

正本

收文	編號	第 097	號
	日期	民國 108.4.1	

檔 號：
保存年限：

衛生福利部 函

機關地址：11558 台北市南港區忠孝東路六段488號
傳 真：(02)2653-1062
聯絡人及電話：李貞嫻(02)2787-8000#7393
電子郵件信箱：chlee@fda.gov.tw

50041

彰化市城中北街11號

受文者：臺灣中藥工業同業公會

發文日期：中華民國108年3月28日

發文字號：衛授食字第1071303266號

速別：普通件

密等及解密條件或保密期限：

附件：

主旨：「健康食品之促進鐵吸收功能評估方法」，業經本部於中華民國108年3月28日以衛授食字第1071303260號公告修正，名稱並修正為「健康食品之促進鐵可利用率保健功效評估方法」，並自即日生效，請查照。

說明：

- 一、旨揭「健康食品之促進鐵吸收功能評估方法」修正草案，名稱並修正為「健康食品之促進鐵可利用率保健功效評估方法」，業經本部於中華民國107年2月12日以衛授食字第1061304053號公告於行政院公報，踐行法規預告程序。
- 二、旨揭公告請至行政院公報資訊網、本部網站「衛生福利法規檢索系統」下「最新動態」網頁或本部食品藥物管理署網站「公告資訊」下「本署公告」網頁自行下載。

正本：臺灣中藥工業同業公會(不含附件)

副本：

部長陳時中 出國

政務次長何啓功 代行

裝

訂

線

衛生福利部公告
中華民國 108 年 3 月 28 日
衛授食字第 1071303260 號

主 旨：修正「健康食品之促進鐵吸收功能評估方法」，名稱並修正為「健康食品之促進鐵可利用率保健功效評估方法」，並自即日生效。

依 據：健康食品管理法第三條第二項。

公告事項：

- 一、修正「健康食品之促進鐵吸收功能評估方法」，名稱並修正為「健康食品之促進鐵可利用率保健功效評估方法」。
- 二、自本公告生效日起 2 年內，申請健康食品查驗登記之案件，其試驗如係於本公告生效日前已開始執行，亦得適用本次修正前之公告方法。

部 長 陳時中 出國

政務次長 何啓功 代行

健康食品之促進鐵可利用率保健功效評估方法

壹、前言

根據聯合國糧農組織與世界衛生組織(FAO/WHO)之多項報告，缺鐵仍是不可忽視的營養缺乏問題之一，缺鐵性貧血除了盛行於經濟落後與開發中國家之外，在經濟富裕之歐美先進國家也沒有完全解決，以學齡前兒童、育齡婦女和孕婦為高風險群。此外，已知鐵攝取和體內鐵堆積過量都會增加氧化壓力而損傷組織，並會增加代謝異常和癌症風險，近代各國之《膳食營養素參考攝取量》(Dietary Reference Intakes, DRI)中不僅訂有鐵建議攝取量(Recommended Dietary Allowance, RDA)，也訂有上限攝取量(Tolerable Upper Intake Level, UL)，以確保國民的健康。

一、鐵營養問題

美國自 1943 年開始強制實行麵粉營養強化措施，添加的營養素包括維生素 B₁、B₂、菸鹼素與鐵，至今各項穀類製品仍然持續加鐵強化。美國的十年健康促進目標《健康國民(Healthy People)》有降低缺鐵盛行率之項目，2010 年並未能達成目標。目前最新的《健康國民 2020 (Healthy People 2020)》第 29 項「營養與體重狀態(Nutrition and Weight Status NWS)中仍有「缺鐵」一項，以降低孩童、育齡婦女和孕婦缺鐵問題為目標。根據其國家營養調查數據(National Health and Nutrition Examination Survey, CDC/NCHS)，以 2005-2008 年之缺鐵率為基準值：1-2 歲嬰幼兒有 15.9%，3-4 歲學齡前兒童有 5.3%，12-49 歲育齡女性有 10.5%；孕婦以 2003-2006 年缺鐵率 16.1% 為基準值。各年齡層預定之改善目標值分別是 14.3%、4.3%、9.4%、14.5%，可見其改善之緩慢而沒有速成之效。

我國之缺鐵與缺鐵性貧血率資料並不充足。1993-1996 年第一次國民營養調查首次瞭解國人之缺鐵率，4 歲以上之總缺鐵率為男性 2.1% 和女性 10.7%，女性從 13-64 歲都有 9% 以上。2000 年以來的國民營養調查資料指出，國小、國中、高中、19-64 歲成人等各年齡層，男女兩性的每日鐵平均攝取量都超過 100% RDA。

然而 2005-2008 年調查之 19 歲以上成人，其缺鐵性貧血率是男性 2% 和女性 8.3%，另有血鐵蛋白過量率是男性 21.5% 和女性 15.8%。由於年齡分層並未配合女性生理階段，育齡女性之缺鐵率並無明確的資料，預期缺鐵率會高於缺鐵性貧血率。

國人缺鐵問題有明顯的性別差異，以女性較男性為嚴重。雖然飲食鐵攝取量達到建議量，也有補鐵的健康食品和其他食品可供利用，但是女性的缺鐵問題仍然不易改善，原因並未深入探究，因此並不明瞭。由於缺鐵問題有個人之差異，並非人人需要補鐵，而且體內鐵儲存大幅增加並不增添益處。因此發展各種補鐵食品以供消費者依個人需要選用，配合個人日常飲食以維護鐵營養之充足，有其積極正面之意義。

二、缺鐵之後果

缺鐵依嚴重程度可分為「無貧血性缺鐵」與「缺鐵性貧血」兩大類，兩者對健康有短期和長期的嚴重危害。貧血發生之前，通常沒有明顯易辨之症狀。貧血發生之後，多種生理機能不良之症狀就明顯可辨，諸如：肌肉勞動效力明顯降低，無法從事劇烈短促的活動，影響肌肉的生理和能量代謝效率，增加心臟的負荷等。缺鐵性貧血與嬰幼兒心理動作(psychomotor)能力不良有關，並且有行為異常的現象，使心智發展明顯較差，包括語言能力差，運動協調與平衡不佳，注意力、反應靈敏度與情緒的分數均明顯較低，甚至有長期的影響，因為長期追蹤發現，缺鐵性貧血幼兒於五年或十年後其認知能力與學習成就仍然較為低落。

無貧血性缺鐵也會降低認知能力，缺鐵之高中女生經過鐵補充之後，可以提升其語言學習與記憶能力。美國 NHANES III 調查中發現，6-16 歲兒童青少年中，缺鐵者的數學得分顯著較健康者為低，風險比例(odds ratio)高達 2.3。富裕社會中無貧血性缺鐵盛行率仍然居高，由於涉及學習發展，故對兒童青少年的鐵營養狀況必須密切注意。

缺鐵還有其他的危害，包括影響免疫機能，導致中性白血球吞噬細菌能力降低，T 淋巴細胞對細胞增生劑或抗原的反應降低；增加鉛中毒的危險，美國

兒童中缺鐵者鉛中毒的比例較健康者高出 3~4 倍，因為缺鐵時小腸負責鐵吸收的蛋白質 DMT1 表現增加，但是它缺乏專一性，故對其他二價金屬元素，包括鉛、鉻等重金屬的吸收率也伴隨增高。

懷孕初期缺鐵會明顯增加新生兒低出生體重的風險，根據流行病學觀察研究，懷孕初期缺鐵與早產、新生兒體重偏低、死胎等相關，危險性上升一至二倍。孕婦缺鐵會使子代罹患精神分裂症的風險升高，也與 10 歲內兒童的肺部功能、氣喘、異位性過敏症狀等有明顯的關聯。其他孕期缺鐵對個體健康的長期影響都是當前重要的研究議題。

三、鐵補充之副作用與過量之風險

我國根據臨床上鐵補充劑的治療經驗，鐵劑可能引發消化道的不適症狀，導致便秘與噁心，空腹食用時最易發生，高鐵量的副作用明顯較大。鐵過量的危害主要發生在消化道和體內組織。飲食鐵的吸收率有限，大量的供鐵會增加消化道中的鐵濃度，足以使病原菌如沙門氏菌的菌數增多，並增強其致病力。鐵的傷害主要來自兩種直接的作用：其一是腸道上皮組織的完整性因鐵引發的氧化壓力而受損，其二是病原菌增生和致病力增強。

組織鐵量若超過儲存機制所能負荷，游離鐵與小分子有機鐵錯合物可催化自由基反應，導致組織發炎、纖維化與硬化等傷害，足以促生肝癌、大腸癌等癌症。

高鐵會惡化代謝問題，統稱為高鐵性代謝異常症候群(dysmetabolic iron overload syndrome, DIOS)。非遺傳性鐵過量會增加代謝症候群和糖尿病等代謝異常的風險。血清鐵蛋白(ferritin)濃度可反映體內的鐵儲存量，也是發炎指標。根據 2005-2008 年國民營養調查資料的分析，臺灣健康成年人的血清鐵蛋白與代謝症候群發展可能有重要關聯。血清鐵蛋白或肝鐵量升高都會增加非酒精性脂肪肝(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)的風險，高量肝鐵會強化胰島素抗性，此種輕微到中度肝鐵過量與胰島素抗性共存的症狀稱為「高肝鐵性胰島素抗性」(insulin resistance associated hepatic iron overload)，高鐵會增加糖尿病風險。

由於鐵過量對代謝的危害不可輕忽，補鐵產品的適用對象必須明確界定。

四、缺鐵的定義與評估指標

營養性缺鐵是指體內鐵儲存耗竭，因而提高貧血的風險，而貧血是缺鐵末期的症狀。缺鐵為漸進而連續的變化過程，初期為體內儲存之鐵耗盡，進而使血漿中運送之鐵短缺，逐漸不敷造血組織之需要，最後導致血紅素之合成不足，而造成貧血症狀。

鐵營養狀況的評估有全套的指標，各項指標代表不同的營養生理功能，配合用於鑑別不同的缺鐵程度(表一)。血清鐵濃度代表血液中運鐵蛋白(transferrin)實際結合運送，以供細胞利用的三價鐵離子(Fe^{3+})，缺鐵或發炎時，其濃度都降低。血清總運鐵容量(total iron binding capacity, TIBC)代表運鐵蛋白最大的運鐵量，缺鐵時運鐵蛋白濃度升高而 TIBC 增高，發炎時運鐵蛋白濃度降低而 TIBC 減少。運鐵蛋白飽和度(transferrin saturation)是血清鐵濃度對 TIBC 的百分比值，健康者約有 30%，缺鐵時會 < 16%。血清鐵蛋白濃度與肝鐵儲存量有正相關性，在缺鐵初期就會減少到 < 12-15 ng/mL，但發炎時卻會升高。血基質(heme)由原紫質(porphyrin)與亞鐵離子結合而成。當骨髓造血組織鐵充足時，紅血球之原紫質可充分利用而濃度 < 30 $\mu\text{g}/\text{dL RBC}$ ；當獲鐵不足時，紅血球生成的原紫質因利用不全而濃度升高 > 70-80 $\mu\text{g}/\text{dL RBC}$ 。

美國之國民營養調查(NHANES)採用的鐵營養指標是：血清鐵蛋白濃度(serum ferritin)、運鐵蛋白飽和度(transferrin saturation)和紅血球原紫質濃度(erythrocyte protoporphyrin)。台灣之國民營養健康狀況變遷調查中，血液常規檢查之紅血球相關指標有：紅血球數目(red blood cell count, RBC count)、血紅素濃度(hemoglobin, Hb)、血(球)比容值(hematocrit, Hct)、平均紅血球容積(mean corpuscular volume, MCV)、平均紅血球血紅素量(mean corpuscular hemoglobin, MCH)、平均紅血球血紅素濃度(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC)等；鐵營養指標主要利用血清鐵蛋白濃度來評量體內鐵儲存，以血清鐵濃度與總運鐵容量(TIBC)計算運鐵蛋白飽和度，以血紅素值評估貧血與否，三

者配合以分別正常、缺鐵與缺鐵性貧血三種狀態。

表一 各項鐵營養指標隨著鐵缺乏程度而改變之參考值

鐵營養 分級/代謝指標	正常	鐵負平衡	儲鐵耗盡	造血缺鐵	缺鐵性 貧血
鐵吸收率 (%)	5-10	10-15	10-15	10-20	10-20
骨髓網狀內皮細 胞鐵量	2-3+	1+	0-1+	0	0
血清鐵蛋白濃度* (ng/mL)	100±60	< 25	< 12-15	< 12-15	< 12-15
血清總運鐵容量* (mg Fe/dL)	330±30	330-360	> 360	> 360	> 360
血清鐵濃度* (mg Fe/dL)	115±50	< 120	< 100	< 60	< 40
運鐵蛋白飽和度* (%)	35±15	< 30	< 30	< 15	< 15
紅血球原紫質濃 度 (µg/dL RBC)	< 30	< 30	< 30	> 100	> 100
血清運鐵蛋白受 器濃度(mg/L)	1.8-4.6	> 4.6	> 4.6	> 4.6	> 4.6
血紅素* (g/dL)	女 ≥ 12 男 ≥ 13	女 ≥ 12 男 ≥ 13	女 ≥ 12 男 ≥ 13	女 ≥ 12 男 ≥ 13	女 < 12 男 < 13
* 臨床上可例行檢測之項目					

五、鐵生體可利用率(Bioavailability)

飲食與補充劑的鐵質之吸收並不完全，因此，食物或飲食中可被人體正常消化、吸收，並滿足正常生理利用的鐵量比率，以「鐵生體可利用率」(bioavailability)表示，可簡稱為「鐵可利用率」(biological value, BV)。

已知影響鐵吸收的主要因素有生理性與化學性兩大類。生理性因素是個人的體內鐵儲存量或鐵營養狀況，儲存量高或鐵營養充足時，鐵可利用率較低；儲存量耗盡或鐵營養不足時，鐵可利用率較高。

化學性因素取決於鐵的化學形式和共存的食物成分。食物中鐵依其化學結

構分為「血基質鐵」(heme iron)與「非血基質鐵」(non-heme iron)兩類。「血基質鐵」主要來自肉類，其吸收不受其他飲食成分的影響，但可受鐵營養狀況之調節，吸收率平均 25%，缺鐵時可提高到 40%，鐵充足時降到 10%。長時間高溫烹調會使「血基質鐵」分解成「非血基質鐵」。「非血基質鐵」來自各種植物性食品，動植物儲存的鐵蛋白等等，其吸收率平均約 7.5%，缺鐵時可提高到 21%，鐵充足時會降為 2.5%。飲食成分會影響「非血基質鐵」的吸收率，促進吸收的成分主要有維生素 C 和禽畜魚等肉類；抑制吸收的成分主要有植酸、膳食纖維、多酚類、單寧等。這些促進與抑制鐵吸收的成分與鐵共食時可發揮效應，利用加工技術改變食物的組成分，增加促進吸收的條件，或減少抑制吸收的成分，都可以改善食物的鐵可利用率。

食品添加物使用的鐵化合物以「非血基質鐵」為多，並可具有多種化學形式，包括三價鐵(Fe^{3+})和亞鐵(Fe^{2+})的無機化合物，或其與螯合劑結合的有機錯合物，以及元素態鐵(Fe^0)。鐵化合物的「生體可利用率」受化學與物理性質的影響。亞鐵(Fe^{2+})化合物高於三價鐵(Fe^{3+})化合物，因為前者的水溶性較高。分子式相同的鐵化合物會因生產製造技術不同而有不同的物理形態，如顆粒大小、表面積和多孔性等，導致溶解性不同而影響「生體可利用率」。

六、鐵可利用率之評估原理

食物或食品之鐵可利用率的評估可採用動物實驗和人體食用研究模式進行。動物實驗模式以硫酸亞鐵為對照，將各種鐵補充劑或含鐵食品等鐵源的生體可利用率量化，以「相對利用率(relative biological value, RBV)」表示。人體食用研究模式是以鐵儲存量與血紅素值為指標。

動物實驗法採用最為普遍的是列入 AOAC (Association of Official Analytical Chemists)之「大鼠血紅素再生法」(rat hemoglobin repletion bioassay)。其測量原理是利用缺鐵性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利用率，可用來區別不同鐵源的利用效率。此法屬於「終點」(end-point)

測量法，符合鐵可利用率的定義。動物實驗法之主要限制是可能低估促進鐵吸收成分之效應，因為缺鐵性貧血大鼠的鐵吸收率很高，使得其他促進因子的作用無法加成表現。AOAC 法自 1974 年建立以來並無任何修訂版本，然而隨著動物實驗技術之進步，以及鐵吸收機制之新知，其基礎飼料配方已不適用，故本評估方法之配方（表三）乃採用 AIN-76 與 AIN-93 為基礎，並參考前行政院衛生署委託計畫研究報告《改良並建立我國保健食品補鐵機能評估的檢測方法》而修訂。

人體食用研究模式直接反映鐵之利用，有多種測量方法，其中最為可行的是以缺鐵性貧血者或缺鐵者為受試對象，經施予鐵補充後，定期追蹤血紅素值與血清鐵蛋白濃度等鐵營養相關指標之增加量，據以評估鐵可利用率。

健康食品經由改變鐵之形式，提供促進鐵吸收之成分或去除抑制鐵吸收之成分等策略以提高食品之鐵可利用率，改善缺鐵狀態，終必驗證對人體有效，以達到保障健康之效益。

貳、評估實驗要件與檢測方法

本評估試驗得選擇「人體食用研究」或「動物實驗」之一進行。試驗原始數據紀錄必須保留供查核。

一、人體食用研究

鐵為人體之必需營養素，飲食吸收之鐵會用於合成血紅素與充實人體之鐵儲存，以避免貧血和缺鐵。人體食用研究採用終點指標血紅素濃度與血清鐵蛋白濃度等，可直接反映人體利用飲食鐵之有效成果，為國內外普遍採用之研究與健康檢查方法。各項常用的鐵營養血液檢驗指標均可利用現有的臨床檢驗技術、程序、試劑與儀器妥善執行。

(一) 執行單位與執行人：

本評估試驗原則上應委託具有充分設備之國內外大學食品、營養、醫藥等相

關研究所、教學醫院以上之醫療機構或具公信力之研究機構執行，以維持客觀與可靠性，並應遵循人體研究法。試驗計畫主持人必須具備足夠鐵營養之專業背景與研究經驗或著作。試驗必須有相關專長的醫師參與，且事先須通過執行單位或相關之人體研究倫理審查委員會（Institutional Review Board, IRB）或研究倫理委員會（Research Ethics Committee, REC）之核准，才得開始進行試驗，並遵循衛生機關對健康食品人體食用研究之相關規定。試驗報告須檢附 IRB 或 REC 同意書。

實驗流程如表二所列。健康食品所添加之各項成分與製造所用技術，應符合我國「食品安全衛生管理法」、「食品添加物使用範圍及限量暨規格標準」等相關法規。

（二）實驗對象：

1. 納入條件：

參試者應為 65 歲以下之成年健康女性，經臨床鐵營養評估為缺鐵（鐵蛋白濃度 $< 15 \mu\text{g/L}$ 且運鐵蛋白飽和度 $< 15\%$ ，以及 $12 \text{ g/dL} \leq \text{血紅素濃度} < 16 \text{ g/dL}$ ），或缺鐵性貧血（鐵蛋白濃度 $< 15 \mu\text{g/L}$ 且運鐵蛋白飽和度 $< 15\%$ ，以及 $10 \text{ g/dL} \leq \text{血紅素濃度} < 12 \text{ g/dL}$ ）。

2. 排除與退出標準：

篩檢期間進行血液鐵營養指標檢驗，以確認參試者之鐵營養狀況符合納入條件，同時應排除懷孕或哺乳婦女，並由醫師診斷，排除任何肝臟與造血組織之重大疾病、鐵吸收異常之疾病史、海洋性貧血等遺傳性疾病、精神疾病、婦科疾病、腎功能異常、接受消化道手術，有感染與發炎症狀等之患者、近三個月有輸血者，以及其他醫師判定不宜參與實驗之對象。近三個月內食用鐵補充劑或含鐵營養補充品者也需排除。

（三）實驗分組與研究規劃：

依產品特性採用雙盲或單盲法進行，並應製備合理之「安慰劑」以供利用。實驗組依照產品說明服用「測試食品」，對照組則依照產品說明服用「安慰劑」【含有足夠符合國人鐵建議攝取量（Recommended Dietary Allowances, RDA）70%之

產品】」。研究人員應指導受試者定期領取測試食品或安慰劑，並且以服用紀錄或其他合理可行之指標追蹤服用狀況，確認受試者之合作度。

產品試驗組之人數至少 20 名。符合資格之參試者進入適應期，先進行飲食評估與常規體檢。飲食評估可利用飲食頻率問卷評量近三個月的鐵平均攝取量、鐵補充劑或含鐵營養補充品之攝取狀況。體檢方面，先進行一般常規體檢【含安全性指標，詳閱貳、一、(五)】，測量身高與體重，在抽血檢測須包含各項鐵營養指標【詳閱貳、一、(四)】，作為食用研究期間飲食指導與評估之依據。

進入為期兩週的適應期時，由營養師或研究人員提供個別指導與說明。此期內供應每人兩週份量產品，並提供各項紀錄表單，輔導其練習執行，記錄食用狀況、不適或副作用，以了解其接受度與合作度，並回答各項疑問。經確認參試者了解各項配合程序並願意充分合作之後，開始介入實驗，每 2-4 週提供產品一次，並定期查核各項紀錄。

產品介入試食時間為連續三個月，可視產品特性或試驗結果延長時間，但不宜超過六個月。試驗期間，研究人員應明訂參試者之飲食原則，嚴禁食用與實驗無關之含鐵補充劑或營養補充品，避免額外自行攝取任何干擾鐵吸收之影響因子，以維持日常之飲食型態與習慣為宜，並督導參試者執行各項紀錄至試驗結束，盡可能記錄其有較明顯變化的部分。

參試者之紀錄包括產品食用紀錄、飲食紀錄與健康紀錄。產品食用須每日記錄食用時間和攝取數量。飲食紀錄由營養師輔導，每個月至少記錄三天飲食內容，可採用書面紀錄或線上紀錄，以評估實驗期間之飲食營養攝取狀況，以供計算熱量、三大熱量營養素、鐵與其相關之營養素。健康紀錄包括每兩週之體重、月經狀況、平日健康症狀，諸如疾病、就醫、服藥、噁心、便秘、消化道不適等等。每兩週由營養師查核各項紀錄。

測試產品食用期滿時，抽血並收集全血和血清樣本以供檢驗鐵營養之相關項目，以評估鐵營養狀況之變化。

(四) 血液檢驗項目與方法：

鐵營養血液檢驗項目包括下列三大類指標。各項檢驗採用現行臨床檢驗之

方法與程序執行。

1. 紅血球相關指標

必測：紅血球數目 (RBC count)、血比容值 (Hct)、平均紅血球容積 (MCV)、平均紅血球血紅素量 (MCH)、平均紅血球血紅素濃度 (MCHC)、血紅素濃度 (Hb)。

2. 鐵營養相關血液生化指標

必測：血清鐵濃度 (serum iron)、血清總運鐵容量 (TIBC)、運鐵蛋白飽和度 (transferrin saturation)、血清鐵蛋白濃度 (serum ferritin)；

選測：血清運鐵蛋白受體 (serum transferrin receptor)、紅血球原卟啉濃度 (erythrocyte protoporphyrin) 等相關指標。

3. 發炎指標

必測：C 反應蛋白 (C-Reactive Protein, CRP)；

選測：鐵調節素 hepcidin 等。

(五) 安全性評估：

為觀察攝取受試樣品期間是否會產生一些不良之副作用，應執行本安全性評估。檢測指標如下：

1. 必測項目

- (1) 一般狀況—精神狀況、睡眠、厭食、腸胃症狀、血壓、脈搏、呼吸次數
觀察並記錄受試者在實驗期間之精神狀況、睡眠、厭食以及有無其他腸胃症狀等。並定期測量血壓、脈搏及呼吸次數等。
- (2) 血液常規檢查—除紅血球相關指標外，還需檢測白血球細胞數目
定期抽血測量白血球細胞數目。其測定方法，可由實驗室用公認之方法自行分析，或由教學醫院利用血液生化自動分析儀器分析。
- (3) 血液生化分析—血脂質、血糖、肝功能、腎功能、甲狀腺功能
定期抽血測量血脂質 (TG、TC、free fatty acid、LDL-C 及 HDL-C)、血糖、肝功能 (GOT、GPT、 γ -GT、白蛋白)、腎功能 (尿素氮、肌酸酐、尿酸)、甲狀腺功能等項目。其測定方法，可由實驗室用公認之方法自行分析，或由教學醫院利用血液生化自動分析儀器分析。

2. 選測項目

(1) 血液生化分析—血中酮體濃度及電解質平衡狀態

定期抽血測量血中酮體以及電解質（鈉、鉀）等項目。其測定方法，可由實驗室用公認之方法自行分析，或由教學醫院利用血液生化自動分析儀器分析。

(2) 尿液檢查—酸鹼值、尿蛋白、尿糖

定期收集受試者尿液分析酸鹼值、尿蛋白及尿糖等項目。可由實驗室用公認之方法自行分析，或由教學醫院利用血液生化自動分析儀器分析。

(3) 心肺功能檢查—心電圖、肺功能檢查

定期檢測受試者之心臟功能及肺功能。心臟功能以心電圖偵測，肺功能以肺活量、一秒用力吐氣量等項目判定。建議由醫院醫事技術人員負責檢測及判讀。

(六) 實驗劑量：

由於鐵是必需營養素，國人飲食中已經有相當之供應量，補鐵產品之一人份每日供鐵量應以膳食營養素參考攝取量為依據，原則上不宜超過鐵建議攝取量(RDA)之 70%，以免鐵可利用率高之產品增加鐵過量之風險。

(七) 數據之統計分析：

首先根據健康紀錄與發炎指標確認鐵營養狀況未受發炎之干擾，組內各項指標隨服用時間的變化以 paired t-test 檢測其差異性；各指標的變化量以服用後對服用前之差值表示，實驗組與對照組之間各指標變化量的差異性以配對 t 檢定 (student t test) 分析。統計顯著性檢定標準訂於 $p < 0.05$ 。

(八) 結果評定

食用產品後，測定前述鐵營養血液檢驗指標【貳、一、(四)、1、2、3】，經統計分析【貳、一、(七)】後實驗結果符合下列 1 及 2，即代表該產品具有提高鐵可利用率之效果。

1. 實驗組各項指標值都無呈現顯著性負向變化，具有改善或持平趨勢【若加測選測指標，其結果亦應符合本規定】；
2. 鐵營養相關血液生化指標中，實驗組在血清鐵蛋白濃度或運鐵蛋白飽和度至

少有一項以上表現，相比於對照組具顯著性之增加；且紅血球相關指標中血紅素濃度、紅血球數目、血比容、平均紅血球容積、平均紅血球血紅素量、平均紅血球血紅素濃度其中至少有一項以上表現，相比於對照組具顯著性之增加。

表二 鐵可利用率之人體食用研究流程

徵請期： 邀請合格 之參試者	<ol style="list-style-type: none"> 1. 納入：65 歲以下成年健康女性。 2. 排除：孕乳婦，近三個月內食用鐵補充劑或含鐵營養補充品，有肝、造血組織、婦科疾病、腎功能異常、鐵吸收異常之疾病史、海洋性貧血等遺傳性疾病、精神疾病、接受消化道手術、近三個月有輸血者，有感染與發炎症狀等。
篩檢期	<ol style="list-style-type: none"> 1. 飲食評估鐵攝取狀況 2. 血液檢驗： <ol style="list-style-type: none"> a. 缺鐵(鐵蛋白濃度$< 15 \mu\text{g/L}$ 且運鐵蛋白飽和度$< 15\%$，以及 $12 \text{ g/dL} \leq \text{血紅素濃度} < 16 \text{ g/dL}$) b. 缺鐵性貧血 (鐵蛋白濃度$< 15 \mu\text{g/L}$ 且運鐵蛋白飽和度$< 15\%$，以及 $10 \text{ g/dL} \leq \text{血紅素濃度} < 12 \text{ g/dL}$)
適應期	<p>營養師或研究人員個別進行：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 提供產品食用說明 2. 各項紀錄指導：食用紀錄、飲食紀錄、健康紀錄等 3. 提供 2 週用量之產品 4. 查核紀錄以確認接受度、不適或副作用、配合度等
介入期(3 個月-6 個月)	<ol style="list-style-type: none"> 1. 每次提供 2-4 週用量之產品 2. 每兩週查核各項紀錄 3. 試食時間為連續 3 個月，可視產品特性或試驗結果延長時間，但不宜超過 6 個月 4. 介入期結束時抽血檢驗
數據分析 與統計	<p>組內各項指標隨服用時間的變化以 paired t-test 檢測其差異性；各指標的變化量以服用後對服用前之差值表示，實驗組與對照組之間各指標變化量的差異性以配對 t 檢定 (student t test) 分析。統計顯著性檢定標準訂於 $p < 0.05$。</p>
評定	<p>經統計分析【貳、一、(七)】後實驗結果符合下列要求，則為促進鐵可利用率之健康食品：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 實驗組各項指標值都無呈現顯著性負向變化，具有改善或持平趨勢【若加測選測指標，其結果亦應符合本規定】； 2. 鐵營養相關血液生化指標中，實驗組在血清鐵蛋白濃度或運鐵蛋白飽和度至少有一項以上表現，相比於對照組具顯著性之增

	加；且紅血球相關指標中血紅素濃度、紅血球數目、血比容、平均紅血球容積、平均紅血球血紅素量、平均紅血球血紅素濃度其中至少有一項以上表現，相比於對照組具顯著性之增加。
--	---

二、動物實驗：

(一) 執行單位與執行人：

本評估試驗原則上應委託具有充分設備之國內外大學食品、營養、醫藥等相關研究所、教學醫院以上之醫療機構或具公信力之研究機構執行，以維持客觀與可靠性。試驗計畫主持人必須具備足夠鐵營養之專業背景與研究經驗或著作。實驗必須事先經過執行單位之實驗動物照護及使用委員會或小組審查通過後執行，並需檢附核准證明文件。

(二) 實驗動物與飼養：

動物之來源及飼養應遵循實驗動物照護及使用委員會或小組核准之程序以及行政院農業委員會發布之實驗動物管理與使用之相關指引。

可採用 Wistar 或 Sprague Dawley 等之雄性大鼠，鼠齡限定為離乳，約三至四週大，體重不宜超過 70 公克，以快速達到缺鐵性貧血階段，有利於縮短耗鐵期時間，因為動物體內之鐵儲存量與體重成正比，影響耗鐵期時間長短與缺鐵程度。

大鼠個別飼養於不鏽鋼籠中，動物室溫度維持在 $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ，溼度維持 50%，光暗週期各為 12 小時。實驗期間供給去礦物質之飲水。

(三) 實驗設計與動物分組

採用大鼠血紅素再生法，簡稱「血紅素再生法」，主要參考資料為前行政院衛生署委託計畫研究報告《改良並建立我國保健食品補鐵機能評估的檢測方法》。實驗之操作與藥品器具須避免任何鐵汙染之風險。

實驗期程分為耗鐵期與再生期兩階段，動物實驗之流程如圖一所示。耗鐵期使用缺鐵之基礎飼料配方(表三)，誘發動物產生缺鐵貧血症狀，以血紅素濃度降至 $< 6 \text{ g/dL}$ 為目標(該誘發所需時間最長約為 28 天)，即可進行下一階段的實驗再生期。耗鐵期間可以尾巴採血法採取血樣，測量血紅素濃度以追蹤血紅

素值變化，並應每週記錄體重。動物達到預定之缺鐵貧血程度後，進入再生期之前須秤量體重，並自尾巴採血收集全血，以供測量血紅素值。

再生期分為鐵標準組與補鐵產品組，分別以硫酸亞鐵和補鐵產品供鐵，為期 14 天，期間定時記錄飼料攝取量，產品攝取量與體重。再生期滿時秤量體重，並自尾巴採血收集全血，以供測量血紅素值。

1. 基礎飼料配方

「基礎飼料」即缺鐵飼料，也作為「血紅素再生期」（簡稱「再生期」）搭配補鐵產品的基礎配方。配方組成根據 AIN-76 或 AIN-93G，其礦物質混合物中不加鐵，其組成列於表三，此飼料之鐵濃度應不超過 3 ppm。

表三 大鼠血紅素再生法用「基礎飼料」AIN-76 與 AIN-93G 配方的組成

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

2. 再生期動物分組

再生期的動物實驗分為兩種設計：劑量反應實驗與單劑量對照實驗，可依產品之需要而擇一使用。

兩種設計皆區分為「鐵標準對照組」（簡稱「鐵標準組」）與「補鐵產品組」（簡稱「產品組」）。「鐵標準組」飼以「鐵標準飼料」，「補鐵產品組」飼以含鐵產品。

(1) 劑量反應實驗

「鐵標準組」供應之飼料鐵量有三種濃度，乃以「基礎飼料」添加 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ，配製成一套鐵濃度為 6、12、18 ppm 之飼料。「產品組」之鐵源供應方式可依含鐵產品型態而選用合宜的形式，諸如粉末、液體等，或添加於「基礎飼料」餵飼，或單獨飲用，或管餵等。動物每日從產品攝取的鐵量應相當於標準鐵之攝取量，故可採用對飼策略(pair feeding)。產品單獨食用時，動物以基礎飼料餵飼。鐵標準組與產品組各需 3 組，共需 6 組動物，每組動物 6-7 隻。

(2) 單劑量對照實驗

供應之鐵量採用一種濃度，於 12-20 ppm 範圍中自行選定。鐵標準組與產品組各 1 組，共需 2 組動物，每組動物 6-7 隻。

「鐵標準組」作為產品組之對照，可有多種供鐵方式。鐵標準飼料可依照選定之鐵濃度於「基礎飼料」添加 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 配製而成。若產品為液態，則可配置硫酸亞鐵溶液，溶劑可採用無鐵之液態產品，依照選定之鐵濃度計算每日供鐵總量，配製成鐵標準溶液以供動物飲用或管餵，每日飲用或管餵體積與產品組相同，此時動物同時飼以基礎飼料。

「產品組」之鐵源供應方式可依含鐵產品型態而選用合宜的形式，諸如粉末、液體等，或添加於「基礎飼料」餵飼，或單獨飲用，或管餵等。動物每日從產品攝取的總鐵量應相當於標準鐵之每日攝取量，故可採用對飼策略(pair-feeding)。產品單獨食用時，動物飼以基礎飼料。

(四) 功效指標與分析計算方法

針對產品與飼料應進行鐵濃度定量分析。針對大鼠的鐵營養狀況，應進行血紅素濃度定量。其他佐證之指標可包括組織指標如肝臟與脾臟重量與比例、肝鐵含量；血液指標如血清鐵濃度、血清總運鐵容量(TIBC)、運鐵蛋白飽和度、血清鐵蛋白濃度等。各項指標之測量可選用各種市售之試劑套組。

再生期間，標準鐵之攝取量以各組飼料鐵濃度乘以飼料攝取重量而得，產品鐵之攝取量以產品鐵濃度乘以產品攝取體積而得。大鼠的血液體積以每公克

體重有 0.067 mL 估計，血紅素的含鐵量以 0.335% 計算。代表鐵利用之生物指標可採用再生後血紅素濃度、再生期血紅素濃度增加量或再生期血紅素鐵增加量，其計算原則列於表四。

表四 血紅素再生法可用鐵可利用率相關項目計算原則

血紅素濃度增加量 (mmol/L)	再生期之血紅素濃度－耗鐵期結束之血紅素濃度
血紅素總鐵量 ($\mu\text{mol Hb/ rat}$)	大鼠體重 \times 0.067 \times 血紅素濃度 \times 0.335%
血紅素鐵增加量 ($\mu\text{mol Fe/ rat}$)	再生期之血紅素總鐵量－耗鐵期結束之血紅素總鐵量
血紅素再生效率 (Hemoglobin regeneration efficiency, HRE%)	血紅素鐵增加量 \div 再生期鐵總攝取量 \times 100%

(五) 數據之統計分析

1. 劑量反應實驗

鐵標準組與產品組之間各項指標的差異針對飼料鐵源和添加鐵濃度或鐵攝取量進行雙因子變異數分析(Two-Way ANOVA)檢定。將各項鐵利用指標對應飼料添加鐵濃度或每日鐵攝取量，以 Pearson's correlation test 進行線性迴歸分析，線性關係顯著時 ($p < 0.05$)，可分別計算兩組劑量反應直線之斜率。以鐵標準組之斜率為 100，產品組斜率之相對百分比值作為產品之相對生物價(relative biological value, RBV)。

2. 單劑量對照實驗

針對體重、體重增加量、血紅素濃度、血紅素濃度增加量、血紅素總鐵量、血紅素鐵增加量、HRE% 等指標，以 Student's t test 檢定產品組與鐵標準組間之差異，顯著性標準訂為 $p < 0.05$ 。以鐵標準組之平均 HRE% 為 100，計算產品組之相對百分比值可代表產品之相對生物價。

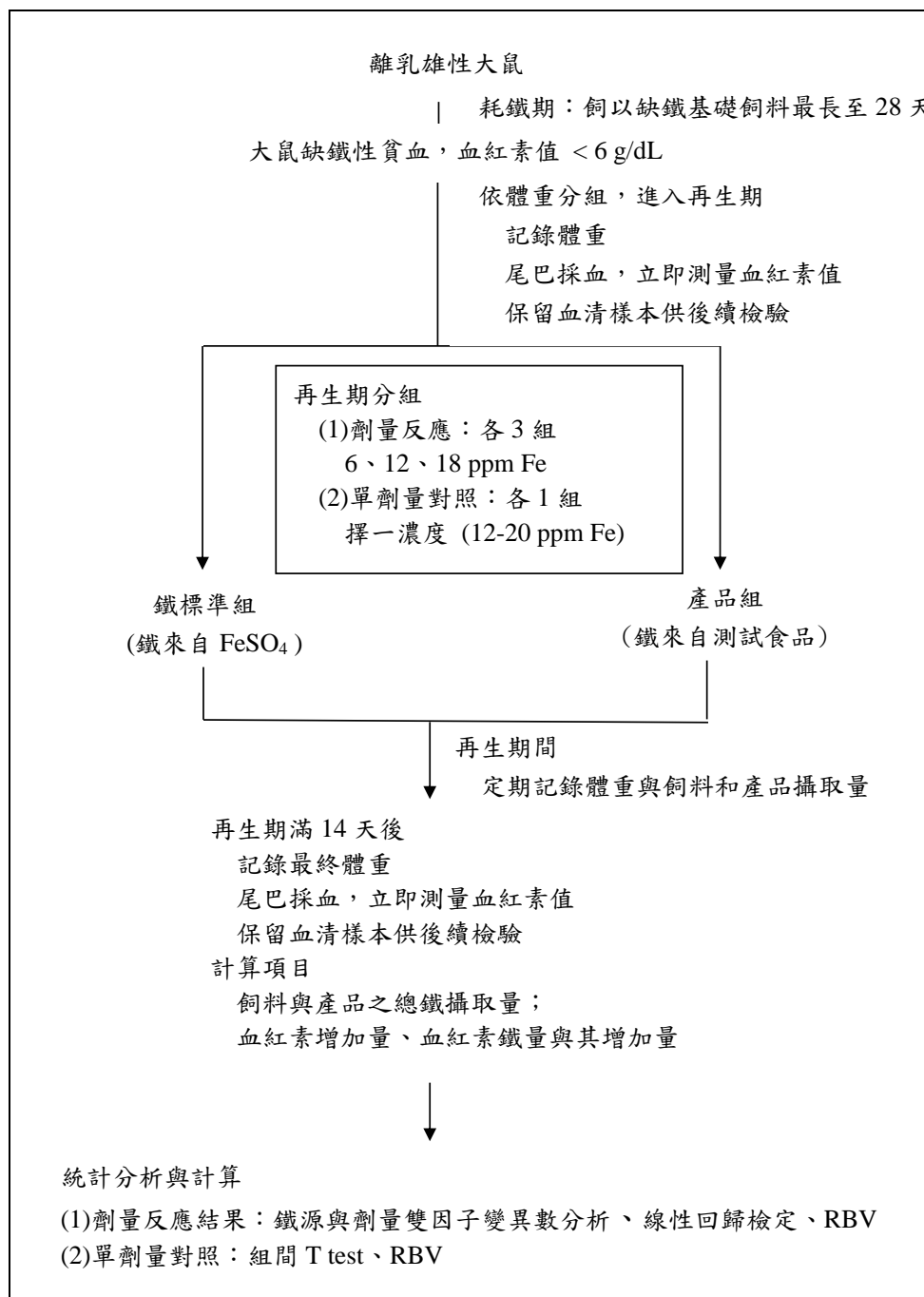
(六) 結果評定

無論劑量反應實驗或單劑量對照實驗，「產品組」之 RBV ≥ 100 時，表示其鐵可利用率相當或優於 FeSO₄，可符合促進鐵可利用率之健康食品。

參、保健功效之宣稱

受試食品依本評估方法推薦之實驗方法，判定其實驗結果獲得明確功效之認定，得使用下列宣稱：

- 一、以缺鐵造成貧血之動物試驗進行評估，得宣稱：『經缺鐵造成貧血之動物實驗結果證實，有助於提高鐵利用率並改善缺鐵狀態』。
- 二、以人體食用研究進行評估，得宣稱：『有助於提高鐵利用率並改善缺鐵狀態』，若其實驗結果與對照組比較，顯示「血紅素濃度(Hb)」及「血比容值(Hct)」具有顯著性增加，得可加宣稱『有助於增加血紅素』。



圖一 大鼠血紅素再生法評估鐵可利用率之實驗流程圖