

Prosedyre

Contents

1. Materialer	2
2. Forberedelse av utstyret – Luminometer Hygiena Pi-102 og PC til "online" måling	3
3. Prøveuttak til estimering av bukspregning.....	5
3.1. Overflate pin	5
3.2. Ekstrahering	5
4. Måling av enzym aktivitet.....	7
4.1. Overflate pin	7
4.2. Buffer ekstrakt pin	8
Blank test	8
4.3. etter 1 time fra første måling.....	9
4.3.1. overflatepin	9
4.3.2. buffer ekstrakt pin.....	10
5. Tarminnhold beskrivelse.....	11

Materialer

Materialer som trengs for å kjøre bukspregningstest er vist i Figur1.: luminometer -1a koblet til PC, buffer ekstrakt pin (1b), overflatepin (1c), ekstraksjonsrør med 10ml ekstraksjons buffer (1d) adenosintrifosfat (ATP) løsning Hygiena Pi-102 (1e) og saks (1f). I tillegg trengs klargjorte klistrelapper som er merket med fiskenummer.

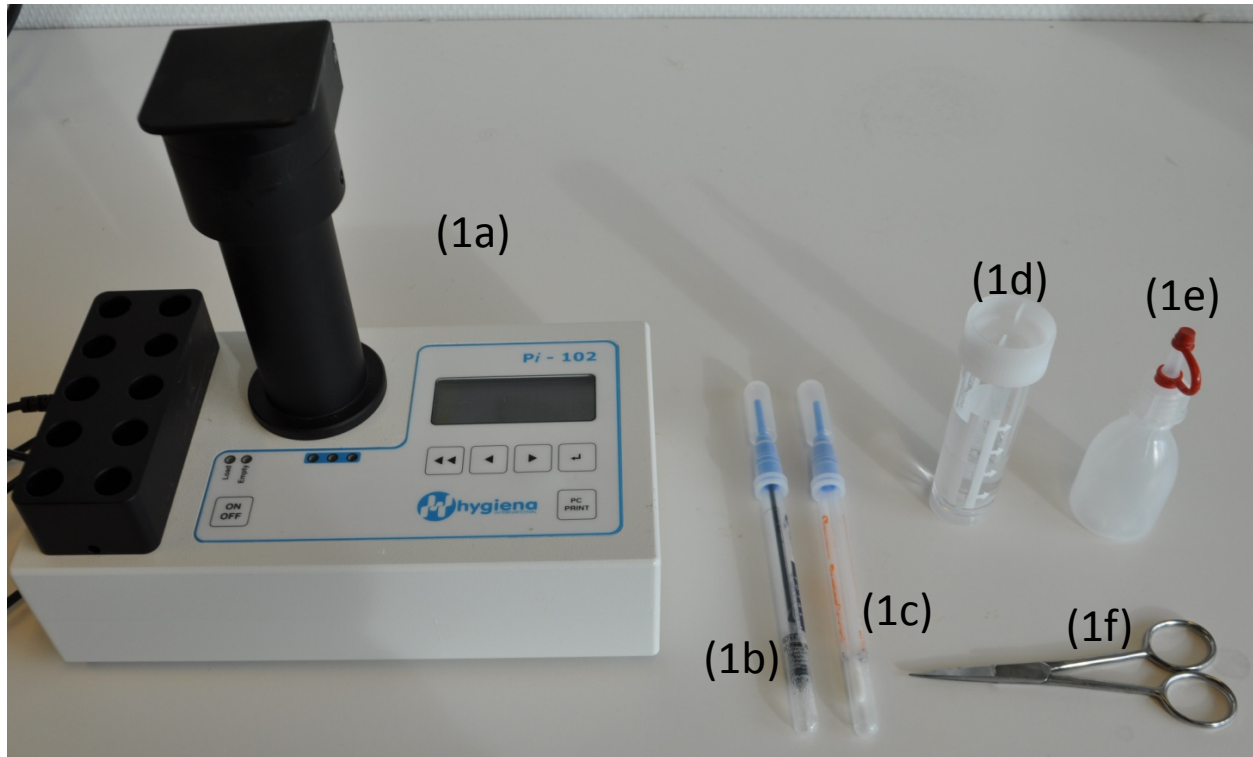


Figure1. Materialer som trengs å kjøre bukspregningstest.

Fotokamera trengs til å ta bilde av tarminnhold.

10 fisk testes i hele prosedyren.

1. Forberedelse av utstyret – Luminometer Hygiena Pi-102 og PC til "online" måling

Slår på Pi-102 utstyret ved trykk knappen "on".

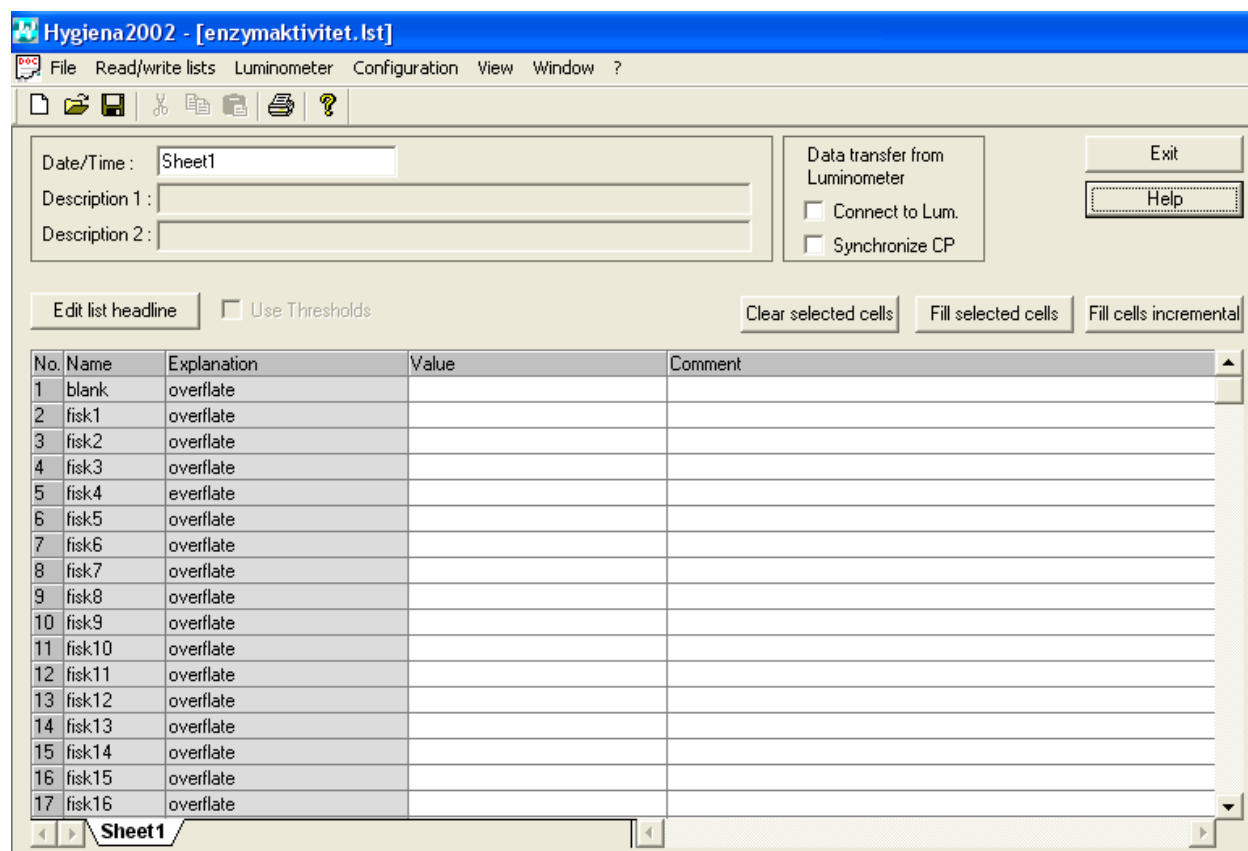
Press \leftarrow for "ok". Vent til apparatet er ferdig med å blinke "Warm up".

Press \leftarrow for "lists"

Press \leftarrow for "list 01" eller velg en annen list med

Press \leftarrow for "new"

Slå på PC og velg programma **Hygiena2002**, åpne filen "enzymaktivitet" og den bør se ut som vist i Figur 2.1



Figur2.1

Da velg du **File Save as** og skriv nytt filnavn som for eksempel: dato og fiskeart:

20.11.2011NVGSild

Trykk **Save**

Lukk filen med **File close**

Da velger du **File open** og velger den nylagrede filen

Skriv på felte Date/Time - dato, på description felte: navn på båt, fiskeområde

På samme siden til høyre **Husk å krysse av "Connect to Lum" og "Synchronize CP"**

Nå er utstyret klar til å måle "online"

2. Prøveuttak til estimering av bukspregning

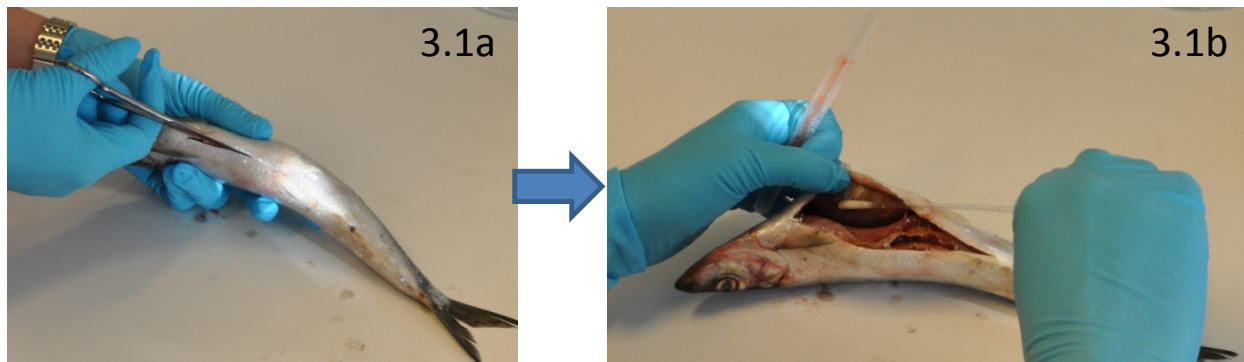
Prøve tas på to forskjellige måter:

1. med overflatepin (3.1) og
2. via ekstrahering og buffer ekstrakt pin (3.2)

Fisk (Nr1) åpnes ved bruk av saks (Figur 3.1(3.1a)).

2.1.Overflate pin

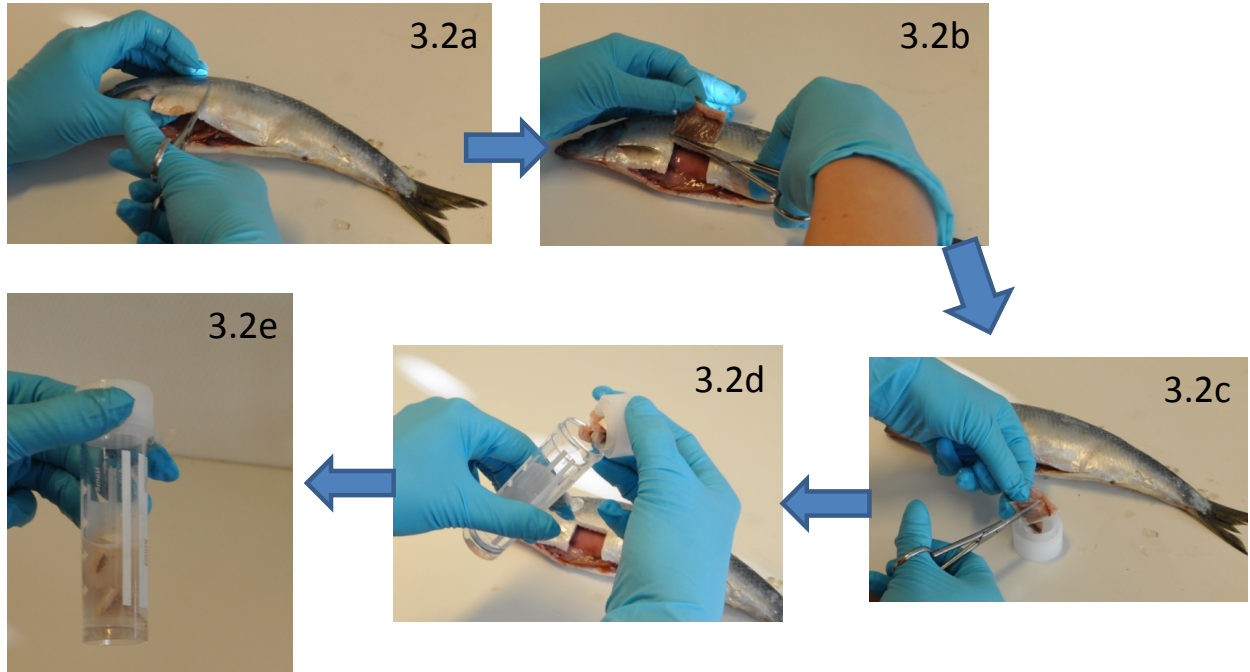
Klistrelapp med nummer av fisk limes på overflatepinnen (oransje). Ta prøve ved å stryke med overflatepin, (3.1b) på fisk i bukken som vist i Figur 3.1.



Figur 3.1. Prøveuttaket med overflatepin

2.2.Ekstrahering

Tilsett ca 10ml buffer i ekstraheringsrør. Ekstrakt lages ved å kutte av en bit fra silda slik som vist i bilde 3.2a og 3.2b. Sildebiten legges på toppen av ekstraheringsrøret og skjæres i mindre biter med saks (bilde 3.2c), og overføres til ekstraheringsrøret ved å sette på toppen på røret (bilde 3.2d). Ha igjen toppen og rist røret (3-5 sekunder) for å blande sildebitene med buffer (3.2e). Klistrelapp med fiskenummer limes på ekstraheringsrøret.



Figur- 3.2 Prøveuttaket med ekstrahering og buffer ekstrakt pin

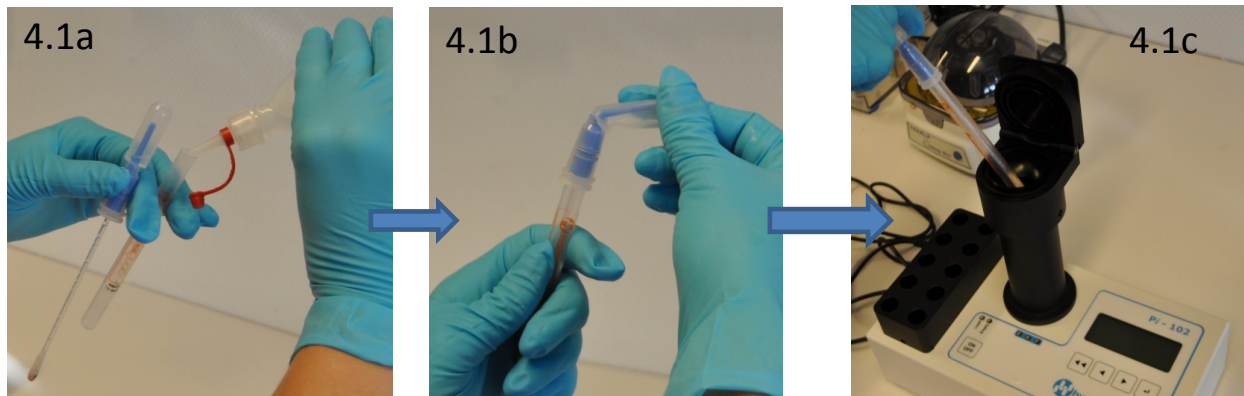
Gjenta alle disse trinnene på 10 fisk??

3. Måling av enzym aktivitet

3.1.Overflatepin

Blank test

- Ta en ny overflatepin, klistre på lapp som viser "blank"
- Ta av toppen på pinen og tilsett 2 dråper ATP-løsning i testrøret som vist i figur 4.1a (Figur 4.1). Sett på toppen.
- Knekk hodet på testrøret som vist i 4.1b (Figur 4.1) NB!du bør høre et knekk og klemme ut væsken.
- røret ristes og settes i luminometeret (4.1c i Figur 4.1)
- trykk **enter** på **Pi-102** to ganger for å starte måling. Melding der det står "Measuring" dukker opp.
- måleverdien dukker opp under "**value**" i programmet på r på **PC**, i spalten "**name**" skal det stå "**blank**", i spalten "comments" skal tiden for prøvemålingen skrives.
- sett pin på stativet, den skal testes igjen om ca 1time
- Fortsett med fiskeprøvene



Figur 4.1 Måling av enzym aktivitet på overflate pin

Fiskeprøvene:

- Ta overflate pin med klistrelapp **fisk1**
- Ta av toppen på pinen og tilsett 2 dråper ATP-løsning i testrøret som vist i figur 4.1a (Figur 4.1). Sett på toppen.
- Knekk hode på testrøret som vist i 4.1b (Figur 4.1) NB!du bør høre et knekk og klemme ut væsken.
- røret ristes og settes i luminometeret (4.1c i Figur 4.1)
- trykk **enter** på **Pi-102** to ganger for å starte måling. Melding der det står "Measuring" dukker opp.

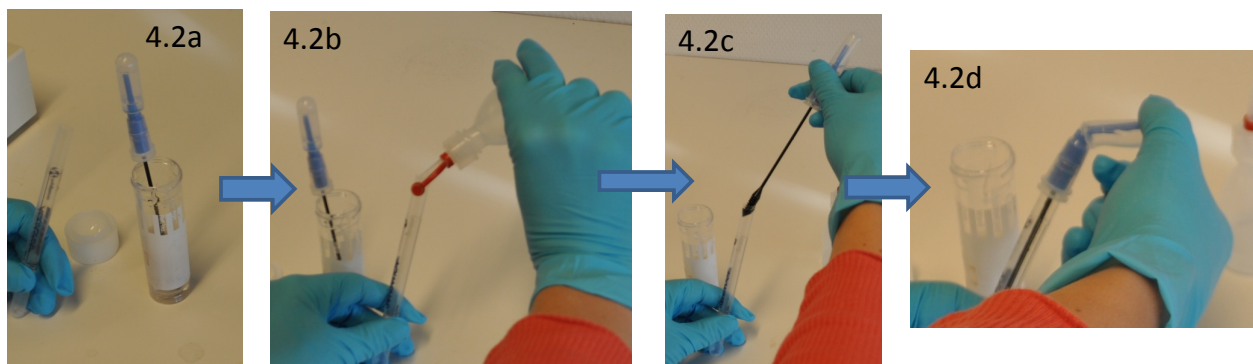
- måleverdien dukker opp på PI-102 skjermen og under "**value**" i programmet på **PC**, i spalten "**name**" skal det stå "**blank**", i spalten "comments" skal tiden for prøvemålingen skrives.
- sett pin på stativet, den skal testes igjen om ca 1time,
- Fortsett med de 9 andre overflatepinene som er merket med fisk 2 til 10.

Når du er ferdig med overflatepinnene skal du befinne deg i linjen hvor det i spalten "**explanation**" står "**ekstrakt**". Da er du klar til å starte å jobbe med bufferekstrakt-pin.

3.2. Bufferekstrakt-pin

Blank test

- Ta en ny bufferekstrakt-pin, klistre på lapp som viser "blank"
- Ta av toppen på pinen og tilsett 2 dråper ATP-løsning i testrøret som vist i figur 4.2b (Figur 4.2). Sett på toppen.
- Knekk hodet på testrøret som vist i 4.1b (Figur 4.1) NB! du bør høre et knekk og klemme ut væsken. røret ristes og settes i luminometer
- Trykk **enter** på **Pi-102 to ganger** for å starte måling. Melding der det står "Measuring" dukker opp.
- Måleverdien dukker opp under nr 12 i programmet på **PC**, i spalten "**name**" skal det stå "**blank**", i spalten "comments" skal tiden for prøvemålingen skrives.
- Sett pin på stativet, den skal testes igjen om ca 1time,
- Fortsett med fiskeprøvene



Figur 4.2 Måling av enzymaktivitet på buffer ekstrakt pin

Fiskeprøvene:

- Toppen i bufferekstrakt-pinen dyppes i **ekstraheringsrør** med fiskeprøve (Figur 4.2 bilde 4.2a)
- Tilsett 2 dråper ATP-løsning i testrøret som vist i figur 4.2b (Figur 4.2).
- Pin toppen fra ekstraheringsrøret settes tilbake på testrøret (4.2c i Figur 4.2) .
- Knekk hodet på testrøret som vist i 4.1b (Figur 4.1) NB!du bør høre et knekk og klemme ut væsken. røret ristes og settes i luminometer
- Trykk **enter** på **Pi-102 to ganger** for å starte måling. Melding der det står "Measuring" dukker opp.
- Måleverdien dukker opp på Pi-102 skjermen og under "**value**" i programmet på **PC**, i spalten "**name**" skal det stå "**fisk1**", i spalten "comments" skal tiden for prøvemålingen skrives.
- sett pin på stativet, den skal testes igjen om ca 1time,
- Fortsett med de 9 andre overflatepinene som er merket med fisk 2 til 10.
- Når du er ferdig med første runde av målinger, sjekk tiden på den første prøven som ble testet (blank av overflatepin). Hvis det har gått 1 time fra testen ble kjørt, så kan du starte med andre runde av målinger. Hvis ikke, så venter du til det har gått 1 time fra første testen ble kjørt.

3.3. 1 time etter første måling

3.3.1. Overflatepin

- Ta overflatepin merket med "**blank**"
- Åpne testrøret og tilsett 2 dråper ATP-løsning til røret. Lukk igjen røret.
- Røret ristes og settes i luminometer
- Trykk **enter** på **Pi-102 to ganger** for å starte måling. Melding der det står "Measuring" dukker opp.
- Måleverdien dukker opp under nr 23 i programmet på **PC**, i spalten "**comments**" skal tiden for prøvemålingen skrives
- ta overflatepin merket med "**fisk1**"
- Åpne testrøret og tilsett 2 dråper ATP-løsning til røret. Lukk igjen røret.
- Røret ristes og settes i luminometer
- Trykk **enter** på **Pi-102 to ganger** for å starte måling. Melding der det står "Measuring" dukker opp.
- Måleverdien dukker opp under "**value**" i programmet på **PC**, i spalten "**comments**" skal tiden for prøvemålingen skrives
- Fortsett med samme måleprosedyre på de 9 andre overflatepinene som er merket med fisk2 til fisk10.
- Da du er ferdig med overflatepinnene når du befinner deg på en linje hvor det i spalten "**explanation**" står "**ekstrakt**". Da kan du starte arbeidet med bufferekstrakt-pin.

3.3.2. Bufferekstrakt pin

- Ta bufferekstrakt-pin merket med "**blank**"
- Åpne testrøret og tilsett 2 dråper ATP-løsning til røret. Lukk igjen røret.
- Røret ristes og settes i luminometer
- Trykk **enter** på **Pi-102 to ganger** for å starte måling. Melding der det står "Measuring" dukker opp.
- Måleverdien dukker opp under nr 34 i programmet på på **PC**, i spalten "**comments**" skal tiden for prøvemålingen skrives

- Ta bufferekstrakt-pin merket med "**fisk1**"
- Åpne testrøret og tilsett 2 dråper ATP-løsning til røret. Lukk igjen røret.
- Røret ristes og settes i luminometer
- Trykk **enter** på **Pi-102 to ganger** for å starte måling. Melding der det står "Measuring" dukker opp.
- Måleverdien dukker opp under "**value**" i programmet på på **PC**, i spalten "**comments**" skal tiden for prøvemålingen skrives
- Fortsett med samme måleprosedyre på de 9 andre bufferekstrakt-pinene som er merket med **fisk2** til **fisk10**.

Når alle målingene er ferdig lagres data filen ved trykk **File, Save**.

4. Tarminnhold beskrivelse

Tar ... fisk. Tarminnhold skal tas ved press av fiskens mage. Bilde av tarminnhold tas. I tillegg beskrives tarminnhold skriftlig i data Ark 1.

Ark 1. Tarminnhold

Fisk nr.	Farge (rå, svart, gull, etc)	Konsistens (sandpapir, glatt, etc)	Mengde (???)	Annen viktig info