



Bioteknik till vardags

# ENZYMER I TVÄTTMEDEL

- eller vad är det egentligen för likhet mellan dig och en höbakterie?

Har du någon gång studerat en tvättmedelsförpackning och försökt förstå innehållsförteckningen? Bland alla mer eller mindre obegripliga kemiska beteckningar brukar *enzym* finnas med. Enzymer finns i alla levande organismer och utan dem skulle de kemiska reaktionerna gå alldeles för långsamt i cellerna. För att t.ex. bryta ner maten till små molekyler, som kan tas upp i kroppen, krävs enzymer som påverkar proteiner, fett och kolhydrater. Det är därför en utmärkt idé att tillsätta enzymer i tvättmedel eftersom det ofta finns fläckar av t.ex. organiskt material på smutskläderna.

Enzymer bryts lätt ner och kan minska behovet av andra tillsatser i tvättmedel. Dessutom krävs mindre energi när man tvättar eftersom enzymtvättmedel är effektiva vid lägre temperatur. Det är därför miljövänligt att använda enzymtvättmedel. Enzymerna kapslas numera in för att minska problemen för allergiker.

Varifrån kommer enzymerna i tvättmedlen? Dessa proteinmolekyler är alltför komplicerade för att tillverkas på kemisk väg och man tar därför hjälp av bakterier. Bakteriestammar, som bildar enzymer, har isolerats och under senare år även modifierats med genteknik och används nu i den biotekniska industrin för produktion av enzymer.

Den försöksbeskrivning som följer visar hur en av *Bacillus*arterna som används för produktion av tvättmedelsenzymer, höbakterien (*Bacillus subtilis*), kan anrikas från ett naturligt substrat, i det här fallet hö eller gräs. Bakterien testas för att se om vissa specifika enzymer bildas. Resultaten från bakterieförsöken jämförs med effekten av saliv och tvättmedel.

## Att fundera på i anslutning till försöken:

- Vad innehåller tvättmedel och vilken betydelse har de olika tillsatserna?
- Vilken likhet finns det mellan enzymerna i tvättmedel och enzymer som tillverkas i vår kropp och av höbakterien?
- Var, hur och varför sker enzymreaktionerna i vår kropp?

## Nivå:

Grundskolan från skolor 5, olika kurser på gymnasiet

## Säkerhet:

För båda kemikalierna metylenblått och jodlösning gäller att skölja med vatten vid stänk på huden och i ögonen, samt kontakta läkare vid ögonbesvär.

Höbakterien, *Bacillus subtilis*, är inte sjukdomsframkallande och hör till den lägsta skyddsklassen. Den passar därför att använda i skolan. I försöket odlar man upp en blandning av bakterier från en naturlig miljö och som alltid i sådana fall skall man hantera kulturen på ett trygghetssätt eftersom man inte kan veta exakt vilka mikroorganismer som finns.

## Allmänna regler vid arbete med mikroorganismer:

1. Använd skyddskläder.
2. Håll god ordning på arbetsplatsen och iaktta renlighet genom att bl.a. alltid tvätta händerna efter arbetet.
3. Det är viktigt att inte utsätta sig för risken att få mikroorganismer i munnen genom att t.ex. äta eller dricka under arbetet.
4. Undvik bildning av aerosol, spill och stänk.
5. Hantera bakteriekulturer i slutna kärl.
6. Hantera avfall på ett säkert sätt. Se till att ha rutiner för hantering av spill och olycka/tillbud.

## Material till hökulturen:

hö eller gräs  
300 ml E-kolv med bomullspropp  
100 ml kranvatten  
eventuellt 20 ml Nutrient broth  
mikroskop + utrustning för mikroskopering

## Kemikalier

jodlösning (Jodopax kan inköpas på apotek)  
metylenblått

## Övrigt material

ympnål/engångsplatinös eller glaspipett  
petriskålar  
mikroskop och utrusning för mikroskopering  
värmeskåp (ej nödvändigt)  
autoklav (ej nödvändigt)

## Medier:

1. *Nutrient broth*\* (NB) beredes enligt anvisning på förpackningen.
2. *Stärkelsemedium*:  
Nutrient agar\* (=nutrient broth\* + 1,5% agar\*) + 2 % stärkelse
3. *Mjölkgagar (Kaseinmedium)*:  
torrmjölks pulver 10,0 g  
(pepton\* 5,0 g, ej nödvändigt, men förbättrar tillväxt)  
agar\* 15,0 g  
avjoniserat vatten 1000 ml  
Autoklavera vid ca 0,9 atm i 15 min.

\*Inköps från firma som säljer mikrobiologiska medier

## Försöksbeskrivningar:

- Enkelt, grundläggande försök
- Mer krävande försök
- Mest krävande försök. För gymnasieelever eller som demonstration.

### ▪ Enklaste försöken med tvättmedel för yngre elever

Låt eleverna undersöka hur tvättmedel fungerar. Ta ett stycke vitt bomullstyg och smutsa ner ordentligt med olika slag av matrester. Låt tygstycket torka, klipp sedan tyget i mindre delar och dela ut till elevgrupperna. Varje grupp behöver också tvättmedel och en termos för att hålla rätt temperatur på tvättmedelslösningen.

Elevgrupperna kan göra olika varianter på försök. T.ex. pröva olika slags tvättmedel, olika temperatur på tvättvätskan eller olika mycket tvättmedel. Tänk bara på att undersöka en sak i taget!

### ▪▪ Att göra i ordning och studera en hökultur

1. Blanda 20 ml Nutrient broth (NB) med 100 ml kranvatten och häll i en 300 ml E-kolv. (Det fungerar även utan tillsats av NB, men utvecklingen blir bättre med lite näringstillskott.)
2. Klipp lite hö eller gräs och lägg i. (Det ska finnas en fri vätskeyta ovanför höet för att det ska bli en tillväxt av bakterier i ytskiktet.)
3. Sätt i en bomullspropp i E-kolven och koka i 10-15 min. Låt stå några dagar i rumstemperatur. Gör ytterliga-

re en hökultur som inte kokas. Följ förändringarna i kolvorna med några dagars mellanrum genom att studera prov från ytskiktet i mikroskop.

### ▪▪▪ Färgning av bakterier

För att bakterierna ska synas bra i mikroskop behöver man fixera och färga dem. Stryk ut en droppe bakterielösning på ett objektglas. Låt lufttorka och fixera sedan bakterierna genom att föra objektglaset hastigt några gånger genom en gaslåga med preparatet uppåt – förstör inte bakterierna genom alltför kraftig uppvärmning. Droppa på lite metylenblått och låt verka i tre minuter. Skölj bort överskottet av färg med vatten. Studera bakterierna utan täckglas med helst 1000x förstoring och immersionsobjektiv. Bakterierna är mycket små (ca 3µm) och därför svåra att mikroskopera. Bäst är om läraren kan demonstrera.



### ▪▪ Test på agarplattor

1. Gör i ordning mjölkgagarmedium och stärkelsemedium. Gjut plattor och låt mediet stelna.
2. Ca tre dagar efter hökulturen startats tar man prov från ytskiktet med en steril ympnål och stryker ett par streck på mjölkgagarplattor, respektive stärkelseplattor. (Om man saknar ympnål går det att använda en ren glaspipett och droppa på lite lösning på plattorna.) Placera plattorna i värmeskåp i 1-2 dygn (ca 35 °C; i rumstemperaturen tar det ytterligare något dygn.). Mjölkgagarplattorna studeras direkt, medan effekten på stärkelseplattan framträder först när man droppar på jodlösning.
3. Testa effekten av tvättmedel på mjölkgagarmediet genom att placera några korn tvättmedel på plattan.
4. Effekten av tvättmedel på stärkelsemedium kan också studeras. Det är dock tänkbart att andra ämnen i tvättmedlet än enzym påverkar jodlösningen.
5. Testa effekten av någon droppe saliv på stärkelseagarplatta.



Petriskål med stärkelsemedium som visar hur höbakterien utsöndrar enzym som bryter ner stärkelse (guldfärgat medium). Blåfärgat medium visar stärkelse som ej brutits ner.

## Vad är det alltså för likhet mellan dig, höbakterien och tvättmedel?

Om man studerar en hökultur i mikroskop som inte kokats, kan man se ett myller av encelliga djur (ciliater) och bakterier. Detta lilla ekosystem förändras med tiden och är ett intressant studieobjekt. Den kultur som kokats innehåller inga encelliga djur. Här dominerar höbakterien, *Bacillus subtilis*, eftersom den kan bilda inaktiva sporer som överlever höga temperaturer. Sporer har ett kraftigt hölje som skyddar cellen under ogynnsamma miljöförhållanden. När lösningen svalnat utvecklas sporer till aktiva bakterier och eftersom de flesta andra bakterier dör vid upphettningen, så kommer höbakterien att dominera.

Höbakterien bildar bl.a. enzymer som bryter ner stärkelse och protein. Dessa enzymer utsöndras från cellen och bryter ner näringsämnen i omgivningen som bakterien sedan kan ta upp. Runt bakteriekolonierna bildas därför en zon där protein- och stärkelsenedbrytande enzymer verkar. På mjölkagarplattan syns en klar zon runt bakteriekolonierna beroende på att de stora kaseinmolekylerna bryts ner till lösliga aminosyror. Stärkelse färgas mörkt blåviolett av jodlösning, men där stärkelsenedbrytande enzym verkar blir färgen gulaktig.

Varifrån kommer ursprungligen de bakterier som används industriellt? För att t.ex. hitta bakterier som kan bryta ner proteiner kan man, precis som i den beskrivna laborationen, ta vara på bakterier från naturliga miljöer och odla dem på mjölkagarplattor. Den bakteriekoloni som bildar den största, klara zonen bryter ner proteiner mest effektivt. Man fortsätter ofta arbetet med den utvalda vildstammen genom att åstadkomma mutationer och sedan successivt välja ut den organism som producerar mest enzym.

Tvättmedel innehåller biotekniskt framställda enzymer från någon *Bacillus*art t.ex. *Bacillus subtilis*. Enzymerna är mest effektiva vid temperaturer mellan 40-60 °C och i basisk miljö. Det kan förekomma ett flertal typer av enzymer i tvättmedel:

- *Amylas* löser upp stärkelsesrika fläckar från t ex brödeg
- *Lipas* löser upp fettfläckar från t ex olja, dressing och läppstift
- *Proteas* löser upp proteinhaltiga fläckar från t ex blod, ägg och svett
- *Cellulas* bevarar tygets färger genom att ta bort det yttersta, slitna fiberlagret på tyget, så att färgerna behåller sin lyster

Innehållsdeklaration	
<b>Nonjontensider • Tvål/Såpe</b> Biologiskt nedbrytbara.	5-15%
<b>Fosfat (7% P)</b> Gör vattnet mjukt.	15-30%
<b>Natriumkarbonater</b> Gör vattnet mjukt.	>30%
<b>Disilikater</b> Gör vattnet mjukt.	5-15%
<b>CMC</b> Hindrar smutsen/skitt från att fastna åter/sitte igjen på tvätten/vasken.	<5%
<b>Enzymer</b> Bryter ner äggviteämnen och stärkelse/stivelse t ex fläckar av blod, ägg, mjölk och kakao.	<5%
<b>Polyvinylpyrrolidon</b> Skyddar/ Beskytter mot missfärgning.	<5%
<b>Parfym</b>	<0.2%
<b>pH</b> ca 10,5 i brukslösning.	

Britt-Marie Lidesten

Text och foto



## Bioscience Explained

Kloning, stamceller och genmodifierad mat – ord som man läser ofta i våra tidningar och hör i radio och TV. Utvecklingen inom bioteknik och biovetenskap går rasande fort och det är svårt att som lärare ha kunskap som räcker att besvara elevers frågor inom dessa ämnen.

Av denna anledning har vi startat en webbtidskrift – Bioscience Explained – ett samarbetsprojekt mellan Naturvetenskapliga fakulteteten, Göteborgs universitet och NCBE, Readings universitet, England och med stöd från AstraZeneca och Skolverket. Tidskriften innehåller artiklar och laborationer och riktar sig till lärare som undervisar ungdomar mellan 10-19 år. Den innehåller även test av labutrustning och bokrecensioner. Tidskriften är också direkt användbar för elever som gör projektarbeten. Den är också öppen för publikationer från lärare i Sverige och andra länder. Två nummer finns nu på nätet:

[www.bioscience-explained.org](http://www.bioscience-explained.org)

Elisabeth Strömberg

redaktör, Göteborgs universitet

## Mikrobiologi och bioteknik på nätet:

National Centre for Biotechnology Education (NCBE) vid Readings universitet, England har mycket material för skolan på hemsidan [www.ncbe.reading.ac.uk](http://www.ncbe.reading.ac.uk)  
Välj Practicals för att nå labhäften i pdf-format som handlar om t.ex bioteknik och genteknik.

En fantastisk länksamling finns på Karolinska Institutets hemsida [www.kib.ki.se](http://www.kib.ki.se)  
Välj först Biomedicinska länkar och sedan t.ex Micro & CellBiology