



3.3.2 細胞培養：細胞貼附培養於 100mm 無菌培養皿，每兩天更換新鮮細胞培養液，當細胞密度達九成時進行繼代培養。

3.3.3 試驗方法：試驗依據委託人之設計，以「大同氫分子機能水」調配細胞培養液，並以二次水調配之細胞培養液作為對照組，分別處理細胞 48 小時後進行 MTT 活性分析計算細胞存活率。

- A. 試驗前一天，將細胞植入 48 孔盤(細胞密度 1×10^5 /mL; 0.3mL/孔)
- B. 試驗當天分別以二次水和「大同氫分子機能水」調配細胞培養液，並依下列比例混合後處理細胞(不含胎牛血清之測試條件)。

氫分子機能水比例(%)	0	10	25	50	75	90	100
「二次水」 調配細胞培養液 (mL)	10	9	7.5	5	2.5	1	0
「氫分子機能水」 調配細胞培養液 (mL)	0	1	2.5	5	7.5	9	10
總體積 (mL)	10	10	10	10	10	10	10

含胎牛血清之測試條件則取上述細胞培養液再添加 10%胎牛血清(v/v)。

- C. 細胞經隔夜培養後，吸除上清液，加入 0.6mL 試驗物質(含不同比例大同氫分子機能水的細胞培養液)後繼續培養 48 小時，每組進行三重複處理。
- D. 細胞毒性分析：每孔加入 0.3mL MTT 試劑，靜置培養箱中反應 2 小時後，以盤式分光光度計讀取波長 570 nm 吸光值。依下列公式計算細胞存活率。

$$\text{細胞存活率}\% = \frac{\text{各試驗組(含10~100\%大同氫分子機能水)的吸光值}}{\text{對照組(含0\%大同氫分子機能水)的吸光值}} \times 100\%$$

