

第參章、研究方法與步驟

本章將依：一、受試者；二、實驗時間和地點；三、實驗步驟及流程；四、實驗器材和儀器；五、實驗變項；六、實驗設計與控制；七、依變項的測量與控制；八、血液生化分析；九、資料處理等部份予以敘述。

一、受試者

本研究係以徵募篩選方式，徵求 32 名自願的高中女生為受試對象，受試者年齡約介於 16~18 歲之間，實際體重在研究前經測量，均超出理想體重 10 % 以上，身體健康無糖尿病及心血管等疾病，且從未接受過運動訓練。符合前述條件之受試者，另須先徵詢監護人或家長的同意，方得參與本研究。

研究前，首先由研究者向全體受試者說明本研究之目的、方法和整個實驗的流程，以及在實驗過程中必須配合的事項，和實驗可能發生的危險。每位受試者在參與研究前均發給「受試者實驗須知」(附錄一)，並請其簽署「受試者同意書」(附錄二)，另外，受試者均須詳填「運動安全問卷調查表」(附錄三)，以確認其願意遵守本實驗的要求，且目前身體狀況良好。

二、實驗時間和地點

(一) 實驗時間：

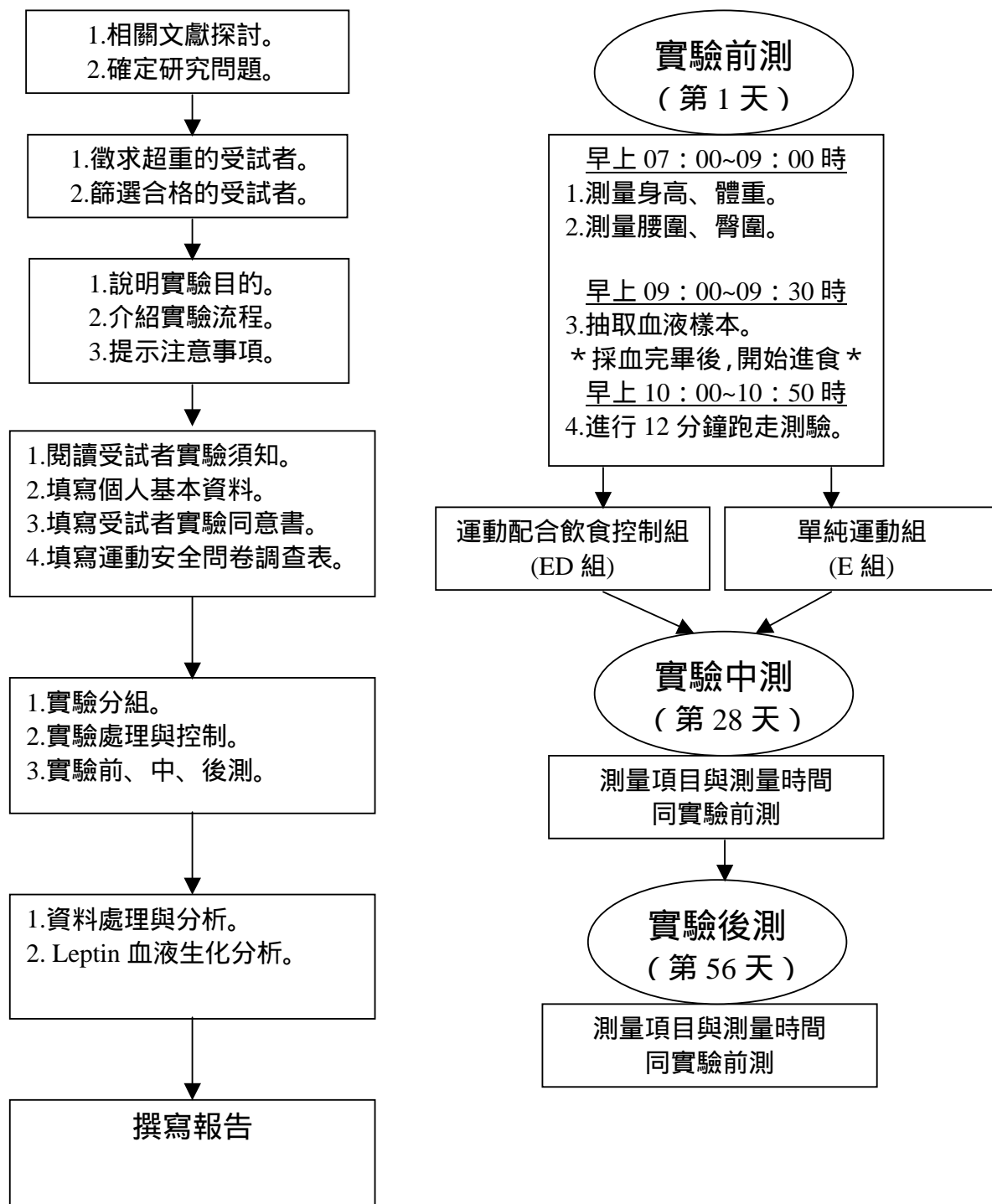
於民國 91 年 10 月 27 日(星期日)起，至 91 年 12 月 21 日(星期六)止，共進行為期 8 週(56 天)的減重實驗。

(二) 實驗地點如下：

- (1) 臺北縣立海山高級中學(臺北縣板橋市漢生東路 215 號)
- (2) 臺北縣板橋第一綜合體育場(臺北縣板橋市漢生東路 278 號)
- (3) 臺北市瀚仕醫學實驗研究所(臺北市重慶北路 2 段 207 號 9 樓)

三、實驗步驟及流程

本研究之實驗步驟及流程，如圖一所示。



圖一、實驗步驟流程圖

四、實驗器材和儀器

- 1.西德製 SECA 707-220 型電子身高體重計 (誤差為 ± 0.1 cm、 ± 0.1 kg)。
- 2.軟皮尺。
- 3.CASIO 碼錶、哨子。
- 4.採血用具 (拋棄式無菌針筒、酒精棉片、玻璃試管、1.5 ml 冷凍管)。
- 5.毛吸管、血液離心機。
- 6.Linco Human Leptin 放射線免疫檢測試劑組 (Radioimmunoassay , RIA-Kit)。
- 7.血清 Leptin 分析儀器：WALLAC 1470 型 WIZARD™ Gamma Counter。

五、實驗變項

(一) 自變項

本研究的自變項共有二個：

- 1.運動訓練和飲食控制 (組別)。
- 2.測驗別 (前、中、後測)。

(二) 依變項

本研究所欲探討的依變項共有六個：

- 1.血清瘦身蛋白濃度。
- 2.體重。
- 3.身體質量指數。
- 4.腰臀圍比。
- 5.身體脂肪百分比。
- 6.十二分鐘跑走。

六、實驗設計與控制

本研究係採用二因子 (two-way ANOVA) 混合設計，來探討不同實驗處理方式的介入對高中超重女生血清瘦身蛋白濃度、肥胖相關指標以及心肺適能的影響。為求研究的嚴謹性，本研究的受試者均選擇年齡相近、單一性別且均超重 10 % 以上，日常生活作息相類似的高中女生為研究對象，並控制採血的時段以及先後順序，以剔除先前文獻所述，性別、年齡、肥胖度、身體活動量、瘦身蛋白的日夜節奏等變項，可能對於血清瘦身蛋白濃度所造成之影響或者干擾。

(一) 實驗處理

參與本研究的 32 名受試者以隨機分派方式，區分為運動配合飲食控制組

(ED 組, 16 人) 和單純運動組 (E 組, 16 人)。然後, 在 8 週的研究期間, 分別介入兩種不同的實驗處理:

(1) 單純運動組 (E 組): 僅接受每週 3 次, 每次 30 分鐘, 運動強度介於 50 % ~ 70 % HRR_{max} 的運動訓練, 並要求維持日常生活的飲食習慣。

(2) 運動配合飲食控制組 (ED 組): 除接受每週 3 次, 每次 30 分鐘, 運動強度介於 50 % ~ 70 % HRR_{max} 的運動訓練外, 每日的飲食熱量攝取, 均接受嚴格的控制, 估計每日由研究者提供約 1400 Kcal 的飲食熱量, 其中食物營養素成份: 蛋白質約佔 15 %、脂肪約佔 20 %、醣類約佔 65 %, 採高醣低脂的飲食型態。

(二) 運動處方的擬定與介入

參與本研究的受試者, 均為超重的高中女生, 平常較缺乏規律運動習慣且體能水準較差, 為確保受試者在運動訓練過程中的安全性, 除要求受試者據實填寫「運動安全問卷調查表」外, 運動訓練過程中, 強調以循序漸進為原則, 並參考美國運動醫學會 (ACSM, 1995; 2000) 的建議, 審慎客觀的設定可積極促進健康和兼具減肥效果的運動處方。

(1) 運動方式 (mode): 主要是以跑走和跑步等有氧性運動為主, 並在主要運動結束之後, 輔以修正式伏地挺身和曲膝仰臥起坐等兩項徒手肌力訓練, 以增加受試者之肌肉適能。

(2) 持續時間 (duration): 跑走或跑步的主要運動時間均統一為 30 分鐘。

(3) 運動頻率 (frequency): 每週規律集體實施 3 次 (每週一、三、五)。

(4) 運動強度 (intensity): 因考量受試者初期對於長時間規律運動的適應和運動負荷量等問題, 本研究係採用中、低強度的跑走和跑步運動, 運動強度設定在 50 % ~ 70 % HRR_{max} , 受試者的運動負荷感覺為適度 (moderate) 到強烈 (heavy), 運動自覺量表 (RPE) 為 12~16 之間。

(三) 運動強度的監控

為顧及研究的實用性, 受試者在整個實驗的運動訓練過程中, 運動強度均採用間接性「觸診法」(林正常, 民 84) 來予以評估。研究前, 均先教導每位受試者熟悉脈搏的測量方法和個人 50 % ~ 70 % HRR_{max} 的強度範圍, 以便受試者在參與運動訓練時, 可適時調整和記錄個人的運動強度。此後, 在每次運動結束後瞬間, 均由研究者統一吹哨施令並以碼表計時, 受試者則以食指、中指和無名指輕輕按壓橈骨動脈, 計算出 15 秒內的脈搏數之後乘以 4, 藉此估算出運動過程中每分鐘的心跳率, 用以評估該次的運動強度。若受試者所估算出的脈搏數, 無法符合個人 50 % ~ 70 % HRR_{max} 的強度範圍時, 則適時予以指導

和勉勵，受試者每次運動結束後，所實際測得之脈搏數均做成記錄，以便進行分析。

(四) 飲食控制

本研究係參考行政院衛生署於民國 82 年所修訂公佈之「國人每日營養素建議攝取量表」，和美國運動醫學會 (ACSM, 1995; 2000) 對理想的減重計劃中每日能量的攝取，不得低於 1200 Kcal 之建議，針對運動配合飲食控制組 (ED 組) 的 16 名受試者，進行 8 週的飲食控制，以便和單純運動組 (E 組) 的 16 名受試者進行對照。

研究期間，ED 組飲食熱量控制的多寡和內容，均依據受試者的理想體重來估算，並參考相關的文獻 (劉建恆等人，民 86; Grimm, 1999; Halle 等人, 1999) 以及徵詢營養學專家的意見後所擬定。估計 ED 組每人每天的飲食熱量攝取擬限制為 1400 Kcal，其中食物營養素成份：蛋白質約佔 15 %、脂肪約佔 20 %、醣類約佔 65 %，採高醣低脂的飲食型態。ED 組在實驗期間，須完全配合接受研究者每日所提供的飲食控制，不得任意進食，或者增加能量攝取，但飲用白開水除外。每人每天均給予相同的食物類別和食物份量的均衡飲食 (飲食菜單、份量範例，詳見附錄四、附錄五)，並避免高熱量和油脂類食物的攝取。若逢假日，則由研究者提供受試者飲食菜單，由受試者自行準備並記錄之，另請家長或監護人協助指導監督。

七、依變項的測量與控制

(一) 瘦身蛋白 (Leptin): 本研究中血清瘦身蛋白樣本的取得，係由合格的醫護人員在實驗前 (第 1 天)、實驗中期 (第 28 天) 和實驗後 (第 56 天)，三個相同固定時段，早上的 9:00 ~ 9:30 (30 分鐘內)，以拋棄式無菌針筒，依序從每位受試者的手肘橈骨靜脈抽取 5 ml 血液，然後注入不含抗凝血劑之玻璃試管中，並以乾冰迅速冷藏，逕送醫學檢驗實驗室，並使用 Linco Human Leptin 放射線免疫檢測試劑組 (Radioimmunoassay, RIA-Kit) 來進行分析。受試者在接受採血前，均須空腹禁食 10~12 小時。

(二) 身體質量指數 (BMI): 計算公式為體重 (kg) ÷ 身高的平方 (m^2)，單位為 kg/m^2 。身高的測量，是由受試者脫鞋站立於電子身高計上，測量頭頂至腳底間，通過耳垂線的最大垂直距離，單位為公分 (cm)。體重的測量，是由受試者穿著輕便的 T 恤和短褲，赤腳站立於液晶顯示電子體重計 (廠牌為西德製 SECA 707-220 型電子身高體重計，誤差為 ± 0.1 公分； ± 0.1 公斤) 進行測量，單位為公斤 (kg)。

(三) 腰臀圍比 (WHR): 計算方法為腰圍 (cm) ÷ 臀圍 (cm)。腰圍的測量, 是以軟皮尺測量受試者腰部水平切面軀體圍的最小值。臀圍的測量, 則以軟皮尺測量受試者臀部水平切面軀體圍的最大值。腰臀圍兩部位均重複測量 3 次, 取中間平均測量值。

(四) 身體脂肪百分比的估計: 本研究對受試者體脂肪的評估, 係採用劉兆惠 (民 88) 以高中女生為受試者所導出的體脂肪迴歸預測公式。體脂肪百分比 (%) = $(1.154345 \times \text{BMI}) + 1.514579$ 。此一公式與水中稱重法實測結果之相關係數 r 值為 .722。

(五) 12 分鐘跑走: 本研究是以 12 分鐘跑走的距離, 作為評估受試者心肺適能之指標。受試者於參加此項測量前, 均予以詳細說明此測驗之目的, 並鼓勵受試者在 12 分鐘的測驗時間內, 盡個人最大的努力, 以穩定的跑步方式完成最遠的距離。測驗時間結束時, 由施測人員以哨音通知受試者, 並由服務同學協助記錄受試者在時間終止時, 所在位置的距離, 加上其先前所完成的圈數, 即為 12 分鐘跑走之距離。

八、血液生化分析

受試者血清瘦身蛋白 (Leptin) 濃度的檢驗, 係採用 Linco Human Leptin 放射線免疫檢測試劑組 (Radioimmunoassay, RIA-Kit) 來進行分析, 檢測之濃度範圍為 0~100 ng/ml。

分析地點: 臺北市瀚仕醫學研究所實驗室。

分析儀器: WALLAC 1470 型 WIZARD™ Gamma Counter。

檢驗分析流程如下:

(一) 試劑配製

1. 檢測緩衝溶劑, 40ml (0.05M phosphosaline pH 7.4 containing 0.025M EDTA, 0.08 % Sodium Azide, 1 % RIA grade BSA and 0.05 % Triton X-100)

2. 人類瘦身蛋白抗體, 26ml。

3. 放射線碘 125 標示的人類瘦身蛋白 (^{125}I -Human Leptin, $< 3\mu\text{Ci}$), 先冷凍乾燥使之穩定, 然後再使用已標示的水合緩衝液 (Label Hydrating Buffer, 27ml), 調製水溶液。

4. 已標示的水合緩衝液 (Label Hydrating Buffer), 包含正常兔子的 IgG 作為載體 (carrier), ^{125}I -Human Leptin 必須完全溶解於此緩衝液之中。

5. 調製 Leptin 標準溶液 8 支, 每支 1ml, 各含 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 50, 和 100 ng/ml Leptin 試劑。

6. 定性控制 (low) (high), 各 2ml。
7. 沉澱試劑 260ml。
8. 上述試劑配製完成後, 置於 4℃ 冷凍庫中保存備用。

(二) 檢驗程序

使用 12×72 mm 的硼矽酸鹽 (borosilicate) 或聚丙烯 (polypropylene) 玻璃試管進行以下的步驟：

1. 滴入 300 μ L 之檢測緩衝液至非特殊鍵結 (non-specific binding) NSB 管中 (第 3-4 管), 滴入 200 μ L 至參照管 (Bo) (第 5-6 管), 滴入 100 μ L 至第 7 管, 直至最後一個標本。
2. 滴入 100 μ L 的標準溶液和定性控制液至雙份試管中。
3. 加入 100 μ L 樣本至雙份的試管中。
4. 於各試管中, 加入 100 μ L, ¹²⁵I-Human Leptin。
5. 於各試管中, 加入 100 μ L Leptin 抗體, 但第 1, 2, 3, 4 管除外。
6. 加蓋旋緊, 置於 4℃ 下, 作用 20~24 小時。
7. 加入 1.0ml 的冷卻沉澱試劑至所有試管中, 振盪後, 靜置於 4℃ 下, 20 分鐘。
8. 以 2000~3000xg 的轉速離心 25 分鐘, 倒掉試管上層清液後, 再以 WALLAC 1470 型 WIZARD™ Gamma Counter 進行沉澱物放射量分析。

(三) 計算

以 γ -計量計 (gamma counter) 計算, 並製作曲線圖。程序如下：

1. 計算所有雙份試管之平均值。
2. 減去 NSB 管之平均值, 總計值除外。
3. 計算追蹤鍵結 (tracer bound) 之百分比 (總鍵結數/總數), 其值應在 35~50 % 之間。
4. 分別計算標準溶液和樣本最高鍵結百分比 [% B/B = (sample or standard / total binding) ×100]。
5. 分別在坐標 X 軸和 Y 軸上, 點出 % B/B0 之值, 再將此值取對數 (log) 之後, 將呈現近似直線的曲數線圖。
6. 以插入法比對出未知樣本的 Leptin 值。

(四) 限制

1. 如果兩定性控制組測量值間的差異, 超過 2 個標準差 (SD), 則必須放棄此檢驗值。
2. 若任何一個樣本的複份測量值超過 10 % , 則須重測。

3.Human Leptin RIA-Kit 試劑的靈敏度為 0.5 ng/ml (100 μ L sample size)。

4.Human Leptin 線性值之極限為 100 ng/ml (100 μ L sample size)，任何超過此數值的測試結果皆須重測。

九、資料處理

本研究所得資料，均以 SAS 6.12 版統計軟體進行分析。所有數值資料以平均數 \pm 標準差來表示。統計方法包括：

- (一) 以獨立 t-test，進行變異數同質性考驗分析，檢定 ED 組和 E 組兩組受試者的基本資料和各項前測值是否為均質。
- (二) 以獨立 t-test，檢定 ED 組和 E 組兩組受試者，在實驗期間內所蒐集記錄之運動距離和運動強度，是否有顯著差異。
- (三) 以混合設計二因子變異數分析 (two-way ANOVA)，考驗兩組別 (A 因子) 在不同測驗別 (B 因子) 中，各依變項是否有 A \times B 交互作用效果 (interaction effect) 存在，若交互作用 F 值達顯著水準時，則進行單純主要效果 (simple main effects) 考驗，並以杜凱氏 (Tukey's HSD) 法進行事後比較。
- (四) 以皮爾遜積差相關 (Pearson product-moment correlation)，求各組血清瘦身蛋白濃度實驗前後差值百分比與肥胖指標實驗前後差值百分比之相關。
- (五) 本研究統計顯著水準皆定為 $\alpha = .05$ 。