ภาคผนวก ก

วิธีการเตรียมสารเคมี

1. สารเคมีสำหรับสกัดและวิเคราะห์สารสี

1.1 อะซีโตน (acetone)

1.2 เฮกเซน (hexane)

1.3 แก๊สไนโตรเจน

1.4 ปิโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether)

1.5 โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) เข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์

ชั่งโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์มา 5 กรัม เติมเอทธิลแอลกอฮอล์ 100 เปอร์เซ็นต์ ลงประมาณ 80 มิลลิลิตร คนจนละลายหมด แล้วเติมแอลกอฮอล์จนปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร

2. สารเคมีสำหรับวิเคราะห์โปรตีน

2.1 กรดซัลฟูริก (H_2SO_4) เข้มข้น 93–98 เปอร์เซ็นต์

2.2 สารเร่งรวม (catalyst mixture)

ชั่งคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$) 7 กรัม กับโปแตสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) 100 กรัม ผสมให้เข้ากัน

2.3 โซเดียมไฮดรอกไซด์ 45 เปอร์เซ็นต์ (NaOH)

ละลาย 450 กรัม ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ ชนิดเกล็ดลงในน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร

2.4 สารละลายกรดเกลือ 0.1 นอร์มัล

ละลายกรดเกลือ 9 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร

2.5 กรดบอริก (H_3BO_3) 4 เปอร์เซ็นต์

ต้มน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ให้ร้อน แล้วใส่ผงกรดบอริกลงไป 4 กรัม ต้มจนละลายหมด ทิ้งไว้จนสารละลายเย็นลง แล้วจึงเติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

2.6 อินดิเคเตอร์ผสม

ละลายเมทธิลเรด 0.2 กรัม ในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร และละลายเมทธิลีนบลู 0.2 กรัม ในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายเมทธิลเรด 2 ส่วน ผสมกับสารละลายเมทธิลีนบลู 1 ส่วน เขย่าให้เข้ากัน

2.7 เมททิลออเรนจ์อินดิเคเตอร์ (methyl orange indicator)

ละลายเมททิลออเรนจ์ 0.1 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

2.8 สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 0.1 นอร์มัล

อบโซเดียมคาร์บอเนตที่อุณหภูมิ 260–270 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที วางทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งสารมา 1.325 กรัม เติมน้ำกลั่นประมาณ 100 มิลลิลิตร คนให้ละลายจนหมดแล้ว ปรับปริมาตรให้ได้ 250 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตร

3. สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ไขมัน

3.1 คลอโรฟอร์ม (chloroform)

3.2 เมทธานอล (methanol)

4. สารเคมีสำหรับเม็ดเลือดกุ้ง

4.1 สารละลายทริปแพนบลู (Trypan blue) 0.15 เปอร์เซ็นต์

ละลายทริปแพนบลู 0.15 กรัม ในสารละลายเกลือ (NaCl) 2.5 เปอร์เซ็นต์ 100 มิลลิลิตร คนให้ละลายโดยวางบน magnetic stirrer นาน 6-12 ชั่วโมง และกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 แบ่งใส่หลอดพลาสติกหลอดละ 0.45 มิลลิลิตร

5. สารเคมีสำหรับวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส

5.1 K-199 100 มิลลิลิตร ประกอบด้วย

M-199	50	มิลลิลิตร
Hepes	0.238	กรัม
$MgCl_2.6H_2O$	0.33	กรัม
$MgSO_4.7H_2O$	0.3	กรัม
NaH_2PO_4	0.005	กรัม
NaCl	1.1	กรัม

$CaCl_2.2H_2O$	0.09	กรัม
L-glutamine	1	มิลลิลิตร

เติมน้ำที่ผ่านการกรองขจัดอิออน (deionized) จนครบ 100 มิลลิลิตร ปรับพีเอชให้ได้ 7.6 กรองด้วยกระดาษกรองขนาด 0.22 ไมโครเมตร เก็บไว้ในตู้เย็น

5.2 สารละลายแอลซิสทีอีน 3 เปอร์เซ็นต์ (L-cysteine) (เตรียมก่อนใช้ในแต่ละครั้ง)

ละลาย L-cysteine 30 กรัม ในสารละลาย K-199 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับพีเอชให้เป็น 7.4 กรองผ่านเมมเบรนที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางรูขนาด 0.22 ไมโครเมตร ใส่ขวดเก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส

5.3 สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (PBS) พีเอช 7.4

ละลาย NaCl 8.0 กรัม KCl 0.2 กรัม Na_2HPO_4 1.44 กรัม และ KH_2PO_4 0.24 กรัม ในน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร ปรับพีเอชให้ได้ 7.4 ด้วยสารละลาย NaOH แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกรองขจัดอิออนให้ครบ 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

5.4 สารละลายคาโคดีเลทบัฟเฟอร์ (CAC buffer) พีเอช 7.0

ละลาย $C_2H_6AsNaO_2.3H_2O$ (Cacodylic acid sodium salt trihydrate) 1.07 กรัม ในน้ำ deionized ปลอดเชื้อ 500 มิลลิลิตร เติม CaCl 0.37 กรัม ปั่นให้ละลายแล้วจึงเติม $MgCl_2$ 5.08 กรัม ปรับพีเอชเป็น 7.0 ปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร ใส่ขวดเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส

5.5 สารละลายทริปซิน (Trypsin) 0.001 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ละลาย trypsin (1:250) 0.001 กรัมในสารละลายคาโคดีเลทบัฟเฟอร์ 1 มิลลิลิตร

5.6 L-DOPA 0.003 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ละลาย L-3,4-dihydroxyphenylalanine 0.003 กรัม ในสารละลายคาร์โคดีเลทบัฟเฟอร์ 1 มิลลิลิตร

5.7 สารละลายโฟลิน (Folin reagent) 1:11

เจือจางสารละลาย folin ด้วยน้ำกรองขจัดอิออนในอัตรา folin 1 ส่วนต่อน้ำ 10 ส่วน ผสมให้เข้ากัน ใส่ขวด เก็บที่ 4 องศาเซลเซียส

5.8 สารละลายอัลคาไลน์คอปเปอร์ (Alkaline copper solution)

1. ละลาย $CuSO_4.5H_2O$ 0.5 กรัม ในน้ำกรองขจัดอิออน 100 มิลลิลิตร
2. ละลาย Na-K- tatrate 1 กรัม ในน้ำกรองขจัดอิออน100 มิลลิลิตร
3. ละลาย Na_2CO_3 1 กรัม ในสารละลาย NaOH 0.5 นอร์มัล 100 มิลลิลิตร

ผสมสารละลายในข้อ 1, 2 และ 3 ในอัตราส่วน 1: 1: 50 ให้เข้ากันดีก่อนใช้

5.9 สารละลายโบวีนซีรัมแอลบูมิน (BSA) มาตรฐาน

ละลาย bovine serum albumin 1.0 มิลลิกรัม ในน้ำกรองขจัดอิออน 10 มิลลิลิตร และเจือจางสารละลายข้างต้นด้วยน้ำกรองขจัดอิออนในหลอดทดลองให้มีความเข้มข้น 10-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ภาคผนวก ข

วิธีวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ในอาหารและกุ้ง (Chien and Jeng, 1992)

1.1 นำตัวอย่างกุ้งทำให้แห้งด้วยความเย็น (Freeze-dry) เมื่อตัวอย่างแห้งดีแล้ว จึงนำมาบดให้ละเอียด ส่วนอาหารนำมาบดให้ละเอียด

1.2 ชั่งน้ำหนักเนื้อกุ้งหรืออาหารประมาณ 1-2 กรัม บันทึกน้ำหนักที่ชั่งได้ แล้วนำใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร เติมน้ำเล็กน้อยเพื่อให้เนื้อกุ้งไม่ฟุ้งรวมเป็นก้อนและอาหารยุ่ย แล้วเติมอะซิโตน (acetone) ลงทีละน้อย คนให้เข้ากันทิ้งไว้สักครู่เพื่อให้สารละลายแยกชั้นจากตะกอน แล้วดูดสารละลายออกใส่กระบอกตวง ทำการสกัดซ้ำจนไม่พบสีละลายออกมา

1.3 เทสารละลายที่ได้ในฟันเนล (Funnel) เติมปิโตรเลียมอีเทอร์เท่ากับปริมาตรของอะซิโตนที่ได้ แล้วเติมน้ำกลั่นจนกระทั่งสารละลายแยกชั้น ไขน้ำทิ้ง ทำซ้ำ 3-5 ครั้ง

1.4 นำสารละลายส่วนบนมาวัดปริมาตรด้วยกระบอกตวง บันทึกปริมาตรที่ได้แล้วกรองสารละลายบางส่วนด้วยสำลี นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าดูดกลืนแสงแบบสแกนและคำนวณหาปริมาณแคโรทีนอยด์ต่อไป โดยนำค่าดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณแคโรทีนอยด์โดยใช้สมการด้านล่าง

$A^{\%}_{1cm}$=2500 (Sommer, 1992)

และแทนค่าโดยคิดจากแคโรทีนอยด์ 1 กรัม ในปิโตรเลียมอีเทอร์ 100 มิลลิลิตร จะมีค่าดูดกลืนแสงเท่ากับ 2500 เมื่อค่าดูดกลืนแสงมีค่าเท่ากับ 0.2500 แสดงว่ามีแคโรทีนอยด์ในปิโตรเลียมอีเทอร์เท่ากับ 1 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร

เมื่อวัดค่าดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.524 แสดงว่ามีแคโรทีนอยด์เท่ากับ

$$\frac{1 \times 0.524}{250} = 2.096 \text{ ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร}$$

ดังนั้นเมื่อใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์ 25 มิลลิลิตร สกัดตัวอย่าง 0.05 กรัม จะได้ปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 25x2.096 เพราะฉะนั้นปริมาณแคโรทีนอยด์มีค่าเท่ากับ 52.4 ไมโครกรัม/กรัม

หมายเหตุ $A^{\%}_{1cm}$ = 2500 หมายถึง การวัดค่าดูดกลืนแสงได้เท่ากับ 2500 โดยใช้ light path 1 เซนติเมตร ซึ่งเป็นการบ่งชี้ว่าสารนั้นมีความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์เท่ากับ 1 เปอร์เซ็นต์

2. การวัดองค์ประกอบทางเคมีของอาหารและตัวอย่างกุ้งตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (1990)

2.1 การวิเคราะห์ความชื้น

นำถ้วยกระเบื้องเข้าตู้อบอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที และทำให้เย็นโดยโถดูดความชื้น ชั่งและบันทึกน้ำหนักของถ้วยกระเบื้องโดยละเอียด ชั่งน้ำหนักใส่ขวดประมาณ 1 กรัม และบันทึกน้ำหนัก นำตัวอย่างเข้าตู้อบโดยใช้อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่อบแล้วใส่โถดูดความชื้นทิ้งไว้ให้เย็น แล้วบันทึกน้ำหนักของตัวอย่าง ทำซ้ำตามขั้นตอนข้างต้น จนกระทั่งน้ำหนักที่ได้คงที่ โดยน้ำหนักที่หายไปคือน้ำหนักของความชื้น คำนวณหาความชื้นด้วยสมการ

$$\text{ความชื้น (\%)} = \frac{(a-b)}{w} \times 100$$

เมื่อ a = น้ำหนักของตัวอย่างก่อนอบแห้ง
b = น้ำหนักของตัวอย่างหลังอบแห้ง
w = น้ำหนักของตัวอย่างก่อนอบแห้ง

2.2 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า

ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 1 กรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบ นำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จนเถ้าเป็นสีขาว แล้วนำเข้าโถดูดความชื้นเมื่อตัวอย่างเย็นดีแล้ว นำออกชั่งทันทีด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง คำนวนหาปริมาณเถ้าด้วยสมการ

$$\text{เถ้า (\%)} = \frac{(b-a)}{c} \times 100$$

เมื่อ a = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบ
b = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบกับน้ำหนักของตัวอย่างหลังการเผา
c = น้ำหนักของตัวอย่างก่อนการเผา

2.3 การวิเคราะห์หาโปรตีน

ชั่งตัวอย่างกุ้งที่บดละเอียดในข้อ 1 ให้ได้น้ำหนัก 0.3 กรัม ด้วยกระดาษกรองที่ปราศจากสารไนโตรเจน แล้วใส่ในหลอดแก้วโปรตีน เติมสารเร่งรวม 3 กรัม เพื่อเป็นการช่วยเร่งปฏิกิริยาการย่อย เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 15 มิลลิลิตร นำไปย่อยด้วยชุดเครื่องย่อยโปรตีน

ที่อุณหภูมิ 375 องศาเซลเซียส จนกระทั่งสารละลายเป็นสีเขียวใส ทิ้งไว้ให้เย็น หลังจากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 20 มิลลิลิตร ใส่ลูกแก้ว 2 ลูก เพื่อป้องกันการกระเด็นของสารละลาย เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงในหลอดแก้วช้าๆ จนกระทั่งสารละลายมีสีดำ เติมกรดบอริก 40 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ หยดอินดิเคเตอร์รวมในกรดบอริก 2-3 หยด ทำการกลั่นจนกระทั่งไม่มีแก๊สแอมโมเนียออกมา ทำการกลั่นต่อไปอีก 10 นาที แล้วล้างปลายเครื่องกลั่นด้วยน้ำกลั่น นำขวดปากแคบวัดปริมาตรออกจากเครื่องกลั่น ไตเตรทด้วยสารละลายกรดเกลือมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จนถึงจุดยุติสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินอ่อน บันทึกปริมาตรของกรดเกลือ เพื่อใช้คำนวณต่อไปโดยใช้สมการ

$$\text{โปรตีน (\%)} = 1.4 \times \frac{(V_1-V_2) \times N \times 6.25}{W}$$

เมื่อ V_1 = ปริมาตรของกรดมาตรฐานที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง

V_2 = ปริมาตรของกรดมาตรฐานที่ใช้ไตเตรทตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบ

N = ความเข้มข้นของกรดเกลือเป็นนอร์มัล

W = น้ำหนักตัวอย่าง

การหาความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือมาตรฐาน

ดูดสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 40 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เติมเมททิลออเรนจ์อินดิเคเตอร์ 2–3 หยด ทำการไตเตรทด้วยสารละลายกรดเกลือ 0.1 นอร์มัล คำนวณความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือโดยใช้สูตร

$$N_1 V_1 = N_2 V_2$$

2.4 การวิเคราะห์ไขมันโดยใช้เครื่อง Soxtec System HT6 (AOAC, 1990)

อบถ้วยพร้อมด้วยลูกแก้วที่ใช้วิเคราะห์ไขมันที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 8 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น อบตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักถ้วยพร้อมลูกแก้ว (W_1) ชั่งตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ใส่กระดาษกรองเบอร์ 1 ประมาณ 1-2 กรัม (W_2) ห่อให้มิดชิด ใส่ลงในไส้กรอง (thimble) ที่เตรียมไว้นำไปใส่เข้าเครื่องวิเคราะห์ นำถ้วยพร้อมลูกแก้วที่ชั่งน้ำหนักไว้แล้วมาเติมสารละลายที่มีส่วนผสมระหว่างคลอโรฟอร์มและเมทธานอลในอัตราส่วน 2:1 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ต้มที่อุณหภูมิ 181 องศาเซลเซียส ให้เดือด 30 นาที จากนั้นล้างตัวอย่าง 20 นาที ระเหยสารที่เหลือ 5 นาที นำถ้วยเข้าเครื่องอบที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำถ้วยออกมาใส่โถอบแห้ง ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำมาชั่งน้ำหนัก (W_3) คำนวณหาปริมาณไขมันด้วยสมการ

$$\text{ไขมัน (\%)} = \frac{W_3 - W_1}{W_2} \times 100$$

เมื่อ W_1 = น้ำหนักถ้วยพร้อมลูกแก้ว
W_2 = น้ำหนักตัวอย่าง
W_3 = น้ำหนักถ้วยพร้อมลูกแก้วและไขมันหลังอบ

3. การวิเคราะห์องค์ประกอบเลือด

3.1 การนับปริมาณเม็ดเลือดทั้งหมด (กิจการ และ สิทธิ, 2538)

ใช้กระบอกฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตร และเข็มฉีดยาขนาด 24 G ความยาว 12 มิลลิเมตร เจาะเลือดกุ้งที่โคนขาเดินคู่ที่ 3 ให้ได้ประมาณ 0.2 มิลลิลิตร ใช้ปิเปตปรับปริมาตรอัตโนมัติดูดเลือด 50 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลายทริปแพนบลู 0.45 มิลลิลิตร ให้เข้ากันในหลอดพลาสติกนับเซลล์เม็ดเลือดทั้งหมดโดยใช้ฮีมาไซโตมิเตอร์ (haemacytometer) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แล้วคำนวณเป็น เซลล์ต่อมิลลิลิตรจากสูตร

ปริมาตรของฮีมาไซโตมิเตอร์ = กว้างxยาวxสูง
= 1มม. x 1มม. x 0.1มม.
= 0.1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร ($มม^3$)
จำนวนเซลล์เม็ดเลือด/ลูกบาศก์มิลลิเมตร = เซลล์เม็ดเลือดที่นับได้
จำนวนเซลล์เม็ดเลือด/ มิลลิลิตร = เซลล์เม็ดเลือดที่นับได้ x 10^4

3.2 การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (กิจการ และ คณะ, 2543)

ใช้กระบอกฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตร และเข็มฉีดยาขนาด 24 G ความยาว 12 มิลลิเมตร ดูดสารละลายแอลซิสทีอีน (L-cysteine) 0.2 มิลลิลิตร เจาะเลือดกุ้งที่โคนขาเดินคู่ที่ 3 ให้ได้ประมาณ 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันในหลอดพลาสติกโดยใช้ปิเปตอัตโนมัติดูดขึ้นลงเบาๆ นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 3,590x*g* อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที ล้างเซลล์เม็ดเลือดด้วยสารละลาย K-199 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร 2 ครั้ง แล้วเติมสารละลายคาร์โคดีเลทบัฟเฟอร์ (CAC buffer) 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เก็บในไนโตรเจนเหลวนำเซลล์เม็ดเลือดที่ได้มาทำให้เซลล์แตกโดยใช้เครื่องอัลตร้าโซนิกส์ ฮอโมจิไนซ์เซอร์ ที่แอมพลิจูด (amplitude) ระดับ 30 เป็นเวลา 20 วินาที นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 8,497x*g* อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที นำส่วนใส

(HLS) มาวิเคราะห์ทันที โดยเติมสารละลายทริปซิน (trypsin) 0.2 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองขนาด 5 มิลลิลิตร เติม HLS 0.2 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย L-DOPA 0.2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งไว้ 2 นาที จึงเติมสารละลาย CAC buffer 1.8 มิลลิลิตร ตั้งให้เกิดปฏิกิริยา 2 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร บันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงทุก 2 นาที จนกระทั่งค่าลดลง สำหรับหลอดที่เป็นตัวเทียบ (blank)ใช้สารละลาย CAC buffer 0.2 มิลลิลิตร แทนตัวอย่าง คำนวณค่ากิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสได้จากสมการ

$$\text{กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส} = \frac{\text{ยูนิต/นาที } (0.001)^{*}}{\text{โปรตีนใน HLS 0.2 มิลลิลิตร}}$$

$$= \text{ยูนิต/นาที/มิลลิกรัมโปรตีน}$$

โดย * 0.001 เป็นค่าที่กำหนดเอง

ยูนิต (unit) หมายถึง ความสามารถของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสในการเปลี่ยน L-DOPA ไปเป็นโดปามีน (dopamine) โดยวัดจากค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงภายในเวลา 1 นาที