

Nýsköpun & neytendur
Consumers & Products

Vinnsla & virðisaukning
Value Chain & Processing

Erfðir & eldi
Genetics & Aquaculture

Líftækni & lífefni
Biotechnology & Biomolecules

Mælingar & miðlun
Analysis & Consulting

Öryggi & umhverfi
Food Safety & Environment



Þróun aðferða við myndgreiningu matvæla – B-hluti. Notkun myndgreiningar við rannsóknir á samsetningu vöðvaþráða í lömbum.

Eyrún Harpa Hlynsdóttir
Jónína Þ Jóhannsdóttir
Rannveig Björnsdóttir

Erfðir og eldi

Skýrsla Matis 31-09
Október 2009

ISSN 1670-7192

Titill / Title	Þróun aðferða við myndgreiningu matvæla – B-hluti. Notkun myndgreiningar við rannsóknir á samsetningu vöðvaþráða í lömbum/ Development of analytical methods – The use of image analysis for analysing lamb muscle		
Höfundar / Authors	Eyrún Harpa Hlynsdóttir, Jónína Þ Jóhannsdóttir, Rannveig Björnsdóttir		
Skýrsla / Report no.	31-09	Útgáfudagur / Date:	Október 2009
Verknr. / project no.	1303-1838		
Styrktaraðilar / funding:	Matvælasetur Háskólans á Akureyri		
Ágrip á íslensku:	<p>Rannsóknir hafa sýnt að mikill munur er á gæðum matvara eftir uppruna þeirra og mismunandi meðhöndlun og því mikilvægt að geta fylgst með gæðum vinnsluhráefna og matvöru með sem auðveldustum og áreiðanlegustum hætti. Myndgreining er áhugaverður kostur sem getur gefið upplýsingar sem eru aðgengilegar og sýna vel uppbyggingu vefja og áhrif mismunandi þátta á samsetningu og eiginleika afurða.</p> <p>Skýrslan er samantekt um aðferðir til greiningar á mismunandi gerðum vöðvafruma í lömbum. Í samantekt má segja að litanir hafi tekist vel og að unnt hafi verið með greinilegum hætti að aðskilja mismunandi gerðir vöðvaþráða í hrygg- og lærisvöðva lamba. Undanskilin er þó sú aðferð sem nýtt hefur verið til aðgreiningar á vöðvaþráðum af Gerð II í undirgerðirnar IIA og IIB, en í ljós kom að svörun með þeirri aðferð var ekki afgerandi og því rétt að benda á notkun annarra og nákvæmari aðferða.</p> <p>Verkefnið var styrkt af Matvælasetri Háskólans á Akureyri.</p>		
Lykilorð á íslensku:	Myndgreining, myosin ATP-asi, NADH-TR, PAS		
Summary in English:	<p>Research reveal variable quality of food products, depending on the origin, processing and other treatment of the product. Hence, it is considered of importance to be able to easily monitor the quality of the raw material. Image analysis is considered an interesting choice of analytical method which allows detection of tissue structures and analysis of the effects of various factors on tissue structure and various quality parameters.</p> <p>The report compiles methods used for identifying different types of cells in the muscle of lambs. The main results show that it is possible to distinguish different types of muscular fibers in lambs. Classification of the Type II fibers, based on their oxidative activity using the NADH-TR method, however, proved inaccurate. More accurate methods such as the SDH method are therefore recommended</p> <p>The project was funded by the Matvælasetur of the University of Akureyri</p>		
English keywords:	Image analysis, myosin ATP-ase, NADH-TR, PAS		

EFNISYFIRLIT

1. INNGANGUR.....	1
2. SAMANTEKT.....	2
3. FRAMKVÆMD	2
3.1 Myosin ATP-asa litun.....	3
3.1.1 Lausnir.....	3
3.2 Nicotin amide dehydrogenase tetraoxolium reductase (NADH-TR) litun	4
3.2.2 Framkvæmd litunar	4
3.3 Periodic Acid Schiff's (PAS) litun	4
3.3.1 Lausnir.....	4
3.3.2 Framkvæmd litunar	4
3.4 Myndgreining sýna.....	5
3.5 Niðurstöður.....	6
3.5.1 Val á aðferðum	6
4. UMFJÖLLUN	8
5. ÞAKKARORÐ.....	8
6. HEIMILDIR	8
7. KOSTNAÐUR OG FJÁRMÖGNUN VERKEFNISINS.....	9

1. INNGANGUR

Mikilvægt er að stuðla að hámarks gæðum vinnsluhráefna og matvöru og því nauðsynlegt að hægt sé að sýna með auðveldum hætti fram á gæði vörunnar. Rannsóknir sýna að mikill munur getur verið á gæðum matvara eftir mismunandi meðhöndlun auk þess sem uppruni matvæla getur haft áhrif á gæðin. Sem dæmi um þetta má nefna þorsk úr áframeldi samanborið við villtan þorsk en þar sýna rannsóknir að umtalsverður munur er á uppbyggingu og eiginleikum fiskvöðvans.

Gæði matvæla eru rannsökuð með ýmsum hætti og má sem dæmi nefna skynmat, efnasamsetningu, fitusýrugreiningar á lifur og vatnsheldni í holdi. Einnig má með litun vöðvans og myndgreiningu sýna fram á röðun vöðvafruma, fitusöfnun á afmörkuðum svæðum og ýmsar þær frumugerðir og efni sem áhugavert er að staðsetja í vöðvanum. Myndgreining er jafnframt áhugaverður kostur til þess að greina ástæður fyrir þeim mun sem efnarannsóknir sýna að geta verið á gæðum vinnsluhráefna og jafnframt til að skoða nánar áhrif innsprautunar og annarrar meðhöndlunar á matvælum. Myndgreining á matvælum og hráefni ýmskonar gefur upplýsingar sem eru afar aðgengilegar fyrir almenning (myndrænar) og er þessi aðferð því ákjósanleg leið til þess að sýna uppbyggingu vefja og áhrif eldisaðferða, vinnslu, geymslueiginleika og ýmissa annarra þátta á samsetningu og eiginleika afurða. Aukin þekking á notagildi myndgreiningar við mat á gæðum matvæla stuðlar að auknum notkunarmöguleikum og gera má ráð fyrir að myndgreining verði í framtíðinni fastur liður í rannsóknum sem beinast að gæðum og vinnslueiginleikum matvæla.

Verkefnið í heild sinni var styrkt af Matvælasetri Háskólans á Akureyri og var framkvæmt á árunum 2008-2009 í samstarfi Matís ohf., Háskólans á Akureyri, Hafrannsóknastofnunar (þorskseiðaeldi á Stað við Grindavík), Félagsbúsins Sandfellshaga og Fjallalamb hf. Í upphafi var gert ráð fyrir að unnin yrðu sýni úr verkefni þar sem rannsökuð væru áhrif mismunandi fódurs á gæði og eiginleika þorskholds. Við endurskoðun áætlunar var tekin ákvörðun um að nýta fjármagnið til þess að sýna fram á notagildi aðferðarinnar við gæðamat matvæla í sem víðtækustu samhengi. Var því tekin ákvörðun um að skipta verkefninu í tvo afmarkaða verkþætti:

- **A-hluti: Notkun myndgreiningar til að meta hryggsúlugalla strax á lirfustigi þorskeldis.**
Unnið af sérfræðingum Matís/HA í samstarfi við Hafrannsóknastofnun. Verkefni unnið á tímabilinu sept 08 – feb 09 af nemanda sem nýlokið hafði rannsóknatengdu meistaranámi á auðlindasviði HA (Rut Hermannsdóttir), í samstarfi við sérfræðinga Matís ohf. Gengið var frá skýrslu um þennan hluta verkefnisins í feb 2009 (Matís skýrsla 02-09).
- **B-hluti: Notkun myndgreiningar til að meta áhrif mismunandi fódunar á vöðvavöxt og gæði lambkjöts við slátrun að hausti.**
Unnið af sérfræðingum Matís/HA í samstarfi við fyrirtæki (Fjallalamb hf.) og framleiðendur (Félagsbúið Sandfellshaga). Verkefnið var unnið sem lokaverkefni nemanda í rannsóknatengdu BSc námi á auðlindasviði við HA veturinn 2008/2009

(Eyrún Harpa Hlynsdóttir), undir leiðsögn Rannveigar Björnsdóttur fagstjóra Matís og dósentis við HA og Jónínu Þ Jóhannsdóttur sérfræðings á Matís. Við vinnslu verkefnisins var jafnframt leitað til Guðjóns Þorkelssonar sviðsstjóra á Matís, Vals Norðra Gunnlaugssonar sérfræðings á Matís og Jónínu Ragnarsdóttur hjá Lýsi hf., fyrrum sérfræðings á Iðntæknistofnun en þau unnu að rannsókn þar sem myndgreiningarbúnaðurinn var notaður við rannsókn á vöðvaþráðum og eiginleikum íslensks lambakjöts (Guðjón Þorkelsson o.fl., 2004). Til Jónínu var leitað m.a. varðandi stillingu búnaðarins við myndvinnsluna. María Pétursdóttir rannsóknamaður á Matís kom jafnframt að úrvinnslu, litun og myndgreiningu sýna í rannsókninni.

Í eftirfarandi samantekt er lögð áhersla á þær aðferðir sem notaðar voru við rannsóknir í B-hluta verkefnisins og er **jafnframt gerð grein fyrir kostnaði og fjármögnun verkefnisins í heild sinni**. Varðandi niðurstöður rannsókna á áhrifum fóðurs á samsetningu vöðvaþráða lamba að hausti er vísað í BS ritgerð Eyrúnar Hörpu Hlynsdóttur frá Viðskipta og Raunvísindadeild Háskólanum á Akureyri vorið 2009.

2. SAMANTEKT

Myndgreiningarbúnaður sá sem notaður var í rannsókninni var fyrir nokkrum árum fluttur frá Keldnaholti til Akureyrar, með það að markmiði að efla rannsóknir þar sem stuðst er við myndgreiningu.

Í samantekt má segja að litanir hafi tekist vel og að unnt hafi verið með greinilegum hætti að greina mun á mismunandi gerðum fruma í vöðva lambanna.

3. FRAMKVÆMD

Miðað var við að taka sýni úr vöðva lambanna innan við klukkustund frá slátrun. Sýni til myndgreiningar voru tekin úr hryggvöðva og innanlærisvöðva lambanna (um 1x1x1 cm að stærð). Sýnunum var velt upp úr talkúmi til að auðveldara væri að koma þeim ofan í sýnaglösín svo og til að minnka hættuna á því að sýnin þjöppuðust saman í sýnaglasinu og þeim síðan komið fyrir í litlum plaststaukum og þau fryst í fljótandi köfnunarefni í 50 sekúndur. Sýni voru því næst flutt á rannsóknastofu Matís/HA á Akureyri og geymd við -80°C þar til sýnin voru skorin niður til myndgreiningar um 3 mánuðum eftir sýnatöku (Eyrún Harpa Hlynsdóttir, 2009).

Sýnin voru tekin úr frysti og látin ná sama hitastigi og í lághitaörsniðli (-29°C) áður en þau voru skorin. Skornar voru 10µm þverskurðarsneiðar af vöðvanum og sneiðum komið fyrir á poly L-lysine smásjárgerjum (Menzel gläser, no. J2800AMNZ, frá Thermo scientific). Húðun glerjanna með poly L-lysine gerir það að verkum að ekki þarf að festa sýnin á glerjunum fyrir litun auk þess sem glerin eru bæði hita- og kuldaþolin. Glerin voru síðan geymd í frysti við -80°C þar til litun fór fram. Litað var með 5 mismunandi litunaraðferðum sem hver um sig endurspeglar ákveðna virkni í vöðvaþráðum. Samkvæmt heimildum átti myosín ATP-asa litun að gefa vöðvaþræði sem lituðust svartir við lágt pH og hvítir við hátt pH. Með NADH-TR

litun átti samkvæmt heimildum að vera unnt að flokka vöðvaþræði af Gerð II í undirgerðirnar IIA og IIB, og með PAS-litun átti að sjást greinilegur munur á þráðum sem geymdu glýkógen og þeim sem ekki geymdu glýkógen orkuforða (Eyrún Harpa Hlynsdóttir, 2009).

3.1 Myosin ATP-asa litun

Litað var fyrir myosin ATP-asa eftir formeðhöndlun sýna við þrjú mismunandi sýrustig; pH 4.3, pH 4.6 og pH 10.3.

3.1.1 Lausnir

Lausn I (alkalisk)

Glycin 2.253 g
CaCl₂ 2.4 g
NaCl 1.755 g
Eimað vatn 300 ml
NaOH 0.1M 270 ml (1.08 gr í 270 ml eimaðs vatns)
pH stillt með HCl (0.1 M)

Lausn II (súr)

Na-acetat 3.90 g
KCl 3.7 g
Eimað vatn að 500 ml
pH stillt með ediksýru (100% HAc)

Lausn III (útbúa þarf nýja lausn daglega)

0.017 gr ATP/10 ml af Lausn I
pH 9.4 stillt með 1M HCl

Lausn IV (útbúa þarf nýja lausn daglega) 2.5 ml af 1% NH₄S í 50 ml af eimuðu vatni

Lausn V 1% CaCl₂

Lausn VI 2% CoCl₂

3.1.2 Framkvæmd litana

pH 4.3 og pH 4.6

100 ml af Lausn II komið fyrir í bikarglasi og sýrustig lausnarinnar stillt á pH 4.3 eða 4.6 með ediksýru (100% HAc). Við meðhöndlun við pH 4.6 er betra að stilla á pH 4.59 en 4.61 vegna þess hve næm þessi litunaraðferð er. Lausnum síðan pípettað yfir sýni á glerjunum og látið standa í 2 mínútur (pH 4.3) eða 10 mínútur (pH 4.6) við herbergishita.

pH 10.3

100 ml af Lausn I komið fyrir í bikarglasi og sýrustig lausnarinnar stillt á pH 10.3 með 0.1 M HCl. Lausnum síðan pípettað yfir sýni á glerjunum og látið standa í 9 mínútur við 37°C í hitaskáp.

Að lokinni formeðhöndlun sýna við mismunandi sýrustig eru glerin skoluð, fyrst nokkrum sinnum upp úr kranavatni og síðan úr eimuðu vatni. Lausn III er síðan pípettað yfir sýnin á glerjunum og bakkinn látinn standa lokaður í 30 mínútur við 37°C í hitaskáp. Að því loknu er

skolað á sama hátt og áður og glerjum síðan dýft ofan í Lausn V og því næst látin standa í 3 mínútur við herbergishita. Þá eru sýni skoluð aftur á sama hátt og áður og síðan dýft ofan í lausn VI og látið standa í 3 mínútur við herbergishita og síðan skolað eins og áður. Glerjum er að lokum dýft einu sinni ofan í Lausn IV og látið standa í 1 mínútu við herbergishita áður en skolað er á sama hátt og áður og gler síðan látin þorna.

3.2 Nicotin amide dehydrogenase tetraoxolium reductase (NADH-TR) litun

3.2.1 Lausnir

Inkuberingslausn (útbúa þarf nýja lausn daglega)

NADH (Boehringer 107735)	3.2 mg
NBT (Sigma N-6876)	8.0 mg
MOPS lausn	2.0 ml
Eimað vatn	8.0 ml

MOPS lausn 50 ml (geymist í kæli)

MOPS (Sigma M-1254)	1.05 gr
Eimað vatn	50 ml
Stilla þarf pH í 7.2 með 5 mol/NaOH	

3.2.2 Framkvæmd litunar

Gler með sýnum eru tekin út úr frysti og látin ná herbergishita (u.þ.b. 10 mínútur). Skolað yfir glerin með eimuðu vatni og sýni síðan þakin með inkuberingslausn. Glerjum síðan komið fyrir í hitabaði við 37°C í 30 mínútur og því næst skoluð með eimuðu vatni og látin þorna.

3.3 Periodic Acid Schiffs (PAS) litun

3.3.1 Lausnir

Perjoðsýra (Merk 524). Blönduð samkvæmt upplýsingum frá framleiðanda (tafla leyst í eimuðu vatni)

Carnoy's fixative lausn (10 ml)

Ethanol	6 ml
Kloroform	3 ml
Acetic acid (isedik)	1 ml

Schiff's reagent (BDH 351204L)

3.3.2 Framkvæmd litunar

Glerin tekin úr frysti og látin ná herbergishita (u.þ.b. 10 mínútur) áður en þeim er dýft ofan í Carnoy's fixative lausn og látin standa í lausninni við -20°C yfir nótt. Sýni síðan skoluð með eimuðu vatni 5-6 sinnum og því næst látin standa í perjoðsýrulausn í 12 mínútur við herbergishita áður en þau eru skoluð aftur með eimuðu vatni. Sýnum er síðan komið fyrir í Schiff's reagent (þynnt 1:1 í eimuðu vatni) og látin standa í hitabaði við 37°C í 10 mínútur. Mikilvægt er að fara varlega með litinn því að hann er mjög sterkur og litar allt rautt sem nálægt honum kemur. Sýni því næst skoluð í rennandi vatni í 10 mínútur og varast skal að láta renna beint á sýnin þar sem þau gætu þá runnið af glerjunum. Að síðustu eru glerin skoluð upp úr eimuðu vatni og því næst leyft að þorna við herbergishita

Að lokum var gengið frá sýnum á glerjum (mounting) með mountex lími (Histolab, no. 00841). Þetta var gert þannig að nokkrir dropar af mountex voru settir yfir sýnin á glerjunum og þekjugleri því næst komið fyrir ofan á til að verja sýnin. Glerin voru síðan geymd í frysti við -80°C þar til úrvinnsla var framkvæmd með myndgreiningu.

3.4 Myndgreining sýna

Sneiðarnar voru skoðaðar í smásjá (Leica CTR MIC) og mynd tekin með valinni stækkun (200x stækkun á þessari gerð sýna gaf góða raun í myndvinnslu) og af völdum sneiðum fyrir hverja litun (Leica C300F). Myndirnar voru vistaðar í gagnagrunni myndvinnsluforritsins (Leica Q win) og myndvinnsla síðan framkvæmd í forritinu með því að teikna handvirkt meðfram hverri vöðvafrumu innan sjónsviðsins, frumurnar síðan taldar og þær flokkaðar í mismunandi hópa með tilliti til gerðar vöðvaþráða. Forritið sá síðan um að reikna út fjölda þráða, stærð og heildarflatarmál hverrar gerðar. Niðurstöður voru að því loknu vistaðar í forritinu Microsoft Excel.

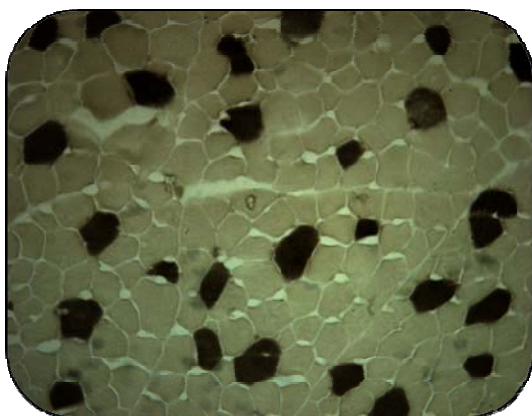
„Við ákvörðun á fjölda og stærð vöðvaþráða í sýnum voru notaðar myndir úr myosin ATP-asa litun við pH 10.3. Í einstaka tilfellum þurfti að telja á myndum af myosin ATP-asa litun við sýrustig 4.6 eða 4.3 vegna slakra gæða mynda sýna úr litun við pH 10.3 en við úrvinnslu flestra sýna var stuðst við myndir af myosin ATP-asa litun við pH 10.3. Slök gæði mynda eru talin stafa m.a. af skemmdum sem geta orðið við frystiskurð. Einnig getur hugsast að sýni á glerjum hafi ekki í öllum tilvikum verið nægjanlega vel fest áður en sýru og basa meðhöndlun hófst en þá er hættu á að sneiðarnar losni af glerjunum og krumpist og því erfitt að sjá lögun þráðanna og telja þá auk þess sem að meiri líkur eru á því að litunin heppnist ekki sem skyldi. Við úrvinnslu sýna sem lituð voru með PAS litun var einungis stuðst við sjónrænt mat á því hvort um rauðan, bleikan eða hvítan lit væri að ræða og er sú litunaraðferð því ekki jafn áreiðanleg og litun fyrir ATP-asa virkni, enda PAS litunin framkvæmd í því markmiði að geta getið sér til um hvort hlutfall og/eða fjöldi þráða sem oxa eða glýkólísera breytist innan tilraunahópa við mismunandi fóðrun fjölgi, fækki eða standi í stað innan sýnahópanna.

Mælt var flatarmál allra vöðvaþráða í bæði hrygg og læri lamba í hópunum þremur. Lágmark 100 vöðvaþræðir lágu til grundvallar talninga og flatarmálmælinga í hverri litunaraðferð. Ef ekki náðust 100 heillegir vöðvaþræðir var sýnaglerinu komið aftur fyrir undir smásjónni og fundinn staður þar sem mögulegt var að telja 100 þræði. Á tveimur af samtals 60 smásjón glerjum reyndist ekki mögulegt að ná 100 þráðum þegar litað var með PAS aðferð og náðust í öðru sýninu einungis 81 fruma í sjónsviðinu. Reynt var að finna betri stað á glerinu en sýnið reyndist svo illa farið að þessi fjöldi var látinn duga. Samtals sáust 99 vöðvaþræðir í hinu sýninu og var ákveðið að láta það nægja. Við tölfræðiúrvinnslu var notað forritið Microsoft excel og voru gögnin borin saman með ferveikagreiningu (einþátta Anova) þar sem stuðst var við 95% öryggismörk. Síðan var notað var t-próf og 95% öryggismörk til þess að rannsaka hvort marktækur munur væri á meðalstærð vöðvaþráða af mismunandi gerðum í hópunum þremur“ (Eyrún Harpa Hlynsdóttir, 2009).

3. 5 Niðurstöður

3.5.1 Val á aðferðum

Litanir heppnuðust vel, að undanskilinni NADH-TR lituninni en í ljós kom að erfitt reyndist að átta sig á aðgreiningu vöðvaþráða af gerð IIA og gerð IIB með þessari aðferð. Í heimild þar sem þessi litunaraðferð var notuð, var Carnoy's fixeringsvökvi notaður til þess að festa sýni á glerjum við -20°C í sólarhring (Guðjón Þorkelsson o.fl., 2004). Þetta var einnig reynt en litun reyndist jafnvel enn minna afgerandi með þessari aðferð samanborið við það að nota engan fixeringsvökva og var því ákveðið að sleppa þessari litun á sýnum í tilrauninni. Vöðvaþræðir voru því einungis flokkaðir í Gerð I og II auk þriggja mismunandi gerða sem fengust með PAS litun: hægir oxandi (SO - hvítir), hraðir oxandi og glykolyttiskir (FOG - ljósbleikir) og hraðir glykolyttiskir (FG - rauðir) (Eyrún Harpa Hlynsdóttir, 2009).

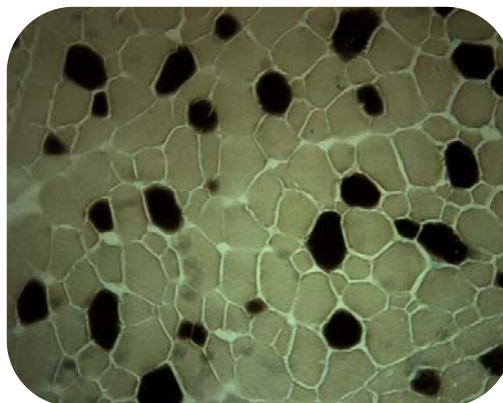


pH 4.3 (200x stækkun)

Samkvæmt flokkun Brooke og Kaiser (1970) eru dökku þræðirnir á myndinni af Gerð I en þeir ljósu af Gerð II (dökkir). Myndin sýnir að lögun vöðvaþráða af Gerð I getur verið mismunandi og virðist hluti frumanna vera fimmkantaðar á meðan að þræðir af Gerð II virðast vera stærri, teygðari og ferkantaðri samanborið við Gerð I. Á myndinni sést einnig að þræðir af Gerð I virðast hlutfallslega stærri en þræðir af Gerð II

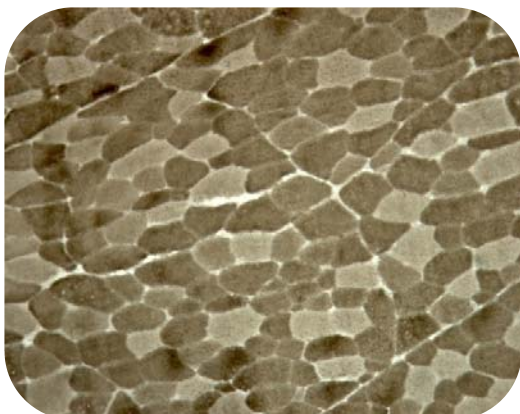
pH 4.6 (200x stækkun)

Markmið þess að meðhöndla sýni við bæði pH 4.3 og pH 4.6 er að greina vöðvaþræði af Gerð II í milligerðirnar IIA og IIB. Munurinn reyndist þó ekki nægjanlega afgerandi til þess að unnt reyndist að flokka vöðvaþræði af Gerð II markvisst í mismunandi milligerðir með þessari aðferð. Myndir af sýnum sem meðhöndluð voru við sýrustig 4.3 og 4.6 eru því mjög svipaðar og eru dökku þræðirnir á myndinni Gerð I en þeir ljósu af Gerð II.



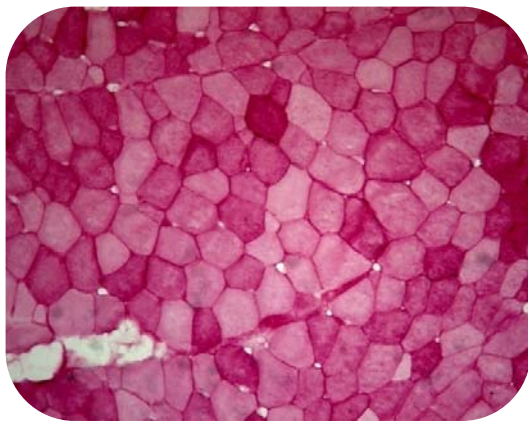
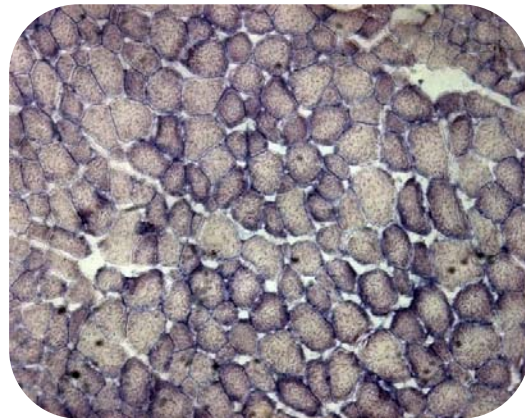
pH 10.3 (200x stækkun)

Meðhöndlun við pH 10.3 gefur öfuga svörun samanborið við meðhöndlun við pH 4.3 og 4.6 þar sem þræðir af Gerð II litast dökkir og þræðir af Gerð I litast ljósir, ef gengið er út frá flokkun Brooke og Kaiser (1970).



NADH-TR litun (200x stækkun)

Markmið NADH-TR litunar er að rannsaka oxunargetu vöðvaþráðanna. Eins og myndin sýnir litast hluti þráðanna dökkir en það eru þræðir sem búa yfir mikilli oxunargetu (Gerð IIB) samanborið við þræði sem litast ljósir en þeir búa yfir minni oxunargetu (Gerð IIA). Erfitt reyndist með þessari aðferð að greina á milli vöðvaþráða af Gerð IIA og IIB með afgerandi hætti.



PAS litun (200x stækkun)

Rauðir þræðir flokkast sem hraðir glýkólýtískir (FG) þræðir, eða vöðvaþræðir sem geyma mikinn glýkogen forða og eru því færir um að dragast hratt saman. Bleikir þræðir flokkast sem hraðir oxidatífir og glýkólýtískir (FOG) þræðir en þeir geta nýtt bæði súrefni og glýkogen við orkumyndun og einkennast jafnframt af miklum samdráttarhraða. Ljósbleikir vöðvaþræðir flokkast sem hægir oxidatífir (SO) vöðvaþræðir en það eru hægir oxandi frumur sem eru mjög þolnar en hafa lítinn samdráttarhraða.

Vöðvaþræðir sem lituðust dökkir eftir formeðhöndlun við pH 4.6 og voru ólitaðir (ljósir) eftir formeðhöndlun við pH 10.3 voru flokkaðir sem Gerð I. Vöðvaþræðir sem voru ólitaðir (ljósir) við súra formeðhöndlun (pH 4.3 og 4.6) en lituðust við pH 10.3 (dökkir) voru flokkaðir sem Gerð II. Vöðvaþræðir af Gerð I eru einnig af SO gerð og FG þræðir eru af Gerð II. Samkvæmt heimildum má leiða líkum að því að FOG þræðir geti verið af milligerð IIA og IIB. Með PAS litun flokkast ljósbleikir þræðir sem SO (Gerð I), bleikir þræðir sem FOG og rauðir/dökkbleikir þræðir sem FG (Gerð II).

Niðurstöður greininga á mismunandi gerðum vöðvaþráða í hrygg- og lærisvöðva lambanna í tilrauninni er að finna í fyrrnefndri BS ritgerð (Eyrún Harpa Hlynisdóttir, 2009).

4. UMFJÖLLUN

Unnt reyndist að greina mismunandi gerðir vöðvafruma í hrygg- og lærisvöðva lamba með þeim aðferðum sem notaðar voru. Ekki reyndist þó unnt að greina Gerð II vöðvaþráða í undirgerðirnar IIA og IIB með þeim aðferðum sem áður hafa verið notaðar til þessa. Við frekari heimildaleit fundust upplýsingar um að NADH-TR aðferðin hefði ekki reynst nægilega áreiðanleg til þess að greina vöðvaþræði af Gerð II í milligerðirnar IIA og IIB, og að SDH aðferðin (Succinate dehydrogenase) aðferðin væri áreiðanlegri (Peinado et al., 2004).

Umtalsverður munur reyndist hins vegar vera á flatarmáli vöðvaþráða í þessari rannsókn samanborið við fyrrnefnda rannsókn Guðjóns Þorkelssonar o.fl. (2004) þar sem rannsókuð voru lömb af svipaðri stærð. Þessi munur er talinn tengjast stillingu forritsins við myndvinnsluna en þrátt fyrir ítrekaðar tilraunir fannst ekki skýring á honum og reyndust mælingar á flatarmáli mismunandi gerða vöðvaþráða lamba vera mun hærri en í fyrrnefndri rannsókn Guðjóns Þorkelssonar o.fl. (2004). Samkvæmt upplýsingum frá Jónínu Ragnarsdóttur hjá Lýsi hf. kom þó í ljós að stilla þurfti myndvinnsluforritið með ákveðnum hætti (calibration) áður en myndirnar voru teknar við hverja stækkun og endurtaka þurfti því stillinguna ef myndir voru teknar við mismunandi stækkun. Því var valin ein mynd sem notuð hafði verið í rannsókninni og stillingar framkvæmdar áður en myndin var unnin aftur í forritinu. Í ljós kom að meðaltals flatarmál lækkaði við þetta úr $5765 \mu\text{m}^2$ í $4356 \mu\text{m}^2$. Mynd var síðan tekin af þessu sama sýni og á sama stað með réttum stillingum og flatarmálið reiknað aftur. Í ljós kom að meðaltals flatarmál sem þá fékkst var $3910 \mu\text{m}^2$ sem er enn nokkuð herra en í fyrrnefndri rannsókn Guðjóns Þorkelssonar o.fl. (2004) þar sem rannsókuð voru lömb af svipaðri stærð ($800\text{-}1200 \mu\text{m}^2$).

5. ÞAKKARORÐ

Starfsmenn verkefnisins vilja þakka Matvælasetri Háskólans á Akureyri veittan styrk. Jónínu Ragnarsdóttur hjá Lýsi hf. eru færðar bestu þakkir fyrir að hafa gefið sér tíma til að skoða löngu unnar og gleymdar rannsóknaniðurstöður. Guðjón Þorkelsson og Valur Norðri Gunnlaugsson hjá Matís ohf. fá einnig þakkir fyrir veittar upplýsingar.

6. HEIMILDIR

Brooke, M.H. and Kaiser, K.K. (1970). *Muscle fiber types. How many and what kind?* Archives of Neurology. 23: 366 – 379.

Eyrún Harpa Hlynsdóttir (2009). Áhrif fóðurs á samsetningu vöðvaþráða lamba. BS ritgerð í líftækni við Viðskipta og Raunvísindadeild Háskólans á Akureyri í maí 2009, 52 bls.

Guðjón Þorkelsson, Jónína Ragnarsdóttir, Ásbjörn Jónsson, Ása Þorkelsdóttir, Óli Þór Hilmarsson, Eyjólfur K. Örnólfsson, o.fl (2004). *Vöðvaþræðir og eiginleikar íslensks lambakjöts*. Óbirt rit.

Peinado, B, R Latorre, JM Vázquez-Autón, A Poto, G Ramírez, O López-Albors, F Moreno and F Gil. (2004). Histochemical skeletal muscle fibre types in the sheep. Anat. Histol. Embryol. 33, 236-243.

7. KOSTNAÐUR OG FJÁRMÖGNUN VERKEFNISINS

Kostnaður:

<i>Kostnaðarliðir</i>	<i>verð</i>
tímakostnaður starfsmanna (465 tímar)	3.255.000
rannsóknastofuefni	78.000
áhöld og varahlutir (myndvinnsla)	106.000
ferðakostnaður	3.000
flutningskostnaður	4.000
<i>Kostnaður samtals</i>	<i>3.446.000</i>

Fjármögnun:

- Styrkur frá Matvælasetri Háskólans á Akureyri: 1.950.000 (57% kostnaðar)
- Mótframlag Matís ohf.: 1.496.000 (43% kostnaðar)

Fjármögnun samtals: 3.446.000