

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

# 碩 士 論 文

**Master Thesis**

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

鐵劑之篩選及其於鐵強化乳粉中生物可利用性  
之評估

**The Selection and Evaluation of Iron Compounds  
Bioavailability in Fortified Milk Powder**

研究生：林東茂 撰  
Graduate Student：Tung-Mao Lin

中華民國九十五年一月

January, 2006

鐵劑之篩選及其於鐵強化乳粉中生物可利用性  
之評估

**The Selection and Evaluation of Iron Compounds  
Bioavailability in Fortified Milk Powder**

碩 士 論 文

**Master Thesis**

林東茂

Tung-Mao Lin

東海大學畜產與生物科技學系

Department of Animal Science and Biotechnology

Tunghai University

中華民國九十五年一月

January, 2006

## 誌謝

本論文承蒙恩師 周繼發 老師於專業領域之提點與指導，在待人處事上的觀念與態度，並不厭其煩地細心糾正其缺點，且給予極大的揮灑空間，亦常不斷的鼓舞學生，使學生有最大的自信及信心面對不同的艱難與挑戰，在此要致上由衷的敬意與謝忱。復蒙口試委員台灣大學 林慶文 教授、中興大學 林亮全 教授及嘉義大學 曾再富 教授於論文初成與口試期間詳細審閱及斧正，並提供寶貴意見始克完成，讓學生獲益良多，特此謹致謝忱。

在學期間承蒙系上 吳勇初、楊錫坤、施宗雄、洪連權、陳珠亮、羅能文、姜樹興、歐柏榮、陳盈豪、林敦台、王家宇、劉琳琳 老師們在各領域之課業及思考上都給予相當的指正及期許，使學生獲益匪淺，深感敬佩。亦感謝張淑錦、林武霆、林佩儀及謝明君助教們在實驗上及觀念上的指導，深表感謝。

再者，感謝文全、智銘、繼嫻、文懋、晴雯、雲翔等學長姊，以及同窗好友玉霜、志豪、宏文、鈴彩、淑惠、俊達，學弟妹們人杰、柏璋、勇勝、思吟、美常、思平、鈺臻、柏澧、涵如，因為你們的指導與陪伴，使我的研究所生活多采多姿，還有大學同學與好友金蓉、珮均、容綺、琇雯、長峻、知仁、政學等，謝謝你們平時的鼓勵與支持，使本論文得以順利完成，在此致上我誠摯的謝意。

最後，謹以本論文獻給我最親愛的家人，爸爸、媽媽、大姐育玲、二姐慧珊、三姊靜君及四姐佩玲，感謝您們對我的循循善誘、支持與愛護，特別是最疼愛我的爸爸與媽媽，感恩您們從小到大辛苦養育與諄諄教誨，使兒子在衣食無慮下，求學順遂。學業有幸順利完成，還要感謝曾經幫助我的每一位貴人，謹以最深且真誠的敬意感謝您們。

林東茂 謹誌

東海大學畜產與生物科技學系

中華民國九十五年一月

# 目次

	頁次
I、中文摘要.....	1
II、前言.....	2
III、文獻檢討.....	3
IV、材料與方法.....	27
V、結果與討論.....	34
VI、結論.....	53
VII、參考文獻.....	54
VIII、英文摘要.....	69
IX、作者小傳.....	71
X、附錄.....	72

# 圖次

頁次

圖 1. 不同鐵劑於脫脂還原乳中經體外消化試驗之可透析 二價鐵(%DN)的比較.....	36
圖 2. 不同鐵劑於脫脂還原乳中經體外消化試驗之可透析 總鐵(%D)的比較.....	37
圖 3. 不同鐵劑於脫脂還原乳中經體外消化試驗之未透析 二價鐵(%R)的比較.....	40
圖 4. 不同鐵劑於脫脂還原乳中經體外消化試驗之總二價 鐵(%DN+R)的比較.....	41
圖 5. 硫酸亞鐵標準檢量線.....	43
圖 6. 反丁烯二酸亞鐵標準檢量曲線.....	44
圖 7. 氯化鐵標準檢量曲線.....	45
圖 8. 三種鐵劑於全脂還原乳中經體外消化試驗之可透析 二價鐵(%DN)的比較.....	46
圖 9. 三種鐵劑於全脂還原乳中經體外消化試驗之可透析 總鐵(%D)的比較.....	48
圖 10. 三種鐵劑於全脂還原乳中經體外消化試驗之未透析 二價鐵(%R)的比較.....	49
圖 11. 三種鐵劑於全脂還原乳中經體外消化試驗之總二價 鐵(%DN+R)的比較.....	51

# 表次

## 頁次

表 1. 影響飲食中之鐵生物可利用性之食品成分..... 6

表 2. 一些應用於乳製品鐵強化之鐵化合物分類..... 15

表 3. 常見鐵強化劑之特性..... 19

# I、中文摘要

本研究旨在利用不同種類之鐵劑添加於還原乳中進行體外消化試驗，並篩選出鐵質生物利用性較佳之鐵劑，以供製鐵強化乳粉。取硫酸亞鐵(ferrous sulfate)、反丁烯二酸亞鐵(ferrous fumarate)、氯化亞鐵(ferrous chloride)、羰基鐵(carbonyl iron)、Iron asporotate、Amino acid chelated iron、氯化鐵(ferric chloride)與焦磷酸鐵(ferric pyrophosphate)等不同鐵劑添加於脫脂還原乳中進行體外消化試驗，並篩選生物利用性佳之鐵劑分別添加於全脂還原乳中，以可透析二價鐵(DN)、可透析總鐵(D)、未透析二價鐵(R)及總二價鐵(DN+R)等作為評估之指標。最後再將上述經篩選之鐵劑以市售鐵強化製品之劑量直接與全脂及脫脂乳粉混合並於室溫下儲存一週後，以 45°C 去離子水復水，觀察其色澤、風味及沉澱與否等項目。結果顯示，在鐵劑添加於脫脂還原乳之試驗中，二價鐵劑以 Amino acid chelated iron、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，另外於全脂還原乳之試驗中，以硫酸亞鐵之生物利用性最佳，氯化鐵則受到乳脂肪因子之影響較大。最後觀察硫酸亞鐵、反丁烯二酸亞鐵與氯化鐵等三種鐵劑於全脂及脫脂乳粉下之風味、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。

## II、前言

鐵對動物與人類而言為一維持正常生理功能所必須之微量元素，然而鐵營養素的缺乏在世界人口中卻相當普遍且常見，故如何使得人體內鐵的含量可供給日常生理功能且不致匱乏，是首要面對之課題，因此有許多專家學者遂將研究朝向鐵強化食品方面作探討，這些鐵強化食品中包含有麵包、果汁、飲料、餅乾、嬰兒穀物、乾酪、發酵乳與乳粉等 (Martínez-Navarrete *et al.*, 2002)。在上述食品中尤以乳製品為一種營養成分相當均衡的食物而更受人矚目，其中若能在乳粉之鐵強化有更深一步的探討，或許能使得容易缺鐵而又能受惠的族群更加廣泛，因為乳粉不單在各年齡層都方便且適合食用，如針對幼兒及老年人時，還可能是他們的主食來源。似此，添加於乳粉中之鐵劑自然就成為相當重要的角色，亦進而啟迪吾人進行探究之動機。



### III、文獻檢討

#### 一、鐵之重要性

鐵在動物與人類的營養上是一個必須之微量元素，它除了參與細胞色素與數個酵素之結構外，也是構成肌紅蛋白與紅血球中血色質的重要組成份之一，同時也擔任動物血液及組織中運送、儲存與利用氧氣的主要角色。鐵的缺乏被認為是普遍且常見易缺乏營養素之一，影響所及約佔世界人口中的 30%(Viteri *et al.*, 1995 ; Layrisse *et al.*, 1996 ; West, 1996)，尤以幼兒，青少年時期與經期中婦女之風險最高(Hercberg and Galan, 1992 ; Tidehag *et al.*, 1995)。

鐵對於人體與生理需求上，如應付自然的生理流失、生長及女性月經與生產等均是一個必要的成分，因此若攝取不足則產生的許多不利之影響包含兒童的生長遲滯(Kaup, 1998)、認知能力減弱(Scrimshaw, 1998 )及婦女生育力低落(Pollitt, 1993 ; Walker, 1998)等。上述情況的發生，部分被認為是某些族群可能因為宗教信仰的緣故，導致其在飲食習慣上有所不同，如佛教素食者，他們大多是以攝取大豆製品及植物為基礎者，在肉類食品不得攝取之情形下，只能攝取植物中具有低層級(low levels)且生物可利用性較差的鐵，造成維持體內鐵的平衡不足(Shaw *et al.*, 1995 ; Chiplonkar *et al.*, 1999 ; Yi-Chia-Huang, 2000 )；而有另一種特殊情況則是因家庭經濟情況不佳，使得肉類食品攝取不足，亦很可能因此而成為鐵缺乏的危險族群之一，其中尤以兒童更須特別注意(Torrejón *et al.*, 2004 )。

在日常生活中常以肉類食品或特定植物作為獲得鐵之來

源，而飲食中的鐵一般可分為屬於無機鐵鹽類之非血色質鐵(non-heme iron)與屬於有機鐵鹽類之血色質鐵(heme iron)，後者在吸收效率上較前者來的高(Martinez *et al.*, 1998 ; Wells *et al.*, 2003)。動物體中約 40%之血色質鐵被發現存在動物組織中的血紅素與肌紅素中，另外非血色質鐵型式存在的鐵質則佔 60%左右(Monsen *et al.*, 1978)。隨著食肉種類之不同其血色質鐵含量亦有所差異，例如豬肉、魚肉與禽肉約佔全部鐵質之 30~40%，而牛肉及羊肉則高達至 50~60%之間(Cook and Monsen, 1976)。而稻米、玉米、小麥與豆科植物這一類非血色質鐵之生物可利用性大多是屬於一般或貧乏(Morck and Cook, 1981)。因血色質鐵具有專一之吸收機制，故其可利用性不易受飲食中抑制或促進因子之影響(Beard and Tobin, 2000)，而非血色質鐵則因不佳之溶解度及與食物中其他抑制因子之成份結合致使其生物可利用性大大的偏低在 10%以下(Van Moorsell, 1997)。

有研究指出當個體產生鐵缺乏的現象，而體內促進因子處於充足狀態下，則對外源性之非血色質鐵的吸收率可達 20%左右，血色質鐵也可至 35%左右(Monsen *et al.*, 1978)。當觀察這些具有鐵缺乏個體間產生較大差異的原因，可能與其膳食中缺乏促進因子或有較高程度之抑制因子有關。雖然非血色質鐵在吸收率上是比血色質鐵還要來的低，但在飲食中非血色質鐵之含量卻是血色質鐵的幾倍多，約佔食物中鐵質總量的 80%以上，因此大部分膳食中所分布之可利用性的鐵質主要還是非血色質鐵。另也有研究特別針對人體內的正常生理現象之研究發現，真正從食物中確實被吸收的鐵僅 5~15%(Charlton and Bothwell, 1983)，此亦反映出人類對外源性鐵

質吸收能力本就不佳之事實。

雖然肉類食品可促進飲食中非血色質鐵的吸收(Kapsokefalou and Miller, 1991), 但亦有許多植物中富含降低人體對於非血色質鐵吸收之因子, 這些抑制因子大多是穀類植物中之植酸(Hallberg *et al.*, 1987)、大豆蛋白(Hallberg *et al.*, 2000)及植物纖維質(Rossander *et al.*, 1992); 而在一般人常飲用之咖啡與茶裡頭所含的酚類化合物(Morck *et al.*, 1983; Brune *et al.*, 1989)亦屬於抑制因子之一(表 1)。因此在部分飲食習慣不同的族群中, 若膳食內僅有少數促進與多數抑制因子的交互作用下則可能導致鐵的吸收效率更無法滿足人體需求, 因而廣泛有鐵缺乏的情形發生(Lynch and Stoltzfus, 2003)。

## 二、牛乳中鐵之含量、分佈與利用性

牛乳在微量元素鐵之含量上是相對的貧乏, 約 0.2-0.4mg/kg (Flynn, 1992)。其含量上的變化主要取決於乳牛品種與泌乳期而非飼養狀況。早期的報告指出, 天然存在於牛乳中非離子性的鐵大部分是與脂肪球結合(Allan, 1950; King *et al.*, 1959)。而在之後的研究中指出鐵在牛乳的分佈上, 約有 14% 是與乳脂肪中的脂肪球皮膜(fat globule membrane)相結合, 有 24% 與酪蛋白鍵結, 而約有 29% 則是與乳清蛋白鍵結, 另外有 32% 與牛乳中一些低分子量成分結合(Fransson and Lonnerdal, 1983)。若在脫脂乳中則又有所差異, 約有 50-65% 的鐵與酪蛋白鍵結, 18-33% 存在於乳清蛋白及 15-33% 存在非蛋白質成分中(Brulé and Fauquant, 1982)

表 1 影響飲食中之鐵生物可利用性之食品成分

Table 1 Food components affecting dietary iron bioavailability

<b>Food components</b>	<b>Potency*</b>
<b>Enhancers</b>	
Ascorbic acid	+++
Animal tissue	+++
<b>Inhibitors</b>	
Tea	+++
Soy products	+++
Coffee	++
Calcium/phosphate salts	++
<b>Eggs</b>	
Yolk	++
Albumen	++
Phytate	+
Fiber	+

(Morck and Cook, 1981)

\* "+" means potential degree.

，而上述的一些非蛋白質或低分子量成分則相當於一些如檸檬酸、乳清酸與無機磷酸鹽等之小分子。

乳清蛋白中的乳鐵蛋白(lactoferrin)是一種分子量約80,000Da 並能結合兩個三價鐵離子及伴隨著兩個碳酸鹽離子的醣蛋白(glycoprotein)，具有運鐵蛋白(transferrin)的生理與化學特性，能在強酸環境下將鐵離子釋放出，但其在牛乳中濃度甚低，僅約0.01-0.1mg/ml (Jackson and Lee, 1992)。早期有研究指出，人體胃腸道中的接受體(receptors)僅能與人類乳鐵蛋白做結合，由此可了解人類的乳鐵蛋白接受體是有其專一性的，因此牛乳中的乳鐵蛋白似乎並不能提供人類鐵質的利用(Cox *et al.*, 1979)。另有研究亦發現在人乳中有少量的鐵是鍵結於乳鐵蛋白上，且僅1~4%的蛋白質其鐵含量屬於飽和狀態，此結果可能意味著乳鐵蛋白是在擔任抑菌的任務而不是提供鐵質(Fransson and Lonnerdal, 1980)。惟之後又有研究比較鐵飽和的乳鐵蛋白與硫酸亞鐵(ferrous sulfate)，結果顯示其對於離乳小鼠鐵質吸收率而言，兩者效果是相似的(Fransson *et al.*, 1983)；另外也有報告發現，從牛乳之乳鐵蛋白中獲得的鐵，用來提升貧血大鼠體內之血球比容積(hematocrit)較硫酸亞鐵來的更有效果(Kawakami *et al.*, 1988)。

若將人乳與牛乳之鐵質作生物可利用性之比較，分別以人乳(1.0 mg Fe/L)與牛乳(0.7 mg Fe/L)供給嬰兒後，從血液中測出其體內鐵的存留率分別是70%與30%，雖然兩者鐵的含量並不一致，但可發現母乳的存留率還是較牛乳高出一倍左右，而此結果可能顯示天然存在於牛乳中的鐵其生物可利用性似乎不高(Saarinen *et al.*, 1977；Saarinen and Siimes,

1979)。

### 三、牛乳成分中影響鐵質利用之因子

牛乳與其它乳製品是一種營養成分相當均衡的食物。而牛乳與其本身的組成分，如酪蛋白及乳清蛋白亦常廣泛被應用於改良食物的營養性、風味及質地等。當大部分研究焦點皆放在乳製品本身的營養特性與成分的分布情形時，卻有部分研究報告指出乳製品對於鐵的利用是具有影響性的。

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(Farley *et al.*, 1987 ; Glerup *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)。

若先從牛乳這個大範圍來觀察，則有研究以 30mg 的硫酸亞鐵添加於 180ml 的牛乳中而不是水中，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 100ml 柳橙汁中，鐵的可利用性卻因此而提升(Schultz and Smith, 1958)。近年來則有研究進一步以停經後婦女為對象，將鐵劑與牛乳混合後添加於以穀物膳食為主的早餐中，結果顯示鐵劑在體內之存留率約降低 48%，由於此實驗是以放射線同位素鐵劑 ( $^{59}\text{Fe}$ ) 為追蹤指標，因此可清楚的偵測到糞便中所排出的鐵含量，測定之精確度較高，可信度也相對的提升(Deehr *et al.*,

1990)。

在早期曾有研究者針對母乳是否可促進鐵質的利用性作了探討，將放射線標定後之鐵劑添加於母乳與牛乳後，由成人攝取之，再測定其紅血球細胞與鐵的結合力做為鐵吸收率的比較值，結果顯示母乳的吸收率為 21%，牛乳則是 14% (McMillan *et al.*, 1976, 1977)。此結果自然令人好奇兩者鐵質吸收率的差異是否因母乳與牛乳間之乳組成分的比例不同所致，例如，母乳中之酪蛋白、磷與鈣的含量都較牛乳少，但乳清蛋白、乳糖與維生素 C 含量則較高 (Lonnerdal *et al.*, 1984)。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)。

由上述可知牛乳與其他食物中的成分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飲食中成分所影響 (Jackson and Lee, 1992)。

歸納諸多研究擬試圖針對牛乳中之較常被討論對鐵質吸收率又具影響的組成分分別檢討如下。

### (一)酪蛋白

為牛乳蛋白質中之主要蛋白質，含量約佔總牛乳蛋白質的 80%，由於其含量高出母乳約 8~10 倍而被認為可能是影響鐵質可利用性之主要成分。牛乳酪蛋白中  $\alpha$ 、 $\beta$  與  $\kappa$  等次級單元與鐵結合的含量比例分別為 72、21 與 4% (Demott and Dincer, 1976)。

早在 1976 年即有研究證實若以牛乳、乾酪或酪蛋白來

取代標準美國膳食中之牛肉部分，則鐵的吸收率會減少約60~70%(Cook and Monsen, 1976)。之後亦有研究證實鐵-酪蛋白、鐵-牛血清白蛋白與鐵-牛肉混合溶液其可透析鐵之透析率分別為1、19與12.9%，由此可知鐵-酪蛋白的混合溶液與其他溶液可透析鐵之透析率比較相對較低(Kane and miller, 1984)。進一步有實驗以成人攝取含有卵白(egg white)的液態膳食，之後再以酪蛋白取代卵白部分做比較，結果顯示鐵質的吸收率並不會因此而降低(Hurrell *et al.*, 1989)。若將以穀物為主的早餐膳食做體外消化(*in-vitro*)試驗並測定離子化鐵之含量，結果顯示當早餐膳食與水做混合時其鐵的可利用性為4.3%，但若分別與全脂牛乳或酪蛋白做混合則分別顯著增加至6.5及6.4%(Sexena and Seshadri, 1988)。單純從上述結果來看，或許可以說明肉類是促進鐵質利用性的因子，酪蛋白卻並不一定是抑制因子，而吾人比較各種動物性蛋白質對鐵質透析率之影響時，並獲得相同之結論(趙等，2005)。導致此等奇特現象的原因經研究推測，係酪蛋白被酵素分解後，高分子量的部分(*high-molecular-weight*)與鐵結合之肽複合物(*iron-peptide complexes*)分子太大，而無法被小腸刷狀緣上的接受體所吸收之故(Saarinen and Siimes, 1979)。亦有研究指出，酪蛋白消化分解期間，屬於低分子量部分(*low-molecular-weight*)螯合可透析鐵後在體內的吸收率被預測可能來的較佳，因為低分子量肽是較能到達小腸刷狀緣(*brush border*)之部分(Miller and Berner, 1989)。但亦有研究指出在體外消化試驗中發現，經分解後的酪蛋白無論形成大或小分子量之肽片段，對於促進鐵透析上的效果均不佳(Kane and Miller, 1984)。



理論上，隨著蛋白質水解程度之增加，鐵的透析率也會因此而提升(Hurrell *et al.*, 1989)，此現象由人體試驗中(*in-vivo*)獲得證實，但對於酪蛋白之敘述上卻定位在會減少其對鐵質吸收的抑制性而並非促進，亦即如膳食中含有酪蛋白水解物與未經水解的酪蛋白，前者抑制鐵吸收率之現象較低(Hurrell *et al.*, 1988, 1989)。

## (二)乳清蛋白

為牛乳中另一主要蛋白質，含量約佔總牛乳蛋白質之 20%，包含  $\beta$  乳球蛋白( $\beta$ -lactoglobulin)、 $\alpha$  乳白蛋白( $\alpha$ -lactalbumin)、乳漿白蛋白(*serum albumin*)、免疫球蛋白(*immunoglobulin*)與乳鐵蛋白等皆屬於乳清蛋白這一類。有研究以人為試驗對象，在膳食中以乳清蛋白取代雞蛋蛋白，結果顯示鐵質的吸收顯著減少約 61%，且在體外消化試驗中可透析鐵則減少約 52%(Hurrell *et al.*, 1989)。

## (三)鈣與磷

在牛乳中鈣的含量約 104~120mg/100ml，而磷含量則約 86~95 mg/100ml；人乳中鈣約 24~33 mg/100ml，而磷則約 13.5~15 mg/100ml (張，1995)。

許多研究者發現在人體中鐵與鈣之間是屬於相互拮抗之營養元素(Dawson-Hughes *et al.*, 1986 ; Deehr *et al.*, 1990)。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)。之後則有研究將氯化鈣(*calcium chloride*)添加於人乳中，使其鈣含量與牛乳相等，則兩者鐵之吸收率相似，由此可知，鈣應是影響鐵質

吸收的原因之一，其可能解釋的原因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)。而在人體試驗中，以碳酸鈣(calcium carbonate)含量為 300mg 與硫酸亞鐵 37mg 或碳酸鈣含量為 600mg 與硫酸亞鐵 18mg 在任何一个標準同時補充下，若碳酸鈣未與食物同時被攝取入體內，則碳酸鈣並不會抑制硫酸亞鐵之吸收。但若以後者為攝取標準，且將鈣的來源換成檸檬酸鈣(calcium citrate)與磷酸鈣，則就算鐵與鈣沒有與食物同時攝取入體內，還是會分別減少鐵的吸收 49%與 62%且達顯著差異。由上述得知，若將鈣與鐵伴隨著食物並同時做補充，則鈣會抑制鐵的吸收(Cook *et al.*, 1991)。

另一研究則餵飼非貧血之大鼠牛乳、磷酸鈣、碳酸鈣與乳酸鈣(calcium lactate)，結果顯示鈣與鐵之間並無交互作用(Greger *et al.*, 1987)。另外，若將含量 165mg 的鈣以牛乳、乾酪或氯化鈣之形式補充於早餐膳食中，則鐵的吸收率減少約 50~60%(Hallberg *et al.*, 1991)。綜合前述，鈣之化學形式不同似乎也影響著與鐵之間的交互作用(Greger and Krashoc, 1988)。

曾有研究發現在成年男性中鈣或磷與鐵之間其可利用性並無相互影響(Snedeker *et al.*, 1982)。若以人為對象，將鐵劑做放射性標定，並觀察鈣與磷對於鐵吸收之影響，結果顯示若在膳食中僅加入氯化鈣或磷酸鉀(potassium phosphate)任一種，則對於鐵的吸收沒有影響，但若兩者同時加入就會降低鐵之可利用性(Monsen and Cook, 1976)。後續也有研究證實，從食物中過度攝取鈣與磷，將會使鐵的利用性減少，

但若只過度攝取鈣，則並無影響(Ranhotra and Gelroth, 1989)。

儘管從上述各乳成分試驗之結果中發現，有少數結論矛盾的情形產生，但或許是因為試驗中膳食成分之差異、膳食本身或外來強化鐵形式及含量的不同、試驗者或動物本身鐵狀態之生理差異與使用不同分析鐵質可利用性的方法等所造成。

#### 四、應用於鐵強化之化合物

牛乳是一種含有對於營養平衡與健康所需之必要成分的食物(Favretto and Marletta, 1989 ; Coni *et al.*, 1995)，尤其對於幼兒與老年人，還可能成為他們的主食來源(Ziegler and Fomon, 1996)，惟牛乳雖是良好的鈣與蛋白質來源，但卻幾乎沒有提供飲食中所需要的鐵(Blanc, 1981 ; Swaisgood, 1985)。因此若能將牛乳中之鐵含量予以強化，將有助於提升營養價值，而使其達到近乎完美的食物(Hekmat and McMahan, 1998 )。

早期有實驗證實，在餵飼大鼠的食物中添加硫酸亞鐵會比添加焦磷酸鐵(ferric pyrophosphate)或磷酸鐵(ferric phosphate)之鐵強化乳有較高的血球比容與增重(Demott, 1971)。而若換成將硫酸亞鐵添加於以牛乳為基礎之嬰兒配方中餵飼大鼠，其鐵的可利用率約 26%，較添加於不含牛乳之食物中高(Theuer *et al.*, 1973)。另外，在不同的鐵化合物如檸檬酸亞鐵(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，結果顯示有等同或大於硫酸亞鐵添加於不含牛乳的溶液中(Theuer *et al.*, 1973 ; Clemens, 1981)。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添加於牛乳中，對於鐵在牛乳中可利用率的影響也相當重要。

依據 Lee and Clydesdale (1979)將曾應用於牛乳與乳製品中做為鐵強化劑之鐵化合物分成三大類(表 2)，茲分述於下。

### (一)含鐵鹽類

這些鹽類屬第一大類(first category)，又可再區分為兩種氧化型態，一種為含二價鐵離子( $\text{Fe}^{2+}$ )，另一種為含三價鐵離子( $\text{Fe}^{3+}$ )者，它們皆是可溶於牛乳之中，然而其主要缺點是會以游離的方式與牛乳之一些成分相互作用，進而使得牛乳官能上的特性產生改變。

早期研究中係將脫脂牛乳加入經放射線標定後之鐵劑，如硫酸亞鐵、氮三乙酸鐵(ferric nitrilotriacetate) 與果糖鐵(ferric fructose)等餵飼小鼠與小雞，結果顯示對其體內鐵之存留率並沒有影響(Carmichael *et al.*, 1975)。另有研究將幾種放射線標定後之鐵劑，如氯化亞鐵(ferrous chloride)、硫酸亞鐵、氮三乙酸鐵、伸乙二胺四乙酸鐵(ferric EDTA)、檸檬酸鐵(ferric citrate)與乳糖醛酸鐵(ferric lactobionate)等分別添加於牛乳中餵飼離乳小鼠，再測定其體內鐵的存留率，結果顯

表 2 一些應用於乳製品鐵強化之鐵化合物分類

Table 2 Some iron compounds were used in iron fortification of dairy products

First category		Second category	Third category
Ferrous salts	Ferric salts	Elemental iron	Iron-binding proteins
Sulfate	Sulfate	Carbonyl iron	Lactoferrin
Chloride	Chloride	Electrolytic iron	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		
	Glycinate		
	Fructose		
	Citrate phosphate		
	Gluconate		
	Polyphosphate		

(Lee and Clydesdale, 1979)

示以氮三乙酸鐵及乳糖醛酸鐵存留率較高，氯化亞鐵與硫酸亞鐵次之，而伸乙二胺四乙酸鐵與檸檬酸鐵則相對偏低(Kwock *et al.*, 1984)。

## (二)藉由氫氣或一氧化碳還原作用下，經電解作用或羰基化過程而獲得者

為第二大類(second category)，如氧化亞鐵(ferrous oxide; FeO)，這些化合物一般是以不同粒子大小之粉狀型態存在，且難溶或不溶於水，在化學性質上不活潑，其共同的缺點是僅能使用在乾燥之固體食物，因為它們不能溶於中性液體中。

## (三)鐵劑與蛋白質或磷酸肽所形成的複合物

此等鐵劑之主要鍵結處為胺基酸，例如磷酸絲胺酸，天門冬胺酸與穀胺酸。鐵劑與這些化合物鍵結不會與牛乳內的成分起化學作用(Jones *et al.*, 1975 ; Schulz-Iell *et al.*, 1991 ; Chierici *et al.*, 1992 ; Meisel and Schlimme, 1993)。

曾有實驗將此類之不同鐵劑，如硫酸亞鐵、硫酸亞鐵銨(ferrous ammonium sulfate)、氯化鐵(ferric chloride) 與檸檬酸鐵銨(ferric ammonium citrate)添加於脫脂牛乳中，則鐵的分布範圍在酪蛋白約 66.8%~71.2% 在乳清蛋白則約為 14.4%~29.6%(Basch *et al.*, 1973)。由此可知鐵與酪蛋白間似乎有相當密切的關係，推測其原因，可能係鐵透過離子間的作用力與酪蛋白經酵素水解後之磷酸絲胺酸殘基(phosphoserine residues)形成穩固鍵結(Hegenauer *et al.*, 1979; Bouhallab *et al.*, 1991 ; Emery, 1992)，且可在十二指腸之鹼性 pH 值環境下保

持它的溶解性(Manson and Annan, 1971 ; Bouhallab *et al.*, 1991), 由於此強而穩定之鍵結自然阻止游離鐵在消化分解過程中被釋放, 故而亦造成其被吸收減少的現象(West, 1986 ; Hurrell, 1997)。另外, 像酪蛋白屬於磷蛋白這一類的蛋白質除具有螯合轉變鐵這一類金屬元素之能力外, 並會促進二價鐵氧化成三價鐵(Hurrell, 1985 ; Emery, 1992)。經酵素水解後的酪蛋白磷酸肽(casein phosphopeptides)甚至可在 pH 值 2.5 之環境下與三價鐵離子形成穩定的複合物(Gaucheron *et al.*, 1997)。亦有實驗針對離乳大鼠, 先以含鐵量低的食物誘發其貧血產生, 之後再補充含三氯化鐵+酪蛋白水解物( $\text{Fe}^{3+}$ -peptide complex)的飼糧, 然後再分析其紅血球飽和度, 結果顯示與補充含硫酸亞鐵的食物同樣具有效果(Chaud *et al.*, 2002)。另有研究結果顯示, 將酪蛋白磷酸肽添加在以穀類為基礎之膳食中對於提升鐵吸收率的效果則不明顯(Hansen *et al.*, 1997)。

在酪蛋白中之 $\beta$ 酪蛋白, 經胰蛋白酶水解後所產生的一段 N 端由胺基酸殘基所組成之肽片段, 為體內消化過程中主要的酪蛋白磷酸肽之一 (Sato *et al.*, 1991)。經研究結果顯示, 當鐵鍵結於此段肽時可促進大鼠對鐵的生物可利用性(Aït-Oukhatar *et al.*, 1997)。亦有類似研究指出, 若氯化亞鐵鍵結於 $\beta$ 酪蛋白肽 1-25 之複合物處於飽和狀態下, 對於有鐵缺乏情況的大鼠紅血球與鐵組織濃度之提升會較硫酸亞鐵佳且達差異顯著(Aït-Oukhatar *et al.*, 1999)。另外, 透過大鼠十二指腸試驗中之結果顯示, 將氯化亞鐵鍵結於 $\beta$ 酪蛋白肽 1-25 之複合物其生物可利用性較葡萄糖酸亞鐵(ferrous gluconate)佳(Bouhallab *et al.*, 2002)。

探討乳清蛋白與鐵結合後之利用率，則是以氯化鐵+多磷酸鈉鹽形成複合液體，再與乳清蛋白混合成多磷酸乳清蛋白鐵粉(ferripolyphosphate-whey protein powders)，緊接著餵飼有鐵缺乏情形的大鼠與小雞，分析其紅血球恢復之程度，結果顯示若以硫酸亞鐵所恢復的效果為 100% 來觀察，則多磷酸乳清蛋白鐵粉可達其效率之 92%；另外，若再添加於滅菌全脂牛乳使其成為鐵強化濃縮物並餵飼之，則生物可吸收率可介於 84~107% 之間 (Jones *et al.*, 1975)。而將多磷酸乳清蛋白鐵粉添加於巧克力牛乳中作為鐵強化劑，並以紅血球飽和度分析評估有貧血狀態之大鼠其鐵的可利用性，結果顯示其效果與添加硫酸亞鐵一樣好(Douglas *et al.*, 1981)。之後亦有研究發現乳清蛋白中的  $\alpha$ -乳白蛋白及  $\beta$ -乳球蛋白與鐵之間會產生交互作用，平均分別會鍵結 6 個及 3.5 個二價鐵離子(Baomy and Brulé, 1998)。

Hurrell (2002)另以機能性(functionality)作為鐵強化食品之比較重點時，又可將所選擇的鐵劑區分為三個類別(表 3)。

### (一)可溶於水之鐵化合物

這些化合物在常見之鐵化合物中有最高的相對生物可利用率( 100)，但其缺點是會自由地與食物間產生交互作用，因此會產生官能特性上的變化，然而雖然具有產生不良顏色與風味產生之疑慮，且不同鐵化合物間常在生物可利用率、風味與官能問題上有些許差異，但因為它們容易添加於鐵強化液態產品中，因此當這一類化合物在官能上可被接



表 3 常見鐵強化劑之特性

Table 3 Characteristics of conventional iron fortification compounds

Iron compounds	Approximate Fe (%)	Average relative bioavailability	
		Rat	Man
<b>Freely water soluble</b>			
Ferrous sulfate 7H <sub>2</sub> O	20	100	100
Dried ferrous sulfate	33	100	100
Ferrous gluconate	12	97	89
Ferrous lactate	19	-	106
Ferric ammonium citrate	18	107	-
Ferrous ammonium sulfate	14	99	-
Ferric choline citrate	14	102	-
<b>Poorly water soluble/soluble in dilute acid</b>			
Ferrous fumarate	33	95	100
Ferrous succinate	35	119	92
Ferric saccharate	10	92	74
Ferric glycerophosphate	15	93	-
Ferrous citrate	24	76	74
Ferrous tartrate	22	77	62
<b>Water insoluble/poorly soluble in dilute acid</b>			
<b>Iron phosphate</b>			
Ferric pyrophosphate	25	45-58	21-74
Ferric orthophosphate	28	6-46	25-32
<b>Elemental iron powders</b>			
Electrolytic	97	16-70	75
Carbonyl	99	35-66	5-20
H-reduced	97	13-54	13-148
CO-reduced	97	12-32	Not determined

(Hurrell, 2002)

受時，則它們應該會是鐵強化食品上第一被考慮選擇者。實際上，硫酸亞鐵可能是這一類化合物中最適宜被加入於食品內之鐵化合物，儘管它容易造成官能上的變化，但卻只需加入少量即可達到滿意的效果，且價格相當低廉 (Hurrell, 2002)。

## (二)難溶於水但可溶於稀釋酸中之鐵化合物

當第一類可溶於水之鐵化合物添加於食品中產生不被接受的官能變化時，下一步開始評估難溶於水但可溶於稀釋酸中之鐵化合物其可行性。這一類化合物比起可溶於水之鐵化合物在感官上的變化較小，但有相似或較低的相對生物可利用性，需視溶解於胃液內之消化狀況(Hurrell, 2002)。反丁烯二酸亞鐵(ferrous fumarate)與琥珀酸亞鐵(ferrous succinate)是在這一類鐵化合物中優先被考慮使用者，因為它們在成人體內的吸收效率上幾乎與硫酸亞鐵一樣好，另外亦有蔗糖酸鐵(ferric saccharate)也具利用性且可供選擇使用。上述這三種難溶於水但可溶於稀釋酸中之鐵化合物相較於可溶於水的鐵化合物，極少產生官能上的問題。另外，如檸檬酸亞鐵，酒石酸亞鐵(ferrous tartrate)與甘油磷酸鐵等在生物可利用上則屬次佳，亦可被考慮應用於鐵強化中，但目前還是以反丁烯二酸亞鐵與蔗糖酸鐵較廣泛的被使用。

## (三)既難溶於水也難溶於稀釋酸中之鐵化合物

這一類的化合物在鐵強化中具有最低之吸收率，而這也是其主要的缺點，因此是這三類中最後被選擇者。它們主要的特性為溶解度非常低，因而在胃液的消化過程中溶解的相

當緩慢且不完全。在這一類中之某些化合物可以作為強化鐵劑，然而卻無法保證其吸收率足以達到我們的要求，惟它們主要的優點是不易導致產品感官上之問題。而這一類之鐵化合物中可再細分為磷酸鐵類(iron phosphate)與元素鐵粉(elemental iron powders)兩種型態。在磷酸鐵類中包含有焦磷酸鐵與正磷酸鐵(ferric orthophosphate)，它們在使用上重要的考慮因素是食品加工生產過程中可能使得其生物可利用率發生變化。例如，當焦磷酸鐵被添加於巧克力乳粉中，在人體之相對生物可利用率從未加工前的 75% 降低至經 100 真空乾燥處理後的 21%(Douglas *et al.*, 1981)；另一方面，若將焦磷酸鐵與正磷酸鐵同時添加於以牛乳為主之嬰兒配方中，則大鼠的相對生物可利用率在滅菌過程後，從 78% 增加至 125%(Theuer *et al.*, 1973)。

而若選擇元素鐵粉應用於鐵強化中則是非常困難的(Patrick, 1985)，並且有大部分是被添加在穀類食品中，主要的原因還是在於是否能證實具有足夠的吸收率，因此在使用上需經過相當謹慎的考慮(Hallberg *et al.*, 1986)。

在這一類的鐵化合物中有實驗以硫酸亞鐵、磷酸鐵與電解鐵添加於大鼠的飼糧中，測定幾項血液學指標，包含最終紅血球含量、血球比容、紅血球再結合率與相對生物可利用率等，結果顯示上述幾項分析在這三種鐵劑組間皆達差異顯著，其中以硫酸亞鐵效果最佳，磷酸鐵次之，電解鐵則最差(Forbes *et al.*, 1989)。

另以青少年為對象，添加不同經放射線標定過之鐵劑，如反丁烯二酸亞鐵、硫酸亞鐵與焦磷酸鐵等添加於巧克力牛乳飲品中，結果顯示其鐵的吸收率分別是 3.31%、2.82% 與

2.11%(Hurrell *et al.*, 1991)。

雖然上述所呈現的實驗結果並不一致，且不同鐵化合物亦有生物可利用率上之差異，但鐵強化牛乳確實曾使美國在1969~1986年間顯著減少孩童(9-83月齡)貧血之發生率(Yip *et al.*, 1987)。

## 五、不同鐵強化劑對乳製品之影響

### (一) 氧化(oxidization)與酸敗(rancid)

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；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)。而在均質處理過程中，若因為操作不慎，即可造成牛

乳發生酸敗。在高溫短時間殺菌法(HTST)或超高溫殺菌法(UHT)之殺菌處理過程中，解脂酶並不如想像般地可被完全不活性化(林，1993；張，1995)。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。

## (二)風味

硫代巴比妥酸(TBA)顯色法被廣泛應用於生乳中，硫代巴比妥酸反應產物與官能品評有確實的關聯性。若以氯化鐵、硫酸亞鐵、硫酸鐵銨(ferric ammonium sulfate)與硫酸亞鐵銨作為強化鐵劑，會產生氧化的不良風味與高數值之硫代巴比妥酸(Demott, 1971 ; Edmonson *et al.*, 1971 ; Edmonson *et al.*, 1971 ; Kurtz *et al.*, 1973 ; Wang and King, 1973 ; Hegenauer *et al.*, 1979 ; Douglas *et al.*, 1981 ;)。二價鐵鹽類產生氧化的程度最高，三價鐵螯合劑則最低。

亦有實驗將不同鐵劑如檸檬酸鐵銨、硫酸亞鐵、葡萄糖酸亞鐵與乳酸亞鐵等添加於生乳中，經低溫長時間殺菌法(LTLT)後冷卻至 4°C 儲存，把未添加鐵劑之全脂鮮乳做為對照組，分別以生產後第 1 天與第 3~5 天的風味做評分，結果顯示以檸檬酸鐵銨較佳，硫酸亞鐵、葡萄糖酸亞鐵與乳酸亞鐵較差。緊接著以上述四種鐵劑再加上焦磷酸鐵與磷酸鐵兩種鐵劑，並換成添加於脫脂生乳中，經過上述相同之處理步驟，還是分別以第 1 與 3~5 天之風味做評分，結果顯示以焦磷酸鐵與磷酸鐵的較佳，檸檬酸鐵銨次之，硫酸亞鐵、葡萄糖酸亞鐵與乳酸亞鐵則較差(Demott, 1971)。亦有文獻針對添加不同鐵劑於生乳中，經鮮乳加工過程後，儲存於 5 °C 避光

環境下，分別在第 2 天及第 7 天與未添加鐵劑之生乳做風味品評比較，結果顯示以檸檬酸鐵銨最佳，硫酸亞鐵最差(Wang and King, 1973)。之後亦有研究將一般認為二價鐵較三價鐵易產生不良氧化風味之觀念做了以下的實驗，選取二價鐵劑中之氯化亞鐵與葡萄糖酸亞鐵及三價鐵劑中之氯化鐵與檸檬酸鐵銨添加於還原脫脂乳中，儲存在 4 環境下約 20 小時，再做氧化風味之評定，結果顯示二價鐵在氧化風味上確實較三價鐵要來的重，其中以氯化亞鐵最嚴重，而氯化鐵則最輕微(Kurtz *et al.*, 1973)。若改以多磷酸蛋白質鐵粉(ferripolyphosphate-protein powder)、多磷酸鐵(ferripolyphosphate)與檸檬酸鐵銨三種鐵劑添加於生乳中，在加工完成後成為全脂鮮乳並儲存在 4 環境下，產品完成後的第 1、7 及 14 天以未添加鐵劑之全脂鮮乳為對照組進行風味的評分，結果顯示未添加鐵劑之全脂鮮乳及多磷酸蛋白質鐵粉在這三種儲存時間下，風味評分雖有些微變化，但始終維持在可被接受的風味品質範圍，而在多磷酸鐵與檸檬酸鐵銨則是除了在第 1 天有達到可接受之風味品質外，其餘在第 7 天及第 14 天都未達到，且風味評分也呈現緩步下滑之狀態(Jones *et al.*, 1975)。最後再將多磷酸鐵、多磷酸乳清蛋白鐵(ferripolyphosphate-whey protein complex)、檸檬酸鐵銨、乳酸亞鐵、硫酸亞鐵與反丁烯二酸亞鐵添加於巧克力牛乳中，進行風味評分，結果顯示多磷酸乳清蛋白鐵、多磷酸鐵與檸檬酸鐵銨最佳，乳酸亞鐵及硫酸亞鐵次之，反丁烯二酸亞鐵則是隨著儲存時間的增加其風味變化程度最高，因此是最差者(Douglas *et al.*, 1981)。

### (三)色澤

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。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)。

長期以來硫酸亞鐵的添加被認為會對產品產生不佳之色澤變化，而針對其他鐵劑也較少有進一步的討論，因此有研究分別將含有反丁烯二酸亞鐵與焦磷酸鐵之鐵強化巧克力粉，經復水(< 80 )還原後與牛乳或水做混合進行味道與色澤之品評，結果顯示焦磷酸鐵在味道與色澤之品評上皆是可被接受的；而反丁烯二酸亞鐵在味道上雖可被接受，但色澤卻從紅棕色變化成不被接受的灰色(Hurrell *et al.*, 1991)。

#### (四)儲存時間

報告指出透過加工生產過程中之熱度與壓力，會使得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)。因此亦有實驗將硫酸亞鐵、正磷酸鐵、羰基鐵與電解鐵等鐵劑添加於以牛乳為基礎的液態飼糧中，並以製作罐頭之方式製成罐裝飼糧，分別保存至 6 個月及 12 個月，再餵飼具有鐵缺乏狀態之大鼠，測定其體內紅血球濃度做為不同鐵劑間生物可利用率之比較，結果顯示若將添加硫酸亞鐵這組之紅血球濃度其生物可利用率(relative biological value)設為 100，則於保存 6 個月之罐裝飼糧中，正磷酸鐵、羰基鐵與電解鐵等鐵劑之生物可利用率分別為 31、119 與 90；而在經過保存 12 個月的罐裝飼糧中其生物可利用率則分別是 19、69 與 107，在這兩種儲存時間下正磷酸鐵與電解鐵的生物可利用率都顯著較硫酸亞鐵還高，但在各儲存時間之組間則未達差異顯著(Clemens, 1981)。

故本研究旨在利用不同種類之鐵劑添加於乳粉中進行體外消化試驗與色澤、風味及沉澱現象之評估，並篩選出鐵質生物利用性與官能性較佳之鐵劑，以供製鐵強化乳粉。



## IV、材料與方法

### 一、試驗材料

- (一)去離子水：以去離子水為整個實驗中水之來源，器皿使用前均需以去離子水浸泡及沖洗。
- (二)二價鐵劑：羧基鐵(Fe；Sigma C-3518)、氯化亞鐵( $\text{FeCl}_2$ ；Aldrich 220299)、硫酸亞鐵( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ；Sigma F7002)與反丁烯二酸亞鐵( $\text{C}_4\text{H}_2\text{FeO}_4$ ；Sigma F-7923)。
- (三)三價鐵劑：氯化鐵( $\text{FeCl}_3$ ；片山試藥株式會社)與焦磷酸鐵( $\text{Fe}_4(\text{P}_2\text{O}_7)_3$ ；Sigma P-6526)。
- (四)人類用日常補充鐵劑：Iron asporotate(Nutraceutical Corp. Solary for Solary Inc. Park City UT 84060, USA)與 Amino acid chelated iron (Henry's market Place El Cajon, CA 92020, USA)。
- (五)胃蛋白酶(pepsin)：4 g 胃蛋白酶(Merck, EC 3.4.23.1)溶於 50 mL 之 0.01N HCl 後再以 0.1N HCl 定容至 100 mL。
- (六)胰泌素/膽鹽混合物(porcine pancreatin-bile mixture)：0.5 g 胰泌素(Sigma P-1750)和 3.0 g 的膽鹽(Sigma B-8756)溶於 125 mL 之 0.01 N 碳酸氫鈉(sodium hydrocarbonate)中，再以 0.1 N 碳酸氫鈉定容至 250 mL。
- (七)0.15N PIPES buffer：PIPES (piperazine-*N,N'*-bis-2-ethane-sulfonic acid)粉末(sigma P-3768； $\text{C}_8\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}_2\text{Na}_2$ , FW=346.33)溶於去離子水中至 0.15 N，並以 1 N HCl 調整 pH 至 6.3。

- (八)0.3N HEPES buffer：HEPES(*N*-2-hydroxyethyl-piperazine-*N*'-2-ethane-sulfonic acid)粉末(Sigma H7006, FW=206.3)溶於去離子水中至 0.3 N,再以 1 N HCl 調整 pH 至 9.9。
- (九)蛋白質沉澱及鐵還原溶液(reducing protein precipitant solution)：100 g 三氯醋酸(trichloroacetic acid；TCA，FW=163.39；購自片山試藥株式會社)與 50 g 的羥胺鹽酸鹽(hydroxylamine mono- hydrochloride，FW=69.49；購自石津試藥株式會社)溶於少量去離子水中，再加入 100 mL 的 1 N HCl，最後以去離子水定容至 1 L。
- (十)蛋白質沉澱溶液(protein precipitant solution)：與蛋白沉澱還原溶液相同，但不加入羥胺鹽酸鹽。
- (十一)亞鐵呈色劑：取 0.25 g 鄰-啡啉(1,10-phenanthroline，FW=198.22；購自林純藥工業株式會社)以 0.1 N HCl 稀釋至 100 mL，於暗冷處保存。
- (十二)透析膜(dialysis tubing)：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)。
- (十三)樣品：安佳脫脂乳粉與克寧全脂乳粉。

## 二、儀器設備

- (一)恆溫振盪水浴槽：DENG YENG water bath，DKW-40 台灣。
- (二)分光光度儀：Jasco V-530 spectrophotometer，日本。
- (三)離心機：KUBOTA 離心機，KN-70，日本。

### 三、 試驗方法

(一)透析膜前處理：依 MFPI 公司所述之方法進行透析膜前處理。

- 1.取通透分子量 6,000-8,000 之透析膜，剪下所需的膜管長約 12 cm，自一端取約 3 cm 倒摺，然後以棉線自倒摺之 2cm 處紮緊成 12cm 透析袋，以去離子水浸泡 15 min。
- 2.置入 10 mM 碳酸氫鈉溶液中，於 80°C 下攪拌加熱 30 min。
- 3.將膜冷卻並移至 10 mM 乙二胺四乙  
(ethylenediaminetetraacetic acid ; EDTA ;  $C_{10}H_{14}O_8N_2Na_2 \cdot 2H_2O = 372.24$ ，藥理化學株式會社)溶液中浸泡 30 min。
- 4.再於 80°C 的去離子水攪拌加熱 30 min。
- 5.冷卻後封於 50% 的酒精中於 4°C 冷藏。
- 6.使用前須以去離子水沖洗。

(二)試驗樣品之調製：各樣品依趙等(2005)之方法修飾如下。

- 1.此實驗將對照組區分為兩組，對照組 1 為僅有上述材料(二)、(三)及(四)等 8 種鐵劑但不添加樣品作為各鐵劑原始含量之測定值，對照組 2 為僅有上述材料(十三)之 2 種樣品但不添加鐵劑者作為各樣品含有原始鐵含量之測定值，後續所有處理組之測定值均為扣除各樣品原始鐵含量之測定值後計算。
- 2.預先將各鐵劑(8 種)於脫脂還原乳中進行篩選之前處理：  
(1)首先推估市售脫脂鮮乳總固形物為 8.55%，而一般脫脂乳粉總固形物約為 95%，去離子水總固形物則為 0，再利用皮爾森方程式(Pearson square)計算之便可取得配製總固形物為 8.55% 還原乳需添加多少乳粉及去離

子水。

(2)取 18g 脫脂乳粉後加入 125mL 去離子水並充分攪拌均勻，放入 4°C 冰箱冷藏備用，接著取含 0.027g 鐵離子之各種鐵劑，加入少許去離子水後，加入少量濃鹽酸，待混合一段時間後，加入 40mL 去離子水並充分攪拌使其達完全溶解，將先前配製完成之還原乳加入，並充分攪拌均勻後，以 1 N HCl 將 pH 值調整至 1.6，最後以去離子水(pH 1.6)定容至 182mL。

(3)從上述定容完成之鐵強化乳中取 18.2 mL 放入試管中，每管添加 1 mL 胃蛋白酶。

(4)將各試驗組置入試管，於 37°C 水浴下振盪 2 小時。

(5)在各試管中置入含 18.2 mL PIPES buffer 的透析袋，同溫水浴振盪 30 min。

(6)續添加 5 mL 胰泌素/膽鹽混合物，在 37°C 下水浴震盪 2 小時。

(7)將透析袋取出，以去離子水沖洗表面，進入透析袋內之鐵質即被認定係已可被透析者，而滯留於透析袋外即被認定為不可被透析者，然後再依(三)之方法分別測定各類型之鐵。

3.經挑選之鐵劑(二價鐵劑 2 種與三價鐵劑 1 種)於全脂還原乳中之前處理：

(1)首先推估市售全脂鮮乳總固形物為 11.65%，而一般全脂乳粉總固形物約為 95%，去離子水總固形物則為 0，再利用皮爾森方程式計算之便可取得配製總固形物為 11.65%還原乳需添加多少乳粉及去離子水。

(2)除了改成取 25.45g 全脂乳粉以外，其餘皆依方法

(二)1 與 2 中(2)~(7)作相同處理。

4.經挑選之鐵劑與脫脂乳粉混合以 45°C 復水後之測試：

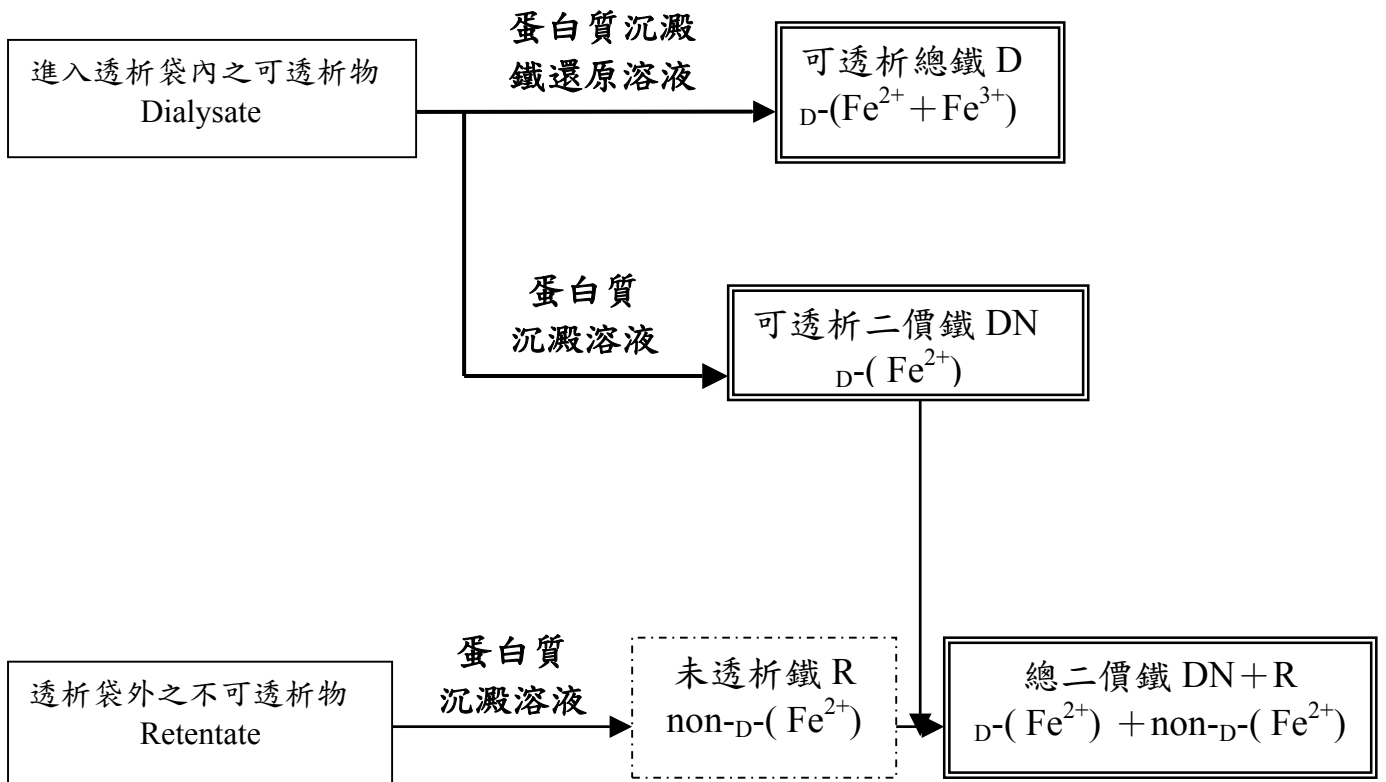
依市售鐵強化乳粉之強化量 12mg / 100g 添加於脫脂及全脂乳粉中，經室溫儲存一週後，以 45°C 去離子水復水並攪拌均勻，並以相同方法製備一組無添加鐵劑之樣品為對照組，靜置 30 分鐘後觀察其色澤、風味以及經 10 分鐘 3000rpm 離心後有無鐵劑沉澱發生。

(三)鐵劑之分析：

入透析袋之可透析物與透析袋外之不可透析物中之鐵濃度依趙等(2005)之方法經修飾後敘述其步驟如下。

- 1.將透析袋內之總鐵( $\text{Fe}^{2+} + \text{Fe}^{3+}$ )取 2.0 mL 可透析物，加入 1.0 mL 蛋白質沉澱及鐵還原溶液，將  $\text{Fe}^{3+}$  還原為  $\text{Fe}^{2+}$  後與原有之  $\text{Fe}^{2+}$  同時被偵測(可透析總鐵( $\text{D}(\text{Fe}^{2+} + \text{Fe}^{3+})$ ；D)。
- 2.每一可透析物僅加 1.0mL 蛋白質沉澱溶液即為透析袋內之  $\text{Fe}^{2+}$ (可透析二價鐵( $\text{D}(\text{Fe}^{2+})$ ；DN)。
- 3.將透析袋外之不可透析物取 2.0 mL，加入 1.0mL 蛋白質沉澱溶液，其被測得之鐵即為不可透析之  $\text{Fe}^{2+}$ (未透析( $\text{non-D}(\text{Fe}^{2+})$ ；R)；另並以總二價鐵( $\text{D}(\text{Fe}^{2+}) + \text{non-D}(\text{Fe}^{2+})$ ；DN+R)表示各試樣留存之總二價鐵含量。
- 4.將上述 1~3 分別於室溫下放置隔夜。
- 5.以 3000rpm 離心 15 min。
- 6.取 1 mL 上清液，加入 2.0 mL HEPES buffer 與 0.25 mL 呈色劑。
- 7.以分光光度儀(Jasco V-530 spectrophotometer，日本)經

200~700nm 掃描各樣品之吸光值(Absorbance ; Abs)後  
 確定已呈現最大吸光值之 510nm 為後續之檢測，分別計  
 算四類鐵離子(D、DN、R、DN+R)，四者間之處理過程  
 如下列之流程。



#### 8. 經挑選出鐵劑之二價鐵標準檢量線之製作：

- (1) 分別調製經過篩選出來之二價鐵劑 2 種與三價鐵劑 1 種之 5、10、15、20、25、30、35 ppm 鐵溶液依試驗方法(三)中 1.~7.之鐵分析流程處理，並以去離子水代替樣品作為空白試驗組。

(2)利用分光光度儀於510 nm之波長下測定該7種濃度樣品之吸光值。最後將所得之吸光數值作為標準檢量線，試驗樣品之吸光數值則以此標準檢量線對照即可換算得其鐵離子濃度。

(四)各鐵劑於脫脂還原乳中及經挑選後之鐵劑於全脂乳中進行篩選之計算方式：

- 1.將硫酸亞鐵中對照組1之吸光值作為分母定為100%，而包含硫酸亞鐵本身之處理組及各鐵劑之對照組1與處理組所測定出來之吸光值作為分子，兩者相除後，換算成百分比(%)之型態，比較出各鐵劑間生物可利用率之高低。
- 2.若以添加二價鐵劑所測得之吸光值高低則代表樣品對鐵之透析與氧化能力；而若以添加三價鐵劑所測得之吸光值高低則是代表樣品對鐵之透析與還原能力。

#### 四、統計分析

每一種樣品重複6次，每次分析再採3重覆，並以Statistical analysis system (SAS, 1999)統計套裝軟體分析。本次試驗設計為完全逢機試驗(Completely randomized design; CRD)。以鄧肯氏新多變域分析法(Duncan's new multiple range test)比較各對照組與處理組平均値之差異性。

## V、結果與討論

以 200-700nm 光譜掃描八種鐵劑時，各樣品還原為二價鐵後之最大吸光波長均落於 510 nm，故將波長 510 nm 作為後續分析之固定波長。由 Beer's Law 可得知待測溶液中的某一物質在相同波長下之吸光值與其濃度成正比，因此將八種鐵劑於脫脂還原乳及篩選後之鐵劑於全脂還原乳中皆利用吸光值之高低且依 %DN、%D、%R 與 %DN+R 等作為樣品對鐵之透析與利用效率之指標(趙等，2005)，其計算方式為將硫酸亞鐵中對照組之吸光值作為分母，而包含硫酸亞鐵本身之處理組及各鐵劑之對照組與處理組之吸光值作為分子，兩者相除後，換算成百分比(%)之型態，比較出各鐵劑間生物可利用率之高低。另外，在上述之對照組係代表未添加樣品之鐵劑。

### 一、添加不同鐵劑於脫脂還原乳中之預先篩選試驗

分別從各鐵劑中取含有 0.027g 鐵離子之鐵劑添加於總固形物為 8.55%之脫脂還原乳後，再經體外消化流程處理後，比較各鐵劑在相同鐵離子含量下對於樣品能表現多少鐵之能力。

各鐵劑與脫脂還原乳混合經體外消化作用後，其可透析二價鐵所佔之比例(%DN)代表各鐵劑在試管內消化後可被透析而且是以二價鐵形式(還原態)存在，數值越高顯示該鐵劑不但利用性佳且透析能力好，可作為鐵質生物可利用率參考之第一指標(圖 1)。當以含硫酸亞鐵對照組之 DN 值為 100 %時，各鐵劑未添加樣品之對照組中，除二價之 Iron



asporotate (IA)與三價之氯化鐵(CH<sub>3</sub>)及焦磷酸鐵(FP)以外，多數鐵劑之對照組顯著高於有添加樣品之處理組。顯示當有乳粉存在時，對於大部分鐵劑之利用效率仍有不利之影響，但對於氯化鐵(CH<sub>3</sub>)而言脫脂還原乳則提供較佳之還原環境。另外，在各鐵劑處理組之可透析二價鐵比例(%DN)，於二價鐵劑中以 Amino acid chelated iron(AA)有最高數值，硫酸亞鐵(FS)次之，反丁烯二酸亞鐵(FF)再次之，而 Iron asporotate(IA)則最差；而三價鐵劑中則以氯化鐵較佳，而焦磷酸鐵(FP)較差。

圖 2 為各鐵劑添加於脫脂還原乳經體外消化後之可透析總鐵所佔之比例(D%)，可透析總鐵包含了可透析之二價與三價鐵，數值越高顯示其總透析能力越佳；為鐵質生物可利用率參考之第二指標。同樣可以發現相較於對照組，多數鐵劑之對照組顯著高於有添加樣品的處理組，強化上述圖 1 之結果，顯示乳成分似乎影響多數鐵劑之利用效率。而在各鐵劑處理組之可透析總鐵所佔之比例(D%)，以二價鐵劑之 Amino acid chelated iron(AA)與硫酸亞鐵(FS)較佳，氯化亞鐵(CH<sub>2</sub>)、反丁烯二酸亞鐵(FF)及羧基鐵(CI)次之，而 Iron asporotate(IA)則最差；三價鐵劑則以氯化鐵(CH<sub>3</sub>)較佳，焦磷酸鐵(FP)較差。比較圖 2 之可透析總鐵所佔之比例與圖 1 可透析二價鐵所佔之比例結果後顯示，Amino acid chelated iron(AA)在可透析二價鐵比例佔可透析總鐵之比例為 46.5% 高於硫酸亞鐵(FS)的 40.9%，表示 Amino acid chelated iron(AA)在牛乳中氧化率較低，同樣的也可發現雖然氯化亞鐵(CH<sub>2</sub>)、反丁烯二酸亞鐵(FF)及羧基鐵(CI)在可透析總鐵之比例上無顯著差異，但反丁烯二酸亞鐵(FF)在可透析二價

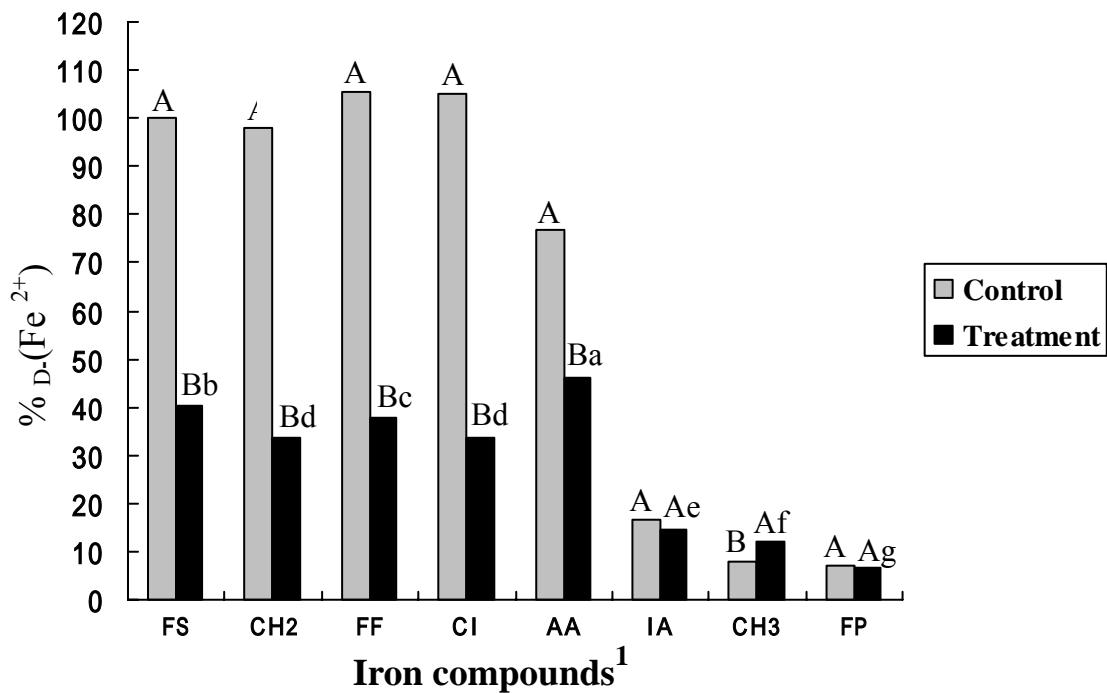


圖 1 不同鐵劑於脫脂還原乳中經體外消化試驗之可透析二價鐵(%DN)的比較。

Fig. 1 The percentage of dialysable ferrous iron(%DN; %  $D.(Fe^{2+})$ ) in different iron compounds added reconstituted skim milk during *in vitro* digestion.

<sup>1</sup> FS, CH2, FF, CI, AA, IA, CH3 and FP were the ferrous Sulfate, ferrous fumarate, ferrous chloride, carbonyl iron, amino acid chelated iron, iron asporotate, ferric chloride and ferric pyrophosphate, respectively.

A and B mean between control and treatment of each iron compound by different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ), respectively.

a-g mean of treatments with the different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

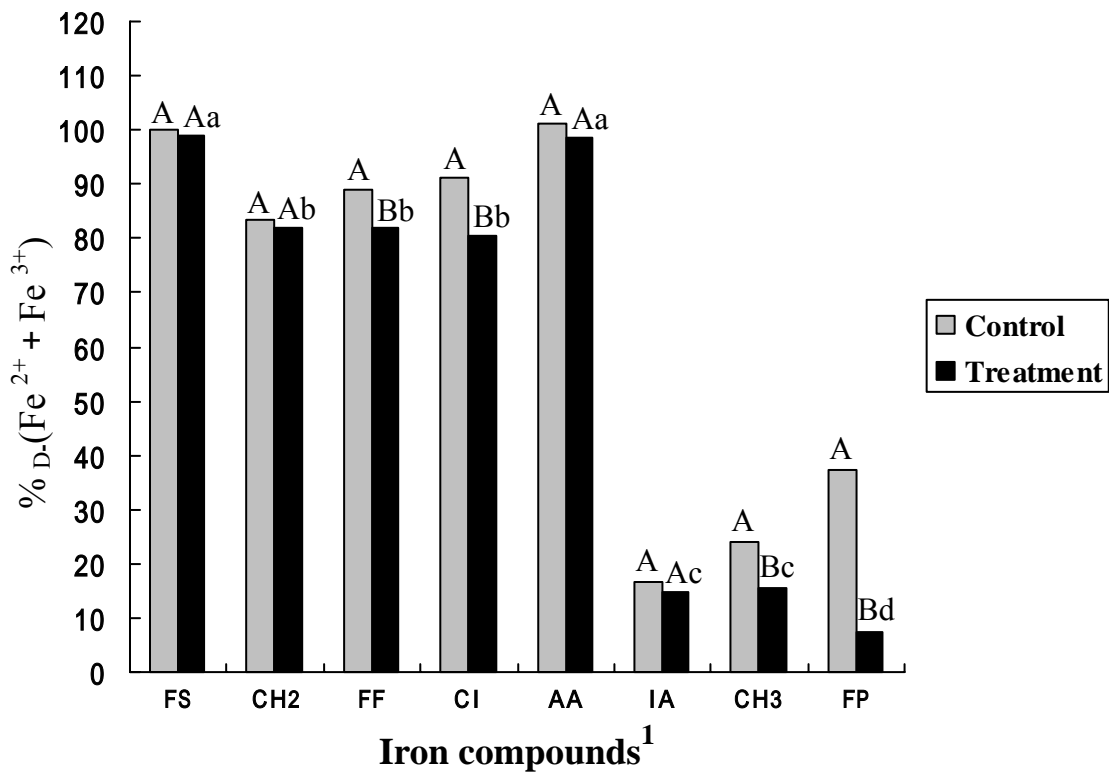


圖 2 不同鐵劑於脫脂還原乳中經體外消化試驗之可透析總鐵 (%D)的比較。

Fig. 2 The percentage of dialysable total iron(%D; %<sub>D</sub>.(Fe<sup>2+</sup> + Fe<sup>3+</sup>)) in different iron compounds added reconstituted skim milk during *in vitro* digestion.

<sup>1</sup> All iron compounds were the same as Figure 1.

A and B mean between control and treatment of each iron compound by different letters are significantly different (p<0.05), respectively.

a-d mean of treatments with the different letters are significantly different (p<0.05).

鐵比例佔可透析總鐵之比例 46% 則比另外兩種鐵劑來的高。綜合圖 1 及 2 得知二價鐵劑中 Amino acid chelated iron、硫酸亞鐵與反丁烯二酸亞鐵為較佳的三種鐵劑，而三價鐵劑中則以氯化鐵(CH<sub>3</sub>)表現較佳。

圖 3 為各鐵劑與脫脂還原乳混合經體外消化作用後之未透析二價鐵所佔之比例(%R)，表示雖不具良好之透析能力，但還是能以利用性較佳之還原態二價鐵形式存在，故仍可視為鐵質生物可利用率參考之第三指標。圖中顯示相較於對照組，三價之氯化鐵(CH<sub>3</sub>)與焦磷酸鐵(FP)除外，其餘鐵劑之對照組皆顯著高於有添加樣品之處理組，另外在各鐵劑處理組之二價鐵劑中仍是以 Amino acid chelated iron(AA)為最高，硫酸亞鐵(FS)、氯化亞鐵(CH<sub>2</sub>)、羰基鐵(CI)與 Iron asporotate(IA)次之，而反丁烯二酸亞鐵(FF)則較差，而在三價鐵劑中則以氯化鐵(CH<sub>3</sub>)較佳，焦磷酸鐵(FP)則較差。雖然在圖 1 及圖 3 中皆顯示三價鐵劑中之氯化鐵(CH<sub>3</sub>)其處理組都要顯著的高於對照組，惟在圖 2 可透析總鐵所佔之比例(D%)中，氯化鐵(CH<sub>3</sub>)之對照組則是要顯著的高於處理組。

圖 4 為各鐵劑添加於脫脂還原乳經體外消化後之總二價鐵所佔之比例(%DN+R)，可顯示出各種鐵劑究竟能以多少二價鐵型態存在之，數值越高顯示存在之總二價鐵含量越多。圖中顯示相較於對照組，三價之氯化鐵(CH<sub>3</sub>)與焦磷酸鐵(FP)除外，其餘鐵劑之對照組皆顯著高於有添加樣品之處理組，另外在處理組部份在二價鐵劑中仍以 Amino acid chelated iron(AA)有最高數值，硫酸亞鐵(FS)次之，反丁烯二酸亞鐵(FF)、氯化亞鐵(CH<sub>2</sub>)與羰基鐵(CI)再次之，而 Iron asporotate(IA)則最差；而三價鐵劑中則以氯化鐵(CH<sub>3</sub>)較

佳，而焦磷酸鐵(FP)較差。

由上述圖 1、2、3 與 4 等四種鐵質利用率之分析結果中，可明顯發現三價鐵劑中之焦磷酸鐵在四個分析項目中之數值皆最差且達差異顯著，此結果可能與焦磷酸鐵屬於既不溶於水也不溶於酸這一類型之鐵劑(表 3)有關，不佳的溶解度或許造成焦磷酸鐵之鐵質利用率低落的主因，亦從其他文獻中獲致相同結果，即焦磷酸鐵經由不同的前處理添加於脫脂乳與脫脂乳粉中並進行動物試驗，結果顯示其鐵質生物可利用率不及硫酸亞鐵(Tsuchita *et al.*, 1991)。另從前人之研究結果亦證實將市售不同鐵劑來源之鐵強化乳粉餵飼大鼠，再利用血紅素再生法評估鐵質的相對生物可利用率，結果亦顯示添加焦磷酸鐵之鐵強化乳粉之生物可利用率僅為添加硫酸亞鐵的三分之一(張等, 1998)，若將上述研究結果與圖 1 中硫酸亞鐵及焦磷酸鐵之可透析二價鐵比例(%DN)相互比較可發現實驗結果相當雷同。

綜合不同類型之二價鐵數值分析項目(圖 1、2、3 與 4)之結果，可預先篩選出於二價鐵劑中表現最佳的三種鐵劑，分別為 Amino acid chelated iron、硫酸亞鐵及反丁烯二酸亞鐵，其中 Amino acid chelated iron 係市售之人類日常補充鐵劑，其鐵化合物由多種成分所組成，價格上更是硫酸亞鐵的十七倍及反丁烯二酸亞鐵之十五倍，故其於成分不明之考量及實際應用於鐵強化乳粉之成本問題，因此在此試驗中與 Iron asporotate 僅被作為與其他幾種鐵劑其鐵質利用率比較之依據，並選用硫酸亞鐵及反丁烯二酸亞鐵來進行下一階段的試驗，事實上反丁烯二酸亞鐵亦是醫院在治療缺鐵性貧血患者所使用的口服鐵劑之一(王與鄭, 1998; 黃, 1998)，

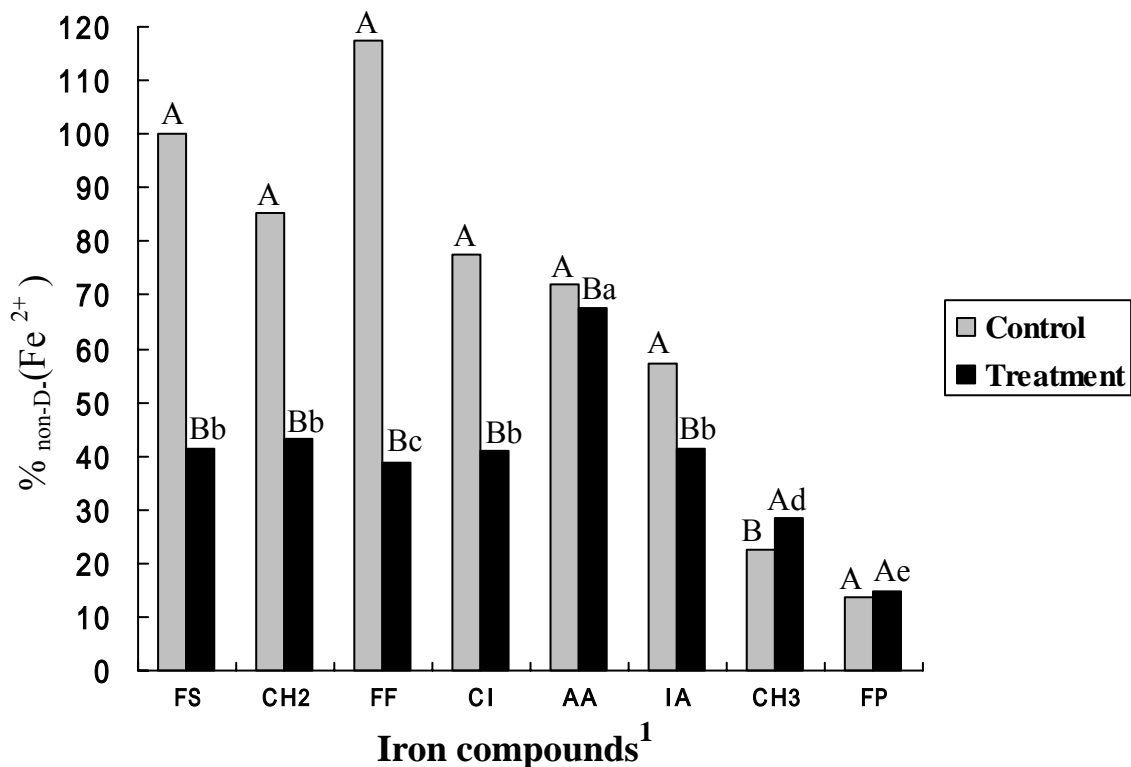


圖 3 不同鐵劑於脫脂還原乳中經體外消化試驗之未透析二價鐵(%R)的比較。

Fig. 3 The percentage of nondialysable ferrous iron(%R; % non-D.(Fe<sup>2+</sup>)) in different iron compounds added reconstituted skim milk during *in vitro* digestion.

<sup>1</sup> All iron compounds were the same as Figure 1.

A and B mean between control and treatment of each iron compound by different letters are significantly different (p<0.05), respectively.

a-e mean of treatments with the different letters are significantly different (p<0.05).

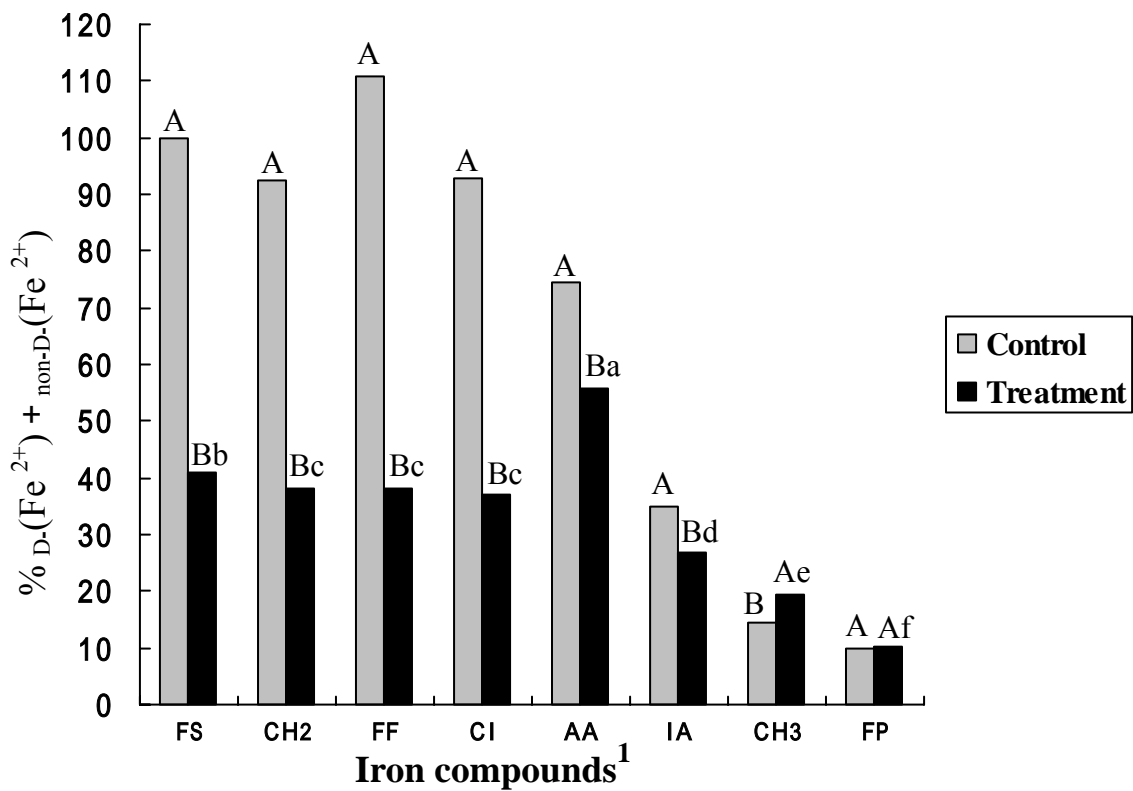


圖 4 不同鐵劑於脫脂還原乳中經體外消化試驗之總二價鐵 (%DN+R)的比較。

Fig. 4 The percentage of total ferrous iron (%DN+R; % $D-(Fe^{2+}) + non-D-(Fe^{2+})$ ) in different iron compounds added reconstituted skim milk during *in vitro* digestion.

<sup>1</sup> All iron compounds were the same as Figure 1.

A and B mean between control and treatment of each iron compound by different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ), respectively.

a-f mean of treatments with the different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

另外再從其他文獻中也發現這兩種鐵劑亦曾經被使用於鐵強化巧克力乳粉中，且實驗結果顯示效果相當良好(Douglas *et al.*, 1981；Hurrell *et al.*, 1991)。表示這兩種鐵劑可應用之範圍應不只侷限於脫脂乳粉。另外在三價鐵劑中則是挑選四項數值皆領先焦磷酸鐵且達差異顯著之氯化鐵。

從八種供試鐵劑於脫脂還原乳之預先篩選過程中，挑出強化效果較佳之硫酸亞鐵、反丁烯二酸亞鐵及氯化鐵。其次為更精確得知其濃度，故再進一步製作硫酸亞鐵、反丁烯二酸亞鐵與氯化鐵自 5-35ppm 含量之標準檢量線(linear expression)(圖 5、6 與 7)，由分光光度儀中得其公式為  $Abs = A + B \times Conc.$ ，其中相關係數(coefficient)及常數分別為 0.998， $A = -0.0447$ 、 $B = 0.0416$ ；0.999， $A = 0.0007$ 、 $B = 0.0377$  及 0.999， $A = -0.0047$ 、 $B = 0.0383$ ，其中吸光值(Abs.)與濃度(Conc.)以此公式計算之，再將各試驗結果與此標準檢量線對照即可得偵測之確切濃度。

## 二、篩選之三種鐵劑於全脂還原乳中之試驗

本實驗擬將脫脂還原乳經體外消化試驗之篩選後，所選定之硫酸亞鐵(FS)、反丁烯二酸亞鐵(FF)與氯化鐵(CH<sub>3</sub>)等三種鐵劑添加於全脂還原乳並經體外消化作用後，探討何者能有最佳之生物利用效率，前人之研究中指出乳脂肪可能是影響鐵質利用性的因子之一(趙，2004)，因此將鐵劑添加於環境更加嚴苛之全脂還原乳中，藉此觀察乳脂肪因子是否會對所篩選這三種鐵劑之利用效率有所影響。

圖 8 為分別添加三種鐵劑於全脂還原乳中經體外消化試驗之可透析二價鐵所佔之比例(%DN)，同樣地除了處理組之



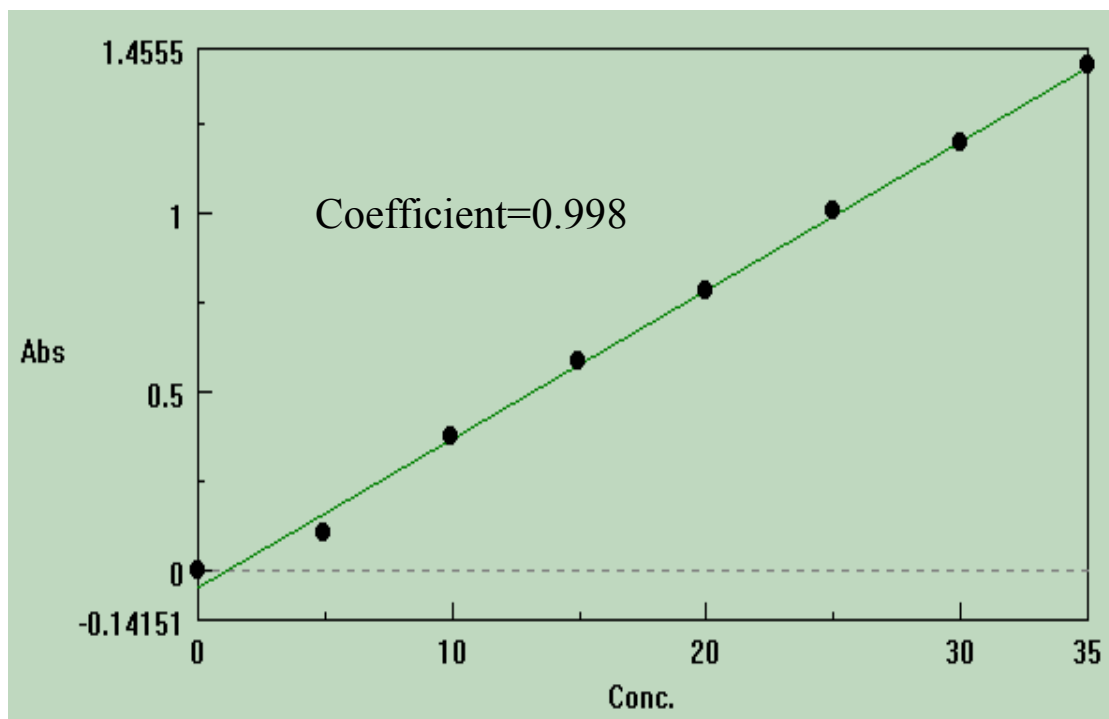


圖 5 硫酸亞鐵標準檢量線(5-35ppm)。

Fig. 5 The standard curve of ferrous sulfate from 5-35ppm.

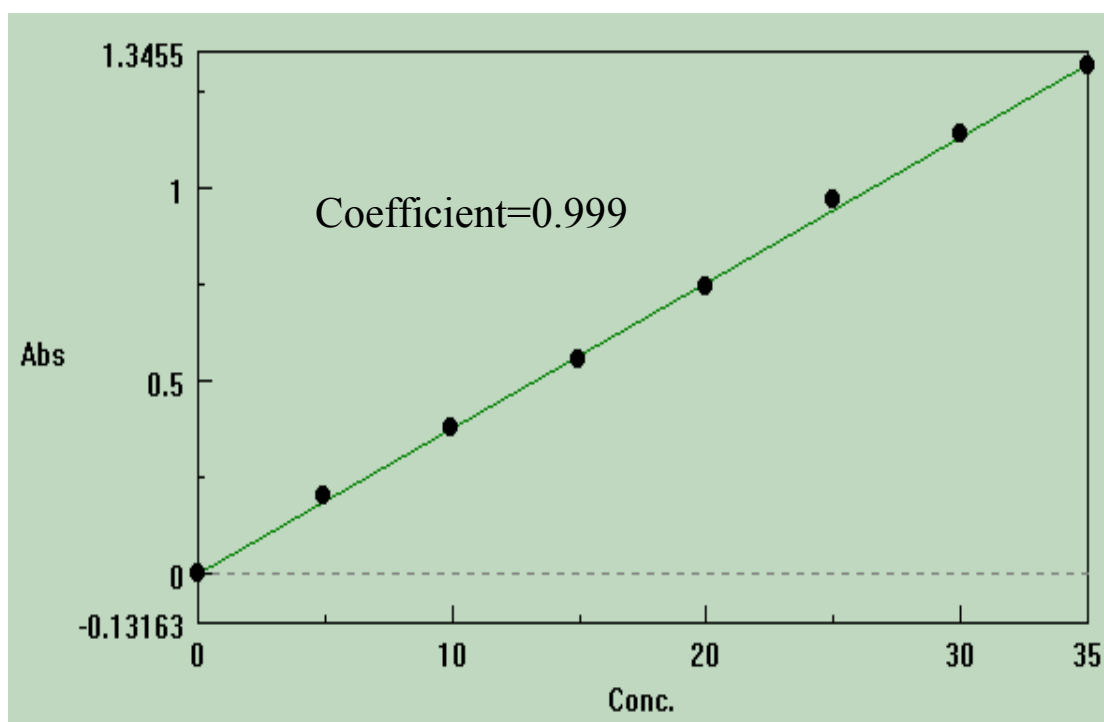


圖 6 反丁烯二酸亞鐵標準檢量曲線(5-35ppm)。

Fig. 6 The standard curve of ferrous fumarate from 5-35ppm.

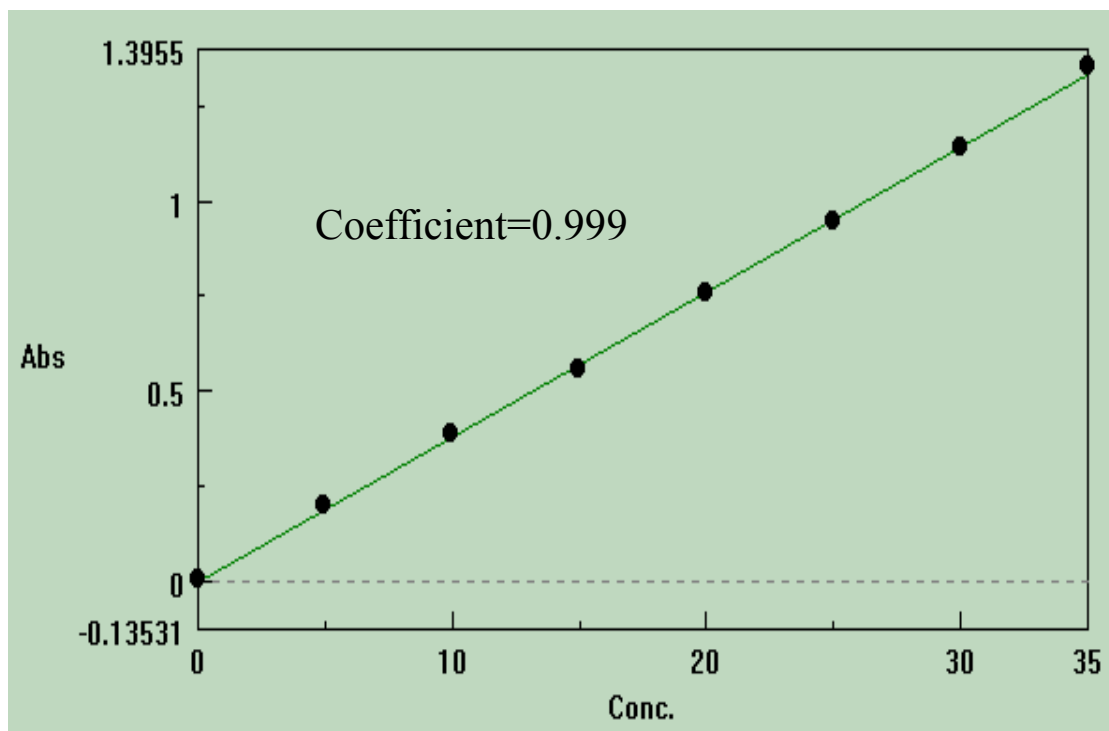


圖 7 氯化鐵標準檢量曲線(5-35ppm)。

Fig. 7 The standard curve of ferric chloride from 5-35ppm.

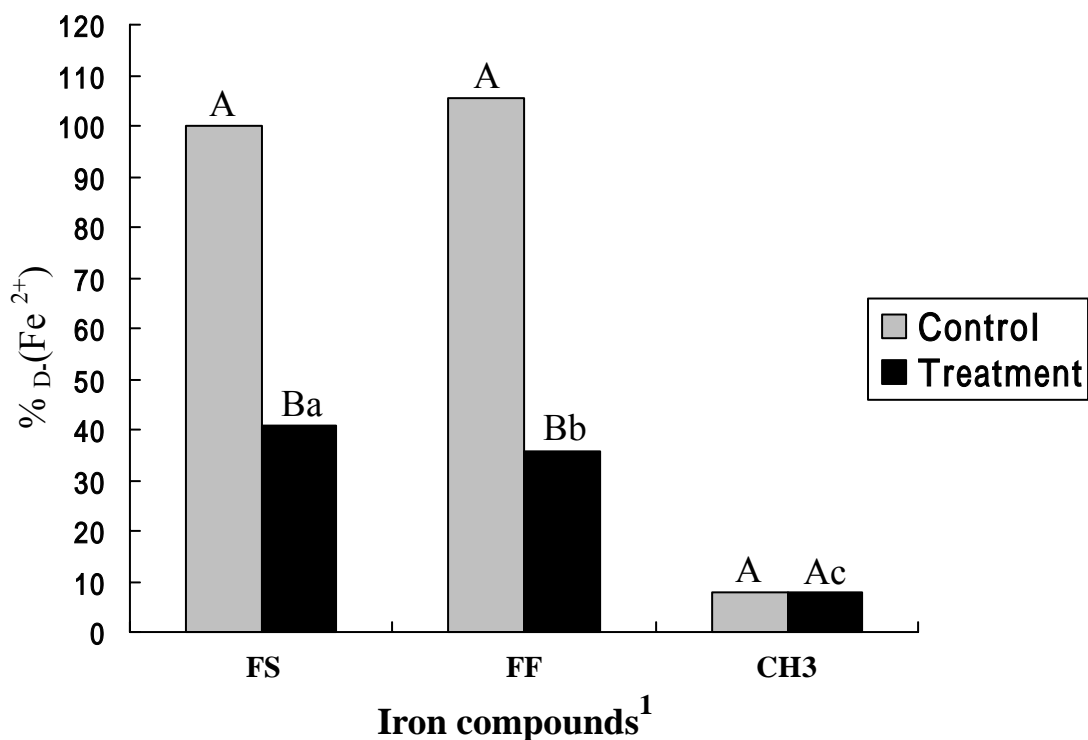


圖 8 三種鐵劑於全脂還原乳中經體外消化試驗之可透析二價鐵(%DN)的比較。

Fig. 8 The percentage of dialysable ferrous iron(%DN; %  $D-(Fe^{2+})$ ) in three iron compounds added reconstituted whole milk during *in vitro* digestion.

<sup>1</sup> FS、FF and CH3 were the ferrous sulfate、ferrous fumarate and ferric chloride, respectively.

A and B mean between control and treatment of each iron compound by different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ), respectively.

a, b and c mean of treatments with the different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

外也輔以乳樣品之對照組作比較，結果發現各鐵劑未添加樣品之對照組中，氯化鐵(CH<sub>3</sub>)除外，其餘兩種鐵劑之對照組顯著高於有添加樣品之處理組，且對照組與先前添加於脫脂還原乳中之處理組(圖 1)差異程度相近，顯示對於二價鐵劑之影響程度可能相似，而這三種鐵劑處理組之可透析二價鐵比例(%DN)以硫酸亞鐵(FS)為最佳，反丁烯二酸亞鐵(FF)次之，氯化鐵(CH<sub>3</sub>)則較差。值得注意的是氯化鐵(CH<sub>3</sub>)在全脂還原乳中其可透析二價鐵比例若與添加於脫脂還原乳中相比，分別是 8.1%以及 12.1%且達差異顯著，然而在二價鐵劑中與在脫脂還原乳中相比，則為相似且未達差異顯著，表示氯化鐵被乳脂肪影響之可透析二價鐵比例程度似乎較劇。

圖 9 為三種鐵劑分別添加於全脂還原乳中經體外消化試驗之可透析總鐵所佔之比例(%D)，結果顯示三種鐵劑之對照組皆高於有添加樣品之處理組且達差異顯著，此結果與添加於脫脂還原乳中(圖 2)相同。另外，這三種鐵劑處理組之可透析總鐵所佔之比例(%D)中仍以硫酸亞鐵(FS)為最佳，反丁烯二酸亞鐵(FF)次之，氯化鐵(CH<sub>3</sub>)則較差。在此圖中可發現，當比較三種鐵劑添加於脫脂還原乳及在全脂還原乳中可透析總鐵比例之差距，則不管是三價或二價鐵劑皆變大且達差異顯著狀態，顯示雖然乳脂肪因子對於三價鐵劑之影響確實較二價鐵劑來得大，但可從圖 8 中得知乳脂肪因子對於二價鐵劑中可透析總鐵比例其中之三價鐵部分有影響，而此結果與前人研究所提出之推測相似(趙，2004)。

圖 10 為三種鐵劑分別添加於全脂還原乳中經體外消化作用之未透析二價鐵所佔之比例(%R)，結果顯示除氯化鐵外，其餘兩種鐵劑之對照組顯著高於有添加樣品之處理組，

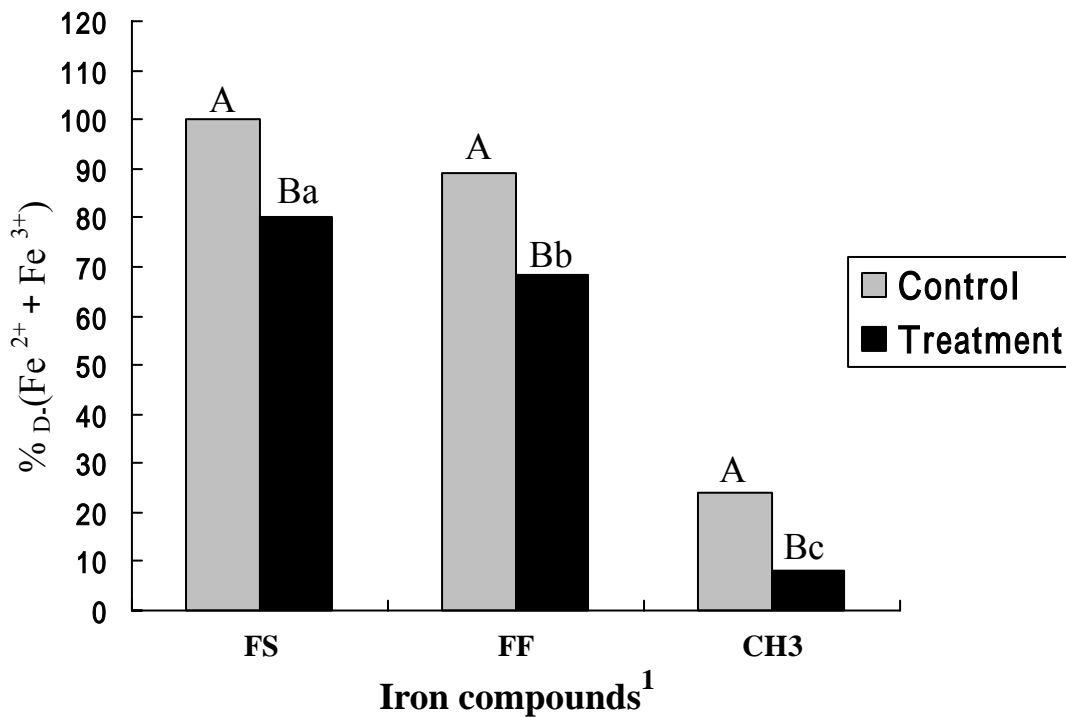


圖 9 三種鐵劑於全脂還原乳中經體外消化試驗之可透析總鐵(%D)的比較。

Fig. 9 The percentage of dialysable total iron(%D;  $\%D-(Fe^{2+} + Fe^{3+})$ ) in three iron compounds added reconstituted whole milk during *in vitro* digestion.

<sup>1</sup> FS、FF and CH3 were the same as Figure 8.

A and B mean between control and treatment of each iron compound by different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ), respectively.

a, b and c mean of treatments with the different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

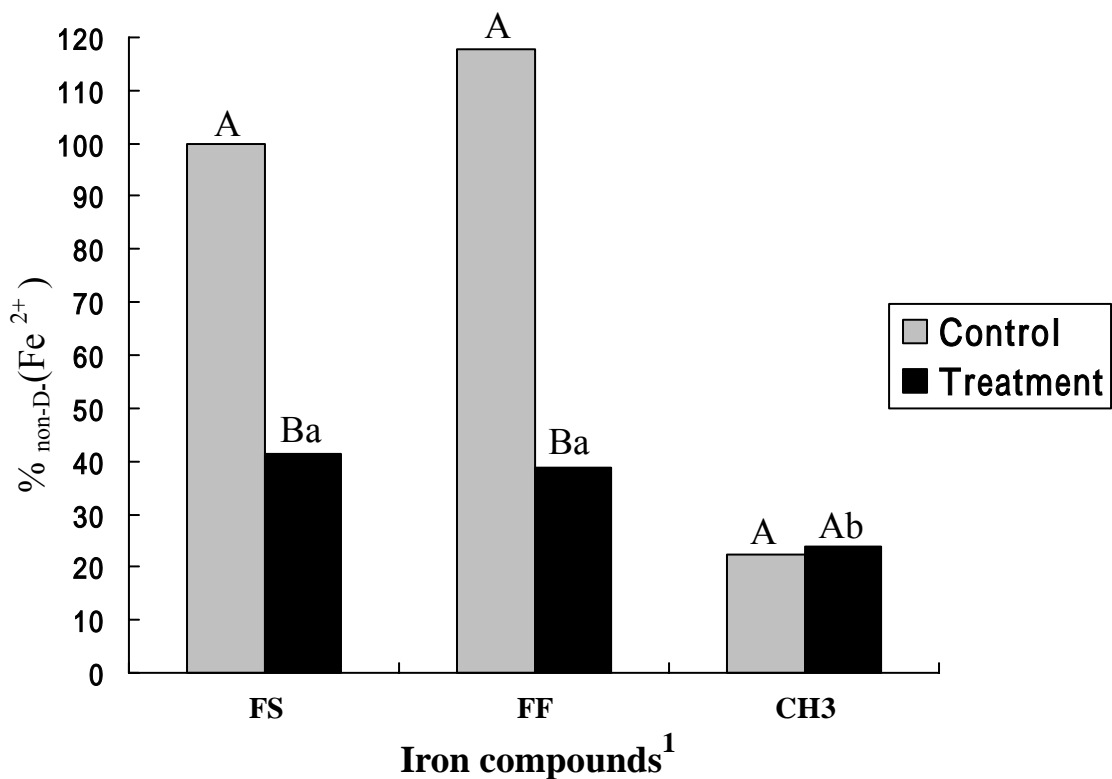


圖 10 三種鐵劑於全脂還原乳中經體外消化試驗之未透析二價鐵(%R)的比較。

Fig. 10 The percentage of nondialysable ferrous iron(%R; % non-D.(Fe<sup>2+</sup>)) in three iron compounds added reconstituted whole milk during *in vitro* digestion.

<sup>1</sup> FS、FF and CH3 were the same as Figure 8.

A and B mean between control and treatment of each iron compound by different letters are significantly different (p<0.05), respectively.

a and b mean of treatments with the different letters are significantly different (p<0.05).

另外在這三種鐵劑處理組之未透析二價鐵所佔之比例(%D)中，從結果得知以硫酸亞鐵與反丁烯二酸亞鐵較佳，氯化鐵則較差。

圖 11 為三種鐵劑分別添加於全脂還原乳中經體外消化試驗之總二價鐵所佔之比例(%DN+R)，從結果中得知除氯化鐵外，其餘兩種鐵劑之對照組高於有添加樣品之處理組且達差異顯著，此結果與圖 8 與圖 10 相同，另外在這三種鐵劑處理組之未透析二價鐵所佔之比例(%D)中，結果顯示以硫酸亞鐵為最佳，反丁烯二酸亞鐵次之，氯化鐵則較差。

綜合上述四種不同二價鐵類型之數值結果顯示出在三種鐵劑中，大多以硫酸亞鐵為最高且達差異顯著，惟仍可確定硫酸亞鐵在全脂還原乳中之鐵質利用率確實較其他兩種鐵劑佳，且有研究以不同鐵劑添加於乳脂肪 2%之牛乳中經體外消化試驗後再透過細胞培養所做之試驗，硫酸亞鐵亦有良好之結果(Yeung *et al.*, 2002)。另外，從實驗結果得知乳脂肪對於三種鐵劑之可透析總鐵中的三價鐵含量影響較大，從前人研究中推測其可能原因係牛乳本身所含之鐵元素，有一部份是與乳脂肪中的脂肪球皮膜結合，而此內源性鐵元素可能多以三價鐵離子型態存在，故特別針對三價鐵離子產生鍵結，進而影響鐵劑之可透析總鐵中的三價鐵含量，尤其對氯化鐵之影響更甚(Fransson and Lonnerdal, 1983)。

### 三、篩選之三種鐵劑於脫脂與全脂乳粉中對色澤、風味之影響與沉澱現象

為了針對所篩選出來之硫酸亞鐵(FS)、反丁烯二酸亞鐵(FF)與氯化鐵(CH3)等三種鐵劑在色澤、風味與沉澱現象有初



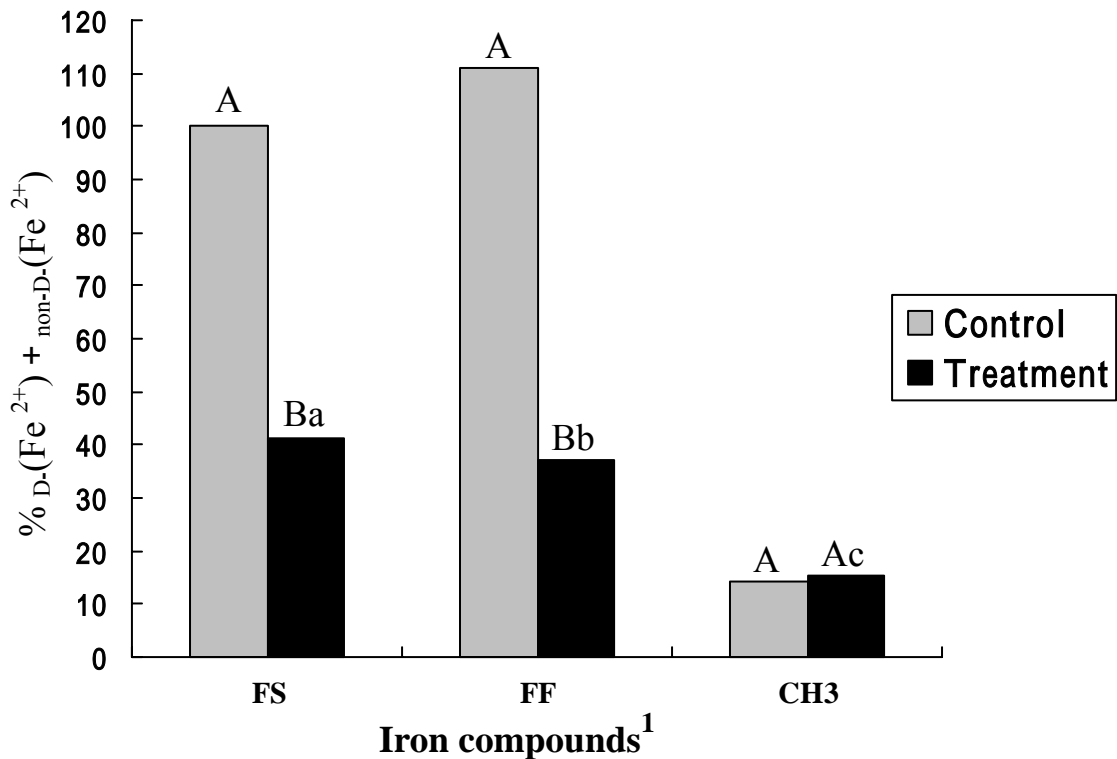


圖 11 三種鐵劑於全脂還原乳中經體外消化試驗之總二價鐵(%DN+R)的比較。

Fig. 11 The percentage of total ferrous iron(%DN+R; %  $D-(Fe^{2+}) + non-D-(Fe^{2+})$ ) in three iron compounds added reconstituted whole milk during *in vitro* digestion.

<sup>1</sup> FS、FF and CH3 were the same as Figure 8.

A and B mean between control and treatment of each iron compound by different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ), respectively.

a, b and c mean of treatments with the different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

步的了解，利用簡單之試驗對三種鐵劑進行評定。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，惟在沉澱現象項目中反丁烯二酸亞鐵(FF)則是鐵劑中唯一產生沉澱現象之鐵劑，而從文獻中得知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，因此發生沉澱現象，或許正因為鐵劑無法充份與乳成分結合，使得風味與色澤不致產生變化。另一方面，硫酸亞鐵與氯化鐵則是屬於可溶於水及可溶於稀釋酸中這一類之鐵劑，實驗結果也證實硫酸亞鐵與氯化鐵皆溶於牛乳中，且風味與色澤上亦未造成牛乳有明顯的改變，其可能原因為所添加之強化量約 12mg/100g 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(Hurrell, 2002)。但從早期報告中得知，將不同鐵劑添加於牛乳中，其官能品評結果與本實驗並不相同，探究可能的原因在於早期之研究方法是先將鐵劑添加於生乳中，並經鮮乳殺菌條件後，進行品評判定，此方式可能使得鐵劑受熱後產生化學變化，導致鐵強化乳產生不良之風味(Demott, 1971 ; Wang and King, 1973 ; Douglas *et al.*, 1981)。

## VI、結論

由本研究自八種常用於不同鐵強化食品之鐵劑中，從二價鐵劑中篩選出硫酸亞鐵與反丁烯二酸亞鐵以及三價鐵劑中之氯化鐵等三種鐵劑對脫脂還原乳有較佳之鐵質生物可利用率，然後進一步將所篩選出之三種鐵劑添加於全脂還原乳中，以硫酸亞鐵有最佳之鐵質利用率，觀察三種鐵劑對色澤、風味之影響與沉澱現象時，則以硫酸亞鐵與氯化鐵有較佳之結果。綜合上述之實驗結果得知硫酸亞鐵、反丁烯二酸亞鐵及氯化鐵等三者較宜作為乳粉強化用之鐵劑，惟長時間儲存及儲存溫度對風味與色澤及乳粉中成分組成對鐵質生物可利用率之影響等，則有待更進一步之探討以作為應用於乳粉中最佳鐵劑之依據。

## VII、參考文獻

- 王志嘉、鄭煒東。1998。鐵劑的使用。基層醫學 14:128-130。
- 林慶文。2000。乳品加工學，第 118-119 頁。華香園出版社，台北市。
- 黃輝慶。1998。缺鐵性貧血-鐵劑的選擇。醫院藥學 15:85-91。
- 張勝善。1995。牛乳與乳製品，第 88-89 頁、第 256-259 頁、第 283-284 頁。長河出版社，台北市。
- 張美鈴、彭珍芳、蕭寧馨。1998。市售高鈣高鐵乳粉之鐵質生體可利用率。中華營誌 23:251-264。
- 趙繼嫻。2004。動物性蛋白質對鐵質試管內利用效率之影響。碩士論文。東海大學畜產學研究所。
- 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。
- Aït-Oukhatar, N., S. Bouhallab, P. Arhan, J. L. Maubois, M. Drosdowsky and D. Bouglé. 1999. Iron tissue storage and hemoglobin levels of deficient rats repleted with iron bound to the casein phosphopeptide 1-25 of  $\beta$ -casein. J. Agric. Food Chem. 47:2786-2790.
- Aït-Oukhatar, N., S. Bouhallab, F. Bureau, P. Arhan, J. L. Maubois, M. Drosdowsky and D. Bouglé. 1997. Bioavailability of caseinophosphopeptide bound iron in young rats. J. Nutr. Biochem. 8:190-194.
- Allan, J. E. 1950. The oxidation of ascorbic acid in dairy products. J. Dairy Res. 17:54-65.
- Barton, J. C., M. E. Conrad and R. T. Parmley. 1983. Calcium

- inhibition of inorganic iron absorption in rats. *Gastroenterology* 84:90.
- Basch, J. J., S. B. Jones, E. B. Kalan and M. V. Wondolowski. 1974. Distribution of added iron and polyphosphate phosphorous in cow's milk. *J. Dairy Sci.* 57:545-551.
- Baumy, J. J. and G. Brulé. 1988. Effect of pH and ionic strength on the binding of bivalent cations to  $\beta$ -Casein. *Lait* 68:409-418.
- Beard, J. and B. Tobin. 2000. Iron status and exercise. *Am. J. Clin. Nutr.* 72(supp1): 594S-597S.
- Blanc, B. 1981. Biochemical aspects of human milk comparison with bovine milk. *World Rev. Nutr. Diet.* 36:1-89.
- Bouhallab, S., J. Léonil and J.-L. Maubois. 1991.  $\beta$ -casein phosphopeptide (1-25)-iron complex: action of alcalase and acid phosphatase. *Lait* 71:435-443.
- Bouhallab, B., V. Cinga, N. Aït-Oukhatar, F. Bureau, D. Neuville, P. Arhan, J.-L. Maubois and D. Bouglé. 2002. Influence of various phosphopeptides of caseins on iron absorption. *J. Agric. Food Chem.* 50:7127-7130.
- Brulé, G. and J. Fauquant. 1982. Interactions des protéines du lait et des oligoéléments. *Lait* 62:323-331.
- Brune, M., L. Rossander and L. Hallberg. 1989. Iron absorption and phenolic compounds: importance of different phenolic structures. *Euro. J. Clin. Nutr.* 43:547-558.
- Carmichael, D., J. Christopher, J. Hegenauer and P. Saltman. 1975. Effect of milk and casein on the absorption of

- supplemental iron in the mouse and chick. *Am. J. Clin. Nutr.* 28:487.
- Charlton, R. W. and T. H. Bothwell. 1983. Iron absorption. *Annual Review Medical* 34:55-68.
- 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.
- Chierici, R., G. Sawatzki, L. Tamisari, S. Volpato and V. Vigi. 1992. Supplementation of an adapted formula with bovine lactoferrin. 2. Effects on serum iron, ferritin and zinc levels. *Acta Paediatr.* 81:475–482.
- Chiplonkar, S. A., K. V. Tarwadi, R. B. Kavedia, S. S. Mengale, K. M. Paknikar and V. V. Agte. 1999. Fortification of vegetarian diets for increasing bioavailable iron density using green leafy vegetables. *Food Res. Int.* 32:169–174.
- 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.
- Coni, E., A. Bocca, D. Lanni and S. Caroli. 1995. Preliminary evaluation of the factors influencing the trace element content of milk and dairy products. *Food Chemistry* 52:123-130.
- Cook, J. D. and E. R. Monsen. 1976. Food iron absorption in human subjects. . Comparison of the effects of animal protein on nonheme iron absorption. *Am. J. Clin. Nutr.*

- 29:859.
- Cook, J. D., S. A. Dassenko and P. Whittaker. 1991. Calcium supplementation: effect on iron absorption. *Am. J. Clin. Nutr.* 53:106-111.
- Cox, T. M., J. Mazurier, G. Spik, J. Montreuil and T. J. Petess. 1979. Iron binding proteins and influx of iron across the duodenal brush border: evidence for specific lactotransferrin receptors in the human intestine. *Biochim. Biophys. Acta* 588:120.
- Dawson-Hughes, B., F. H. Seligson and V. A. Hughes. 1986. Effects of calcium carbonate and hydroxyapatite on zinc and iron retention in postmenopausal women. *Am. J. Clin. Nutr.* 44:83.
- Deehr, M. S. G. E. Dallal, K. T. Smith, J. D. Taulbee and B. Dawson-Hughes. 1990. Effects of different calcium sources on iron absorption in postmenopausal women. *Am. J. Clin. Nutr.* 51:95.
- 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.
- Demott, B. J. and B. Dincer. 1976. Binding added iron to various milk proteins. *J. Dairy Sci.* 59:1557.
- 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.
- Edmonson, L. F., F. W. Douglas and J. K. Avants. 1971.

- Enrichment of pasteurised whole milk with iron. *J. Dairy Sci.* 54:1422-1426.
- Emery, T. 1992. Iron oxidation by casein. *Biochemical and Biophysical Res. Communications* 182:1047-1052.
- Farley, M. A., P. D. Smith, A. W. Mahoney, D. W. West and J. R. Post. 1987. Adult dietary characteristics affecting iron intake: a comparison based on iron density. *J. Am. Diet. Assoc.* 87:184.
- Favretto, C. and P. Marletta. 1989. Heavy metal content in milk and dairy products. *La Rivista della Società Italiana di Scienza dell' Alimentazione* 13:237-242.
- Flynn, A. 1992. Minerals and trace elements in milk. *Adv. Food Nutr. Res.* 36:209–252.
- Forbes, A. L., C. E. Adams and M. J. Arnaud. 1989. Comparison of *in vitro*, animal and clinical determinations of iron bioavailability: international nutritional anemia consultative group task force report on iron bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* 49:225-238
- Fox, M. C., T. Eagles and S. Fairweather-Tait. 1998. Evaluation of iron bioavailability in infant weaning foods fortified with haem concentrate. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 27:419–424.
- Fransson, G.-B. and B. Lonnerdal. 1980. Iron in human milk. *J. Pediatr.* 96:380.
- Fransson, G. B. and B. Lonnerdal. 1983. Distribution of trace elements and mineral in human and cow's milk. *Pediatr.*



- Res. 17:912–915.
- Fransson, G.-B., C. L. Keen and B. Lonnerdal. 1983. Supplementation of milk with iron bound to lactoferrin using weanling mice. I. Effects of hematology and tissue iron. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2:693.
- Gaucheron, F., L. E. Great, Y. Boyaval and E. Piot. 1997. Binding of cations to sodium caseinate: importance of physicochemical conditions. *Milchwissen* 52:322-327.
- 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.
- Greger, J. L. and C. L. Krashoc. 1988. Effect of a variety of calcium sources on mineral metabolism in anemic rats. *Drug-Nutr. Interact.* 5:387.
- Greger, J. L., C. E. Krzykowski, R. R. Khazen and C. L. Krashoc. 1987. Mineral utilization by rats fed various commercially available calcium supplements or milk. *J. Nutr.* 117:717.
- Hallberg L., M. Brune and L. Rossander. 1986. Low availability of carbonyl iron in man: studies on iron fortification of wheat flour. *Am. J. Clin. Nutr.* 43:59-67.
- Hallberg, L., L. Rossander and A. B. Skanberg. 1987. Phytates and the inhibitory effect of bran on iron absorption in man. *Am. J. Clin. Nutr.* 45:988-996.
- Hallberg, L. and L. Hulthén. 2000. Prediction of dietary iron absorption algorithm for calculating absorption and

- bioavailability iron. *Am. J. Clin. Nutr.* 71:1147-1160.
- Hallberg, L., M. Brune, M. Erlandsson, A.-S. Sandberg and L. Rossander-Hultén. 1991. Calcium: effect of different amounts on nonheme and heme-iron absorption in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 53:112-119.
- Hansen, M., B. Sandstrom, M. Jensne and S. S. Sorensen. 1997. Casein phosphopeptides improve zinc and calcium absorption from rice-based but not from whole-grain infant cereal. *J. Ped. Gastroent. Nutr.* 24:56-62.
- Hegenauer, J., P. Saltman, D. Ludwig, L. Ripley and A. Ley. 1979 Iron-supplemented cow milk: identification and spectral properties of iron bound to casein micelles. *J. Agric. Food Chem.* 27:1294-1301.
- Hercberg, S., and P. Galan. 1992. Nutritional anemias. *Bailliere's Clinical Hematology* 5: 143-168.
- Hekmat, S. and D. J. McMahon. 1998. Distribution of iron between caseins and whey proteins in acidified milk. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.* 31:632-638.
- Huang, Y. C. 2000. Nutrient intakes and iron status of vegetarians. *Nutrition* 16:147-148.
- Hurrell, R. F. 1984. Bioavailability of different iron compounds used to fortify formulas and cereals: technological problems. Page 147-178 in *Iron Nutrition in Infancy and Childhood*. A. Stekel, ed. Vevey/Raven Press, New York.
- Hurrell, R. F. 1997. Bioavailability of iron. *European J. Clin. Nutr.* 51:(Suppl. 1) S4-S8.

- Hurrell, R. F. 2002. How to ensure adequate iron absorption from iron-fortified food. *Nutr. Rev.* 60:S7-S15.
- Hurrell, R. F., M. B. Reddy and S. A. Dassenko. 1991. Ferrous fumarate fortification of a chocolate drink powder. *Br. J. Nutr.* 65:271-283.
- Hurrell, R. F., S. R. Lynch, T. P. Trinidad, S. A. Dassenko and J. D. Cook. 1988. Iron absorption in humans: bovine serum albumin compared with beef muscle and egg white. *Am. J. Clin. Nutr.* 47:102-107.
- Hurrell, R. F., S. R. Lynch, T. P. Trinidad, S. A. Dassenko and J. D. Cook. 1989. Iron absorption in humans as influenced by bovine milk proteins. *Am. J. Clin. Nutr.* 49:546-552.
- Jackson, S. and K. Lee. 1992. Fortification of cheese with microencapsulated iron. *Cult. Dairy Prod. J.* 27:4-7.
- Jackson, L. S. and K. Lee. 1992. The effect of dairy products on iron availability. *Critical Reviews in Food Sci. and Nutr.* 31:259-270.
- 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.
- Kane, A. P. and D. D. Miller. 1984. In vitro estimation of the effects of selected proteins on iron bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* 39:393.
- Kapsokefalou, M. and D. D. Miller. 1991. Effects of meat and

- selected food components on the valence of nonheme iron during *in vitro* digestion. *J. Food Sci.* 56: 352-355.
- Kaup, M. S. 1998. Aspects of mineral bioavailability in infant nutrition. *Int. Dairy Journal* 8:435-441.
- Kawakami, H., M. Hiratsuka and S. Dosako. 1988. Effects of iron-saturated lactoferrin on iron absorption. *Agric. Biol. Chem.* 52:903.
- King, R. L., J. R. Luick, I. I. Litman, W.G. Jennings and W. L. Dunkley. 1959. Distribution of natural and added copper and iron in milk. *J. Dairy Sci.* 42:780–790.
- Kurtz, F. 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.* 56:1139-1143.
- Kwock, R. O., C. L. Keen, J. Hegenauer, P. Saltman, L. S. Hurley and B. Lönnerdal 1984. Retention and distribution of iron added to cow's milk and human milk as various salts and chelates. *J. Nutr.* 114:1454-1461.
- Layrisse, M., J. F. Cháves, H. Mendez-Castellano, V. Bosch, E. Tropper, B. Bastardo and E. González. 1996. Early response to the effect of iron fortification in the Venezuelan population. *Am. J. Clin. Nutr.* 64:903-907.
- Lee, K. and F. M. Clydesdale. 1979. Iron sources used in food fortification and their changes due to food processing. *Critical Rev. Food Sci. Nutr.* 11:117–183.
- Lonnerdal, B. 1984. Iron and breast milk. Page 95 in *Iron Nutrition in Infancy and Childhood*. A. Stekel, ed.

- Vevey/Raven Press, New York.
- Lynch, S. R. 2000. The effect of calcium on iron absorption. *Nutr. Res. Reviews* 13:141-158.
- Lynch, S. R. and R. J. Stoltzfus. 2003. Iron and ascorbic acid: proposed fortification levels and recommended iron compounds. *J. Nutr.* 133:2978S-2984S.
- Manson, W. and W. D. Annan. 1971. The structure of a phosphopeptides derived from  $\beta$ -casein. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 145:16-26.
- Martínez-Navarrete, N., M. M. Camacho, J. Martínez-Lahuertab, J. Martínez-Monzó and P. Fito. 2002. Iron deficiency and iron fortified foods—a review. *Food Res. Int.* 35:225-231.
- McMillan, J. A., S. A. Landaw and F. A. Oski. 1976. Iron sufficiency in breast-fed infants and the availability of iron from human milk. *Pediatrics* 58:686.
- 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.
- Meisel, H. and E. Schlimme. 1993. Calcium and iron binding capacity of different fractions from *in vitro* proteolysis of casein. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte* 45:235–243.
- Miller, D. D. and L. A. Berner. 1989. Is solubility in vitro a reliable predictor of iron bioavailability? *Biol. Trace Elem.*

- Res. 19:11.
- Monsen, E. R. and J. D. Cook. 1976. Food iron absorption in human subjects. . 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.
- Morck, T. A. and J. D. Cook. 1981. Factors affecting the bioavailability of dietary iron. *Cereal Foods world* 26:667-672.
- Morck, T. A., S. F. Lynch and J. D. Cook. 1983. Inhibition of food iron absorption by coffee. *Am. J. Clin. Nutr.* 37:416-420.
- Patrick, J. 1985. Types of iron fortificants: elemental sources. Page 31-38 in *Iron Fortification of Foods*. F. M. Clydesdale and K. L. Wiemer, ed. Academic Press, Orlando, FL.
- Pollitt, E. 1993. Iron deficiency and cognitive function. *Ann. Rev. Nutr.* 13:521–537.
- Ranhotra, G. S. and J. A. Gelroth. 1989. Effect of calcium level on bread iron utilization by iron-deficient rats. *J. Food Sci.* 54:943.
- Richardson, D. P. 1990. Food fortification. *Proc. Nutr. Soc.* 49:39-50.
- Rossander, L., A. S. Sandberg and B. Sandstron. 1992. The influence of dietary fiber on mineral absorption and

- utilization. Page 197-216 in In Dietary Fiber-a Component of Food. Nutritional Function in Health and Disease. T. F. Schweizer, and C. A. Edwards Inc. London, Springer-Verlag.
- Saarinen, U. M. and M. A. Siimes. 1979. Iron absorption from breast milk, cow's milk, and iron-supplemented formula: an opportunistic use of changes in total body iron determined by hemoglobin, ferritin, and body weight in 132 infants. *Pediatr. Res.* 13:143.
- Saarinen, U. M., M. A. Siimes and P. R. Dallman. 1977. Iron absorption in infants: high bioavailability of breast milk as indicated by the extrinsic tag method of iron absorption and by the concentration of serum ferritin. *J. Pediatr.* 91:36.
- SAS. 1999. SAS/STAT. Guide for personal computers (Version 8.1). SAS Inc., Cary, NC.
- Sato, R., M. Shindo, H. Gunshin, T. Noguchi and H. Naito. 1991. Characterization of phosphopeptide derived from bovine  $\beta$ -casein: an inhibitor to intra-intestinal precipitation of calcium phosphate. *Biochem. Biophys. Acta* 1007:413-415.
- 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.
- Schulz-Lell, G., D. K. Dörner, H. D. Oldigs, E. Siever and J. Schaub. 1991. Iron availability from an infant formula supplemented with bovine lactoferrin. *Acta Paediatr.*

80:155-158

- Scrimshaw, S. N. 1998. Malnutrition, brain development, learning, and behavior. *Nutr. Res.* 18:351-379.
- Sexena, A. and S. Seshadri. 1988. The effect of whole milk, milk protein and some constituent amino acids on the *in vitro* availability of iron from cereal meals. *Nutr. Res.* 8:717.
- Shaw, N. S., C. J. Chin and W. H. Pan. 1995. A vegetarian diet rich in soybean products compromises iron status in young students. *J. Nutr.* 125:212-219.
- Snedeker, S. M., S. A. Smith and J. L. Greger. 1982. Effect of dietary calcium and phosphorus levels on the utilization of iron, copper, and zinc by adult males. *J. Nutr.* 112:136.
- Swaisgood, H. E. 1985. Characteristics of edible fluids of animal origin milk. Page 791-827 in *Food Chemistry*. O. R. Fennema, ed. New York.
- 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.
- Tidehag, P., A.-S. Sandberg, G. Hallmans, K. Wing, M. Türk, S. Holm and E. Grahn. 1995. Effect of milk and fermented milk on iron absorption in ileostomy subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* 62:1234-1238.
- Torrejoén, C. S., C. Castillo-Duraín, E. D. Hertrampf and M. Ruz. 2004. Zinc and iron nutrition in Chilean children



- fed fortified milk provided by the complementary national food program. *Nutrition* 20:177–180.
- Tsuchita, H., A. Kobayashi, T. Kojima, T. Kuwata, T. Noguchi, K. Koto and T. Takahashi. 1991. Bioavailability of iron from ferric pyrophosphate. *J. Agric. Food Chem.* 39:316-321.
- Van Moorsell, L. 1997. Improving calcium and iron bioavailability through bioactive proteins. *Int. Food Ingredients* 4:44-46.
- Viteri, F. E., E. Alvarez, R. Battres, B. Torún, O. Pineda, L. A. Mejía and J. Sylvi. 1995. Fortification of sugar with iron sodium ethylenediaminetetraacetate (FeNaEDTA) improves iron status in semirural Guatemalan populations. *Am. J. Clin. Nutr.* 61:1153-1163.
- Walker, A. R. 1998. The remedying of iron deficiency: what priority should it have? *Bromatological J. Nutr.* 79:227–235.
- Wang, C. F. and R. L. King. 1973. Chemical and sensory evaluation of iron-fortified milk. *J. Food Sci.* 38:938-940.
- Wells, A. M., M. D. Haub, J. Fluckey, D. K. Williams, R. Chernoff and W. W. Campbell. 2003. Comparisons of vegetarian and beef-containing diets on hematological indexes and iron stores during a period of resistive training in older men. *J. Am. Diet. Assoc.* 103:594-601.
- West, C. E. 1996. Strategies to control nutritional anemia. *Am. J. Clin. Nutr.* 64:789-790.

- West, D. W. 1986. Structure and function of the phosphorylated residues of casein. *J. Dairy Res.* 53:333-352.
- 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.
- Yeung, A. C., R. P. Glahn and D. D. Miller. 2002. Comparison of the availability of various iron fortificants in bread and milk using an *in vitro* digestion /caco-2 cell culture method. *J. Food Sci.* 67:2357-2361.
- Yip, R., K. M. Walsh, M. G. Goldfarb and N. J. Binkin. 1987. Declining prevalence of anemia in childhood in a middle-class setting: a pediatric success story. *Pediatrics* 80:330-334.
- Ziegler, E. E. and S. J. Fomon. 1996. Strategies for the prevention of iron deficiency: iron in infant formulas and baby foods. *Nutr. Rev.* 54:348-354.

## VIII、英文摘要

The purpose of this research is to compare the iron bioavailability of various iron compounds and select excellent irons for iron-fortified milk powder through *in vitro* digestion. For pre-selection of iron compounds that ferrous sulfate, ferrous chloride, ferrous fumarate, carbonyl iron, amino acid chelated iron, iron aspartate, ferric chloride and ferric pyrophosphate were added in reconstituted skim milk to undergo *in vitro* digestion, respectively, and then the selected iron compounds were added in reconstituted whole milk to compare the iron bioavailability by estimating dialyzable ferrous iron(DN), dialyzable total iron(D), nondialyzable(R) and total ferrous iron(DN+R), respectively. Finally, the selected iron compounds were mixed with skim and whole milk powder directly to storage a week in room temperature. The fortified milk powder were tested for color, flavor and checked precipitation after rehydrating by 45°C ion-free distilled water. The results showed that the  $Fe^{2+}$  iron compounds which were contain amino acid chelated iron, ferrous sulfate and ferrous fumarate had better iron bioavailability and the  $Fe^{3+}$  irons which was ferric chloride had better iron bioavailability than ferric pyrophosphate in pre-selection of iron compounds trial. The trial of ferrous sulfate, ferrous fumarate and ferric chloride added to reconstituted whole milk that results showed ferrous sulfate had best iron bioavailability and milk fat for ferric chloride had higher effect

in iron bioavailability. Besides, three iron compounds in skim and whole milk powder were similar to reconstituted skim and whole milk that no added irons for color and flavor, but only ferrous fumarate in skim and whole milk had obviously precipitation.

## IX、作者小傳

作者林東茂，台灣省台中縣人，民國 69 年 9 月 15 日出生。先後畢業於豐原市南陽國小、豐東國中及彰化市建國技術學院機械科，於民國 89 年經轉學考試進入東海大學畜產學系，並在民國 92 年畢業同年考取母校畜產與生物科技學系研究所。追隨恩師 周繼發博士，研習畜產品化學、乳品、蛋品加工及副產品應用等專業領域，學習如何利用基礎理論實際應用於畜產品加工上，以冀提升畜牧產值，增加經濟效應。此外，學生亦接受嚴謹且專業之儀器分析與邏輯思考訓練，使學生對畜產領域有了更深層的認知。承蒙恩師之悉心指導及栽培，順利於民國 95 年 1 月完成此碩士論文。

## X、附錄

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。