

國立臺灣體育學院體育研究所
碩士學位論文

補充精胺酸對運動表現與一氧化氮的影響
THE EFFECT OF ARGININE SUPPLEMENTATION ON
EXERCISE PERFORMANCE AND NITRIC OXIDE



研究生：劉宗翰 撰

指導教授：張振崗 教授

中華民國九十六年七月

論文名稱：補充精胺酸對運動表現與一氧化氮的影響
總頁數：117 頁
院校所組別：國立台灣體育學院體育研究所體育組
畢業時間及提要別：九十五學年度第二學期碩士學位論文提要
研究生：劉宗翰
指導教授：張振崗教授

摘要

研究顯示補充精胺酸 (arginine, Arg) 可能可以增加一氧化氮 (nitric oxide, NO) 合成，進而減少運動後血乳酸及氮堆積，提升運動表現。本研究探討運動選手短期口服補充精胺酸，對 NO 合成、血乳酸及氮代謝與運動表現的影響。本研究採隨機交叉設計，以 12 位大學柔道男選手為對象，精胺酸組每日口服精胺酸 6 g，控制組口服安慰劑，為期 3 天，進行反覆高強度無氧運動測試 (負荷 0.05 kp/kg BW，20 秒全力衝刺，15 秒休息，共 13 組)，採集補充前後、運動中及運動後 0、3、6、10、30、60 分鐘血液，檢測血液中 NO、乳酸、氮、各種胺基酸與瓜胺酸濃度，以 photoplethysmography 測量內皮依賴性血管擴張 (Endothelium-dependent vasodilation, EDVD) 反應。精胺酸組運動前及運動後血漿 Arg 濃度較安慰劑組顯著增加，但各時間點 NO、瓜胺酸、乳酸及氮濃度兩組間無顯著差異，補充精胺酸對 EDVD 亦無顯著影響，兩組間運動測試各階段之最大功率、平均功率與 power drop，均無差異。本研究顯示，運動員短期補充精胺酸並未增加 NO 合成作用，連帶對 EDVD、運動表現及減少運動疲勞，亦無顯著影響。

關鍵字：乳酸、氨、胺基酸、毛細管電泳、內皮依賴性血管
擴張

Liu, Tsung-Han (2006). The effect of arginine supplementation on exercise performance and nitric oxide. Unpublished master thesis, National Taiwan College of Physical Education, Taiching.

Abstract

It has been shown that supplementation of arginine (Arg) may help to enhance nitric oxide (NO) production. This may help to reduce exercise-induced blood lactate and ammonia accumulation and to improve exercise performance. The purposes of this research are to investigate the effects of short-term oral supplementation of arginine on NO production, lactate and ammonia metabolism, and exercise performance in athletes. Twelve elite male college judo athletes were randomly assigned to Arg group (6 g/d for 3 d) or control group (placebo) in a crossover design. The subjects underwent repeated high intensity anaerobic test (0.05 kp/kg BW, 20 sec all-out, 15 sec rest, total 13 sets). The blood samples were collected before and after supplementation, during exercise, and 0, 3, 6, 10, 30, and 60 min after the exercise test. Plasma concentrations of NO, lactate, ammonia, amino acids, and citrulline (Cit) were measured. The endothelium-dependent vasodilations (EDVD) were assessed with a photoplethysmography. The results showed that plasma Arg concentration in Arg group was significantly higher than the control group before and after the exercise test. No significant difference was found between the groups in plasma concentrations of NO, Cit, lactate, and ammonia. No significant difference was found between the groups in EDVD. There was no significant difference in peak power, average power, and power drop between the groups. This study suggested that short-term oral supplementation of arginine in athletes could not increase NO production, therefore, EDVD, exercise performance, and lactate and ammonia metabolism during exercise were not changed.

**Key words: lactate, ammonia, amino acids, capillary electrophoresis,
endothelium-dependent vasodilation**

目 錄

中文摘要
英文摘要 III
目 錄 V
表 目 錄 VII
圖 目 錄 VIII
第 壹 章 緒 論	
第一節 研究背景 01
第二節 研究目的 02
第三節 研究問題 02
第四節 研究假設 02
第 貳 章 文 獻 探 討	
第一節 精胺酸補充品對運動表現之影響 03
第二節 補充精胺酸對血管功能之影響 06
第三節 運動訓練對血管功能之影響 09
第四節 毛細管電泳檢測胺基酸 12
第五節 Griess 反應檢測一氧化氮代謝物 17
第 參 章 研 究 方 法 與 步 驟	
第一節 前導實驗 18
第二節 研究對象 18
第三節 實驗設計 18
第四節 運動測試 19
第五節 血液採集與分析 20
第六節 血管擴張與內皮細胞功能檢測 24
第七節 資料分析 25

第肆章	結果與討論	
第一節	結果	26
第二節	討論	34
第伍章	結論與建議	
第一節	結論	42
第二節	建議	42
參考文獻		43
附錄		
附錄一	毛細管電泳 (Capillary Electrophoresis)	
	【 Protocol 】	96
附錄二	Citrulline Determination【 Protocol 】	98
附錄三	Griess Reaction 檢測 nitric oxide	
	【 Protocol 】	101
附錄四	受試者同意書	103
附錄五	附表 1 各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿 Arg、nitrite、Cit 濃度	105
附錄六	附表 2 各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿乳 酸、氨濃度	107
附錄七	附表 3 各時間點精胺酸組與安慰劑組血管功能 指標	109
附錄八	附表 4 精胺酸組與安慰劑組運動表現最大功 率、平均功率、power drop 與疲勞值	111
附錄九	附表 5 精胺酸組與安慰劑組運動表現最大功率 下降值與平均功率下降值	114
附錄十	附表 6 各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿 Leu、Ile、Val、Gln 濃度	116

表目錄

表 2-1	補充精胺酸對運動表現相關研究	59
表 2-2	補充精胺酸對運動代謝相關研究	61
表 2-3	補充精胺酸對內皮依賴性血管擴張影響之研究	62
表 2-4	常用胺基酸衍生化試劑	64
表 2-5	CE分析胺基酸之應用	66
表 3-1	單一胺基酸標準品與 Nor-Leu 檢測濃度	69
表 3-2	CE 檢測胺基酸濃度換算公式	70
表 4-1	選手基本資料表	71

圖目錄

圖 3-1	運動測試及血液採集程序圖	72
圖 3-2	毛細管電泳分析胺基酸標準品	73
圖 3-3	毛細管電泳分析血漿樣本(不含 Nor-Leu)	74
圖 3-4	毛細管電泳分析血漿樣本(含 Nor-Leu)	75
圖 3-5	手指容積脈搏圖(digital volume pulse, DVP)	76
圖 4-1	口服補充精胺酸對 Arg 濃度之藥物動力前導實驗	77
圖 4-2	各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿 Arg 濃度	78
圖 4-3	各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿 nitrite 濃度	79
圖 4-4	各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿 Cit 濃度	80
圖 4-5	各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿乳酸濃度	81
圖 4-6	各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿氨濃度	82
圖 4-7	各時間點精胺酸組與安慰劑組之心跳率	83
圖 4-8	各時間點精胺酸組與安慰劑組血管功能指標之反射指數	84
圖 4-9	各時間點精胺酸組與安慰劑組血管功能指標之硬化指數	85
圖 4-10	精胺酸組與安慰劑組運動表現之最大功率	86
圖 4-11	精胺酸組與安慰劑組運動表現之平均功率	87
圖 4-12	精胺酸組與安慰劑組運動表現之最大功率疲勞值	88
圖 4-13	精胺酸組與安慰劑組運動表現之平均功率疲勞值	89
圖 4-14	精胺酸組與安慰劑組運動表現之 power drop	90
圖 4-15	精胺酸組與安慰劑組運動表現之最大功率下降	

	值與平均功率下降值·····	91
圖 4-16	各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿 Leu 濃度···	92
圖 4-17	各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿 Ile 濃度···	93
圖 4-18	各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿 Val 濃度···	94
圖 4-19	各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿 Gln 濃度···	95

第一章 緒論

第一節 研究背景

高強度運動會造成血乳酸及氨堆積，導致運動疲勞，影響運動表現。短時間高強度運動中，醣酵解作用的副產物乳酸大量堆積在血液及肌肉中，同時因恢復時間不足，造成肌肉中磷酸肌酸（phosphocreatine, PCr）含量減少，導致功率輸出減退。

運動誘發高血氨症（exercise-induced hyperammonemia），主要是因為骨骼肌嘌呤核苷酸循環（purine nucleotide cycle）活性增加所致。運動中隨著強度及時間增加，氨從肌肉擴散至血液，進而運送至其他器官，可能越過血腦屏障（blood-brain barrier），進入中樞神經系統，影響運動表現，過量的氨堆積也是造成運動疲勞的原因之一。

研究顯示，靜脈注射精胺酸後，運動誘發之血漿氨、乳酸增加量顯著減少，運動前口服精胺酸補充品，也可減少血漿氨、乳酸堆積，可能可以延緩運動疲勞的產生，而補充精胺酸後，運動中血液 NO 合成副產物瓜胺酸（citrulline, Cit）濃度增加，且精胺酸濃度減少，顯示運動誘發血乳酸及氨濃度減少，可能與補充之精胺酸增加 NO 合成有關。

第二節 研究目的

乳酸及氨大量堆積是導致運動疲勞的主要原因，精胺酸可能可以減少運動所引起之乳酸及氨的堆積，也可能可以促進 NO 合成，進而誘發血管擴張，在運動中也許能協助攜帶更多氧氣至工作肌群中，提升運動表現，但精胺酸對規律訓練的選手之運動表現的影響，相關研究仍相當有限。

柔道是台灣具有國際競爭能力的運動項目之一，因此本研究的目的包含：

- 一、探討優秀男性柔道選手，短期口服補充精胺酸，對柔道專項體能表現的影響。
- 二、探討優秀男性柔道選手，短期口服補充精胺酸，對柔道專項體能測試後血液中乳酸、氨及 NO 的影響。
- 三、探討短期口服補充精胺酸，影響血液中乳酸、氨及 NO 的機轉。

第三節 研究問題

探討優秀男性柔道選手，短期口服補充精胺酸 6 g，為期 3 天，對柔道專項體能表現的效果，以及柔道專項體能測試後血液中乳酸、氨及 NO 的效果；同時探討影響血液中乳酸、氨及 NO 的機轉。

第四節 研究假設

- 一、優秀男性柔道選手短期口服補充精胺酸 6 g，為期 3 天，柔道專項體能表現無顯著影響。
- 二、優秀男性柔道選手短期口服補充精胺酸，柔道專項體能測試後，血液中乳酸、氨堆積及 NO 合成無顯著影響。

第二章 文獻探討

第一節 精胺酸補充品對運動表現之影響

壹、精胺酸與運動表現

高強度運動造成代謝廢物乳酸及氨大量堆積，導致肌肉產生疲勞，減低運動表現。補充精胺酸可能可以減少運動所引起之乳酸及氨的堆積，進而減緩運動疲勞產生，提升運動表現。患有肺部高血壓受試者 ($n = 19$)，每日口服補充精胺酸 (0.15 g/kg BW)，為期一週， $\dot{V}O_{2\text{peak}}$ 從 $831 \pm 88 \text{ mL/min}$ 增加至 $896 \pm 92 \text{ mL/min}$ (Nagaya, et al., 2001)。以 7 位心絞痛患者為對象的研究指出，口服補充精胺酸 7 g，每日 2 次，為期 4 週，漸增性跑步至衰竭時間增加， $\dot{V}O_{2\text{max}}$ 也顯著增加 (Bellamy, et al., 1998)。另有研究指出，心絞痛及心肌梗塞的患者 ($n = 22$)，每日口服補充 6 g 精胺酸，為期 3 天，採漸增性跑步至衰竭， $\dot{V}O_{2\text{max}}$ 亦顯著增加 (Ceremuzyski, Chamiec, & Herbaczyska-Cedro, 1997)。以鬱心性心臟衰竭 (congestive heart failure) 患者為對象的研究顯示，每日口服補充精胺酸 9 g，為期 7 天，亦可提升運動持續時間 (Bednarz, Jaxa-Chamiec, Gebalska, Herbaczyska-Cedro, & Ceremuzyski, 2004)。

健康男大學生 ($n = 10$)，運動前口服補充 6 g 精胺酸、2 g 甘胺酸 (glycine)、3.2 g ketoisocaproic acid (GAKIC)，以最大負荷腳踏車全力衝刺 10 秒，共 5 組，間歇 1 分鐘，補充 GAKIC 組平均功率增加量顯著高於安慰劑組 (Buford & Koch, 2004)。另有研究指出，健康男性受試者補充 11.2 g GAKIC，股四頭肌採高強度等速運動測試至衰竭，補充

GAKIC 組總功率增加量顯著高於安慰劑組 (Stevens, Godfrey, Kaminski, & Braith, 2000)。大部分研究顯示口服補充精胺酸，可增加 $\dot{V}O_{2\max}$ 、輸出功率及運動持續時間，補充精胺酸對運動表現的相關研究整理於表 2-1，但大多數研究均以心血管疾病患者為對象，針對健康運動員之研究非常有限，仍需進一步研究探討。

貳、精胺酸與運動代謝

高強度劇烈運動中，乳酸及氨大量堆積，造成疲勞產生，減少輸出功率與縮短運動持續時間，限制運動表現，運動中血乳酸、氨濃度變化與自覺量表 (rate of perceived exertion, RPE) 分數呈正相關，顯示血乳酸、氨堆積可能是運動疲勞產生的原因之一 (Schaefer, et al., 2002)。

補充精胺酸可能可減少運動所引起之乳酸及氨的堆積，同時促進 NO 合成及誘發血管擴張，在運動中也許能協助攜帶更多氧氣至工作肌群中，進而減緩運動疲勞產生，提升運動表現。以 8 位健康受試者為對象，施予靜脈注射 3 g 精胺酸後，以腳踏車測試，輸出功率逐級增加至最大，發現運動誘發的血乳酸濃度增加量，精胺酸組 (7.1 ± 0.7 mM) 顯著低於控制組 (8.2 ± 1.1 mM)，血液中氨濃度增加量，精胺酸組 (60.6 ± 8.2 μ M) 也顯著低於控制組 (73.1 ± 9.1 μ M) (Schaefer, et al., 2002)。以健康男性 (18-25 歲) 為對象，口服補充 20 g 精胺酸或安慰劑 30 分鐘後，進行腳踏車運動測試，強度為 75-80% $\dot{V}O_{2\max}$ 持續 30 分鐘，結果顯示補充精胺酸組之運動誘發血氨濃度增加量顯著低於安慰劑組，顯示

口服補充精胺酸可能具有幫助減少運動疲勞的效果 (Eto, Peres, & Le Moel, 1994)。

運動誘發高血氨症，為肌肉的嘌呤核苷酸循環活性增加所引起，運動強度與時間增加，氨從肌肉擴散至血液，運送至其他器官，甚至越過血腦屏障，影響中樞神經系統，限制運動表現 (Banister & Cameron, 1990)。精胺酸是尿素 (urea) 循環中間產物，尿素合成作用中由精胺酸酶 (Arginase) 分解產生鳥胺酸 (ornithine) 及尿素，補充精胺酸可能可以促進尿素循環，增加血氨代謝為尿素 (Tsuei, et al., 2005)。

補充精胺酸對運動代謝相關研究整理於表 2-2，大多數研究顯示補充精胺酸後，血乳酸及氨堆積減少，可延緩運動疲勞產生，提升運動表現，但以健康運動選手為對象，探討補充精胺酸對運動代謝及運動表現之影響的研究數量有限，且僅有的研究大部分使用 GAKIC 混合補充品，其中所含的甘胺酸與 ketoisocaproic acid，精胺酸對運動員運動表現的影響仍需進一步研究。

第二節 補充精胺酸對血管功能之影響

NO 具有調節血管張力、局部血流量及血小板凝集與黏著的作用 (Endemann & Schiffrin, 2004)，精胺酸是 NO 的前驅物，精胺酸來源為外生性補充與內生性合成。補充精胺酸可提供一氧化氮合成酶 (nitric oxide synthase, NOS) 受質，產生 NO 與瓜胺酸。補充精胺酸後，血液中瓜胺酸濃度增加，並減少運動誘發血乳酸堆積，顯示 NO 合成增加，進而促進血管擴張加速疲勞物質代謝，延緩運動疲勞的產生，使運動強度、持續時間增加 (Schaefer, et al., 2002)。

以 20 位健康年輕的男性受試者為對象的研究指出，施予靜脈注射精胺酸 100 mg/kg BW 及 500 mg/kg BW 持續 30 分鐘，當 100 mg/kg BW 時，腎臟血流量從 641 ± 87 mL/min 增加至 677 ± 98 mL/min，注射 500 mg/kg BW 時，腎臟血流量則增加至 762 ± 133 mL/min，兩種劑量均有顯著效果，顯示注射精胺酸具有增加腎臟血流量的效果 (Schlaich, et al., 2000)。另有研究指出，健康受試者及慢性腎臟衰竭患者，施予動脈注射精胺酸，兩組均可提升內皮依賴性血管擴張 (Endothelium-dependent vasodilation, EDVD)，增加前臂血流量 (Annuk, Fellstrom, & Lind, 2002)。

高膽固醇血症會降低內皮細胞功能，降低主動脈製造及釋放 NO，17 位高膽固醇血症男性患者 (平均年齡 41.7 歲) 與 17 位年紀相當的健康男性，施予生理食鹽水及生理食鹽水添加 30 g 精胺酸動脈注射 1 小時後，僅注射生理食鹽水時高膽固醇組 EDVD 低於健康的控制組，添加精胺酸後，高膽固

醇組臂動脈 EDVD 從 $3.92 \pm 0.58\%$ 增加至 $7.27 \pm 0.53\%$ ，健康控制組為 $8.21 \pm 0.47\%$ ，顯示注射精胺酸可能可以改善高膽固醇血症患者之內皮細胞功能 (Kawano, et al., 2002)。

40 位患有嚴重慢性心臟衰竭患者，隨機分配至精胺酸組 (8 g/天)、訓練組 (每日握力訓練)、精胺酸 + 訓練組、不活動之控制組，為期 4 週，實驗前檢測患者對乙酰膽鹼 (acetylcholine 7.5、15、30 μ g/min) 作用的橈動脈內徑，實驗前各組 EDVD 並無顯著差異，4 週後精胺酸組 ($8.8 \pm 0.9\%$) 與精胺酸 + 訓練組 ($12.0 \pm 0.3\%$) 橈動脈內徑增加量均顯著高於控制組，顯示補充精胺酸可提升內皮細胞功能，補充精胺酸配合運動訓練，對增加患者 EDVD 效果更佳 (Hambrecht, et al., 2000)。高血壓患者 (n=35) 補充 6 g 精胺酸後，臂動脈 EDVD 增加 $5.9 \pm 5.4\%$ ，而控制組則無顯著差異 (Lekakis, et al., 2002)。另有研究指出，冠狀動脈粥狀硬化男性患者 (平均年齡 41 ± 2 歲)，口服 7 g 精胺酸，每日 3 次持續 3 天後，血漿精胺酸濃度 ($318 \pm 18 \mu$ M) 顯著高於安慰劑組 ($124 \pm 9 \mu$ M)，臂動脈 EDVD 增加量 ($4.7 \pm 1.1\%$) 也顯著大於安慰劑組 ($1.8 \pm 0.7\%$) (Adams, et al., 1997)，顯示口服補充精胺酸可能可提升 EDVD 反應，進而改善內皮細胞功能。

老化也會造成內皮細胞功能障礙，血管內 NO 活性減退，使臂動脈 EDVD 及血流量減少，以 12 位健康老年人 (平均年齡 73.8 ± 2.7 歲) 為對象的研究指出，口服補充 8 g 精胺酸或安慰劑，每日 2 次持續 14 天後，補充精胺酸組血漿精

胺酸濃度 ($114.9 \pm 11.6 \mu\text{M}$) 顯著高於安慰劑組 ($57.4 \pm 5.0 \mu\text{M}$)，臂動脈 EDVD 精胺酸組 ($5.7 \pm 1.2\%$) 顯著增加。安慰劑組則無顯著效果 (Bode-Boger, et al., 2003)。

補充精胺酸對 EDVD 影響之研究整理於表 2-3，大部分研究顯示，健康受試者、心血管疾病患者、慢性腎臟衰竭患者及老年人，注射或口服補充精胺酸均可提升 EDVD，增加臂動脈血流量，改善內皮細胞功能，但對高齡受試者的血管效果 (Blum, et al., 2000) 及部分研究結果並不一致 (Abdelhamed, et al., 2003)，且甚少以健康運動員為研究對象，運動選手補充精胺酸對血管功能之影響，仍需進一步研究探討。

第三節 運動訓練對血管功能之影響

壹、運動訓練對血管擴張與血流量

動物實驗指出，運動可能可以增加 EDVD，以大鼠為研究對象，短期運動訓練 2-4 週，大鼠骨骼肌的小動脈內皮 NO 合成增加，提高對乙醯膽鹼及精胺酸的血管擴張反應，增進內皮依賴性功能 (Sun, Huang, Koller, & Kaley, 1994)。大鼠經耐力訓練 4 週後，可提升主動脈的乙醯膽鹼依賴性血管擴張，增加大動脈組織中內皮一氧化氮合成酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 的水準 (Delp & Laughlin, 1997)，而豬經過耐力訓練 7 天後，EDVD 亦有相似的增加效果 (McAllister & Laughlin, 1997)。

運動訓練改變心血管的血液動力，運動中骨骼肌收縮與放鬆，稱為肌肉幫浦 (muscle pump) 或週邊心臟 (peripheral heart)，產生運動作用肌群充血的現象，使作用肌群血流量增加 50-100 倍，局部小肌群的運動，能增加局部的最大血流量、血管擴張功能。在人體實驗方面，受試者經 4 週的握力訓練，可減少局部血管阻力，提升運動誘發的血管擴張，握力訓練為局部小肌群的運動，增加局部的最大血流量與血管擴張功能 (Maiorana, O'Driscoll, Taylor, & Green, 2003)。以坐式生活與接受耐力運動訓練的男性為受試者的研究顯示，注射乙醯膽鹼後的血管反應，坐式生活中老年組前臂最大血流量比青年組少 25%，坐式生活中老年男性接受 3 個月有氧運動 (走路為主) 後，乙醯膽鹼誘發的血管擴張反應增加 30%，與坐式生活年輕組及耐力訓練中老年組程度相近 (DeSouza, et al., 2000)。另有研究顯示，25 位平均年齡 20

歲的男性，經過 10 週有氧與無氧訓練課程，可提升肱動脈 EDVD 2.2-3.9 % (Clarkson, et al., 1999)。運動使用大體積的作用肌群，例如慢跑或腳踏車，會使心跳率與脈搏壓力上升，增加全身的血流量與脈壓，規律的有氧運動能預防老化引起的內皮細胞功能減退，而內皮細胞功能正常之年輕健康的受試者，欲提升其內皮細胞功能，則需採取較大負荷的訓練 (DeSouza, et al., 2000)。

冠狀動脈內皮細胞功能障礙患者，乙醯膽鹼誘發血管收縮偏低，經 4 週運動訓練後，每分鐘注入 7.2 μg 乙醯膽鹼，血管擴張增加 54 %，最大血流速率增加 78 %，乙醯膽鹼反應為非運動訓練患者之 1.4 倍 (Hambrecht, et al., 2000)。另有研究顯示心絞痛患者，每週運動超過 3 小時，為期 1 年，可提高心肌血流注入，對冠狀動脈疾病患者，則有減少冠狀動脈粥狀硬化、血膽固醇堆積及冠狀動脈窄化的效果 (Gielen, Schuler, & Hambrecht, 2001)。以冠狀動脈疾病患者為研究對象，以最大攝氧量 60% 強度訓練 8 週後，最大攝氧量提高 24%，血管分支增加，提高左心室收縮功能 (Belardinelli, Georgiou, Ginzton, Cianci, & Purcaro, 1998)，高血壓、糖尿病及心血管疾病患者，經輕度及中度運動訓練後可增加 EDVD，顯示運動訓練可提升 NO 相關的內皮細胞功能，改善心血管疾病，提高患者生活品質。

貳、運動訓練改善血管功能的機轉

運動產生的剪力 (shear stress) 可提高內皮細胞合成 NO，提高血管擴張的作用，還可提高內皮運送 NO 前驅物 —

精胺酸的運輸速率 (Gielen, et al., 2001)。以狗為實驗對象，接受時速 9.5 公里的跑步機訓練，1 天 2 次，為期 10 天，訓練後提升 eNOS 表現，冠狀動脈 NO 的產量增加 (Sessa, Pritchard, Seyedi, Wang, & Hintze, 1994)。野生型 eNOS^{+/+} 小鼠，經運動訓練後，大動脈的 eNOS 表現增加 2.5 ± 0.4 倍，缺乏 eNOS 基因小鼠，訓練後 eNOS 表現則不受影響 (Kojda, et al., 1999)。運動訓練刺激內皮細胞產生 NO，提升內皮 NO 生物活性，為期數週至數月，主動脈內皮細胞暴露在流動剪力下，eNOS 活性及表現提高，NO 產量增加，提高 EDVD 反應，可改善 NO 相關的內皮細胞功能，隨著訓練終止又回到水平，但因運動訓練強度、頻率及受試者不同，結果亦有所差異。

第四節 毛細管電泳檢測胺基酸

壹、毛細管電泳簡介

毛細管電泳 (capillary electrophoresis, CE) 是近十年來發展的分析法，此技術以內徑 25-75 μm 毛細管，注入緩衝溶液，兩端施以 10-30 kV 高電壓，在電場作用下，介質中帶電粒子以不同速度向電荷相反之電極方向移動，利用此分離現象分析各成分，具產熱低 (高電阻)、散熱佳 (表面積/體積比大)、分析時間短等特性。

CE 為液相分離技術，常與高效能液相層析 (high performance liquid chromatography, HPLC) 比較，分離時間約為 CE 1-15 min, HPLC 則為 5-60 min, 分離效率 CE 可達 $> 10^5$ N/m, HPLC 則約 10^3 - 10^4 N/m, 靈敏度 CE 可達 ng 至 pg 層級, HPLC 則為 μg , 試劑日用量 CE 少於 100 mL, HPLC 約需 1000 mL, 每分鐘流量 CE 與 HPLC 均可達 mL 等級, 除上述外, CE 還具有管柱成本低、改變分離模式容易、選擇性高和低污染等優點 (Lin, 1995)。兩者分離機轉不同, 各有其應用價值, 就效率、速度、成本及樣品量而言, CE 分析速度快, 幾乎不消耗溶劑, 而樣品量僅 HPLC 數百分之一, 是方便快速且成本低廉的分析方法。

貳、毛細管電泳檢測方法

一、胺基酸衍生化反應

檢測胺基酸與生物胺類較為困難, 因為這些化合物常缺乏可偵測的特性, 吸光值多為低波長, 僅少部分芳香族 (aromatic) 胺基酸具有較強的色基 (chromophore), 且樣

本濃度很低。為解決此問題，常使用衍生化 (derivatization) 技術，使胺基酸能有較高的監測吸光波長或螢光 (fluorescence) (Oguri, 2000)。

理想的衍生化反應必須速率快，試劑本身不能觸發偵測器，也不能干擾衍生物分析，有時衍生化試劑也有附加效果，為天然的分析物提供額外的電荷，增加分析的移動差異，常用的胺基酸衍生化試劑見表 2-4。

二、衍生化胺基酸分離法

CE 胺基酸分析最常用的是毛細管區帶電泳 (capillary zone electrophoresis, CZE) 及膠束電動毛細管層析 (micellar electrokinetic capillary chromatography, MECC 或 MEKC)。CZE 管內注入緩衝溶液，化合物以不同速率在的區帶中遷移，適用於帶電荷的分子，但中性化合物在電場中不會移動，MEKC 緩衝溶液中加入界面活性劑，分離不帶電荷分子，其他分離胺類的方法包括毛細管電泳層析 (capillary electrochromatography, CEC)、毛細管凝膠電泳 (capillary gel electrophoresis, CGE)、電動力學毛細管層析 (electrokinetic capillary chromatography, EKC) 等 (Oguri, 2000)。

三、毛細管電泳偵測法

紫外線 (ultraviolet, UV) 偵測法是使用最普遍的 CE 偵測法，應用於 CE，其靈敏度小於 LC，儘管如此仍可偵測濃度小於 10 mM 的樣本，以 UV 偵測魚翅中胺基酸組成

(Dns-Cl 衍生化)，偵測限度 (limits of detection, LOD) 可達 $0.01-0.03 \times 10^{-12} \text{M}$ (Chou, et al., 1998)。

螢光偵測法為提高 CE 靈敏度而發展出的方法，雷射誘發螢光 (laser-induced fluorescence, LIF) 偵測法對已稀釋螢光類，具有高偵測靈敏度，LIF 偵測大腦皮質神經傳導胺基酸 (FITC 衍生化)，LOD 可達 $2.1 \times 10^{-11}-6.3 \times 10^{-10} \text{M}$ (Li, et al., 2003)。

核磁共振 (nuclear magnetic resonance, NMR) 為較新的偵測設方法，當傳統 UV 偵測無法達到的敏感度時，以 NMR 為 CE 偵測器，能提供豐富的分子資訊及高偵測靈敏度，LOD 小於 10 ng (Smith, 1997)。

質譜 (mass spectroscopy, MS) 偵測法可提供結構資訊的 MS 與 CE 相互整合，CE-MS 常用的是電噴灑游離法 (electrospray ionization, ESI)，能有效創造氣相層 (gas phase) 離子，CE-ESIMS (CE-電噴灑游離質譜法) 檢測孩童血液胺基酸濃度 (未衍生化)，LOD 為 $3-20 \mu\text{M}$ (Martin-Girardeau & Renou-Gonnord, 2000)。

電化學 (electrochemical, EC) 偵測法，適用於大部分未衍生化的胺基酸，無須以電流驅動分離，CE 連接兩性離子緩衝溶液與銅微電極，直接檢測胺基酸 (未衍生化)，LOD 可達 $10-400 \text{ nM}$ (Zhou & Lunte, 1995)。CE-EC 檢測衍生化之甘胺酸與血管收縮素 II (angiotensin II)，甘胺酸 LOD 500

nM，血管收縮素 II 的 LOD 則為 6 μ M (Rose, Lunte, Carlson, & Stobaugh, 2003)。

參、毛細管電泳分析胺基酸之應用

CE 分離技術可成功分析生物體神經傳導物質、血液、尿液及體液中胺基酸、peptides 等物質，可作為診斷治療分析工具。研究指出，CE-ESIMS 檢測孩童血液，可量化體內 20 種天然胺基酸 (Martin-Girardeau & Renou-Gonnord, 2000)。食物與中藥材成分繁多，CE 分析時間短、再現性佳、自動取樣，為食品藥材檢測提供高敏感度的鑑別工具，如啤酒由八百多種化合物組成，形成不同口味，如苦、甜、酸、碳酸或水果口味等，可利用 CE 分析其成分，CE 分析胺基酸之應用整理於表 2-5 (Cortacero-Ramirez, Castro, Segura-Carretero, Cruces-Blanco, & Fernandez-Gutierrez, 2003)。

CE 與微晶片 (microchip) 技術可整合為晶片內毛細管 (5 cm \times 30 μ m \times 10 μ m)，採 μ CE-EC 偵測法，分析緩衝溶液 20 mM phosphate (pH 7.5)，通電壓 1.5 KV，多種酵素分析糖尿病患尿液、血清，樣本、試劑只需少許 nL，LOD 達 0.71-10 μ M，(Lee & Chen, 2004)。微晶片不僅生物樣本與試劑需求量少，實驗設備微型化、個人化，朝晶片型實驗室 (lab on a chip) 發展，未來在健康照護上，可自我檢測，提高時效性、治療效率，降低醫療成本。

肆、毛細管電泳分析運動代謝

運動中神經傳導增加，神經傳導物質

gamma-aminobutyric acid (GABA)、麩胺酸(glutamic acid)、天冬胺酸(aspartic acid) 濃度改變，隨著運動強度與時間增加，醣酵解作用與氧化代謝，葡萄糖、蛋白質、脂肪分解提供能量，血液、肌肉、尿液中胺基酸、尿素、血糖等代謝物濃度改變，代謝廢物累積導致運動疲勞產生，限制運動表現。CE 分析技術除了作為診斷治療指標，亦可作為運動代謝、營養代謝及禁藥檢驗的分析工具，較少的生物樣本需求量，可減少對運動選手的影響，並有效掌握選手身體代謝狀況，以往檢測細胞內化合物相當困難，因為含量少且濃度低，CE 具相當小的偵測限度，可整合其他偵測方法，分析細胞內之化合物。過去文獻顯示，CE 分析技術應用在運動代謝物質的研究並不多，將來可運用 CE 分析運動生理、營養、藥物之代謝，提高研究效率與準確性，並減少生物體的採樣。

第五節 Griess 反應檢測一氧化氮代謝物

NO 已被證實具有生理與病理的作用，可調節血管張力，促進血管擴張，協助神經傳導及抑制血管平滑肌細胞增生與血小板凝集的功能 (Endemann & Schiffrin, 2004)。精胺酸是 NO 的前驅物，由三種型式的 NOS 所產生，第一型與第三型 NOS 由鈣離子活化，分別出現在內皮細胞、神經細胞中，第二型 NOS 出現在巨噬細胞、嗜中性白血球、肝細胞等，參與許多免疫反應之發炎過程 (Guevara, et al., 1998)。

NO 半衰期約 2-30 秒，非常短暫，且快速與氧、氧自由基及其他氧化還原物質產生反應，檢測相當不容易。Griess 反應是檢測 NO 最常用的方法，以 NADPH 還原酶或鎘，將 nitrate 還原成 nitrite，檢測 540 nm 吸光值變化，是快速且簡易間接檢測 NO 濃度變化的方法，此法已成功應用在大腸桿菌、內皮細胞及人體血液、尿液、腦脊髓液中 NO 濃度變化的檢測 (Guevara, et al., 1998)。

其他測量 NO 的方法，包括利用氧合血紅素 (oxyhemoglobin) 和 NO 反應後轉變成高鐵血紅素 (methemoglobin)，間接測量 NO，但此偵測法氧合血紅素的氧化作用較不穩定。化學冷光偵測法則提供另一種較靈敏且直接偵測 NO 的方法，但偵測器昂貴需特別維護 (Ridnour, et al., 2000)。

第三章 研究方法與步驟

第一節 前導實驗

於實驗進行前，檢測口服補充 6 g 精胺酸之藥物動力實驗，以 2-3 位健康男性為研究對象，每位受測者經隔夜禁食後，採集精胺酸補充前、補充後 30 分鐘、補充後 60 分鐘、補充後 90 分鐘、補充後 120 分鐘、補充後 150 分鐘、補充後 180 分鐘之血液，血液採集由合格人員執行，血液取自前臂靜脈，分裝至 EDTA 採血管中，於 4°C 以 500g 離心 20 分鐘，以 P/ACE MDQ CE 分析 (Beckman, Fullerton, CA, USA) 檢測血漿 Arg 濃度，Arg 最高濃度變化作為精胺酸補充後與運動測試時間點的選擇依據。

第二節 研究對象

以國立台灣體育學院柔道隊男選手 12 位為研究對象，所有受試者皆參與柔道正規訓練至少三年以上，參賽等級為全國或國際水準，且為身體健康之非吸煙、飲酒者。

第三節 實驗設計

實驗採隨機交叉設計，每位受測者接受兩項運動測試，於測試前口服 6 g 精胺酸或安慰劑 (澱粉)，為期 3 天，受測者採隨機分配先服用精胺酸或安慰劑，第一次運動測試結束後，間隔 4 天 wash-out 期，再進行下一階段口服補充。每階段之第三天，經隔夜禁食後，服用當天之精胺酸或安慰劑，於 60 分鐘後進行運動測試，運動測試及血液採集程序圖如圖 3-1。

第四節 運動測試

採間歇運動模式，模擬柔道實際比賽，採用腳踏車測功儀 (894E, Monark, Varberg, Sweden)，負荷為 0.05 kp/kg BW (Inbar, Bar-Or, & Skinner, 1996)，受測者以 20 秒全力衝刺，15 秒休息 (10 秒休息，5 秒不負重空踩) 相互交替，先進行 9 組約 5 分鐘，休息 1 分鐘後，再以相同模式進行 4 組約 3 分 18 秒。運動狀態時，研究人員要求受試者盡可能加快，並以聲音激勵。記錄每次運動期之最大功率、平均功率、power drop，計算每一組最大功率與平均功率疲勞值及 power drop，計算公式如下：

$$\text{最大功率疲勞值}_{\text{第 } n \text{ 組}} = (\text{最大功率}_{\text{max}} - \text{最大功率}_{\text{第 } n \text{ 組}}) / \text{最大功率}_{\text{max}} \times 100\%$$

$$\text{平均功率疲勞值}_{\text{第 } n \text{ 組}} = (\text{平均功率}_{\text{max}} - \text{平均功率}_{\text{第 } n \text{ 組}}) / \text{平均功率}_{\text{max}} \times 100\%$$

$$\text{Power drop} (\%)_{\text{第 } n \text{ 組}} = (\text{最大功率}_{\text{第 } n \text{ 組}} - \text{最小功率}_{\text{第 } n \text{ 組}}) / \text{最大功率}_{\text{第 } n \text{ 組}} \times 100\%$$

每位受測者之最大功率下降值 (decrement) 與平均功率下降值 (Edge, Bishop, Hill-Haas, Dawson, & Goodman, 2006) 計算公式如下，total 為運動測試之功率總合，max 為各組功率中之最大值：

$$\text{最大功率下降值} (\%) = 100 - \text{最大功率}_{\text{total}} / (\text{最大功率}_{\text{max}} \times \text{組數}) \times 100$$

$$\text{平均功率下降值} (\%) = 100 - \text{平均功率}_{\text{total}} / (\text{平均功$$

率 $\text{max} \times \text{組數}$) $\times 100$

第五節 血液採集與分析

採集精胺酸或安慰劑補充前、運動前、運動中回合間歇、運動後立即、運動後 3 分鐘、運動後 6 分鐘、運動後 10 分鐘、運動後 30 分鐘、運動後 60 分鐘之血液，滯留針由合格人員執行，血液取自前臂靜脈，分裝至 EDTA 採血管中，以全血檢測血紅素濃度，其餘血液於 4°C 以 500g 離心 20 分鐘，採集血漿，檢測血漿之乳酸、氨、NO 及各胺基酸的濃度。血紅素作為運動中血漿量改變的校正用途。

壹、毛細管電泳測量血漿胺基酸濃度

CE 分析前血漿必須去除蛋白質，100 μL 血漿加入 100 μL acetone (Zunic, Jelic-Ivanovic, Colic, & Spasic, 2002)，靜置 30 分鐘後，於 4°C 以 10000 rpm 離心 10 分鐘，採集上清液，此程序已證實不影響血漿中游離麩胺醯胺 (glutamine) 濃度 (Khan, Blaak, & Elia, 1991)。去蛋白質的血漿取 100 μL 裝入 screw-capped pyrex tube 中，加入 20 mM Borate (pH 10.0) 含 200 μM Nor-leucine (Nor-Leu) 50 μL ，並加入新鮮配製之 5.5 mM fluorescein isothiocyanate (FITC) /acetone 100 μL ，於室溫隔夜避光進行去衍生化反應 (Jin, Rodriguez, & Li, 1999)，Nor-leucine 作為內部標準品，避免衍生化胺基酸 FITC 螢光強度隨時間衰退，作為校正用途。

胺基酸衍生化後，於 4°C 以 10000 rpm 離心 10 分鐘後，

以 20 mM Borate (pH 10.0) 緩衝溶液稀釋 100 倍，以 P/ACE MDQ CE 分析 (Beckman, Fullerton, CA, USA)，CE 管柱長 110 cm，內徑 50 μm ，樣本注入時間 5 秒，壓力 0.5 psi。分離用緩衝溶液為 120 mM sodium borate (pH 9.2) 含 45 mM α -cyclodextrin (Arlt, Brandt, & Kehr, 2001)，分離電壓 25 kV，溫度 25 $^{\circ}\text{C}$ ，分析時間 120 分鐘，以 LIF (laser-induced fluorescence) 偵測，emmission 波長 488 nm，exmission 波長 525 nm。CE 分析胺基酸標準品如圖 3-2，血漿樣本不含 Nor-Leu 如圖 3-3，含 Nor-Leu 如圖 3-4，血漿中可辨識且定量的胺基酸有 7 種，分別為精胺酸 (arginine, Arg)、白胺酸 (leucine, Leu)、異白胺酸 (iso-leucine, Ile)、纈胺酸 (valine, Val)、麩胺醯胺酸 (glutamine, Gln)、甘胺酸 (glycine, Gly)、丙胺酸 (alanine, Ala)。

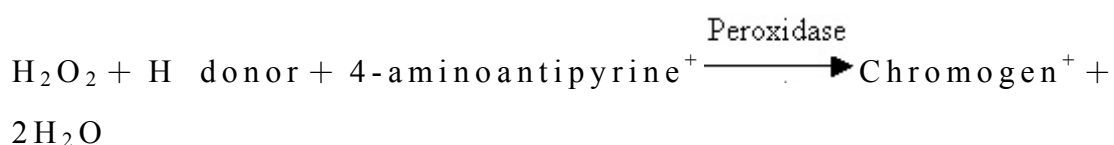
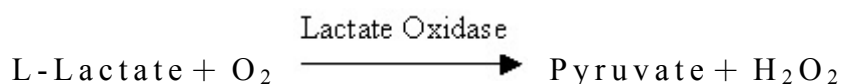
建立各胺基酸與內部標準品 Nor-Leu 濃度與面積積分之公式，以計算樣品中各胺基酸濃度。參考多篇文獻中各胺基酸平均濃度，並以此濃度 0.5 倍、1 倍、2 倍濃度建構各胺基酸對 Nor-Leu 標準曲線，胺基酸標準品濃度見表 3-1。將已知濃度胺基酸標準品或 blank 取 100 μL 裝入 screw-capped pyrex tube 中，加入 20 mM Borate (pH 10.0) 含 200 μM Nor-leu 50 μL ，並加入濃度大於胺基酸標準品與 Nor-leu 總濃度 1.5 倍之 FITC/acetone 100 μL ，於室溫隔夜避光進行去衍生化反應後，以 CE 分析各胺基酸濃度換算公式見表 3-2，各胺基酸之 R^2 皆大於 0.969，CE 檢測精胺酸之 Inter-assay CV 為 5.20% (8 個樣本)，Intra-assay CV 為 3.57% (8 個樣本)。

貳、測量血漿瓜胺酸濃度

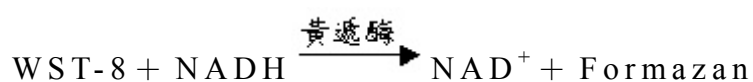
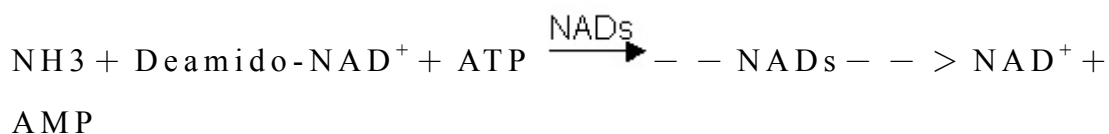
溶液 A 為 80 mM DAMO (diacetyl monoxime , 1.62 g) 及 2.0 mM TSC (thiosemicarbazide , 36 mg) 加入 200 mL 水 , 避光存於 4°C , 使用不超過 1 個月。溶液 B 為 3 M H₃PO₄ 200 mL 緩緩加入 450 mL 水中 , 並輕輕攪拌 , 再加入 6 M H₂SO₄ 330 mL 及 2.0 mM NH₄Fe(SO₄)₂·12H₂O (750 mg) , 冷卻至室溫 , 再加水將體積調至 1 L。取 10 μL 血漿加入 990 μL 水稀釋 , 再取稀釋樣本 60 μL 加入 200 μL 溶液 A: 溶液 B (1:3 v/v) , 置於 screw-capped pyrex tube 並加蓋 , 避免高溫樣本蒸發 , 於 95°C 反應 15 分鐘 (Knipp & Vasak, 2000) , 以 microplate spectrophotometer 檢測 (Benchmark Plus, BIO-RAD, CA, USA) , 吸光值波長 540 nm , 檢測結果與瓜胺酸標準曲線比較 (由已知道濃度瓜胺酸建構 , R² = 0.998) , 檢測瓜胺酸之 Inter-assay CV 為 5.95% (12 個樣本)。

參、測量血漿乳酸、氨、血紅素濃度

血漿中的乳酸 , 以商業試劑測量 (Randox, Co. Antrim, United Kingdom) , 並以全自動生化分析儀檢測 (Hitachi 7020, Ibaraki, Japan) , 吸光值波長 550 nm , 化學反應原理如下 :



血漿中的氨，以商業試劑測量（Kanto Chemical CO., Kanagawa, Japan），並以全自動生化分析儀檢測，吸光值波長 450 nm，化學反應原理如下：



血漿中的血紅素，樣本為裝於 EDTA 採血管中之全血，取 1495 μL 去離子水加入 2 mL eppendorf 中，加入全血 5 μL ，以商業試劑測量（Randox, Co. Antrim, United Kingdom），並以全自動生化分析儀檢測，吸光值波長 546 nm。

肆、測量血漿 NO 濃度

NO 半衰期（half-life）相當短暫，所以僅測量其穩定的代謝物 nitrite (NO_2^-) 及 nitrate (NO_3^-)，作為 NO 產生的指標。本研究以修改過的 Griess 反應（Guevara, et al., 1998），測量 nitrite 及 nitrate 濃度。首先將 100 μL 血漿裝入 screw-capped pyrex tube 中，加入 20 mM Tris (pH 7.6) 含 80 μM NADPH 100 μL ，並加入 50 mU nitrate 還原酶 10 μL ，於 35 $^\circ\text{C}$ 反應 3 小時，將 nitrate 還原成 nitrite，再取上清液 100 μL 加入 400 μL methanol : diethylether (3:1 v/v)，於室溫隔夜

避光進行去蛋白質反應。再於 4°C 以 10000 rpm 離心 10 分鐘後，取上清液 200 μ L，加入 6.5 M HCl 50 μ L 及 37.5 mM sulphanic acid 50 μ L，於室溫反應 10 分鐘後，再加入 50 μ L 12.5 mM NED (N-(1-naphtyl)ethylenediamine)，於 4°C 避光進行反應 30 分鐘，之後於 4°C 以 10000 rpm 離心 10 分鐘後，取 300 μ L 以 microplate spectrophotometer 檢測，吸光值波長 540 nm，檢測結果與 nitrite 標準曲線比較(由已知濃度 nitrite 建構， $R^2 = 0.980$)，檢測 NO 之 Inter-assay CV 為 8.18% (11 個樣本)。

第六節 血管擴張與內皮細胞功能檢測

每次運動測試，以 photoplethysmography (Pulse Trace PT1000, Micro Medical, Rochester, England) 測量血管擴張反應與內皮細胞功能，紀錄精胺酸或安慰劑補充前、運動前、運動後立即、運動後 3 分鐘、運動後 6 分鐘、運動後 10 分鐘、運動後 30 分鐘、運動後 60 分鐘之受試者心跳率 (heart rate, HR)、第一波峰至第二波峰時間 (peak to peak time, PPT)、反射指數 (reflection index, RI)、硬化指數 (stiffness index, SI)、手指容積脈搏圖 (digital volume pulse, DVP) 如圖 3-5，第一波峰 (收縮點) 是從主動脈根部到手指的傳輸壓力所造成，第二波峰 (舒張點) 是從心室沿主動脈到下肢的傳輸壓力所形成，在心搏週期進行時，硬化的動脈，其反射波會比有彈性柔順的動脈較早到達，第二波峰高度較高 (Chowienczyk, et al., 1999)。

反射指數依血管頻率而定，會受到心臟輸出、運動、攝取的

食物所影響，數值越低代表血管擴張程度越佳，硬化指數則依動脈硬化程度而定，主要受年齡與血壓所影響，數值越高代表動脈硬化程度或動脈壓力越高，反射指數與硬化指數之計算公式如下：

反射指數 (%) = 第二波峰高度 / 第一波峰高度 × 100%

硬化指數 (m/sec) = 受測者身高 / 第一波峰至第二波峰時間

第七節 資料分析

所有資料均以平均值 ± 標準誤呈現，攝取精胺酸或安慰劑後，各時間點所測得生化、生理及運動表現的參數，以成對樣本 t 檢定分析同時時間點精胺酸組與安慰劑組間之差異，以重複量數 one-way ANOVA 分析同一組間各時間點之差異，以 SPSS for Windows 10.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 分析，p 值小於 0.05 視為統計顯著。

第四章 結果與討論

第一節 結果

壹、前導實驗

以 2 位健康男性為研究對象，口服補充精胺酸藥物動力之前導實驗如圖 4-1，與補充前比較，補充後各時間點 Arg 濃度增加，於補充後 180 分鐘恢復至補充前之濃度。

貳、選手特徵

本研究 12 位受試者，皆接受柔道正規訓練至少三年以上，平均年齡 20.3 ± 0.5 歲，身高 172.3 ± 1.7 公分，精胺酸組體重 73.9 ± 1.8 公斤，安慰劑組體重 74.2 ± 1.7 公斤，選手基本資料表見表 4-1。研究期間選手並未補充的任何高蛋白營養補充品，兩位選手因採血不易，僅進行內皮細胞血管擴張功能檢測及運動測試。

參、血漿 Arg、nitrite、Cit 濃度

各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿 Arg 濃度如圖 4-2，精胺酸組與安慰劑組於營養品補充前血漿 Arg 濃度分別為 $30.4 \pm 1.6 \mu\text{M}$ 與 $30.8 \pm 2.3 \mu\text{M}$ ，兩組間並無顯著差異，其餘各時間點精胺酸組均顯著高於安慰劑組。

與補充前比較，精胺酸組運動測試前、運動中與運動後各時間點，Arg 濃度皆顯著高於補充前。安慰劑組各時間點則無顯著差異。

與運動前（60 分鐘）相比，精胺酸組運動中與運動後 6

分鐘 Arg 濃度皆顯著增加，於運動後 10 分鐘恢復至運動前 Arg 濃度水準，運動後休息 60 分鐘 Arg 濃度仍高於補充前。安慰劑組運動中 Arg 濃度上升至 $32.9 \pm 1.8 \mu\text{M}$ ，運動後立即、運動後 3 分鐘與運動後 10 分鐘，Arg 濃度皆有顯著增加，於運動後 30 分鐘恢復至運動前之濃度。

各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿 nitrite 濃度如圖 4-3，精胺酸組與安慰劑組於營養品補充前血漿 nitrite 濃度分別為 $255.3 \pm 21.7 \mu\text{M}$ 與 $259.3 \pm 26.9 \mu\text{M}$ ，兩組間並無顯著差異，其餘各時間點兩組亦無顯著差異。

與補充前相較，精胺酸組補充後各時間點濃度均與補充前無顯著差異。安慰劑組運動中 nitrite 濃度上升至 $304.0 \pm 29.8 \mu\text{M}$ ，其餘各時間點與補充前則無顯著差異。

與運動前（60 分鐘）相比，精胺酸組運動中與運動後 6 分鐘 nitrite 濃度皆顯著增加，於運動後 10 分鐘恢復至運動前 nitrite 濃度水準。安慰劑組運動中及運動後，均與運動前 nitrite 濃度無顯著差異。

各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿 Cit 濃度如圖 4-4，營養品補充前精胺酸組 Cit 濃度為 $33.5 \pm 2.0 \mu\text{M}$ ，顯著低於安慰劑組 $38.2 \pm 2.7 \mu\text{M}$ ，其餘各時間點兩組間並無顯著差異。

與補充前比較，精胺酸組運動中、運動後立即、運動後

3 分鐘與運動後 30 分鐘，Cit 濃度顯著高於補充前。安慰劑組運動中與運動後 6 分鐘之濃度亦顯著高於補充前，其餘各時間點與補充前並無顯著差異。

與運動前（60 分鐘）相比，精胺酸組運動中與運動後各時間點，均無顯著差異。安慰劑組運動中、運動後立即、運動後 3 分鐘及運動後 6 分鐘，Cit 濃度均有顯著增加，於運動後 30 分鐘恢復至運動前之濃度水準。

肆、血漿乳酸與氨濃度

各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿乳酸濃度如圖 4-5，精胺酸組與安慰劑組於營養品補充前血漿乳酸濃度分別為 3.2 ± 0.3 mM 與 2.9 ± 0.2 mM，兩組間各時間點均無顯著差異。運動測試後，精胺酸組乳酸濃度增加至 14.7 ± 1.3 mM。安慰劑組亦增加至 14.3 ± 1.0 mM，運動後休息 60 分鐘恢復至運動前血漿乳酸濃度。

各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿氨濃度如圖 4-6，精胺酸組與安慰劑組於營養品補充前血漿氨濃度分別為 89.8 ± 7.6 μ g/dL 與 97.6 ± 6.3 μ g/dL，兩組間各時間點均無顯著差異。運動測試後，精胺酸組氨濃度增加至 271.8 ± 21.4 μ g/dL。安慰劑組亦增加至 281.2 ± 23.7 μ g/dL，運動後休息 60 分鐘恢復至運動前血漿氨濃度。

伍、血管功能指標

各時間點精胺酸組與安慰劑組之心跳率如圖 4-7，精胺

酸組與安慰劑組於營養品補充前心跳率分別為 54.2 ± 2.4 bpm 與 56.9 ± 2.8 bpm，兩組間各時間點均無顯著差異。運動測試後，精胺酸組心跳率增加至 106.8 ± 3.1 bpm。安慰劑組亦升高至 112.9 ± 3.2 bpm，運動後休息 60 分鐘，精胺酸組及安慰劑組心跳率分別降為 65.3 ± 2.6 bpm 與 64.6 ± 2.9 bpm。

各時間點精胺酸組與安慰劑組血管功能指標之反射指如圖 4-8，精胺酸組與安慰劑組於營養品補充前反射指數分別為 $83.4 \pm 2.8\%$ 與 $80.9 \pm 2.9\%$ ，兩組間無顯著差異，其餘各時間點亦無顯著差異。

與補充前比較，精胺酸組運動後立即、運動後 3 分鐘與運動後 6 分鐘，反射指數顯著低於補充前。安慰劑組運動後立即、運動後 3 分鐘、運動後 6 分鐘、運動後 10 分鐘與運動後 30 分鐘，反射指數也有顯著差異。

與運動前（60 分鐘）相比，精胺酸組運動後立即之反射指數顯著降低至 $31.9 \pm 3.3\%$ ，運動後 3 分鐘、運動後 6 分鐘、運動後 10 分鐘與運動後 30 分鐘皆有顯著降低，運動後 60 分鐘恢復至運動前反射指數水準。安慰劑組同時間點亦有顯著改變。

各時間點精胺酸組與安慰劑組血管功能指標之硬化指數如圖 4-9，精胺酸組與安慰劑組於營養品補充前硬化指數分別為 6.9 ± 0.3 m/s 與 6.7 ± 0.4 m/s，兩組間並無顯著差異，

其餘各時間點亦無顯著差異。

與補充前比較，精胺酸組各時間點皆無顯著差異。安慰劑組運動後 3 分鐘、運動後 6 分鐘、運動後 10 分鐘及運動後 30 分鐘則有顯著差異。

陸、運動表現

精胺酸組與安慰劑組各階段運動測試之最大功率如圖 4-10，自第 2 組起，最大功率即明顯降低，第 2-9 組最大功率幾乎相同，經 1 分鐘休息後，第 10 組最大功率上升，隨後又降至與休息前相近，第 1 組最大功率分別為 6.80 ± 0.81 W/kg 與 6.63 ± 0.60 W/kg，精胺酸組與安慰劑組並無顯著差異，在同一時間點精胺酸組與安慰劑組之最大功率均無顯著差異。

精胺酸組與安慰劑組各階段運動測試之平均功率如圖 4-11，自第 2 組起，平均功率即明顯降低，第 2-9 組平均功率幾乎相同，經 1 分鐘休息後，第 10 組平均功率上升，隨後又降至與休息前相近，在同一時間點精胺酸組與安慰劑組之平均功率均無顯著差異。

精胺酸組與安慰劑組各階段運動測試之最大功率疲勞值如圖 4-12，自第 2 組起，最大功率疲勞值即明顯增加，第 2-9 組最大功率疲勞值幾乎相同，經 1 分鐘休息後，第 10 組最大功率疲勞值降低，隨後又降至與休息前相近，第 1 組最大功率疲勞值精胺酸組($11.46 \pm 3.47\%$)顯著高於安慰劑組($3.57 \pm 2.09\%$)，與安慰劑組有顯著差異，第 2 組之疲勞值亦呈現

類似之顯著差異，其餘各同一時間點精胺酸組與安慰劑組之最大功率疲勞值均無顯著差異。

精胺酸組與安慰劑組各階段運動測試之平均功率疲勞值如圖 4-13，自第 2 組起，平均功率疲勞值即明顯增加，第 2-9 組平均功率疲勞值幾乎相同，經 1 分鐘休息後，第 10 組平均功率疲勞值降低，隨後又降至與休息前相近，在同一時間點精胺酸組與安慰劑組之平均功率疲勞值均無顯著差異。

精胺酸組與安慰劑組各階段運動測試之 power drop 如圖 4-14，各組運動測試平均 power drop 無顯著差異，均介於 $22.44 \pm 4.16\%$ 與 $31.23 \pm 2.49\%$ 之間。

精胺酸組與安慰劑組各階段運動測試之最大功率下降值與平均功率下降值如圖 4-15，精胺酸組與安慰劑組最大功率下降值分別為 $35.13 \pm 4.54\%$ 與 $28.96 \pm 4.85\%$ ，兩組間無顯著差異 ($P = 0.115$)，精胺酸組與安慰劑組平均功率下降值分別為 $28.57 \pm 3.37\%$ 與 $27.99 \pm 4.28\%$ ，兩組間亦無顯著差異。

柒、血漿 Leu、Ile、Val、Gln 濃度

各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿 Leu 濃度如圖 4-16，精胺酸組與安慰劑組於營養品補充前血漿 Leu 濃度分別為 $88.9 \pm 4.3 \mu\text{M}$ 與 $85.2 \pm 6.9 \mu\text{M}$ ，兩組間並無顯著差異，其餘各時間點兩組間亦無顯著差異。

與補充前比較，精胺酸組運動測試前 Leu 濃度顯著降低

至 $75.7 \pm 3.4 \mu\text{M}$ ，運動後各時間點並無顯著差異。安慰劑組各時間點均無顯著差異。

與運動前（60分鐘）相比，精胺酸組運動中 Leu 濃度顯著增加至 $80.9 \pm 4.0 \mu\text{M}$ ，於運動後 10 分鐘恢復至運動前濃度水準，運動後休息 60 分鐘 Leu 濃度低於補充前。安慰劑組運動中 Leu 濃度顯著上升至 $91.9 \pm 4.6 \mu\text{M}$ ，運動後 3 分鐘亦有顯著增加，於運動後 30 分鐘恢復至運動前濃度。

各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿 Ile 濃度如圖 4-17，精胺酸組與安慰劑組於營養品補充前血漿 Ile 濃度分別為 $51.6 \pm 2.4 \mu\text{M}$ 與 $53.5 \pm 4.6 \mu\text{M}$ ，兩組間並無顯著差異，運動中與運動後 30 分鐘精胺酸組濃度小於安慰劑組，其餘各時間點精胺酸組濃度亦小於安慰劑組但未達顯著差異。

與補充前比較，精胺酸組運動測試前與運動後 60 分鐘，Ile 濃度皆顯著低於補充前。安慰劑組各時間點則無顯著差異。

與運動前（60分鐘）相比，精胺酸組運動中 Ile 濃度顯著增加，於運動後 10 分鐘恢復至運動前 Ile 濃度水準，運動後休息 60 分鐘濃度則顯著低於運動前。安慰劑組運動中 Ile 濃度顯著上升至 $57.6 \pm 3.1 \mu\text{M}$ ，運動後立即與運動後 3 分鐘 Ile 濃度均有顯著增加，於運動後 30 分鐘恢復至運動前之濃度。

各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿 Val 濃度如圖 4-18，精胺酸組與安慰劑組於營養品補充前血漿 Val 濃度分別為 $117.0 \pm 7.4 \mu\text{M}$ 與 $112.1 \pm 7.5 \mu\text{M}$ ，兩組間並無顯著差異，其餘各時間點無顯著差異。

與補充前比較，精胺酸組運動後 3 分鐘與運動後 6 分鐘，Val 濃度皆顯著低於補充前。安慰劑組運動後 60 分鐘，濃度顯著低於補充前，其餘各時間點均無顯著差異。

與運動前（60 分鐘）相比，精胺酸組運動中與運動後各時間點均無顯著差異。安慰劑組運動後 3 分鐘 Val 濃度顯著上升至 $127.1 \pm 11.8 \mu\text{M}$ 於運動後 6 分鐘恢復至運動前之濃度水準。

各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿 Gln 濃度如圖 4-19，精胺酸組與安慰劑組於營養品補充前血漿 Gln 濃度分別為 $382.9 \pm 31.7 \mu\text{M}$ 與 $323.1 \pm 17.6 \mu\text{M}$ ，兩組間並無顯著差異，其餘各時間點也無顯著差異。

與補充前比較，精胺酸組各時間點 Gln 濃度皆無顯著。安慰劑組各時間點亦無顯著差異。

與運動前（60 分鐘）相比，精胺酸組運動後 60 分鐘 Gln 濃度顯著低於運動前，其餘各時間點則無顯著差異。安慰劑組運動中 Gln 濃度顯著增加至 $406.4 \pm 42.6 \mu\text{M}$ ，於運動後 10 分鐘恢復至運動前濃度水準。

第二節 討論

壹、精胺酸對血漿 Arg、nitrite、Cit 濃度之影響

本研究顯示口服補充 6 g 精胺酸，為期 2 天，精胺酸組休息時血漿 Arg 濃度並無顯著影響，以健康男性為研究對象，口服補充精胺酸 4 週 (20 g/d) 的研究亦顯示，休息時血漿 Arg 濃度無顯著改變 (Chin-Dusting, et al., 1996)。本研究結果則與大多數以患者或老年人為對象的研究結果不同，以患有慢性腎衰竭孩童為對象的研究指出，口服補充精胺酸 2.5 g/m² 或 3 g/m²，為期 3 天，可提升休息時血漿 Arg 濃度 (Bennett-Richards, et al., 2002)，而大多數以患者及老年人的研究，補充期為 2 週以上，每日補充劑量為 8-30 g，可增加休息時血漿 Arg 濃度 (Bode-Boger, et al., 2003; Clarkson, et al., 1996; Doutreleau, et al., 2006; Hambrecht, et al., 2000; Jablecka, Checiski, Krauss, Micker, & Ast, 2004; Walker, et al., 2001)，顯示病人與健康成年人血漿 Arg 的反應可能不同。

本研究以 2 位成年男性的前導實驗顯示，補充精胺酸後 1 小時血漿 Arg 達到最高濃度，所以選擇的運動時間點為補充後 1 小時，在正式研究中亦顯示，精胺酸組補充後 1 小時血漿 Arg 濃度即顯著增加，但安慰劑組並無顯著改變。在心臟衰竭患者為對象的研究中，補充 20 g 精胺酸 1 小時後，血漿 Arg 濃度亦顯著增加 (Prior, Jennings, & Chin-Dusting, 2000)。

補充精胺酸後的各時間點，精胺酸組血漿 Arg 濃度均高於安慰劑組，在運動期間精胺酸組與安慰劑組血漿 Arg 濃度

皆顯著增加，於運動後 10 分鐘恢復至運動前水準，顯示運動中血漿 Arg 濃度會增加，而補充精胺酸可維持運動前、運動中及運動後較高的血漿 Arg 濃度。

本研究顯示，精胺酸組休息時血漿 nitrite 濃度並無顯著影響，與以患者為對象的研究結果相似，顯示短期補充精胺酸對休息時血漿 NO 濃度並無顯著影響，而口服或靜脈注射補充精胺酸，對健康年輕人及高膽固醇血症患者休息時血漿 NO 濃度亦無顯著的影響 (Beaumier, Castillo, Ajami, & Young, 1995; Wennmalm, Edlund, Granstrom, & Wiklund, 1995)。但另有研究指出，動脈粥狀硬化患者口服補充精胺酸 32 g，為期 4 週，可提升休息時血漿 NO 濃度 (Jablecka, et al., 2004)。

本研究亦顯示補充精胺酸後 1 小時之血漿 nitrite 濃度無顯著增加，與心臟衰竭患者補充 20 g 精胺酸的研究結果一致，顯示補充精胺酸後 1 小時，雖然血漿精胺酸濃度增加，但血漿 NO 濃度並無顯著改變 (Prior, et al., 2000)。

在運動期間，精胺酸組血漿 nitrite 濃度較運動前顯著增加，安慰劑組則無顯著改變，兩組均於運動後 3 分鐘恢復至運動前水準，顯示短期補充精胺酸可能可增加運動期間血漿 NO 濃度，但各時間點兩組間均無顯著差異。

NO 半衰期非常短暫，內生性 NO 可能與氧、氧自由基及其他氧化還原物質產生反應 (Guevara, et al., 1998)，導致休

息時血漿 nitrite 濃度並無顯著增加。

精胺酸組休息時血漿 Cit 濃度顯著低於安慰劑組，但以健康受試者的研究指出，補充精胺酸 3-30 g，為期 7 天，對休息時血漿 Cit 濃度並無顯著影響 (Evans, Fernstrom, Thompson, Morris, & Kuller, 2004)。

本研究顯示精胺酸組補充後 1 小時之血漿 Cit 濃度與安慰劑組相同，與以健康受試者靜脈注射 3 g 精胺酸的研究結果相似 (Schaefer, et al., 2002)。

運動期間精胺酸組血漿 Cit 濃度並無顯著改變，而安慰劑組則顯著高於運動前，兩組均於運動後 10 分鐘恢復至運動前水準，補充後各時間點兩組間均無顯著差異。

精胺酸可作為 NOS 受質，產生 NO 與 Cit，有研究顯示血液 Arg 與 Cit 濃度變化量呈現負相關 (Schaefer, et al., 2002)，而本研究顯示口服補充精胺酸後，NO 與 Cit 各時間點均無顯著差異，可能是補充之精胺酸並未進入血管內皮細胞進行 NO 合成作用。

貳、精胺酸對血漿乳酸與氨濃度之影響

本研究顯示補充精胺酸對休息時、運動中及運動後各時間點之血漿乳酸濃度均無顯著影響，以耐力運動選手為對象的研究結果亦指出，補充精胺酸 15 g，為期 2 週後，對耐力運動後血漿乳酸濃度並無顯著影響 (Abel, et al., 2005;

Colombani, et al., 1999)。但另有研究指出，心臟衰竭患者口服補充精胺酸 12 g，為期 6 週後，心肺耐力腳踏車運動期間血漿乳酸堆積顯著減少 (Doutreleau, et al., 2005)，而健康受試者靜脈注射 3 g 精胺酸 90 分鐘後，進行漸增強度腳踏車運動測試，運動後精胺酸組血漿乳酸濃度顯著低於安慰劑組 (Schaefer, et al., 2002)，顯示運動選手與患者或健康成人補充精胺酸對運動後血漿乳酸濃度的反應可能不同。

本研究休息時血漿氨濃度兩組間並無顯著差異，補充精胺酸對運動中與運動後血漿氨濃度並無顯著影響，與耐力運動選手為對象的研究結果相似，耐力運動選手補充精胺酸 15 g，為期 2 週後，對馬拉松賽後血漿氨濃度並無顯著影響 (Colombani, et al., 1999)。但另有研究指出，健康男性口服補充 20 g 精胺酸 30 分鐘後，以 75-80% $\dot{V}O_{2max}$ 為強度，進行 30 分鐘腳踏車運動測試，顯示補充精胺酸對減少運動期間血漿氨濃度有顯著效果 (Eto, et al., 1994)，在 10 天補充期的研究中，對減少後血漿氨濃度亦有顯著效果 (Denis, et al., 1991)，健康受試者靜脈注射 3 g 精胺酸 90 分鐘後，休息時血漿氨濃度兩組間並無顯著差異，進行漸增強度腳踏車運動測試，運動後精胺酸組血漿氨濃度顯著低於安慰劑組 (Schaefer, et al., 2002)，顯示運動選手與健康成人補充精胺酸對運動後血漿氨濃度的反應可能不同。

部分研究顯示，補充精胺酸可增加耐力運動表現，而本研究採反覆高強度無氧運動，運動期間血漿乳酸及氨濃度分別為 14.7 ± 1.3 mmol/L 與 281.2 ± 23.7 μ g/dL，可能超過精

胺酸降低血漿乳酸與氨濃度的效果。精胺酸可參與尿素循環，經由精胺酸酶催化，產生鳥胺酸及尿素，增加血漿氨代謝，本研究補充精胺酸對休息時與運動期間血漿氨濃度並無顯著影響，顯示補充精胺酸可能未提高尿素合成作用。

參、精胺酸對血管功能之影響

本研究顯示口服補充精胺酸後，休息時心跳率、反射指數與硬化指數並無顯著改變，顯示精胺酸對休息時血管擴張反應及動脈硬化的改善並無顯著影響，與以患者或老年人為對象的研究結果不同，而健康老年人、冠狀動脈粥狀硬化、慢性心臟衰竭及高膽固醇血症患者補充精胺酸 2-4 週後，可增加休息時 EDVD (Clarkson, et al., 1996; Hambrecht, et al., 2000; Holowatz, Thompson, & Kenney, 2006; Maxwell, Zapien, Pearce, MacCallum, & Stone, 2002)。但另有研究指出，心血管病患者及健康男性補充精胺酸，對提升休息時 EDVD 並無顯著效果 (Abdelhamed, et al., 2003; Chin-Dusting, et al., 1996; Walker, et al., 2001)。

本研究顯示補充精胺酸後 1 小時，心跳率、反射指數與硬化指數並無顯著改變，顯示精胺酸對休息時血管擴張反應及動脈硬化程度並無顯著影響，與以健康年輕人為對象的研究結果相似，健康年輕受試者口服補充 10 mM 精胺酸溶液 20 分鐘後，對血流量與平均動脈壓並無顯著影響 (Holowatz, et al., 2006)。但另有研究指出，心臟衰竭患者補充 20 g 精胺酸 1 小時後，可增加血管擴張反應，在自發性高血壓患者及健康老年人的實驗中，也有類似的效果 (Holowatz, et al.,

2006; Lekakis, et al., 2002; Prior, et al., 2000)，顯示患者與健康年輕人補充精胺酸對血管內皮功能的影響可能不同。

運動後精胺酸組與安慰劑組之心跳率皆顯著增加，兩組的反射指數均顯著降低，顯示運動可增加血管擴張反應，但兩組間無顯著差異，於運動後 60 分鐘恢復至運動前反射指數水準，而兩組之硬化指數皆有上升趨勢，可能是運動造成血壓升高所致，但與運動前相比則無顯著差異，顯示運動可提高血管內皮擴張反應，而補充精胺酸對運動前與運動後之血管內皮擴張反應與動脈硬化程度並無顯著影響。

肆、精胺酸對運動表現之影響

本研究顯示補充精胺酸對反覆高強度無氧運動之最大功率、平均功率並無顯著影響，對平均功率疲勞值、power drop、最大功率下降值與平均功率下降值亦無顯著改變，與以耐力運動男選手為對象的研究結果相似，耐力運動選手補充精胺酸 2.8-5.7 g，為期 4 週後，進行漸增強度腳踏車運動測試，耐力運動表現並無顯著改變 (Abel, et al., 2005)，顯示補充精胺酸對此型態之運動表現及延緩運動疲勞產生並無顯著影響。

本研究與大多數以病患或健康成人為對象的研究結果不同，慢性心臟衰竭患者補充 8 g 精胺酸，為期 4 週，同時接受握力訓練，可增加握力功率輸出，顯示運動訓練與補充精胺酸具有加成效果 (Hambrecht, et al., 2000)，在心臟衰竭患者 (Bednarz, et al., 2004; Doutreleau, et al., 2006;

Doutreleau, et al., 2005)、冠狀動脈粥狀硬化患者 (Bednarz, et al., 2000; Maxwell, et al., 2002)、心絞痛患者 (Bellamy, et al., 1998; Ceremuzyski, et al., 1997) 的研究中，也顯示補充精胺酸可增加耐力運動表現。

另有研究指出，健康男性運動前補充 6 g 精胺酸、2 g 甘胺酸及 3.2 g ketoisocaproic acid，對最大負荷衝刺 10 秒 × 5 組 (間歇 1 分鐘) 之腳踏車運動與股四頭肌高強度等速運動至衰竭，皆有增加功率輸出的效果 (Buford & Koch, 2004; Stevens, et al., 2000)。

GAKIC 混合補充品有增加運動表現的效果，其他兩種化合物 (甘胺酸、ketoisocaproic acid)，亦可能影響運動表現。大部分研究顯示，補充精胺酸對心肺耐力運動或低強度運動有顯著效果，有可能對反覆高強度無氧運動並無增加表現的效果。

伍、精胺酸對血漿 Leu、Ile、Val、Gln 濃度之影響

本研究發現精胺酸組休息時血漿 Leu、Ile、Val、Gln 濃度並無顯著改變，在運動期間血漿 Leu 及 Ile 濃度兩組皆顯著增加，但精胺酸組 Ile 濃度顯著低於安慰劑組，Val 與 Gln 濃度僅安慰劑組顯著增加，顯示補充精胺酸可減少運動期間 Ile、Val、Gln 濃度的上升幅度。

運動期間 BCAA 從肝臟中釋出，經血液運送至肌肉，肌肉中主要以 Leu 經氧化作用後，為運動提供能量來源，本研

究結果顯示補充精胺酸後，精胺酸可減少運動所導致的 Ile 與 Val 增加幅度，對 Leu 則無顯著影響，可能原因為精胺酸提高肌肉對 Ile 與 Val 的利用，或是減少肝臟中 Ile 與 Val 的釋出。

陸、總結

本研究與類似研究結果不同，可能原因為：

- 一、 本研究顯示補充精胺酸，可能未提高血管內皮細胞 NO 合成作用，連帶對提高 EDVD 反應，增強運動表現與減少運動疲勞產生，亦無產生顯著效果。
- 二、 精胺酸補充期較短且劑量較低，大多數研究每日補充劑量 8-30 g，補充期為 2-12 週，可達到增加血漿 Arg 與 NO 濃度，提高 EDVD 反應及運動表現，本研究僅補充 6 g，為期 3 天。
- 三、 大部分研究多以心血管疾病患者及老年人為對象，血管內皮功能、身體代謝與體能條件較差，長期訓練運動員改善幅度有限，需要延長補充期或提高補充劑量，才可能達到提升血漿 Arg、NO 濃度及 EDVD 反應，降低運動後血漿乳酸堆積與氨濃度的效果。

第五章 結論與建議

第一節 結論

本研究以優秀大學柔道男選手為對象，每日口服補充 6 g 精胺酸，為期 3 天，結果發現：

- 一、短期補充精胺酸可提高運動前、運動中及運動後之血漿 Arg 濃度，但血漿 NO、Cit、乳酸及氨濃度並無顯著改變。
- 二、短期補充精胺酸並未提高血管內皮細胞 NO 合成作用，連帶對 EDVD 反應、運動表現及減少運動疲勞，亦無顯著影響。
- 二、短期補充精胺酸並未提高血管內皮細胞 NO 合成作用，連帶對 EDVD 反應、運動表現及減少運動疲勞，亦無顯著影響。
- 三、長期訓練運動選手短期補充精胺酸，對 Arg 代謝、NO 合成、EDVD 反應及運動表現與大多數以心血管疾病患者及健康成人為對象的研究結果不同。

第二節 建議

本研究顯示，運動選手短期補充精胺酸後，對 Arg 代謝、NO 合成、血管功能與運動表現並無顯著影響，可能是補充期較短或補充劑量不足，未來可延長補充期或提高補充劑量，探討運動選手補充精胺酸之有效劑量與補充期。

補充精胺酸後雖提高血漿 Arg 濃度，但 NO 合成作用並未增加，可能是補充之精胺酸並未進入血管內皮細胞進行 NO 合成，未來可進行細胞實驗及動物實驗探討 Arg 與內皮細胞 NO 合成可能的作用機轉。

參考文獻

- Abdelhamed A. I., Reis S. E., Sane D. C., Brosnihan K. B., Preli R. B., and Herrington D. M. (2003). No effect of an L-arginine-enriched medical food (HeartBars) on endothelial function and platelet aggregation in subjects with hypercholesterolemia. *American Heart Journal*, 145(3), E15.
- Abel T., Knechtle B., Perret C., Eser P., Von Arx P., and Knecht H. (2005). Influence of chronic supplementation of arginine aspartate in endurance athletes on performance and substrate metabolism - a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *International Journal of Sports Medicine*, 26(5), 344-9.
- Adams M. R., McCreddie R., Jessup W., Robinson J., Sullivan D., and Celermajer D. S. (1997). Oral L-arginine improves endothelium-dependent dilatation and reduces monocyte adhesion to endothelial cells in young men with coronary artery disease. *Atherosclerosis*, 129(2), 261-9.
- Annuk M., Fellstrom B., and Lind L. (2002). Cyclooxygenase inhibition improves endothelium-dependent vasodilatation in patients with chronic renal failure. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 17(12), 2159-63.
- Arlt K., Brandt S., and Kehr J. (2001). Amino acid analysis in five pooled single plant cell samples using capillary electrophoresis coupled to laser-induced fluorescence

- detection. *Journal of Chromatography. A*, 926(2), 319-25.
- Banister E. W. and Cameron B. J. (1990). Exercise-induced hyperammonemia: peripheral and central effects. *International Journal of Sports Medicine*, 11(Suppl 2), S129-42.
- Beaumier L., Castillo L., Ajami A. M., and Young V. R. (1995). Urea cycle intermediate kinetics and nitrate excretion at normal and "therapeutic" intakes of arginine in humans. *American Journal of Physiology*, 269(5 Pt 1).
- Bednarz B., Jaxa-Chamiec T., Gebalska J., Herbaczyska-Cedro K., and Ceremuzycki L. (2004). L-arginine supplementation prolongs exercise capacity in congestive heart failure. *Kardiologia Polska*, 60(4), 348-53.
- Bednarz B., Wolk R., Chamiec T., Herbaczynska-Cedro K., Winek D., and Ceremuzyński L. (2000). Effects of oral L-arginine supplementation on exercise-induced QT dispersion and exercise tolerance in stable angina pectoris. *International Journal of Cardiology*, 75(2-3), 205-10.
- Belardinelli R., Georgiou D., Ginzton L., Cianci G., and Purcaro A. (1998). Effects of moderate exercise training on thallium uptake and contractile response to low-dose dobutamine of dysfunctional myocardium in patients with ischemic cardiomyopathy. *Circulation*, 97(6),

553-61.

- Bellamy M. F., Goodfellow J., Tweddel A. C., Dunstan F. D., Lewis M. J., and Henderson A. H. (1998). Syndrome X and endothelial dysfunction. *Cardiovascular Research*, 40(2), 410-7.
- Bennett-Richards K. J., Kattenhorn M., Donald A. E., Oakley G. R., Varghese Z., Bruckdorfer K. R., et al. (2002). Oral L-arginine does not improve endothelial dysfunction in children with chronic renal failure. *Kidney International*, 62(4), 1372-8.
- Blum A., Hathaway L., Mincemoyer R., Schenke W. H., Kirby M., Csako G., et al. (2000). Oral L-arginine in patients with coronary artery disease on medical management. *Circulation*, 101(18), 2160-4.
- Bode-Boger S. M., Muke J., Surdacki A., Brabant G., Boger R. H., and Frolich J. C. (2003). Oral L-arginine improves endothelial function in healthy individuals older than 70 years. *Vascular Medicine*, 8(2), 77-81.
- Buford B. N. and Koch A. J. (2004). Glycine-arginine-alpha-ketoglutaric acid improves performance of repeated cycling sprints. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 36(4), 583-7.
- Ceremuzyski L., Chamiec T., and Herbaczyska-Cedro K. (1997). Effect of supplemental oral L-arginine on exercise capacity in patients with stable angina pectoris. *American Journal of Cardiology*, 80(3), 331-3.

- Chen X., Wang F., Chen Q., Qin X. C., and Li Z. (2000). Analysis of neurotoxin 3-N-oxalyl-L-2,3-diaminopropionic acid and its alpha-isomer in *Lathyrus sativus* by high-performance liquid chromatography with 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate (AQC) derivatization. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 48(8), 3383-6.
- Chin-Dusting J. P., Alexander C. T., Arnold P. J., Hodgson W. C., Lux A. S., and Jennings G. L. (1996). Effects of in vivo and in vitro L-arginine supplementation on healthy human vessels. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 28(1), 158-66.
- Chin-Dusting J. P., Kaye D. M., Lefkovits J., Wong J., Bergin P., and Jennings G. L. (1996). Dietary supplementation with L-arginine fails to restore endothelial function in forearm resistance arteries of patients with severe heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*, 27(5), 1207-13.
- Chou S. S., Su S. C., Shiau H. W., Yu P. C., Hwang D. F., Yu P. C., et al. (1998). Protein and amino acid profiles in natural and artificial shark fins using capillary electrophoresis. *Journal of Food Science*, 63(5), 782-4.
- Chowienzyk P. J., Kelly R. P., Maccallum H., Millasseau S. C., Andersson T. L., Gosling R. G., et al. (1999). Photoplethysmographic assessment of pulse wave

reflection: blunted response to endothelium-dependent beta2-adrenergic vasodilation in type II diabetes mellitus. *Journal of the American College of Cardiology*, 34(7), 2007-14.

Clarkson P., Adams M. R., Powe A. J., Donald A. E., Mccredie R., Robinson J., et al. (1996). Oral L-arginine improves endothelium-dependent dilation in hypercholesterolemic young adults. *Journal of Clinical Investigation*, 97(8), 1989-94.

Clarkson P., Montgomery H. E., Mullen M. J., Donald A. E., Powe A. J., Bull T., et al. (1999). Exercise training enhances endothelial function in young men. *Journal of the American College of Cardiology*, 33(5), 1379-85.

Colombani P. C., Bitzi R., Frey-Rindova P., Frey W., Arnold M., Langhans W., et al. (1999). Chronic arginine aspartate supplementation in runners reduces total plasma amino acid level at rest and during a marathon run. *European Journal of Nutrition*, 38(6), 263-70.

Cortacero-Ramirez S., Castro M. H., Segura-Carretero A. , Cruces-Blanco C., and Fernandez-Gutierrez A. (2003). Analysis of beer components by capillary electrophoretic methods. *Trends in Analytical Chemistry*, 22, 440-55.

Delp M. D. and Laughlin M. H. (1997). Time course of enhanced endothelium-mediated dilation in aorta of trained rats. *Medicine & Science in Sports & Exercise*,

29(11), 1454-61.

- Denis C., Dormois D., Linossier M. T., Eychenne J. L., Hauseux P., and Lacour J. R. (1991). Effect of arginine aspartate on the exercise-induced hyperammonemia in humans: a two periods cross-over trial. *Archives Internationales de Physiologie, de Biochimie et de Biophysique*, 99(1), 123-7.
- Desouza C. A., Shapiro L. F., Clevenger C. M., Dinunno F. A., Monahan K. D., Tanaka H., et al. (2000). Regular aerobic exercise prevents and restores age-related declines in endothelium-dependent vasodilation in healthy men. *Circulation*, 102(12), 1351-7.
- Doutreleau S., Mettauer B., Piquard F., Rouyer O., Schaefer A., Lonsdorfer J., et al. (2006). Chronic L-arginine supplementation enhances endurance exercise tolerance in heart failure patients. *International Journal of Sports Medicine*, 27(7), 567-72.
- Doutreleau S., Mettauer B., Piquard F., Schaefer A., Lonsdorfer E., Richard R., et al. (2005). Chronic but not acute oral L-arginine supplementation delays the ventilatory threshold during exercise in heart failure patients. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 30(4), 419-32.
- Edge J., Bishop D., Hill-Haas S., Dawson B., and Goodman C. (2006). Comparison of muscle buffer capacity and repeated-sprint ability of untrained, endurance-trained

- and team-sport athletes. *European Journal of Applied Physiology*, 96(3), 225-34. Epub 2005 Oct 19.
- Endemann D. H. and Schiffrin E. L. (2004). Endothelial dysfunction. *Journal of the American Society of Nephrology*, 15(8), 1983-92.
- Eto B., Peres G., and Le Moel G. (1994). Effects of an ingested glutamate arginine salt on ammonemia during and after long lasting cycling. *Archives Internationales de Physiologie, de Biochimie et de Biophysique*, 102(3), 161-2.
- Evans R. W., Fernstrom J. D., Thompson J., Morris S. M., Jr., and Kuller L. H. (2004). Biochemical responses of healthy subjects during dietary supplementation with L-arginine. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 15(9), 534-9.
- Gielen S., Schuler G., and Hambrecht R. (2001). Exercise training in coronary artery disease and coronary vasomotion. *Circulation*, 103(1), E1-6.
- Guevara I., Iwanejko J., Dembinska-Kiec A., Pankiewicz J., Wanat A., Anna P., et al. (1998). Determination of nitrite/nitrate in human biological material by the simple Griess reaction. *Clinica Chimica Acta*, 274(2), 177-88.
- Hambrecht R., Hilbrich L., Erbs S., Gielen S., Fiehn E., Schoene N., et al. (2000). Correction of endothelial dysfunction in chronic heart failure: additional effects

- of exercise training and oral L-arginine supplementation. *Journal of the American College of Cardiology*, 35(3), 706-13.
- Hambrecht R., Wolf A., Gielen S., Linke A., Hofer J., Erbs S., et al. (2000). Effect of exercise on coronary endothelial function in patients with coronary artery disease. *New England Journal of Medicine*, 342(7), 454-60.
- Holowatz L. A., Thompson C. S., and Kenney W. L. (2006). L-Arginine supplementation or arginase inhibition augments reflex cutaneous vasodilatation in aged human skin. *Journal of Physiology*, 574(Pt 2), 573-81.
- Inbar O., Bar-or O., and Skinner J. S. (1996). The Wingate anaerobic test. Champaign, IL: Human Kinetics.
- Jablecka A., Checiski P., Krauss H., Micker M., and Ast J. (2004). The influence of two different doses of L-arginine oral supplementation on nitric oxide (NO) concentration and total antioxidant status (TAS) in atherosclerotic patients. *Medical Science Monitor*, 10(1).
- Jin Lian Ji, Rodriguez Isabel, and Li Sam F. Y. (1999). Enantiomeric separation of amino acids derivatized with fluoresceine isothiocyanate isomer I by micellar electrokinetic chromatography using α - and β -cyclodextrins as chiral selectors. *Electrophoresis*, 20, 1538-1545.
- Kawano H., Motoyama T., Hirai N., Kugiyama K., Yasue H.,

- and Ogawa H. (2002). Endothelial dysfunction in hypercholesterolemia is improved by L-arginine administration: possible role of oxidative stress. *Atherosclerosis*, 161(2), 375-80.
- Khan K., Blaak E., and Elia M. (1991). Quantifying intermediary metabolites in whole blood after a simple deproteinization step with sulfosalicylic acid. *Clinical Chemistry*, 37(5), 728-33.
- Knipp M. and Vasak M. (2000). A colorimetric 96-well microtiter plate assay for the determination of enzymatically formed citrulline. *Analytical Biochemistry*, 286(2), 257-64.
- Kojda G., Laursen J. B., Ramasamy S., Kent J. D., Kurz S., Burchfield J., et al. (1999). Protein expression, vascular reactivity and soluble guanylate cyclase activity in mice lacking the endothelial cell nitric oxide synthase: contributions of NOS isoforms to blood pressure and heart rate control. *Cardiovascular Research*, 42(1), 206-13.
- Komarova N. V., Kamentsev J. S., Solomonova A. P., and Anufrieva R. M. (2004). Determination of amino acids in fodders and raw materials using capillary zone electrophoresis. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical & Life Sciences*, 800(1-2), 135-43.
- Laucevicius A., Ryliskyte L., Petrulioniene Z., Kovaite M.,

- and Misonis N. (2004). Photoplethysmographic assessment of pulse wave reflection: a blunted response to salbutamol in arterial hypertension and coronary artery disease. *Seminars in Cardiology*, 10(2), 83-90.
- Lee H. L. and Chen S. C. (2004). Microchip capillary electrophoresis with electrochemical detector for precolumn enzymatic analysis of glucose, creatinine, uric acid and ascorbic acid in urine and serum. *Talanta*, 64(1), 750-7.
- Lekakis J. P., Papathanassiou S., Papaioannou T. G., Papamichael C. M., Zakopoulos N., Kotsis V., et al. (2002). Oral L-arginine improves endothelial dysfunction in patients with essential hypertension. *International Journal of Cardiology*, 86(2-3), 317-23.
- Li H., Wang H., Chen J. H., Wang L. H., Zhang H. S., and Fan Y. (2003). Determination of amino acid neurotransmitters in cerebral cortex of rats administered with baicalin prior to cerebral ischemia by capillary electrophoresis-laser-induced fluorescence detection. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical & Life Sciences*, 788(1), 93-101.
- Lin W.-C. (1995). Studies of migration behavior and separation of dichlorophenolic isomer, biogenic amines, and sulfonamides by capillary electrophoresis. *Dissertation And Thesis Abstract System*. (84NTU00065018)

- Liu Y. M., Schneider M., Sticha C. M., Toyooka T., and Sweedler J. V. (1998). Separation of amino acid and peptide stereoisomers by nonionic micelle-mediated capillary electrophoresis after chiral derivatization. *Journal of Chromatography. A*, 800(2), 345-54.
- Maiorana A., O'driscoll G., Taylor R., and Green D. (2003). Exercise and the nitric oxide vasodilator system. *Sports Medicine*, 33(14), 1013-35.
- Mank A. J. and Yeung E. S. (1995). Diode laser-induced fluorescence detection in capillary electrophoresis after pre-column derivatization of amino acids and small peptides. *Journal of Chromatography. A*, 708(2), 309-21.
- Martin-Girardeau A. and Renou-Gonnord M. F. (2000). Optimization of a capillary electrophoresis-electrospray mass spectrometry method for the quantitation of the 20 natural amino acids in childrens blood. *Journal of Chromatography. B, Biomedical Sciences & Applications*, 742(1), 163-71.
- Maxwell A. J., Zapien M. P., Pearce G. L., Maccallum G., and Stone P. H. (2002). Randomized trial of a medical food for the dietary management of chronic, stable angina. *Journal of the American College of Cardiology*, 39(1), 37-45.
- Mcallister R. M. and Laughlin M. H. (1997). Short-term exercise training alters responses of porcine femoral and brachial arteries. *Journal of Applied Physiology*, 82(5),

1438-44.

- McLaren D. G., Boulat O., and Chen D. D. (2002). Univalent salts as modifiers in micellar capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, 23(12), 1912-20.
- Molina M. and Silva M. (2002). Analytical potential of fluorescein analogues for ultrasensitive determinations of phosphorus-containing amino acid herbicides by micellar electrokinetic chromatography with laser-induced fluorescence detection. *Electrophoresis*, 23(7-8), 1096-103.
- Nagaya N., Uematsu M., Oya H., Sato N., Sakamaki F., Kyotani S., et al. (2001). Short-term oral administration of L-arginine improves hemodynamics and exercise capacity in patients with precapillary pulmonary hypertension. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine*, 163(4), 887-91.
- Oguri S. (2000). Electromigration methods for amino acids, biogenic amines and aromatic amines. *Journal of Chromatography. B, Biomedical Sciences & Applications*, 747(1-2), 1-19.
- Prior D. L., Jennings G. L. R., and Chin-Dusting J. P. (2000). Transient improvement of acetylcholine responses after short-term oral L-arginine in forearms of human heart failure. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 36(1), 31-7.
- Ridnour L. A., Sim J. E., Hayward M. A., Wink D. A., Martin

- S. M., Buettner G. R., et al. (2000). A Spectrophotometric Method for the Direct Detection and Quantitation of Nitric Oxide, Nitrite, and Nitrate in Cell Culture Media. *Clinica Chimica Acta*, 274(2), 177-88.
- Rose M. J., Lunte S. M., Carlson R. G., and Stobaugh J. F. (2003). Amino acid and peptide analysis using derivatization with p-nitrophenol-2,5-dihydroxyphenylacetate bis-tetrahydropyranyl ether and capillary electrophoresis with electrochemical detection. *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis*, 30(6), 1851-9.
- Sauvinet V., Parrot S., Benturquia N., Bravo-Moraton E., Renaud B., and Denoroy L. (2003). In vivo simultaneous monitoring of gamma-aminobutyric acid, glutamate, and L-aspartate using brain microdialysis and capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection: Analytical developments and in vitro/in vivo validations. *Electrophoresis*, 24(18), 3187-96.
- Schaefer A., Piquard F., Geny B., Doutreleau S., Lampert E., Mettauer B., et al. (2002). L-arginine reduces exercise-induced increase in plasma lactate and ammonia. *International Journal of Sports Medicine*, 23(6), 403-7.
- Schlaich M. P., Jacobi J., John S., Delles C., Fleischmann I., and Schmieder R. E. (2000). Is l-arginine infusion an adequate tool to assess endothelium-dependent

- vasodilation of the human renal vasculature? *Clinical Science*, 99(4), 293-302.
- Sessa W. C., Pritchard K., Seyedi N., Wang J., and Hintze T. H. (1994). Chronic exercise in dogs increases coronary vascular nitric oxide production and endothelial cell nitric oxide synthase gene expression. *Circulation Research*, 74(2), 349-53.
- Shen Z., Sun Z., Wu L., Wu K., Sun S., and Huang Z. (2002). Rapid method for the determination of amino acids in serum by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography. A*, 979(1-2), 227-32.
- Smith J. T. (1997). Developments in amino acid analysis using capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, 18(12-13), 2377-92.
- Stevens B. R., Godfrey M. D., Kaminski T. W., and Braith R. W. (2000). High-intensity dynamic human muscle performance enhanced by a metabolic intervention. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 32(12), 2102-8.
- Su S. C., Yu P. C., Liu C. H., Shiau H. W., Lee S. C., and Chou S. S. (1998). Application of capillary electrophoresis for identification of the authenticity of bird's nests. *Journal of Food and Drug Analysis*, 6(1), 455-64.
- Sun D., Huang A., Koller A., and Kaley G. (1994). Short-term daily exercise activity enhances endothelial NO synthesis in skeletal muscle arterioles of rats. *Journal*

- of Applied Physiology*, 76(5), 2241-7.
- Walker H. A., Mcging E., Fisher I., Boger R. H., Bode-Boger S. M., Jackson G., et al. (2001). Endothelium-dependent vasodilation is independent of the plasma L-arginine/ADMA ratio in men with stable angina: lack of effect of oral L-arginine on endothelial function, oxidative stress and exercise performance. *Journal of the American College of Cardiology*, 38(2), 499-505.
- Wan H. and Blomberg L. G. (1996). Enantioseparation of amino acids and dipeptides using vancomycin as chiral selector in capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, 17(12), 1938-44.
- Wennmalm A., Edlund A., Granstrom E. F., and Wiklund O. (1995). Acute supplementation with the nitric oxide precursor L-arginine does not improve cardiovascular performance in patients with hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*, 118(2), 223-31.
- Zhan W., Wang T., and Li S. F. (2000). Derivatization, extraction and concentration of amino acids and peptides by using organic/aqueous phases in capillary electrophoresis with fluorescence detection. *Electrophoresis*, 21(17), 3593-9.
- Zhou J. and Lunte S. M. (1995). Direct determination of amino acids by capillary electrophoresis/electrochemistry using a copper microelectrode and zwitterionic buffers. *Electrophoresis*, 16(4), 498-503.

Zunic G., Jelic-Ivanovic Z., Colic M., and Spasic S. (2002).
Optimization of a free separation of 30 free amino acids
and peptides by capillary zone electrophoresis with
indirect absorbance detection: a potential for
quantification in physiological fluids. *Journal of
Chromatography B: Analytical Technologies in the
Biomedical & Life Sciences*, 772(1), 19-33.

表 2-1 補充精胺酸對運動表現相關研究

受試者	劑量	途徑	實驗處理	效 果	結 果	參 考 文 獻
肺部高血壓 (n = 19)	1.5 g/10 kg BW × 1 週	po		+	$\dot{V}O_{2peak}$ 增加	(Nagaya, et al., 2001)
心絞痛 (n = 7)	7 g × 2 次 週	po	Weber protocol 跑步至衰竭	+	運動持續時間、 $\dot{V}O_{2max}$ 增加	(Bellamy, et al., 1998)
心絞痛、心肌梗塞 (n = 22)	6 g × 3 天	po	Bruce protocol 跑步至衰竭	+	$\dot{V}O_{2max}$ 增加	(Ceremuzyski, et al., 1997)
鬱心性心臟衰竭 (n = 21)	9 g × 7 天	po		+	運動持續時間增加	(Bednarz, et al., 2004)
健康男大學生 (n = 10)	GAKIC ^b	po	腳踏車最大負荷衝刺 10 秒 × 5 組 (間歇 1 分鐘)	+	平均功率增加	(Buford & Koch, 2004)
健康男性受	GAKIC ^b	po	股四頭肌高強度	+	總功率增	(Stevens, et al.,

試者 (n = 13)

等速運動至衰竭

加

2000)

^a po : 口服 ; ^b GAKIC : 精胺酸 6 g、甘胺酸 2 g、ketoisocaproic acid 3.2 g

表 2-2 補充精胺酸對運動代謝相關研究

受試者	劑量	途徑	實驗處理	效 果	結 果	參 考 文 獻
健康受試者 (n = 8)	3 g	iv	腳踏車逐級增加 至最大功率輸出	+	血氨、乳酸 增加量減少	(Schaefer, et al., 2002)
健康男性 (n = 3, 18-25 歲)	運動 30 分鐘 前補充 20 g	po	75-80% $\dot{V}O_{2max}$ 腳踏車運動 30 分鐘	+	血氨增加 量減少	(Eto, et al., 1994)
受試者 (n = 10 天 11)		po	80% $\dot{V}O_{2max}$ 腳踏車運動 45 分鐘	+	血氨增加 量減少	(Denis, et al., 1991)
耐力訓練選 手 (n = 14)	15 g × 14 天	po	馬拉松比賽	-	代謝效果 不顯著	(Colombani, et al., 1999)

^a iv: 靜脈注射; po: 口服

表 2-3 補充精胺酸對內皮依賴性血管擴張影響之研究

受試者	劑量	途徑 ^a	檢測指標 ^b	效果	結果	參考文獻
健康男性 (n = 20, 26±2 歲)	100、500 mg/kg × 30 分鐘	iv	EDVD	+	腎臟血漿流量增加至 677±98、762±133 mL/min (100、500 mg/kg)	(Schlaich, et al., 2000)
慢性腎臟衰竭 (n= 30, 15 位患者、15 位健康控制組)		ia	EDVD	+	EDVD、前臂血流量兩組皆增加	(Annuk, et al., 2002)
高膽固醇血症男性 (n= 34, 17 位控制組)	30 g × 1 小時	ia	EDVD	+	臂動脈 EDVD 增加量 3.92±0.58% 提升至 7.27±0.53%	(Kawano, et al., 2002)
健康老年人 (n = 12, 73.8 ±2.7 歲)	8 g × 2 次 × 14 天	po	EDVD	+	臂動脈 EDVD 增加 5.7±1.2%、血漿精胺酸濃度增加 (114.9±11.6 μM)	(Bode-Boger, et al., 2003)

慢性心臟衰竭	8 g × 28 天	po	EDVD	+	橈動脈內徑增加	(Hambrecht, et al., 2000)
(n = 40)					8.8±0.9%	
自發性高血壓	6 g	po	EDVD	+	臂動脈 EDVD 增加	(Lekakis, et al., 2002)
(n = 35)					5.9±5.4%	
冠狀動脈粥狀硬化男性	7 g × 3 次	po	EDVD	+	臂動脈 EDVD 增加	(Adams, et al., 1997)
(n = 10, 41±2 歲)	× 3 天				4.7±1.1%、血漿精胺酸濃度增加 (318±18 μM)	
高膽固醇血症	3.3 g × 2 次	po	EDVD	-	臂動脈 EDVD 未改善	(Abdelhamed, et al., 2003)
(n = 47)	× 2 週					

^a ia：動脈注射；iv：靜脈注射；po：口服；^b EDVD：內皮依賴性血管擴張 (Endothelium-dependent vasodilation)

表 2-4 常用胺基酸衍生化試劑

試劑簡稱	試劑全名	參考文獻
AccQ	6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate	(Chen, Wang, Chen, Qin, & Li, 2000)
AEOC	2-(9-anthryl)ethyl chloroformate	(Wan & Blomberg, 1996)
CBQCA	3-(4-carboxybenzoyl)-quinoline-2-carboxaldehyde	(McLaren, Boulat, & Chen, 2002)
CFSE	5(6)-carboxyfluorescein N-succinimidyl ester	(Molina & Silva, 2002)
CTSP	9-cyano-N,N,N'-triethyl-N'-(5-succinimidyloxycarbonylpentyl)-pyronin	(Oguri, 2000)
DCC	dicarbocyanine	(Mank & Yeung, 1995)
DNFB	2,4-dinitrofluorobenzene	(Shen, et al., 2002)
Dns-Cl	dansyl chloride	(Su, et al., 1998)
FITC	fluorescein isothiocyanate	(Li, et al., 2003)
Fluorescamine	fluorescamine	(Zhan, Wang, & Li, 2000)
FMOC	9-fluorenylmethyl chloroformate	(Wan & Blomberg, 1996)

NDA	N-acetylcysteine	(Sauvinet, et al., 2003)
NDTE	p-nitrophenol-2,5-dihydroxyphenylacetate bis-tetrahydropyranyl ether	(Rose, et al., 2003)
OPA	o-phthalaldehyde	(Oguri, 2000)
PITC	Phenylisothiocyanate	(Komarova, Kamentsev, Solomonova, & Anufrieva, 2004)

表 2-5 CE 分析胺基酸之應用

分析物	衍生劑	分析緩衝溶液	毛細管尺 寸 (Length×I. D.)	電壓	偵測法 ^a	偵測限 度	參考 文獻
大鼠腦皮 質神經傳 導物	FITC	15 mM borate (pH 9.2)	57 cm×75 μm	17.5 KV	LIF	0.021-0. 63 nM	(Li, et al., 2003)
腦神經傳 導物	NDA	75 mM borate (pH 9.2)-70 mM SDS-10 mM hydroxypropyl-β-C D		25 KV	LIF	3-15 nM	(Sauvinet, et al., 2003)
慢性腎衰 竭病患血 清	DNFB	30 mM sodium tetraborate (pH 9.8)-isopropanol-3 0% Brij 35 (825:150:25, v/v)	37 cm×75 μm	28 KV	DAD	2.5-7.9 μM	(Shen, et al., 2002)

生物體液 胺基酸、 peptide	未衍生 化	p-aminosalicylic acid-sodium carbonate (pH 10.2)	87 cm×75 μm	15 KV Indirect UV	1.93-20. 08 μM	(Zunic, et al., 2002)
植物韌皮 部汁液與 葉肉細胞	FITC	sodium borate-SDS, sodium borate-α-CD		20 KV LIF	femto-m ol, pico-mo l	(Arlt, et al., 2001)
魚翅	Dns-Cl	0.02 M borate/phosphate-0 .1 M SDS (pH 9.0): methanol (9:1, v/v)	57 cm × 75 μm	27 KV UV	0.01-0.0 3 pmole	(Chou, et al., 1998)
燕窩	Dns-Cl	0.02 M borate/phosphate-0 .1 M SDS (pH 9.0): methanol (9:1, v/v)	57 cm×75 μm	27 KV UV	0.01-0.0 3 pmole	(Su, et al., 1998)
胺基酸、 peptide 像異構物	NBD-Py 鏡 NCS	25 mM acetate (pH 4)-10 mM Triton X-100		LIF	50 nM	(Liu, Schneider, Sticha,

Toyooka,
&
Sweedler,
1998)

^a DAD : di-array detection ; LIF : laser-induced fluorescence ; UV : ultraviolet

表 3-1 單一胺基酸標準品與 Nor-Leu 檢測濃度

	胺基酸檢測濃度 ($\mu\text{mol/L}$)			Nor-Leu ($\mu\text{mol/L}$)
Arg	50	100	200	200
Leu	75	125	250	200
ILe	40	75	150	200
Val	125	250	450	200
Trp	40	75	150	200
Ala	250	450	900	200
Gln	200	400	800	200
Gly	125	250	500	200

表 3-2 CE 檢測胺基酸濃度換算公式

胺基酸	a	b	R ²
Arg	1.018	-0.2077	0.9997
Leu	0.7912	-0.2763	0.9946
Ile	0.8646	-0.2278	0.9809
Val	0.9286	-0.2963	0.9969
Trp	0.5172	-0.0975	0.9782
Ala	0.1963	0.0376	0.9801
Gln	0.525	0.0959	0.9691
Gly	2.146	-0.572	0.9999

$$\text{Amino acid 積分} / \text{Nor-Leu 積分} = a \times (\text{Amino acid 濃度} / \text{Nor-Leu 濃度}) + b$$

表 4-1 選手基本資料表

編號	年齡 (yr)	身高 (cm)	精胺酸組體重 (kg)	安慰劑組體重 (kg)
1	22	172	79.0	79.7
2	20	172	79.7	79.2
3	22	180	74.2	74.5
4	18	169	74.3	74.8
5	22	179	74.0	73.1
6	21	170	75.3	77.1
7	19	171	79.3	80.0
8	18	166	68.3	68.6
9	20	174	72.9	71.3
10	21	160	60.1	62.4
11	23	176	82.9	82.5
12	18	179	66.6	66.7
平均值 ± 標準誤	20.3 ± 0.5	172.3 ± 1.7	73.9 ± 1.8	74.2 ± 1.7

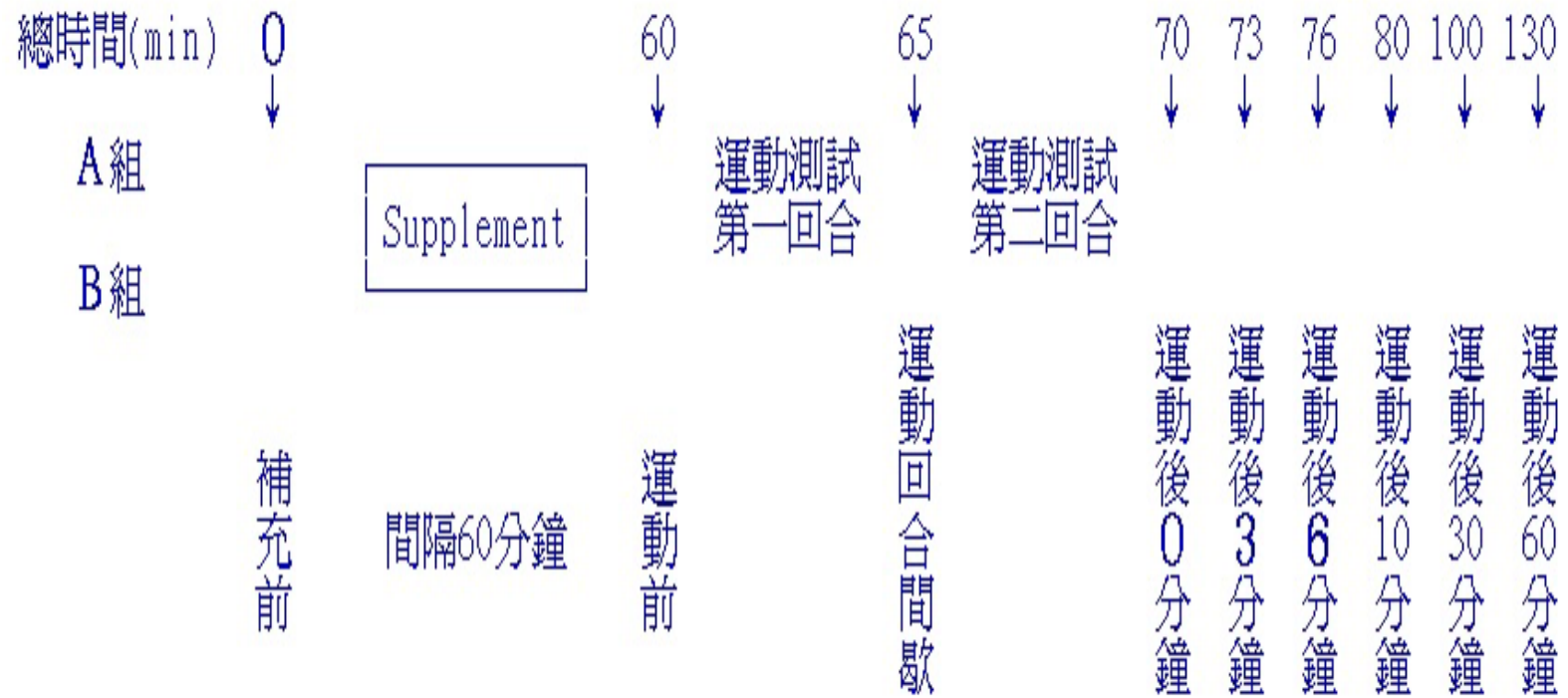


圖 3-1 運動測試及血液採集程序圖

A 組先補充精胺酸、B 組先補充安慰劑，經 4 天 wash-out 期，兩組補充品交換。

運動測試：20 秒全力衝刺，15 秒休息，相互交替。

↓：血液採集。

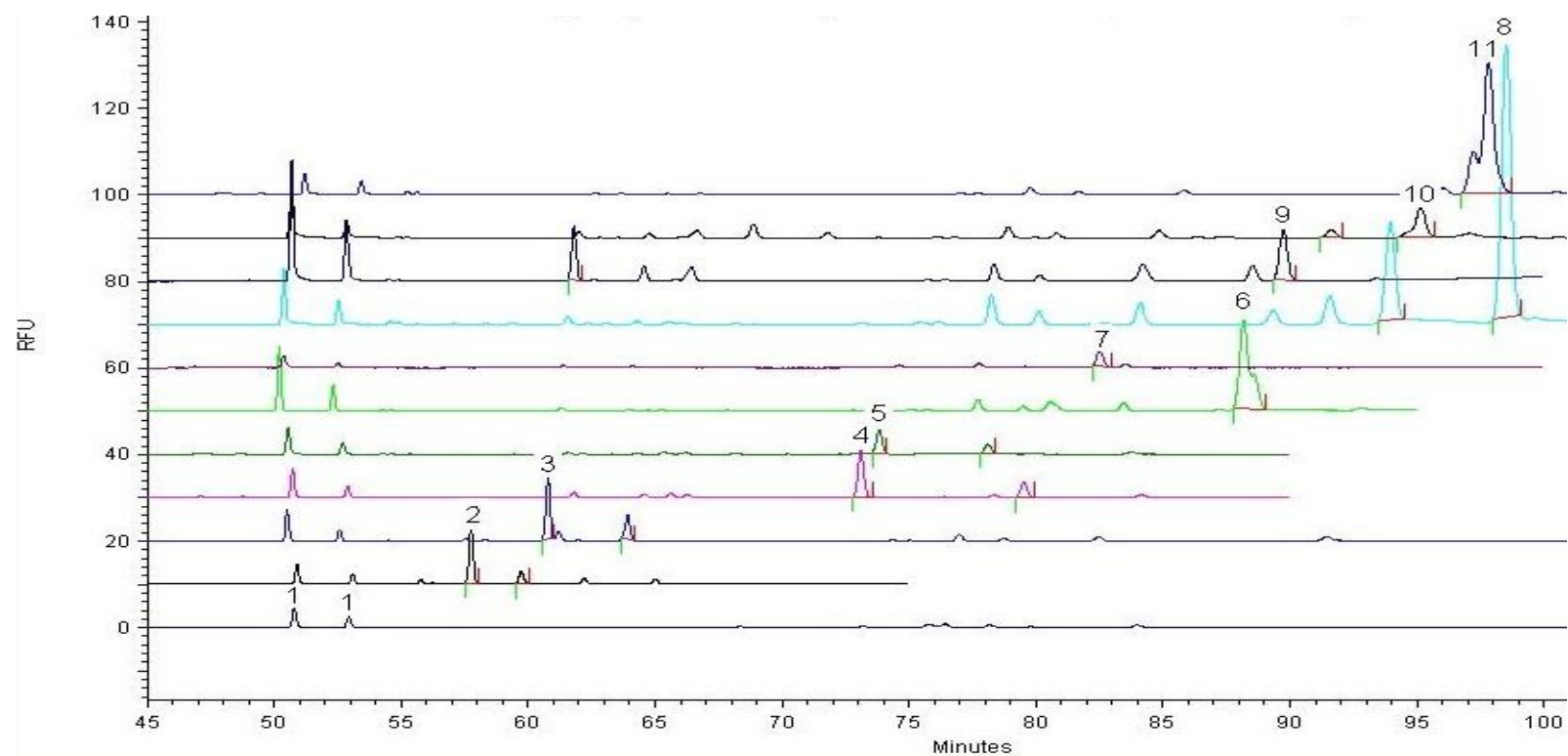


圖 3-2 毛細管電泳分析胺基酸標準品

分析條件：緩衝溶液 120 mM Sodium borate (pH 9.2) 含 45 mM α -cyclodextrin；電壓：25 kV；毛細管溫度：25 $^{\circ}$ C；注入時間 5 秒壓力 0.5 psi。可辨識胺基酸：(1) FITC, (2) Arg, (3) Nor-Leu, (4) Leu, (5) Ile, (6) Val, (7) Trp, (8) Ala, (9) Gln, (10) Cys, (11) Gly

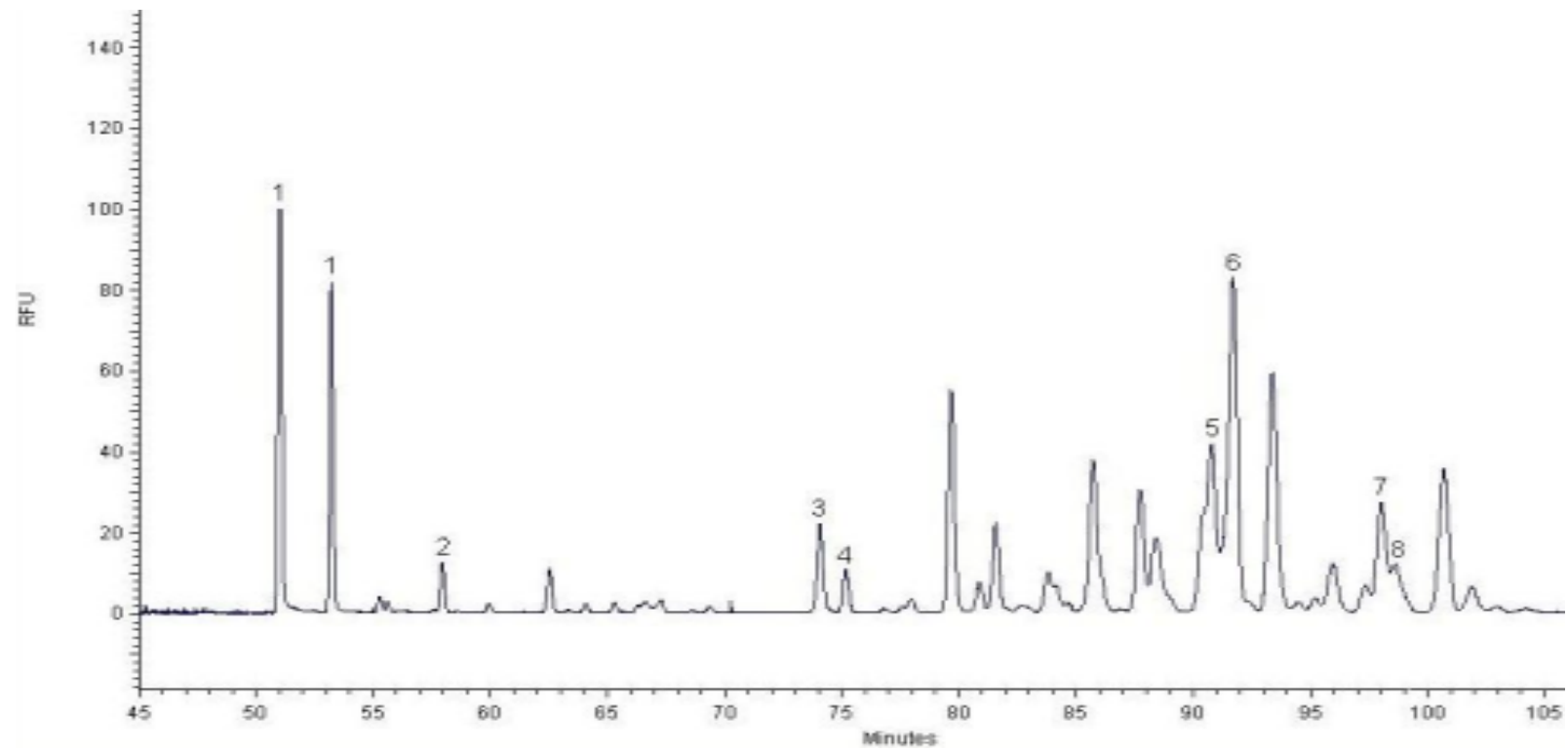


圖 3-3 毛細管電泳分析血漿樣本 (不含 Nor-Leu)

分析條件同圖 3-2。 (1) FITC, (2) Arg, (3) Leu, (4) Ile, (5) Val, (6) Gln, (7) Gly, (8) Ala

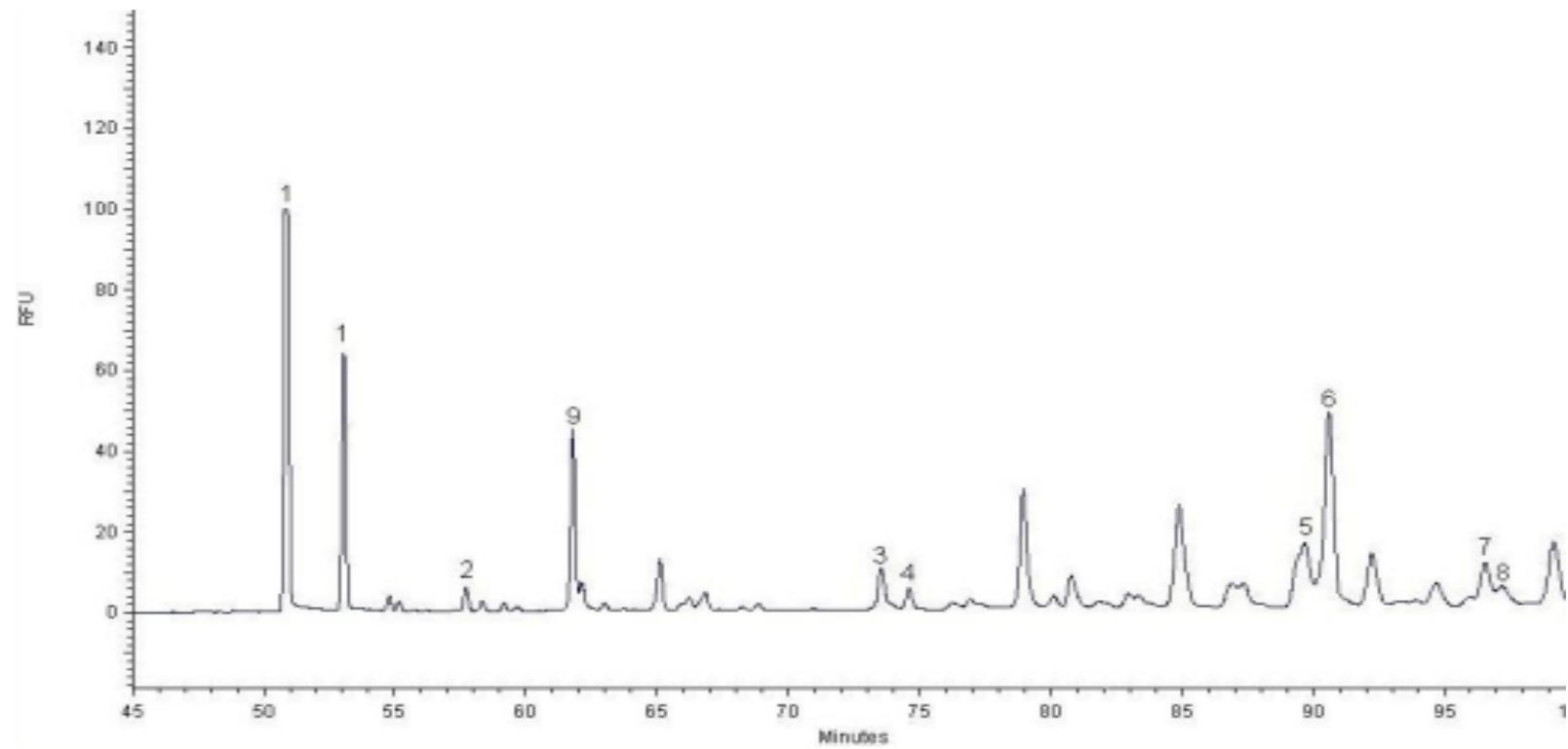


圖 3-4 毛細管電泳分析血漿樣本 (含 Nor-Leu)

分析條件同圖 3-2。 (1) FITC, (2) Arg, (3) Leu, (4) Ile, (5) Val, (6) Gln, (7) Gly, (8) Ala, (9) Nor-Leu

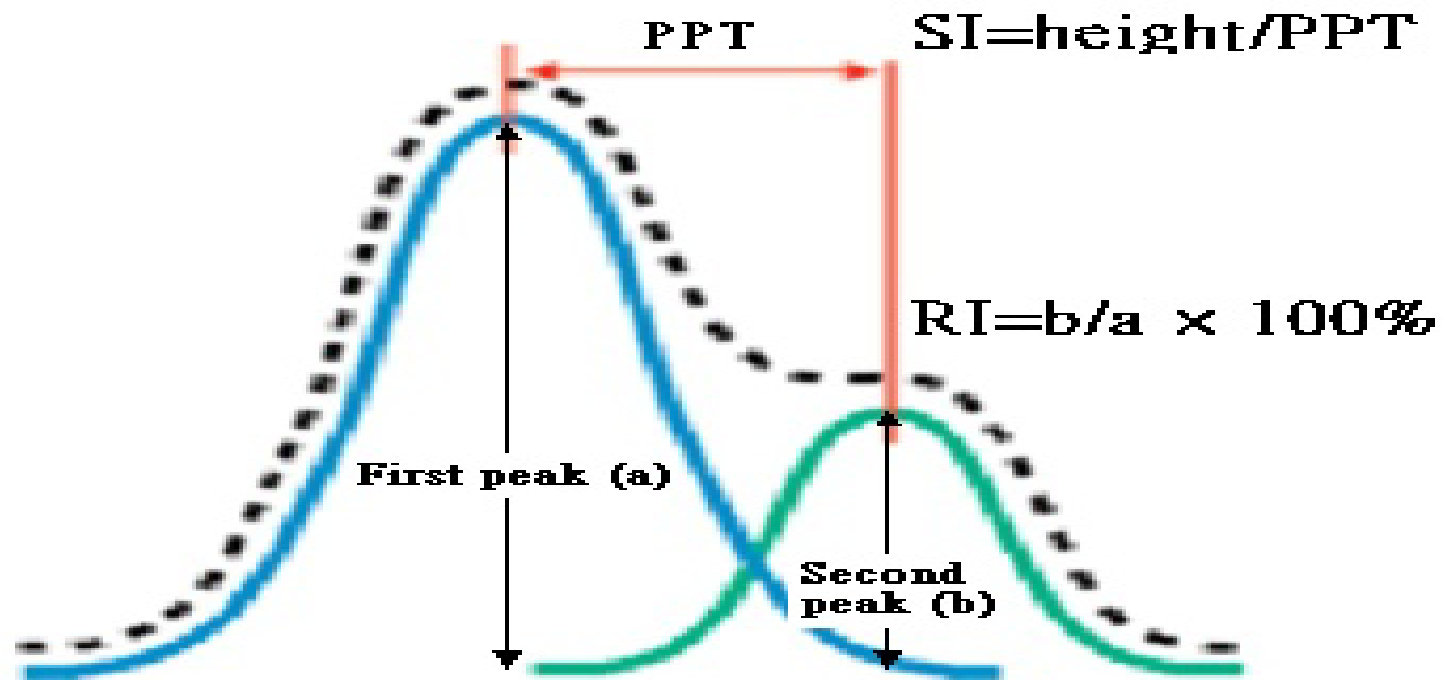


圖 3-5 手指容積脈搏圖 (digital volume pulse, DVP)

PPT: peak to peak time; RI: reflection index; SI: stiffness index (Laucevicius, Ryliskyte, Petrulioniene, Kovaite, & Misonis, 2004).

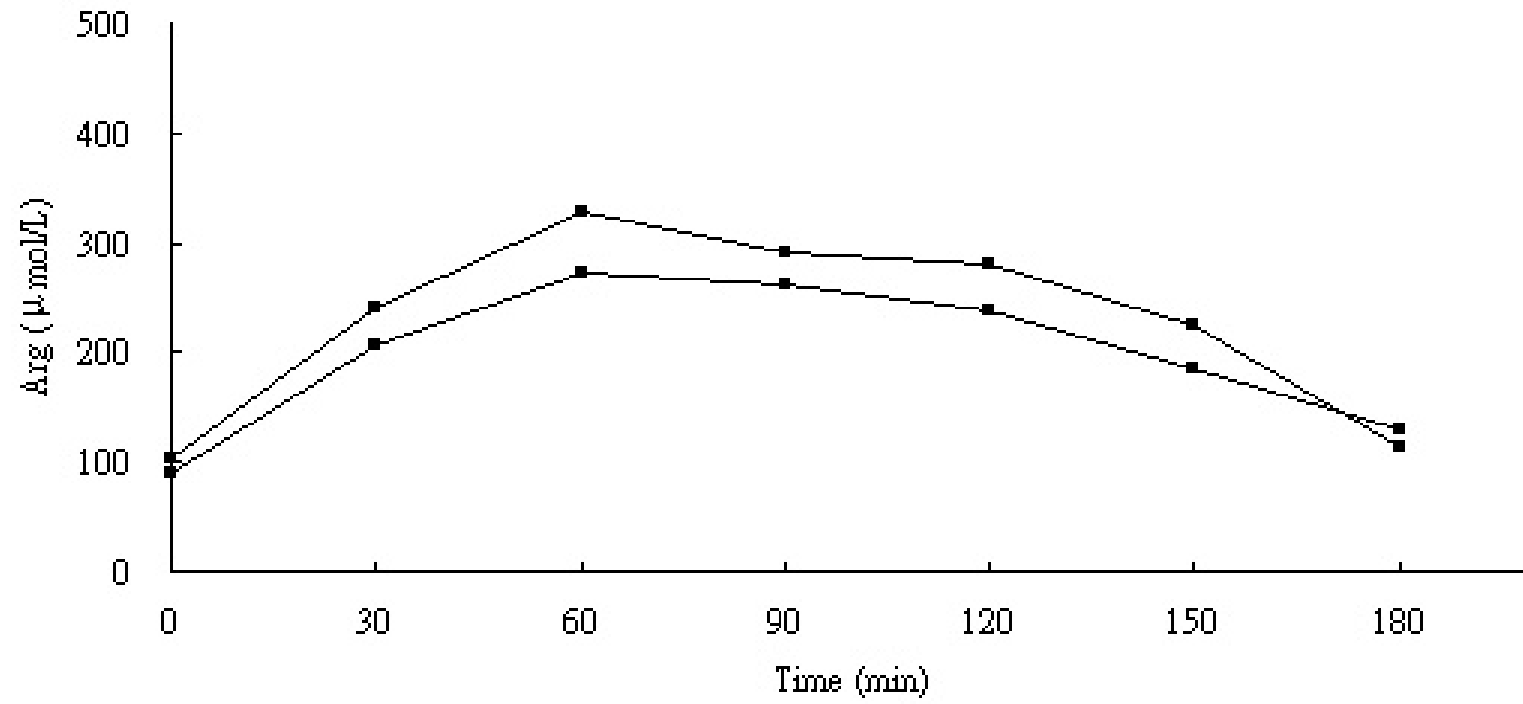


圖 4-1 口服補充精胺酸對 Arg 濃度之藥物動力前導實驗

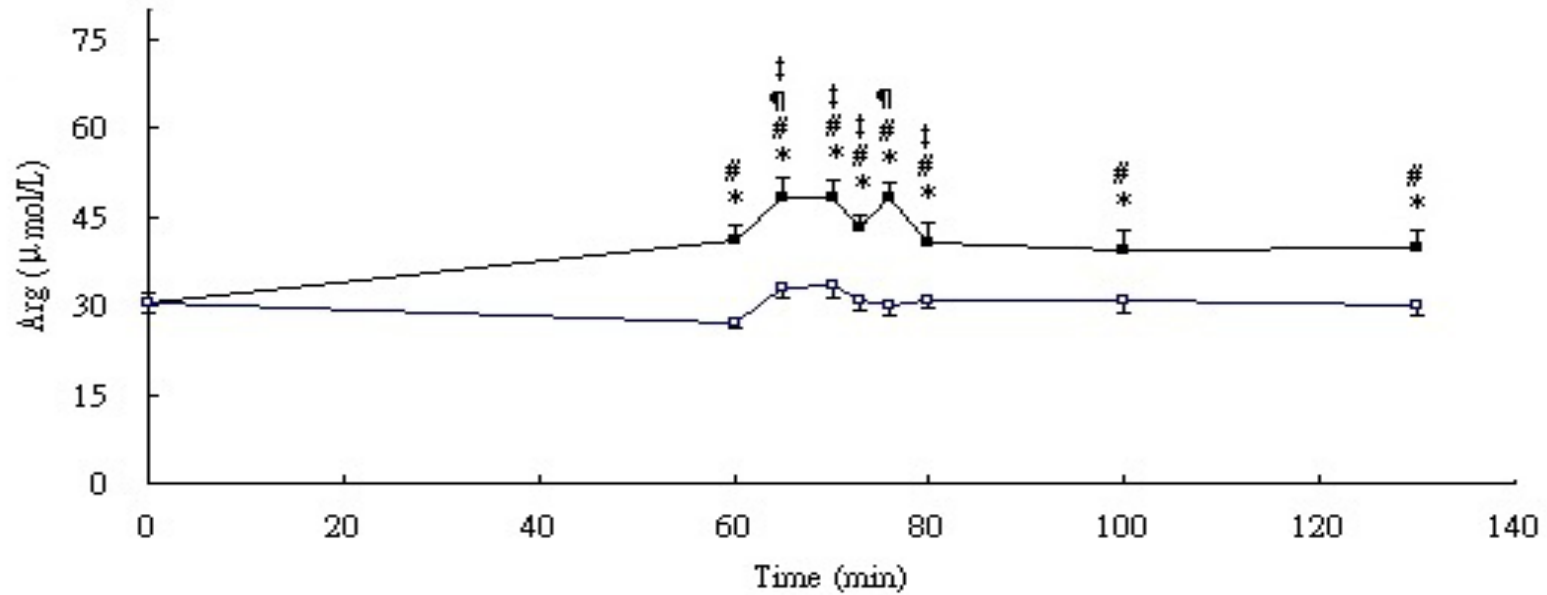


圖 4-2 各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿 Arg 濃度

■：精胺酸組；□：安慰劑組。時間點 0 分鐘為精胺酸或安慰劑補充前；60 分鐘為運動測試前；65 分鐘為運動中回合間歇；70 分鐘為運動後立即；73 分鐘為運動後 3 分鐘；76 分鐘為運動後 6 分鐘；80 分鐘為運動後 10 分鐘；100 分鐘為運動後 30 分鐘；130 分鐘為運動後 60 分鐘；* 同時時間點兩組間有顯著差異 ($P < 0.05$)；# 精胺酸組中與 0 分鐘有顯著差異 ($P < 0.05$)；† 精胺酸組中與 60 分鐘有顯著差異 ($P < 0.05$)；‡ 安慰劑組中與 0 分鐘有顯著差異 ($P < 0.05$)；§ 安慰劑組中與 60 分鐘有顯著差異 ($P < 0.05$)。

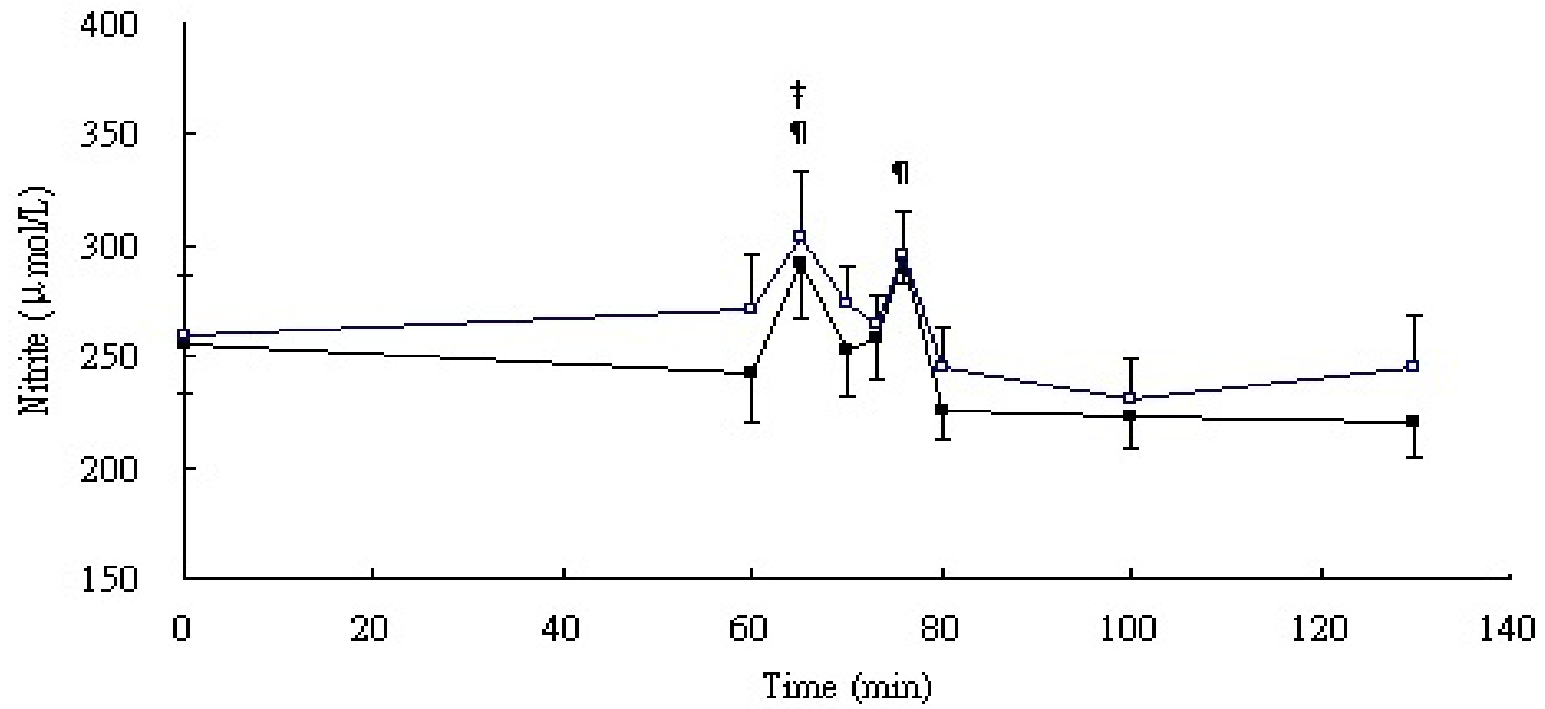


圖 4-3 各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿 nitrite 濃度

■：精胺酸組；□：安慰劑組。時間點同圖 4-2；[†]精胺酸組中與 60 分鐘有顯著差異 (P < 0.05)；[†]安慰劑組中與 0 分鐘有顯著差異 (P < 0.05)。

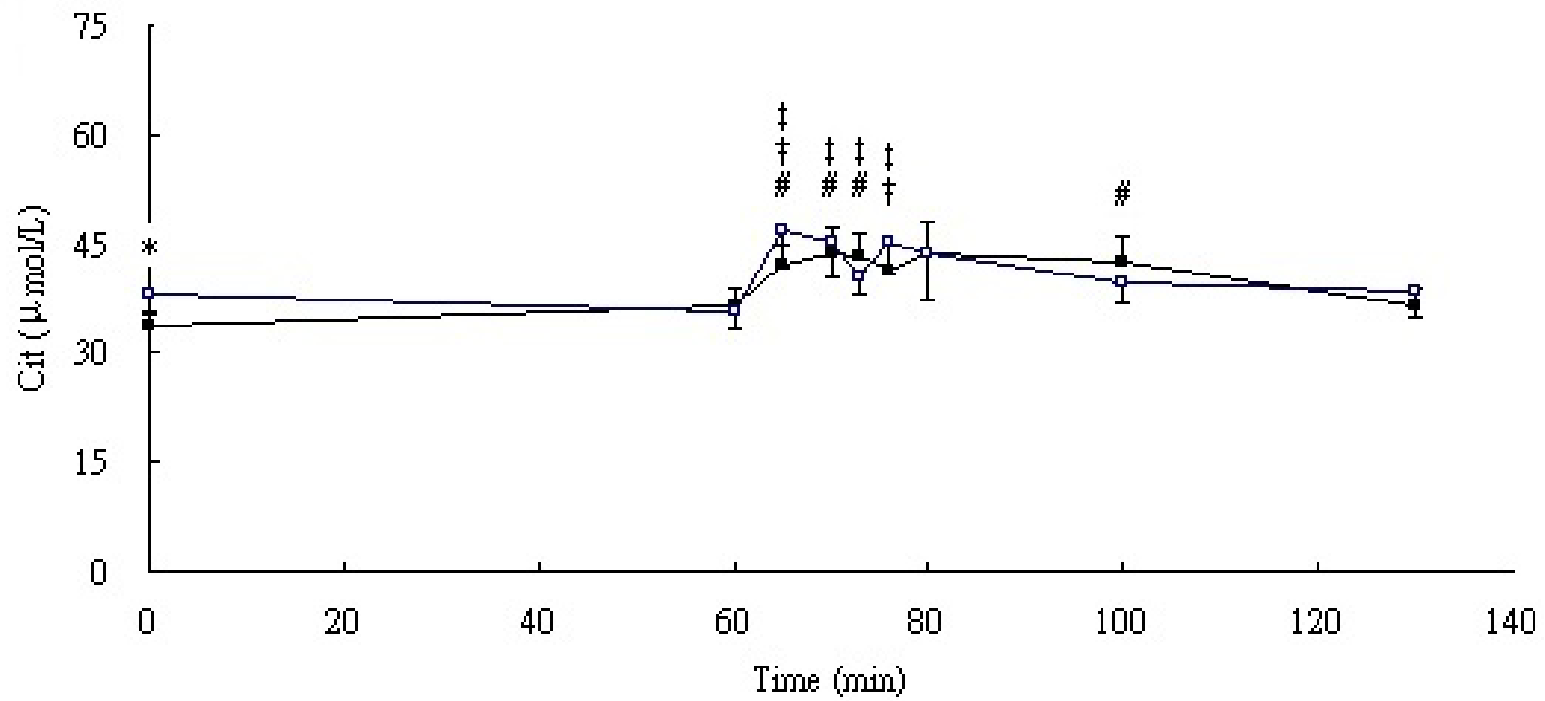


圖 4-4 各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿 Cit 濃度

■：精胺酸組；□：安慰劑組。時間點同圖 4-2；#精胺酸組中與 0 分鐘有顯著差異 ($P < 0.05$)；†安慰劑組中與 0 分鐘有顯著差異 ($P < 0.05$)；*安慰劑組中與 60 分鐘有顯著差異 ($P < 0.05$)。

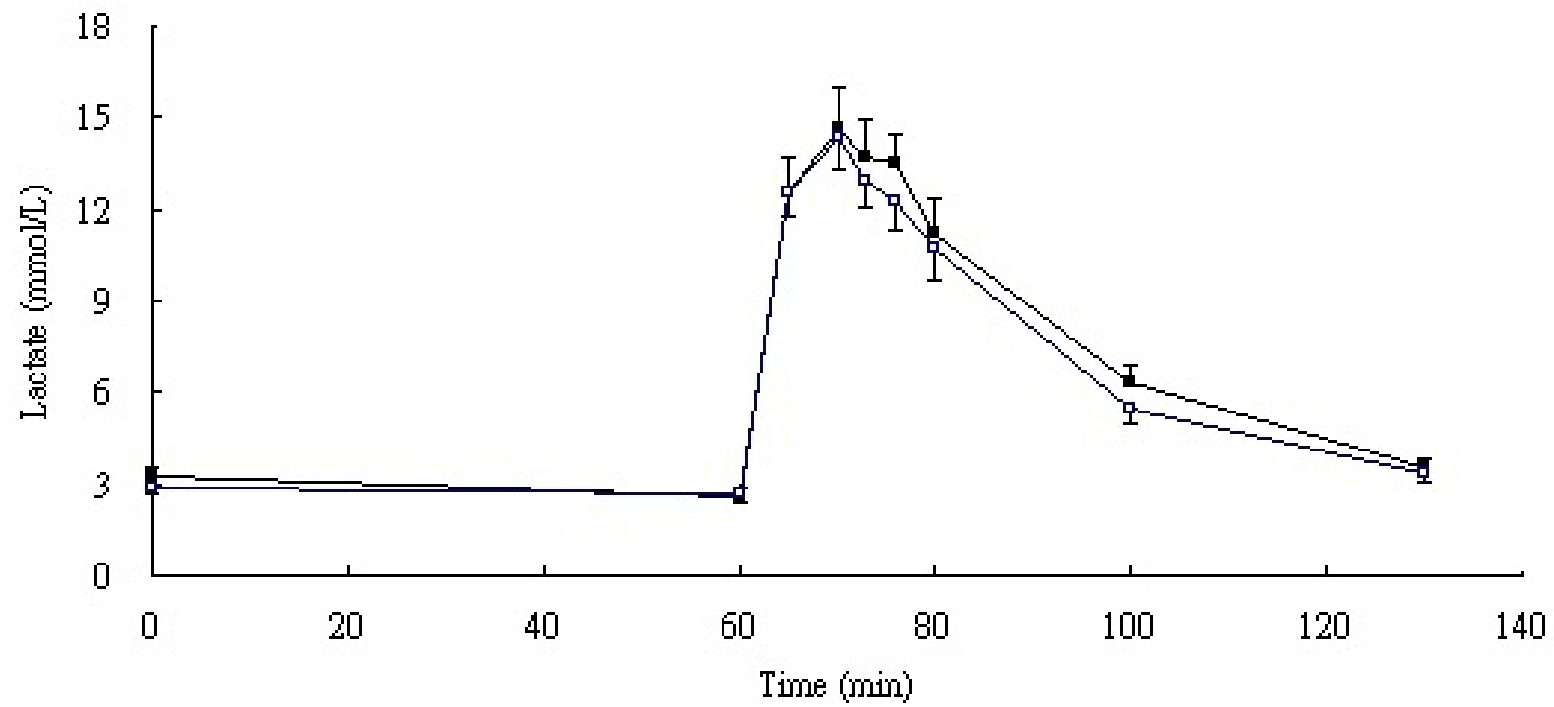


圖 4-5 各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿乳酸濃度

■：精胺酸組；□：安慰劑組。時間點同圖 4-2。

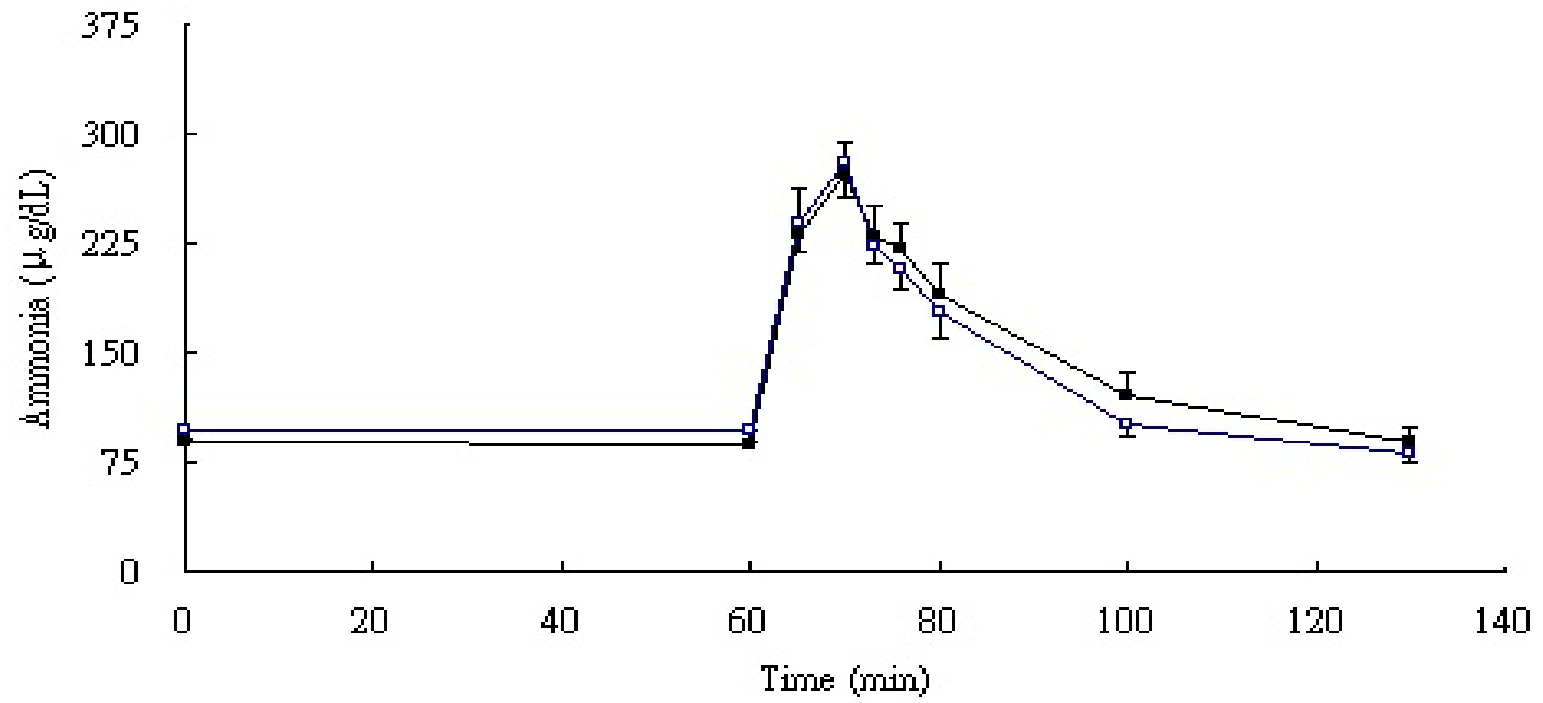


圖 4-6 各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿氨濃度

■：精胺酸組；□：安慰劑組。時間點同圖 4-2。

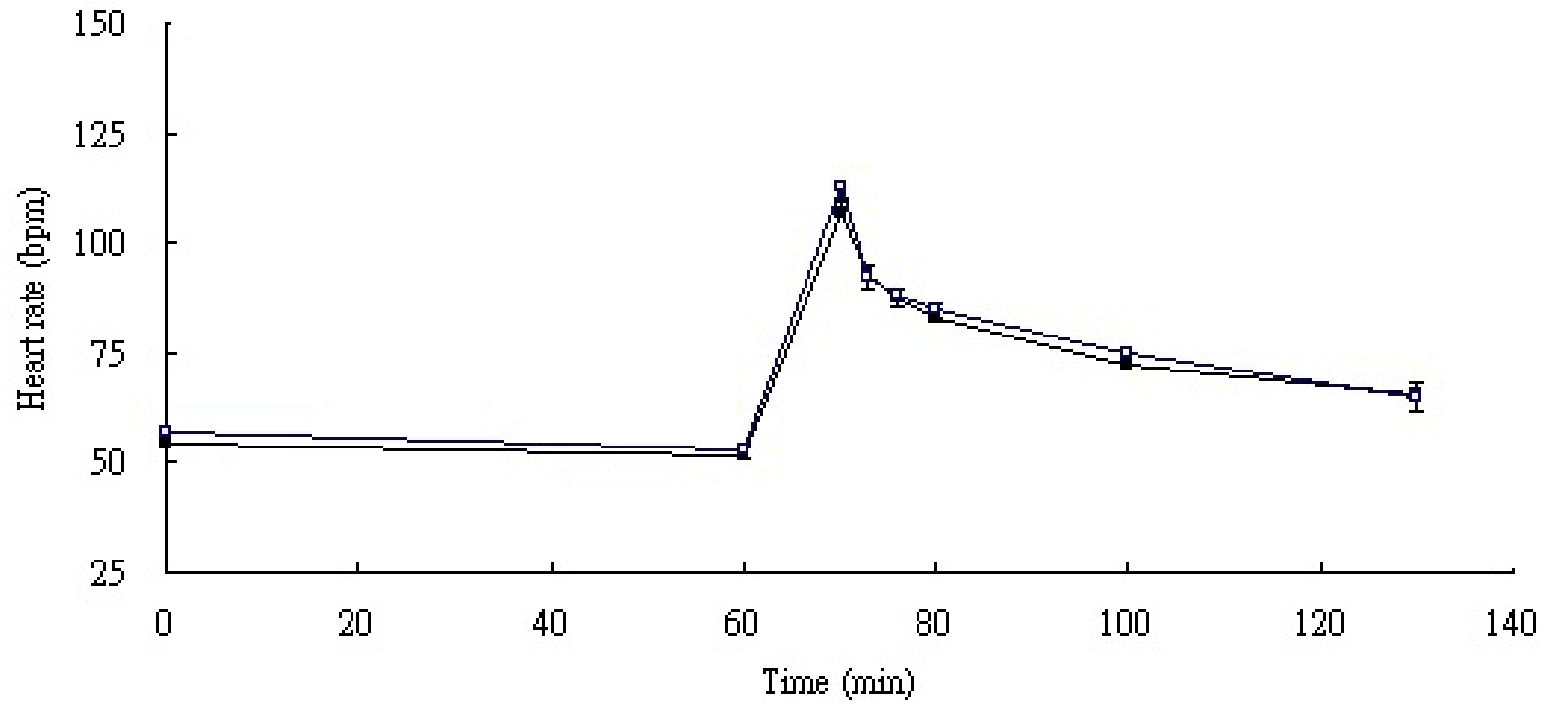


圖 4-7 各時間點精胺酸組與安慰劑組之心跳率

■：精胺酸組；□：安慰劑組。時間點 0 分鐘為精胺酸或安慰劑補充前；60 分鐘為運動測試前；70 分鐘為運動後立即；73 分鐘為運動後 3 分鐘；76 分鐘為運動後 6 分鐘；80 分鐘為運動後 10 分鐘；100 分鐘為運動後 30 分鐘；130 分鐘為運動後 60 分鐘。

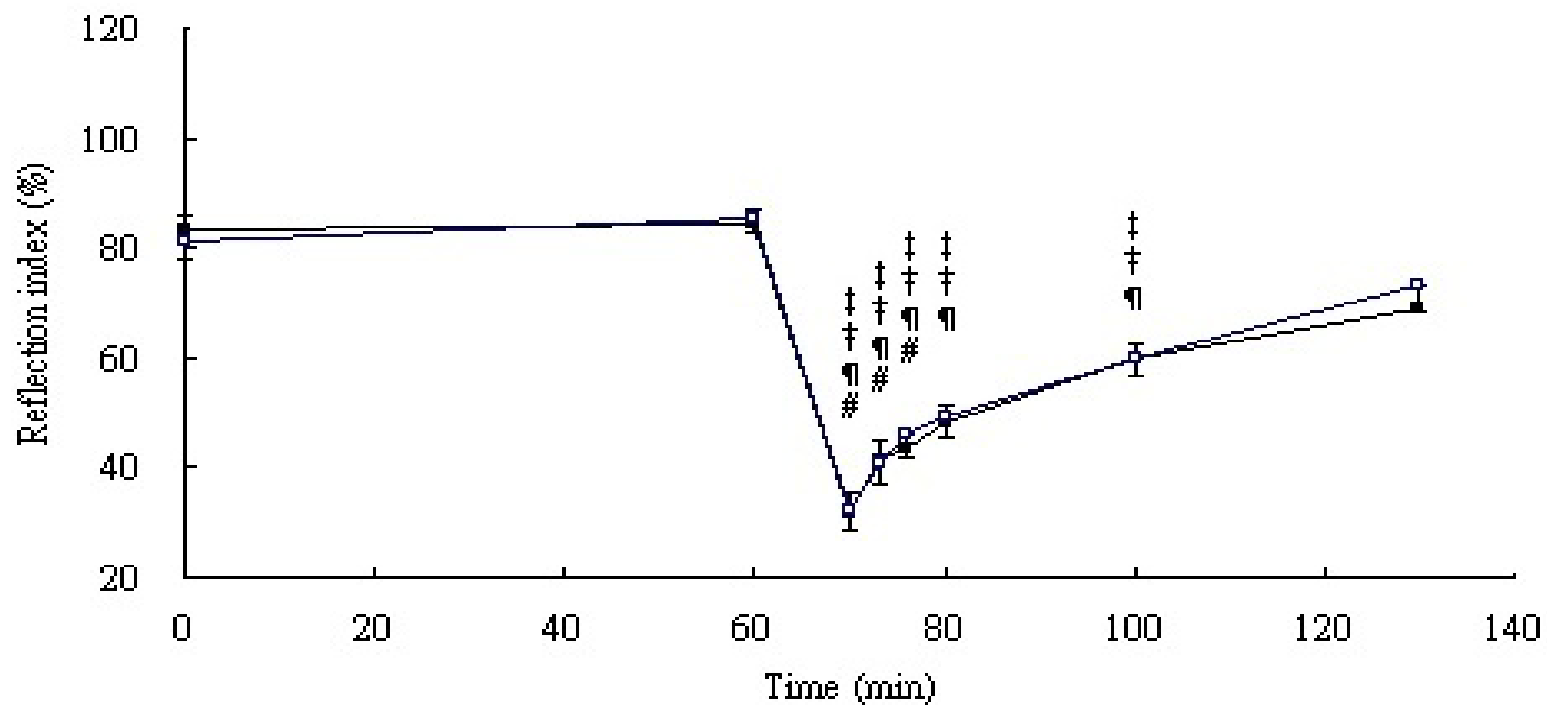


圖 4-8 各時間點精胺酸組與安慰劑組血管功能指標之反射指數

■：精胺酸組；□：安慰劑組。時間點同圖 4-7；#精胺酸組中與 0 分鐘有顯著差異 (P < 0.05)；†精胺酸組中與 60 分鐘有顯著差異 (P < 0.05)；‡安慰劑組中與 0 分鐘有顯著差異 (P < 0.05)；*安慰劑組中與 60 分鐘有顯著差異 (P < 0.05)。

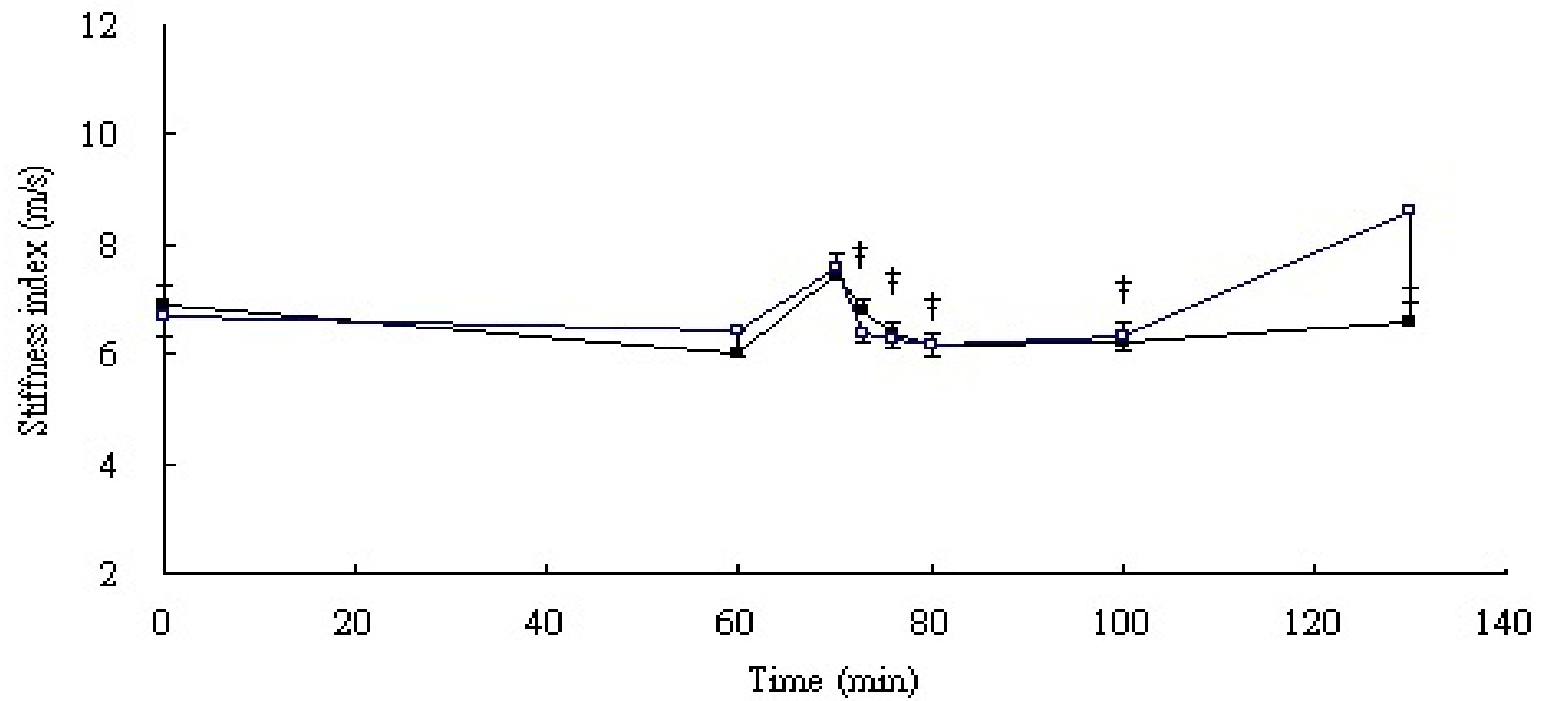


圖 4-9 各時間點精胺酸組與安慰劑組血管功能指標之硬化指數

■：精胺酸組；□：安慰劑組。時間點同圖 4-7；[†]安慰劑組中與 0 分鐘有顯著差異 ($P < 0.05$)。

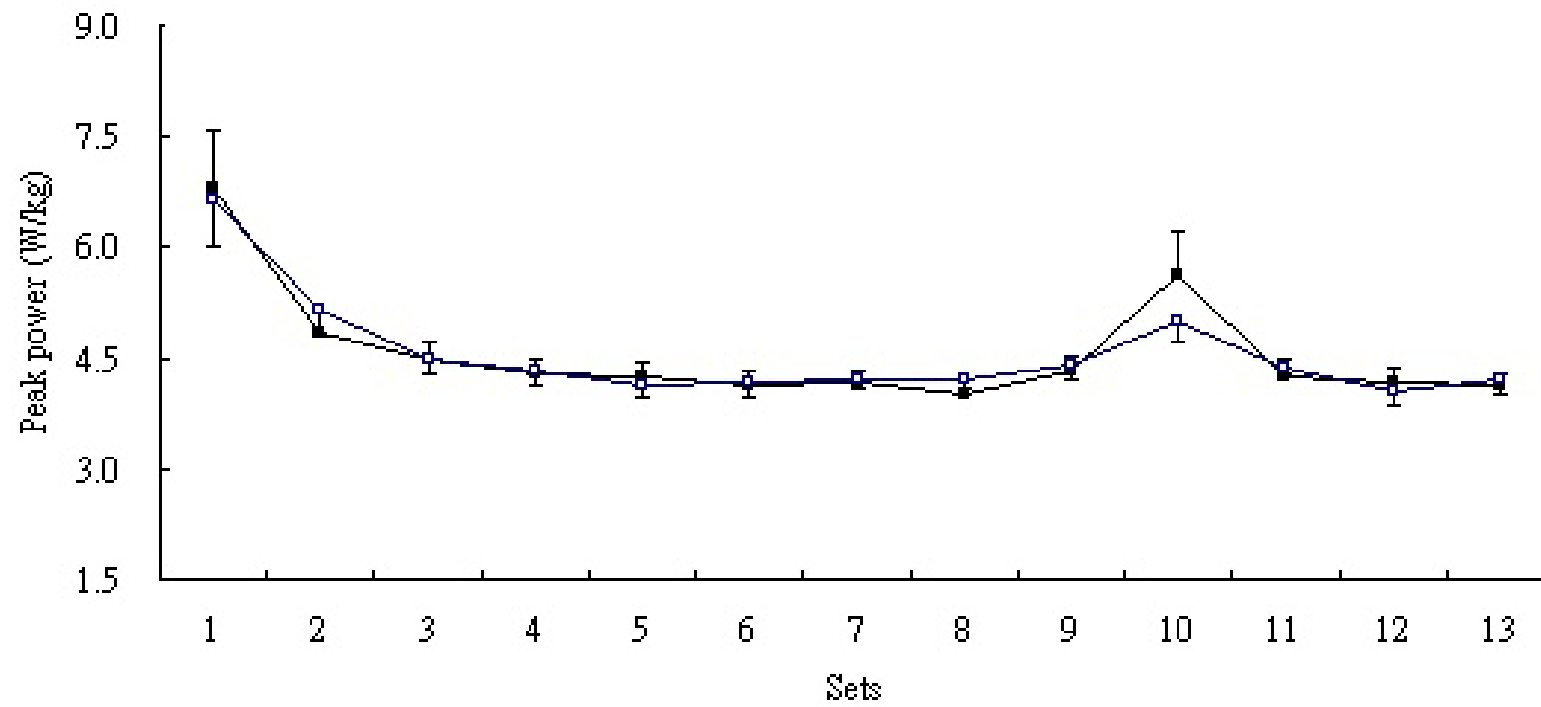


圖 4-10 精胺酸組與安慰劑組運動表現之最大功率

■：精胺酸組；□：安慰劑組。

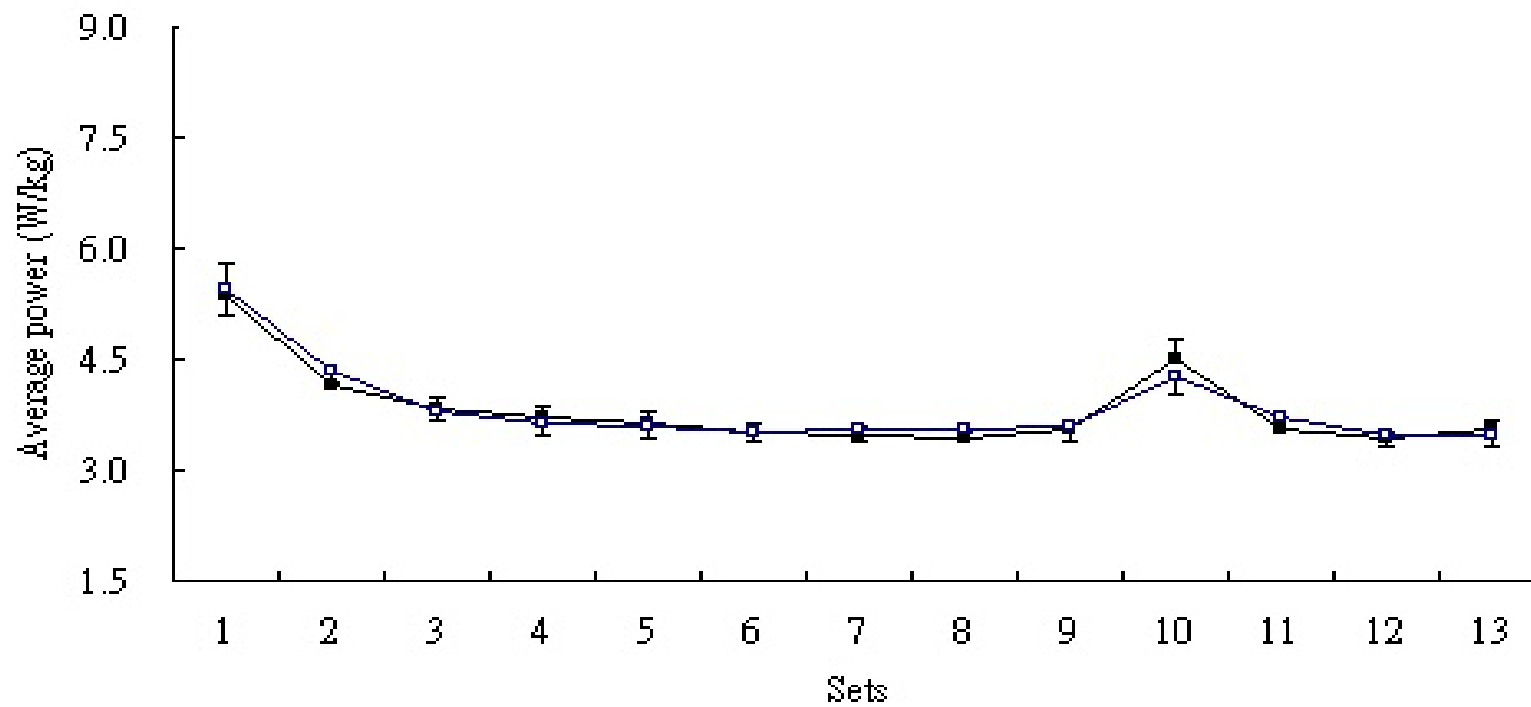


圖 4-11 精胺酸組與安慰劑組運動表現之平均功率

■：精胺酸組；□：安慰劑組。

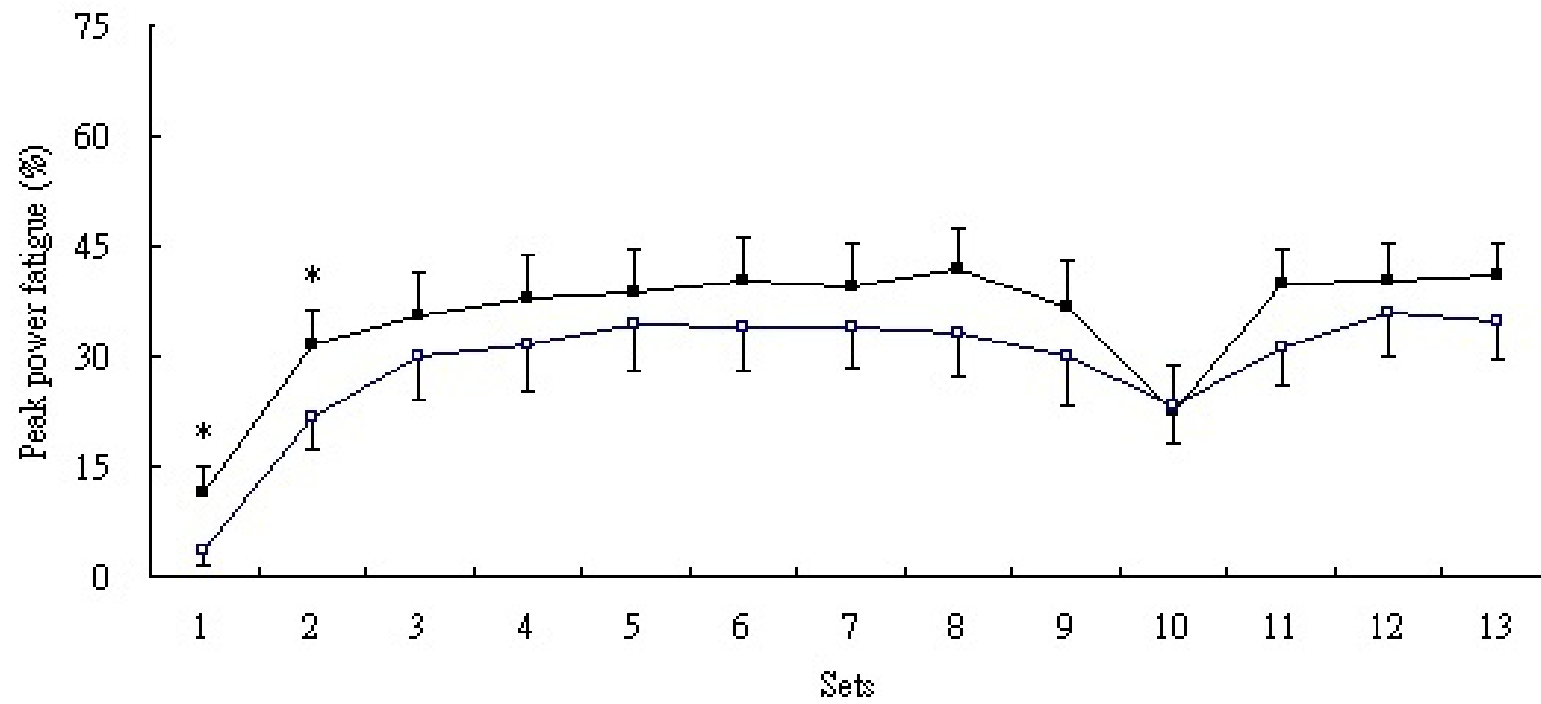


圖 4-12 精胺酸組與安慰劑組運動表現之最大功率疲勞值

■：精胺酸組；□：安慰劑組。*同一組數兩組間有顯著差異 (P < 0.05)。

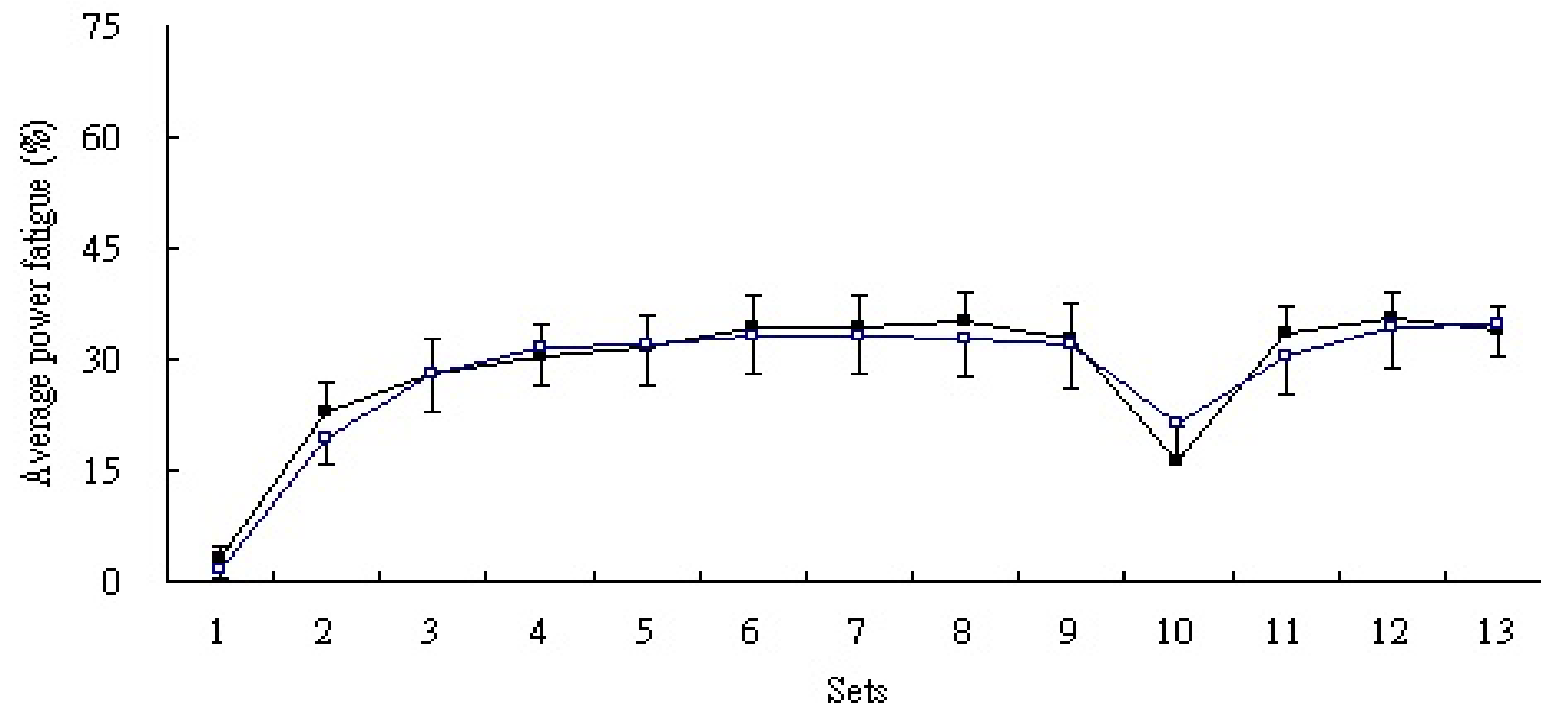


圖 4-13 精胺酸組與安慰劑組運動表現之平均功率疲勞值

■：精胺酸組；□：安慰劑組。

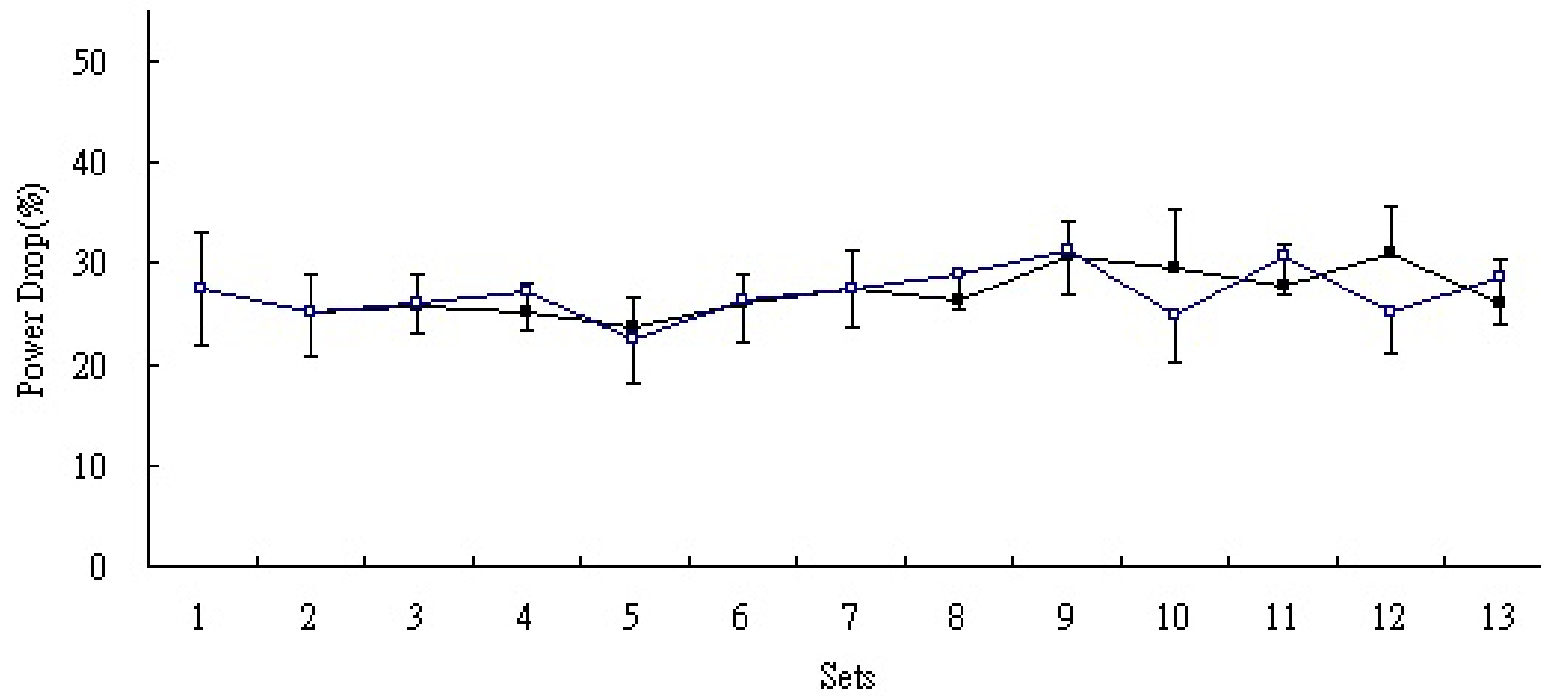


圖 4-14 精胺酸組與安慰劑組運動表現之 power drop

■：精胺酸組；□：安慰劑組。

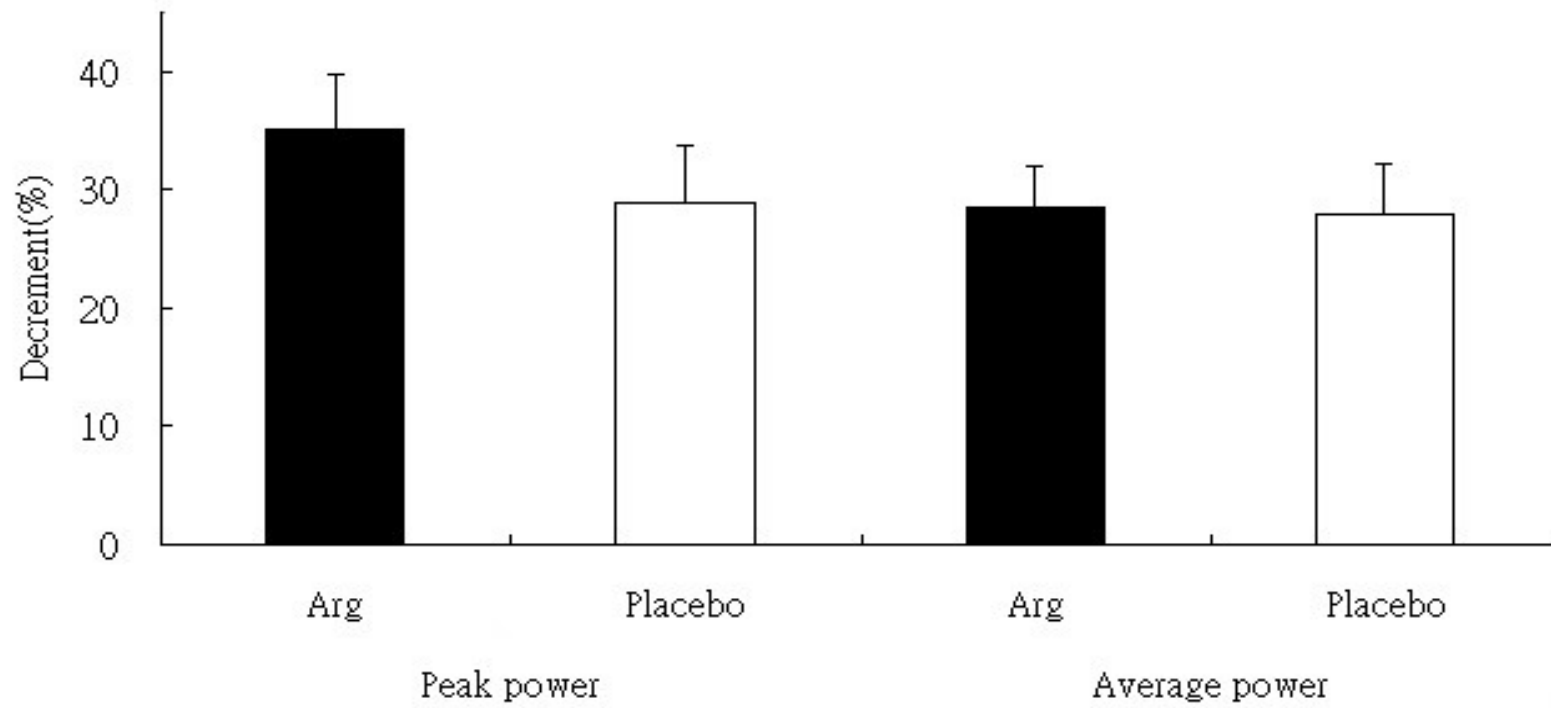


圖 4-15 精胺酸組與安慰劑組運動表現之最大功率下降值與平均功率下降值
 ■：精胺酸組；□：安慰劑組。

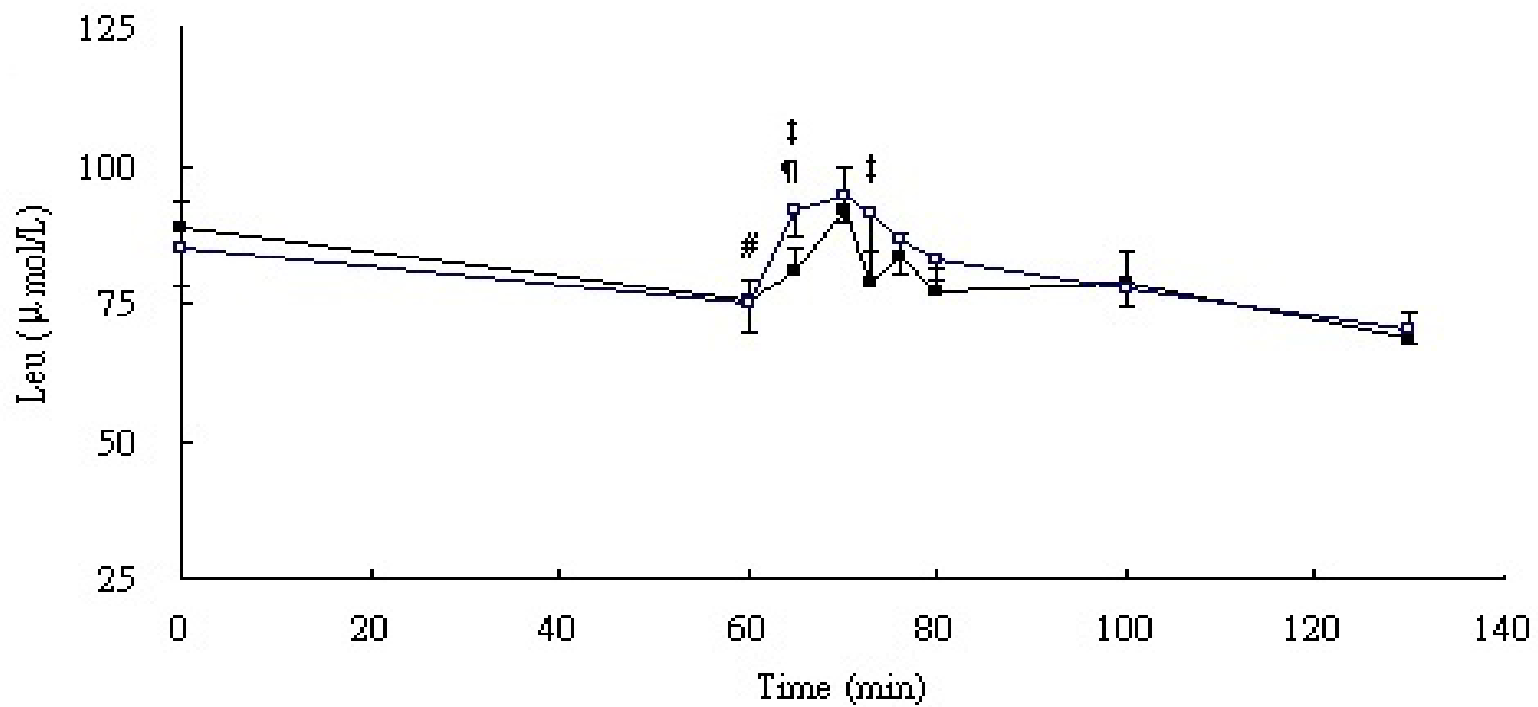


圖 4-16 各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿 Leu 濃度

■：精胺酸組；□：安慰劑組。時間點同圖 4-2；[#]精胺酸組中與 0 分鐘有顯著差異 ($P < 0.05$)；[†]精胺酸組中與 60 分鐘有顯著差異 ($P < 0.05$)；[‡]安慰劑組中與 60 分鐘有顯著差異 ($P < 0.05$)。

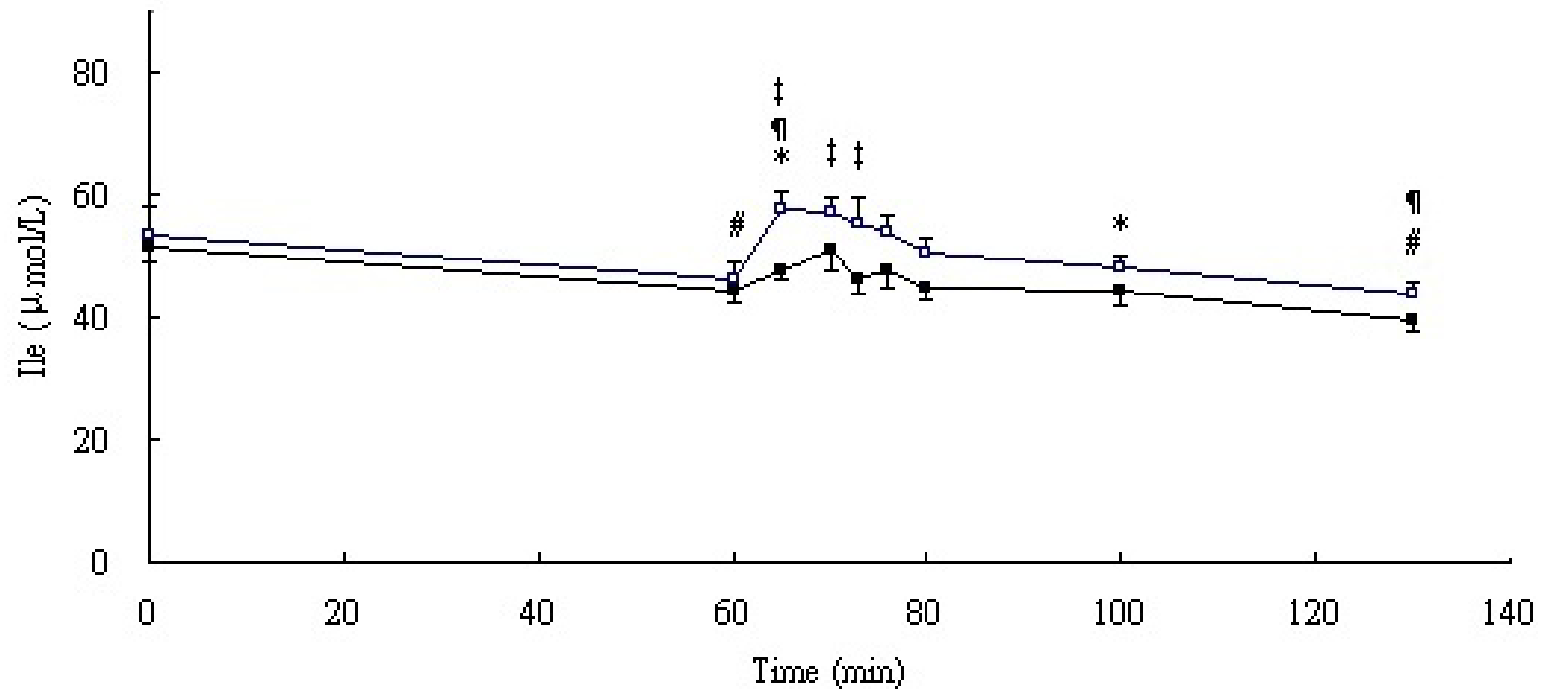


圖 4-17 各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿 Ile 濃度

■：精胺酸組；□：安慰劑組。時間點同圖 4-2；*同時時間點兩組間有顯著差異（ $P < 0.05$ ）；#精胺酸組中與 0 分鐘有顯著差異（ $P < 0.05$ ）；[†]精胺酸組中與 60 分鐘有顯著差異（ $P < 0.05$ ）；*安慰劑組中與 60 分鐘有顯著差異（ $P < 0.05$ ）。

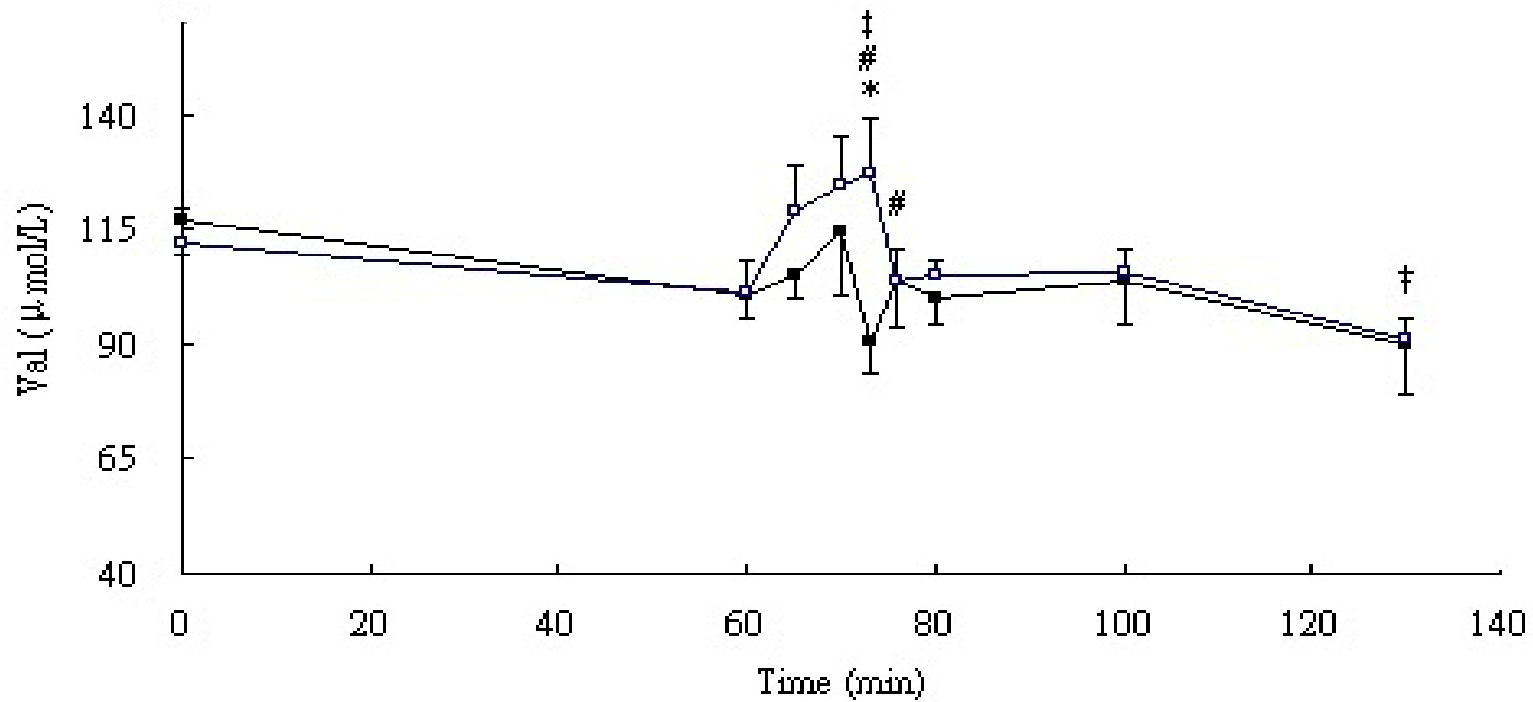


圖 4-18 各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿 Val 濃度

■：精胺酸組；□：安慰劑組。時間點同圖 4-2；*同時時間點兩組間有顯著差異（ $P < 0.05$ ）；#精胺酸組中與 0 分鐘有顯著差異（ $P < 0.05$ ）；†安慰劑組中與 0 分鐘有顯著差異（ $P < 0.05$ ）；*安慰劑組中與 60 分鐘有顯著差異（ $P < 0.05$ ）。

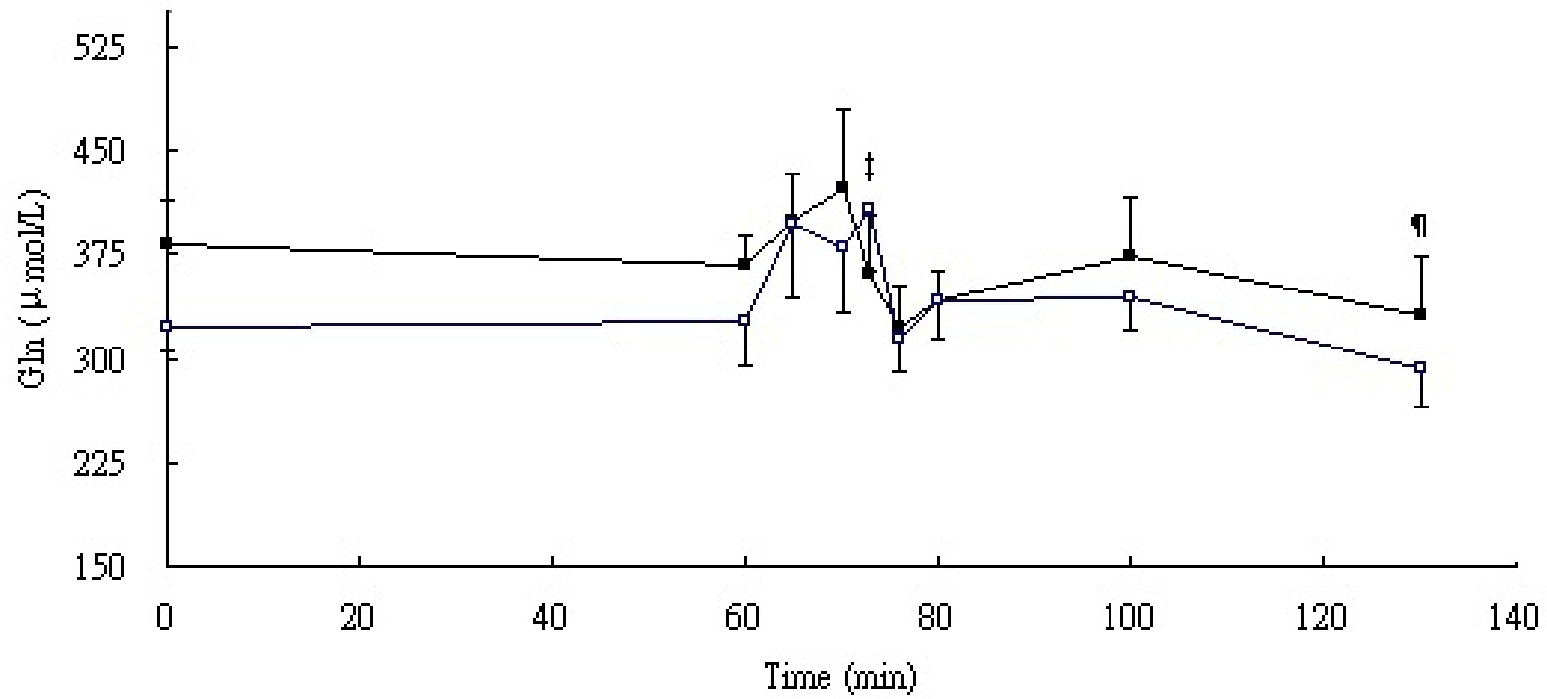


圖 4-19 各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿 Gln 濃度

■：精胺酸組；□：安慰劑組。時間點同圖 4-2；[†]精胺酸組中與 60 分鐘有顯著差異 (P < 0.05)；^{*}安慰劑組中與 60 分鐘有顯著差異 (P < 0.05)。

附錄一

毛細管電泳 (Capillary Electrophoresis) 【Protocol】

- 一. 鹼性 Buffer 毛細管活化：總長度 120 cm，冷媒管 100 cm，50 μm I.D. rinse 時間為 75 μm 兩倍，Pressure 20 psi，100% Methanol 20 min \rightarrow 1M HCl 20 min \rightarrow 去離子水 4 min \rightarrow 1M NaOH 20 min \rightarrow 去離子水 4 min \rightarrow Rinse Buffer 20 min；方法檔，50 μM ID Capillary Activation+Run Buffer.met，約 90 min。
- 二. 衍生化 Buffer：pH 10.0 20mM Borate，20 mM TetraBorate ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ，FW-381.37)，配製 1000 mL \rightarrow stir bar 攪拌 5-7 min \rightarrow 1M NaOH 滴定至 pH 10.0 \rightarrow 容量加至 1000 mL \rightarrow 臨用 0.45 μm Millipore filter 過濾分裝。
- 三. AA / pH 10.0 20mM TetraBorate：配製 10 mM AA stock solution 10 mL \rightarrow 4 $^\circ\text{C}$ 冷藏 \rightarrow 臨用稀釋 100 μM 。
- 四. Plasma 去蛋白質：Sample 100 μL + Acetone 100 μL \rightarrow 靜置 30 min \rightarrow 離心 10000 rpm，10 min \rightarrow 分裝上清液至 Eppendorf。
- 五. FITC-AA 衍生化：FITC/acetone 濃度為 AA 標準品 1.5 倍濃度，plasma 衍生化以 5.5 mM FITC/acetone。
 1. AA、Plasma、Blank：100 μL Sample + 50 μL 200 μM N-Leu/Borate + 100 μL FITC \rightarrow 室溫避光隔夜 \rightarrow 稀釋 100 倍。
 2. Spike：100 μL Sample + 50 μL AA (3-5 倍濃度) + 100 μL FITC \rightarrow 室溫避光隔夜 \rightarrow 稀釋 100 倍。
- 六. Run Buffer：pH 9.2 45 mM α -cyclodextrin / 120 mM SodiumBorate

1. 120 mM SodiumBorate ($\text{NaBO}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, FW-137.90) 。
 2. 45 mM α -cyclodextrin (α -CD , $\text{C}_{36}\text{H}_{60}\text{O}_{36}$, FW-972.87) 。
- 七. CE sample : 離心 10-15 min (轉速 14000 rpm) , 灰色瓶蓋 Vial 100 μL 。
- 八. CE 上機 : Prewash.met ; LIF_120 min(25 D 20 KV 488-525 nm).met , 分析 2-3 針即需更換導電 Buffer
- 九. 建議 : 分離時間 130 分鐘為佳 , 同一樣本檢測三支 , Run Buffer 1 mL 檢測 1 支 sample 。

附錄二

Citrulline Determination 【 Protocol 】

MATERIALS AND METHODS:

L-Citrulline, 2,3-butanedione monoxime (diacetyl monoxime, DAMO), thiosemicarbazide(TSC), 85% H_3PO_4 , 96–98% H_2SO_4 , $NH_4Fe(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$,

1. Color developing reagent (*COLDER*): solution A + solution B (1:3) , It must always be freshly prepared and should be stored at **4°C in the dark**. After its preparation, it should be **used within 1 h**.
2. Solution A: 80 mM DAMO(1.62 g) + 2.0 mM TSC(36 mg) were dissolved in 200 ml of H_2O and stored in the **dark at 4°C**. The solution should not be used when older than **1 month**.
3. Solution B: 3 M H_3PO_4 (200 ml), were slowly added to 450 ml of H_2O under gentle stirring. 6 M H_2SO_4 (330 ml of 96–98% H_2SO_4), and 2.0 mM $NH_4Fe(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ (750 mg) was dissolved. Upon cooling to room temperature, a final volume of 1 liter was carefully adjusted with H_2O .
Calibration Curve : **L-Cit(0-400 μM) 60 uL + COLDER 200 uL → Mix** , 加蓋 **95°C** , **15min** → 取 **260 uL**上機 , **540 nm**
4. L-Cit concentration of a stock solution (96 mM 10mL , Fw-175.19 , 0.168g) was determined through elemental analysis of the H, C, and N content (Elementar Vario EL9). The calibration curve was obtained using L-Cit concentrations between 0, 100, 200, 300, 400 μM in a

volume of 60 μL placed in the wells of a 96-well polystyrene microtiter plate. All measurements were performed in triplicate. Subsequently, 200 μL of COLDER was added and a lid was used for plate closure. The microtiter plate was then laid onto a preheated aluminum plate (5 mm width) fitting exactly into its bottom and incubated in an oven at 95°C . To avoid sample evaporation at 95°C , a preheated glass plate was placed on top of the microtiter plate. After 15-min incubation the microtiter plate was removed from the oven and allowed to cool down for 10 min at room temperature. Finally, within 20 min the sample absorptions were measured in a microtiter plate reader (HTS 7000 Plus, Perkin Elmer). A wavelength of 540.5 ± 5 nm was used. This wavelength was created by an interference absorption filter having a bell-shaped transmission curve profile with a half width of 9.3 nm and 34.3% transmission (Perkin Elmer).

Standard Curve

0 μM	水 60 μL
20 μM	100 μM 取 100 μL + 水 400 μL
40 μM	100 μM 取 100 μL + 水 150 μL
60 μM	100 μM 取 100 μL + 水 67 μL
80 μM	100 μM 取 100 μL + 水 25 μL
100 μM	96 mM 取 10 μL + 水 950 μL → 10 倍稀釋
200 μM	96 mM 取 10 μL + 水 470 μL → 10 倍稀釋

Plasma 取 10 μ L + 水 990 μ L

From: Analytical Biochemistry 286, 257-264(2000).

Dio: 10.1006/abio.2000.4805, available online at

<http://www.idealibrary.com>

附錄三

Griess Reaction 檢測 nitric oxide 【Protocol】

- 一. 檢測前準備：預熱熱水浴，溫度 35°C；NO₃ reductase、血漿先解凍。
- 二. Sample：
 1. 10 mM Nitrate (NaNO₃, FW-84.99)，配製 30 mL → 稀釋 100 μM → 75、50、25 μM 100 μL 各 2 支。
 2. plasma 100 μL 各 2 支。
- 三. NO₃ 還原：NADPH/Tris，NO₃ reductase (50 mU/sample 100 μL)。
 1. NADPH/Tris
 - pH7.6 20 mmol/L Tris (NH₂C(CH₂OH)₃, FW-121.14)，加 80 mL 去離子水，stir bar 攪拌 5-7 min，1M HCl、NaOH 滴定至 pH7.6，加去離子水至 100 mL。
 - NADPH (final 80 μmol/L)：160 μmol/L NADPH (C₂₁H₂₆N₇Na₄O₁₇P₃, FW-833.4)，0.3 mg/瓶，加 2.250 mL Tris，Mixer 混合均勻。
 2. NO₃ reductase (50 mU/sample 100 μL)：NO₃ reductase 5 U/瓶，加去離子水 1000 μL，每 100 μL 分裝至 0.6 mL Eppendorf。
 3. NO₃ (Plasma) 100 μL + NADPH/Tris 100 μL + NO₃ reductase 10 μL → 35°C 3 小時
- 四. 去蛋白質 (Deproteinization)：plasma 經過 NO₃ 還原反應後進行去蛋白質反應。
 1. 100 μL Plasma + **400 μL Methanol:diethylether(3:1)**

v/v)→ 隔夜

2. 去蛋白質反應後，離心 10000 rpm、10 min、4°C。

五. NO₂ 檢測：樣本避光。

1. 6.5M HCl 50μL + 0.0375M Sulphanilic acid 50μL + sample 200μL，培養 10 min。

- 6.5M HCl：10M HCl (稀釋 65：100)。

- 0.0375M Sulphanilic acid (FW-173.19)，配製 100 mL

2. 0.0125M NED 50μL，溫度 4°C，培養 30 min→ 離心 10000 rpm、10 min、4°C。

- 0.0125 M NED (C₁₂H₁₄N₂ · 2HCL，FW-259.18)，配製 40 mL→ 室溫避光。

3. Plate 上 sample 300μL，執行 New Endpoint Protocol，540 nm 檢測吸光值(OD)。

附錄四

受試者同意書

計畫名稱：補充精胺酸對運動表現與一氧化氮的影響

計畫主持人：張振崗

計畫執行單位：國立台灣體育學院

聯絡電話：04-22213108 轉 2210

肌肉產生疲勞，與乳酸及氮大量堆積有關，精胺酸可能可以減少運動所引起乳酸及氮的堆積，也可能可以 NO 產生及誘發血管擴張，在運動中也許能協助攜帶更多氧氣至工作肌群中，但精胺酸對於已訓練選手之運動表現的效果，本研究將探討優秀柔道選手，短期口服補充精胺酸 6 g × 3 天，對柔道專項體能及疲勞產生的影響，運動測試後血液中乳酸、氮及 NO 的效果，並探討短期口服補充精胺酸，影響血液中乳酸、氮及 NO 的機轉。

本研究將招募國立台灣體育學院柔道隊男選手 12 位為研究對象，所有受試者皆參與柔道正規訓練至少三年以上，參賽等級為全國或國際水準。您將於實驗期間口服補充精胺酸 6 g × 3 天，運動測試前晚禁食至少 8 小時，運動測試當日服用精胺酸 60 分鐘後，進行柔道專項體能測試（以腳踏車測功儀模擬專項體能測試，負荷為體重 5%，測試時每組全力衝刺 20 秒後，間歇 15 秒，第 1 回合 9 組 5 分鐘，回合休息 1 分鐘，第 2 回合 6 組 3 分鐘），並由合格護士、護理師或醫檢師為您採集服用營養品前、運動前、運動測試間歇及運動後 0、3、6、10、30、60 分鐘血液各 10 cc，抽血採用滯留針可能會有點疼痛，血液用於分析精胺酸對運動測試後乳

酸、氨、NO 代謝。

本研究希望優秀柔道選手短期口服補充精胺酸 6 g × 3 天，可提升柔道專項體能表現之最大功率、平均功率並延緩疲勞產生，運動測試後可減少血液中乳酸、氨堆積並增加 NO 合成。

本計畫執行機構將維護受試者在試驗過程中應得之權益。受試者於試驗過程中無須提出任何理由可隨時撤回同意，退出試驗，且不會引起任何不愉快或影響其後的所有權益。參加本試驗皆不須繳交額外費用。我們對您檢查的結果將絕對保密，一個研究的號碼會取代您的姓名，試驗所得資料可能發表於學術性雜誌，但受試者姓名將不會公佈，受試者之隱私將予絕對保密，本研究中所取得的血液檢體也絕對不外流。除了有關機構依法調查外，我們會小心維護您的隱私。

我已經詳細閱讀以上資料，研究人員已經對我詳細解釋內容，相關研究人員也已經回答我所有的疑問，我已了解且同意參與此項研究計畫，擔任自願受試者，並同意本計畫研究人員使用我的血液檢體進行分析。如果我以後有問題，我可與計畫主持人聯絡，日後如果受試者同意書內容有任何更新，或有新資訊可能影響受試者繼續參與試驗之意願，我將隨時收到更新後的內容。我瞭解在試驗期間我有權隨時通知主持人，退出試驗，而不會遭受處罰或損失應得之利益。

自願受試者 簽名：_____日期：

附錄五

附表 1 各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿 Arg、nitrite、Cit 濃度

	時間 (min)								
	0	60	65	70	73	76	80	100	130
Arg (μmol/L)									
精胺酸組 (11)	30.7 ± 1.5	40.9 ± 2.8* [#]	48.4 ± 3.3* ^{#¶}	48.1 ± 3.2* [#]	43.0 ± 2.3* [#]	48.1 ± 2.9* ^{#¶}	40.8 ± 3.2* [#]	39.4 ± 3.2* [#]	39.9 ± 3.1* [#]
安慰劑組 (10)	30.7 ± 2.0	27.3 ± 1.1	32.9 ± 1.8 [‡]	33.3 ± 1.9 [‡]	30.9 ± 1.7 [‡]	29.9 ± 1.7	31.1 ± 1.5 [‡]	30.7 ± 2.1	30.0 ± 1.7
Nitrite (μmol/L)									
精胺酸組 (11)	255.3 ± 21.7	242.3 ± 21.9	292.5 ± 25.3 [¶]	253.3 ± 21.7	258.6 ± 18.4	294.4 ± 11.4 [¶]	225.0 ± 13.0	222.6 ± 13.5	220.8 ± 15.8
安慰劑組 (10)	259.3 ± 26.9	270.5 ± 25.6	304.0 ± 29.8 [†]	273.7 ± 16.6	265.0 ± 12.5	295.7 ± 19.1	244.6 ± 18.0	230.8 ± 18.3	245.2 ± 23.2
Cit (μmol/L)									
精胺酸組 (11)	33.5 ± 2.0*	36.3 ± 2.5	42.2 ± 2.8 [#]	43.6 ± 3.7 [#]	43.1 ± 3.4 [#]	41.1 ± 3.8	43.6 ± 4.4	42.4 ± 3.7 [#]	36.4 ± 2.6

安慰劑組 (10)	38.2 ± 2.7	35.8 ± 2.3	46.7 ± 5.2 ^{†‡}	45.2 ± 4.8 [‡]	40.7 ± 2.7 [‡]	45.4 ± 4.6 ^{†‡}	43.8 ± 6.6	39.8 ± 2.8	38.6 ± 3.5
-----------	------------	------------	--------------------------	-------------------------	-------------------------	--------------------------	------------	------------	------------

資料為平均值 ± 標準誤 (n)受測者樣本數；時間點 0 分鐘為精胺酸或安慰劑補充前；60 分鐘為運動測試前；65 分鐘為運動中回合間歇；70 分鐘為運動後立即；73 分鐘為運動後 3 分鐘；76 分鐘為運動後 6 分鐘；80 分鐘為運動後 10 分鐘；100 分鐘為運動後 30 分鐘；130 分鐘為運動後 60 分鐘；*同時間點兩組間有顯著差異 (P < 0.05)；[#]精胺酸組中與 0 分鐘有顯著差異 (P < 0.05)；[†]精胺酸組中與 60 分鐘有顯著差異 (P < 0.05)；[‡]安慰劑組中與 0 分鐘有顯著差異 (P < 0.05)；[‡]安慰劑組中與 60 分鐘有顯著差異 (P < 0.05)。

附錄六

附表 2 各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿乳酸、氨濃度

	時間 (min)								
	0	60	65	70	73	76	80	100	130
乳酸 (mmol/L)									
精胺酸組 (11)	3.2 ± 0.3	2.6 ± 0.2	12.5 ± 1.2	14.7 ± 1.3	13.7 ± 1.3	13.5 ± 0.9	11.2 ± 1.1	6.3 ± 0.6	3.5 ± 0.3
安慰劑組 (10)	2.9 ± 0.2	2.7 ± 0.3	12.6 ± 0.8	14.3 ± 1.0	12.9 ± 0.9	12.2 ± 0.9	10.7 ± 1.1	5.5 ± 0.5	3.3 ± 0.3
氨 (μg/dL)									
精胺酸組 (11)	89.8 ± 7.6	87.7 ± 9.6	231.4 ± 30.6	271.8 ± 21.4	229.4 ± 21.4	221.6 ± 17.8	188.5 ± 22.0	120.3 ± 15.9	89.8 ± 9.9
安慰劑組 (10)	97.6 ± 6.3	96 ± 7.3	238.2 ± 18.8	281.2 ± 23.7	223.1 ± 12.3	208.0 ± 14.5	178.2 ± 18.4	100.9 ± 7.5	81.7 ± 7.6

資料為平均值 ± 標準誤 (n)受測者樣本數；時間點 0 分鐘為精胺酸或安慰劑補充前；60 分鐘為運動測試前；65 分鐘為運動中回合間歇；70 分鐘為運動後立即；73 分鐘為運動後 3 分鐘；76 分鐘為運動後 6 分鐘；80 分鐘為運動後 10 分鐘；100 分

鐘為運動後 30 分鐘；130 分鐘為運動後 60 分鐘。

附錄七

附表 3 各時間點精胺酸組與安慰劑組血管功能指標

		時間 (min)							
		0	60	70	73	76	80	100	130
心跳率 (bpm)									
精胺酸組 (12)		54.2 ±	51.5 ±	106.8 ±	92.6 ±	87.7 ±	83.2 ±	72.3 ±	65.3 ±
		2.4	1.8	3.1	2.2	2.1	2.7	2.8	2.6
安慰劑組 (12)		56.9 ±	53.2 ±	112.9 ±	92.1 ±	88.1 ±	84.6 ±	75.2 ±	64.6 ±
		2.8	2.0	3.2	2.6	2.6	2.2	3.0	2.9
反射指數 (%)									
精胺酸組 (12)		83.4 ±	84.2 ±	31.9 ±	41.2 ±	43.4 ±	48.2 ±	60.1 ±	69.2 ±
		2.8	3.1	3.3 ^{#¶}	4.0 ^{#¶}	2.9 ^{#¶}	3.4 [¶]	2.7 [¶]	4.0
安慰劑組 (12)		80.9 ±	85.6 ±	32.1 ±	40.9 ±	46.0 ±	49.3 ±	60.0 ±	73.3 ±
		2.9	2.7	3.6 ^{†‡}	4.1 ^{†‡}	4.4 ^{†‡}	3.8 ^{†‡}	3.6 ^{†‡}	4.9
硬化指數 (m/s)									
精胺酸組 (12)		6.9 ±	6.0 ±	7.5 ±	6.8 ±	6.4 ±	6.2 ±	6.2 ±	6.6 ±
		0.3	0.4	0.4	0.2	0.2	0.2	0.4	0.6

安慰劑組 (12)	6.7 ± 0.4	6.5 ± 0.5	7.6 ± 0.2	6.4 ± 0.2 [†]	6.3 ± 0.2 [†]	6.2 ± 0.2 [†]	6.3 ± 0.2 [†]	8.6 ± 1.7
-----------	-----------	-----------	-----------	------------------------	------------------------	------------------------	------------------------	-----------

資料為平均值 ± 標準誤 (n)受測者樣本數；時間點 0 分鐘為精胺酸或安慰劑補充前；60 分鐘為運動測試前；70 分鐘為運動後立即；73 分鐘為運動後 3 分鐘；76 分鐘為運動後 6 分鐘；80 分鐘為運動後 10 分鐘；100 分鐘為運動後 30 分鐘；130 分鐘為運動後 60 分鐘；[#]精胺酸組中與 0 分鐘有顯著差異 (P < 0.05)；[¶]精胺酸組中與 60 分鐘有顯著差異 (P < 0.05)；[†]安慰劑組中與 0 分鐘有顯著差異 (P < 0.05)；^{*}安慰劑組中與 60 分鐘有顯著差異 (P < 0.05)。

附錄八

附表 4 精胺酸組與安慰劑組運動表現最大功率、平均功率、power drop 與疲勞值

		組數												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
最大功率 (W/kg)														
精胺酸 組(12)		6.80	4.85	4.49	4.28	4.24	4.14	4.16	4.00	4.34	5.63	4.25	4.16	4.14
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
安慰劑 組(12)		0.81	0.28	0.22	0.19	0.20	0.19	0.16	0.10	0.20	0.58	0.24	0.19	0.15
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
平均功率 (W/kg)														
精胺酸 組(12)		5.38	4.13	3.83	3.71	3.64	3.50	3.49	3.44	3.55	4.52	3.57	3.43	3.54
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
安慰劑 組(12)		0.40	0.16	0.16	0.15	0.14	0.15	0.11	0.09	0.10	0.26	0.14	0.09	0.12
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±

安慰劑	5.45	4.34	3.79	3.62	3.59	3.53	3.54	3.56	3.59	4.26	3.69	3.49	3.46
組 (12)	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	0.35	0.16	0.12	0.14	0.14	0.14	0.14	0.15	0.18	0.22	0.14	0.18	0.13
Power drop (W/kg)													
精胺酸	27.39	25.10	25.73	25.17	23.57	26.02	27.39	26.36	30.59	29.68	27.82	31.08	25.96
組 (12)	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	5.56	3.95	3.24	3.00	2.97	2.98	3.93	2.78	3.54	5.70	4.06	4.68	4.43
安慰劑	27.52	25.24	26.07	27.28	22.44	26.31	27.43	28.96	31.23	24.74	30.71	25.05	28.58
組 (12)	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	5.55	4.42	3.05	3.74	4.16	4.12	3.61	3.57	4.29	4.66	3.85	3.95	4.63
最大功率疲勞值 (%)													
精胺酸	11.46	31.50	35.45	37.98	38.63	40.18	39.30	41.94	36.91	22.31	39.68	40.44	40.92
組 (12)	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±

	3.47*	4.90*	5.86	5.91	5.89	5.87	5.93	5.43	6.26	6.71	5.09	4.82	4.47
安慰劑	3.57	21.71	29.81	31.51	34.19	33.94	33.85	33.00	29.81	23.31	31.24	35.97	34.55
組(12)	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	2.09	4.54	5.73	6.23	6.23	5.96	5.37	5.93	6.57	5.12	5.39	5.87	4.96
平均功率													
疲勞值													
(%)													
	3.16	22.81	27.84	30.39	31.46	34.29	34.20	35.16	32.64	16.30	33.50	35.62	34.04
精胺酸	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
組(12)	1.71	4.03	4.89	4.53	4.45	4.55	4.48	3.91	4.88	4.72	3.53	3.58	2.95
	1.63	19.32	28.17	31.51	31.88	33.21	33.10	32.61	31.90	21.24	30.28	34.20	34.86
安慰劑	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
組(12)	1.16	3.65	5.11	5.15	5.43	4.99	5.00	5.03	5.65	4.18	5.15	5.36	4.63

資料為平均值 ± 標準誤 (n)受測者樣本數；*同一組數兩組間有顯著差異 (P < 0.05)。

附錄九

附表 5 精胺酸組與安慰劑組運動表現最大功率下降值與平均功率下降值

	最大功率		平均功率	
	精胺酸組(12)	安慰劑組(12)	精胺酸組(12)	安慰劑組(12)
下降值 (%)	12.26	10.60	12.48	6.56
	50.85	39.63	44.55	42.65
	26.70	16.38	22.08	12.81
	13.41	23.60	14.84	24.61
	38.81	7.47	28.70	6.65
	18.16	13.53	17.17	20.90
	34.14	23.17	20.48	23.23
	54.26	54.14	38.70	47.14
	34.32	22.27	36.98	26.17
	45.62	33.34	29.43	40.83
	32.92	51.50	29.21	46.55
	60.11	51.89	48.20	37.81
下降值平均值 (%)	35.13 ± 4.54	28.96 ± 4.85	28.57 ± 3.37	27.99 ± 4.28

資料為平均值 \pm 標準誤 (n)受測者樣本數。

附錄十

附表 6 各時間點精胺酸組與安慰劑組血漿 Leu、Ile、Val、Gln 濃度

		時間 (min)								
		0	60	65	70	73	76	80	100	130
Leu ($\mu\text{mol/L}$)										
精胺酸組 (11)		88.9 \pm	75.7 \pm	80.9 \pm	92.0 \pm	78.9 \pm	83.3 \pm	77.2 \pm	78.7 \pm	68.5 \pm
		4.3	3.4 [#]	4.0 [#]	7.7	5.6	4.5	4.2	5.8	5.0
安慰劑組 (10)		85.2 \pm	74.8 \pm	91.9 \pm	94.5 \pm	91.5 \pm	86.5 \pm	82.7 \pm	77.8 \pm	70.1 \pm
		6.9	5.3	4.6 [‡]	4.7	6.9 [‡]	6.0	3.4	3.3	2.6
Ile ($\mu\text{mol/L}$)										
精胺酸組 (11)		51.6 \pm	44.2 \pm	47.6 \pm	51.1 \pm	46.4 \pm	47.8 \pm	44.8 \pm	44.5 \pm	39.6 \pm
		2.4	1.8 [#]	1.5* [#]	3.4	2.4	3.3	2.2	2.8*	2.1 [#]
安慰劑組 (10)		53.5 \pm	46.1 \pm	57.6 \pm	57.0 \pm	55.4 \pm	53.6 \pm	50.7 \pm	48.3 \pm	43.8 \pm
		4.6	3.0	3.1 [‡]	2.6 [‡]	4.1 [‡]	2.9	2.0	1.9	1.8
Val ($\mu\text{mol/L}$)										
精胺酸組 (11)		117.0 \pm	100.7	105.0	114.5 \pm	90.8 \pm	104.0	100.0	103.5	89.9 \pm
		7.4	\pm 4.9	\pm 5.0	14.1	7.4* [#]	\pm 10.2 [#]	\pm 5.8	\pm 9.1	10.4

安慰劑組 (10)	112.1 ± 7.5	101.2 ± 7.0	119.1 ± 10.0	124.7 ± 10.8	127.1 ± 11.8 [*]	103.7 ± 7.0	105.1 ± 3.2	105.5 ± 5.3	90.9 ± 4.7 [†]
Gln (μmol/L)									
精胺酸組 (11)	382.9 ± 31.7	366.2 ± 22.3	398.0 ± 34.0	421.8 ± 57.5	359.7 ± 42.8	321.9 ± 30.8	340.6 ± 21.1	372.7 ± 42.4	330.7 ± 43.0 [‡]
安慰劑組 (10)	323.1 ± 17.6	327.3 ± 32.7	397.3 ± 53.2	379.4 ± 45.8	406.4 ± 42.6 [*]	312.8 ± 23.2	342.4 ± 27.6	343.0 ± 21.9	292.9 ± 28.7

資料為平均值 ± 標準誤 (n)受測者樣本數；時間點 0 分鐘為精胺酸或安慰劑補充前；60 分鐘為運動測試前；65 分鐘為運動中回合間歇；70 分鐘為運動後立即；73 分鐘為運動後 3 分鐘；76 分鐘為運動後 6 分鐘；80 分鐘為運動後 10 分鐘；100 分鐘為運動後 30 分鐘；130 分鐘為運動後 60 分鐘；^{*}同時時間點兩組間有顯著差異 (P < 0.05)；[#]精胺酸組中與 0 分鐘有顯著差異 (P < 0.05)；[‡]精胺酸組中與 60 分鐘有顯著差異 (P < 0.05)；[†]安慰劑組中與 0 分鐘有顯著差異 (P < 0.05)；^{*}安慰劑組中與 60 分鐘有顯著差異 (P < 0.05)。