IV、試驗目的、設計與材料方法.....	39
V、結果與討論.....	65
VI、結論.....	121
VII、參考文獻.....	122
VIII、英文摘要.....	135
IX、作者小傳.....	137
X、附錄.....	138

# 圖次

## 頁次

圖 1. 小腸細胞吸收鐵之機制.....	10
圖 2. 不飽和脂肪酸氧化之過程.....	28
圖 3. 全脂乳粉品質裂變反應之相互關係.....	33
圖 4. 試驗分組及流程圖.....	46
圖 5. 鐵透析與還原能力代表數值關係圖.....	49
圖 6. 試驗分組及流程圖.....	54
圖 7. 試驗分組及流程圖.....	57
圖 8. 試驗分組及流程圖.....	61
圖 9. 氯化鐵( $\text{Fe}^{3+}$ )5-50 ppm 還原為二價鐵( $\text{Fe}^{2+}$ )之 510 nm 標準檢量曲線.....	66
圖 10. 脂肪含量對於鐵強化乳粉之體外生物利用性(DFeII、TDFe、NDFeII)影響.....	68
圖 11. 脂肪含量對於鐵強化乳粉之體外生物利用性(DFeII + NDFeII、DFeII/TDFe ratio)影響.....	72
圖 12. 不飽和脂肪酸添加物對二價鐵劑強化乳粉之體外生物利用性(DFeII、TDFe、NDFeII)影響.....	76
圖 13. 不飽和脂肪酸添加物對二價鐵劑強化乳粉之體外生物利用性(DFeII + NDFeII、DFeII/TDFe ratio)影響.....	78

- 圖 14. 不飽和脂肪酸添加物對三價鐵劑強化乳粉之體外生物  
利用性(DFeII、TDFe、NDFeII)影響.....79
- 圖 15. 不飽和脂肪酸添加物對三價鐵劑強化乳粉之體外生物  
利用性(DFeII + NDFeII、DFeII/TDFe ratio)影響.....80
- 圖 16. 不飽和脂肪酸添加物對混合鐵劑強化乳粉之體外生物  
利用性(DFeII + NDFeII、DFeII/TDFe ratio)影響.....82
- 圖 17. 不飽和脂肪酸添加物對混合鐵劑強化乳粉之體外生物  
利用性(DFeII + NDFeII、DFeII/TDFe ratio)影響.....83
- 圖 18. 含氧包裝與保存時間對鐵強化乳粉之體外生物利用性  
(DFeII、TDFe、NDFeII)影響.....88
- 圖 19. 含氧包裝與保存時間對鐵強化乳粉之體外生物利用性  
(DFeII + NDFeII、DFeII/TDFe ratio)影響.....90
- 圖 20. 無氧包裝與保存時間對鐵強化乳粉之體外生物利用性  
(DFeII、TDFe、NDFeII)影響.....93
- 圖 21. 含氧包裝與保存時間對鐵強化乳粉之體外生物利用性  
(DFeII + NDFeII、DFeII/TDFe ratio)影響.....95
- 圖 22. 鐵強化乳粉保存期間脂質安定性之變化.....101
- 圖 23. 鐵強化乳粉保存期間顏色與褐化指數之變化.....104
- 圖 24. 鐵強化乳粉保存期間 AGEs 化合物含量之變

化.....	108
圖 25. 鐵強化乳粉保存期間水分及水活性之變化.....	111
圖 26. 鐵強化乳粉保存 8 個月後外觀之變化.....	115
圖 27. 鐵強化乳粉保存 8 個月後掃描式電顯圖.....	116
圖 28. 鐵強化乳粉保存 8 個月後官能品評分析.....	119

# 表次

## 頁次

表 1. 國人之每日鐵參考攝取量.....	07
表 2. 不同鐵強化食品中建議添加之鐵劑.....	16
表 3. 鐵強化乳製品中之鐵劑.....	17
表 4. 可應用於乳製品強化之鐵化合物.....	20
表 5. 試驗乳粉配方.....	52

# I、中文摘要

本研究以市售乳粉為材料，添加維生素與不飽和脂肪酸 EPA 及 DHA 等機能添加物後，探討鐵質來源(二價亞硫酸鐵、三價氯化鐵及二價與三價各 50% 之混合鐵劑)、脂肪含量(0.3、1.5 及 3.5%)與不同方式包裝下(一般包裝及真空包裝)，藉體外酵素水解試驗探討保存期間其鐵質生物利用效率之變化，以可透析二價鐵(DFe(II))、可透析總鐵(TDFe)、未透析二價鐵(NDFe(II))及總二價鐵(DFe(II)+NDFe(II))四項數值作為評估指標。結果顯示，3.5%脂肪含量處理組有最高之鐵質生物利用效率，EPA 的添加則可提高鐵質在乳粉中的生物利用性，隨著保存時間之延長，乳粉中之鐵質生物價亦會增加，特別是針對二價鐵質之部份具有穩定之效果(DFe(II)+NDFe(II))。另一方面，藉由分析粉體氧化及褐變方面數值，探討鐵劑、添加物與保存方法對儲存期間鐵強化乳粉穩定性，結果顯示，九個月保存期間無論保存方式如何，游離脂肪酸皆有增加之趨勢，相對於無氧保存下具穩定的 TBA 數值，有氧保存時則 TBA 值會隨時間延長而上升，不同鐵劑組別方面則以三價鐵劑乳粉組有較差的脂質安定性。此外，褐變性、水分及水活性在有氧保存下且含鐵劑之組別，都有顯著性的變化。以掃描式電子顯微鏡觀察三價鐵劑乳粉組發現有較大量的多孔性結構。綜合以上結果，三價鐵劑強化乳粉在粉體穩定性上有較差的保存性，但可以

藉由無氧包裝之方法來改善，此試驗結果亦提供鐵質強化乳粉在開發時，如何兼具保存時粉體品質與鐵質利用性之參考依據。



## II、前言

鐵對人類而言，為維持正常生理功能所必須之微量元素，卻亦為全世界人口最常缺乏之營養素(Rosenzweig *et al.*, 1999)，乳粉營養分佈均勻且可長期保存於室溫環境便利性高，唯獨鐵之含量缺乏，因此商業上乳粉常見伴隨著鐵強化等訴求，但研究指出，在食品貯存期間，鐵的存在具有促進氧化之效應(Fenton reaction)進而引發食品之劣變(Xu and Chastee, 1991)，另一方面，為達到提高乳製品之營養完整性，市面上鐵強化乳粉商品除鐵劑添加外，亦添加多種機能性添加物質如維生素及不飽和脂肪酸類，此類添加物除會影響鐵強化乳粉之鐵利用效率，亦有可能對於粉體之風味、外觀及保存性造成影響。故此等情形啟迪吾人進行探究之動機，在鐵強化乳粉貯存過程中，是否會因保存時間長短、添加鐵劑種類及保存方式之不同，而造成鐵之生物利用效率及乳粉粉體穩定性發生改變等。本研究藉體外消化試驗、氧化及褐變分析數值，探討鐵強化乳粉在保存期間鐵利用效率及粉體穩定性之變化情形，期藉由上述研究結果，釐清當市售乳粉進行鐵強化時，鐵劑種類、保存方式及保存時間對於粉體所形成的各種影響，並進一步能應用於商業上鐵強化乳粉之產品開發、保存期之預測及提高產品之品質。

### III、文獻檢討

#### 一、鐵之型態與重要性

##### (一) 自然界中鐵之型態

自然界中之鐵形式依其化學結構主要可分為三價鐵及二價鐵，食物中的鐵質依其化學結構可分為血紅素鐵(heme iron)與非血紅素鐵(non-heme iron)兩大類。血紅素鐵主要存在血紅素與肌紅素當中，其主要來源以動物性肉類食品為主，動物體對血紅素鐵吸收率高，且不受其他食物成份之影響，其吸收率約15~40%。非血紅素鐵則普遍存在於植物性食品及市面上常見的鐵添加劑等。乳製品與蛋品中之鐵主要亦為非血色質鐵(Monsen *et al.*, 1978; Craig, 1994)，其吸收率偏低，通常低於10%，且易受外在環境因素或其他食物成份的影響而影響其生物利用性(Kalpalathika *et al.*, 1991)。兩者吸收率之差異原因，主要因血色質鐵與非血色質鐵在小腸中吸收機制不同(Conrad *et al.*, 1999)，小腸上具特殊血色質結合位置(specific heme-binding sites)，故吸收利用性不易受飲食中抑制因子之影響，且小腸中具有血色質氧化酶(heme oxygenase)負責分解血色質鐵並釋出鐵，因此血色質鐵較非血色質鐵能被腸道粘膜細胞(enterocytes)直接吸收(Pizarro *et al.*, 2003)。

## (二) 鐵之重要性

鐵質在人體內的功能主要為製造紅血球，同時亦在能量供應系統中扮演了重要的角色。鐵質是紅血球中血紅蛋白之主要成份，血紅蛋白是由球蛋白硫鍵結合四分子血紅素組成，亦是人體最重要的含鐵部分，參與體內細胞氧氣運送循環功能。肌紅蛋白是肌肉中鐵與蛋白之複合體，亦可貯存氧氣供細胞隨時所需。此外，其他如血基質酵素(heme enzymes)，氫離子傳遞鏈中的細胞色素，過氧化氫分解酵素、過氧化酵素，或是作為酵素的輔助因子(cofactor)等，都需要鐵質的存在；這些酵素參與了體內許多重要的生化反應，其中有些更可消除體內的自由基(free radical)而達到防止疾病之產生，為生物體內重要的防禦機制，當缺乏鐵質時，直接影響到體內紅血球的製造效率，進而影響氧氣的輸送，最終使身體之新陳代謝作用受到影響，其症狀包含到疲倦、頭昏、暈眩、呼吸急促、心悸及免疫力降低等現象(Rosenzweig *et al.*, 1999；Yip *et al.*, 1988)。

人類對於鐵質之需求會因不同年齡層或生理情形不同而異。懷孕婦女與行經婦女屬於較高量的鐵需求族群，例如行經婦女若要達到 15 mg/d 的攝取量，則必須在膳食中額外的添加。若以典型膳食每 1,000 千卡熱量大約含鐵 6 mg 來做為計算標準，達到 15 mg 的鐵質，則必須攝取 2,500 千卡的熱量，此卻超過了大多數婦女的一日熱量的

需要量，因此一般婦女鐵質攝取量顯然低於其需要量。表 1 為我國鐵之營養參考攝取量(行政院衛生署，2002)，鐵之需求量可歸納為幾個時期，亦即嬰兒時期約 7-10 mg/d、兒童時期約 10mg/d、青少年時期約 15 mg/d、男性與非經期婦女約 10 mg/d、經期婦女約 15 mg/d、妊娠婦女約 45 mg/d，從表可看出妊娠、經期婦女、青少年對鐵之需求量較高。

另外，據調查在國內目前約有40%左右的民眾，有潛在缺鐵性貧血的症狀，尤其是在婦女更高達55%左右。整體而言，四歲以上的國人總缺鐵率為男性2.1%，女性10.7%；缺鐵性貧血率為男性0.2%，女性2.1%，國人缺鐵以無貧血症狀之缺鐵性貧血為主（蕭等，1999；蕭，2001）。短期膳食中不足鐵質尚能維持正常的血紅蛋白濃度，但長期下來則易造成體內貯存鐵質的不足，而有潛在性貧血之危機（Martin *et al.*, 1996；Sawaya *et al.*, 1996）。

表 1. 國人之每日鐵參考攝取量

Table 1. Dietary reference intakes of iron in Taiwan

營養素	鐵
單位	毫克(mg/day)
年齡	男/女
0 月~	7
3 月~	7
6 月~	10
9 月~	10
1 歲~	10
4 歲~	10
7 歲~	10
10 歲~	15
13 歲~	15
16 歲~	15
19 歲~	10/15
31 歲~	10/15
51 歲~	10
71 歲~	10
懷孕第一期~第二期	+0
懷孕第三期	+30
哺乳期	+30

(行政院衛生署，2002)

(註)日常國人膳食中之鐵質攝取量，不足以彌補婦女懷孕、分娩失血及泌乳時之損失，建議自懷孕第三期至分娩後兩個月內每日以鐵鹽供給 30 毫克之鐵質。

### (三) 動物體鐵吸收之機制

動物體吸收鐵質之機制如圖1所示，天然食物中鐵的形式主要以非血色質三價( $\text{Fe}^{3+}$ )鐵存在，當飲食中三價鐵離子在胃中的酸性條件或維生素C的作用下可被還原成二價鐵( $\text{Fe}^{2+}$ )，另一途徑則可在十二指腸絨毛膜經由酵素ferric reductase Dcytb (duodenal cytochrome *b*) 還原成二價鐵，二價鐵經過十二指腸絨毛膜上之運鐵蛋白(divalent metal transporter 1, DMT1)進入小腸細胞內，進入細胞的鐵以鐵蛋白(ferritin)之形式進行貯存，或與蛋白質mobilferrin結合而穿越細胞至小腸另一端，經由鐵運送蛋白Ireg1將鐵送出細胞，再由鐵氧化酵素hephaestin將它再氧化成三價鐵，三價鐵可與血液中的轉鐵蛋白(apotransferrin)結合，進入血液循環到達肝臟貯存，或到其他組織供細胞利用(Sharp and Surjit, 2007)。若為血色質鐵，則可以直接由運輸蛋白(heme carrier protein 1, HCP1)吸收至小腸細胞內，再以二價鐵形式以運鐵蛋白方式來在體內貯存。當人體內紅血球生成(erythropoiesis)加速時，鐵質自血循環中飽和的運鐵蛋白中釋出，以合成血紅素，因而運鐵蛋白飽和度下降，其攜帶鐵質之功能增加，並且有更多的運鐵蛋白接受體移動到腸黏膜細胞表面，使其吸收率增加(Lieu *et al.*, 2001)。

在胃和十二指腸上段的酸性環境中，三價鐵離子易被還原成溶解度較大且易於吸收的二價鐵離子；反之，若二價鐵離子逐漸在胃、黏

膜細胞與血液中發生氧化作用，生成三價鐵離子，放出具高度活性能破壞細胞酵素的自由基（free radical），若自由基產生過多則會對正常細胞造成傷害；而未被氧化的二價鐵離子以被動吸收的方式，進入黏膜細胞與血液中，其吸收情形則完全依賴鐵離子在腸胃與黏膜細胞表面之濃度梯差及其吸收時間長短而定（Jacobs, 1987）。此外，二價鐵離子會與白蛋白結合，快速生成血漿鐵，不需運鐵蛋白運送，然部分解離之鐵離子易與食物中的碳水化合物、植酸（phytate）、單寧酸（tannic acid）與如四環素、阿斯匹靈等藥物而生成不溶性的化合物，不利吸收（Fleming *et al.*,2001； Hurrell *et al.*,1989）

#### （四）評估鐵強化食品生物利用性之方法

現今食品中鐵之生物可利用效率之評估方法可分為體外(*in vitro*)測量法、動物試驗與人體試驗三種。

體外測量法則又有體外消化透析法(*in vitro* digestion and dialysis)與體外消化Caco-2細胞攝鐵法(*in vitro*/Caco-2 cell culture model)。

##### 1.體外消化透析法（*in vitro* digestion and dialysis）

體外消化透析法是根據人體對鐵吸收理論之基礎，食品中鐵需具備可溶性、小分子的化合物才可能被人體吸收的原理(趙等，2005)。採用模擬胃腸消化作用之條件係利用酵素將食物消化分解後，以分子量 6,000-8,000 之透析膜分離小分子含鐵成分，透析進去袋內的稱為

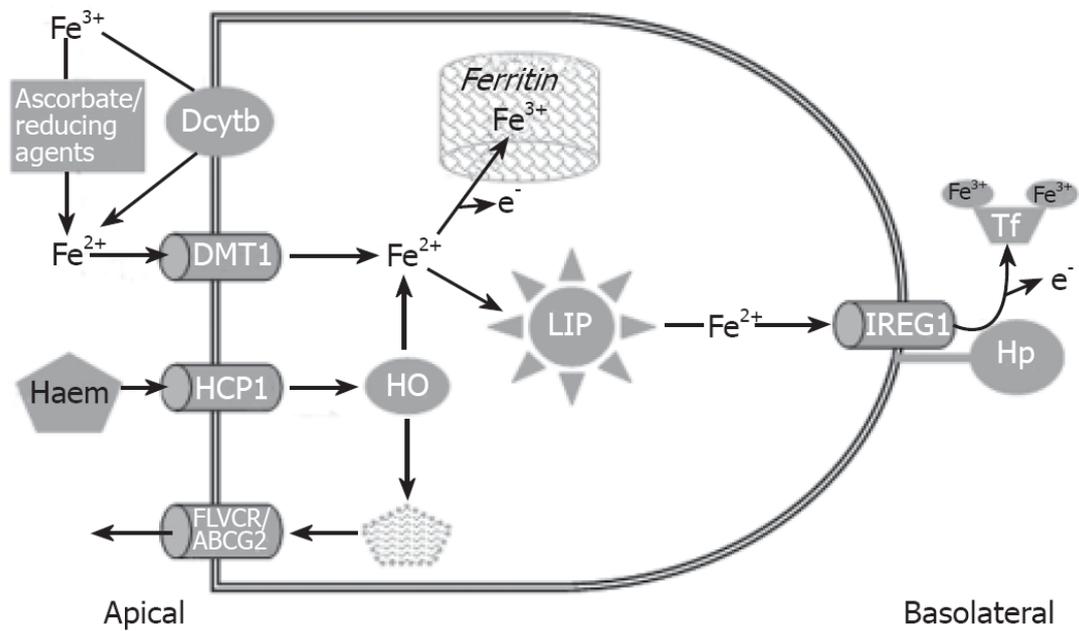


圖 1. 小腸細胞吸收鐵之機制。

**Fig. 1.** The cellular mechanisms involved in intestinal iron absorption.

(Sharp and Surjit, 2007)

「可透析鐵」(dialyzable iron)，與為被透析的鐵相比，測量其比例以間接代表鐵可用率，所得之結果與人體試驗中鐵吸收率具有顯著相關性。

趙等(2005)將其方法加以修飾後，應用於比較各種畜產品蛋白質對鐵之還原力與利用性。由於動物體內並無主動排泄鐵的途徑，故體內鐵平衡狀態成為調節鐵吸收之主要關鍵，當人體缺鐵時，無論是血色質鐵或非血色質鐵，其吸收率均會增加，且鐵質生物利用性與二價鐵於小腸時的濃度函數相關，當二價鐵濃度高時，鐵生物利用性亦高(Slatkvitz and Clydesdale, 1988)。在此條件下，鐵質經一連串消化作用後，至小腸能否維持可溶性二價鐵，則成為影響人體鐵吸收率優劣中最重要的一環。因此，於體外消化試驗，能測得總可溶性鐵濃度，藉由分子量的篩選，進一步分析可透析鐵量，做為鐵質吸收率的趨勢表現。在此過程中，亦可觀察試樣對三價鐵的還原能力，以供飲食攝取之參考。此系統與動物試驗相比，其優點為成本低、影響因子少與實驗週期短。

## 2.體外消化Caco-2細胞攝鐵法(*in vitro*/Caco-2 cell culture model)

體外消化Caco-2細胞攝鐵法除了利用模擬胃腸消化作用之條件與透析膜分離小分子含鐵成分之外，額外再加上細胞模式以模擬小腸腸壁細胞之吸收作用，被細胞吸收之鐵可誘導細胞內鐵蛋白之生合

成，兩者有正相關性，結果以鐵蛋白量代表鐵可用率(Han *et al.*, 1998)。Caco-2細胞源為此試驗最好的細胞材料，其源自人類大腸腺細胞瘤(colon adeno-carcinoma)，會自發性分化，並擁有許多人類小腸細胞的特性，包括極化(polarization)的型態、形成微絨毛(microvilli)與間隙(tight junction)，細胞內有貯鐵用之鐵蛋白，並且具有與鐵吸收相關的DMT1、HFE等各種蛋白質，多種促進或抑制鐵吸收之成分可影響其攝鐵作用，與小腸之反應相似。鐵蛋白(ferritin)是細胞中儲存鐵的蛋白質，小腸細胞將鐵攝入後，可將鐵先暫時儲存於鐵蛋白中以供細胞利用，或將鐵再經由basolateral site 的鐵運送蛋白送出細胞，至體內其他組織利用。小腸細胞中鐵蛋白的含量可以反映細胞的鐵營養狀況。故經由測定Caco-2 細胞中鐵蛋白的濃度，可以反映細胞中的鐵量(Glahn *et al.*, 1998)。在美國國家衛生院(The Office of Dietary Supplements)的研討會中，此法被認為具有高度的應用價值，所測得之結果與人體鐵吸收率顯著相關。

### 3.動物試驗

動物試驗法較為普遍採用「大鼠血紅素再生法」(rat hemoglobin repletion bioassay)。其原理是利用缺鐵貧血大鼠對食物鐵質有最大的吸收能力，並且優先用於合成血紅素，故飼以含鐵食物或化合物後，追蹤其血紅素濃度之增加，可以反映食物之鐵可用率，可用來區別不

同鐵源的利用效率。此法屬於『終點』(endpoint)測量法，符合鐵可用率的定義。國際營養性貧血顧問小組 (International Nutritional Anemia Consultative Groups) 曾經比較 AOAC 法與人體試驗測得之鐵可用率，發現兩者顯著相關，可作為人體鐵可用率之參考。動物實驗法之主要限制是不適合評估促進鐵吸收之成分，因為缺鐵貧血大鼠的鐵吸收率很高，因此當欲探討在食品當中影響鐵生物利用效率之因子試驗時，容易因試驗材料本身之因素而掩飾其他促進或抑制因子的效果，加上動物試驗，成本高、試驗單位個體差異大、內在影響因子多且實驗週期長。

#### 4.人體試驗

人體試驗可以直接反映食品內之鐵之可利用效率，是評估食品中鐵劑生物利用性的最佳指標。其原理為利用放射性同位素鐵追蹤定量，但此等方法實際實行層面來看卻有困難。目前較為可行的方法是以缺鐵貧血者為試驗對象，提供促進鐵吸收之鐵強化食品，並定期追蹤血紅素等鐵營養相關指標之數值，以此來評估食物中鐵的生物利用率。

## 二、鐵強化乳粉開發之評估

由於全球鐵缺乏之問題分佈普遍，因此鐵強化食品目前已廣泛被應用在麵製品、穀類製品及果汁飲料食品中，世界衛生組織(WHO)

表 2. 不同鐵強化食品中建議添加之鐵劑

Table 2. Suggested iron fortification compounds for different food vehicles

Food vehicle	Fortification
	Dry ferrous sulfate
Low extraction wheat flour or degermed corn flour	Ferrous fumarate Electrolytic iron Encapsulated ferrous sulfate
High extraction wheat flour, corn flour, corn masa flour	NaFeEDTA Ferrous fumarate Encapsulated ferrous sulfate
Pasta	Dry ferrous sulfate
Rice	Ferric pyrophosphate
Dry milk	Ferrous sulfate plus ascorbic acid
Fluid milk	Ferric ammonium citrate Ferrous bisglycinate
Cocoa products	Ferrous fumarate Ferric pyrophosphate
Salt	Encapsulated ferrous sulfate Ferric pyrophosphate
Sugar	NaFeEDTA
Soy sauce, fish sauce	NaFeEDTA Ferrous sulfate plus citric acid
Juice, soft drinks	Ferrous bisglycinate Ferrous lactate
Bouillon cubes	Micronized ferric pyrophosphate Ferrous sulfate
Cereal based complementary foods	Encapsulated ferrous sulfate Ferrous fumarate Electrolytic iron
Breakfast cereals	Electrolytic iron

(World Health Organization, 2006)

近期亦提供鐵強化食品開發時之建議指導項目(表2)，其中包含了可應用於鐵強化開發的食品品項與分別建議使用的鐵劑種類等，其考量到不同種類食物由於其本身成份與其比例不同，因此在開發鐵強化產品時，所建議使用的鐵劑亦不相同。牛乳為營養價值極高之食品，唯獨其內鐵含量稀少，每公斤的牛乳約只含有0.2 mg之鐵(Flynn, 1992)，Fransson and Lonnerdal (1983)指出，牛乳中大多數之鐵分別結合於脂肪球膜(14%)、酪蛋白(24%)、乳清蛋白質(29%)，其中包含了乳鐵蛋白(含量為0.01–0.05 mg/mL)，其餘鐵則以小分子的鹽類型態存在於牛乳中如檸檬酸鐵及無機磷(inorganic phosphate)等，另一方面牛乳中的鐵含量多寡取決於泌乳牛之品種，無法藉由飼料的強化而增加乳中含鐵量，欲達到提高乳製品之鐵含量，唯有藉由額外添加鐵劑之方式方可進行，因此在商業上鐵強化乳製品的開發具有高市場價值，但商業上鐵劑種類甚多，欲開發鐵強化乳製品選擇適當之鐵劑即為首要課題。當對液體乳或乳粉進行鐵強化時，WHO建議使用硫酸亞鐵、枸橼酸鐵銨、甘胺酸鐵及焦磷酸鐵等鐵劑添加(表2)，而目前亦有相關之研究報導對各種不同類型之鐵強化乳製品(嬰兒配方乳、成人乳粉、液體乳、乾酪及優酪乳等)之開發策略(表3)，其包括鐵劑的選擇、添加的劑量(從10 mg/100mL sample到160 mg/kg sample)與開發時需注意之事項(脂質氧化及品質劣變等問題)。另一方面，由於為提高其

表3. 鐵強化乳製品中之鐵劑

Table 3. Fortification iron in dairy products

Food	Iron form	Doses	Special mention of determined aspects
Infant formulas	Ferrous sulphate		Oxidative stability
Whole milk powder	Ferrous sulphate		Improve oxidative stability
Milk	Ferrous sulphate Ferrous sulphate encapsulated with lecithin		
Cheese	Iron casein Ferric chloride		Sensory evaluation
Ras cheese	Iron citrate Iron chloride	40, 80 and 120 mg Fe/kg	Physicochemical analysis
Mozzarella cheese	Iron gluconate Casein chelated Iron	sample 25 and 50 mg Fe/kg sample	Physicochemical analysis
White soft cheese	Electrolytic iron Ferrous sulphate	60, 80 and 120 mg Fe/kg	Physicochemical and sensorial analysis
Havarty style cheese	Ferrous sulphate Ferrous sulphate plus ascorbic acid	40 mg Fe/oz	Oxidative stability and oxidize flavor
Cheddar cheese	Ferric chloride Casein chelated Iron	40 mg Fe/kg sample	Fat oxidation for Fe
Yogurt	Ferric chloride	10 mg Fe/100 mL	Sensory evaluation
Edam cheese	Ferrous sulphate Ferric chloride	160 mg Fe/kg sample	Physicochemical and sensorial analysis
Flavored yogurt	Ferrous sulphate	10, 40 and 60 mg Fe/L sample	Sensory evaluation of shelf life

(Martínez-Navarrete *et al.*, 2002)

營養功能性，乳粉商品常添加多種機能性添加物質如維生素、礦物質及不飽和脂肪酸等，有研究學者指出此等機能性添加物質對於鐵強化乳粉中鐵質生物利用效率會有抑制或促進之效果，此外消費者食用乳粉之習慣往往為產品開封後於室溫保存達數月甚至一年，此對於鐵強化乳粉中鐵劑是否為影發促氧化效應，在開發鐵強化乳粉此類型商品時亦須考慮。

### (一) 鐵劑之選擇

鐵強化乳製品開發首要問題為選擇適當之添加鐵劑，商業化之鐵劑依照鐵之形式不同可分為四類(表 4)分別為二價鐵劑、三價鐵劑、元素鐵及蛋白質結合鐵劑。

在早期的研究中，膳食中添加硫酸亞鐵比起添加焦磷酸鐵(ferric pyrophosphate)或磷酸鐵(ferric phosphate)之鐵強化乳於大鼠的動物試驗中有較高的血球比容與增重(Demott, 1971)。同時進一步若將亞硫酸鐵應用在以牛乳模擬的嬰兒配方中，其大鼠對於鐵的生物可利用性約為26%(Theuer *et al.*, 1973)。此外以不同的鐵劑如檸檬酸亞鐵(ferrous citrate)、葡萄糖酸鐵(ferric gluconate)、乳酸亞鐵(ferrous lactate)、甘油磷酸鐵(ferric glycerol phosphate)、電解鐵(electrolytic iron)與羰基鐵(carbonyl iron)添加在以牛乳為基礎之配方中，其鐵的利用性亦高於不含牛乳的亞硫酸鐵溶液中(Theuer *et al.*, 1973；Clemens, 1981)。

表 4. 可應用於乳製品強化之鐵化合物

Table 4. Some iron compounds used in fortification of dairy products

<b>Ferrous salts</b>	<b>Ferric salts</b>	<b>Elemental iron</b>	<b>Iron-binding proteins</b>
Sulfate	Sulfate	Carbonyl iron	Lactoferrin
Chloride	Chloride		Iron-whey proteins
Gluconate	Citrate		Iron-caseinate
Ammonium sulfate	EDTA		Iron-protein succinylate
Fumarate	Orthophosphate		Iron-phosphopeptide
Carbonate	Pyrophosphate		
Lactate	Nitriloacetate		
Saccharate	Lactobionate		
	Ammonium citrate		
	Ammonium sulfate		
	Choline citrate		
	Glycerophosphate		
	Glycine		
	Fructose		
	Citrate phosphate		
	Gluconate		
	Polyphosphate		

(Lee and Clydesdale, 1979)

林等人(2007)利用不同種類之鐵劑如硫酸亞鐵(ferrous sulfate)、反丁烯二酸亞鐵(ferrous fumarate)、氯化亞鐵(ferrous chloride)、羰基鐵(carbonyl iron)、Iron asporotate、胺基酸螯合鐵(amino acid chelated iron)、氯化鐵(ferric chloride)與焦磷酸鐵(ferric pyrophosphate)等添加於脫脂牛乳中進行體外消化透析試驗，篩選出生物利用性佳之鐵劑，在可透析二價鐵DFe(II)、可透析總鐵(DTFe)、未透析二價鐵NDFe(II)及總二價鐵DFe(II)+NDFe(II)等指標評估下，二價鐵劑以胺基酸螯合鐵、硫酸亞鐵與反丁烯二酸亞鐵有較佳之鐵質利用率，三價鐵劑則以氯化鐵之鐵質利用率較佳，另外於全脂牛乳中，則以硫酸亞鐵之生物利用性最佳。而對於牛乳外觀與風味的影響則以硫酸亞鐵及反丁烯二酸亞鐵影響較小。由此可知牛乳對於鐵生物可利用性之影響除了取決於本身的乳成分，在鐵的化學形式上也是重點之一，因此選擇適宜之鐵劑，對於在開發鐵強化乳製品是有相當重要的影響。

## (二) 乳粉成份比例的考量

牛乳中之成份已知會影響其營養性及風味與相關應用商品之外觀與質地，而目前亦有部份研究指出當開發鐵強化乳製品時，其乳之成份比例分佈對於鐵之生物利用性會有相當程度之影響。

研究結果顯示，若個體從飲食中攝取豐富的乳製品時，則其體內鐵的儲存含量會較飲食中只攝取一些或完全沒有乳製品的人來的低

(Gleerup *et al.*, 1995)。另有研究指出，若欠缺鐵劑之額外補充而增加乳製品的攝取，可能對於孕婦在生理機能上會有些微負面的影響，此現象或許可以將鐵質吸收率的減少歸咎於乳製品中維生素 C 之缺乏 (Lynch, 2000)。另一方面有研究以 30 mg 的硫酸亞鐵添加於 180 mL 的牛乳中給予小孩攝取，結果顯示鐵的平均吸收率從 15% 降至 5%。其中較令人感興趣的是，若以相同之實驗方法將鐵劑添加於 100 mL 柳橙汁中，鐵的可利用性卻因此而提升 (Schultz and Smith, 1958)，其推測可能與維生素 C 或牛乳中之成份有關。在早期曾有研究者針對母乳是否可促進成年人鐵質的利用性作一探討，利用以放射線標定後之鐵劑添加於母乳與牛乳，待成人攝取後，測定其紅血球細胞與鐵的結合力做為鐵吸收率的比較值，結果顯示母乳的鐵利用性為 21%，高於牛乳 14% (McMillan *et al.*, 1977)。此結果之差異是否是因母乳及牛乳間組成份比例之不同而導致其鐵質吸收率之差異性，同時另有類似之研究係餵飼離乳大鼠鐵強化的牛乳與母乳，其結果亦顯示後者之鐵吸收率亦高於前者兩倍 (Barton *et al.*, 1983)。

Yeh 等人 (2009) 藉體外消化試驗探討不同乳糖與不同乳清蛋白對酪蛋白比例配方對三價鐵質生物利用性之差異，發現當配方中含高濃度乳糖如 6.0 與 7.2% 對三價鐵具有較佳的還原能力，其機制可能為乳糖亦可經由小腸中微生物作用而產生乳酸使 pH 值降低，促進小腸對

二價金屬離子的吸收，如鈣、鎂、鋅等二價陽離子(林，1993)。此外，學者研究亦指出，乳糖可以和鈣離子形成螯合物，進而促進小腸對鈣的吸收，故以此推測，乳糖應亦可藉由此種方式提高鐵的吸收率(Abrams *et al.*, 2002)。此外三價鐵的還原能力與鐵透析率隨乳清蛋白比例之增加而提升，乳清蛋白對氯化鐵的還原與透析效率的影響力大於乳糖，主要乃因三價鐵離子可與乳清蛋白於酸性環境下形成沉澱複合物，但此複合物可溶於鹼性環境，其有利於小腸對鐵的吸收(Jone *et al.*, 1975)。混合配方中則以乳清蛋白與酪蛋白比例為 6:4 搭配 7.2% 乳糖處理組具有最佳之鐵質生物利用性，乳清蛋白與酪蛋白比例為 2:8 搭配 7.2% 乳糖組最差。

Lee 等人(2011) 藉由體外消化試驗探討不同脂肪含量(3.5、1.5及 0.5%)的還原乳對於三價及二價鐵劑之鐵質生物利用性之差異，結果顯示，牛乳含 3.5 % 脂肪者具最優之鐵質生物可利用率，而 0.3 % 與 1.5 % 脂肪含量者間之鐵質生物可利用率則並無顯著之差異發生。

由上述可知牛乳中的成分比例皆含有影響鐵質吸收率之因子，若欲單純只評估一個成分的影響，可能有其困難存在，因為鐵質的吸收應受許多因子所影響，但亦可由上述研究文獻推論出，牛乳中的成份如乳脂、乳糖及乳清蛋白，對於鐵質的吸收及還原三價鐵的能力是有正面的助益。

### (三) 乳粉中常見食品添加劑與鐵吸收之關係

#### 1. 維生素類添加物

人乳維生素C含量約為牛乳之3倍，且人乳之維生素C較無受熱破壞之問題，因此人乳之鐵利用效率較牛乳佳則被認為亦與維生素C含量有關(張，1995；Oliveira and Osorio, 2005)。Davidsson等人(1998)以不同劑量之維生素C (0、25、50 mg)添加於約250 mL之鐵強化巧克力乳，比較其對孩童之鐵吸收影響，發現當維生素C添加量越高時，對於孩童的鐵吸收效果越有顯著的幫助。另一研究以大豆與牛乳基底之嬰兒配方研究添加維生素C對成人女性鐵吸收影響時，其發現添加維生素C的配方牛乳其鐵吸收效率皆顯著高於大豆配方乳 (Gillooly *et al.*, 1984)，因此適當含量之維生素C添加於牛乳等其它幼兒配方，被認為有助於鐵之吸收。維生素C能夠幫助體內鐵的吸收目前被認為其機制為維生素C本身為一還原性物質，當隨著飲食而進入消化道後可發揮還原的能力使一些物質被還原，食物中之三價的鐵即為一例，在維生素C的幫助下能還原為二價的鐵，進而鐵的溶解度增加、吸收率亦能因此而提高。當攝取含有非血質鐵之食物，維生素C則可促進這些非血質鐵之吸收(Perks and Miller, 1996)。

值得注意的是，Friel 等人(2007)添加維生素 C 於早產兒配方奶中，卻發現維生素的添加造成了配方奶中的氧化指標上升其包含了增

加 FHS 74 Int cells 的 DNA 損傷及 Caco-2 cell 的氧化壓力，會有此一現象作者推測可能是添加維生素 C 促進了早產兒配方奶中的鐵離子的 Fenton reaction 作用，進而導致脂質的過氧化反應，因此維生素 C 應用於鐵強化乳製品時，此為必須考慮之要點。

陳等人(2008) 將不同種類鐵劑與維生素添加於還原乳中進行體外消化試驗，以明瞭鐵劑與維生素強化因子對還原乳中鐵質生物利用率之影響程度。結果發現維生素 D 與 E 於各項鐵生物利用評估指標中的效果最好，兩者皆具顯著促進鐵質生物利用率之效應，較為適宜應用於鐵強化全脂還原乳中。

## 2. 不飽和脂肪酸及醣類添加物質

自然界中脂肪酸多為直鏈含偶數碳原子之單羧酸結構，且碳鏈之兩端分別為甲基端與羧基端之構造。脂肪酸通常可依其碳鏈之數量將以區分，當碳數在6 個以下者稱為短鏈脂肪、8-10 個者稱為中鏈脂肪酸、12 個以上者稱為長鏈脂肪酸。長鏈多元不飽和脂肪酸如具十八個碳、三個雙鍵的 $\gamma$ -次亞麻油酸( $\gamma$ -linolenic acid ; GLA)、二十個碳、五個雙鍵的二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid ; EPA) 與具二十二個碳、六個雙鍵的二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid ; DHA)等皆為乳粉當中常見的營養添加物質。有研究報告指出長鏈多元不飽和脂肪酸之添加，除對大腦與視覺之發展(Kelley, 1996 ; Haumann, 1997)、身

體免疫機能之維護皆有幫助外(Williams, 2000)，另對體內礦物質之吸收利用效率具影響性，其中針對營養元素鈣可提高其吸收利用效率、減少尿液中鈣的排除，亦提升骨密度與骨中之鈣含量 (Kruger and Schollum, 2005)。

另一方面，醣類如寡醣類(異麥芽寡糖及果寡糖)、單醣類(葡萄糖)與雙醣類(蔗糖及果糖)亦為商業化乳粉常見之添加物質，可提供甜味及提高乳粉之營養訴求，早期研究指出醣類可以與鐵螯合為複合物(iron-saccharide complexes)(Charley *et al.*, 1963)，其複合物被認為可以通過生物膜(biological membranes)，因而可能可以促進人體胃腸道吸收(Davis and Deller, 1966；Rao *et al.*, 1992)。另有研究報告指出，被歸類為益菌生(prebiotic)之天然難消化性寡醣類經腸道中微生物作用後的代謝產物具有提升生物體內礦物質(營養元素鐵)吸收利用之效用 (Fairweather-Tait, 1992; Hallberg, 2001)，其主要發生機制推測可能為寡醣類等物質經腸道中特定微生物族群發酵利用後，可產生之短鏈脂肪酸(short chain fatty acids；SCFA)以促進黏膜之增生與維持其完整性，亦可調整腸道 pH 值使其成為有利於鐵吸收之環境，促使三價鐵轉變成可吸收之二價鐵，亦提升腸壁細胞對礦物質之吸收效率 (Yeung *et al.*, 2005)

Lee 等(2010)探討於鐵劑添加於乳粉進行鐵強化時，乳粉其內所

含之脂肪與機能性添加物如寡糖(異麥芽寡糖、果寡糖)與長鏈多元不飽和脂肪酸( $\gamma$ -次亞麻油酸、DHA 與 EPA)對鐵質生物可利用效率之影響。其發現到相較於低脂及脫脂乳粉，全脂乳粉具最優之鐵質生物可利用率。各鐵劑間以硫酸亞鐵之生物利用效率為最佳。而就乳粉中之添加物影響，則以不飽和脂肪酸 EPA 具明顯促進之成效，果寡糖及 DHA 對鐵質生物可利用效率不具影響，異麥芽寡糖與  $\gamma$ -次亞麻油酸則反而會造成負面之效果。

葉等人(2008)在探討醣類如葡萄糖、半乳糖、乳糖與果糖比例對於鐵強化後的成人全脂與嬰兒乳粉鐵生物利用效率之影響，藉體外消化透析試驗以可透析二價鐵(DFe(II))、可透析總鐵(TDFe)、未透析二價鐵(NDFe(II))及總二價鐵(DFe(II)+NDFe(II))四項數值作為評估指標。其結果發現，二價鐵維持能力及鐵離子透析能力均以果糖效果最佳，半乳糖次之，其它醣類則無顯著影響，但於嬰兒乳粉還原乳中，果糖均對氯化鐵、硫酸亞鐵及混合鐵劑之利用效率影響不大。

### 3.鈣與磷等礦物質類添加物質

鈣為牛乳中含量最為豐富之礦物質，亦是目前最常被添加於乳粉中用來提高乳粉營養價值之營養添加劑。早期有研究指出磷酸鈣(calcium phosphate)會減少鐵的吸收，而氯化鈣則沒有影響(Monsen and Cook, 1976)。Barton 等人(1983)利用大鼠動物實驗比較氯化鈣的

添加對於牛乳及人乳之鐵吸收影響，結果人乳含氯化鈣及牛乳組之鐵吸收效果相似，但兩組鐵生物利用效率皆低於未加入氯化鈣之人乳組別。Perales 等人(2006)利用體外消化試驗與細胞培養模式實驗亦得到鈣不利於牛乳中鐵吸收之結果，其作者認為鈣與鐵會競爭小腸黏膜上共同之接受體(acceptors)，且鈣會抑制小腸細胞上之微絨毛(microvilli)攝取鐵(Barton *et al.*, 1983)，因而影響鐵之生物利用性。

相反地，Monsen and Cook (1976)以人體實驗進行鈣與磷對於膳食中鐵質的吸收率之影響，其發現鐵之可利用性會受到膳食中同時含有鈣磷子與磷離子存在時而有顯著的降低，但如單獨添加，則對於鐵的吸收則沒有顯著的影響，相同時間亦有多位研究學者認為鈣與磷等礦物質添加對於膳食中鐵的生物利用效率並不會有顯著性的影響(Suzanne *et al.*, 1982; Dalton *et al.*, 1997)。

#### (四) 鐵強化乳粉保存期間之品質變化

##### 1. 脂質安定性

###### (1) 脂質氧化

食品在保存過程中脂肪發生劣變而導致酸敗，營養價值降低，破壞維生素(A、D和E)成分，改變產品的顏色外觀，甚至形成對人體有害之物質，其中最常發生的為脂質自氧化反應(autoxidation)。食品中較易氧化的脂肪大多數為不飽和脂肪酸，如 oleic、linoleic 和

linolenic。脂質自氧化反應機制可以Farmer等人(1942)所提出之自由基連鎖反應理論(free radical chain reaction theory)來加以說明整個氧化反應可分為三階段：(1)啟動，形成自由基；(2)擴大，引起自由基鏈反應；和(3)結束，形成非自由基產物。氧化過程起始於脂肪酸鏈中雙鍵，受反應斷劣形成氫過氧化物，同時形成新的氫氧自由基，進而引發一連串新的氧化反應。過程期間，由分解的產生多量的脂質氧化二次產物，此等物質可能具生物毒性並引發不良氣味的生成，包括醛(aldehydes)、酮(ketones)、醇(alcohols)、hydrocarbons、酯(esters)、furans和內酯(lactones)等(Frankel, 1984)(圖2)。

乳粉由於儲存時間長，加上消費型態之關係，因此氧化為造成乳粉品質劣變的最主要之因素(Mc Cluskey *et al.*, 1997)。Liang(2000)以不同溫度儲存全脂乳粉試驗其氧化狀態之變化，發現隨著儲存溫度提高與時間延長，乳粉氧化程度都有增加之趨勢。Stapelfeldt 等人(1997)試驗不同溫度噴粉之全脂乳粉觀察其脂肪氧化之情形，發現以低溫噴霧乾燥且放於45°C儲存組在第47天時偵測到了有最高的自由基的含量，而此時樣品之水活性亦超過了0.31，而在兩年的儲存期間此組亦有最高的氧化數值。

一般藉分析酸價(AV)、過氧化價(POV)及硫巴比妥值(TBA)來評估食品之脂質安定性。酸價乃是針對食品中游離脂肪酸含量多寡進行

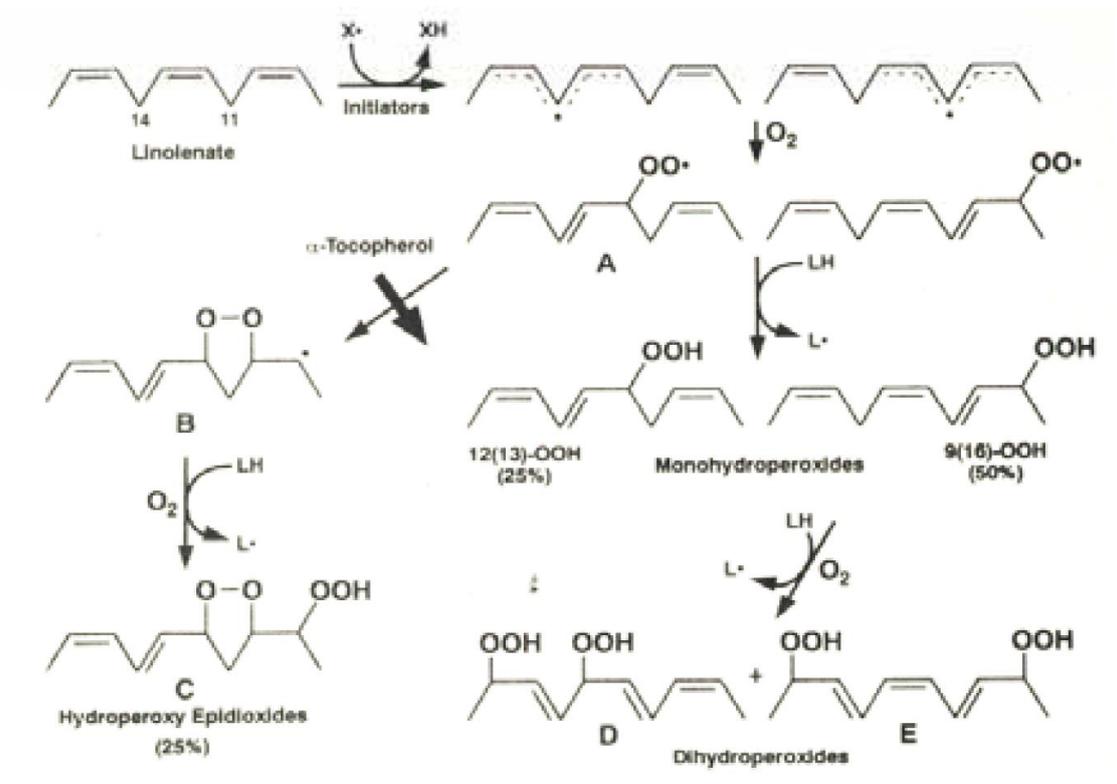


圖 2. 不飽和脂肪酸氧化之過程。

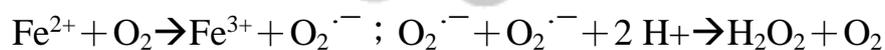
Fig.2. Oxidation of unsaturated free fatty acid.

(Frankel, 1984)

測定，而一般含高脂食品會隨著貯藏期間增長，游離脂肪酸增多，酸價也愈高，故可以酸價來作為脂質劣變之指標。另過氧化物表示油脂氧化的一級產物過氧化物質，當食品中油脂形氧化反應後形成過氧化物，容易接續產生連鎖效應，加速脂質之酸敗，並導致 POV 快速上升 (Belitz and Grosch, 1999)。且在氧化的過程，所產生之一級產物容易會再劣解形成二級氧化物 (如丙二醛和乙縮醛等中間產物)，因此藉由 TBA 試劑會與二級氧化物反應會產生紅色化合物來進行測定 TBA 值，反應食品中脂肪酸酸敗的程度 (Belitz and Grosch, 1999)。

## (2) 鐵強化對於食品之脂質安定性影響

影響食品中脂質氧化之因子眾多，如食品脂肪酸組成、食品組成份、加工製造過程、保存環境、抗氧化劑的存在等。過渡金屬如鐵離子與銅離子等可藉由參與化學反應的過程產生自由基。在正常情形下食品當中的血色質鐵或非血色質鐵可行一連串反應形成自由基與過氧化物 (Xu and Chastee, 1991)：



游離的過渡金屬  $\text{Fe}^{3+}$  在 Fenton reaction 中藉由  $\text{O}_2^{\cdot-}$  還原成  $\text{Fe}^{2+}$  後，再與  $\text{H}_2\text{O}_2$  結合形成極易反應的  $\text{OH}^{\cdot}$ ，如



同時，活化的金屬離子進一步催化進行 Haber-Weiss reaction



形成 $\text{OH}^\cdot$  (Cooper *et al.*, 2002)。Dziezak(1986)指出食品中金屬離子的含量即使低於0.1 ppm 仍具有加速脂質氧化的能力，其中以鐵離子及銅離子的促氧化力最強。

目前已有相關研究探討關於食品中存在之鐵離子催化脂質氧化作用的發生(Dunford, 1987 ; Lloyd *et al.*, 2004; Yoshida and Niki, 1992)，這些研究者亦認為氧化速率受到眾多因子如pH、溫度、鹽類、水分、表面活性劑及包裝材質與環境之影響。Fukuzawa and Fujii(1992)發現在乳化油脂中，鐵離子可以催化亞麻油酸形成過氧化物，進而形成alkoxy radicals進行一連串連鎖反應。在乳製品方面，早期Kurtz等人(1973)分別將三價與二價鐵劑加入脫脂乳粉中進行保存試驗，在6個月期間，並無觀察到有劇烈的脂質氧化情形發生，Rice and McMahan (1998)以氯化鐵進行乾酪製品的鐵強化(25 mg iron/kg cheese)，發現在氧化指標TBA方面，與對照組並無顯著的差距。Friel等人(2007)亦指出添加鐵於早產兒配方奶中及含有高量鐵劑的早產配方奶市售商品在FHS 74 Int cells的DNA損傷及Caco-2 cell的氧化壓力皆有增加之趨勢。然上述研究大多著重於液態、固態或乳化煉製品方面，唯獨對於粉體食品特別是鐵強化對於乳粉品質所造成之影響相關研究甚少，但乳粉保存期間上消費者飲用習慣往往超過一年以上，

若用同時進行鐵強化處理，則品質方面之考量應是不得不注意之問題。

## 2. 褐變穩定性

### (1) 褐變發生原因

乳粉由於本身成分中因具有高碳水化合物及高蛋白質，製造時經過高溫加熱製程，加上大多數消費者開封後並無立即食用完畢，多放於室溫中長時間保存，因此褐變往往為造成乳粉於貯存期間品質劣變之原因之一(Friedman, 1996 ; Van Boekel, 1998)。梅納反應(Maillard reaction)是一系列複雜的化學反應，在還原糖的羰基(carbonyl group)和蛋白質上的一級胺基(primary amino group)進行非酵素性縮合反應後，產生最終糖化產物(advanced glycation end products, AGEs)使蛋白質產生褐色、螢光和交聯化合物，進而使食品外觀、風味及品質發生改變，此反應不需酵素進行且需要長時間作用，常發生在食品製造過程與保存期間，又稱為非酵素性褐變反應(Morales and Van Boekel, 1998 ; Ferrer *et al.*, 2000)。

液態及粉狀等乳製品於保存期間極容易發生褐變，有研究者藉由測定乳製品的顏色及褐變指數(browning index)來評估其發生褐變之狀態，發現其保存環境影響甚大(Clark *et al.*, 1970 ; Rampilli *et al.*, 1992 ; Patel *et al.*, 1996)。Guerra-Hernandez 等人(2002)於不同包裝環境與溫度下觀察嬰兒配方乳粉其褐變之程度，發現在溫度的高低對於

褐變為最主要之影響因子，在 55°C 下保存無論環境中氧氣存在與否，其褐變的相關指標如 hydroxymethylfurfural (HMF), furosine (FUR), lactulose (LU), 及顏色( $\Delta E$ ) 皆隨著保存日數的增加，而明顯的高於要比其他處理組。Thomsen 等人(2005)以 60°C 高溫保存誘發褐變產物的生成並以螢光分析來觀察全脂品質之改變，結果發現乳粉之褐變反應、氧化作用與乳糖的結晶化的發生彼此皆具有關聯性，扣除溫度的控制變因後，粉體之水活性與環境的氧氣皆是影響反應發生之因子，相關反應的關係如圖 3 所示。

目前已有多項方法來評估乳粉保存期間時褐變之程度，藉此用來預測或評價乳粉的品質，如官能品評分析、紅外線法、化學分析、螢光分析及電子捕捉法，此些方法皆為分析乳粉於褐變過程中各階段反應的各類型產物(Morales and Van Boekel, 1998; Stapelfeldt *et al.*, 1997; Stapelfeldt and Skibsted, 1994)，這類產物種類繁多但普遍都有安定不易受環境因素影響而改變等特性；同一方面近年來有報告指出褐變反應後半段所形成的高等糖化終產物，由於這一類物質安定性高，易長期累積在人體組織或血漿蛋白質上，因此可能會造成人類老化(aging)、糖尿病(diabete)等症狀發生 (Thorpe and Baynes, 1996)，在食品經過加工過程中如加熱、乾燥、燒烤及油炸，AGEs(advanced glycation end products)的含量會有急劇增加之趨勢，故有研究者針對乳製品中 AGEs 進行分析研究，發現有數種主要存在於乳製品中的 AGEs 之物質，螢光偵測後其激發波長與入射波長分別為：AGE( $\lambda_{ex}$  347 nm;  $\lambda_{em}$  415 nm); pentosidine ( $\lambda_{ex}$  335 nm;  $\lambda_{em}$  385 nm);

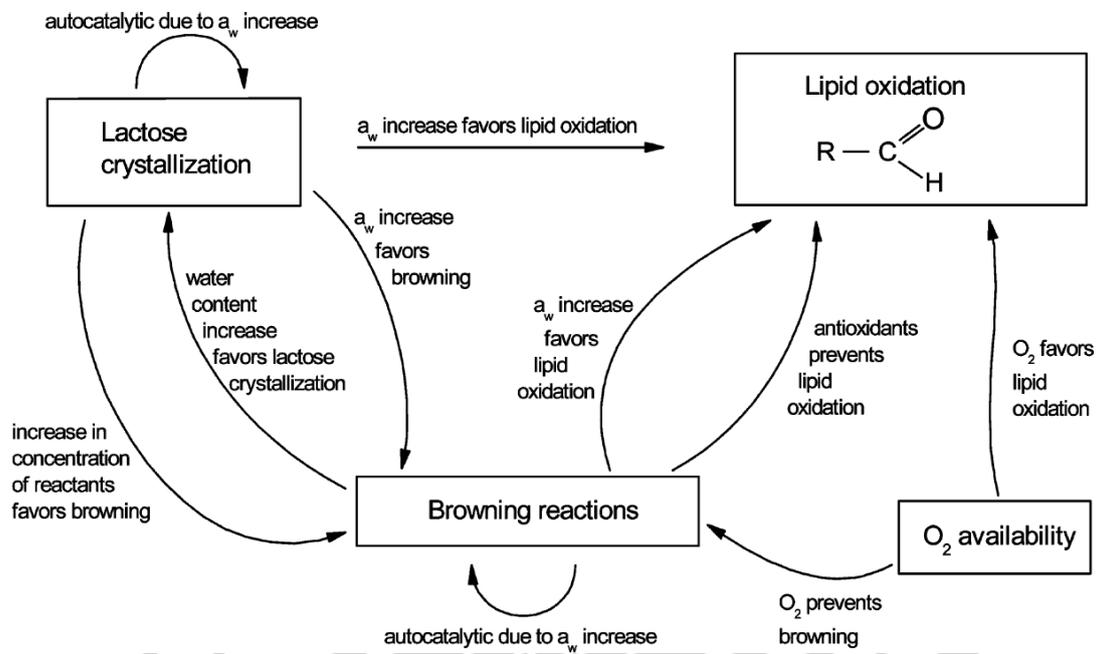


圖 3. 全脂乳粉品質劣變反應之相互關係。

Fig.3. Relation of deteriorative reactions in whole milk powder.

(Thomsen *et al.*, 2005)

pentodilysine ( $\lambda_{ex}$  366 nm;  $\lambda_{em}$  440 nm); cross-link ( $\lambda_{ex}$  379 nm;  $\lambda_{em}$  463 nm); pyrropyridine ( $\lambda_{ex}$  370 nm;  $\lambda_{em}$  455 nm); argpyrimidine ( $\lambda_{ex}$  320 nm;  $\lambda_{em}$  382 nm) (Morales and Van Boekel, 1998 ; Ferrer *et al.*, 2000 ; Ferrer *et al.*, 2005) ; 而目前已知乳製品中 AGEs 物質含量較多的為乳粉製品與嬰兒配方相關產品，其產生與加工過程時之溫度與保存環境之條件有相關(Ferrer *et al.*, 2005; Van Boekel, 1998) ，同時在 Ferrer 等人(2005)觀察嬰兒配方乳粉於保存期間 AGEs 之含量變化，其結果發現這類型化合物於保存期間並無顯著之改變。

綜上述所論，眾多文獻指出，乳粉保存期間非酵素型褐變反應是影響其品質之重要因素之一，但鐵劑的添加對於乳粉之褐變反應的影響，目前尚缺乏相關之文獻報導。

### 3.風味與色澤變化

#### (1)風味變化

乳粉為長期保存之食品，因此常會因外在環境之因素而使保存期間造成風味之劣變，其中又以全脂乳粉相關產品尤為嚴重，因此長期以來即有許多研究者致力於研究乳粉保存期間中風味之變化之機制與改善方法(Andersson and Lingnert, 1998; Chan *et al.*, 1993; Min *et al.*, 1989; Tuohy, 1984) ，其風味劣變判定皆以官能性品評為主要方法，主要影響因素為氧氣之存在與否，因此目前防止乳粉保存其風味劣變之發生最有效率之改善方法即為使用氧氣通透氣低之包材與去除環境

中之氧氣此兩種方式。Lloyd 等人(2004)以維生素 A 及 D 添加於液態乳及乳粉中，搭配金屬包裝材質與脫氧包裝方式，在官能品評風味試驗與對照組可達無顯著差異性之結果。

早期有研究以數種鐵劑添加於生乳中，經加工過程後成為鐵強化之全脂鮮乳，並在當天以未添加鐵劑的全脂鮮乳為對照組進行官能品評，評定項目包含酸敗與氧化風味強烈度兩項。結果顯示在酸敗的項目中以葡萄糖酸亞鐵、硫酸亞鐵銨與硫酸亞鐵風味較淡，甘油磷酸鐵與檸檬酸鐵次之，檸檬酸鐵銨則較濃(Edmondson *et al.*, 1971)；而在氧化的項目中則是以葡萄糖酸亞鐵、硫酸亞鐵銨與硫酸亞鐵風味較濃，甘油磷酸鐵與檸檬酸鐵次之，檸檬酸鐵銨則較淡。而此實驗同樣緊接著將鐵劑添加於生乳中，經加工過程後成為鐵強化之全脂鮮乳，但改成在加工後第 1、7 及 14 天與未添加鐵劑之全脂鮮乳為對照組比較並進行風味的評分，結果顯示以甘油磷酸鐵與硫酸亞鐵銨較佳，檸檬酸鐵銨、檸檬酸膽鹼鐵(*ferric choline citrate*)、硫酸亞鐵與葡萄糖酸亞鐵次之，反丁烯二酸亞鐵較差(Edmondson *et al.*, 1971)，因此具有較高生物可利用性之鐵化合物可能催化脂質氧化反應因而產生酸敗與其他不良風味(Richardson, 1990)。Edmondson 等人(1971)亦指出，添加三價鐵鹽類於生乳中，且將殺菌溫度低於 79°C，會因此增加解脂酶之熱抗性，而產生酸敗的風味；同一時間，Kurtz 等人(1973)利

用硫酸亞鐵與氯化鐵進行脫脂乳粉之鐵強化，在品評試驗中與對照組相較，其風味與顏色並不會有顯著性的差異。

林等人(2007)針對牛乳試驗中篩選出生物利用性較佳的三種鐵劑硫酸亞鐵、反丁烯二酸亞鐵與氯化鐵對其液體乳風味之影響，結果顯示，這三種鐵劑不論在脫脂或全脂乳粉中其色澤與風味皆與未添加鐵劑之乳粉相似，此結果與早期一些研究結果相悖，可能原因為鐵添加之強化量約 12 mg% 並不足以影響牛乳本身的風味及色澤，尤其在風味上全脂還原乳濃郁之風味更是如此，另一方面則為並無進行長時間保存試驗，因此可能鐵劑尚未與乳成份充分混合作用，因而使得風味不致產生變化。

另一方面，Rice and McMahon(1998)以氯化鐵強化軟質乾酪(Mozzarella Cheese)，藉由官能品評分析其製品在金屬味、氧化味及不良之氣味三項指標中進行分析，當每公斤乾酪中氯化鐵含量達 50 mg 以上時，上述指標數值即明顯比起對照組(不含外加鐵劑)來得嚴重，而又以類似金屬之氣味此項官能性狀尤甚；而 Sadler 等人(1973)將氯化鐵加入 cottage cheese 中(60 mg iron/kg cheese)進行保存兩個月後即發現有不良之氣味產生。

## (2) 色澤變化

研究指出二價鐵鹽類易被氧化成為有顏色的三價氧化態或與含硫

化合物起化學作用也會有不良色澤產生(Richardson, 1990)。因此有實驗將多磷酸鐵、反丁烯二酸亞鐵、硫酸亞鐵與檸檬酸鐵銨添加於巧克力牛乳中，再以色澤座標法(Hunter color coordinates)分析，結果顯示多磷酸鐵最佳，反丁烯二酸亞鐵次之，硫酸亞鐵與檸檬酸鐵銨是最差者，其中硫酸亞鐵與檸檬酸鐵銨雖然從儲存第 1 天就產生顯著色澤變化，但一直到第 14 天其色澤仍保持些微變化而已；反觀反丁烯二酸亞鐵則是這些鐵劑中隨著時間的增加其色澤變化程度最大者(Douglas *et al.*, 1981)。因此另外進一步以多磷酸乳清蛋白鐵、多磷酸鐵、乳酸亞鐵與檸檬酸鐵銨作色澤評分，結果發現檸檬酸鐵銨與乳酸亞鐵的表現都不佳，而多磷酸鐵與多磷酸乳清蛋白鐵之色澤則是維持與未添加添加鐵劑之巧克力牛乳相似(Douglas *et al.*, 1981)。Mehansho(2006)將檸檬酸亞鐵加入液態乳與穀類乳製品中，發現 L 值及 a 值皆顯著低於對照組，而就外觀來看顏色亦比無添加鐵劑組別要來得暗沉，同時官能品評結果明顯喝得出砂狀般之口感。林等人(2007)針對三種鐵劑硫酸亞鐵、反丁烯二酸亞鐵與氯化鐵對其液體乳外觀顏色之影響，結果顯示，反丁烯二酸亞鐵在液體乳中會有沉澱現象之產生，而反丁烯二酸亞鐵在化學性質中屬於難溶於水可溶於稀釋酸中這一類鐵劑，從實驗結果也發現確實不能溶於牛乳中，進而發生沉澱現象。

市售鐵強化乳粉於商品開發時除額外添加鐵劑外亦常配合其他機能性添加物質如不飽和脂肪酸、醣類、維生素或礦物質，鐵劑本身以及此類機能性添加劑於保存期間對於鐵催化氧化反應及非酵素性褐變作用是否會加速發生或有抑制的效果目前尚無相關文獻證明。本研究即針對添加機能性添加物質維生素 E 與不飽和脂肪酸(二十碳五烯酸及二十二碳六烯酸)之全脂、低脂與脫脂乳粉，以不同鐵劑(二價鐵、三價鐵與混合鐵)及包裝方式來探討對鐵質生物利用性與穩定性之影響。



## IV、試驗目的、設計與材料方法

### 一、試驗目的

(一) 第一部份試驗目的為探討不同鐵劑種類、機能性添加物質與不同脂肪含量之乳粉鐵質生物利用效率之影響。

(二) 第二部份試驗目的為探討不同鐵劑種類、包裝方式及貯存時間對鐵強化乳粉鐵質生物利用效率之影響。

(三) 第三部份試驗目的為探討不同鐵劑種類、包裝方式及貯存時間對鐵強化乳粉粉體安定性之影響。

最後期藉由上述之結果，釐清市售乳粉進行鐵質強化時，鐵質種類、保存方式及保存時間影響粉體變化時彼此間之交互關係。

## 二、試驗設計流程



## 第一部份：探討不同鐵劑種類、機能性添加物質與不同脂肪含量之乳粉鐵質生物利用效率之影響

### 一、試驗材料

(一)鐵劑：採用林 (2006) 篩選出宜作為乳粉之最佳強化用途二價鐵劑與三價鐵劑，分別為硫酸亞鐵 (Sigma F-7002)與氯化鐵 (片山試藥株式會社)。

(二)乳粉：袋裝 OAK 即溶全脂奶粉、OAK 即溶低脂奶粉與罐裝安佳脫脂乳粉購自台中市西屯區愛買量販店。

(三)不飽和脂肪酸機能性添加物：DHA 及 EPA 購自裕代企業有限公司。

(四)氯化鐵( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )：自片山試藥株式會社購得。

(五)硫酸亞鐵( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )：自 Sigma 公司購得(F7002)。

(六)混合鐵劑：氯化鐵與硫酸亞鐵含量各半所配製。

(七)胃蛋白酶(pepsin)：自 Merck 公司購得(EC3.4.23.1)。

(八)胰泌酶(porcine pancreatin)：自 Sigma 公司購得(P-1750)。

(九)膽鹽(bile salt)：自 Sigma 公司購得(B-8756)。

(十)PIPES(piperazine-N, N'-bis-2-ethane-sulfonic acid)：Sigma 公司購得(P-3768)。

(十一)HEPES(N-2-hydroxyethyl-piperazine-N'-2-ethane-sulfo-nic

acid)：自 Sigma 公司購得(H-7006)。

(十二)三氯醋酸(trichloroacetic acid; TCA)：自片山試藥株式會社購得。

(十三)羥胺鹽酸鹽(hydroxylamine mono-hydrochloride)：自石津試藥株式會社購得。

(十四)鄰-啡啉(1,10-phenanthroline)：自林純藥工業株式會社購得。

## 二、儀器設備

(一)恆溫振盪水浴槽：Deng Yeng，DKW-40，台灣。

(二)分光光度儀：Jasco V-530 spectrophotometer，日本。

(三)離心機：Kubota，KN-70，日本。

(四) pH meter：Mettler Toledo，MA235 pH/Ion analyzer，瑞士。

## 三、試驗方法

(一)探討不同乳脂肪含量之乳粉對鐵劑生物可利用效率之影響部份

試驗樣品分為控制與試驗兩組，分別敘述如下。

1.對照組：空白組為僅以市售三類不同脂肪含量乳粉還原而成之還原乳，不添加鐵劑，作為各還原乳原始鐵含量之基礎值。

2.試驗組：試驗組為市售之三類不同脂肪含量乳粉分別添加入上述之三類鐵劑(二價鐵、三價鐵及 50% 二價鐵 + 50% 三價鐵之混合鐵)後之鐵強化還原乳，經測定所得之數值經計算後為各鐵強化還原乳之

原始鐵含量測定值。後續處理組中各試驗樣品之測定值均與各對照組所測定之數值相比較。

## (二)探討不飽和脂肪酸添加物對鐵強化乳粉鐵質生物可利用效率之影響

試驗樣品分為控制與試驗兩組，分別敘述如下。

- 1.對照組：以市售三類不同脂肪含量乳粉還原而成之還原乳，添加二價鐵劑，作為各鐵強化還原乳添加不飽和脂肪酸後對於體外鐵質生物利用效率之比對基礎。
- 2.試驗組：試驗之處理組則為各機能性添加物與鐵劑一併添加入不同脂肪含量乳粉(全脂、低脂與脫脂)，將其還原成乳後，經測定數值計算後與對照組比較。

試驗樣品之配製依林等 (2007) 之方法修飾如下：依市售脫脂、低脂、全脂之乳總固形物為 95 % 及去離子水總固形物為 0，利用皮爾森方程式 (Pearson square) 計算脫脂、低脂與全脂乳粉還原後之脫乳總固形物分別為 8.55、9.75 與 11.75 %，且其含脂率分別為 0.3、1.5 與 3.5 %，可得所欲配製之各還原乳需添加多少乳粉及去離子水，另硫酸亞鐵、氯化鐵及其 1：1 比例之混合鐵劑，分別於各試驗樣品內之添加量達 150 ppm，不飽和脂肪酸等機能性添加物則參考市售乳粉當中添加之比例，亦即每 100 g 乳粉中含長鏈多元不飽和脂肪酸 30

mg，作為 EPA 與 DHA 之添加量。

#### 四、試藥配製

透析試驗試藥配製參考林（2008）修飾。

(一)胃蛋白酶：4 g 胃蛋白酶微溶於 0.01 N HCl 後，再以 0.1 N HCl 定量至 100 mL。

(二)胰泌酶/膽鹽混合物：0.5 g 的胰泌酶和 3.0 g 的膽鹽微溶於 0.01 N 碳酸氫鈉(sodium hydrocarbonate)再以 0.1 N 碳酸氫鈉定量至 250 mL。

(三)0.15 N PIPES：PIPES 溶於去離子水中至 0.15 N，再以 1N HCl 調整 pH 至 6.3。

(四)0.3 N HEPES：HEPES 溶於去離子水中至 0.3 N，再以 1N NaOH 調整 pH 至 9.9。

(五)蛋白質沉澱及鐵還原溶液(protein precipitant and iron reducing solution)：以 10 g 三氯醋酸及 5 g 羥胺鹽酸鹽溶於濃鹽酸，再以去離子水定量至 100 mL。

(六)蛋白質沉澱溶液( protein precipitant solution)與蛋白質沉澱及鐵還原溶液相同，惟缺羥胺鹽酸鹽。

(七)亞鐵呈色劑：取 0.25 g 鄰-啡啉，以 0.1 N HCl 稀釋至 100 mL，於暗冷處保存。

## 五、透析膜之前處理

(一)選用通透性在分子量 6,000-8,000 範圍內之透析膜(Cellu. Sep T2 8030-40, Membrane Filtration Products, Inc. ; MFPI)。

(二)剪下所需的膜管長約 12 cm，並以棉線紮緊成 10 cm 透析袋，續以去離子水浸泡 15 min。

(三)然後置入 10 mM 碳酸氫鈉溶液中，於 80°C 下攪拌加熱 30 min，然後再將膜冷卻並移至 10 mM 乙二胺四乙酸(ethylenediaminetetraacetic acid ; EDTA)溶液中浸泡 30 min，再於 80°C 的去離子水攪拌加熱 30 min。

(四)待冷卻置於 50% 酒精中冷藏於 4°C，惟使用前以去離子水沖洗 (Miller *et al.*, 1981)。

## 六、試驗流程

試驗前取 15.662 g 乳粉樣品先以去離子水還原至 125 mL 做為試樣液體做為分析用，每組試樣液體內含 150 ppm 氯化鐵、硫酸亞鐵及混合鐵劑。試驗分組及透析試驗流程如圖 4 所示。以脂肪含量、鐵劑種類及不飽和脂肪酸添加劑設計成共 18 組試驗組，經模擬生物消化模式試驗，最終進行鐵之分析，藉此評估鐵質生物利用性。

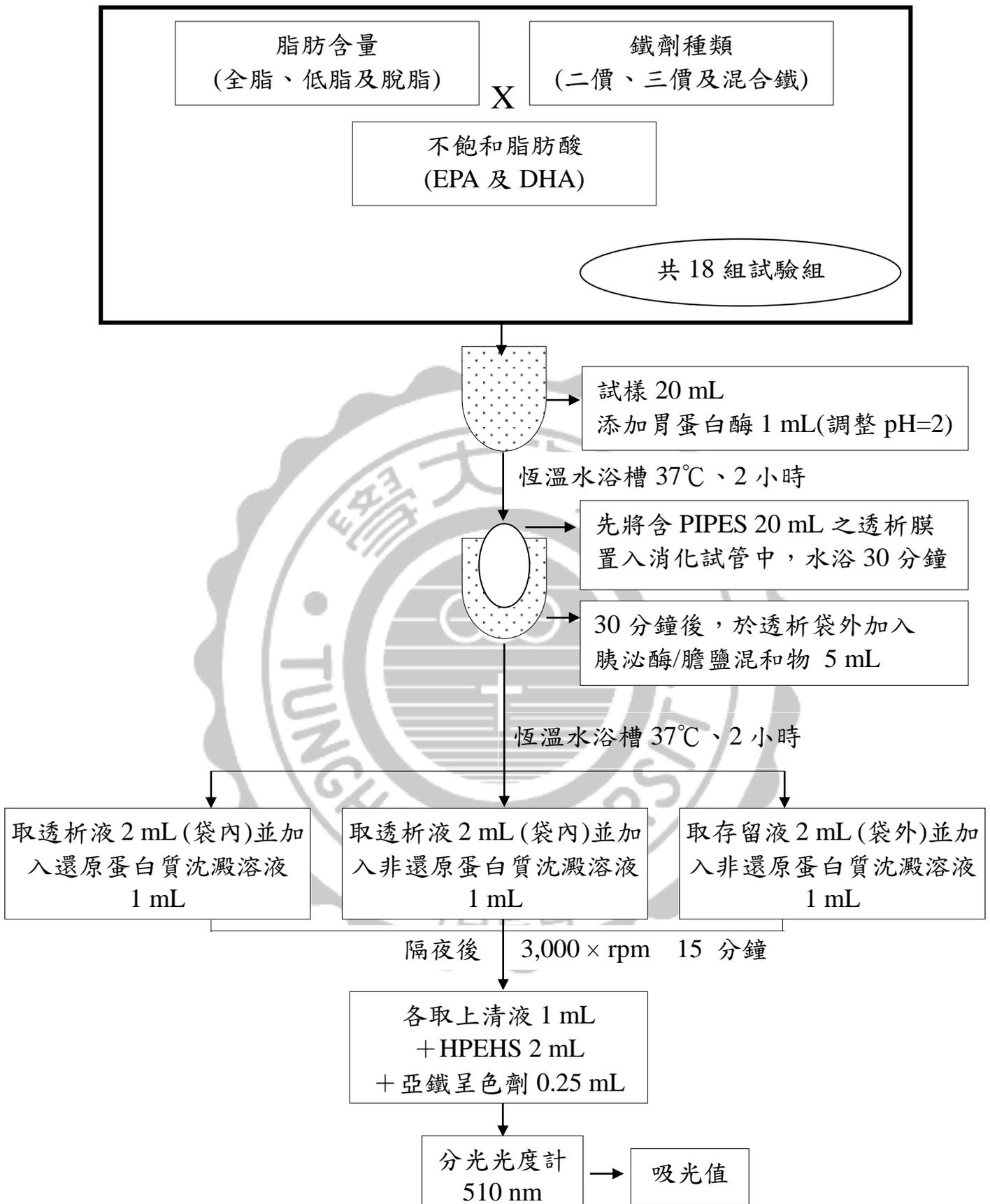


圖 4. 試驗分組及流程圖。

Fig 4. The flow chart of experimental design.

## 七、鐵之分析

(一)二價鐵標準檢量線之製作參考趙等(2005)修飾：分別配製氯化鐵 5、10、15、20、25、30、35、40、45 及 50 ppm，並經羥胺鹽酸鹽還原劑作用形成二價鐵，利用分光光度儀於 510 nm 定波長測定該 10 種濃度樣品之吸光值，製得二價鐵之標準檢量線。

(二)透析袋內之透析物與透析袋外之存留物中鐵濃度之測定係依趙等(2005)之方法，經修飾後敘述其步驟如下：

- 1.取透析袋內透析液 2 mL，加入蛋白質沉澱及鐵還原溶液 1 mL，將透析袋內  $\text{Fe}^{3+}$  還原為  $\text{Fe}^{2+}$ 後與原有之  $\text{Fe}^{2+}$ 同時呈色被分析，稱可透析總鐵( $\text{D.}(\text{Fe}^{2+}+\text{Fe}^{3+})$ ；TDFe)。
- 2.再取透析袋內透析液 2 mL，加入蛋白質沉澱溶液 1 mL，經呈色分析之數值為可透析二價鐵( $\text{D.}(\text{Fe}^{2+})$ ；DFe(II))。
- 3.取透析袋外存留液 2 mL 並加入蛋白質沉澱溶液 1 mL，經呈色分析測得之鐵質，稱未透析二價鐵( $\text{non-D.}(\text{Fe}^{2+})$ ；NDFe(II))。
- 4.將上述 a~c 步驟分別於室溫下放置隔夜。
- 5.以  $3,000 \times \text{rpm}$  離心 15 分鐘。
- 6.取 1 mL 上清液，加入 HEPES buffer 2 mL 與亞鐵呈色劑 0.25 mL。
- 7.以分光光度計定 510 nm 為後續之檢測波長，依二價鐵標準檢量線分析各組之 DFe(II)、TDFe、NDFe(II)濃度(ppm)。

8.依上述三類鐵離子數據計算總二價鐵含量(可透析二價鐵和未透析二價鐵總和；(DFe(II)+NDFe(II))及二價鐵透析能力(DFeII/TDFe ratio)。並以此 5 數值瞭解試樣對外源性鐵之還原或維持為二價鐵與透析能力的差異。上述 DFeII、TDFe、NDFeII、DFe II +NDFe II 及 DFeII/TDFe ratio 等鐵質利用率之各項指標 5 項分析數值之關係如圖 5 所示。

## 八、統計分析

本實驗以 Statistical analysis system (SAS, 1999) 統計軟體分析，採完全逢機試驗設計 (Completely randomized design; CRD)，並將實驗數據以一般線性模式 (GLM procedure) 進行變方分析與鄧肯氏新多變域分析法 (Duncan's new multiple range test) (SAS, 1999) 藉此比較各對照組與處理組平均值之差異性。

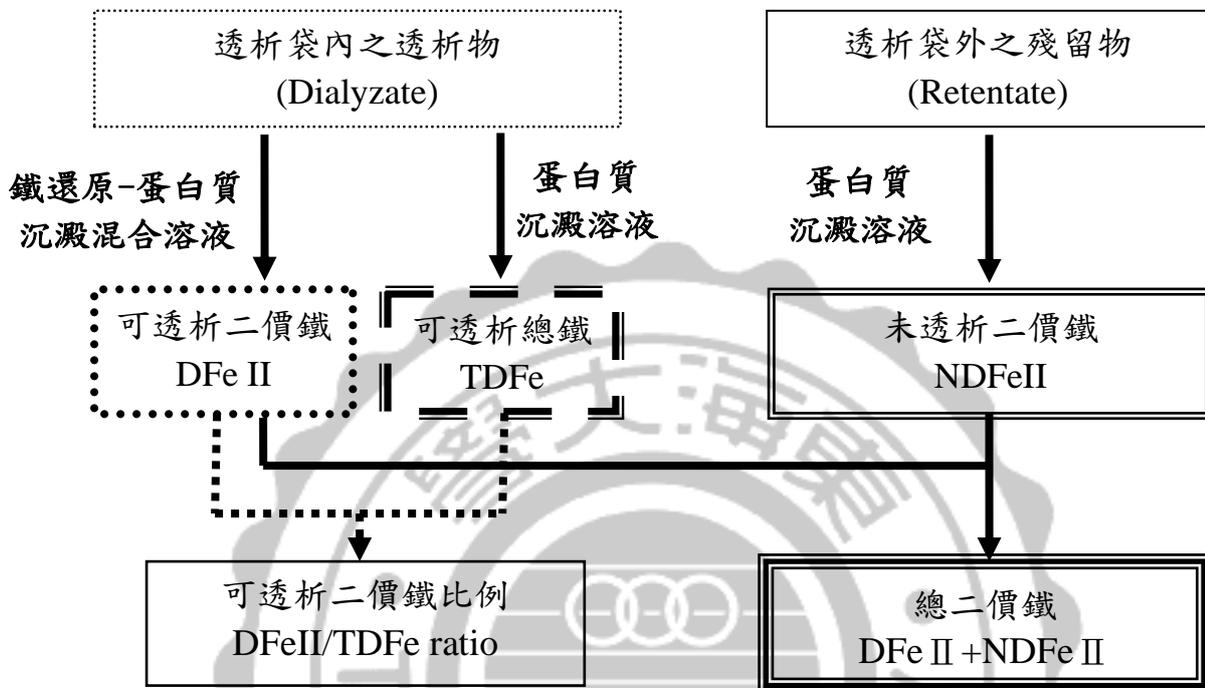


圖 5. 鐵透析與還原能力代表數值關係圖。

Fig.5. Relationship of numerical value between iron dialysis and reduction ability.

## 第二部份：探討不同鐵劑種類、包裝方式及貯存時間對鐵強化乳粉鐵質生物利用效率之影響

### 一、材料與方法

#### (一) 試驗材料

##### 1. 試樣

(1) 維生素 E (Vitamin E)：振芳企業股份有限公司購得。

(2) 成人全脂乳粉 (Whole milk powder)：OAK 全脂乳粉，紐西蘭。

其餘多元不飽和脂肪酸添加劑 EPA 試樣如第一部份所示。

##### 2. 試藥

三種鐵劑與體外消化透析試驗所用之試藥如第一部份所示。

#### (二) 儀器設備

儀器設備同如第一部份所示。

#### (三) 試驗方法

##### 1. 試樣分組處理

以市售全脂成人乳粉為基準，添加維生素 E 與不飽和脂肪酸 EPA，並搭配二價鐵劑(硫酸亞鐵)、三價鐵劑(氯化鐵)及混合鐵劑組(50% 硫酸亞鐵及 50% 氯化鐵)，將試樣共分為五組處理組如下表 5。

(1) 對照組：市售全脂成人乳粉。

表 5. 試驗乳粉配方

Table 5. Milk powder sample formulas

g/100g sample	Control	WMP(Vit E+EPA)	WMP(Fe(III))	WMP(Fe(II))	WMP(Mix iron)
Commercial whole milk powder					
(WMP)	100	99.965	99.383	99.367	99.367
EPA	-	0.03	0.03	0.03	0.03
Vitamin E	-	0.005 <sup>a</sup>	0.005	0.005	0.005
FeCl <sub>3</sub>	-	-	0.582 <sup>b</sup>	-	0.299
FeSO <sub>4</sub>	-	-	-	0.598 <sup>c</sup>	0.299

<sup>a</sup> 50 µg vitamin E/g sample.

<sup>b</sup> 0.114g iron/100g sample.

<sup>c</sup> 0.114g iron/100g sample.

(2)Vit E + EPA 組：市售全脂成人乳粉添加維生素 E(50  $\mu\text{g/g}$  powder)

及不飽和脂肪酸 EPA(30 mg/100g powder)。

(3)Fe(III)組：市售全脂成人乳粉添加維生素 E(50  $\mu\text{g/g}$  powder)及不飽

和脂肪酸 EPA(30 mg/100g powder)後以三價鐵(氯化鐵)做為鐵劑添

加，調整每 100 g 乳粉中有 114 mg 之鐵含量。

(4)Fe(II)組：市售全脂成人乳粉添加維生素 E(50  $\mu\text{g/g}$  powder)及不飽

和脂肪酸 EPA(30 mg/100g powder)後，以二價鐵(硫酸亞鐵)做為鐵劑

添加，調整每 100g 乳粉中有 114 mg 之鐵含量。

(5)Mix iron 組：市售全脂成人乳粉添加維生素 E(50  $\mu\text{g/g}$  powder)及不

飽和脂肪酸 EPA(30 mg/100g powder)後以 50%硫酸亞鐵及 50%氯化鐵

做為混合鐵劑添加，調整每 100 g 乳粉中有 114 mg 之鐵含量。

粉體配方調配完成均勻混合後，每組取 150 g 粉體分裝至雙層積層材

質鋁箔袋(鋁箔袋容量 250 g) (Full Delta Enterprise; Sin Taipei, ROC)，

分別以熱封法一般包裝及真空包裝法(真空度-0.09 Mpa)進行包裝，包

裝完成放置於不透光環境下及室溫(25~30 $^{\circ}\text{C}$ ，相對濕度 65 $\pm$ 3%)進行

保存，一般包裝保存組每月開封樣品進行分析，共計 9 個月，真空包

裝保存組每兩個月開封樣品進行分析，共計八個月，開封後之樣品取

樣分析後置於-18 $^{\circ}\text{C}$ 留樣。

## 2. 試藥配製與透析膜前處理

配製與前處理方法同於第一部份。

## 3. 試驗流程

由五組不同配方鐵強化乳粉及兩種包裝方式共 10 組進行試驗，試驗前取 15.662 g 乳粉樣品先以去離子水還原至 125 mL 做為試樣液體做為分析用，每組試樣液體內含 150 ppm 氯化鐵、硫酸亞鐵及混合鐵劑。試驗流程如圖 6 所示。

## 4. 鐵之分析

試樣內鐵之分析方法同於第一部份。以分光光度計定 510 nm 為後續之檢測波長，依二價鐵標準檢量線分析各組之 DFe(II)、TDFe、NDFe(II) 濃度(ppm)。並計算總二價鐵含量(可透析二價鐵和未透析二價鐵總和；(DFe(II)+NDFe(II)) 及二價鐵透析能力 (DFeII/TDFe ratio)。並以此 5 數值瞭解試樣對外源性鐵之還原或維持為二價鐵與透析能力的差異。

## 5. 統計分析

實驗採完全逢機試驗設計(completely randomized design；CRD)，並以 Statistical Analysis System (SAS，1999) 統計軟體，鄧肯氏新多變域分析法(Duncan's new multiple range test) 比較處理組平均值差異性。

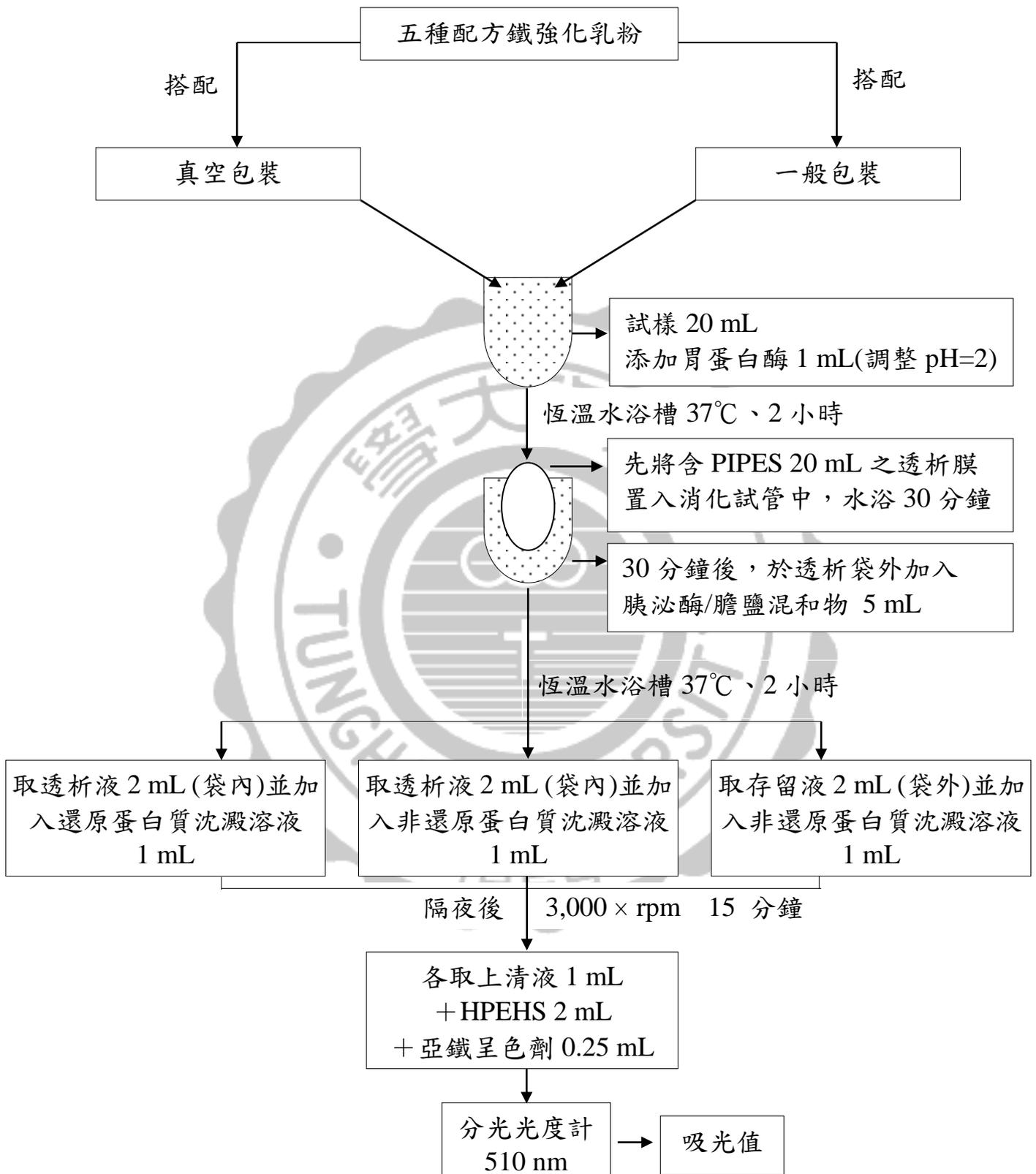


圖 6. 試驗分組及流程圖。

Fig 6. The flow chart of experimental design.

## 第三部份：探討不同鐵劑種類、包裝方式及貯存時間對鐵強化乳粉粉體安定性之影響

### 一、對 TBA 值與游離脂肪酸含量之影響

#### (一)試驗材料

##### 1.試樣

成人全脂乳粉及機能性添加物質維生素 E、EPA 與 DHA 等如第二部份所述。

##### 2.試藥

三種試驗鐵劑(二價鐵、三價鐵與混合鐵劑)如第二部份所述。

#### (二)儀器設備

- 1.恆溫振盪水浴槽：Deng Yeng，DKW-40，台灣。
- 2.分光光度儀：Jasco V-530 spectrophotometer，日本。

#### (三)試驗方法

##### 1.試樣分組

試樣分組方法如第二部份所述。

##### 2.試驗流程

由五組不同配方鐵強化乳粉及兩種包裝方式共 10 組進行試驗，

試驗前取 15.662 g 乳粉樣品先以去離子水還原至 125 mL 做為試樣液體做為分析用，每組試樣液體內含 150 ppm 氯化鐵、硫酸亞鐵及混合鐵劑。試驗流程如圖 7 所示。

#### (四)分析項目

##### 1.TBA 值

依Faustman等人(1992)之方法修飾測定。硫巴比妥值(TBA)是測食品脂質氧化程度之試驗。利用thiobarbituric acid對carbonyl物質(醛和酮)的親和力很高，與aldehydes反應(尤其是malon-aldehyde，脂肪酸氧化具3個以上雙鍵的二次產物)，形成有顏色的複合物，測其在530 nm之吸光數值。

##### 1.試劑

(1)20%三氯醋酸。

(2)0.02 M TBA: 0.288 g 二-硫巴比妥酸(2-thiobarbituric acid, TBA, Sigma)溶於 95%冰醋酸中定量至 100 mL。

##### 2.測定步驟

(1)取乳粉樣品 10 g，加入 20%三氯醋酸溶液 25 mL、去離子水 20 mL，進行蛋白質沈澱 30 分鐘。

(2)移入離心管，將樣品以 3600 rpm 離心 20 分鐘。

(3)離心後之上層液體以 Whatman 濾紙(No.1)過濾。

(4)取濾液 2 mL 加入 0.02 M 二-硫巴比妥酸 2 mL 後混合，於 100°C 水浴中加熱 30 分鐘。

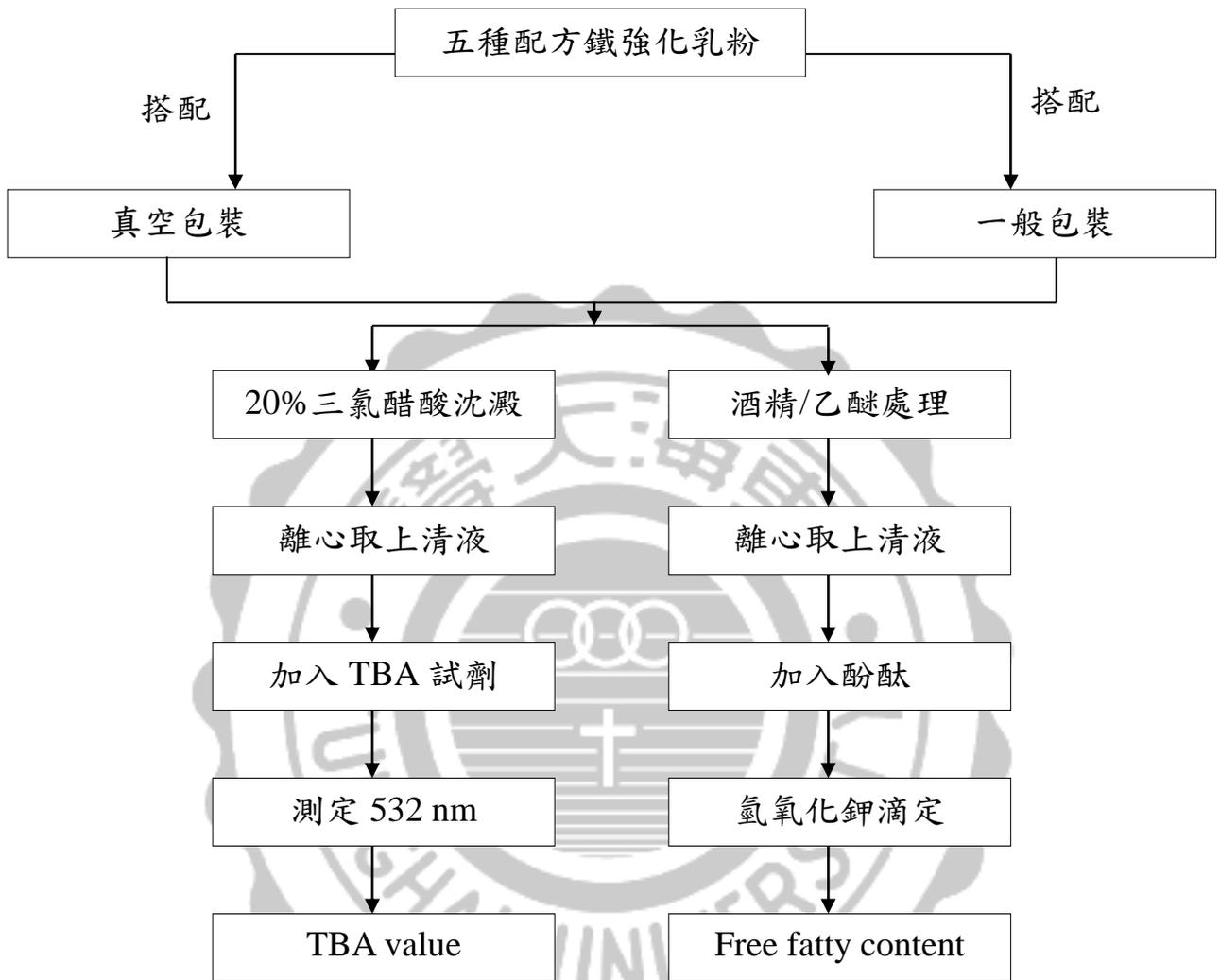


圖. 7. 試驗分組及流程圖。

Fig. 7. The flow chart of experimental design.

(5)流水冷卻 10 分鐘。

(6)使用分光光度計(Metertek sp-830)，波長 532 nm 測定其吸光值。

## 2.游離脂肪酸(酸價)(AV)

依照 AOCS(1989)修飾測定，酸價是測定食品中游離脂肪酸之含量。氧化並不直接與游離脂肪酸的形成有關，但氧化的過程中，二次產品如 butyric acid 可能與游離脂肪酸形成有關(Shermer and Calabotta, 1985)。

### 1.試劑

(1)溶劑：95% ethanol/diethyl ether, 1/1, v/v。

(2)0.1 M KOH。

(3)1% phenolphthalein。

### 2.測定步驟

(1)稱5g樣品置於三角玻璃瓶中，加入50 mL的混合液溶解攪拌均勻。

(2)加入數滴phenolphthalein指示劑，以0.1 M KOH溶液滴定至顏色發生改變至粉紅色，且粉色最少維持10秒，停止滴定紀錄KOH滴定量，計算游離脂肪酸含量。

## 二、對鐵強化乳粉褐化品質之影響

### (一)試驗材料

#### 1.試樣

成人全脂乳粉及機能性添加物質維生素 E、EPA 與 DHA 等如第二部份所述。

## 2. 試藥

三種試驗鐵劑(二價鐵、三價鐵與混合鐵劑)如第二部份所述。

### (二) 儀器設備

1. 恆溫振盪水浴槽：Deng Yeng，DKW-40，台灣。
2. 分光光度儀：Jasco V-530 spectrophotometer，日本。
3. 離心機：Kubota，KN-70，日本。
4. 水活性分析儀：Rotronic，HygroLab-2，瑞士。
5. 螢光分析儀：Perkin Elmer，LS55，美國。
6. 手持式分光色差計 pocket spec，ColorQA TCS，美國。
7. 掃描式電子顯微鏡電子顯微鏡 JSM-6300，JEOL，日本。
8. 數位相機：Nikon，P300，日本。

### (三) 試驗方法

#### 1. 試樣分組

試樣分組方法如第二章所述。

#### 2. 試驗流程

由五組不同配方鐵強化乳粉及兩種包裝方式共 10 組進行試驗，直

接取粉體進行分析試驗，分析粉體顏色(Lab value)、Browning index、最終褐化產物(advanced glycation end products, AGEs)、水分(water content)、水活性(water activity)、外觀拍照(appearance)、顯微結構(scanning electron microscope)及嗜好性官能性品評試驗(sensory analysis)。試驗流程如圖 8 所示。

#### (四)分析項目

##### 1.顏色測定(Lab value)

取乳粉樣品均勻平鋪至 10 公分培養皿中，直接以手持式分光色差計測定顏色，每樣樣品皆測三次，求其平均值表示之，結果分別  $L$  (0, 黑色度; 100, 白色度)、 $a$  (+, 紅色度; -, 綠色度)、 $b$  (+, 黃色度; -, 藍色度)值來表示乳粉之顏色，並以  $\Delta E = (\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2)^{1/2}$  數值來評價整體顏色之變化代表粉體顏色。

##### 2.Browning index

參考 Ferrer 等(2005)的方法修飾，取乳粉樣品 10 g，加入 20%三氯醋酸溶液 25 mL、去離子水 20 mL，進行蛋白質沈澱 30 分鐘，移入離心管，將樣品以 3600 rpm 離心 20 分鐘，離心後之上層液體以 Whatman 濾紙(No.1)過濾，取濾液利用分光光度計測定樣品在 420 nm 及 530 nm 之吸光值。

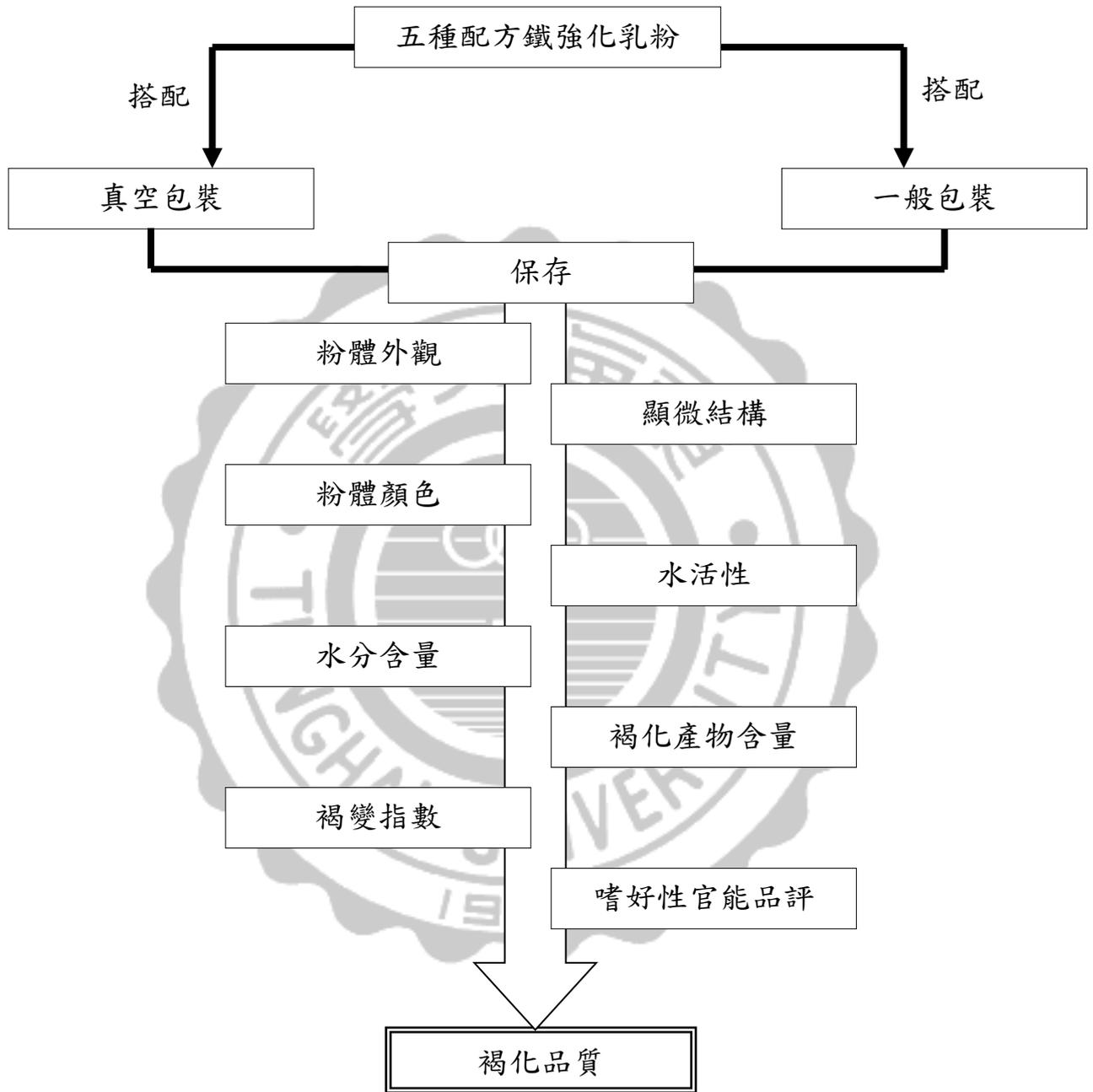


圖 8. 試驗分組及流程圖。

Fig. 8. The experimental design and flow chart.

### 3.最終褐化產物(advanced glycation end products, AGEs)

參考 Ferrer 等(2005)的方法修飾。

1.取乳粉樣品先以去離子水還原至 0.2-0.5 g protein/100mL 做為試樣乳液供分析用。

2.取 1.5 mL 試樣乳液加入 0.5 mL proteinase 溶液(20 units mL)，經 40°C，30 分鐘進行蛋白質水解反應。

3.移入離心管，將樣品於室溫下以 13000 xg 離心 10 分鐘，離心後之上層液體以 Whatman 濾紙(No.1)過濾。

4.取 0.1 mL 上清液，以 pH 7.2 PBS 稀釋至 5 mL，以螢光儀分析不同波長下 AGEs 化合物之含量：AGE ( $\lambda_{ex}$  347 nm； $\lambda_{em}$  415 nm)；pentosidine ( $\lambda_{ex}$  335 nm； $\lambda_{em}$  385 nm)；pentodilysine ( $\lambda_{ex}$  366 nm； $\lambda_{em}$  440 nm)；cross-link ( $\lambda_{ex}$  379 nm； $\lambda_{em}$  463 nm)；pyrroproline ( $\lambda_{ex}$  370 nm； $\lambda_{em}$  455 nm)；argpyrimidine ( $\lambda_{ex}$  320 nm； $\lambda_{em}$  382 nm)。

### 4.水分

依AOAC(1990)之方法，坩堝烘乾、冷卻並秤重記錄。取 $2\pm 0.01$  g 乳粉樣品，在105°C烘箱加熱至穩定重量(約5 hr)，稱坩堝及樣品重，計算原始重量水分。

## 5.水活性

取粉體樣品裝滿於水活性測定容器中，置入水活性分析儀，於 25 °C 下測定水活性。

## 6.外觀

秤取粉體 2g 將其平鋪於 10 公分白色濾紙(Whatman No.1)，置於黑色木製隔板上，以數位相機直接進行粉體外觀空拍圖，拍照條件設定為相片解析度：1600x1200 pixel、曝光度 ISO：120、光圈 F/3.5 及焦距 12mm。

## 7.顯微結構

將乳粉粉末樣品以雙面膠固定於鋁臺上，在真空狀態下包覆黃金膜 400Å 厚度，使用掃描式電子顯微鏡(JSM-6300, JEOL, Japan)於真空度  $10^{-3}$  pa、溫度 2800 K 及 15KV 加速電壓下觀測並照相(500X 及 1000X)。

## 8.嗜好性官能品評

保存 8 個月後之鐵強化乳粉進行官能品評分析，針對外觀、口感、香氣、沈澱及整體接受性等 5 項指標進行嗜好性官能品評，品評分數最高為 10 分，最低為 1 分，品評員不進行預先口味強度測試篩選，以一般消費者中挑選 10 位進行嗜好性官能品評。

## 9.統計分析

本實驗採完全逢機試驗設計(completely randomized design ; CRD)，並以 Statistical Analysis System (SAS，1999)統計軟體，以鄧肯氏新多變域分析法(Duncan's new multiple range test)比較各處理組平均值之差異性。



## V、結果與討論

### 第一部份 探討不同鐵劑種類、機能性添加物質與不同脂肪含量之乳粉鐵質生物利用效率之影響

試驗前以分光光度計 200-700 nm 進行掃描二價鐵各濃度樣品，其最大吸光波長均落在 510 nm；又將氯化鐵還原為二價鐵後之最大吸光波長亦為 510 nm，故將波長 510 nm 作為後續分析之固定波長。

分光光度計為藉由 Beer's Law 得知待測物質在相同波長下之吸光值與其濃度為正比。依葉等(2006)之方法經修飾後作 5-50 ppm 氯化鐵之二價鐵標準檢量線(linear expression)(如圖 9)，以此標準檢量線分析亞硫酸鐵、氯化鐵及混合鐵劑(50%亞硫酸鐵與 50%氯化鐵)於 5 組試驗組之可透析二價鐵(DFe II)、可透析總鐵(TDFe)及未透析二價鐵(NDFe II)之濃度(ppm)，並分別再計算出鐵二價鐵(DFe II + NDFe II)及可透析二價鐵與可透析總鐵之比例(DFeII/TDFe ratio)。

可透析二價鐵(DFe II)代表鐵劑在體外消化試驗中可被透析且以二價鐵形式存在，數值越高顯示該鐵劑利用性佳且透析能力好，可透析總鐵(TDFe)包含了可透析之二價與三價鐵，數值越高顯示體外試驗中總透析能力越佳，未透析二價鐵(NDFe II)雖是代表為何通過透析膜而殘存之二價鐵，但仍以二價鐵形式存在，故數值越高仍可顯示試

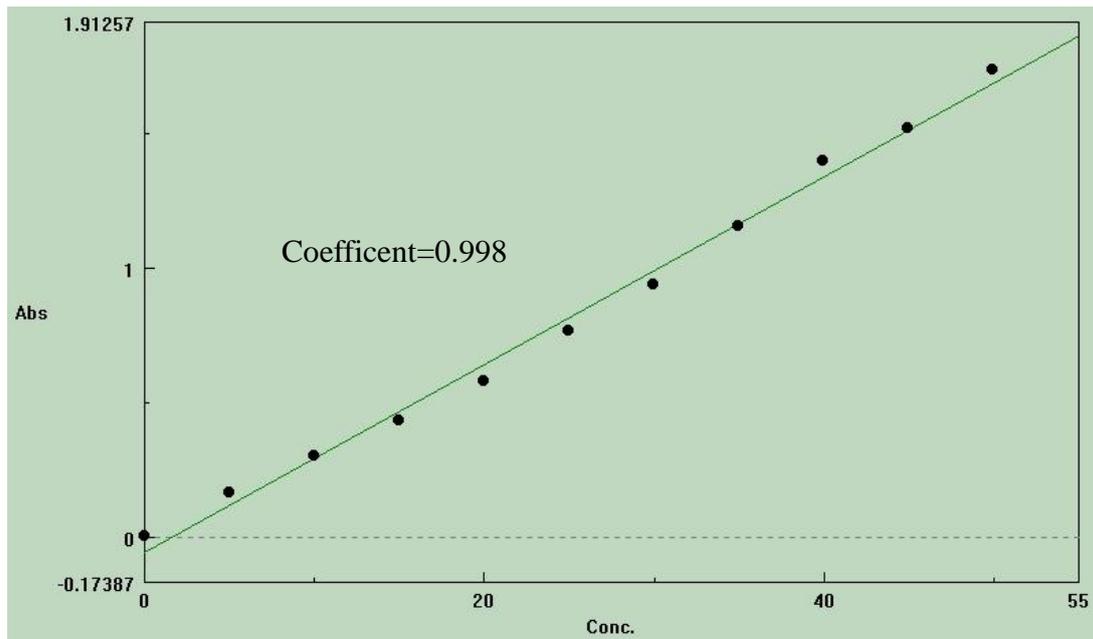


圖 9. 氯化鐵( $\text{Fe}^{3+}$ )5-50 ppm 還原為二價鐵( $\text{Fe}^{2+}$ )之 510 nm 標準檢量曲線。

Fig. 9. The standard curve at 510 nm of ferrous iron reduced from 5-50 ppm ferric chloride.

樣對鐵劑還原或維持二價鐵型式之能力越好，總二價鐵(DFe II +NDFe II)為可透析二價鐵與未透析二價鐵之總合，代表利用性較佳之二價鐵總數，數值越高顯示試樣對鐵劑總還原或維持二價鐵型式之能力越好。可透析二價鐵與可透析總鐵之比例(DFeII/TDFe ratio)代表被透析鐵中之二價鐵濃度，數值越高顯示試樣在能有高透析能力情況下仍能有穩定的二價鐵型態，DFeII 與 DFeII/TDFe ratio 為鐵質利用率之主要參考指標，TDFe、NDFeII 及 DFe II +NDFe II 則為鐵質利用率之次要指標。

#### 一、不同乳脂肪含量之鐵強化乳粉對鐵劑生物可利用效率之影響

試驗採用二價鐵(硫酸亞鐵)、三價鐵(氯化鐵)及 50% 二價鐵與 50% 三價鐵二者各半混合之鐵劑 (MIX) 分別添加於脫脂、低脂與全脂成人乳粉中，配製成鐵含量為 114 mg/100g sample，總固形物分別為 8.55、9.75 與 11.75%，乳粉還原後其含脂率分別為 0.3、1.5 與 3.5% 之脫脂、低脂、全脂鐵強化還原乳，經體外消化作用後進行透析，測得 DFeII、TDFe、NDFeII、DFe II +NDFe II、DFeII/TDFe ratio 等鐵質利用率之各項指標。

圖 10 顯示當三種不同脂肪含量之乳粉分別添加了二價鐵 (硫酸亞鐵)、三價鐵(氯化鐵)及混和鐵劑(50% 二價鐵+50% 三價鐵 Mix 組)

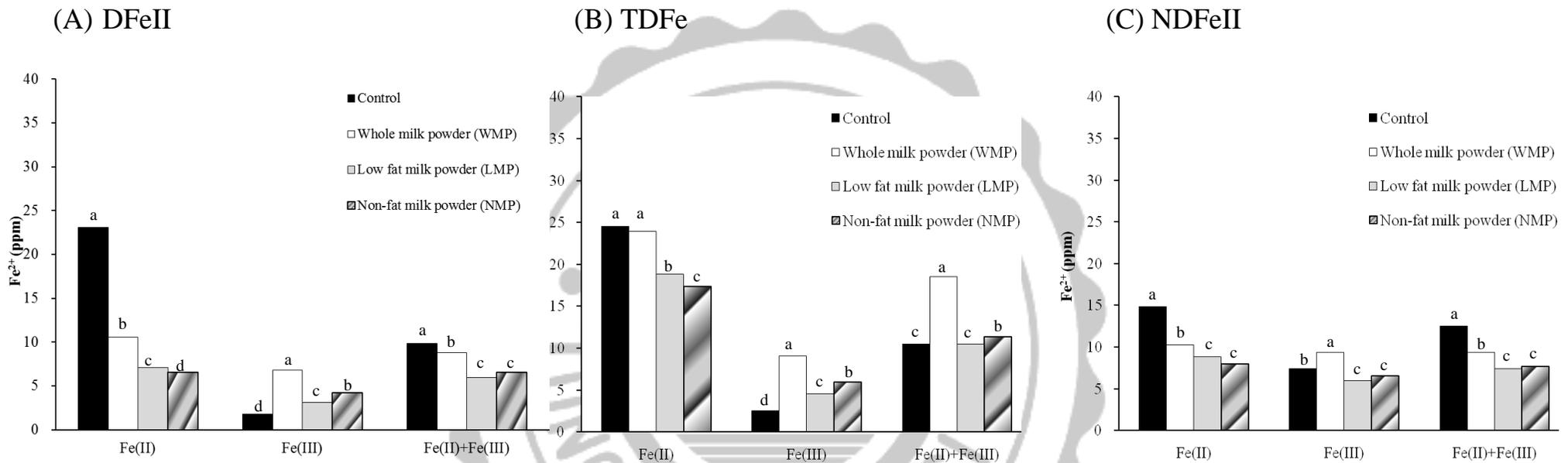


圖 10. 脂肪含量對於鐵強化乳粉之體外生物利用性(DFeII、TDFe、NDFeII)影響。

Fig. 10. The effect of adding three kind of iron compounds in different fat levels milk powder on dialyzable ferrous iron (DFe II), dialyzable total iron (DTFe) and non-dialyzable ferrous iron (NDFe II) during *in vitro* digestion.

<sup>a-d</sup> Mean in each milk sample by different letters are significantly different (P<0.05).

時，其可透析二價鐵(DFeII)、可透析總鐵(TDFe)及未透析二價鐵(NDFeII)之數值。結果顯示，乳粉的存在顯然對添加二價鐵後之鐵生物可利用效率造成影響，所有二價鐵劑(硫酸亞鐵)組別其測得之DFeII數值皆顯著較未添加乳粉之對照組低(無論乳粉之脂肪高低)；然而同樣的情況於三價鐵劑組(氯化鐵)其結果卻有異於二價鐵劑組。當乳粉添加三價鐵劑時，其DFeII與TDFe值皆明顯高於未添加乳粉之對照組，此現象似乎可顯示乳粉對於三價氯化鐵其生物可利用效率有改善之效果；於混合鐵劑(50%二價鐵與50%三價鐵)(MIX)組，DFeII則與二價鐵劑組別結果類似。另一方面，圖10顯示所測得之可透析二價鐵數值值可發現，無論在何種鐵劑組，鐵強化全脂乳粉所呈現之數值均較優於低脂與脫脂乳粉( $P < 0.05$ )，而鐵強化低脂與脫脂還原乳對所添加之鐵劑，於DFeII值均顯示其兩者對鐵之生物利用效率影響程度相當且兩者間差異不顯著。

圖10(B)為試樣之可透析總鐵值(TDFe)，數值包含可透析之二價與三價鐵之總和，數值越高顯示此添加之鐵劑其總透析能力越佳，亦可做為鐵質生物可利用率參考之指標。結果顯示當二價鐵加入三種不同脂肪含量之乳粉後，低脂與脫脂乳粉對於TDFe之數值反而有負面之效果，惟全脂乳粉的存在對二價鐵之添加不影響鐵生物可利用效率(與對照組相較) ( $p < 0.05$ )。同時全脂乳粉對添加三價鐵及混和鐵劑之

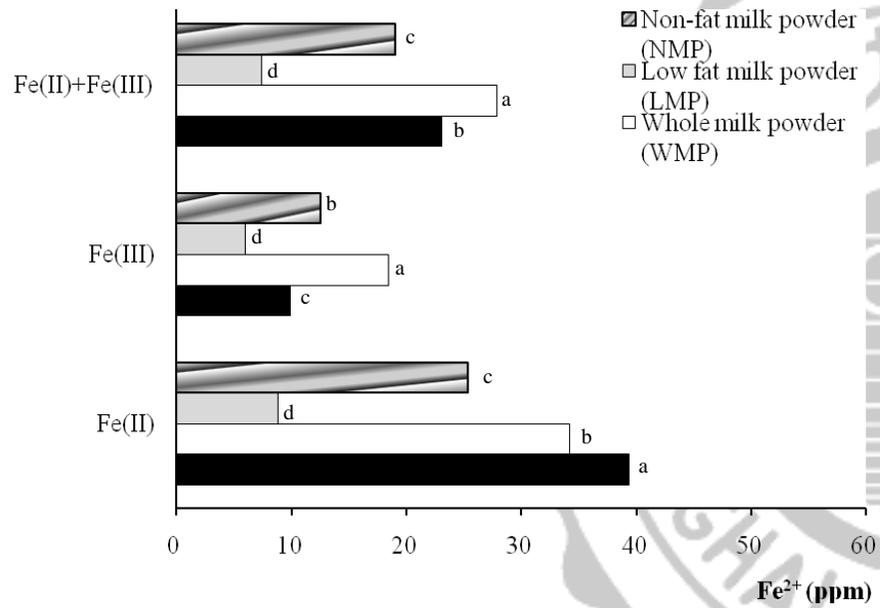
組別所測定之 TDFe 值亦有正面之影響，但同時低脂與脫脂乳粉添加對氯化鐵（三價鐵劑）及混和鐵劑（50%二價鐵與 50%三價鐵）皆顯著較未添加乳粉之對照組高( $p < 0.05$ )，因此可看出乳粉的存在可改善三價鐵與混和鐵劑之總透析能力（無論脂肪含量多寡）。此結果與 Yeh 等人(2009)之研究提到乳粉存在具有改善三價鐵鐵質生物利用效率之結果相類似。Chaud 等人(2002)有提到將牛乳中之酪蛋白進行水解後，可與鐵質形成可溶性複合物，而當鐵結合至酪蛋白因水解而顯露之羧基（carboxyl group），另一小部分鐵則會取代胺基上氫氧基（-OH group）鍵結於氮原子而有益於小腸對其的吸收率的提升。此有助於本試驗結果之解釋，乳粉對鐵質生物利用性之提升應亦有類似之效果。脂肪含量對鐵強化乳粉鐵質之生物可利用效率之影響可發現全脂乳粉相較於低脂與脫脂乳粉，其鐵質生物利用性仍有較好的表現，而此趨勢與 DFeII 之趨勢(圖 10(A))相符合，再次證明除乳粉中之其他成份外，脂肪含量確實可以影響到鐵質之總透析能力（陳等，2008）。

圖 10(C)為試樣之未透析二價鐵 NDFeII 之數值，其表示雖試樣之鐵無法透析，但仍能以利用性較好之二價鐵還原態形式存在。結果顯示添加二價鐵劑組別之生物可利用效率全脂乳粉顯著要比低脂與脫脂乳粉組別要佳，但仍不及對照組未添加乳粉之組別( $p < 0.05$ )；三價鐵劑組(氯化鐵)與混合鐵劑與圖 2(A)(B)具類似之趨勢，顯著在乳粉

中脂肪之存在提供了三價鐵劑較適當之還原環境，具改善鐵質生物利用效率之效果（陳等，2008）。

圖 11(A) 為三種不同脂肪乳粉添加三種不同鐵劑時其  $DFeII+NDFeII$  之數值表現， $DFeII+NDFeII$  數值可表示整體試驗系統中維持鐵處於二價狀態中之能力，結果顯示無論鐵劑種類為何（二價、三價或混合鐵），鐵強化全脂乳粉對於鐵劑維持二價還原鐵狀態之能力最佳，明顯高於其餘兩組脂肪之乳粉 ( $p<0.05$ )，其次則為脫脂乳粉，二價鐵、三價鐵與混合鐵的組別三者  $DFeII+NDFeII$  皆呈現了相同的趨勢，此亦可顯示出，無論有無透析之效果，當外加鐵劑進行乳粉之強化後鐵還原維持生物利用性較佳之二價鐵的能力依舊以二價鐵劑較好。圖 11(B) 則顯示  $DFeII/TDFe$  之比例，其代表可被透析之鐵中維持二價鐵之比例，數值越趨近 1 代表鐵質生物利用性越佳，就不同脂肪乳粉進行比較，全脂乳粉依舊在添加二價鐵、三價鐵與混合鐵劑中皆有最高  $DFeII/TDFe$  之數值，此代表在可被透析後之鐵質當中，若使用乳粉來當作介質，脂肪含量的多寡直接影響到被透析後之鐵質生物利用性，此結果與圖之結果可相互印證，此外，在數值的表現而言，添加二價鐵於乳粉之  $DFeII/TDFe$  數值無論乳粉脂肪含量之多寡，數值皆無超過 0.5。然三價鐵添加於乳粉時，3 組乳粉試驗組其  $DFeII/TDFe$  數值皆超過 0.7，此部份若與圖 11(A) 之結果相互對照，

(A) DFeII + NDFeII



(B) DFeII/TDFe ratio

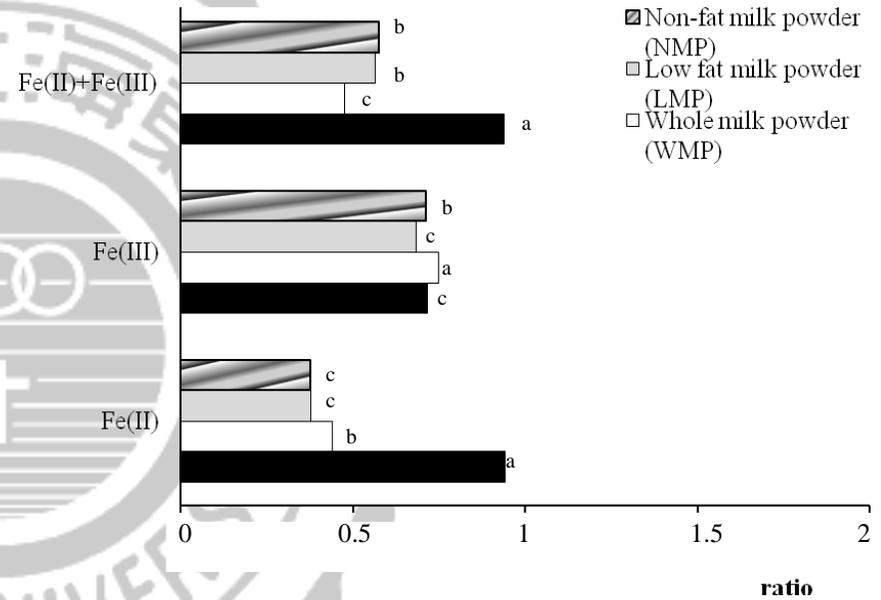


圖 11. 脂肪含量對於鐵強化乳粉之體外生物利用性 (DFeII + NDFeII、DFeII/TDFe ratio) 影響。

Fig. 11. The effect of adding three kind of iron compounds in different fat levels milk powder on DFeII + NDFeII and DFeII/TDFe ratio during *in vitro* digestion.

<sup>a-e</sup> Mean in each milk sample by different letters are significantly different (P < 0.05).

應可看出雖三價鐵劑應用於乳粉中其還原成二價鐵之能力不如添加二價鐵劑，但若只要被可透析後，即便是添加三價鐵劑，在可被透析之鐵中依舊可以維持相當高含量的二價鐵型態。

綜合不同類型之鐵劑透析與生物可利用率分析指標項目 (圖 10 及圖 11) 之結果所述可知，無論添加之鐵劑是否會受到食品種類及成分之影響，可得知其鐵質之生物可利用效率之表現仍首先取決於本身之基本特性，亦即與其自身之氧化、還原與透析等有關此亦可由前人之研究以相互印證(林，2006；趙等，2005；Lee and Clydesdale, 1979)。各種鐵劑之維持二價鐵還原與透析能力由以上述可得知，無論乳粉之脂肪與否，其鐵質生物可利用效率之表現仍以添加二價鐵劑(硫酸亞鐵)最佳，其結果與林等(2007)與陳等(2008)所描述之結果相符合。另一方面，乳粉中之脂肪及其他成分會影響鐵之氧化態與還原態相之改變，添加二價鐵劑(硫酸亞鐵)後，結果似乎顯示二價鐵氧化速度似超過乳粉對其還原之能力，故對其生物可利用效率反顯現負面之影響，但卻有助於改善較安定三價之氯化鐵 (CH<sub>3</sub>) 與混和鐵劑 (MIX) 於模擬腸道消化試驗中其還原為二價鐵之生物可利用效率。當若以外在方式添加鐵劑用以補強乳粉本身之鐵不足缺陷時，乳粉中之脂肪似乎亦在鐵質之生物利用效率上扮演重要影響之角色，此結果亦與陳等 (2008)所作之結果相似。故於鐵強化乳粉之開發，以全脂乳粉

之鐵強化型態較低脂與脫脂乳粉而言，對強化所用之鐵劑更具維持其二價之型態（還原態）及透析之能力。

## 二、鐵劑與不飽和脂肪酸添加物對鐵強化乳粉鐵質生物可利用效率之影響

藉由劣區統計模式將鐵劑種類置於主區，不同脂肪乳粉搭配兩種不飽和脂肪酸 EPA 與 DHA 等添加物置於副區，探討其對 DFeII、TDFe、NDFeII、DFeII+NDFeII 及 DFeII/TDFe 數值之影響。

本實驗所使用之機能性添加物質以不飽和 EPA 與 DHA 為主，然乳粉中本身亦存在脂肪及其他如醣類與蛋白質等成分，因此進行此項實驗前，已釐清鐵劑種類與乳中之脂肪含量對於二價鐵、三價鐵及混合鐵劑之體外生物利用性影響(圖10及圖11)。就鐵劑種類而言，其鐵質生物可利用率之表現以二價鐵劑為最佳；就不同脂肪含量之乳粉對鐵質生物利用效率之影響，其鐵透析效果以全脂還原乳最佳，其次為低脂，最終則為脫脂，以往被認為生鐵利用性較差的三價價氯化鐵而言，不論脂肪含量為何，乳成分的存在皆有助於改善三價之氯化鐵於模擬腸道透析試驗中其生物可利用率。此外有多名研究者已釐清乳中之成分對於鐵強化乳製品中鐵質生物利用效率之影響，陳等(2008)發現維生素E及維生素D時對於鐵強化乳粉鐵質之吸收效果有提升之效

果，Yeh等人(2009)認為乳中之乳糖與蛋白質對於添加三價鐵於乳製品中有提升鐵質生物利用性之功效，進而王(2008)發現添加醣類於鐵強化乳粉中對於蛋白質提升鐵質生物利用性有正面之注意。長鏈不飽合脂肪酸亦是目前常見於市售乳粉中營養添加物質，因此本試驗則希望了解長鏈不飽合脂肪酸EPA及DHA等這類型機能性物質對於鐵強化乳粉中鐵質利用性之影響。

圖12表示長鏈不飽和脂肪酸加於二價鐵(硫酸亞鐵)強化全脂、低脂及無脂乳粉經*in vitro*實驗之DFe(II)、TDFe與NDFe(II)之數值。結果顯示EPA對三種脂肪含量之鐵強化還原乳皆具大幅提升其可透析二價鐵DFeII之效果(圖12(A))。此現象在可透析總鐵與未透析二價鐵中發現相同的趨勢。DHA在低脂與脫脂還原乳組別中對可透析二價鐵亦有顯著提升，在未透析二價鐵的測定也皆比control來得高。推測原因為EPA與DHA的存在可幫助鐵強化還原乳中硫酸亞鐵維持穩定的二價鐵形式，因而造成此等實驗之結果。圖12(B)為EPA及DHA對二價鐵強化之不同脂肪含量乳粉之TDFe測定值。DHA之添加對二價鐵強化乳粉之可透析總值測定值似呈負面影響( $P < 0.05$ )；另EPA之添加無論處於何種脂肪含量之鐵強化還原乳下，對可透析總鐵之測定值皆有正面改善之功效 ( $P < 0.05$ ) 與DFeII呈現相同之趨勢。另觀察不同脂肪含量二價鐵強化乳粉之未透析二價鐵NDFeII測定值，除低脂乳粉試驗

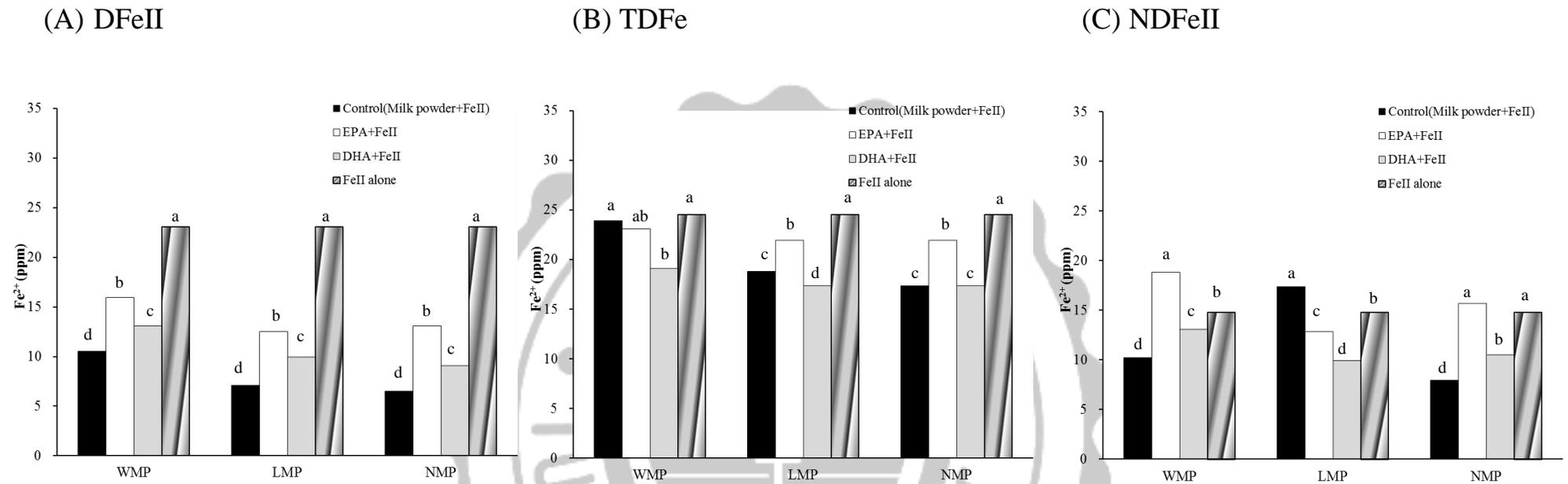


圖 12. 不飽和脂肪酸添加物對二價鐵劑強化乳粉之體外生物利用性(DFeII、TDFe、NDFeII)影響。

Fig. 12. The effect of functional additives in different fat levels with ferrous sulfate compound fortified milk powder on dialyzable ferrous iron (DFeII), dialyzable total iron (TDFe) and non-dialyzable ferrous iron (NDFeII) during *in vitro* digestion.

<sup>a-e</sup> Mean in each milk sample by different letters are significantly different (P < 0.05).

組為，其餘各試驗組與對照組相比較皆表現出對未透析二價鐵之測定值正面改善之效果( $P<0.05$ )。DFeII+NDFeII及DFeII/TDFe數值方面(圖13)，EPA的添加皆顯著對於維持二價鐵強化乳粉中鐵的穩定性有正面之助益，在DFeII+NDFeII皆比對照組高，此結果應由於EPA可大幅提升其可透析二價鐵DFeII之效果，在DFeII/TDFe方面，在脫脂乳粉組EPA的添加之數值高於其餘組別而低脂與全脂則無差異。

圖14表示EPA及DHA添加於三價鐵劑(氯化鐵)強化乳粉中經*in vitro*試驗之DFe(II)、TDFe與NDFe(II)之數值。DHA之添加與對照組相比較下，其對可透析二價鐵DFeII之影響差異並不顯著，在全脂乳粉中則比對照組有較高的NDFeII數值，但EPA不論添加入何種脂肪含量之還原乳中，與對照組相比較，其DFeII與NDFe II 值皆具有提升之功效( $P<0.05$ )，此結果與利用二價硫酸亞鐵當鐵劑時所得之結果類似。另一方面，無關於乳粉之脂肪含量，EPA及DHA的添加皆在DFeII+NDFeII數值比對照組較高(圖15(A))，此表示EPA及DHA對於三價鐵強化乳粉中維持二價鐵的形式皆有正面的效果，DFeII/TDFe比例方面，在各組脂肪含量乳粉試驗組中，DHA的添加數值明顯低於對照組，而EPA則依舊有正面之助益。

將上述兩種鐵劑(二價鐵劑與三價鐵劑)以各50%混合之方式，採混合鐵劑對其不同脂肪含量之乳粉額外添加EPA及DHA等長鍊不飽

(A) DFeII + NDFeII

(B) DFeII/TDFe ratio

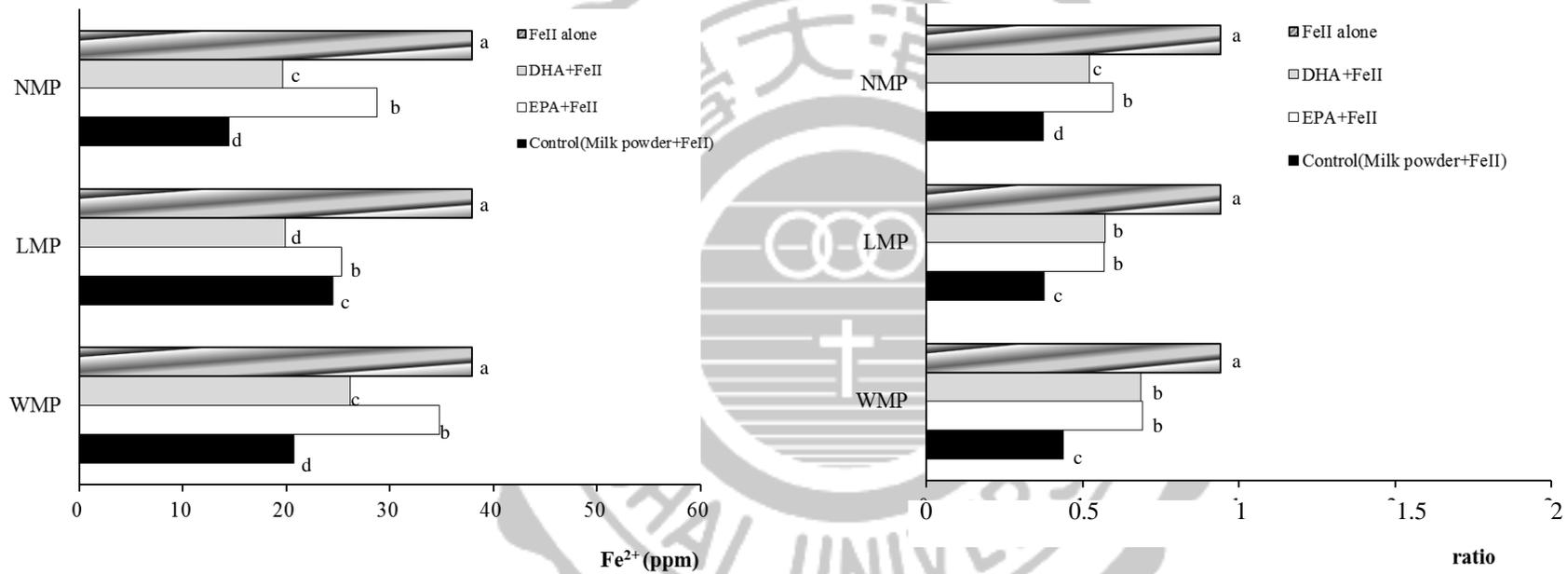


圖 13. 不飽和脂肪酸添加物對二價鐵劑強化乳粉之體外生物利用性 (DFeII + NDFeII、DFeII/TDFe ratio) 影響。

Fig. 13. The effect of functional additives in different fat levels with ferrous sulfate compound fortified milk powder on DFeII + NDFeII and DFeII/TDFe ratio during *in vitro* digestion.

<sup>a-e</sup> Mean in each milk sample by different letters are significantly different ( $P < 0.05$ ).

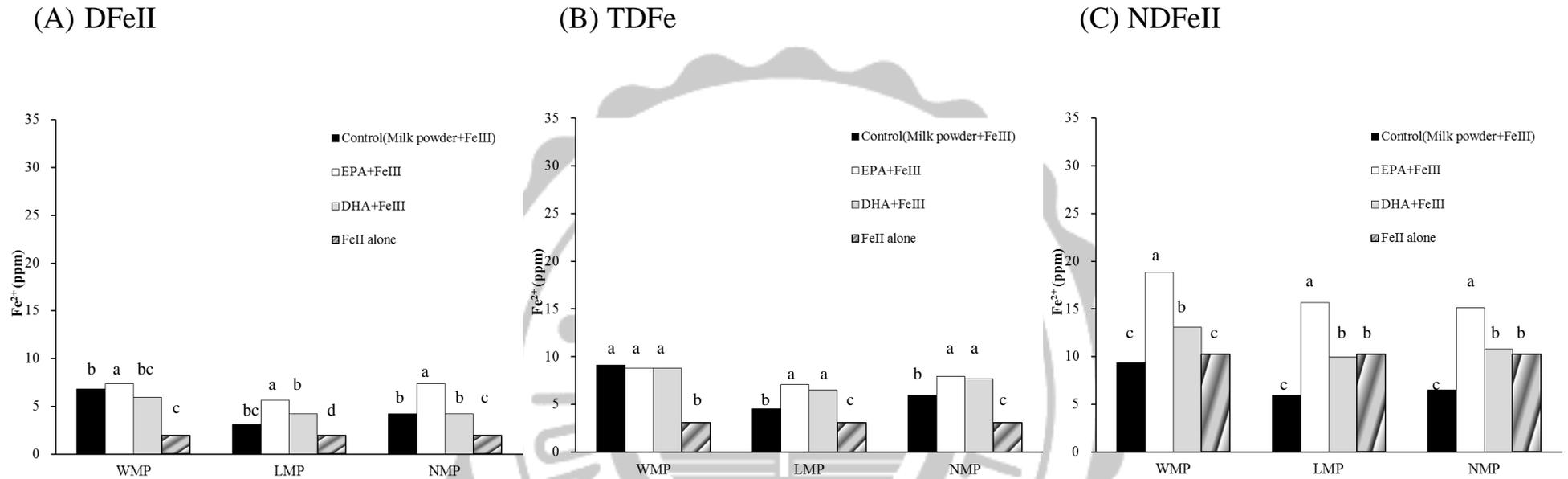
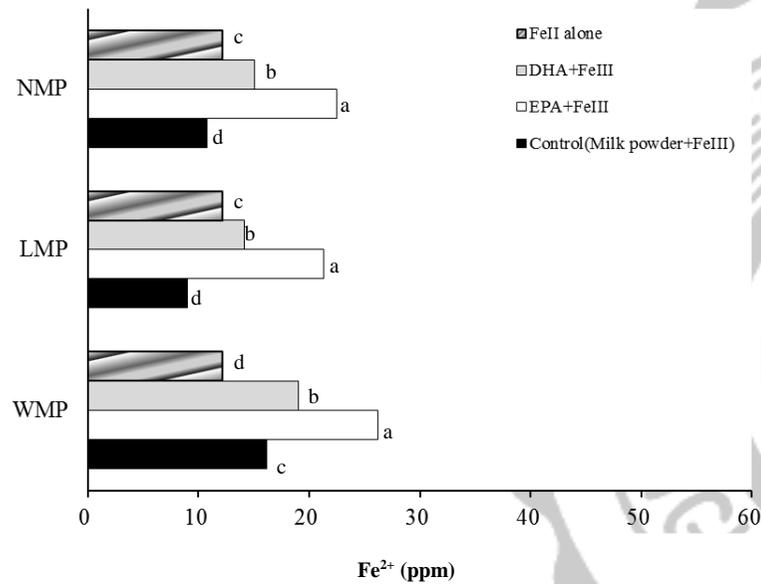


圖 14. 不飽和脂肪酸添加物對三價鐵劑強化乳粉之體外生物利用性 (DFeII、TDFe、NDFeII) 影響。

Fig. 14. The effect of functional additives in different fat levels with ferric chloride compound fortified milk powder on dialyzable ferrous iron (DFeII), dialyzable total iron (DTFe) and non-dialyzable ferrous iron (NDFeII) during *in vitro* digestion.

<sup>a-e</sup> Mean in each milk sample by different letters are significantly different (P<0.05).

(A) DFeII + NDFeII



(B) DFeII/TDFe ratio

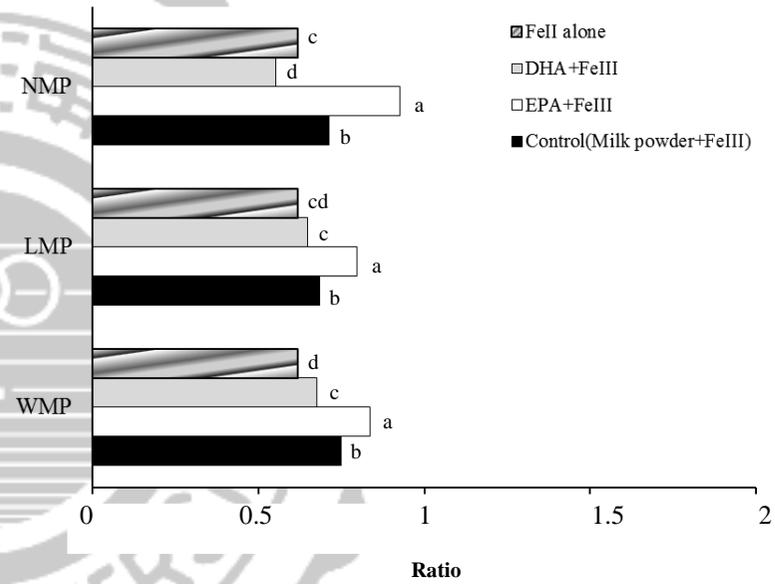


圖 15. 不飽和脂肪酸添加物對三價鐵劑強化乳粉之體外生物利用性 (DFeII + NDFeII、DFeII/TDFe ratio) 影響。

Fig. 15. The effect of functional additives in different fat levels with ferric chloride compound fortified milk powder on DFeII + NDFeII and DFeII/TDFe ratio during *in vitro* digestion.

<sup>a-e</sup> Mean in each milk sample by different letters are significantly different (P < 0.05).

合脂肪酸對 DFe (II)、TDFe、NDFe (II)、DFeII+NDFeII 及 DFeII/TDFe 之測定值進行探討，其結果如圖 16 及圖 17。與對照組相較 DHA 之添加在各脂肪含量乳粉組別間無明顯差異，EPA 添加則明顯地具提升改善 DFe II 值之效果 ( $P < 0.05$ )。TDFe 方面，DHA 之添加在低脂鐵強化乳粉中與對照組無差異，但在全脂及脫脂乳粉中則數值低於對照組，反而對於混和鐵劑強化乳粉之鐵透析能力有負面之影響，EPA 添加則與 DFeII 數值類似，在各脂肪含量中其數直接顯著要高於對照組(圖 16(B))，NDFeII 部分，EPA 及 DHA 在數值之表現皆顯著優於對照組(圖 16(C))，若從 DFeII+NDFeII 指標觀察亦有類似之情形，表示 EPA 及 DHA 此兩類長鏈不飽和脂肪酸添加於混和鐵劑強化乳粉時，對於乳粉中維持與轉變鐵離子成為吸收性較高之二價鐵形式，皆有正面之助益(圖 17(A))，但其中又以 EPA 此類型不飽和脂肪酸效果較佳，而就 DFeII/TDFe 指標而言，在低脂與脫脂混和鐵劑強化乳粉中，DHA 的添加數值明顯高於對照組，EPA 則與對照組無差異，在全脂混和鐵劑強化乳粉中則以 EPA 組別有最高的 DFeII/TDFe 比值(圖 17(B))。

綜觀上述，DHA 與 EPA 對鐵質之吸收利用於 DHA 方面效果較不顯著，而 EPA 在大多數評估指標中則具促進之效用，在全脂、低脂與脫脂搭配二價鐵、三價鐵及混和鐵之強化乳粉中對於鐵之生物利

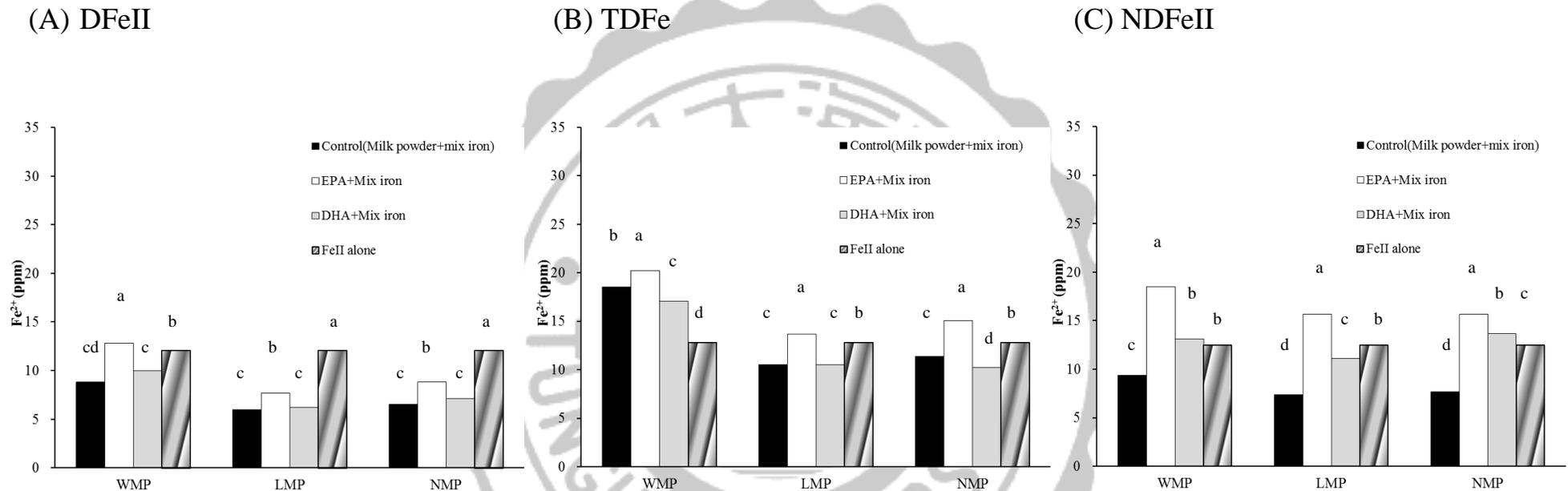


圖 16. 不飽和脂肪酸添加物對混合鐵劑強化乳粉之體外生物利用性 (DFeII + NDFeII、DFeII/TDFe ratio) 影響。

Fig. 16. The effect of functional additives in different fat levels with mix iron compound fortified milk powder on dialyzable ferrous iron (DFeII), dialyzable total iron (DTFe) and non-dialyzable ferrous iron (NDFeII) during *in vitro* digestion.

<sup>a-e</sup> Mean in each milk sample by different letters are significantly different (P<0.05).

(A) DFeII + NDFeII

(B) DFeII/TDFe ratio

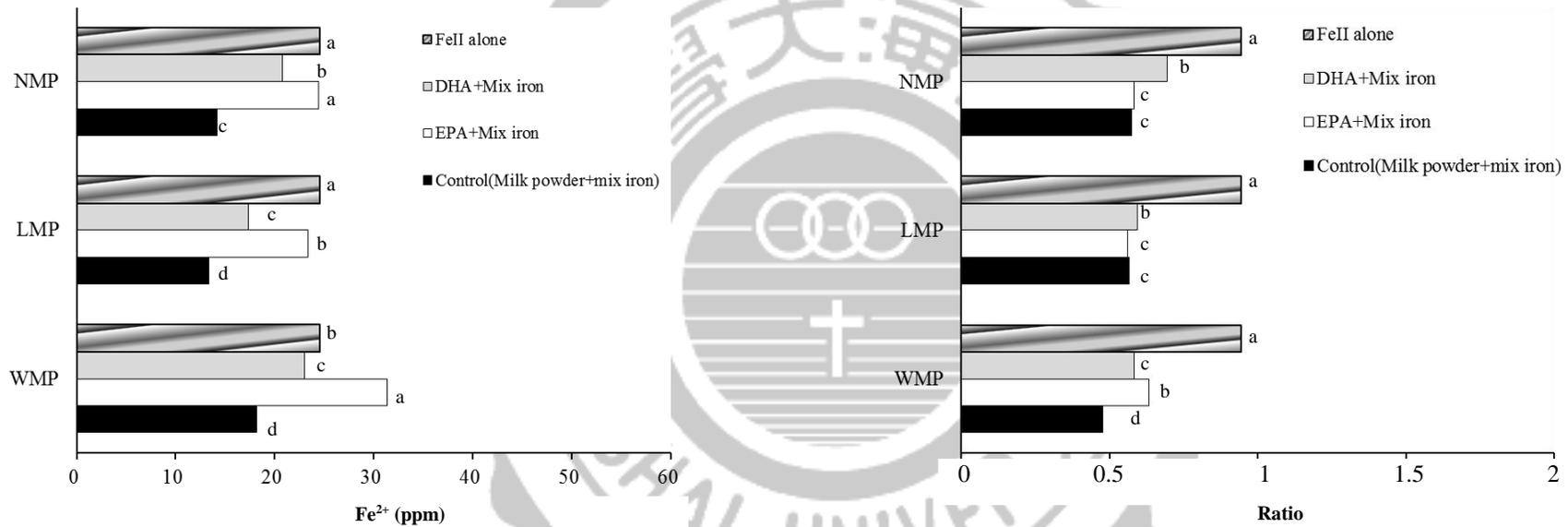


圖 17. 不飽和脂肪酸添加物對混合鐵劑強化乳粉之體外生物利用性 (DFeII + NDFeII、DFeII/TDFe ratio) 影響。

Fig. 17. The effect of functional additives in different fat levels with mix iron compound fortified milk powder on DFeII + NDFeII and DFeII/TDFe ratio during *in vitro* digestion.

<sup>a-e</sup> Mean in each milk sample by different letters are significantly different (P < 0.05).

用性皆有正面之助益。然造成此現象之產生，推斷與添加物本身具有之特性即長鏈多元不飽和脂肪酸氧化程度有關。由結構而言 DHA(C22:6n-3)為 22 碳 6 烯酸，EPA (C20:5n-3) 則為 20 碳 5 烯酸，其差異除為碳鏈之長短外，雙鍵鍵結之數量及雙鍵鍵結之位置皆有不同，近年有報告針對脂肪型態對鐵質生物可利用效率進行探討，指出長鏈多元不飽和脂肪酸添加於日糧中對鐵質吸收利用之效率較其餘營養性添加物具提升改善之功效(Chetty *et al.*, 1999; Vaquero *et al.*, 2001; Williams, 2000)，另有研究者認為，脂肪於日糧中存在之比例對鐵質生物可利用效率具影響力，日糧成分中存在較多量的脂肪，特別是組成若以不飽和脂肪酸為主時，對鐵質生物可利用效率具促進之功效(Ortega *et al.*, 1998; Shotton and Droke, 2004)。本實驗結果呈現吾人推測此處對鐵質生物可利用效率呈現促進之功效，可歸因於 EPA 自氧化速率相較於試樣內物質之氧化速率高出許多，此現象造成強化用之鐵劑經胃酸作用還原成二價鐵後，於腸道中能維持較多之二價鐵型態被吸收利用，並降低其被氧化成三價鐵之量，因而得以提升鐵質之生物可利用率。近年來一些研究報告亦指出長鏈多元不飽和脂肪酸之添加，除對大腦與視覺之發展 (Kelley, 1996; Haumann, 1997)、身體免疫機能之維護皆有幫助外 (Williams, 2000)，對體內礦物質之吸收利用效率具影響性，其中針對營養元素鈣可提高其吸收利用效率、減少

尿液中鈣的排除，亦提升骨密度與骨中之鈣含量 (Kruger and Schollum, 2005)。

綜觀以上結論，鐵強化乳粉之開發時，鐵劑的種類對於其生物可利用效率有直接之影響外，由於環境中的其他因子亦會影響鐵的氧化還原態進而影響其吸收效果，而往往乳粉之開發常伴隨多種額外添加之營養性物質，因此這類營養性添加物質種類是否對於鐵之利用性有所影響也應一併考量。



## 第二部份 探討不同鐵劑種類、包裝方式及貯存時間對鐵強化乳粉鐵質生物利用效率之影響

近年來市場上新起健康養身之風氣，鐵為乳製品中較缺乏之營養元素，因此許多廠商皆推出多項鐵強化乳製品，而這類鐵強化乳品常伴隨各類型之營養添加物加入以提升其機能性，在第一部分試驗及前人研究中歸納鐵強化乳粉中影響其生物利用性之因素如下：

- 一、二價鐵劑為較適宜之鐵添加劑。
- 二、乳粉中之脂肪似乎亦在鐵質之生物利用效率上扮演重要影響之角色，以全脂乳粉之鐵強化型態相較低脂與脫脂乳粉而言，對強化所用之鐵劑更具維持其二價之型態（還原態）及透析之能力。
- 三、使用二價鐵或三價鐵等外加鐵劑進行乳粉之強化時，不飽和脂肪酸 EPA 具有提升其鐵質生物利用效果。
- 四、牛乳中之乳糖與蛋白質有助於額外添加鐵劑之鐵質生物利用性之提升(Yeh *et al.*, 2009)。
- 五、維生素 E 及維生素 D 時對於鐵強化乳粉鐵質之吸收效果有提升之效果（陳等，2008）。

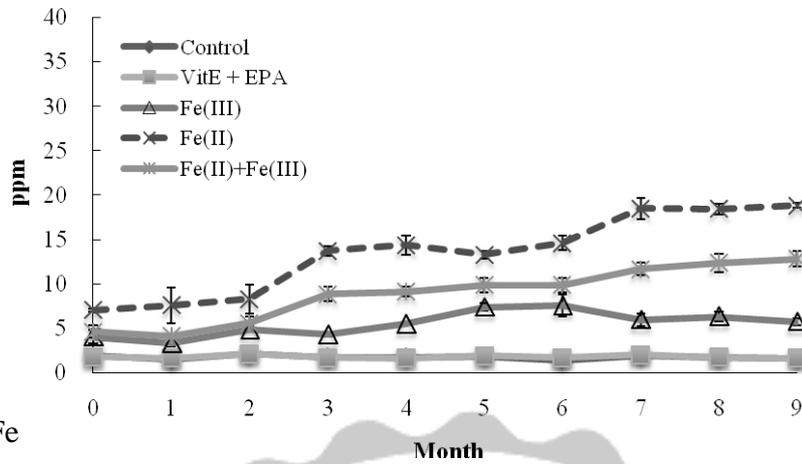
通常乳粉之保存期往往長達 7-9 個月，國人飲用習性亦為開封後至於常溫放置，鐵強化乳粉中鐵質之利用效益是否會隨鐵劑種類、保存條件或時間而有所改變亦為吾人所必須研究之方向，因此試驗之第

二部分則依循第一部分試驗結論進行探討保存條件對於鐵質生物利用性之影響。

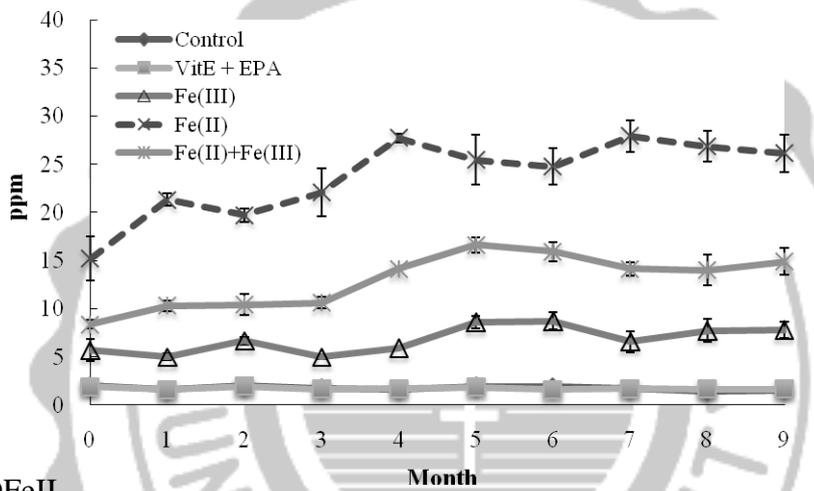
依循第一部份試驗所得之結果，採用二價鐵(硫酸亞鐵)、三價鐵(氯化鐵)及 50%二價鐵與 50%三價鐵二者各半混合之鐵劑 (MIX) 添加至全脂成人乳粉中，並參照中華民國國人每日營養成分建議攝取量，額外添加維生素 E (50  $\mu$ g/100g milk powder sample)與不飽和脂肪酸 EPA (30 mg/100g milk powder sample)等營養強化添加劑，配製成鐵含量為 114 mg/100g milk powder sample 之鐵強化乳粉，以有氧(常態)或無氧(真空)包裝置於室溫保存，定期取出進行 *in vitro* 透析生物利用試驗，測得 DFeII、TDFe、NDFeII、DFe II +NDFe II、DFeII/TDFe ratio 等鐵質利用率之各項指標。

圖 18 (A)顯示乳粉在有氧包裝情況下，保存 9 個月經體外透析試驗其可透析二價鐵 DFeII 變化之情形，在未含鐵劑之對照組別，其可透析二價鐵 DFeII 數值變化並不明顯，而添加二價鐵劑組，可透析二價鐵 DFeII 則隨保存時間之延長而有增加之趨勢，至第 9 個月時，其數值比最初數值增加約 2.4 倍，混合鐵劑組別 DFeII 數值亦有隨保存時間之延長有增加之趨勢，至第 9 個月時，其數值比最初增加約 1.5 倍，三價鐵劑組於保存期間之 DFeII 數值則無顯著之變化。另一方面，針對添加不同鐵劑組別進行比較，至第 9 個月時，其二價鐵劑

(A) DFeII



(B) TDFe



(C) NDFeII

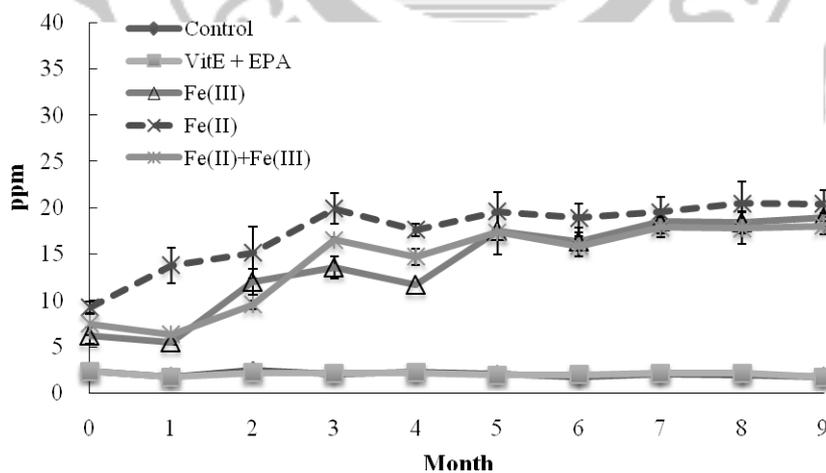


圖 18. 含氧包裝與保存時間對鐵強化乳粉之體外生物利用性 (DFeII、TDFe、NDFeII) 影響。

Fig.18. The *in vitro* bioavailability (DFeII、TDFe、NDFeII) in iron-fortified milk powder during aerobic storage.

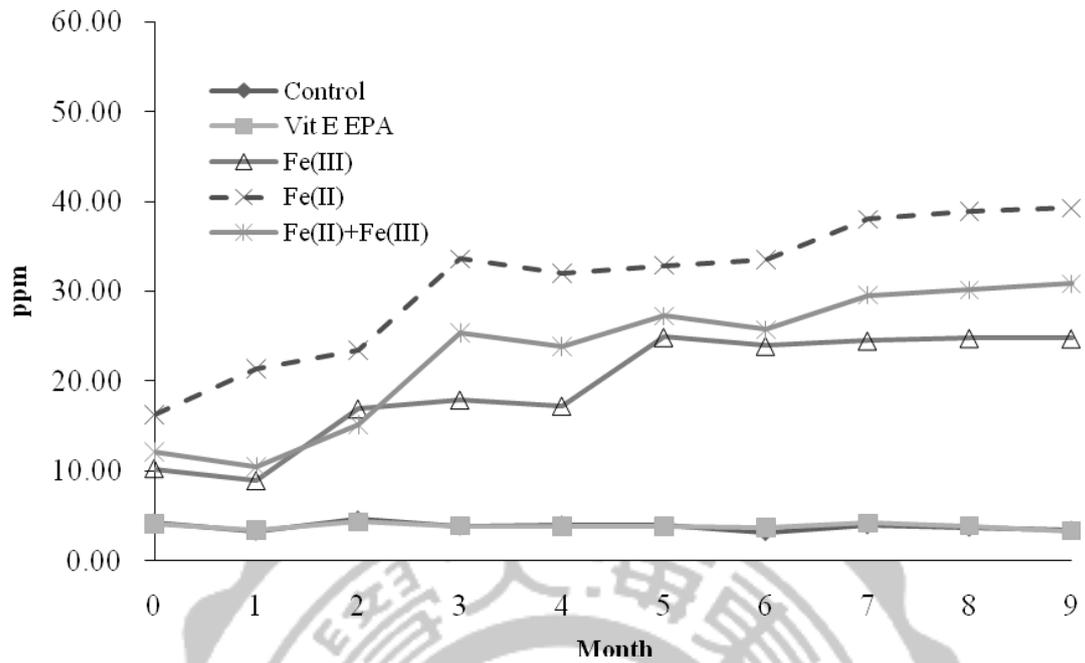
組其 DFeII 之數值顯著高於其於兩組( $P < 0.05$ )，此顯示在二價鐵劑組別中，其鐵質生物利用效率並不會因保存期的延長而有所影響，反而有增加其生物利用性之情形。

圖 18 (B)顯示有氧包裝情況下，經 9 個月期間體外透析試驗其可透析總鐵 TDFe 之變化，5 組試驗組之數值變化與 DFeII 之趨勢類似，添加二價鐵劑與混合鐵劑組，可透析總鐵 TDFe 隨保存時間之延長而有增加，至第 9 個月時，其數值比最初分別增加約 1.7 及 1.6 倍，三價鐵劑組於保存期間之 TDFe 則無顯著之變化，從保存初期直到試驗第 9 個月結束，其 TDFe 數值依序大小為二價鐵劑組、混合鐵劑組及三價鐵劑組。

圖 18 (C)顯示有氧包裝情況下，經 9 個月期間體外透析試驗其未透析二價鐵 NDFeII 之變化，在三價鐵劑與混合鐵劑組別至保存第 2 個月起，NDFeII 數值即有急遽的增加，至第 3 個月後則趨向於穩定，至第 9 個月時，添加鐵劑之三組乳粉其 NDFeII 數值皆無顯著差異 ( $p < 0.01$ )，其增加之幅度約介於 1.7~2.1 倍。

圖 19 顯示有氧包裝情況下，其 DFeII + NDFeII(圖 19(A))與 DFeII/TDFe ratio(圖 19(B))之數值變化之情形，保存 9 個月經體外透析試驗其可透析二價鐵 DFeII 變化之情形，DFeII + NDFeII 部份在二價鐵劑與混合體劑組保存九個月趨勢較類似，於前三個月時數值增加

(A) DFeII + NDFeII



(B) DFeII/TDFe ratio

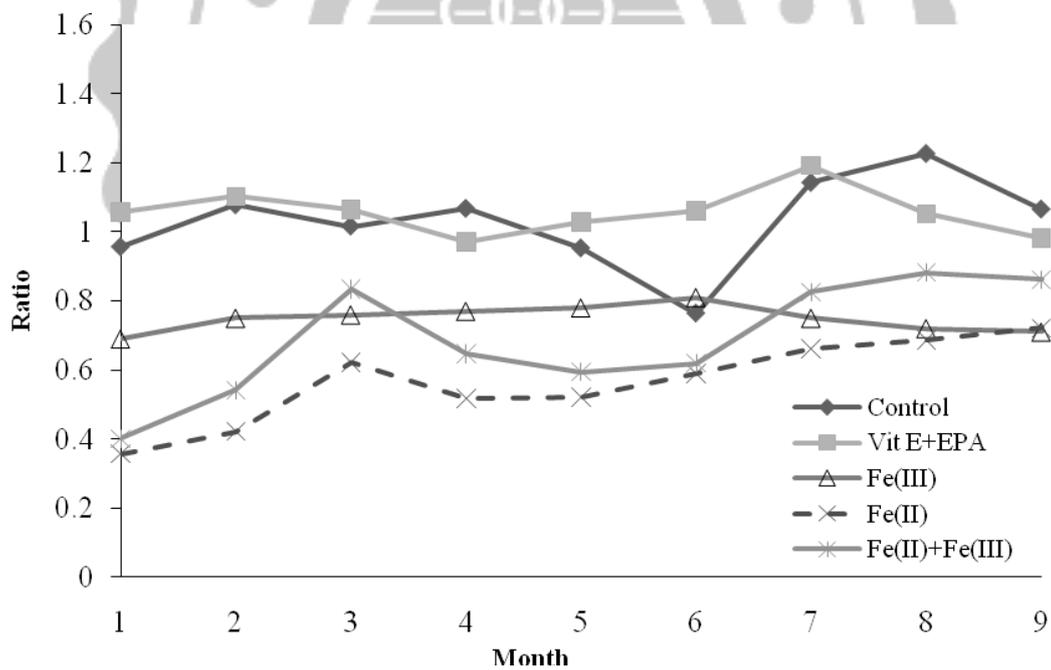


圖 19. 含氧包裝與保存時間對鐵強化乳粉之體外生物利用性 (DFeII + NDFeII、DFeII/TDFe ratio) 影響。

Fig.19. The *in vitro* bioavailability (DFeII + NDFeII、DFeII/TDFe ratio) in iron-fortified milk powder during anaerobic storage.

之幅度較為劇烈，之後則趨於平緩，三價鐵劑組則從第五個月起，DFeII + NDFeII 數值即無變化，至第 9 個月時，其數值約比最初增加 2.1 倍。從 DFeII + NDFeII 數值可顯示，無論添加何種鐵劑，鐵劑於保存期間可能隨時皆在二價與三價鐵之間相互轉換，然會較傾向以二價鐵的形式存在，此原因應與鐵強化乳粉中之物質間氧化還原電位有關，而在保存期間中，乳粉中有存在抗氧化之物質或具螯合金屬離子能力之成分，而使得在 9 個月保存試驗當中，乳粉中之鐵較為趨向於二價鐵劑離子存在。圖 19(B)表示 DFeII/TDFe ratio 之變化，三價鐵劑乳粉組於保存 9 個月期間其數值並無明顯之變化，二價鐵劑與混合鐵劑組別數值則有增加之趨勢。此與圖相互對照可顯示在 9 個月有氧保存環境下，三價鐵劑組的透析能力與可透析後的二價鐵穩定的能力並無影響，但卻會對未透析的鐵劑有傾向維持生物利用性較高的二價鐵型態，二價鐵劑乳粉組雖保存期間 DFeII/TDFe ratio 其增加約 1.65 倍，惟整體數值為 5 組試驗組中較為偏低之組別，此顯示雖保存期延長可增加二價鐵劑組別之可透析二價鐵之數值，但其增加之速率卻不及二價鐵劑組別之鐵的可透析率。此外，在未添加鐵劑的 VitE+EPA 組別於保存期間中皆維持高 DFeII/TDFe 比例，代表氧氣的存在、保存時間的延長與添加 VitE+EPA 皆確實有助於乳粉中原本存在之鐵質之生物利用效果，亦可顯示比起藉由額外添加的鐵質，VitE+EPA 等

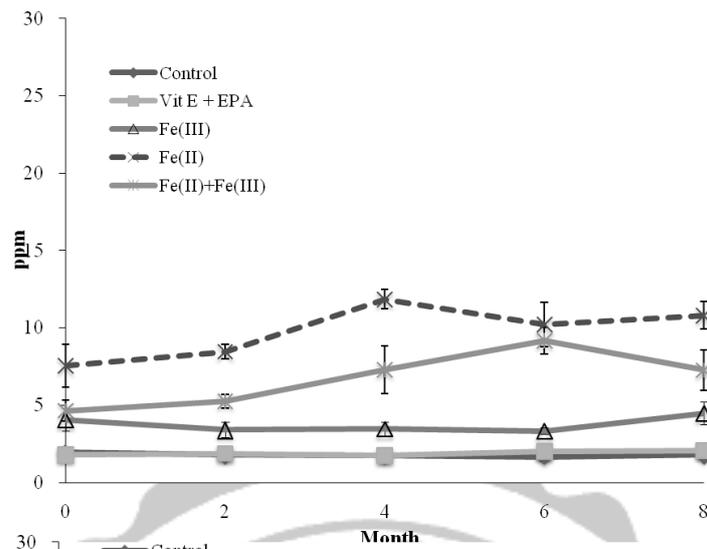
營養強化因子對於乳粉內源性之鐵質之生物利用性提昇更有幫助。

圖 20(A)顯示無氧包裝情況下，保存 9 個月經體外透析試驗其可透析二價鐵 DFeII 變化之情形，在未含鐵劑之組別，其數值變化並不明顯，而添加鐵劑組別二價鐵劑與三價鐵劑組，可透析二價鐵 DFeII 則隨保存時間之延長而有些微增加之趨勢，三價鐵劑組別至第 6 個月時有最大之數值，其數值比最初增加約 1.4 倍，二價鐵劑組則最多提高 1.5 倍(於第 4 個月時)，混合鐵劑組則 9 個月保存期間並無顯著之變化，此結果與有氧環境保存下之結果有些許類似之情形，即便在無氧的環境下，保存時間對鐵強化乳粉之鐵質生物利用性亦會有影響。

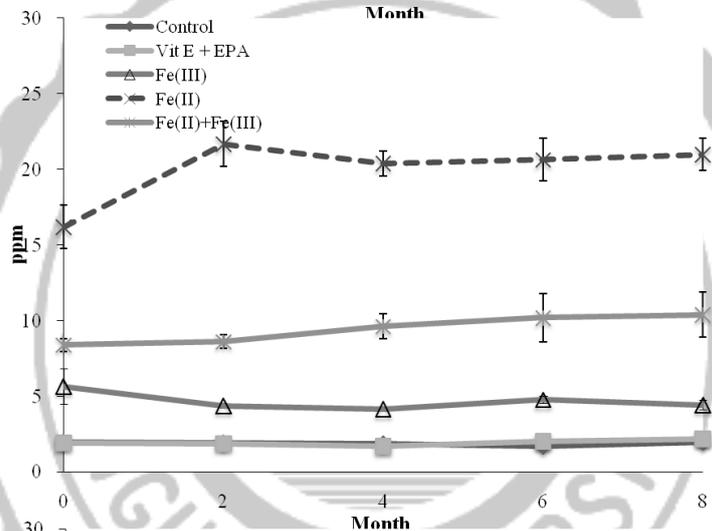
在可透析總鐵方面，圖 20(B)顯示無氧包裝情況下，經 9 個月保存之數值變化，5 組試驗組中除二價鐵劑組別外，其餘四組試驗組數值並無明顯之變化，添加二價鐵劑組於 0-2 月期間有較大幅度的數值增加(16.8→22.03 ppm)，最終上升約 1.25 倍，可透析總鐵 TDFe 隨保存時間之延長而有增加，至第 9 個月時，其數值比最初分別增加約 1.7 及 1.6 倍，三價鐵劑組於保存期間之 TDFe 則無顯著之變化，從保存初期到第 9 個月，二價鐵劑組別之 TDFe 數值皆明顯要高於其餘四組( $P < 0.05$ )。

未透析二價鐵 NDFeII 部份，無氧保存九個月期間，含有鐵劑之處理組之 NDFeII 數值在 0-2 月皆有上升之趨勢，而後逐漸趨於平緩，

(A) DFeII



(B) TDFe



(C) NDFeII

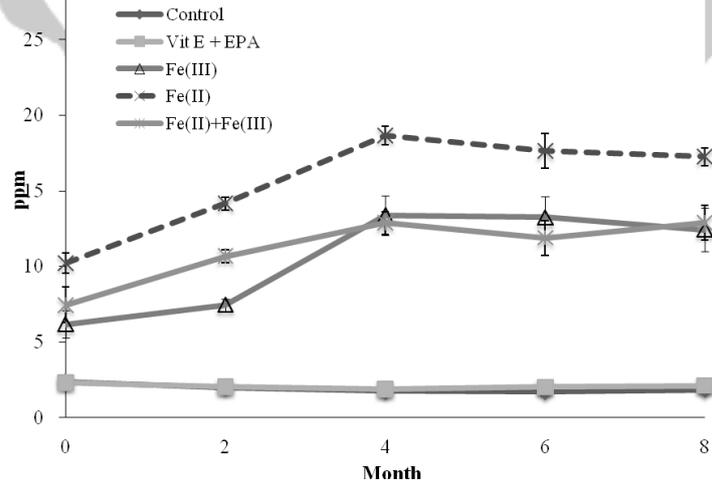


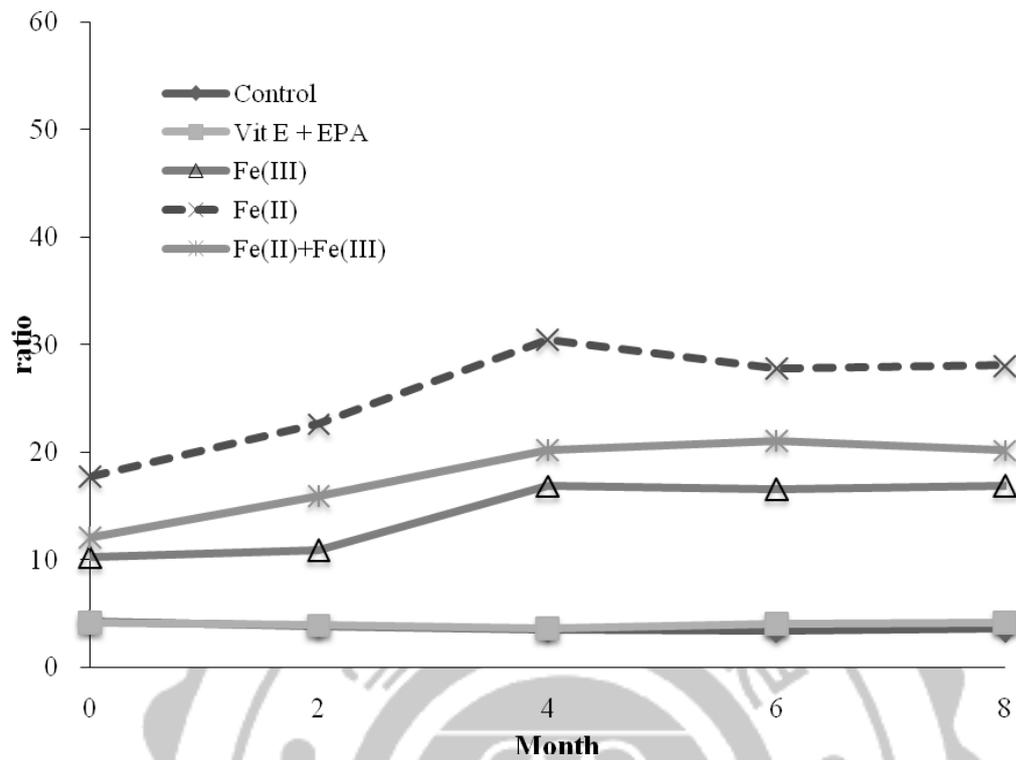
圖 20. 無氧包裝與保存時間對鐵強化乳粉之體外生物利用性 (DFeII、TDFe、NDFeII) 影響。

Fig. 20. The *in vitro* bioavailability (DFeII、TDFe、NDFeII) in iron-fortified milk powder during anaerobic storage.

與最初比較，二價鐵、三價鐵與混合鐵劑處理組最終 NDFeII 數值分別增加約 1.46、2.18 及 1.85 倍，就鐵劑組別之間相互進行比較，二價鐵劑組於 NDFeII 之數值依舊高於其餘兩組(三價鐵與混合鐵劑組)( $P < 0.05$ ) (圖 20(C))。

圖 21 則顯示無氧包裝情況下，其 DFeII + NDFeII(圖 21(A))與 DFeII/TDFe ratio(圖 21(B))之數值變化之情形，DFeII + NDFeII 之變化趨勢與 NDFeII(圖 20(C))部份類似，含鐵劑組別數值依舊在前 4 個月有較明顯增加的趨勢，最終增幅約介於 1.56~1.37 倍，其增加之倍數雖不及有氧環境保存之數值，但即便在無氧的條件下，鐵的型態依舊較趨向於二價鐵之形式，此外其增幅亦略小於 NDFeII，此顯示在無氧環境下，雖鐵的型態趨向於二價鐵之形式，但此等型態之二價鐵卻並無提高透析效率之功效，此部份亦可由 DFeII/TDFe ratio 獲得印證。在 DFeII/TDFe ratio 表現上 5 組乳粉處理組於保存 8 個月期間數值皆無太大之變動，5 組處理組中未含鐵劑的對照組與 VitE+EPA 之 DFeII/TDFe 比例數值依然高於含鐵劑之 3 組乳粉組，但整體結果異於有氧保存之結果，此亦代表在無氧保存中單就鐵本身型態之反應變化而言，其反應變化不及有氧環境保存，雖有氧保存隨時間延長在體外生物利用試驗中鐵之生物利用效率有增加的情形，但從另一方面而言亦代表系統之化學反應速率於含氧的環境下高於無氧之環境，因此

(A) DFeII + NDFeII



(B) DFeII/TDFe ratio

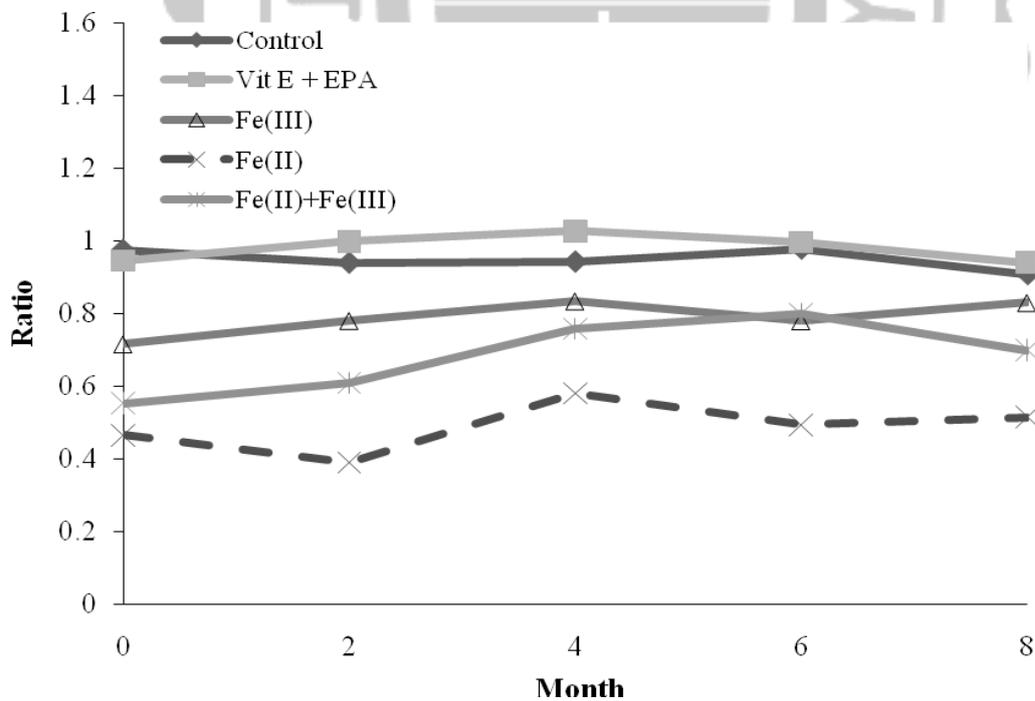


圖 21. 無氧包裝與保存時間對鐵強化乳粉之體外生物利用性 (DFeII + NDFeII、DFeII/TDFe ratio) 影響。

Fig. 21. The *in vitro* bioavailability (DFeII + NDFeII、DFeII/TDFe ratio) in iron-fortified milk powder during anaerobic storage.

除鐵劑之生物利用效率變化外，亦必須考慮因鐵的型態變化或其所導致之化學反應使得產品整體的品質安定性發生改變。

綜合上述試驗結果，包裝方式(氧氣)及鐵劑種類對於鐵強化乳粉之保存期間鐵質生物利用性之影響，應以氧氣存在與否為影響其生物利用性各項指標之關鍵因素。在有氧情況下，無論鐵劑之種類為何(二價鐵、三價鐵及混和鐵劑)，鐵之生物利用效率皆有隨保存時間之延長而有上升之趨勢，而無氧之情況下，變化則相對趨緩(18→26)，可推論出在無氧之情況下，整體試驗系統之物理化學速率較小。

關於保存時間影響鐵強化乳製品之鐵質生物利用效率之相關報告研究甚少，早期有研究報告指出製做罐頭食品透過加工生產過程中之熱度與壓力等物理因子，會使得保存期間焦磷酸鐵的生物可利用率顯著提升，但正磷酸鐵與硫酸亞鐵則沒有改變(Wood *et al.*, 1978)。因此後人亦進行將不同鐵劑種類如硫酸亞鐵、正磷酸鐵、羰基鐵與電解鐵等添加於以牛乳為基礎的液態飼糧中，以罐頭製做方式將其脫氣並殺菌常溫保存至 6 及 12 個月，餵飼原生性貧血大鼠，測定其體內紅血球濃度，以評估不同鐵劑間生物可利用率之比較，結果顯示若以硫酸亞鐵此組鐵劑為基礎，以紅血球濃度為標的，將其生物可利用率(relative biological value)設為 100，則於保存六個月期間，正磷酸鐵、羰基鐵與電解鐵等鐵劑之測得生物可利用率分別為 31、119 與 90；

而經保存 12 個月其生物可利用率分別為 19、69 與 107，雖羧基鐵與電解鐵等鐵劑數值上略高於硫酸亞鐵，但各組之間並未達顯著差異 (Clemens, 1981)，顯示在保存試驗中，各鐵劑所測得之生物利用效率並不會因為保存時間之延長而有所改變。上述前人研究試驗設計模組類似本試驗之無氧包裝保存模式試驗，本試驗中在無氧包裝下之結果，無論添加二價鐵劑、三價鐵劑或混和鐵劑種類，鐵質生物利用性亦有些微的增加趨勢與上述研究結果可互相印證。然有氧的情形結果卻有差距，在有氧氣的保存情況下，鐵質之利用性有隨保存時間增加之趨勢，此可能為整體系統中氧化還原之變化情形，乳粉中其他物質之氧化速度隨時間延長而逐漸加速進而使鐵劑中鐵質還原或維持二價穩定狀態，另一方面，亦有可能為乳粉因在有氧保存情況下發生褐變反應，褐化所形成之物質與試驗中添加之鐵劑發生反應，因而使鐵質之二價穩定性與透析能力有所提升，然上述之推論皆未被證實，亦鮮少研究著重此部分，故此部份研究為值得進一步深入探討。此外，近期有研究者認為，使用不同鐵劑之鐵強化食品保存期鐵質生物利用性雖有變化，但高生物可利用性之鐵化合物食品亦可能會催化脂質氧化反應因而產生酸敗與其他不利於食品品質之因子 (Richardson, 1990)，進而造成食品之風味與外觀改變與產生對人體危害之因子，而由於乳粉為長時間食用之食品，且往往一但開封即置於常溫下保

存，然台灣為亞熱帶至熱帶地區，夏季常有高溫多濕之氣候，因此當乳粉進行鐵強化時，除應考慮其生物利用性之變化外，並一併考慮乳粉保存期間之品質。



### 第三部份

#### 探討不同鐵劑種類、包裝方式及貯存時間對鐵強化乳粉粉體安定性之影響

本部份試驗之目的主要為利用不同鐵劑(二價鐵、三價鐵及混合鐵)結合維生素 E 與不飽和脂肪酸 EPA 等添加物添加於全脂乳粉中，以無氧及有氧之方式進行保存，探討其保存對於乳粉之脂質安定性、褐變安定性、水分與水活性、外觀與顯微結構及感官品評等品質之影響。

#### 一、脂質之安定性

鐵強化乳粉於保存期間之脂質安定性分別以 TBA 值及游離脂肪酸表示之，一般含高脂食品中游離脂肪酸會隨著貯藏期間增長而逐漸增多，故可用來做為脂質劣變之指標。此外在氧化的過程，所產生之一級產物容易會再劣解形成二級氧化物(如丙二醛和乙縮醛等中間產物)，因此藉由 TBA 試劑會與二級氧化物反應會產生紅色化合物來進行測定 TBA 值，反應食品中脂肪酸酸敗的程度 (Belitz and Grosch, 1999)。在本試驗中以有氧氣保存之情形下，經過九個月之保存其二價鐵 Fe(II)，三價鐵 Fe(III)及混合鐵劑 Fe(II)/Fe(III)等強化乳粉試驗組之 TBA 值分別達到了 0.7、0.17 及 0.49，與最初相較，其增加約 1.75、

3.84 及 1.7 倍，相較於對照組(無添加鐵劑之組別)之 TBA 值經過九個月之保存後則為 0.09(圖 22(Ai))。另一方面，於無氧保存之環境下，各組之間 TBA 值於保存期間無顯著性之變化( $P<0.05$ )，Fe(III)強化乳粉組別無論是否有氧氣之存在，皆於試驗組當中測得到了有最高之 TBA 數值(圖 22(Aii))，游離脂肪酸方面，各試驗組於九個月的保存期間，游離脂肪酸皆有增加的趨勢( $P<0.05$ ) (圖 22(B))。無論保存環境中氧氣是否存在，在有氧氣 Fe(III)強化乳粉保存組，其游離脂肪酸有顯著性的提高(0.02%-->0.14%)(圖 22(Bi))，同時在所有處理組當中也都測得有最高的游離脂肪酸的數值，而就有無添加鐵劑之乳粉組別而言，添加鐵劑之組別於保存期間其游離脂肪酸之含量皆比無添加鐵劑之組別要有較高之數值(圖 22(Bii))。

有部份文獻指出，乳粉之保存期間脂質氧化發生程度會隨保存時間之延長而逐漸增加(Ferrer *et al.*, 2005; Celestino and Roginski, 1997)，Leland and Lahiff (1987)指出食品中金屬離子如鐵及銅，於脂質氧化反應中具有促進反應之效果，且於二次氧化反應產物之含量生成上亦有增加情形。在本部分試驗中，研究成果顯示鐵劑的添加與否對於乳粉之氧化程度比起鐵劑的種類、儲存的條件與時間皆影響要來得大，儘管在三價鐵劑乳粉組別中，並無線性之關係且觀察到於一開始試驗中初期第0天即有比其他組別有較高的TBA數值，此應為Fe(III)

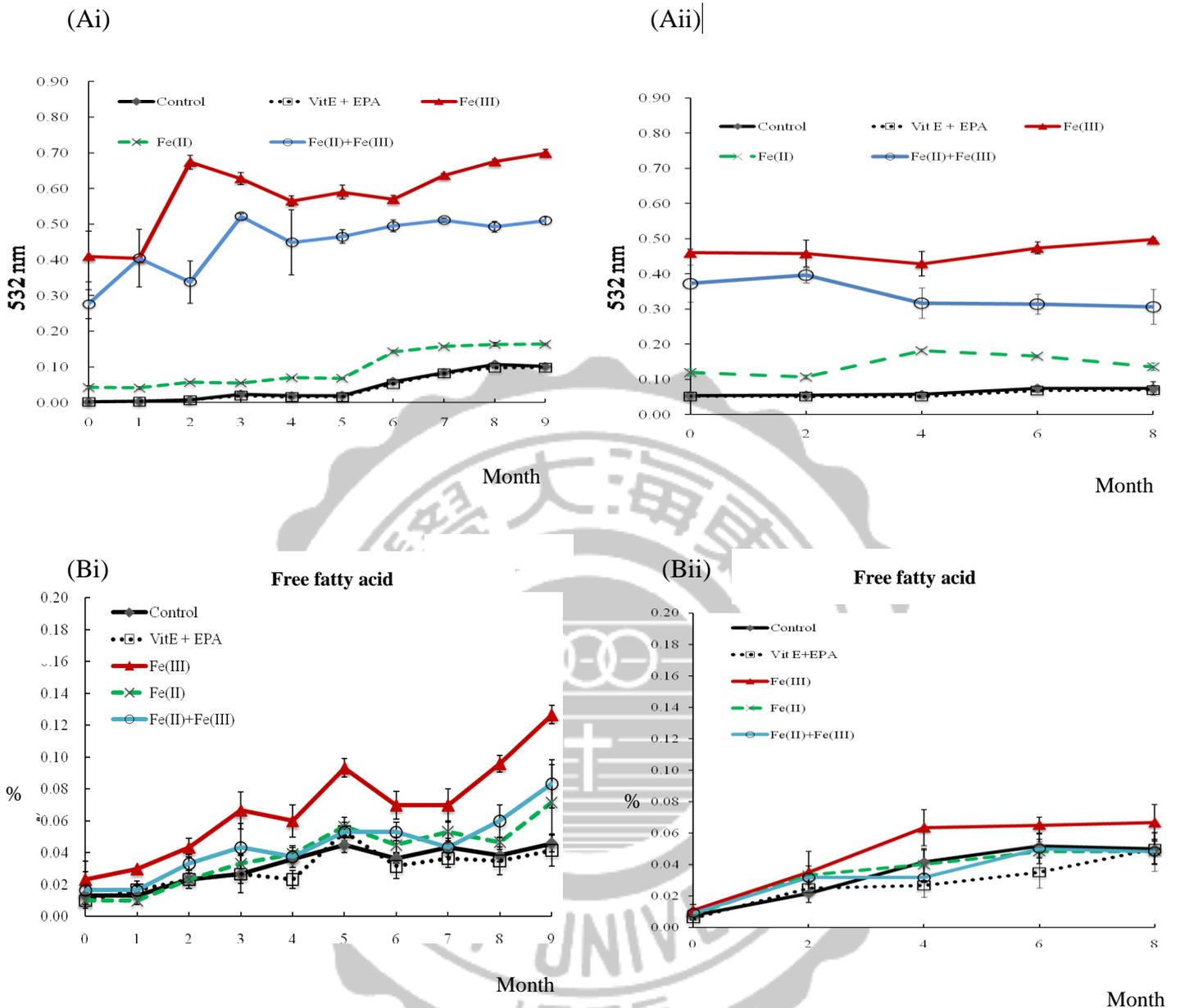


圖22. 鐵強化乳粉保存期間脂質安定性之變化。

Fig. 22. Lipid oxidation in non iron- and iron-fortified milk powder during storage.

(A) TBA values, (B) Free fatty acid content, (i) aerobic condition, (ii) anaerobic.

組中添加之氯化鐵本身即有較高之吸濕性(hygroscopic)，加上經由前處理混合粉體製程，因而造成Fe(III)有比其他組別於第0天時有較高之TBA數值表現。另一方面在有氧氣的情況下保存，有加鐵劑之乳粉組別(Fe(II), Fe(III), and Fe(II)/Fe(III))其TBA組在保存期間皆有上升之趨勢，此結果與前人Rice and McMahon (1998)研究在Mozzarella cheese中添加氯化鐵進行強化，於保存14天期間其TBA數值亦有上升之情形相類似。影響食品中脂質氧化之因子眾多，如食品脂肪酸組成、食品組成份、加工製造過程、保存環境、抗氧化劑的存在等。過渡金屬如鐵離子與銅離子等可藉由參與化學反應的過程產生自由基。在正常情形下食品當中的血色質鐵或非血色質鐵可行一連串反應形成自由基與過氧化物，游離的過渡金屬 $Fe^{3+}$ 在Fenton reaction中藉由 $O_2^{\cdot-}$ 還原成 $Fe^{2+}$ 後，再與 $H_2O_2$ 結合形成極易反應的 $OH^{\cdot}$ ，同時，活化的金屬離子進一步催化進行Haber-Weiss reaction，形成 $OH^{\cdot}$  (Cooper *et al.*, 2002)。Dziedzic(1986)指出食品中金屬離子的含量即使低於0.1 ppm 仍具有加速脂質氧化的能力，其中以鐵離子及銅離子的促氧化力最強。在本試驗中，乳粉之脂質氧化應經由Fenton化學反應，藉由二價鐵、三價鐵離子與過氧化氫繼而引發一系列連鎖反應作用而生成更多之自由基 (Almaas *et al.*, 1997)。而這些生成之自由基會更進一步的反應在乳粉中之成分上如乳脂、不飽和脂肪酸進而造成乳粉之品質不安定

現象發生。游離脂肪酸部份，無關於保存之條件，在保存九個月期間所有處理組皆有上升之趨勢。然而就TBA數值而言，無氧的保存環境下，其數值是有相對穩定( $P>0.05$ )。

## 二、褐變之部份

乳粉由於本身成分中因具有高碳水化合物及高蛋白質，製造時經過高溫加熱製程，加上大多數消費者開封後並無立即食用完畢，多放於室溫中長時間保存，因此褐變往往為造成乳粉於貯存期間品質劣變之原因之一 (Friedman, 1996 ; Van Boekel, 1998)。梅納反應(Maillard reaction)是一系列複雜的化學反應，在還原糖的羰基(carbonyl group)和蛋白質上的一級胺基(primary amino group)進行非酵素性縮合反應，而產生高等糖化終產物 AGEs 使蛋白質產生褐色、螢光和交聯化合物，進而使食品外觀、風味及品質發生改變，此反應不需酵素進行且需要長時間作用，常發生在食品製造過程與保存期間，又稱為非酵素性褐變反應 (Morales and Van Boekel, 1998 ; Ferrer *et al.*, 2000)。

本試驗鐵強化乳粉於保存期間褐變之變化以顏色、褐變指數與 AGEs 化合物之含量來表示之。圖 23 為乳粉在有氧及無氧之保存情形，其 420 及 530nm 吸光度所測得之褐變指數。在有氧的保存條件下，無添加鐵劑之組別其在 420 及 530nm 之褐變指數於九個月保存

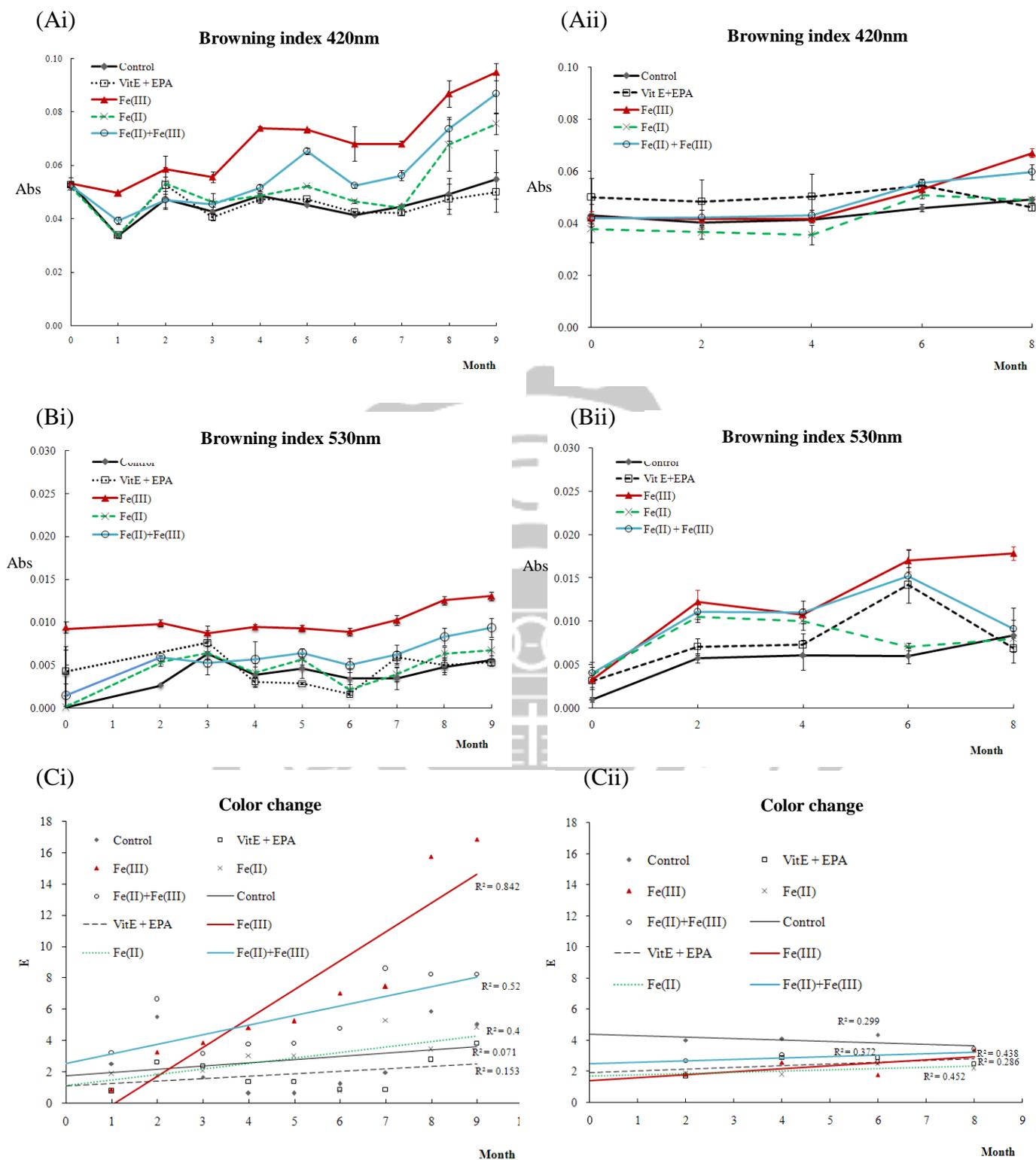


圖 23. 鐵強化乳粉保存期間顏色與褐化指數之變化。

Fig. 23. Browning index and color change of non iron- and iron-fortified milk powder. (A) 420 nm absorbance, (B) 530 nm absorbance, (i) aerobic condition, (ii) anaerobic condition.

中無明顯之變化情形，而添加鐵劑之三組乳粉處理組則褐變數值有上升之趨勢( $P<0.05$ ) (圖 23(Ai)(Bi))；相反地，在無氧氣的條件下，各處理組之褐變指數並無隨保存時間之延長而有變化(圖 23(Aii)(Bii))。顏色的測定使用 Hunter Lab-value 測定，並以  $L$  (0, 黑色度; 100, 白色度)、 $a$  (+, 紅色度; -, 綠色度)、 $b$  (+, 黃色度; -, 藍色度)值來表示乳粉之顏色，並以  $\Delta E = (\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2)^{1/2}$  數值來評價整體顏色之變化。

圖 15 為各乳粉處理組之  $\Delta E$  數值與相關性分析，整體而言，於有氧之情況下其  $\Delta E$  比無氧氣之保存情況下皆有較高之數值，添加鐵劑之乳粉組別於有氧之保存下， $\Delta E$  有增加之趨勢(圖 23(Ci))，另一方面，在無氧保存之組別除 Fe(III)組別外，其餘各組  $\Delta E$  無顯著之變化(圖 23(Cii))，Fe(III)之  $b$  值於保存第八個月之數值顯著要高於其於其餘各組，同時  $L$  值也由最初之 83.2 降至 69.2。 $L$  與  $b$  值之變化亦反應到了乳粉之外觀顏色逐漸由最初的黃白轉變成褐至巧克力色澤，無氧保存環境下，Fe(III)處理組於八個月保存期間其  $b$  值亦有些微增加之趨勢(28.8→30.2)。至保存試驗期結束後，外觀顏色的深淺程度依序為 Fe(III)、Fe(III)+Fe(II)、Fe(II)、EPA+DHA 及對照組。

造成乳製品之品質劣變，非酵素性褐變反應為其中主要原因之一 (Baechler *et al.*, 2005; Thomsen *et al.*, 2005)。褐變反應由食品中含氮之化合物與醣類經由聚合(polymerizes)及 amadori 重組(rearrangement)

產生多種 amadori 化合物，而這些化合物大多帶有顏色(Yaylayan, 1990)，因此測定顏色之變化為大多數來評估食品褐變之第一步分析試驗，而評估食品之顏色除色板比對外，最常使用 Lab 值的變化來做為代表，除顏色外，其次亦可藉由紫外光可見光光度分析 420 及 530 nm 特定波長之吸光度來顯示褐變產物之含量多寡。本試驗乳粉於有氧氣的情況下保存期間中，Fe(III)乳粉強化組之顏色變化( $\Delta E$ )有明顯的發生改變之情形( $R^2=0.842$ )，在無氧條件保存下，各組之顏色( $\Delta E$ )並無顯著改變之情形( $R^2$  皆小於 0.5)，然而在 Browning index 530nm 之吸光度試驗中，無氧保存條件下各組數值卻有增加之趨勢，此可能為在有氧氣與無氧氣的條件下，非酵素型褐變反應生成不同種類具有顏色之褐變產物所致，此部份須進一步深入探討。此外，從 Lab 值來看，隨保存時間延長，顏色由白亮逐漸變成暗褐(L 值減少)，造成顏色發生改變目前其中之一機制可能由於成分中之金屬離子扮演決定性的因子(Leclère and Meli, 2002)，特別是藉由金屬離子催化反應形成帶有暗褐色的化合物 carboxymethyllysine (Ahmed and Baynes, 1986)，目前已有研究指出將若甘胺酸亞鐵(ferrous bisglycinate)及焦磷酸鐵(ferrous fumarate)加入巧克力牛乳製品或是穀類食品易導致顏色轉變成灰暗、褐色及淺綠色等現象亦可能也是此一化學機制所致 (Mehansho, 2006; Bosch *et al.*, 2007)。

褐變除造成外觀顏色發生改變外，在初期時，由於還原醣與帶有胺基化合物如胺基酸等反應，亦伴隨蛋白質生物價與必須胺基酸之損失，在乳製品褐變作用中，主要亦會造成離胺酸之損失(O'Brien and Morrissey, 1989)。本試驗前之預備試驗亦即發現添加鐵劑的強化乳粉於虐待試驗中即有離胺酸含量減少之現象，此部份結果與前人報告中將鐵劑添加在嬰兒配方乳粉後之情況相類似，由於嬰兒配方乳粉中含較高醣類與高的乳清蛋白/酪蛋白比例，此營養組成雖然一方面可提高鐵質之生物利用性，但在乳粉保存期間時，卻有離胺酸損失的情況發生 (Ferrer *et al.*, 2005)。

AGEs 之化合物含量變化亦可用來表示食品中褐變之程度，在本試驗中，以六種已被證明主要在乳製品保存期間中影響其褐變與氧化安定性之 AGEs 化合物，分別為 AGE, pentosidine, pentodilysine, cross-link, pyrropyridine, and argpyrimidine 等(Ferrer *et al.*, 2000; Ferrer *et al.*, 2005; O'Brien and Morrissey, 1989)，並以其螢光強度之變化表示含量來闡述鐵強化乳粉於保存期間當中褐變之程度，同時並可進一步釐清鐵強化乳粉褐變、脂質之安定性與營養價值之相關關係。圖 24 顯示無論是否有無添加鐵劑，所有試驗組於有氧之環境保存其六種 AGEs 化合物螢光之強度皆有增加之趨勢，相反低，於無氧之情形 AGEs 之螢光強度皆呈現穩定之狀態，並無明顯之改變。

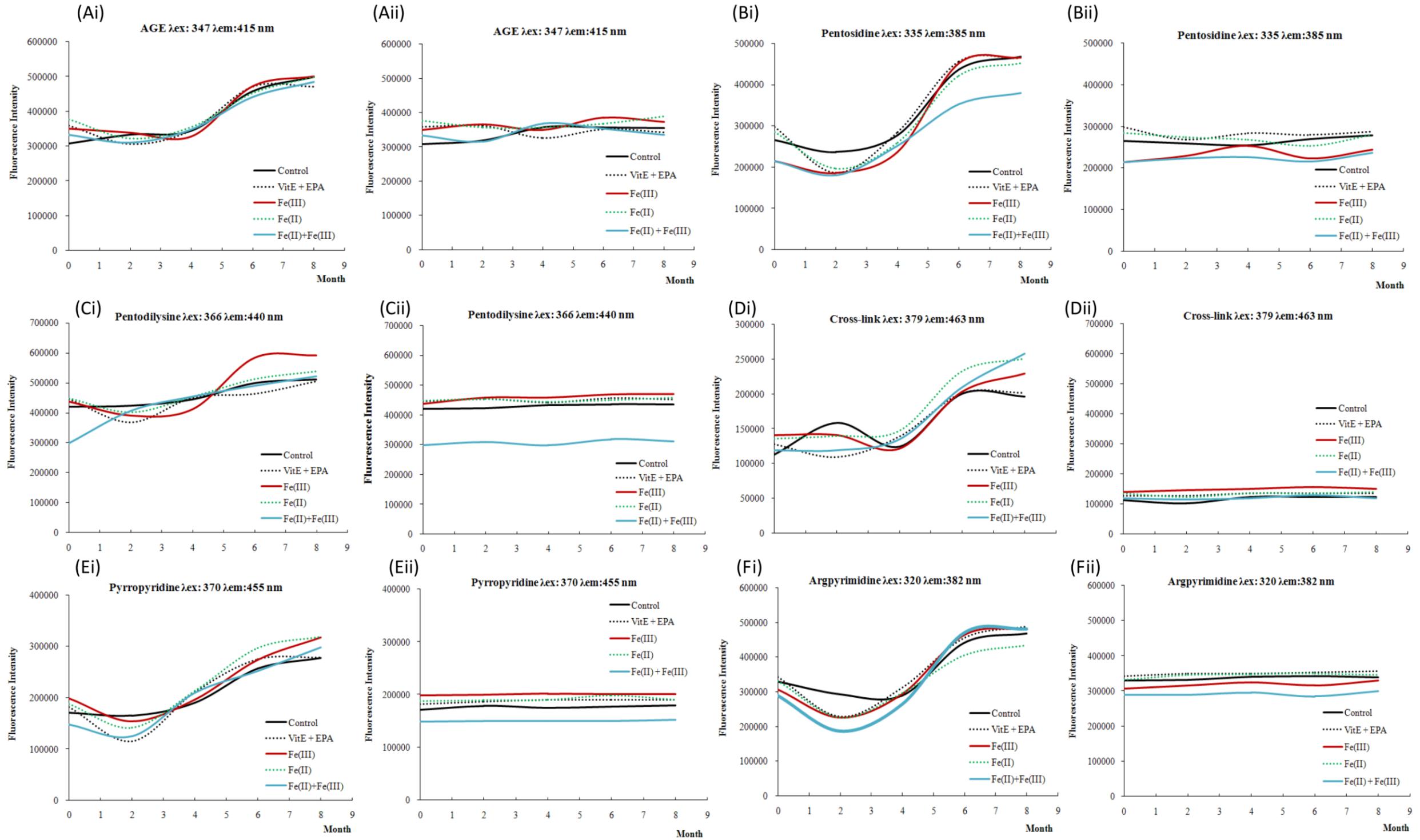


圖24. 鐵強化乳粉保存期間AGEs化合物含量之變化。

Fig. 24. Fluorescence intensity of different AGEs compounds non iron- and iron-fortified milk powder.

(A) AGE; (B) pentosidine, (C) pentodilysine, (D) cross-link, (E) pyrropridine, (F) argpyrimidine, (i) aerobic condition, (ii) anaerobic.

由褐變反應生成之 AGE 化合物於牛乳或及其相關乳製品中發現在早年已有些與報導，除了評估食品褐變外，越多越多研究顯示對於人類皆較為偏向不利於健康之報導，在體外細胞試驗中，亦有使得細胞氧化壓力上升之結果(Ferrer *et al.*, 2000 ; Morales *et al.*, 2001)。目前普遍偵測以螢光波長介於  $\lambda_{ex}$  340-370 nm， $\lambda_{em}$  420-440 nm 之間之 AGE 物質，被用來評估乳製品蛋白質因褐變反應所造成之損失程度以及確定分析乳製品因褐變造成品質受到影響的指標，且目前已知已有數種 AGE 物質已被廣泛應用(Ferrer *et al.*, 2005; Morales and Jiménez-Pérez, 1996)。Morales and Van(1997)使用 347/415 nm 來偵測褐變最終反應所產生之褐化產物含量，Van(1998)用螢光光度計分析 Pyrrolydine 含量，證明乳製品中乳糖與離胺酸經過 3-deoxyosone pathway 生成 3-deoxyglucosone，Morales and Van(1997)說明 Argpyrimidine 藉由 methylglyoxal (褐變之中間產物)與精胺酸生成，Pentodilysine(366/440 nm)則會由離胺酸與五碳醣或是維生素 C 經由反應生成(Morales and Van, 1997; Graham, 1996)，Pentosidine 則是由離胺酸與精胺酸同時與五碳醣、葡萄糖、果糖、維生素 C 或 3-deoxyglucosone 藉由 3-deoxyosone pathway 反應而成，此化合物亦有研究者指出可做為乳製品加熱程度判定的指標之一(Ferrer *et al.*, 2005; Henle *et al.*, 1997)。

本試驗中所偵測的六種 AGEs 化合物可能皆由乳製品中之胺基酸與還原糖及維生素經過不同途徑所產生，其生成與乳製品本身性質或製造時之加熱條件、噴粉條件、保存溫度與濕度之變化有關(Siegl and Henle, 2000)，試驗中將鐵強化乳粉置於常溫下保存，於有氧氣的條件中，測定 6 種 AGEs 化合物的螢光強度，其強度數值皆有增加，表示此 6 種化合物之含量於 9 個月的保存期皆有增加之趨勢，在無氧保存的條件中，則螢光強度之變化並不明顯。近年來 Ferrer 等人(2005)將全脂乳粉於常溫保存兩年，觀察其 AGEs 化合物之變化情形，發現此六種 AGEs 化合物之含量並無增加的情況，此結果似乎與本試驗相關之部份研究結果不同，由於吾人此次試驗是係此研究領域中首次將乳粉進行鐵強化後同時探討粉體保存期間之乳製品主要 6 種 AGEs 化合物之變化，其造成與前人研究者之結果不同，可能為乳粉本身經鐵強化後之性質本已大不相同，加上乳粉本身除鐵強化外亦另添加維生素 E 及不飽和脂肪酸 EPA，因而造成所得之試驗結果不同；另一部份則可能為目前已知乳粉之 AGEs 化合物之變化可能會受到環境因子所影響，而本試驗鐵強化乳粉保存時之溫度、保存時間與環境氧氣存在與否應為另重要影響因子尚待後續進一步探討。

### 三、水分與水活性之變化

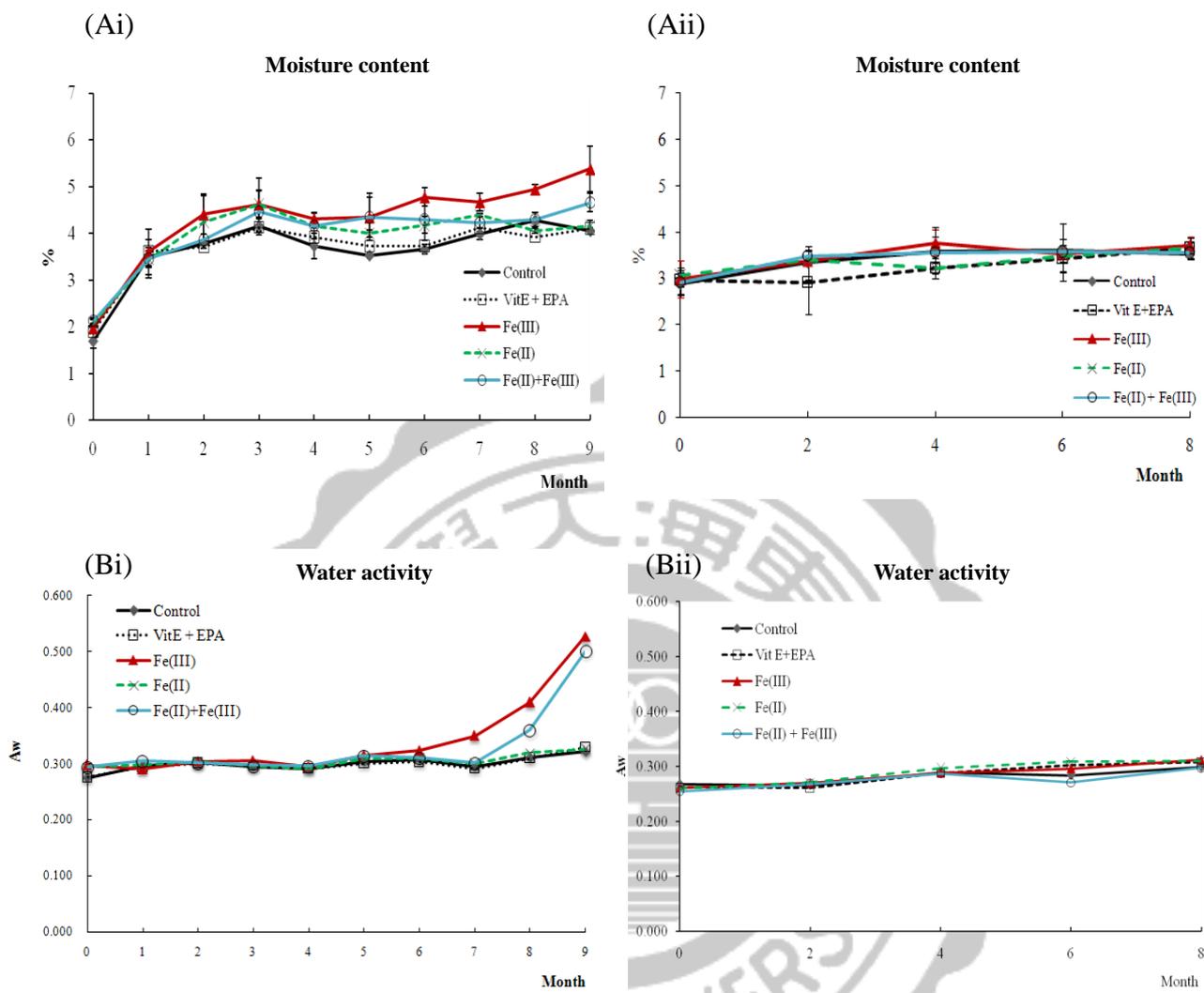


圖25. 鐵強化乳粉保存期間水分及水活性之變化。

Fig. 25. Moisture and water activity of non iron- and iron-fortified milk powder.

(A) Moisture content, (B) water activity, (C) color change, (i) aerobic condition,

(ii) anaerobic condition.

在有氧之環境保存下，各處理組於保存之第一個月其粉體之水分含量即有顯著之上升(1.5~2 倍) (圖 25(Ai))，從保存之第二個月起，水分增加之幅度則逐漸之趨緩，其中 Fe(III)於第九個月之水分含量明顯高於最初且為所有試驗組當中最高者( $P<0.05$ )，另一方面，無氧條件之試驗組，保存期間水分有些微上升之趨勢，但各組之間水分之含量並無明顯之差距( $P>0.05$ ) (圖 25(Aii))，水活性之部份在無氧之保存環境下，各組之間之數值無顯著差異，且亦不受保存時間之影響而有所變化(圖 25(Bii))，有氣之保存環境中，添加三價鐵劑之組別(Fe(III)、Fe(III)/Fe(II))，於保存期第六個月起，其水活性即開始有變化，Fe(III)、及 Fe(II)/Fe(III)鐵強化乳粉組水活性皆顯著高於其於三組( $P<0.05$ ) (圖 25(Bi))，此可能由於氯化鐵本身即具有很強的吸濕性，因而造成此一現象，此結果推測對於各處理組之脂質安定性亦有影響，另一原因可能為本試驗於常溫下進行(環境相對濕度  $65\pm 3\%$ )，台灣之夏季平均氣溫較高，此原因亦有可能導致於在第 7 個月時，有氣保存條件下之 Fe(III)及 Fe(II)/Fe(III)鐵強化乳粉組之水活性有顯著變化之情形。在 Jouppila 等人(1997)之研究中發現在有氣保存的情況下，乳粉之吸濕性與乳糖結晶反應會在 40~70%相對濕度時有較高的數值，在相對濕度接近 70%時，其吸濕性速率達到最大，將此前人研究結果來看，似可說明本次試驗之結果。乳粉水分含量之部份而言，

有氧保存情況下，Fe(III)鐵劑強化組於保存第九個月其水分含量以超過 5%，相對於無氧之保存條件下，各組之水分含量並無顯著之改變，而根據中國國家標準(CNS 5072)調製乳粉中之規定，乳粉水分含量不得超過 5%，因此若以國人之乳粉消費習性，鐵強化乳粉產品若使用氯化鐵等三價鐵劑，開封後食用期間建議不宜超過 9 個月較為適當。

#### 四、外觀與顯微構造

鐵強化乳粉保存期間之外觀及掃描式電子顯微結構如圖 26 及圖 27 所示。外觀部份，初期各組之間外觀並無太大之差異，但經 8 個月保存後，含氧之環境下，含有鐵劑之組別 (Fe(II)、Fe(III) 及 Fe(II)+Fe(III) 等 3 組) 之外觀明顯較未含鐵劑組別之外觀不同(對照組與維生素 E 及 EPA 添加組)，三價鐵劑組 Fe(III) 經八個月有氧保存，外觀顏色已呈現深黃色狀態且有結塊之現象，Fe(II) 與 Fe(II)+Fe(III) 兩組則觀察到有紅色或黃色小顆粒散佈於乳粉中，此顆粒應為鐵質氧化反應中所形成之帶有顏色化合物顆粒(圖 26(Ai))，而此外觀之觀察結果亦由顏色之變化(圖 23(Ci))得到相互印證，在無氧之情形下，經八個月保存外觀並無太大之改變，惟 Fe(III) 與 Fe(II)+Fe(III) 整體粉體顏色大不同於其餘 3 組，外觀呈現較為深褐的顏色，但就肉眼判定彼此差異性並不大(圖 26(Aii))。顯微結構方面，經過 8 個月有氧氣之環境下保存，在低倍數觀察下，各處理組顯微構造並無觀察到有不同之

情形，當倍數提高至時，對照組與 Fe(II)組別亦無差異(圖 27(A)(B))，惟在 Fe(III)組別中，觀察到乳粉顆粒球有較多的凸出碎片與多孔性的結構出現(如圖箭頭所示)(圖 27(C))，這些或許可與三價鐵劑乳粉處理組於保存期間中有較高的水粉含量、水活性數值與較高脂質氧化數值的表現有關連性，在 Stapelfeldt and Skibsted (1997)之研究亦指出，當乳粉保存環境水活性高於 0.33 時，從掃描市電顯也發現乳粉顆粒之結構外型與正常乳粉顆粒較為不同，且隨著保存時間延長，顆粒構型亦會持續發生改變，進而提高乳粉中之脂肪與氧氣結合的機率，而使得脂質氧化加速，增加 TBA 數值的提高。



(Ai)



(Aii)

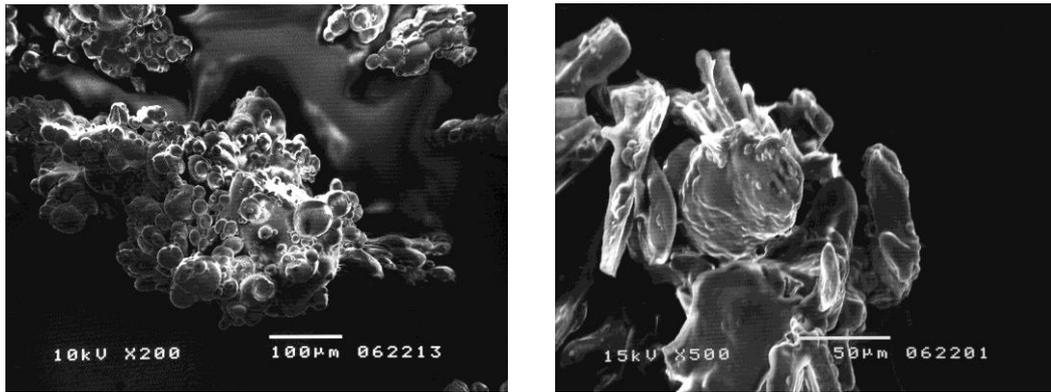


圖26. 鐵強化乳粉保存8個月後外觀之變化。

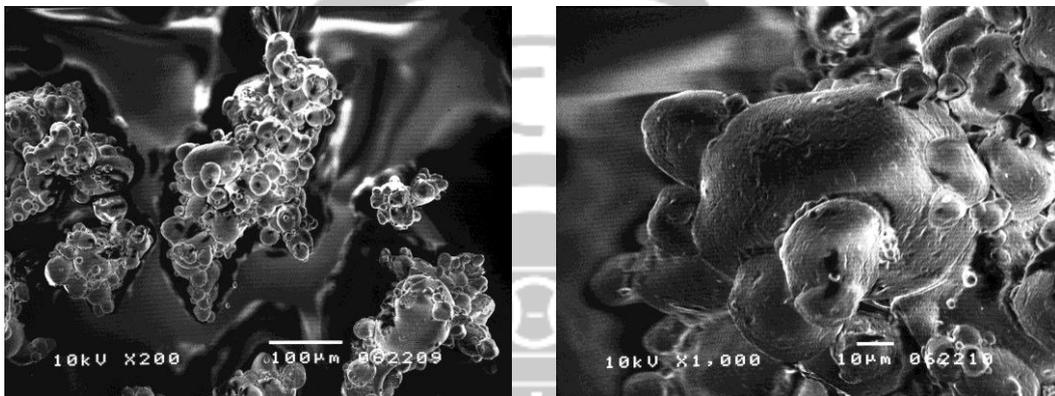
Fig. 26. Images of non iron- and iron-fortified milk powder after 8 month.

(Ai) aerobic condition, (Aii) anaerobic condition.

(A)



(B)



(C)

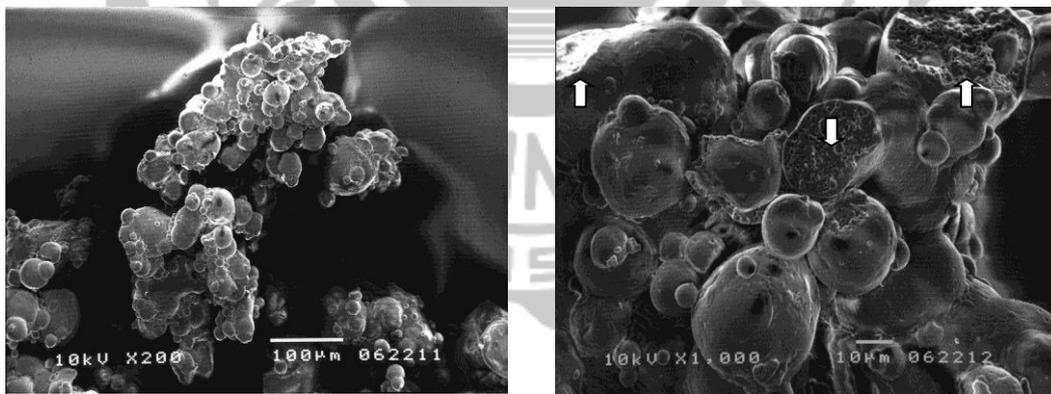


圖27. 鐵強化乳粉保存8個月後掃描式電顯圖。

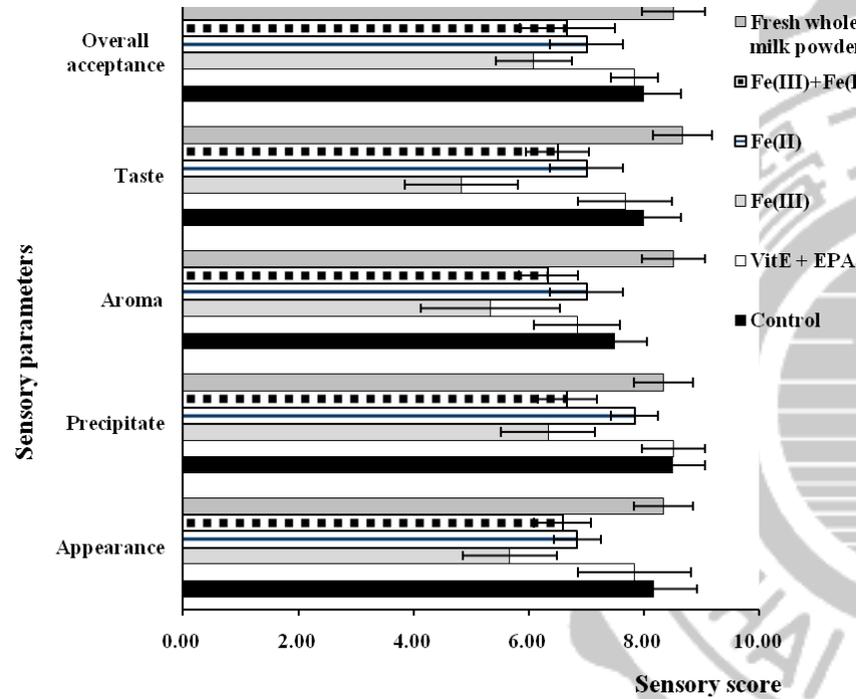
**Fig. 27.** SEM images showing microstructure of non iron- and iron-fortified milk powder in aerobic condition after 8 month. (A) Control: Whole milk powder without any additive, (B) Fe(II)-fortified, (C) Fe(III)-fortified. Left and right panels showed x 200, x500, and x1000 magnification respectively.

## 五、官能品評

關於鐵劑添加至乳製品中是否會影響乳品風味口感亦有相關之研究報告，早期有研究以數種鐵劑添加於生乳中(Edmondson *et al.*, 1971)，加工後成為鐵強化之全脂鮮乳，並以未添加鐵劑的全脂鮮乳為對照組進行官能品評，評定項目包含酸敗與氧化風味強烈度兩項，結果顯示在酸敗的項目中以葡萄糖酸亞鐵、硫酸亞鐵銨與硫酸亞鐵風味較淡，甘油磷酸鐵與檸檬酸鐵次之，檸檬酸鐵銨則較濃；而在氧化的項目中則是以葡萄糖酸亞鐵、硫酸亞鐵銨與硫酸亞鐵風味較濃，甘油磷酸鐵與檸檬酸鐵次之，檸檬酸鐵銨則較淡。而後接續進行 14 天之保存試驗，加工後第 1、7 及 14 天與未添加鐵劑之全脂鮮乳為對照組比較並進行風味的評分，結果顯示以硫酸亞鐵，硫酸亞鐵銨較佳，檸檬酸鐵銨、檸檬酸膽鹼鐵(*ferric choline citrate*)與葡萄糖酸亞鐵次之，反丁烯二酸亞鐵較差。林(2007)等人以硫酸亞鐵、反丁烯二酸亞鐵與氯化鐵等三種鐵劑添加於全脂及脫脂乳粉下，觀察其之風味、色澤與沉澱現象，發現在色澤與風味上不論於脫脂或全脂還原乳中皆與未添加鐵劑之對照組相似，惟沉澱項目上僅有反丁烯二酸亞鐵產生沉澱現象，然目前卻無相關鐵強化乳粉保存時之風味及還原乳之沈澱方面文獻，本試驗則針對保存環境、時間、鐵劑、維生素 E 及不飽和脂肪酸對於乳粉之官能性狀方面之影響。

圖 28 為保存 8 個月後鐵強化乳粉之官能品評結果，針對外觀、口感、香氣、沈澱及整體接受性等 5 項指標進行嗜好性官能品評，品評分數為 10 分，含氧環境保存下，5 組試驗組中(圖 28(Ai))，三價鐵劑組在此 5 項品評項目，所得之分數皆顯著的要比其他組別要低 ( $p < 0.05$ )，其次為含混合鐵劑組與二價鐵劑組。而就總體接受性而言，含鐵劑之乳粉組分數皆明顯比不含鐵劑組別低，若以新鮮乳粉當 positive 對照組組，除外觀與沈澱此兩項指標外，其餘三項(口感、香氣與整體接受性)皆明顯優於其餘 5 組試驗組，顯示無論含鐵劑或營養強化添加劑(Vit E 及 EPA)與否，有氧環境保存 8 個月後，依舊會影響到官能品評項目。在各項指標對於總體接受性之相關性而言，皆呈現正相關性，其中以香氣及口感對總體接受性有較高的相關係數，二價鐵劑與三價鐵劑組皆以口感對整體接受性分別均有高度的正相關 (0.81 及 0.87)。無氧環境保存部份，含鐵劑之三組在 5 項官能品評指標低於未含鐵劑乳粉組別(圖 28(Aii))，此部份與含氧保存環境有相同之結果，但含鐵劑三組於香氣與口感等官能品評項目彼此之間並無差異性，就各項指標對於總體接受性之相關性而言亦呈現正相關。在二價鐵劑、三價鐵劑及混合鐵劑組皆以香氣對整體接受性有較高的相關性(0.77、0.74 及 0.64)，其次為口感(0.53、0.54 及 0.50)，此結果與含氧環境下之試驗結果稍有不同，此可由乳粉外觀圖片(圖 26)相互印

(Ai)



(Aii)

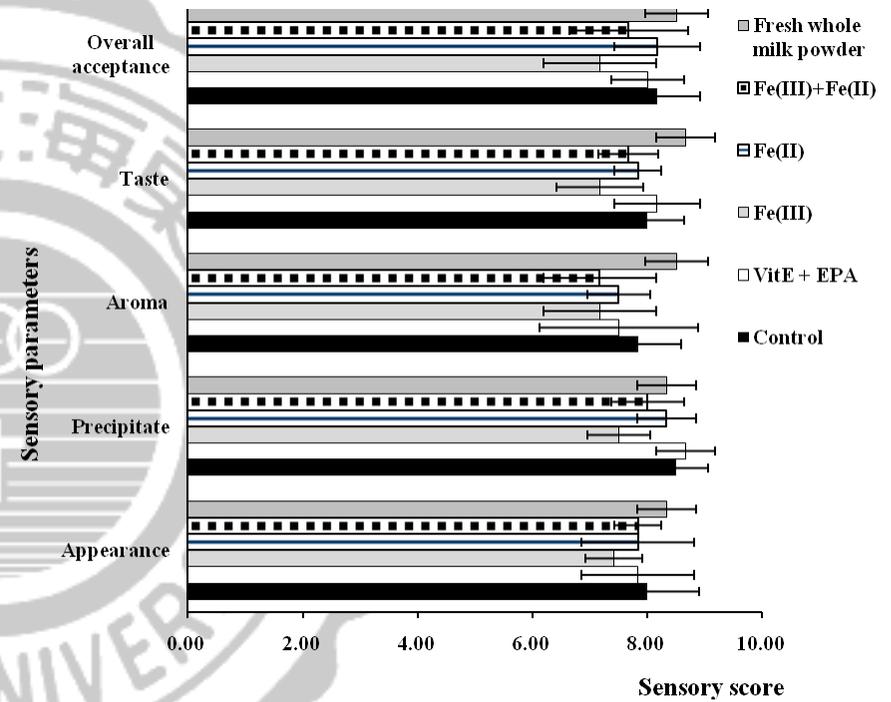


圖28. 鐵強化乳粉保存8個月後官能品評分析。

Fig. 28. Sensory analysis iron-fortified milk powder after 8 month.

(Ai) aerobic condition, (Aii) anaerobic condition.

證。在含氧情況下，乳粉外觀發生改變，亦形成有顏色等溶解性較差之物質，因此官能品評試驗中受試者藉由口感之不順口而影響其整體接受性評價，此情況在以往研究中亦得到印證，當鐵劑應用在營養強化牛乳或優酪乳中，往往易造成顏色與氣味發生改變，而使得消費者喜愛接受性較差，其中尤以外觀顏色、氣味及沈澱物較不易受消費者所喜愛，因此經常將製品調整成巧克力口味，以遮掩鐵劑所帶來不悅之官能性(Mehansho, 2006)。

綜合上述而論，在保存期間中，包裝方式與鐵劑之種類影響鐵強化乳粉之品質甚鉅，由於鐵劑本身之性質，添加二價鐵劑(亞硫酸鐵)於乳粉中，對於乳粉之各項保存品質優於添加三價鐵劑(氯化鐵)，在有氧之環境中(模擬消費者飲用習性)，鐵強化乳粉保存不宜超過 7 個月為限，此結果可供鐵強化乳粉商品開發之參考。

## VI、結論

一、第一部份試驗：探討不同鐵劑種類、機能性添加物質與不同脂肪含量之乳粉鐵質生物利用效率之影響。

(一) 鐵強化乳粉中之鐵劑選擇，二價鐵(硫酸亞鐵)比起三價鐵(氯化鐵)或混和鐵劑(50%二價鐵與 50%三價鐵)，其具有較佳之鐵生物利用效率。

(二) 乳粉中之脂肪在鐵質之生物利用效率上扮演重要影響之角色，以全脂乳粉之鐵強化型態較低脂與脫脂乳粉而言，對強化所用之鐵劑更具維持其二價之型態(還原態)及透析之能力。

(三) 長鏈不飽和脂肪酸 EPA 添加入鐵強化乳粉，具有鐵質之提升具有正面之效果。

二、第二部份試驗：探討不同鐵劑種類、包裝方式及貯存時間對鐵強化乳粉鐵質生物利用效率之影響。

(一) 保存時間之延長對於鐵強化乳粉之鐵質利用性有增加之趨勢，尤以穩定或還原乳粉中鐵劑二價之型態(DFeII 及 DFeII+NDFeII)等能力。

三、第三部份試驗：探討不同鐵劑種類、包裝方式及貯存時間對鐵強化乳粉粉體安定性之影響。

(一) 鐵強化乳粉保存試驗，氧氣之存在與否及鐵劑之種類選用乳粉之品質甚鉅，二價鐵劑(亞硫酸鐵)，對於乳粉之各項保存品質優於添加三價鐵劑(氯化鐵)，在有氧之環境中，根據外觀、褐變及氧化品質分析，鐵強化乳粉於製造完成後，保存不宜超過 7 個月，上述結果期能供鐵強化乳粉商品開發之參考。



## VII、參考文獻

- 王勇勝。2008。不同醣類與乳蛋白質配方對試管內鐵質生物可利用效率之影響。碩士論文。東海大學畜產與生物科技學系研究所。
- 林東茂、李丹昂、葉玉霜、閻立平、周繼發。2007。鐵劑之篩選及其於鐵強化乳粉中體外生物可利用性之評估。台灣農化與食品科學，45(3): 133-140。
- 林東茂。2008。鐵劑之篩選與其於鐵強化乳粉中生物可利用性之評估。碩士論文。東海大學畜產與生物科技學系研究所。
- 林慶文。1993。乳製品之特性與機能，第 62-68 頁、第 182-184 頁、第 325 頁、第 345 頁。華香園出版社，台北市。
- 張勝善。1995。牛乳與乳製品，第 605 頁。長河出版社，台北市。
- 陳柏璋、葉依凝、李丹昂、周繼發。2008。不同鐵劑與維生素強化對不同脂肪含量還原乳之體外鐵質生物可利用率之影響。台灣農化與食品科學，46(2): 96-102。
- 葉玉霜。2006。乳糖與乳蛋白質對試管內鐵質生物利用效率之影響。碩士論文。東海大學畜產與生物科技研究所。
- 葉依凝、王勇勝、李丹昂、閻立平、周繼發。2008。不同醣類與乳蛋白質配方對試管內鐵質生物可利用效率之影響。中畜會誌，37(3): 9-220。

- 趙繼嫻、葉玉霜、林東茂、周繼發。2005。動物性蛋白質對非  
血色質鐵利用效率之比較。中畜會誌，34(2): 107-116。
- 蕭寧馨、葉文婷、潘文涵。1999。國人鐵營養狀況與缺鐵盛行率。中  
華營養會誌，24: 119-213。
- 蕭寧馨。2001。國人鐵營養狀況之研究。台大校友雙月刊12: 12-13。
- Abrams, S.A., I. J. Griffin, and P. H. Davila. 2002. Calcium and zinc  
absorption from lactose-containing and lactose-free infant formulas.  
Am. J. Clin. Nutr. 76: 442-446.
- Ahmed, M. U., S. R. Thorpe, and J. W. Baynes. 1986. Identification of  
N<sup>E</sup>-carboxymethyllysine as a degradation product of fructoselysine in  
glycated protein. J. Biol. Chem. 261: 4889-4894.
- Almaas, R., T. Rootwelt, S. Oyasaeter, and O. D. Saugstad. 1997.  
Ascorbic acid enhances hydroxyl radical formation in iron-fortified  
infant cereals and infant formulas. Eur. J. Pediatrics. 156: 488-492.
- Andersson, K., and H. Lingnert. 1998. Influence of oxygen  
concentration on the flavour and chemical stability of cream powder.  
Food Sci. Technol. 31:245-251.
- Angulo, A. J., J. Romera, M. Ramirez, and A. Gil. 1997. Determination of  
Cholesterol Oxides in Dairy Products. Effect of Storage Conditions.  
J. Agric. Food Chem. 45: 4318-4323.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th edition. AOAC VA.
- AOCS. 1989. Official and Tentative Methods (4<sup>th</sup> ed.). American Oil  
Chemists Society, Champaign, IL.
- Baechler, R., M-F. Clerc, S. Ulrich, and S. Benet. 2005. Physical changes  
in heat-treated whole milk powder. Lait. 85 : 305-314.

- Barton, J. C., M. E. Conrad, and R. T. Parmley. 1983. Calcium inhibition of inorganic iron absorption in rats. *Gastroenterology* 84: 90-95.
- Belitz, H. D., and W. Grosch. 1999. *Food Chemistry* (2<sup>nd</sup> ed.). Springer, N. Y.
- Bosch, L., A. Alegría, R. Farré, and G. Clemente. 2007. Fluorescence and color as markers for the Maillard reaction in milk-cereal based infant foods during storage. *Food Chem.* 105: 1135-1143.
- Chan, S. H., J. I. Gray, E. A. Gomaa, B. R. Harte, P. M. Kelly, and D. J. Buckley. 1993. Cholesterol oxidation in whole milk powders as influenced by processing and packaging. *Food Chem.* 47:321-328.
- Celestino, E. L., M. Iyer, and H. Roginski. 1997. The effects of refrigerated storage of raw milk on the quality of whole milk powder stored for different periods. *Int. Dairy J.* 7: 119-127.
- Chaud, M. V., C. Izumi, Z. Nahaal, T. Shuhama, M. L. Bianchi, and O. Freitas. 2002. Iron derivatives from casein hydrolysates as a potential source in the treatment of iron deficiency. *J. Agric. Food Chem.* 50: 871-877.
- Chetty, K. N., R. Conway, K. C. Harris, W. C. Dorsey, D. Hill, S. Chetty, R. Yerrapragada, and S. Jain. 1999. Dietary supplementation with olive oil influences iron concentrations in rats. *Nutr. Res.* 19 (11) : 1665-1670.
- Clark, A. V., and S. R. Tannenbaum. Isolation and characterization of pigments from protein-carbonyl browning systems. 1970. *J. Agric. Food Chem.* 18: 891-894.
- Clemens, R. A. 1981. Effects of storage on the bioavailability and chemistry of iron powders in a heat-processed liquid milk-based

- product. *J. Food Sci.* 47: 228-233.
- Cluskey, M. S. Connolly, J. F. Devery, R. O'Brien, B. Kelly, J. Harrington, and C. Stanton. 1997. Lipid and cholesterol oxidation in whole milk powder during processing and storage. *J. Food Sci.* 62: 331-337.
- Conrad, M. E., J. N. Umbreit, and E. G. Moore. 1999. Iron absorption and transport. *Am. J. Med. Sci.* 318(4): 213-229.
- Craig, W. J. 1994. Iron status of vegetarians. *Am. J. Clin. Nutr.* 59: 1233-1237.
- Davidsson, L., T. Walczyk, A. Morris, and R.F. Hurrell. 1998. Influence of ascorbic acid on iron absorption from an iron-fortified, chocolate-flavored milk drink in Jamaican children. *Am. J. Clin. Nutr.* 67: 873-877.
- Demott, B. J. 1971. Effects on flavor of fortifying milk with iron and absorption of the iron from intestinal tract of rats. *J. Dairy Sci.* 54: 1609-1615.
- Douglas, F. W., N. H. Rainey, N. P. Wong, L. F. Edmonson, and D. E. LaCroix. 1981. Color, flavor, and iron bioavailability in iron-fortified milk. *J. Dairy Sci.* 64: 1785-1793.
- Drago, S. R., and M. E. Valencia. 2002. Effect of Fermentation on Iron, Zinc, and Calcium Availability from Iron-fortified Dairy Products. *J. Food Sci.* 67: 3130-3134.
- Edmonson, L. F., F. W. Douglas, and J. K. Avants. 1971. Enrichment of pasteurised whole milk with iron. *J. Dairy Sci.* 54: 1422-1426.
- Ferrer, E., A. Alegria, R. Farrd, C. Gonzalo, and C. Carlos. 2005. Fluorescence, browning index, and color in infant formulas during

- storage. *J. Agric. Food Chem.* 53: 4911-4917.
- Ferrer, E., A. Alegria, and R. Farrd. 2000. Advanced glycosylation end products (AGEs) and colour in milk and milk resembling systems. A review. *Recent Res. Dev. Agric. Food Chem.* 4: 269-290.
- Fleming, D. J., P. F. Jacques, J. M. Massaro, R. B. D'Agostino, P. WF. Wilson, and R. J. Wood. 2001. Aspirin intake and the use of the serum ferritin as a measure of iron status. *Am. J. Clin. Nutr.* 74: 219-226.
- Flynn, A. 1992. Minerals and trace elements in milk. *Food Nutr. Res.* 36: 209-252.
- Frankel, E. N. 1984. Lipid oxidation: mechanism, products and biological significance. *JAOCS.* 61: 1908-1917.
- Fransson, G. B., and B. Lonnerdal. 1983. Distribution of trace elements and mineral in human and cow's milk. in *pediatr. Res.* 17: 912-915.
- Friedman, M. 1996. Food browning and its prevention: an overview. *J. Agric Food Chem.* 44: 631-653.
- Friel, J. K., L. William, J. Diehl, S. Miyoung, T. Apollinaire, and P. S. Vaibhav. 2007. Impact of iron and vitamin C-containing supplements on preterm human milk: *in vitro*. *Free Radical Biology & Medicine* 42: 1591-1598.
- Friedman, M. 1996. Food browning and its prevention: an overview. *J. Agric. Food Chem.* 44: 631-653.
- Gillooly, M., J. D. Torrance, T. H. Bothwell, A. P. MacPhail, D. Derman, W. Mills, and F. Mayet. 1984. The relative effect of ascorbic acid on iron absorption from soy-based and milk-based infant formulas. *Am. J. Clin. Nutr.* 40: 522-527.

- Gleerup, A., L. Rossander-Hultén, and L. Hallberg. 1993. Duration of the inhibitory effect of calcium on non-haem iron absorption in man. *Eur. J. Clin. Nutr.* 47: 875-879.
- Graham, L. 1996. A comprehensive survey of the acid-stable fluorescent cross links formed by ribose with basic amino acids and partial characterization of a novel Maillard cross-link. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1297: 9-16.
- Guerra-Hernandez, E., C. Leon, N. Corzo, B. Garcia-Villanova, and J. M. romera. 2002. Chemical changes in powdered infant formulas during storage. *Int. J. Dairy Tech.* 55(4): 171-176.
- Hardas, N., S. Danviriyakul, J. L. Foley, W. W. Nawar, and P. Chinachoti. 2000. Accelerated stability studies of microencapsulated anhydrous milk fat. *Lebensm.-Wiss. Technol.* 33, 506-513.
- Haumann, B. F. 1997. Nutritional aspects of n-3 fatty acids. *Int. News Fats Oils Relat. Mater.*, 8: 428-447.
- Henle, T., U. Schwarzenbolz, and H. Klostermeyer. 1997. Detection and quantification of pentosidine in foods. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 7: 95-98.
- Jacobs, P. 1987. Equivalent bioavailability of iron from ferrous salts and ferric polymaltose complex. *Arzneim Forsch/Drug Res.* 37(1): 113-116.
- Jones, S. B., E. B. Kalan, T. C. Jones, J. F. Hazel, L. F. Edmonson, A. N. Booth, and J. C. Fritz. 1975. Ferripolyphosphate-whey protein powder: their potential as nutritional iron supplements. *J. Agric. Food Chem.* 23: 981-984.
- Jouppila, K., J. Kansikas, and Y.H. Roos. 1997. Glass transition, water plasticization, and lactose crystallization in skim milk powder. *J.*

- Dairy Sci. 80: 3157-3160.
- Kalpalathika, P. V. M., A. Mahoney, P. Whittaker, and D. D. Hendricks. 1991. Incorporation of absorbed iron from different dietary sources into hemoglobin. *Nutr. Rev.* 11(2-3): 185-195.
- Kelley, D. S. 1996. Dietary fat and human immune response. *INFORM* 7:852-858.
- Kruger, M. C., and L. M. Schollum. 2005. Is docosahexaenoic acid more effective than eicosapentaenoic acid for increasing calcium bioavailability? *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* 73: 327-334.
- Kurtz, E., A. Tamsma, and M. J. Pallansch. 1973. Effect of fortification with iron on susceptibility of skim milk and nonfat dry milk to oxidation. *J. Dairy Sci.* 56(9): 1139-1143.
- Leclère, J., I. Birlouez-Aragona, and M. Meli. 2002. Fortification of milk with iron-ascorbate promotes lysine glycation and tryptophan oxidation. *Food Chem.* 76: 491-499.
- Lee, K., and F.M. Clydesdale. 1979. Iron sources used in food fortification and their changes due to food processing. in *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 11: 117-183.
- Lee, T. A., R. S. Ho, J. C. Chen, Y. N. Yeh, and C. F. Chow. 2012. Effect of fat levels and functional additives on iron bioavailability in different iron fortified milk powder during *in vitro* digestion. *J. Jpn. Soc. Food Sci. Technol.* 59: 319-325.
- Leland, J. V., G. A. Reineccius, and M. Lahiff. 1987. Evaluation of copper-induced oxidized flavor in milk by discriminant analysis of capillary gas chromatographic profiles. *J. Dairy Sci.* 70: 524-533.
- Liang, J. H. 2000. Kinetics of fluorescence formation in whole milk

- powders during oxidation. *Food Chem.* 71: 459-463.
- Lieu, P. T., M. Heiskala, P. A. Peterson, and Y. Yang. The role of iron in health and disease. 2001. *Molecular aspects of medicine* 22: 1-87.
- Lloyd, M. A., J. Zou, H. Farnsworth, L. V. Ogden, and O. A. Pike. 2004. Quality at Time of Purchase of Dried Milk Products Commercially Packaged in Reduced Oxygen Atmosphere. *J. Dairy Sci.* 87: 2337-2343.
- Lynch, S. R. 2000. The effect of calcium on iron absorption. *Nutr. Res. Reviews* 13: 141-158.
- Martin, L., J. W. Su, P. J. Jones, G. A. Lockwood, D. L. Trichler, and N.F. Boyd. 1996. Comparison of energy intakes determined by food records and doubles labeled water in women participating in a dietary-intervention trial. *Am. J. Clin. Nutr.* 63: 483-490.
- Martínez-Navarrete, N., M. M. Camacho, J. Martínez-Lahuerta, J. Martínez-Monzó, and P. Fito. 2002. Iron deficiency and iron fortified foods—a review. *Food Res. Int.* 35: 225-231.
- McMillan, J. A., F. A. Oski, G. Louri, R. M. Tomarelli and S. A. Landaw. 1977. Iron absorption from human milk, simulated human milk, and proprietary formulas. *Pediatrics* 60: 896-902.
- Mehansho, H. 2006. Iron Fortification Technology Development: New Approaches. *J. Nutr.* 136: 1059-1063.
- Min, D., S. Lee, and J. Lindamood. 1989. Effect of packaging conditions on the flavor stability of dry whole milk. *J. Food Sci.* 54:1222-1224.
- Morales, F.J., C. Romero, and S. Jiménez-Pérez. 1996. Fluorescence associated with Maillard reaction in milk and milk-resembling systems. *Food Chem.* 57: 423-428.
- Morales, F. J., and S. Jiménez-Pérez. 2001. Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products as related to colour and

- fluorescence. *Food Chem.*, 72: 119-125.
- Morales, F. J., and B. Van. 1998. Study on advanced Maillard reaction in heated casein/sugar solutions: fluorescence accumulation. *Int. Dairy J.* 7: 675-683.
- Monsen, E. R., and J. D. Cook. 1976. 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.
- Monsen, E. R., H. L. Layrisse, M. Hegsted, D. M. Cook, J. D. Mertz, and C. A. Finch. 1978. Estimation of available dietary iron. *Am. J. Clin. Nutr.* 31: 134-141.
- Morales, F. J., and B. Van 1997. Study on advanced Maillard reaction in heated casein/sugar solutions: fluorescence accumulation. *Int. Dairy J.* 7: 675-683.
- O'Brien, J. M., and P. A. Morrissey. 1989. The Maillard reaction in milk products. *Bull.* 238: 53-61.
- Oliveira, M. A. A., and M. M. Osorio. 2005. Cow's milk consumption and iron deficiency anemia in children. *J. Pediatr.* 81(5): 361-367.
- Ortega, R. M. M. E., Quintas, M. J., Gaspar, P., Andres, A., M. Lopez-Sobaler, B. Navia, and A. M. Requejo. 1998. The influence of saturated fatty acid consumption on energy and nutrient intake, blood lipid levels and iron indicators in a group of young women. *Nutr. Res.*, 18 (4): 671-682.
- Patel, A. A., H. Ganchi, S. Singh, and G. R. Patil. 1996. Sep-life modeling of sweetened condensed milk based on kinetics of Maillard browning. *J. Food Process. Preserv.* 20: 431-451.
- Perks, S. M., and D. D. Miller. 1996. Adding ascorbic acid to

- iron-fortified cow's milk does not enhance iron bioavailability to piglets. *Nutr. Res.* 16: 969-975.
- Pizarro, F., M. Olivares, E. Hertrampf, D. I. Mazariegos, and M. Arredondo. 2003. Heme-iron absorption is saturable by heme-iron dose in women. *J. Nutr.* 133(7): 2214-2217.
- Rampilli, M., and R. Andreini. 1992. Evaluation of colour components in sterilized milk. *Ital. J. Food Sci.* 4: 285-291.
- Rice W. H., and D. J. McMahon. 1998. Chemical, physical, and sensory characteristics of mozzarella cheese fortified using protein-chelated iron or ferric chloride. *J Dairy Sci.*, 81: 318-326.
- Rice W. H., and D. J. McMahon. 1998. Chemical, physical, and sensory characteristics of mozzarella cheese fortified using protein-chelated iron or ferric chloride. *J. Dairy Sci.* 81:318-326.
- Richardson, D. P. 1990. Food fortification. *Proc. Nutr. Soc.* 49:39-50.
- Rosenzweig, H. P., and S. L. Volpe. 1999. Iron, thermoregulation and metabolic rate. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* 39(2): 131-148.
- Sadler, A. M., D. E. LaCroix, and J. A. Alford. 1973. Iron content of baker's and cottage cheese made from fortified skim milks. *J. Dairy Sci.* 56:1267-1270.
- Sawaya, A. L., K. Tucker, R. Tsay, W. Willet, E. Saltzman, G. E. Dallal, and S. B. Robert. 1996. Evaluation of four methods for determining energy intake in young and elder women: comparison with double labeled water measurements of total energy expenditure. *Am. J. Clin. Nutr.* 63: 491-499.
- Schultz, J., and N. J. Smith. 1958. A quantitative study of the absorption of food iron in infants and children. *Am. J. Dis. Child.* 95: 109-118.
- Sharp, P., and K. S. Surjit. 2007. Molecular mechanisms involved in

- intestinal iron absorption. *World J. Gastroenterol.* 13(35): 4716-4724.
- Shermer, W. D., and D. F. Calabotta, 1985. Oxidation of feed: How much has occurred? *Feedstuff* Nov. 4: 19-20.
- Shotton, A. D., and E. A. Droke. 2004. Iron utilization and liver mineral concentrations in rats fed safflower oil, flaxseed oil, olive oil, or beef tallow in combination with different concentrations of dietary iron. *Biol. Trace Element Res.* 97 (3): 265-277.
- Siegl, T., U. Schwarzenbolz, and T. Henle. 2000. Irreversible casein oligomerisation and formation of fluorescent cross-link amino acids in dairy products. *Czech J. of Food Sci.* 18: 72-73.
- Stapelfeldt H. B. R. Nielsen, and L. H. Skibsted. 1997. Effect of heat treatment, water activity and storage temperature on the oxidative stability of whole milk powder. *Int. J. Dairy Tech.* 7(5): 331-339.
- Stapelfeldt, H. and L. H. Skibsted. 1994. Modification of  $\alpha$ -lactoglobulin by aliphatic aldehydes in aqueous solution. *J. Dairy Res.* 61: 209-219.
- Theuer, R. C., W. H. Martin, J. F. Wallander, and H. P. Sarett. 1973. Effect of processing on availability of iron salts in liquid infant formula products: experimental milk-based formulas. *J. Food Sci.* 21: 482-485.
- Thomsen, M. K., L. Lauridsen, L. H. Skibsted, and J. Risbo. 2005. Two types of radicals in whole milk powder: effect of lactose crystallization, lipid oxidation, and browning Reactions. *J. Agric. Food Chem.* 53: 1805-1811.
- Thorpe, S. R., and J.W. Baynes. 1996. Role of the Maillard reaction in diabetes mellitus and diseases of aging. *Drugs Aging.* 9: 66-75.

- Tuohy, J. 1984. Developments in the packaging of whole milk powder. *Farm Food Res.* 15:7-9.
- Van, B. M. A. J. S. 1998. Effect of heating on Maillard reactions in milk. *Food Chem.* 62: 403-414.
- Vaquero, M. P. M. Veldhuizen, and B. Sarria. 2001. Consumption of an infant formula supplemented with long chain polyunsaturated fatty acids and iron metabolism in rats. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 15: 211-217.
- Williams, C. M. 2000. Dietary fatty acids and human health. *Ann. Zootech.* 49:165-205.
- Wood, R. J., P. E. Stake, J. H. Eiseman, R. L. Shippee, K. E. Wolski, and U. Koehn. 1978. Effects of heat and pressure processing on the relative biological value of selected dietary supplemental inorganic iron salts as determined by chick hemoglobin repletion assay. *J. Nutr.* 108:1477-1483.
- World Health Organization. 2006. Guidelines on food fortification with micronutrients. Geneva: World Health Organization.
- Xu, B., and N. D. Chastee. 1991. Iron Oxidation Chemistry in Ferritin. *J. BIO. Chem.* 266(30): 19965-19970.
- Yaylayan, V. 1990. In search of alternative mechanisms for the Maillard reaction. *Trends in Food Sci. and Technol.*, 1: 20-22.
- Yeh, Y. N., R. S. Ho, T. A. Lee, and C. F. Chow. 2009. Effect of lactose and milk protein on iron bioavailability during in vitro digestion. *J. Jpn. Soc. Food Sci. Technol.* 56 (6): 331-335.
- Yip, R., and P. R. Dallman. 1988. The roles of inflammation and iron deficiency as causes of anemia. *Am. J. Clin. Nutr.* 48: 1295-1300.
- Yun, S., Y., H. Jean-Pierre, D. M. Dennis, and P. G. Raymond 2004. An

in vitro digestion/caco-2 cell culture system accurately predicts the effects of ascorbic acid and polyphenolic compounds on iron bioavailability in humans. *J. Nutr.* 134: 2717-2721.

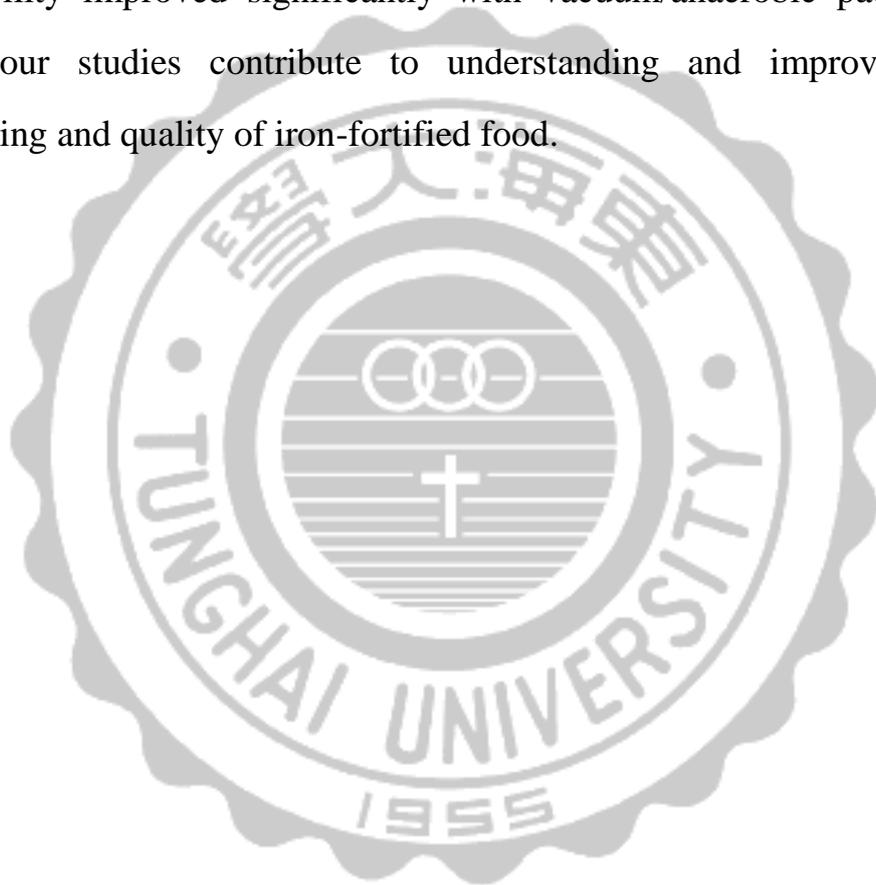


## VIII、英文摘要

The first purpose of this research was to discuss commercial milk powder which was fortified with different iron source effecting its *in vitro* bioavailability by milk fat levels, functional food ingredients of docosahexaenoic acid (DHA), eicosapentaenoic acid (EPA) and vitamin E. There were 0.3, 1.5, and 3.5% of milk fat content in test samples, which were fortified with ferrous sulfate (FS), ferric chloride (FC), and of 1/2 of each (MIX), respectively. Afterward the iron bioavailability was estimated by dialyzable ferrous iron (DFe (II)), total dialyzable iron (DTFe), nondialyzable ferrous iron (NDFe (II)) and total ferrous iron (DFe(II) + NDF(II)) during enzyme hydrolysis (pepsin, pancreatin-bile salt) and dialysis. The results showed that the order of iron bioavailability among iron compounds was FS, MIX, and FC. Furthermore, the 3.5% fat level has the best efficiency in iron bioavailability among fat levels treatments. In functional food Ingredients experients, EPA can improve iron bioavailability in all iron fortified milk samples. In addition, much storage time elonge, more increment iron bioavailability of powders were found, especially in stability of ferrous iron(DFeII and DFeII+NDFeII value).

To well-documented stability studies on iron-fortified food are limited due to the complexity of ingredients and processing methods. Here, we also performed a comprehensive stability evaluation on iron-fortified milk powder with various iron contents and packaging methods. Free fatty acid increased gradually over a 9 month storage period in both iron-fortified and non iron-fortified formulas, regardless of the packaging methods. Thiobarbituric acid (TBA) level remained stable in anaerobic packaging condition but increased in aerobic condition. Lipid oxidation

was highest in Fe(III)-fortified formula. We showed significant increment of browning reactions, moisture and water activities in aerobic condition, especially in iron-fortified formulas, while no significant changes in anaerobic-packaged formulas. Scanning electron microscopy (SEM) showed highest porosity in Fe(III)-fortified formula. Our results showed Fe(III)-fortified formula has the lowest stability in aerobic condition but its stability improved significantly with vacuum/anaerobic packaging. Thus, our studies contribute to understanding and improving the processing and quality of iron-fortified food.



## X、附錄

葉依凝、王勇勝、李丹昂、閻立平、周繼發。2008。不同醣類與乳蛋白質配方對試管內鐵質生物可利用效率之影響。中畜會誌，37(3):209-220。

陳柏璋、葉依凝、李丹昂、周繼發。2008。不同鐵劑與維生素強化對不同脂肪含量還原乳之體外鐵質生物利用率之影響。台灣農化與食品科學，46(2):96-102。

Yeh, Y. N., Y. S. Wang, P. C. Chen, J. C. Chen, T. A. Lee, and R. S. Ho. 2008. Effect of bovine milk components and functional additives on iron bioavailability during *in vitro* digestion. 13th AAAP, Hanoi, Vietnam.

Yeh, Y. N., R. S. Ho, T. A. Lee, and C. F. Chow. 2009. Effect of lactose and milk protein on iron bioavailability during *in vitro* digestion. J. Jpn. Soc. Food Sci. Technol. 56 (6): 331-335. (SCI)

Lee, T. A., J. H. Ho, Y. N. Yeh, and C. F. Chow. 2012. Effect of fat levels and functional additives on iron bioavailability in different iron fortified milk powder during *in vitro* digestion. J. Jpn. Soc. Food Sci. Technol. 59(7): 319-325. (SCI)

Lee, T. A., J. H. Ho, S. K. Khoo, and C. F. Chow. 2012. Comprehensive stability evaluation of iron-fortified milk powder. Food Sci. and Technol. Res. (FSTR) 18(3):419-428. (SCI)