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
В	lank test	. 8
4.3.	etter 1 time fra første måling	9
4.3.1	overflatepin	9
4.3.2	2. buffer ekstrakt pin	10
5.	Tarminnhold beskrivelse	11

Materialer

Materialer som trenges 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 trenges klargjorte klistrelapper som er merket med fiskenummer.



Figure1. Materialer som trengs å kjøre bukspregningstest.

Fotokamera trenges 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 ← for "ok". Vent til apparatet er ferdig med å blinke "Warm up".

Press ← for "lists"

Press ← for "list 01" eller velg en annen list med

Press ← for "new"

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

📸 Hygiena2002 - [enzymaktivitet.lst]											
🕎 File Read/write lists Luminometer Configuration View Window ?											
Date/Time : Sheet1 Data transfer from Exit											
	Description 1										
	Description 1 : Elep										
Description 2 :											
	dit list headlir	ne I Use Thresholds		Clear selected cells Fill selected cells	Fill cells incremental						
R.	NI	Evelope Key	V-L-	Constant							
	livame blask	Explanation	Value		-						
2	Diank Galet	overnate									
2	fisk 1 fisk 2	overflate									
<u> </u>	field 3	overflate									
5	fiek 4	everflate									
6	fisk5	overflate									
7	fisk6	overflate									
8	fisk7	overflate									
9	fisk8	overflate									
10	fisk9	overflate									
11	fisk10	overflate									
12	fisk11	overflate									
13	fisk12	overflate									
14	fisk13	overflate									
15	fisk14	overflate									
16	fisk15	overflate									
17	fisk16	overflate			•						
Sheet1											

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 skjermet 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 bufferesktrakt-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 skjermet 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 dråpe 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 på PC, i spalten "comments" skal tiden for prøvemålingen skrives
- ta overflatepin merket med "fisk1"
- Åpne testrøret og tilsett 2 dråpe 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 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 dråpe 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.	Tarmin	nhold
--------	--------	-------

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