

健康食品之抗疲勞功能評估方法修正草案

針對抗運動疲勞

壹、前言

運動疲勞係指體能表現(physical performance)失去原正常水準的狀態，主要與肌肉組織損傷及肌肉細胞中能源儲存量短缺有關；其他因素，例如肌肉組織內衰老細胞數量變化也能影響體能表現與疲勞。運動疲勞恢復時間的長短可因運動類型的不同與受試產品介入的方式產生差異；受試產品介入後，如確實能增強體能或加速運動後體能的恢復，同時降低運動或疲勞發生後恢復期的生理壓力與肌肉組織損傷、提高運動後肌肉組織能源儲存恢復的速度，即可作為健康食品具有抗運動疲勞功效的佐證。

運動可就肌肉收縮方式被區分成向心性肌肉收縮(concentric muscle contraction)與離心性肌肉收縮(eccentric muscle contraction)。向心性肌肉收縮為主的運動類型包括平地跑步、上坡跑步、游泳及腳踏車等耐力運動；離心性肌肉收縮為主的運動類型如重量訓練(weight training)等阻力運動(resistance exercise)。兩類型的肌肉運動方式均會造成疲勞現象，但造成肌肉損傷與發炎的差異程度不同，因此恢復速度亦有差異。

以向心性肌肉收縮為主的耐力運動類型，通常疲勞的產生與肌肉細胞中能源儲存量消耗及氧化傷害所導致細胞功能逐漸下降有關；離心性肌肉收縮為主的阻力運動類型，不僅快速消耗肌肉細胞中能源儲存量，機械張力(mechanical tension)也容易造成肌肉損傷引起組織發炎，使肌肉在運動後 48 小時組織修護的過程中明顯感受到疲勞酸痛感，產生所謂的延遲性肌肉酸痛，肌力與關節活動度均可能下降。因此，此兩類運動類型的抗運動疲勞評估應採用不同的研究設計。

一、體能表現

評估運動疲勞功效之體能表現指標如無氧動力(anaerobic power)、最大有氧動力(maximal aerobic power)、耐力(endurance)、肌力(muscle strength)、肌耐力

(muscle endurance strength)及瞬發力(power)。

二、機轉

(一) 生理壓力

運動過程伴隨生理壓力之產生，除了神經系統的變化外，內分泌系統之活動也同時改變，進而加速能源消耗來促進 ATP 產生。在運動後可依實驗條件選擇觀察生理壓力反應之客觀指標如兒茶酚胺(catecholamine)、可體松(cortisol)、睪酮(testosterone)、生長激素(growth hormone)及介白素-6 (interleukin-6, IL-6)、介白素-10 (interleukin-10, IL-10)、腫瘤壞死因子(tumor Necrosis Factor- α , TNF- α)、與高敏感度 C-反應蛋白(high-sensitivity CRP, hs-CRP)之濃度。

(二) 肌肉組織損傷

常被用來觀察肌肉組織損傷之指標包括血中之肌酸激酶(creatine kinase)活性、肌紅蛋白(myoglobin)濃度，尿液中 3-甲基組胺酸(3-methylhistidine)濃度、白血球(含 CD68 巨噬細胞)在肌肉組織浸潤情形；肌肉組織內去氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)損傷程度可經磷酸化組織蛋白(Phosphorylated histone H2AX, γ H2AX)綜合細胞比例(cell per myofiber)之檢測結果反映；肌肉細胞衰老程度則可以 β -半乳糖苷酶(β -galactosidase)綜合細胞比例之檢測結果或 p16INK4a mRNA 反映。

此外，運動時需消耗大量的氧氣，使細胞內超氧自由基濃度增加，而過多的超氧自由基將會破壞肌肉細胞膜、脂質及去氧核糖核酸核苷酸等結構而造成氧化傷害；肌肉組織內衰老細胞的產生與清除平衡也直接決定肌肉組織年輕程度而影響體能。氧化傷害可測定肌肉組織或血液中的特定指標如丙二醛(malondialdehyde, MDA)或脂質過氧化硫代巴比妥酸反應物(thiobarbituric acid reactive substances, TBARS)、蛋白羰基(protein carbonyl)、8-羥基-2'-去氧鳥嘌呤核苷(8-hydroxydeoxyguanosine, 8-OHdG)。

(三) 肌肉組織能源儲存

肌肉肝醣濃度直接影響運動耐力，在耐力運動強度 90~95% 最大攝氧量 (maximal oxygen consumption, VO_2 max) 時，能量來源的 95% 以上均為肌肉肝醣。當肌肉肝醣濃度消耗至低於 25 mmole glucosyl units/kg 時，難以維持原先的運動強度，即產生運動疲勞。

肌肉磷酸肌酸(phosphocreatine, PCr)是運動瞬間爆發力的主要能量來源，運動時藉由肌酸激酶之催化，水解磷酸肌酸釋放能量。磷酸肌酸在肌肉中可促進肌肉的放鬆與恢復，有助於連續高強度運動之進行。

貳、評估實驗要件與檢測方法

受試產品安全評估分類為第二類以上者，於執行人體食用研究前，應先完成安全評估試驗，並以足夠之安全倍數做為人體食用研究之測試劑量。運動疲勞試驗應選擇檢測本評估方法所載之運動疲勞相關指標，試驗原始數據紀錄必須保留供查核。

一、執行單位與執行人

本評估試驗必須委託國內外大學食品、營養、運動科學等與新陳代謝有關之研究所、醫學中心或其他經中央衛生主管機關認可之專業研究機構執行人體食用研究，以維持客觀與可靠性。試驗須事先通過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) 審核，以確保維護受試對象之權益。

主持人必須具備運動生理學、運動生化學或運動營養學之相關專業背景與研究經驗或著作，並應遵循中央衛生主管機關對人體研究之相關規定，應有醫師與營養師參與試驗。

二、受試對象

受試者以 20 歲以上之健康成年人且必須以相近生理年齡層等相近條件的受試者為原則，且於實驗前一週起到實驗結束不得飲用酒精及食用營養補充品、興

奮劑(如咖啡因)或其他藥物。

三、研究設計

實驗分組時採隨機取樣雙盲交叉設計(randomized double blind cross-over)為原則，各組完成試驗之受試者人數應至少達 12 人，若為兩組或多組同時進行非交叉之隨機控制試驗(2-arm or multi-arm randomized controlled trial)，各組完成試驗之受試者人數應至少達 24 人。上述兩類研究設計如功效指標改善程度之統計檢定力(statistical power)未達 80%，應增加受試者人數。每位受試者必須分別食用受試產品或外型與味道相近之安慰劑，若受試產品為天然物時，得視實際情況以相近食品或空白為對照組。

交叉實驗主要採自體比較的方式進行，二次食用研究至少須間隔一週以上。受試者在食用抗運動疲勞受試產品，應與食用對照組攝入同等熱量，且須要求受試者維持平時飲食習慣，飲食指導書及每日飲食追蹤紀錄等資料可由營養師輔導，並採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。執行受試產品抗運動疲勞功效測試前，應禁食 12 小時，以排除糖水、蛋白質或脂質等熱量補充之影響。實驗期之長短及食用時間得自行視受試產品特性或依已在國際學術期刊發表之相似產品試驗時間而擬定。

四、評估方法

選擇耐力運動類型或阻力運動類型均應敘明實驗控制條件，包括環境溫度、運動強度(intensity)、運動持續時間(duration)及頻率(frequency)，透過檢測指標評量恢復到運動前水準(baseline)的速度，則可反映受試產品是否具有加速消除運動疲勞的功效。

體能表現為抗運動疲勞之功效標準；其餘如生理壓力、肌肉組織損傷、肌肉組織能源儲存則為評估受試產品抗運動疲勞作用機轉。各項指標測定方法詳列於五之各項指標測定方法。

為評估受試產品抗運動疲勞之保健功效，體能表現指標應至少選擇測量 2

項；機轉指標應為能對應解釋功效結果之檢測項目，應至少選擇測量 5 項。若研究設計為觀察延緩運動疲勞發生，體能表現指標及機轉指標應於運動前後至少各檢測 1 個時間點，若研究設計為觀察運動後是否能加速疲勞消除，體能表現指標及機轉指標則應於運動前至少檢測 1 個時間點，另於運動結束後至少檢測 2 個時間點。在進行功效評估前應進行體能檢測設備之熟悉試驗(Familiarization test)，以避免因受試者不熟悉體能檢測設備所造成的差異。熟悉試驗與正式功效試驗前測之相關性如低於 0.6，應再進行前測試驗，以確保體能表現指標檢測信賴度(reliability)。

體能表現指標與機轉指標選測項目如下：

(一) 體能表現指標 (至少選測 2 項)

1. 無氧動力。
2. 最大有氧動力。
3. 耐力。
4. 肌力。
5. 肌耐力。
6. 瞬發力。

(二) 機轉指標 (至少選測 5 項，應涵蓋至少 2 類指標)

1. 生理壓力之內分泌性壓力指標：兒茶酚胺、可體松、睪酮、生長激素、IL-6、IL-10、TNF- α 、hs-CRP。
2. 肌肉組織損傷指標
 - 2.1. 肌肉損傷指標：肌酸激酶活性、肌紅蛋白濃度、尿液中 3-甲基組胺酸濃度、白血球(含 CD68 巨噬細胞)在肌肉組織浸潤情形、 γ H2AX 綜合細胞比例、 β -半乳糖苷酶綜合細胞比例、p16INK4a mRNA。
 - 2.2. 氧化傷害指標：MDA 含量、TBARS 含量、蛋白羰基含量、8-OHdG 含量。
3. 肌肉組織能源儲存指標：肌肉肝醣濃度、肌肉磷酸肌酸濃度。

五、各項指標測定方法

(一) 體能表現指標

1. 無氧動力

以可設定阻力之腳踏車進行測定。指標分數為瓦特(Watt) = 負荷阻力(kg) × 輪轉圈數 × 3.17，共獲得有 6 個瓦特值，其平均功率與累積的總功率即可作為無氧動力指標。一般設定運動時間為 30 秒內以個人最大能力完成。

2. 最大有氧動力

以集氧式面罩及可攜式氣體分析儀觀察受試者氧氣消耗量，以獲得最大攝氧量數值，達到最大攝氧速度時之運動功率即為最大有氧動力。達到最大攝氧量的條件為，當受試者呼吸交換率高於 1.10 以上、達到最大心跳率(220-年齡)及博格運動自覺量表(Borg Rating Scale of Perceived Exertion) 達 18 以上。

博格運動自覺量表

6	
7	非常非常輕鬆
8	
9	非常輕鬆
10	
11	頗輕鬆
12	
13	有些累
14	
15	累
16	
17	非常累
18	
19	非常非常累
20	

跑步運動可參考 Bruce protocol (下表所列)逐漸增加速度與坡度；或於可自動控制功率之腳踏車(Cycloergometer)上透過漸進式增加速度或阻力。

坡度 (%)	速度 (mph)	持續時間 (分鐘)
10	1.7	3
12	2.5	3
14	3.4	3
16	4.2	3
18	5.0	3
20	5.5	3
22	6.0	3

3. 耐力

運動持續時間，可於跑步機或腳踏車上以固定之運動強度觀察受試者在跑步機或腳踏車上的最長運動持續時間。由於耐力體能有個體差異，故以個人相對運動強度進行持續時間的比較。例如個人相對運動強度之設定以受試者 80%的最大攝氧量時的腳踏車功率或跑步機速度進行耐力試驗。強度百分比之選擇可依產品特性而自訂，一般不低於 70%的最大攝氧量。

4. 肌力

測驗方法如下，可擇一測量。

4.1. 肱二頭肌肌力及股四頭肌肌力評估

以等長測力器(isometric dynamometer)進行並記錄數值。每個受試者需進行 5 次測試，每次間隔 2 分鐘，取其最大值做為最大肌力。紀錄數值單位為公斤(kg)或牛頓(N)。

4.2. 上肢及下肢最大等速肌力評估

以等速肌力量測儀(isokinetic dynamometer)進行並記錄數值。以 180 度/秒的速度進行主動式肘/膝關節伸直屈曲動作，連續 3 次後停止，中間無休息，上述測量可記錄最大值或過程中的平均值。紀錄數值單位為公斤或牛頓。

5. 肌耐力

測驗方法如下，可擇一測量。

5.1. 上肢及下肢動作次數之肌耐力評估

以受試者一次反覆動作最大重量(One repetition maximum, 1RM)的 70%之槓鈴重量進行測定，重複動作之速度維持 30 次/分鐘，計算受試者可連續重複該動作的次數，若受試者無法維持速度完成動作即結束測試。運動時關節角度必須標準化。強度百分比之選擇可依產品特性而自訂，一般不低於 70%的 1RM。

5.2. 上肢及下肢動作力矩之肌耐力評估

以等速肌力量測儀進行並記錄數值。以 180 度/秒的速度進行主動式肘關節屈曲伸直動作，連續 30 次後停止，中間無休息。肌耐力指標計算： $[\text{最後 5 次的平均最大力矩}/\text{最初 5 次的平均最大力矩}] \times 100\%$ 。

6. 瞬發力

以測力板進行蹲跳並記錄數值。瞬發力的計算以每一瞬間力板垂直地面的反作用力與垂直移動速度的乘積求得，可記錄最大值或起跳過程中的平均值。

(二) 機轉指標

1. 生理壓力之內分泌性壓力指標

兒茶酚胺、可體松、睪酮、生長激素、IL-6、IL-10、TNF- α 、hs-CRP 等得以酵素連結免疫檢測(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)、放射免疫分析(radioimmunoassay, RIA)或高效液相層

析(high performance liquid chromatography, HPLC)等技術分析。

2. 肌肉組織損傷指標

2.1 肌肉損傷指標

血中之肌酸激酶活性、肌紅蛋白濃度可經由生化分析儀、分光光譜儀或免疫分析儀測定。亦可使用市售之 ELISA 試劑套組。運動後肌肉蛋白流失的變化可間接透過觀察尿液中 3-甲基組胺酸推估。3-甲基組胺酸濃度可以高效液相層析技術分析。肌肉發炎程度則應以 H&E 染色配合免疫染色檢驗白血球(含 CD68 巨噬細胞)浸潤情形。觀察 γ H2AX 綜合細胞比例得以末端脫氧核苷酸轉移酶脫氧尿苷三磷酸切口末端標記(terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling, TUNEL)方法檢測嚴重 DNA 損傷之肌肉細胞。肌肉組織衰老細胞數量改變可以免疫組織化學染色法(immunohistochemistry)測定 β -半乳糖苷酶綜合細胞比例或使用即時定量聚合酶連鎖反應(Real-time Quantitative Polymerase. Chain Reaction, Real-time PCR)測量肌肉 p16INK4a mRNA。

2.2 氧化傷害指標

氧化傷害指標須於運動結束後 3 小時內測定，測定指標如下：

2.2.1. MDA 與 TBARS 含量

肌肉組織或細胞中之不飽和脂肪酸經氧化生成之氧化物，氧化物與硫代巴比妥酸形成之縮合物於 532 nm 波長下測量吸光值，可參考 Ohkawa (1979)的方法進行測定。亦可使用市售之 ELISA 試劑套組。

2.2.2. 蛋白羰基含量

血液或肌肉組織之蛋白質經自由基攻擊後可形成蛋白羰基的衍生物，經過處理之樣品以分光光度計測量 355-390 nm 波長之吸光值，可參考 Reznick 與 Packer (1994)的方法進行測定。亦可使用市售之 ELISA 試劑套組。

2.2.3. 8-OHdG 含量

8-OHdG 含量得以 HPLC 定量之，可參考 Loft 等人(1992)的方法進行測定。亦可使用市售之 ELISA 試劑套組。

3. 肌肉組織能源儲存指標

3.1. 肌肉肝醣濃度

可採用磁共振波譜(magnetic resonance spectroscopy, MRS)進行測定。或以骨骼肌肉檢體進行肌肉肝醣含量分析，以分光光度計測量 505 nm 波長之吸光值並計算肝醣分解後葡萄糖濃度，可參考 Passonneau 與 Lauderdale (1974) 的方法進行測定。

3.2. 肌肉磷酸肌酸濃度

以骨骼肌肉檢體進行肌肉磷酸肌酸濃度分析，以分光光度計測量並計算磷酸肌酸濃度，可參考 Rawson 等人(2002)的方法進行測定。

六、數據處理

依一般生物統計方法分析，研究如為受試者內設計，採用重複量數共變數分析(repeated measured ANCOVA)比較相關指標的改變差異。如果為受試者間設計，則採用獨立樣本共變數分析(Independent sample ANCOVA)等統計方法，比較相關指標的改變差異。

指標有差異時，再以杜凱氏事後比較法(Tukey's test)或邦佛羅尼事後比較法(Bonferroni test)比較是否達到統計上顯著差異($p < 0.05$)。

針對體能表現指標之統計結果，無論研究為受試者內設計或受試者間設計，皆須再加以 Cohen's d 計算效果量(Effect size)。

七、測定數據與結果之判定

試驗所選擇之 2 項體能表現指標應至少 1 項之改善結果達到統計上的顯著差異(誤差範圍 $p < 0.05$ 且 Cohen's $d \geq 0.5$)，且試驗所選擇之 5 項機轉指標應至少 2 項之改變結果達到統計上的顯著差異($p < 0.05$)，則該產品具抗運動疲勞功效。

參、保健功效之宣稱

- 一、受試產品依本評估方法進行研究，於運動前介入受試產品具明確統計結果顯示功效時，即可向中央衛生主管機關為「健康食品」及「有助於延緩運動疲勞發生」或其他相近具科學依據詞句宣稱之申請。
- 二、受試產品依本評估方法進行研究，於運動前、中或後介入受試產品具明確統計結果顯示功效時，即可向中央衛生主管機關為「健康食品」及「有助於促進運動後疲勞消除」或其他相近具科學依據詞句宣稱之申請。