

---

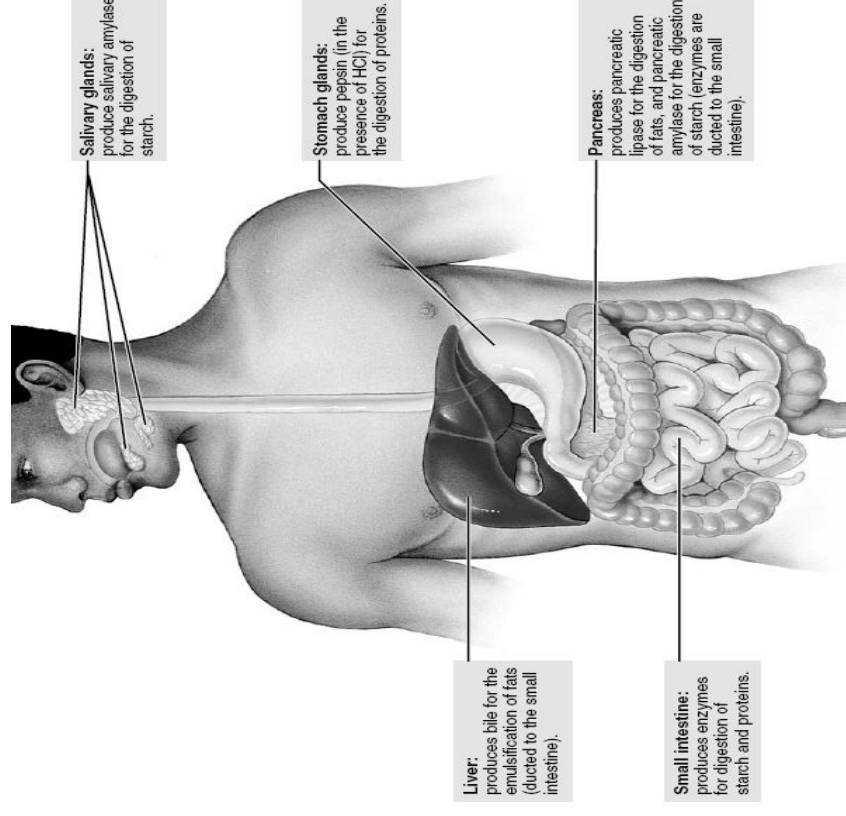
# Trávení

---

Mgr. Soňa Buchtíková

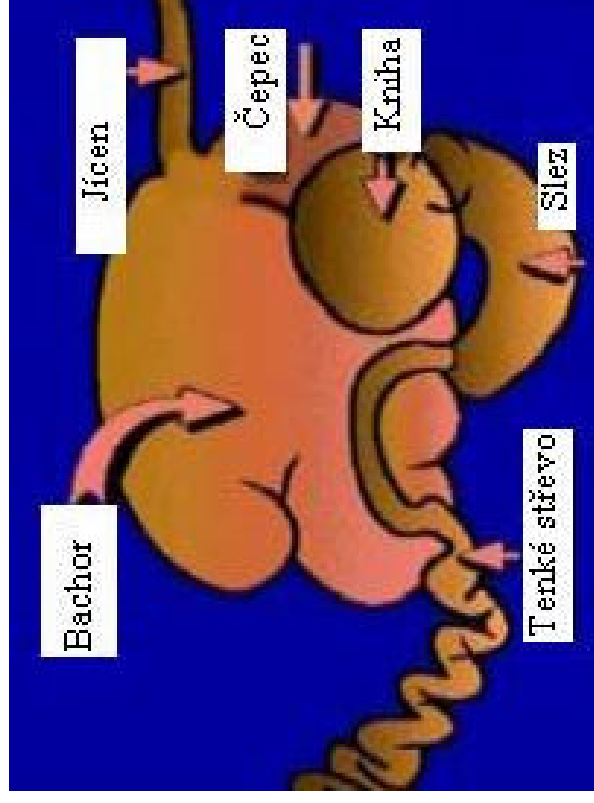
## Teorie:

- trávení - proces rozkladu molekul na menší molekuly za pomoci enzymů trávicího traktu
- trávicí trakt člověka tvoří: ústa, hltan, jícen, žaludek, tenké střevo (dvanácterník, lačník, kyčelník), tlusté střevo, konečník, řitní otvor. V jednotlivých částech trávicího traktu probíhají štěpné procesy za pomoci příslušných enzymů.



# Vícedílný (složený) žaludek přežvýkavců

- složen z předžaludku a vlastního žaludku – slezu (*abomasum*). Předžaludek se skládá ze tří komor : bachor (*rumen*), čepce (*reticulum*), kniha (*omasum*).
- První oddíl bachor (zásobník potravy, její změkčení, ale netráví se). Odtud prochází do čepce, z něhož je v době klidu vrácena zpět po soustech do ústní dutiny a tam znovu důkladně přemílána. Zvláštní rýhou jícnu přichází rozmělněná potrava do třetího oddílu, do knihy. Vlastním trávicím orgánem je poslední žaludeční oddíl - slez. Ten obsahuje trávicí enzymy. Trávení rostlinné potravy je pomalé a probíhá hlavně ve střevech. Proto všechny sudokopytníci mají velmi dlouhý střeva. Na trávení celulózy se účastní velké množství bakterií (anaerobní), hub a prvoků v zažívacím traktu.



# Enzymy obecně

- z řeckého "zymé" –kvasnice.
- specifické katalyzátory chemických reakcí v živých organismech (v nejjednodušší buňce více než 3000 enzymů, člověk kolem 20 tis., druhová specifita)
- Struktura enzymů
- Jednoduché enzymy – složené pouze z proteinu
- Složené enzymy – obsahují nebiřkovinnou složku – tzv. kofaktor (funkce – přenos skupin atomů nebo elektronů)
  - nebo obsahují bílk. složku – prostetická skupina (kovalentně vázaná), nebo koenzym (nekovalentně vázán)
- zvyšují rychlost reakce oběma směry, neovlivňují složení rovnovážné směsi (směr je dán energetickými a koncentračními poměry)

Rychlost kinetiky enzymových reakcí závisí na :

- koncentraci substrátu a množství enzymu
- fyzikálně-chemických vlastnostech prostředí
- přítomnosti efektorů

# Trávicí enzymy

- vylučované extracelulárně do trávicího traktu různými exokrinními žlázami, štěpí velké molekulární komplexy složek potravy na menší jednotky (monomery), ty pak mohou projít stěnou střeva do krevního řečiště (**resorpce**).
- jsou obecné hydrolázy – katalyzují hydrolyzu (připojení mlk vody) mlk potravy na menší podjednotky. Např. katalyzují hydrolyzu peptidické vazby proteinů, obnovují karboxylovou skupinu aminokyselin (připojením  $-OH$  a  $-H$  skupin).
- substrátová specifita - omezuje katalytickou účinnost enzymu na omezený počet různých molekul substrátu, např. slinná amyláza – štěpení škrobu a glykogenu x neštěpí celulózu.

Faktory ovlivňující účinnost trávicích enzymů:

- teplota – vyšší teplota zrychluje reakci (molekuly se pohybují rychleji, čímž se zvyšuje kontakt s enzymem)
  - x příliš vysoká teplota narušuje vazby, které stabilizují konfiguraci enzymu → denaturace. Optimální teplota  $37^{\circ}C$ .
- pH – každý enzym pracuje v určitém optimálním pH. Mimo optimum je neaktivní, př. pepsin pH 1,5-2,0; trypsin 8-11.

# Kategorie potravních molekul:

- sacharidy – hlavní zdroj energie, zahrnují – cukry, škrob. Jsou štěpeny na monosacharidy (jednoduché cukry, jako glukóza), které jsou absorbovány do krve.
- proteiny – důležité pro růst, štěpeny na AMK.
- lipidy – většina jsou triglyceridy (hl. složky tuků a olejů), nerozpustné ve vodě -> špatně stravitelné. Štěpeny jsou hydrolytickými enzymy – lipázami.
- Spalné fyzikální teplo STf:  
Sacharidy 17,2kJ/g  
Tuky 38,9kJ/g  
Bílkoviny 23,0kJ/g

**Skryté kalorie - přepočteny na kostky cukru - sacharózy v jednotlivých nápojích/jídlech - 1 kostka = 4,3 g = 73 KJ :**



---

## Trávení sacharidů

- Začíná v dutině ústní – působením slinné amylázy produkované slinnými žlázami a pokračuje v tenkém střevě pankreatickou amylázou.
  - Slinná amyláza savců štěpí polysacharidy na monosacharidy. Jejím optimálním substrátem jsou např. škrob a glykogen, celulózu není schopná štěpit.
  - Její aktivita je maximální za teploty 37-38°C, pH 7,5-8 a za přítomnosti Cl<sup>-</sup> iontů.
-

# Trávení škrobu slinnou amylázou


1. Postupně umístěte 7 test. zkumavek do stojánku v inkubační jednotce.
2. Připravte zkumavky od 1-7 s látkami uvedenými v tabulce 1. 
3. Považte obsah zkum. č. 1, nastavte teplotu inkubace 37°C a čas 60min. a nechte inkubovat. Po inkubaci zkumavky automaticky vystoupí z lázně.
4. Poté provedeme IKI test na přítomnost škrobu a test na přítomnost redukovaných cukrů (glukóza a maltóza) pomocí Benedictova reagensia
5. Postupně přeneste obsah test. zkumavek 1-7 do prázdných zkum. ve skříňce, do každé přidejte kapku IKI roztoku a sledujte barevnou změnu.
6. Odečtení výsledků: pozitivní test na škrob (přítomnost škrobu) → modro-černé zbarvení negativní test na škrob (není přítomen) → stejné zbarvení jako má zásobní roztok IKI přítomnost meziproduktů trávení škrobu → šedé zbarvení.
7. Zaznamenejte výsledky.

CHART 1		Salivary Amylase Digestion of Starch						
Tube no.		1	2	3	4	5	6	7
Additives		Amylase Starch pH 7.0 buffer	Amylase Starch pH 7.0 buffer	Amylase D.I. water pH 7.0 buffer	D.I. water Starch pH 7.0 buffer	D.I. water Maltose pH 7.0 buffer	Amylase Starch pH 2.0 buffer	Amylase Starch pH 9.0 buffer
Incubation condition		Boil first, then incubate at 37°C for 60 minutes	37°C	37°C	37°C	37°C	37°C	37°C
IKI test								
Benedict's test								

Note: D.I. water = deionized water



8. Přidejte kapku Benediktova reagensia ke zbylému obsahu test. zkumavek 1-7 a nechte vařit.
9. Poté sledujte barevnou změnu:
  - pozitivní test na přítomnost cukrů → zelená až červeno-hnědá barva (červeno-hnědě zbarvené vzorky obsahují více cukrů jak zelené)
  - negativní test na přít. cukrů → původní světle modrá barva
10. Zznamenejte výsledky.

Otázky:

Co nám zkumavky 2, 6 a 7 říkají o pH a aktivitě amylázy?

Při jakém pH je nejvyšší aktivita amylázy?

Která zkumavka ukazuje, že amyláza nebyla kontaminována maltózou?

Byla by slinná amyláza aktivní také v žaludku?

Jaký efekt má var na aktivitu enzymů?

# Trávení celulózy slinnou amylázou

- V této úloze budeme testovat, zda amyláza tráví celulózu.

1. Postupně umístíte 7 test.zkumavek do stojánku v inkubační jednotce.
2. Podle tabulky 2 připravte zkumavky od 1-7 s látkami uvedenými v tab. 2. →
3. Klikněte na zkumavku č. 1 a zmáčkněte „freeze“, obsah zkumavky bude vystaven teplotě -25°C.

4. Nastavte teplotu inkubátoru na 37°C a nechte inkubovat ovmin.

5. Poté provedeme opět IKI test na přítomnost škrobu a test na přítomnost maltózy pomocí Benediktova reagensia.

6. Postupně přeneste obsah test. zkumavek 1-7 do prázdných zkum. ve skříňce, do každé přidejte kapku IKI roztoku a sledujte barevnou změnu.

7. Odečtení výsledků:

- pozitivní test na škrob (přítomnost škrobu) → modro-černé zbarvení
- negativní test na škrob (není přítomen) → stejné zbarvení jako má zásobní roztok IKI
- přítomnost meziproduktů trávení škrobu → šedé zbarvení.

8. Zaznamenejte výsledky.

CHART 2 Enzyme Digestion of Starch and Cellulose							
Tube no.	1	2	3	4	5	6	7
Additive	Amylase Starch pH 7.0 buffer	Amylase Starch pH 7.0 buffer	Amylase Glucose pH 7.0 buffer	Amylase Cellulose pH 7.0 buffer	Amylase Cellulose D.I. water	Peptidase Starch pH 7.0 buffer	Bacteria Cellulose pH 7.0 buffer
Incubation condition	Freeze first, then incubate at 37°C for 60 minutes	37°C 60 min	37°C 60 min	37°C 60 min	37°C 60 min	37°C 60 min	37°C 60 min
IKI test							
Benedict's test							

9. Přidejte kapku Benediktova reagensia ke zbylému obsahu test. zkumavek 1-7 a nechte vařit.
9. Poté sledujte barevnou změnu:
  - pozitivní test na přítomnost cukrů → zelená až červeno-hnědá barva (červeno-hnědě zbarvené vzorky obsahují více cukrů jak zelené)
  - negativní test na přít. cukrů → původní světle modrá barva
10. Zznamenejte výsledky.

#### 11. Otázky:

- Která zkumavka znázorňuje, že celulóza nebo škrob jsou stále přítomny?
- Jaký byl efekt zmražení na zkumavku č.1?
- Jak se liší efekt zmražení od varu?
- Používá amyláza celulózu jako substrát? Viz výsledek ve zkumavce č.4.
- Jaký efekt mělo dodání bakterií na trávení celulózy?
- Jaký byl efekt enzymu peptidázy ve zkumavce č. 6?

# Trávení proteinů

---

- Probíhá v žaludku
  - hlavním proteolytickým enzymem žaludku je **pepsin**. Vylučuje se v inaktivní formě jako **pepsinogen**, který se v prostředí o pH menším než 5 mění na aktivní formu. Kyselého prostředí pro aktivaci je v žaludku dosaženo díky sekreci HCl. Pepsin je endopeptidáza (štěpí vazby uvnitř molekuly) její pH optimum leží okolo  $\text{pH} = 2$
  - pepsin hydrolyzuje proteiny na malé fragmenty – polypeptidy a volné AMK. Přibližně 15% proteinů z potravy je pepsinem redukováno na AMK, většina trávení proteinů se odehrává v dvanácterníku tenkého střeva.
-

# Trávení proteinů enzymem pepsinem

- V tomto experimentu použijeme BAPNA – syntetický protein, který je průhledný a bezbarvý je-li v roztoku. Pokud je však přítomen aktivní proteiny trávicí enzym (př.pepsin) roztok se zbarví dožluta. Výhodou umělých substrátů je, že nepotřebujeme žádné další indikátory, abychom viděli aktivitu enzymu.

1. Postupně umístěte 6 test. zkumavek do stojánku v inkubační jednotce.

2. Podle tabulky 3 připravte zkumavky od 1-6 s látkami uvedenými v tab. 3. →

3. Považte obsah zkum. č. 1, poté nastavte teplotu inkubace 37°C a čas 60min. a nechte inkubovat.

4. Pomocí spektrofotometru změříme optickou hustotu (OD) vzorku ( $\lambda=405\text{nm}$ ). Čím více bylo uvolněno žluté barvy do roztoku tím více byla BAPNA natrávena pepsinem → tím vyšší OD. Výsledky zaznamenáme.

5. Otázky:

Které pH podporuje nejvyšší aktivitu pepsinu?

Byl by pepsin aktivní i v ústech? Vysvětli.

Srovnej výsledky ve zkumavce č. 1 a 2. Přestože obsahovaly stejné látky, jejich OD je odlišná.

Co by se stalo, kdyby se teplota inkubace snížila na 10°C?

CHART 3						
Pepsin Digestion of Protein						
Tube no.	1	2	3	4	5	6
Additives	Pepsin BAPNA pH 2.0 buffer	Pepsin BAPNA pH 2.0 buffer	Pepsin D.I. water pH 2.0 buffer	D.I. water BAPNA pH 7.0 buffer	Pepsin BAPNA pH 7.0 buffer	Pepsin BAPNA pH 0.0 buffer
Incubation condition	Boil first, then incubate at 37°C for 60 minutes	37°C 60 min	37°C 60 min	37°C 60 min	37°C 60 min	37°C 60 min
Optical density	>					

## Trávení lipidů

- zpracování tuků a olejů během trávení v tenkém střevě je trochu komplikovanější než trávení sacharidů a proteinů, protože jsou nerozpustné ve vodě → musí být nejprve emulgovány žlučí.
- musí proběhnout dvě reakce:
  - 1) Emulgace (žluč rozloží tuky/oleje na menší kapénky);
  - 2) Lipázy štěpí tyto kapénky na jejich složky monoglyceridy a 2 mastné kyseliny, někdy je hydrolyzují až na glycerol a 3 MK
- konečným produktem jsou MK = organická kyselina → snížení pH
- žluč – žlutozelená tekutina produkována játry. Vzniklé kapénky pokryté žlučí mají relativně velký povrch umožňující ve vodě rozpustné lipáze snadněji proniknout k substrátu.
- Hydrolyzou lipidů vznikají tzv. micely – malé molekulární agregáty, které zvyšují absorpci vzniklých produktů. Lipázy nacházející se v pankreatické šťávě jsou zodpovědné za trávení většiny lipidů přítomných v běžné stravě.

# Trávení lipidů pankreatickou lipázou


1. Postupně umístíte 6 test. Zkumavek do stojánku v inkubační jednotce.
2. Podle tabulky 4 připravte zkumavky od 1-6 s látkami uvedenými v tab. 4. 
3. Považte obsah zkum. č. 1, poté nastavte teplotu inkubace 37°C a čas 60min. a nechte inkubovat.
4. Pomocí pH metru změřte pH v obsahu test. zkumavek a výsledek zaznamenejte. Vzorek obsahující MKs uvolněné z tuku působením lipázy se bude vyznačovat nižším pH než vzorek bez MKs.

CHART 4						
Pancreatic Lipase Digestion of Fats and the Action of Bile						
Tube no.	1	2	3	4	5	6
Additives	Lipase Vegetable oil Bile salts pH 7.0 buffer	Lipase Vegetable oil D.I. water pH 7.0 buffer	Lipase D.I. water Bile salts pH 9.0 buffer	D.I. water Vegetable oil Bile salts pH 7.0 buffer	Lipase Vegetable oil Bile salts pH 2.0 buffer	Lipase Vegetable oil Bile salts pH 9.0 buffer
Incubation condition	37°C 60 min	37°C 60 min	37°C 60 min	37°C 60 min	37°C 60 min	37°C 60 min
pH						

5. Otázky:  
Vysvětlíte rozdíl v aktivitě lipázy ve zkumavce 1 a 2.  
Které pH je pro aktivitu lipázy nejučinnější?  
Proběhla hydrolyza tuku ve zkumavce č. 5? Vysvětlí.  
Byla by lipáza aktivní také v ústech / žaludku? Vysvětlí.

# Fyzikální procesy trávení

- aktivita enzymů je nezbytná část celého procesu trávení
- potrava musí být zpracována také fyzicky žvýkáním a pohybem trávicí trubice (aktivita hladké, ale také kosterní svaloviny)
- Polykání - z velké části výsledek aktivity kosterního svalstva, probíhá ve dvou fázích: ústní a hltano-jícnové. Iniciace procesu začíná v ústech – ovlivněná vůlí, iniciována jazykem. Jednou započatý proces následně probíhá nezávisle na vůli peristaltickými pohyby v hltanu a jícnu až dojde k doručení polknutého obsahu do žaludku, kde se mění na tráveninu (chymus).
- Svaly žaludku míchají tráveninu s žaludečními šťávami, čímž se potrava přeměňuje na menší částice; usměrňují vstup tráveniny do tenkého střeva.
- Peristaltika pokračuje v tenkém střevě, periodicky rozptýlena segmentací, čímž se trávenina pohybuje dopředu a dozadu stahem a relaxací oddílů střeva. Segmentace promíchává tráveninu s trávicími enzymy, žlučí, uhličitanovými ionty sekretovanými pankreatickými kanálky a zvyšuje absorpci živin do krve.