第三章　研究方法

第一節　研究對象

在台北地區邀請葷食及素食停經婦女參加本研究(附錄一)，以問卷(附錄二)篩選出平均年齡六十歲以下、無接受荷爾蒙治療的葷食及素食停經婦女，參加者必須符合停經一年以上，至少已經有六個月無月經或無子宮出血現象，素食者須符合吃素時間至少一年以上，近一年內沒有長期服用 DHA 產品，所有參加者皆必須為身體健康，體重在理想體重的 20%以內，且無高血脂、高血壓，糖尿病、心臟病、腎臟病、甲狀腺功能或血液凝固功能異常等疾病或藥物治療。

並調查參加者飲食習慣，藉以排除飲食狀況特殊者，如平日以正常飲食，沒有節食或限制飲食中特定項目、暴飲暴食等習慣的人為適合的參加者。

在研究進行前對參加者詳細說明實驗的目的及方法，並得到每一位參加者的書面同意書(附錄三)。每次抽血、集尿前均以郵寄或電話方式提醒抽血日期和注意事項(附錄四)，並對於參加者個別的疑問一一解答，減少他們對服用補充劑的疑慮。研究期間要求參加者維持平日飲食型態，避免額外攝取會影響研究結果的補充劑，如有抗氧化作用的補充劑，或其他相關營養補充品，並且要求確實按照研究設計服用補充劑，及不定期打電話提醒他們，研究結束時回收所有的剩餘補充劑與空瓶。

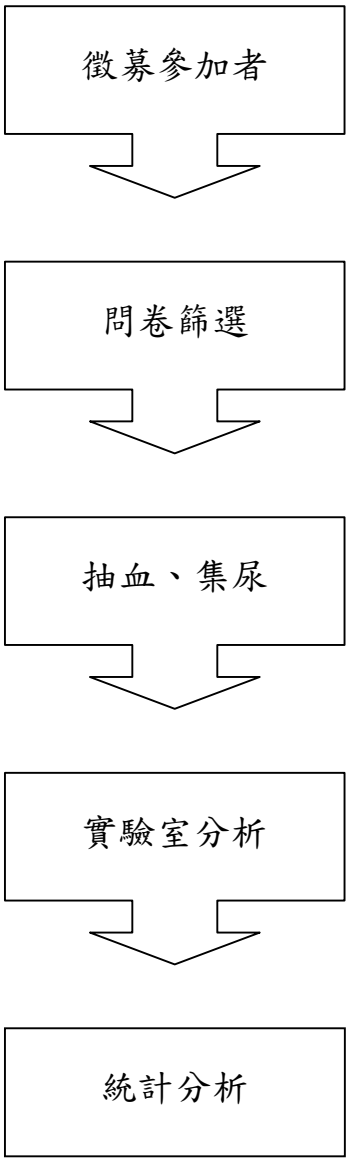
第二節 研究設計

研究初期在台北地區徵募 39 位健康素食停經婦女及 26 位健康葷食停經婦女為本研究參加者。

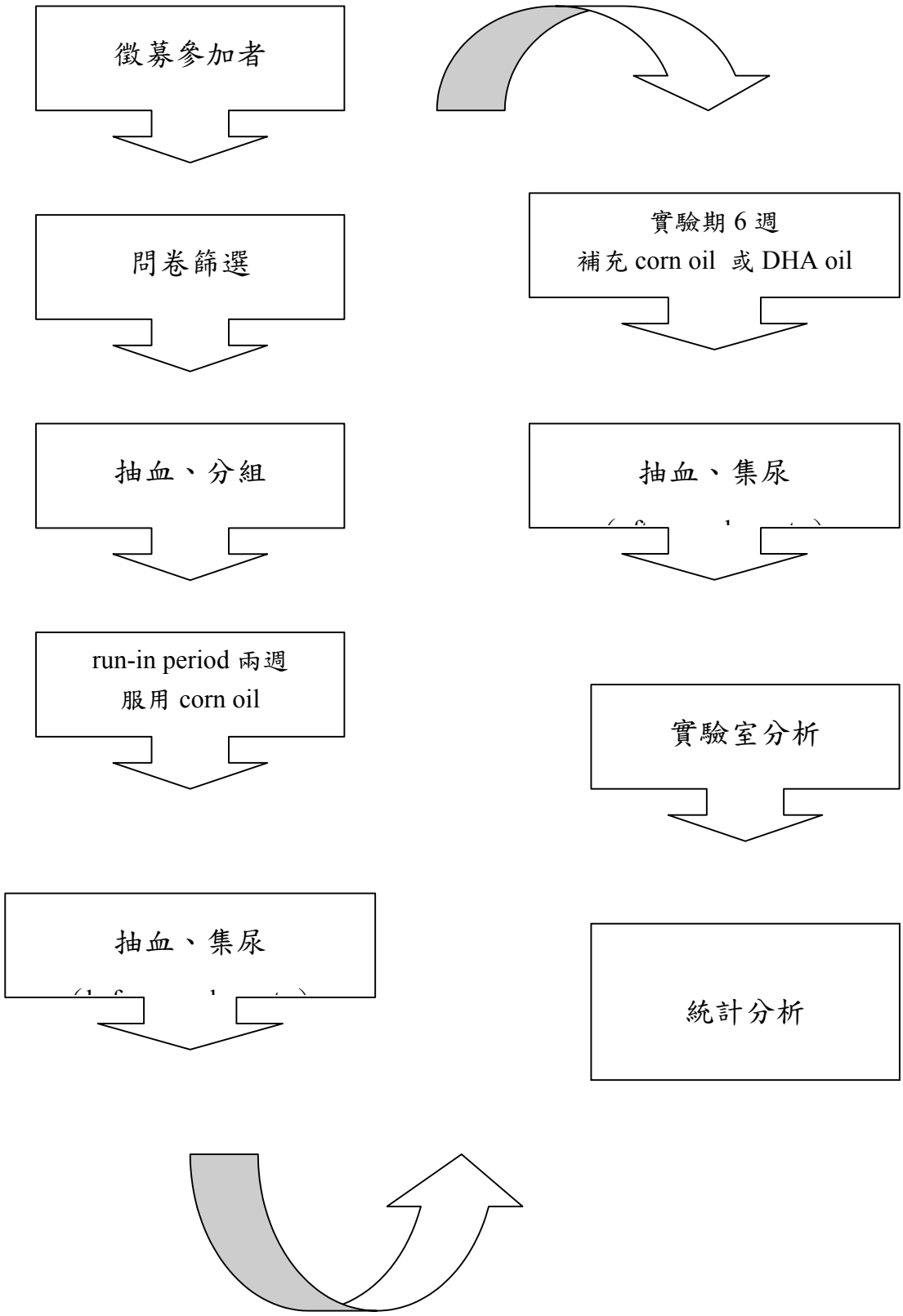
實驗一、收集葷素參加者之血液及尿液樣本，收集後儲存於-70℃留待分析：血漿中 isoflavones 含量(daidzein 與 genistein)及尿液中雌激素代謝產物(2OHE1、16α OHE1)之分佈，並分析血漿中 isoflavones 含量與尿液中雌激素代謝產物之間的相關性。

實驗二、所有素食者在進入正式研究前先測量其血液中膽固醇、三酸甘油酯含量，作為篩選，以排除不適當者，並以此次結果分組：血中三酸甘油酯或膽固醇含量＜200 mg/dl 為血脂正常者(normal)，若≧200 mg/dl 為血脂偏高者。所有素食者在正式進入研究後，先服用 2 週 corn oil 當作 run-in period，接著進入 6 週實驗期，血脂正常者一半補充 corn oil (6 ml/d)為 placebo (normal)組(n=12)，另一半補充 DHA oil (6 ml/d，2.1 g DHA)為 DHA (normal)組（n=12），血脂偏高者皆補充 DHA oil (6 ml/d，2.1 g DHA)為 DHA (hyperlipidemic)組(n=10)。於實驗期期前後收集共兩次血液與尿液樣本。

實驗一設計流程



實驗二設計流程


徵募參加者
問卷篩選
抽血、分組
run-in period 兩週
服用 corn oil
抽血、集尿
實驗期 6 週
補充 corn oil 或 DHA oil
抽血、集尿
實驗室分析
統計分析

第三節 實驗器材

一、實驗儀器

(一)離心機(Centrifuge)

1. 離心機：Herolab Microcen 13。
2. 高速離心機：Sorvall Rt 6000B 。
3. 超高速離心機：Beckman LE8-M80，Ti-50.3 Rotor。

(二)分光光度計(Spectrophotometer)：Spectromic Genesys 5、Spectromic 1001。

(三)高速液相層析儀(High-performance Liquid Chromatography；HPLC) ：

1.Jasco PU-980 HPLC Pump。

2.Jasco UV-975 Detector。

3. μ-BondapakC18(10 μm)，3.9 mm ×30 cm (column) 。

4. Beckman 427 Intergrator。

(四)氣相層析儀(Gas Chromatograph；GC)：

1.美國製 Hewlett Packard 5980 Serices II。

2.美國製 Hewlett Packard 3396 Serices Intergrator。

(五)乾浴加熱器(Dry Bath Heater)：Boekel，Model:110001

(六)恆溫水浴槽(Water Bath)：RECIPRO Shaker Bath BT-15

(七)酸鹼值測定器(PH Meter)：Sciendustry Model：A-300

(八)震盪混勻器(Vortex-Mixtor)：Vm-2000

(九)電動天秤(Electric Scale)：A&D FX-300，Mettler AB104

(十)超音波細胞打碎器(Misonix Model)：XL2000

(十一)生化免疫分析儀(ELISA Reader)

1. Dynatech Laboratories：MRX。
2. Vio-tek instruments inc.，ELX-800；Filter：405 nm。

3. Vio-tek instruments inc.，ELX-800；Filter：450 nm。

4. Vio-tek instruments inc.，ELX-800；Filter：550 nm。

(十二)定量吸管(Pipette) ：Gilson，Nichiryo

(十三)八爪定量吸管(Multi-channel Pipette)：Gilson，8×200μl

(十四)免疫分析盤洗濯機(Microplate Strip Washer)：ELP-40

(十五)控溫器(Thermostat)：NEWLAB KD-2