

Mendelova univerzita v Brně

Zahradnická fakulta

Vliv skladování na změny obsahových látek konopí

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce

MVDr. Ing. Václav Trojan, Ph.D.

Vypracoval

Bc. Vít Vomáčka

Lednice 2017



ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Autor práce: Bc. Vít Vomáčka
Studijní program: Zahradnické inženýrství
Obor: Zahradnictví

Vedoucí práce: MVDr. Ing. Václav Trojan, Ph.D.
Konzultant: Ing. Tomáš Vyhnaněk, Ph.D.

Název práce: **Vliv skladování na změny obsahových látek konopí**

Jazyková varianta: Čeština

Zásady pro vypracování:

1. Studium literárních pramenů věnovaných konopí, jeho obsahovým látkám možnostem využití.
2. Vypracování rešerše věnované problematice konopí a možným změnám obsahových látek v průběhu skladování.
3. Místní pokus, nastavení podmínek skladování, chemické analýzy, zpracování výsledků.
4. Vyhodnocení výsledků a jejich interpretace ve spolupráci s praxí. Navrhnutí nejvhodnějšího opatření pro skladování.

Rozsah práce: 40-50 stran + grafické přílohy podle potřeby

Literatura:

1. BOULOC, P. – ALLEGRET, S. Hemp : industrial production and uses. Wallingford, Oxfordshire, UK. 2013. ISBN 9781845937935, 1845937929, 9781845937928, 1845937937. URL: <http://dx.doi.org/10.1079/9781845937935.0000>.
2. CLARKE, R. C. – WATSON, D. P. Hemp diseases and pests : management and biological control : an advanced treatise. Wallingford. 2000. ISBN 0-85199-454-7. URL: <http://dx.doi.org/10.1079/9780851994543.0000>.
3. KOCOURKOVÁ, B. – MANHALTEROVÁ, M. Demonstration of interaction of hemp's varieties with agrochemical influences for production of technical using biomass. *Acta Universitatis agriculturae et silviculturae Mendeliana Brunensis = Acta of Mendel University of agriculture and forestry Brno = Acta Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně*. 2002. sv. Neuveden, č. 1, s. 87-96. ISSN 1211-8516.
4. RANALLI, P. *Advances in Hemp Research*. Amerika: 1999. 272 s. ISBN 1-56022-872-5.

Datum zadání: říjen 2015

Datum odevzdání: duben 2017

Bc. Vít Vomáčka
Autor práce

MVDr. Ing. Václav Trojan, Ph.D.
Vedoucí práce

prof. RNDr. Ladislav Havel, CSc.
Vedoucí ústavu

prof. Ing. Robert Pokluda, Ph.D.
Děkan ZF MENDELU

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma „Vliv skladování na změny obsahových látek konopí“ vypracoval samostatně a veškeré použité prameny a informace jsou uvedeny v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací.

Jsem si vědom, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity o tom, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu náklad spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Lednici dne

.....

podpis

Poděkování:

Především bych chtěl poděkovat vedoucímu své diplomové práce MVDr. Ing. Václavi Trojanovi, Ph.D. a konzultantovi Ing. Tomášovi Vyhnánkovi, Ph.D. za veškerou pomoc, připomínky a ochotný přístup. Velký dík patří paní Dr. Ing. Heleně Fišerové, která mi velmi pomohla při řešení experimentální části práce. Dále bych chtěl poděkovat rodině a přátelům za psychickou podporu při psaní práce.

OBSAH

1. ÚVOD	7
2. CÍL	8
3. LITERÁRNÍ REŠERŠE	9
3.1 Botanická charakteristika.....	9
3.1.1 Taxonomie	9
3.1.2 Morfologie	9
3.1.3 Druhy konopí	11
3.2 Způsoby pěstování	13
3.2.1 Polní produkce	13
3.2.2 Pěstování konopí pro léčebné účely.....	16
3.3 Možnosti využití	20
3.3.1 Využití stonku.....	20
3.3.2 Využití semene	21
3.3.3 Využití květenství	21
3.4 Obsahové látky	22
3.4.1 Kanabinoidy.....	22
3.4.2 Terpeny	25
3.4.3 Polyfenoly	26
3.4.4 Alkaloidy	26
3.5 Stabilita kanabinoidů v konopí a v konopných extraktech	26
3.5.1 Vliv kyslíku.....	26
3.5.2 Vliv světla	27
3.5.3 Vliv teploty	28
3.6 Možnosti měření kanabinoidů v konopných produktech.....	28
3.6.1 Plynová chromatografie (GC).....	29

3.6.2 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC)	32
3.6.3 Spektrometrie v UV oblasti	32
3.6.4 Infračervená spektrometrie (IČ).....	32
4.EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	33
4.1 Materiál a přístroje.....	33
4.1.1 Použitý materiál	33
4.2.1 Nastavení pokusu.....	35
4.2.2 Příprava vzorků.....	35
4.2.3 Podmínky GC analýzy	35
4.2.6 Kalibrace CBD.....	36
4.2.7 Kalibrace Δ^9 -THC	37
4.2.8 Kalibrace CBN.....	38
5.VÝSLEDKY	39
5.1 Kanabidiol.....	39
5.2 Delta-9-trans-tetrahydrokanabinol.....	42
6. DISKUSE.....	44
7. ZÁVĚR	47
8. SOUHRN A RESUME.....	49
9. PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY	51

1. ÚVOD

Rostliny rodu konopí jsou velice rozšířené planě rostoucí a člověkem pěstované rostliny. Z rostliny bylo izolováno více než 540 látek, z čehož 140 zastupují kanabinoidy, které jsou z pohledu využití ve farmacii nejzajímavější. Díky svému rychlému růstu, kvalitnímu vláknu a semenu nachází konopí využití v široké škále dalších oborů.

Botanický původ konopí je nejpravděpodobněji ve střední Asii, odkud se za pomoci člověka rozšířilo po celém světě. Konopí patří k nejstarším užívaným rostlinám sloužícím k vyvolání změněných stavů vědomí a léčebným účelům (Miovský, 2008). Nejstarší dochované nesporné důkazy o pěstování konopí člověkem se datují k roku 6000 před n. l. v Číně. První záznam o konopí použitého jako léku pochází z Číny z 3. století před naším letopočtem. Bylo doporučováno proti malárii, zácpě, revmatickým bolestem, roztržitosti a ženským poruchám (Unschuld, 1986).

V současné době je léčba konopím běžnou praxí v řadě zemí jako například: Nizozemí, Kanada, Izrael a 25 států v USA. Konopí je označováno za jednu z nejvíce prozkoumaných rostlin na světě. Dosud bylo zveřejněno více než 10 000 vědeckých publikací věnujících se jak farmaceutickému využití, tak zneužití rostliny jako narkotika (Hazeckamp, 2014). Nyní mezi nejčastější indikace léčebného konopí patří paliativní léčba snižující nevolnost a bolestivé stavy. V České republice na začátku dubna roku 2013 nabyl účinnosti zákon o legalizaci užívání léčebného konopí pro léčbu a výzkum. První a momentálně jediná společnost v České republice, která získala povolení k pěstování léčebného konopí je Elkoplast Slušovice s. r. o. Tato společnost dodala do lékáren v březnu roku 2016 v první dodávce 11,2 kg odrůdy Bedrocan (SAKL, 2017).

Vzhledem k potencionálnímu rozšíření využívání konopí při léčbě, je důležitá otázka skladování tohoto produktu. Po sklizni je podstatné udržet co nejstabilnější profil účinných látek do doby spotřeby. Hlavní faktory ovlivňující změny obsahových látek při skladování jsou teplo, vzduch a světlo. Velký vliv má také struktura skladovaného produktu, zcela rozdílně budou na stejné podmínky reagovat neporušené samičí květy, extrakty, konopný prach a jiné formy konopí.

2. CÍL

Cílem práce bylo vypracovat literární rešerši věnující se obsahovým látkám s léčebným potencionálem v konopí a možnostem jejich využití. Dále popsat možnosti skladování a vliv skladovacích podmínek na obsah a charakter obsahových látek v průběhu skladování.

Cílem experimentální části práce bylo sledování účinných látek, kanabidiolu (CBD), kanabinolu (CBN) a delta-9-trans-terahydokanabinolu (Δ^9 -THC) u čtyř odrůd technického konopí v průběhu čtyř různých způsobů skladování a tří různých variant zpracování květů. Pro stanovení obsahu účinných látek byla využita plynová chromatografie.

3. LITERÁRNÍ REŠERŠE

3.1 Botanická charakteristika

3.1.1 Taxonomie

Rod konopí (*Cannabis*) zastupuje jednoleté dvoudomé byliny. Patří do čeledi *Cannabaceae*. Čeleď obsahuje 170 druhů v 11 rodech. Poprvé odborně konopí popsal botanik Carl Linné v roce 1737 v podhůří Himálaje v Indii. V minulosti byl do této čeledi, řazen kromě konopí pouze chmel. V rámci pozdějších taxonomických změn sem bylo přeřazeno 7 rodů z čeledi *Ulmaceae*. Historická i současná taxonomie je zmatená a odborníci mají na toto téma odlišné názory. Nyní však převládá názor, že konopí je polytypický druh, neboť rostliny jsou vysoce adaptabilní a velice rychle si zvykají na nové podmínky (Rätsch, 2013).

3.1.2 Morfologie

V závislosti na původu a genotypu je konopí morfologicky extrémně variabilní. Pro potřebu produkčního zemědělství byly vyšlechtěny jednodomé varianty, které zajišťují rovnoměrné opylení a vyrovnanou produkci semene. Samčí rostliny u dvoudomých odrůd jsou většinou vyšší, štíhlejší a dříve dozrávají. Ojediněle se mohou vyskytnout typy hermafroditní. Konopí je cizosprašné, větrosnubné i na velkou vzdálenost (Sladký 2004, Miovský, 2008).

Kořen konopí je kolmý, křulovitý. Nejdůležitější a fyziologicky nejúčinnější jsou vlásečnicové kořínky. Kořen může dorůstat dvou metrů i více. Kořen dokáže z půdy odbourávat těžké kovy a další toxické látky (Ruman, Klvaňová, 2008).

Konopným stonkem je přímá lodyha, může dosahovat délky až 6 m. Šířka stonku se pohybuje od 3 mm do 60 mm. Mladý stonek je zelený, dužnatý, vyplněný dřevnatým pletivem. Později stonek tmavne a dřevnatí. Borka konopného stonku obsahuje lýkové vlákno, jež se řadí k nejdelším přirozeným vláknům na zemi. Největší část konopného dřeva zastupují krátká dřevnatá vlákna, po úpravě nazývané pazdeří. (Kubánek, 2008)

Děložní listy jsou podlouhlého tvaru, následně krátce po vzejití opadávají. Listy jsou dlanitě dělené 3–13 čtne, mají kopinatý tvar a pilovitý okraj s krátkými až středně krátkými řapíky (Miovský, 2008).

Plodem je jednosemenná vejčitá nažka s menším podílem endospermu a podkovovitě stočeným embryem. Barva může být bělavá, šedozelená, tmavohnědá až černá s jemným mramorováním. Barva a velikost semene se liší podle typu a odrůdy konopí. Hmotnost tisíce semen se pohybuje mezi 10–29 g (Valíček, 2003).

Samičí květenství je latnaté, skládá se z dvoupouzdrého semeníku s jedním vajíčkem a dvěma dlouhými nitkovitými bliznami. Květenství samičích rostlin se vytváří v horní části lodyhy a má charakter hustě olistěných krátce složitých hroznů. Samčí květenství vyrůstá v úžlabních latách. Každý samčí květ čítá 5 květních šupinek a 5 tyčinek (obr. 1). Plodem je vejčitá nažka. Samčí rostliny tvoří květy o 4 až 6 týdnů dříve než samičí rostliny (Valíček, 2003).



Obrázek 1: Konopné květenství <http://media.istockphoto.com/illustrations/cannabis-sativa-botanical-vintage-engraving-illustration-id564584808>

1 samčí květenství, 2 samičí květenství, 3 samčí květ, 4 samičí květ, 5 semeno

Hlavně samičí listeny a menší listy mají na povrchu velké množství žláznatých trichomů s vyměšovací funkcí. Tyto trichomy produkují kanabinoidy, ale také terpeny jako myrcen, limonen a další látky. Trichomy jsou buď přisedlé nebo stopkovité (obr. 2). Z hlediska produkce kanabinoidů mají větší význam stopkovité trichomy (Potter, 2003).

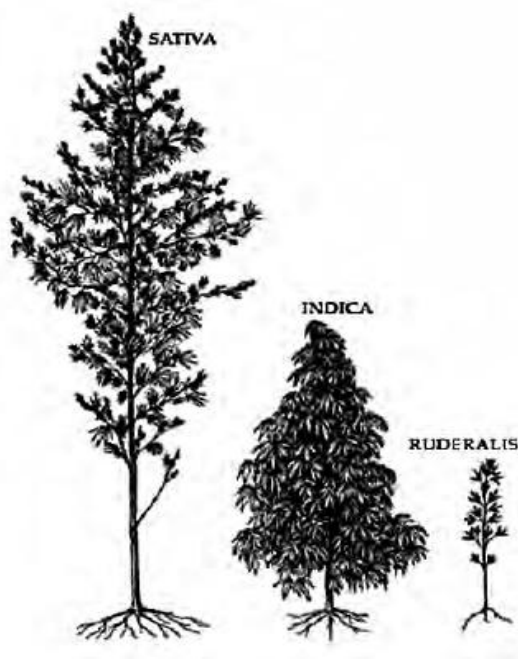


Obrázek 2: Trichomy (Potter, 2003)

v pravé části ilustrace se nachází žláznatý trichom mezi dvěma přisedlými trichomy. V levé části je listen na samičím květenství pokrytý stopkovitými trichomy.

3.1.3 Druhy konopí

Převládá názor, že rod *Cannabis* zahrnuje základní 3 druhy: *Cannabis sativa*, *Cannabis indica* a *Cannabis ruderalis* (obr. 3). Tyto druhy se od sebe liší habitem, strukturou stonku, obsahovými látkami a přirozeným místem výskytu. Všechny druhy dají bez problému křížit, proto se ve šlechtitelské praxi vyskytuje mnoho hybridních odrůd (Miovský, 2008).



Obrázek 3: Rozdílné habitusy druhů konopí https://www.researchgate.net/figure/272148231_fig1_Fig-1-Morfologia-de-tres-especies-de-Cannabis-C-sativa-C-indica-y-C-ruderalis

Zleva *Cannabis sativa*., *Cannabis indica*, *Cannabis ruderalis*

Konopí seté (*Cannabis sativa* L.)

Jedná se o nejrozšířenější druh konopí. Rostliny rostou do výše 1,5 až 5,5 metru. Stonek je málo větvený, olistění je řídké, listy jsou poměrně velké. Listy v nižších částech lodyhy jsou 5–7, ve vyšších většinou 3 četné. Lodyha obsahuje vysoký podíl celulózy, ligninu až 30 % kvalitních lýkových vláken. Produkuje vysoce olejnatá semena (Sladký, 2003). Semena jsou většinou jednobarevná, šedavě bílá až světle hnědá a bez zřetelné oddělovací vrstvy, sází pevně přirostlou na květním lůžku (Rätsch, 2013).

Konopí indické (*Cannabis indica* Lam.)

Konopí indické dorůstá nižší výšky, zpravidla 1,2-2,5 metru. Tvoří kuželovitý habitus, hustě se větví a má až 12 čtené listy. Má hustě žláznatá samičí květenství. Semena mají obvykle výraznou mozaikovitou kresbu a na bázi zřetelnou oddělovací vrstvu (Rätsch, 2013). Tento druh produkuje nejvíce farmakologicky účinných látek. Pochází s nejvyšší pravděpodobností ze západního Himaláje a z Kašmíru. Pěstuje se v Indii, Afghánistánu, Íránu Sýrii a Maroku (José, 2012).

Konopí rumištní (*Cannabis ruderalis* Janisch)

Rostliny dorůstají výšky okolo 60 cm, mají tenký stonek a řídké olistění. Obsah psychoaktivních látek je střední (Miovský, 2008). Jedná se o plevelnatý druh bez významných farmakologických účinků. Semena mají nepravidelně mozaikovitě zbarvený povrch, se zřetelnou oddělovací vrstvou (Rätsch, 2013). Protože kvete nezávisle na světelné periodě, tak se využívá při šlechtění samonakvétacích odrůd (José, 2012). Tyto odrůdy vznikají křížením *Cannabis ruderalis* a *Cannabis indica* a jsou vhodné k pěstování i v méně příznivých podmínkách (Thomas, 2012). Roste ve východním Rusku a Malé a Střední Asii (Rätsch, 2013).

Další způsob dělení konopí je podle geografických skupin kdy se dělí, na (*proles*) severní (*borealis*), středoruské (*medioruthenica*), jižní (*australis*) a hašišné (*asiatica*). Jižní a středoruské kultivary jsou hospodářsky nejvýznamnější a reprezentují více jak 90 % pěstitelských ploch. V dnešní době se konopí často rozděluje na technické, které produkuje méně jak 0,3 % Δ^9 -THC a ostatní konopí. Toto rozdělení pouze kopíruje legislativní prostředí (Miovský, 2008).

3.2 Způsoby pěstování

Konopí je vysoce variabilní druh, od čehož se odvíjí způsoby pěstování. Obecně je konopí velmi přizpůsobivé jak klimatickým, tak půdním podmínkám. Pokud však chceme dosáhnout kvalitního a rentabilního výnosu, je třeba zajistit kvalitní výživu. Dále je třeba k pěstování přistupovat podle budoucího využití. Jiné podmínky vyžaduje konopí na vlákno než na semeno. Největší důraz na kvalitu pěstebního procesu je kladen u pěstování konopí pro farmaceutické účely, jelikož se jedná o produkci léčiva (McPartland et al.; 2000; Miovský, 2008).

3.2.1 Polní produkce

Konopí pro potravinářské, kosmetické a energetické využití se pěstuje v polních podmínkách. V Evropské unii je povoleno pěstovat 55 odrůd, u kterých obsah THC nepřekračuje hranici 0,3 %. Při pěstitelských plochách větších než 100 m² je pěstitel povinen splnit ohlašovací povinnost na celním úřadě. Legislativní podmínky pro pěstování konopí upravuje Zákon č. 167/1998 Sb. o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů, ve znění pozdějších předpisů (Celní správa České republiky, 2017).

Klimatické a půdní podmínky

Na území České republiky je konopí vhodné pěstovat ve všech úrodných oblastech. V první fázi růstu, než si rostliny vytvoří kvalitní kořenový systém, vyžaduje dostatek vláhy a nevysychavou půdu. Později jsou rostliny schopny díky hlubokému kořenovému systému odolávat občasnému suchu. Po dobu nejintenzivnějšího růstu by měly být místní srážky nejméně 500 mm (Sladký, 2004). Podle zpracovaných výsledků z 50 pokusů, konopí roste nejlépe při ročních místních srážkách 970 mm (McPartland et al., 2000). Vegetační doba u střeoevropských odrůd činí při pěstování na vlákno 120–130 dnů, na semeno o měsíc více. Za optimálních agronomických a klimatických podmínek tvoří konopí denní přírůstky 0,12–0,14 m (Miovský, 2008). Semena dozrávají průměrně 40 dní po plném květu (Bouloc et al. 2013).

Půda by měla být vzdušná s půdní reakcí 6–7,5. Konopí je velmi senzitivní k zamokření a nesnáší těžké půdy. Dobré odvodnění je nezbytné ke kvalitním výnosům konopí. (Haugaard-Nielsen 2003). Nejlepších výnosů lze docílit na úrodných, hlubokých kvalitně připravených půdách hlinitých či hlinitopísčitých (Bouloc et al., 2013). Dle Haugaarda-Nielsena (2003) je konopí dobře adaptované na široký rozptyl teplot. Nejvíce vyhovují denní teploty od 14 °C do 27 °C. Starší rostliny snášejí i teploty do -6, avšak

mladší rostliny jsou na mráz citlivé. Optimální teploty pro klíčení konopí se pohybují okolo 18 °C (Cole, 2008). Vyžaduje půdy s neutrální nebo mírně zásaditou reakcí. Pro optimální výrobu a mechanizovanou sklizeň je třeba zajistit vyrovnanou půdní úrodnost k dosažení stejného růstu a doby dozrávání. Jako předplodina jsou nejvhodnější okopaniny, kukuřice, motýlokvěté rostliny nebo samotné konopí. Konopí je také ideální předplodinou pro všechny ostatní plodiny, protože zanechává pole s malou zátěží škůdců a plevelů. Zásady úpravy půdy pro pěstování konopí na vlákno i semeno jsou stejné. Dle Sladkého (2004) se má na podzim provést hluboká orba 0,25–0,30 m nejlépe se zaoráním zralé chlévské mrvy. Konopí se vysévá v nízkých polohách v druhé polovině dubna až v první polovině května, ve vyšších nadmořských výškách později (Sladký, 2004).

Požadavky na výživu technického konopí

Rychlý růst a vysoká produkce hmoty konopí vyžaduje kvalitní zásobu lehce využitelných živin. Konopí má bohatou kořenovou symbiózní mikroflóru, což má kladný vliv na pěstování konopí několik let po sobě. Konopí má vysoké nároky na obsah dusíku v půdě hlavně ve vegetativní fázi růstu (Sladký, 2004). Nedostatek dusíku se projevuje snížením růstu internodií a listové plochy. Při přehnojení dusíkem dochází ke snížení kvality vlákna a ztěžuje výsledné zpracování konopí. U konopí pěstovaného na semeno se nadbytek dusíku projevuje zvýšením vlhkosti listů a semen a následnou prodlouženou dobou dozrávání a sklizně (Haugaard-Nielsen 2003). Kvalitním hnojením a závlahou lze zvýšit výnos téměř na dvojnásobek průměru. Hlavním hnojivem je chlévská mrvá nebo kompost. Při nedostatku chlévské mrvy, lze použít zelené hnojení. Následně se hladina živin doplňuje aplikací dusíkatých, fosforečných a draselných hnojiv (Sladký, 2004). Fosfor a draslík jsou potřebné v pozdější fázi vegetace v průběhu kvetení a tvorby semen. Konopí má výbornou schopnost čerpat draslík z hlubokých půd, avšak jeho nároky jsou velmi vysoké. Nároky na zásobu fosforu a draslíku pro konopí pěstované pro vlákno i pro semeno zobrazuje tab. 1 (Haugaard-Nielsen 2003). Vápnění je nezbytné i na neutrálních půdách, jelikož spotřeba vápníku pro tvorbu biomasy a semen je vysoká. Vhodnější je vápnit už k předplodině nebo používat hnojiva obsahující vápník (Sladký, 2004).

Tab. 1: Potřeba živin pro technické konopí dle Haugaard-Nielsena (2003)

	dusík (kg/ha)	fosfor (kg/ha)	draslík (kg/ha)
konopí na vlákno	80	60	150
konopí na semeno	40	60	150

Výnosy konopí pěstovaného na vlákno se pohybují mezi 7–10 t/ha a výnos vlákna čítá přibližně 1.5–2 t/ha. Rostlinu je tvořena přibližně 10 % kořenem, 60–70 % stonkem, 15–20 % listy a 5–15 % semeny. Ze stonků lze získat 30 % vlákna. Které je zastoupeno přibližně ze dvou třetin dlouhými vlákny využitelnými v textilním průmyslu. Zbytek tvoří vlákna krátká (Rannalli, 1999).

Výnos semene se dosahuje u semenářských odrůd až 1,5 t/ha u ostatních se výnos pohybuje mezi 0,6–0,8 t/ha (Gabrielová, 2007).

Ochrana

Konopí je velmi konkurence schopné k plevelům, neboť má rychlý počáteční růst. Správně pěstované rostliny zakryjí půdní povrch za 3–4 týdny (Kaiser et al., 2015). Na konopí bylo identifikováno více jak 300 škůdců a okolo 100 chorob. Většina z nich, ale nemá žádný ekonomický význam. Konopí v polních podmínkách nevyžaduje tak velkou ochranu proti škůdcům a patogenům jako jiné kultury (Haugaard-Nielsen 2003). Konopí nepoléhá, avšak silný vítr a vichřice může porosty zcela zlikvidovat. Konopí může napadnout dřepčík chmelový (*Psylliodes attemata* Koch) housenka můry gama (*Autographa gamma* L.) mšice konopná (*Phylodron cannabis* Pass) a zavíječ kukuřičný (*Ostrinia nubilalis* Hübner). Z chorob se někdy vyskytuje plíseň šedá (*Botrytis cinerea* Pers), fusáριοza (*Giberella pulicaris* Sacc). Hlízenka obecná (*Sclerotinia sclerotiorum* Lib) způsobuje onemocnění bílou hnilobou (Kubánek, 2008). Odrůdy technického konopí mají vysokou rezistenci vůči napadení, nemoci se proto vyskytují na polních plochách jen výjimečně. Nejvíce rizikovým škůdcem konopného semene je ptactvo, které při opožděné sklizni může zlikvidovat celou úrodu semene (Gabrielová, 2007).

3.2.2 Pěstování konopí pro léčebné účely

Většina konopí pro farmaceutické účely je pěstována v kontrolovaných podmínkách pod umělým osvětlením. Rostliny se množí vegetativně řízkováním, takže dozrávání trvá kratší dobu a rostliny jsou kompaktní. Všechny řízky jsou geneticky identické, tudíž pokud budou pěstební podmínky konstantní, rostlina bude mít stejný výnos a kvalitu samičích květů při každém pěstebním cyklu (ElSohly, 2007). Jelikož se jedná o produkci léčiva, všechny operace by měly probíhat za přísných hygienických podmínek a měly by je provádět pouze řádně vyškolení pracovníci. Rostliny nesmí být pěstovány v substrátu kontaminovaném těžkými kovy, rezidui pesticidů a dalších chemikálií. Využívání chemických pesticidů a herbicidů by mělo být omezeno na minimum (HMPC, 2006). Nizozemská společnost Bedrocan pěstuje konopí ve standardizovaných podmínkách a jako klíčovou metodu kontroly uvádí chemickou analýzu. V rámci Nizozemí se u všech konopných produktů uvádějí informace o poměru Δ^9 -THC ku CBD, profilu známých terpenů a obsahu vlhkosti. Analýza je prováděna nezávislou laboratoří, která prověřuje, zda produkt neobsahuje pesticidy, těžké kovy nebo mikroby (Hazekamp, 2014).

Pěstební cyklus

Jak bylo uvedeno výše, léčebné konopí se množí pomocí klonů. Při vegetativní fázi se v praxi používá perioda 18 hodin světla/6 hodin tmy-tzv. dlouhý den (Adams, 2012). Osvětlení 24 hodin po dobu celé vegetativní fáze zvyšuje rychlost růstu o 25 %. Relativní vlhkost by se měla pohybovat mezi 50 a 80 %, teplota v rozmezí 21–28 °C. (Thomas, 2012). Pro fázi kvetení, některé společnosti zatmívají rostliny na celý den, následně zvýší periodu tmy na 13–14 hodin. Většinou se však používá pouze změna periody na 12 hodin světla/12hodin tmy. Ve fázi květu je třeba snížit relativní vlhkost vzduchu na 50–60 % z důvodu možného výskytu plísňových chorob (José, 2012). Čas sklizně se odvíjí od doby, kdy je v květech maximální koncentrace kanabinoidů. Přezrálé květy vykazují ztráty na THC (Small, 2017). Nejlépe se hodnotí čas sklizně pod mikroskopem, pokud má většina trichomů zakalené hlavičky, je rostlina připravena ke sklizni. Po sklizni se rostliny co nejrychleji přepravují do temné a suché místnosti, kde se několik dní suší (Guy, 2004). Sušení musí probíhat v optimálních podmínkách, hlavně cirkulace vzduchu, teplota, relativní vlhkost vzduchu a doba sušení. Stanovené podmínky pro sušení musí být dodržovány a dokumentovány. Po základním zpracování a kontrole se produkt balí do vakua a je připraven k odběru (SAKL, 2017).

Požadavky na výživu léčebného konopí

Požadavky na výživu se při pěstování léčebného konopí se liší při pěstování odlišných odrůd, zásadně se však potřeba živin liší při vegetativní a generativní fázi. Průměrnou potřebu rozpustných solí pro pěstování konopí v krytých prostorech zobrazuje tabulka č. 2. (Cervantes, 2006). Hodnota pH substrátu pro pěstování léčebného konopí by měla být 6–7. Substrát by měl být sterilní, vzdušný a měl by být dobře propustný. Lékařské konopí se v praxi často pěstuje v hydroponických systémech, kde se pro ukotvení a zakořenění rostlin využívají inertní materiály jako kokosové vlákno, vermikulit nebo čedičová plst' (Small, 2017). Hydroponické pěstování je výhodné z pohledu ochrany před houbovými chorobami a celkové lepší kontrole koloběhu živin (José, 2012).

Tabulka 2: Potřeba jednotlivých prvků v kryté produkci. Hodnoty jsou uvedené v ppm (Cervantes, 2006)

prvek	limity	průměr
dusík	150–1000	250
vápník	100–150	200
hořčík	50–100	75
fosfor	50–100	80
draslík	100–400	300
síra	200–1000	400
měď	0,1–0,5	0,5
bór	0,5–5,0	1,0
železo	2,0–10	5,0
mangan	0,5–5,0	2,0
molybden	0,01–0,05	0,02
zinek	0,5–1,0	0,5

Při vegetativní fázi rostliny vyžadují nejvíce dusíku. Při intenzivním osvětlení potřeba hnojením dusíku stoupá při sníženém osvětlení klesá. Dusík se snadno vyplavuje a je třeba ho doplňovat pravidelně, hlavně ve vegetativní fázi. Nedostatek dusíku se projevuje zpomaleným růstem, žloutnutím listů, přičemž žilky zůstávají stále zelené. Nadbytek dusíku se projevuje sytě zeleně zbarvenými listy a způsobuje nadměrný růst pletiv, které jsou následně měkké a snadno napadnutelné hmyzem a houbovými chorobami (Cervantes, 2006).

Konopí vyžaduje nejvyšší dávky fosforu během fáze květu. Fosfor je nezbytný pro fotosyntézu a podílí se na přenosu energie v rostlině. Nedostatek se projevuje zakrnělým růstem a menšími listy. Stonek, listové stopky a hlavní žilky mají fialové zbarvení. Dále nedostatek oddaluje kvetení a květy jsou neuniformní a malé (José, 2012). Příjem fosforu se zhoršuje v zamokřeném substrátu. Pro utilizaci dusíku je nezbytný zinek. Deficience jsou více běžné, pokud hodnota pH pěstebního média překročí 7 nebo klesne pod 5,8 (Cervantes, 2006).

Půdy s vysokým obsahem draslíku zvyšují odolnost k bakteriálním chorobám a plísním. Draslík reguluje vodní režim v rostlinách a podílí se na otevírání průduchů. Draslík je nezbytný k akumulaci a transportu cukrů. Také podporuje růst kořenového systému, což se projevuje lepším příjmem vody a lepší odolností proti houbovým chorobám. Nedostatek není zpočátku snadno pozorovatelný. Postupně starší listy začínají od okrajů tmavě žloutnout až hnědnout a následně opadávají. Kvetení je zpomaleno a květy jsou malé. Problém s příjmem draslíku je často zapříčiněn zasolením substrátu. Přehnojení draslíkem je těžké diagnostikovat z důvodu možných deficientních symptomů dalších prvků. Velké množství draslíku v půdě zpomaluje příjem hořčíku a manganu (Cervantes, 2006).

Z mikroprvků jsou pro konopí nejdůležitější zinek, železo a mangan. Jejich špatné přijímání je způsobeno vyšší hodnotou pH pěstebního média než 6,5. Deficience se ze začátku projevuje u všech třech prvků stejně. A to chlorózou mezi listovou žilnatinou mladých listů. Při těchto příznacích je nejlepší doplnit v chelátové formě všechny 3 prvky (Adams, 2012; Cervantes, 2006).

Množení

Mateční samičí rostlina musí být udržována konstantně ve vegetativní růstové fázi za světla 18 hodin a více. Jestliže je mateční rostlina bez virů nebo dalších patogenů, nedochází při opakovaných odběrech k snížení vitality. Společnost GW Pharmaceutical pěstuje mateční rostlinu 12 týdnů do výšky 2 metrů. Poté je možné z ní odebrat asi 80 řízků. Z matečné rostliny odebírají řízky třikrát, následně rostliny likvidují. Řízky by měly mít délku 0,10–0,15 m a měly by být polodřevnaté. Po oddělení řízku se na bázi aplikuje kořenový stimulátor. Poté je možno řízky přenést na různá media jako čedičová plst', rašelinové či kokosové kostky. Ideální teplota pro zakořenění je 20–21 °C. Vlhkost

vzduchu by měla být nejméně 80 %. Pro osvětlení se většinou používají trubicové fluorescenční zářivky. Řízek by měl být připraven pro přesazení do květináče nebo hydroponického systému přibližně za 14 dní (Guy, 2004; Adams, 2012).

Osvětlení

Jako zdroj osvětlení se v praxi nejčastěji využívají sodíkové výbojky a halogenidové výbojky. Možné je také využití LED diod. Sodíkové výbojky mají vlnovou délku světla hlavně mezi 560–870 nm. Jsou vhodné hlavně na fázi kvetení, ale většinou se používají na celý pěstební cyklus. Halogenidové výbojky vyzařují nejvíce světla o vlnové délce mezi 400–500 nm, které je ideální pro růstovou fázi rostlin. Led diody mají nižší spotřebu a volbou vlnové délky jednotlivých diod lze docílit optimálního osvětlení a 100 % využití světelného spektra. Nejnovější led diody dokáží přeměnit na světlo 75–80 % elektrické energie (José, 2012). Pro množení a předpěstování řízků se používají úsporné zářivky (Adams, 2012).

Ochrana

Při pěstování konopí pro léčebné účely je kladen maximální důraz na čistotu a ochranu rostlin, která by měla být zajištěna hlavně prevencí. Ze škůdců se mohou objevit smutnice (*Sciaridae*), mšice (*Aphididae*), molice (*Aleyrodidae*) a třásněnky (*Thripidae*). Společnost Bedrocan při pěstování využívá pouze biologickou ochranu a vyhýbá se použití složek substrátu, které by potenciálně mohly být kontaminovány bakteriemi nebo plísněmi (Hazekamp, 2014). Na ochranu proti smutnicím je ideální využití parazitické hlístice *Steinernema feltiae*, tato hlístice likviduje larvy smutnic v substrátu. Na ochranu proti mšicím lze použít parazitickou vosičku *Aphidius colemani* Viereck. Proti molicím se používají parazitické vosičky *Encarsia formosa* Gahan, které kladou vajíčka do larev molic. Larvy třásněnek lze zlikvidovat nasazením dravého roztoče *Amblyseius cucumeris* Oudemans. Z houbových chorob se může vyskytnout *Pythium*, *Phytophthora*, *Fusarium* a *Botrytis cinerea* Pers. Nejčastěji se vyskytující houbovou chorobou je plíseň šedá (*Botrytis cinerea* Pers). Plíseň šedá napadá rostliny na vrcholcích květenství a stoncích. Pro zabránění výskytu plísně šedé je klíčové snížit vlhkost pod 50 % v době květu, udržovat v prostoru teplotu nad 25 °C dodržovat hygienu a používat sterilní nástroje (McPartland et al., 2000). Houbovým chorobám lze předejít hlavně kvalitními složkami substrátu, pečlivě dávkovanou zálivkou a snížením relativní vlhkosti v poslední fázi pěstebního cyklu (José, 2012).

3.3 Možnosti využití

Výrobky z konopí se uplatňují v široké škále oborů jako jsou: farmacie, kosmetika, tukový textilní, automobilový, papírenský a stavební průmysl. Další využití nachází v energetickém průmyslu a chovu zvířat (Sladký, 2004). Konopí nabízí bezodpadovou alternativu k minerálním produktům a dalším z ekologického hlediska složitě využívaným surovinám, hlavně bavlně a dřevu (Gabrielová, 2007).

3.3.1 Využití stonku

Stonek obsahuje 25–35 % vlákna a 60–80 % dřevnatého pazdeří. Konopné vlákno může být dlouhé až 4,5 m oproti 0,02 m bavlněného vlákna, zároveň je asi 8x pevnější a 4x trvanlivější. Ze všech lýkových rostlin má konopí nejvíce jemné vlákno. Konopné vlákno zadrží až 95 % UV záření. Díky obsahu kyslíku ve vlákne je nemožný výskyt anaerobních bakterií. Využití vlákna je vysoce rozmanité: ve stoprocentních i směsových tkaninách na oblečení, hadice, koberce, obuv, ložní prádlo, provazy.

Konopná vlákna ve formě rohoží se ve stavebnictví využívají jako substitut skelné vaty. Konopné rohože jsou plně recyklovatelné, mají výborné izolační vlastnosti a jsou odolné vůči plísním a škůdcům. Zvápněním a slisováním drti vyrábí francouzská firma Isonchavre náhražku betonu, která má v mnoha ohledech lepší vlastnosti (Ruman a Klvaňová, 2008).

Další možnost využití stonku je při výrobě papíru. Používá se především jako doplněk lněného vlákna a bavlny při výrobě bankovek, ale i na papíry s vysokou kvalitou na náročné tiskárenské účely, technické filtry, papír na bible a cigaretový papír. Jediné stabilní využití je výroba cigaretového papíru, kde se využívá více jak 90 % (Carus et al., 2013). Při výrobě papíru je možné použít koudel s určitou příměsí pazdeří nebo i konopné zbytky. Konopí obsahuje o hodně méně ligninu než dřevo, avšak o něco více než len. Konopný papír nepodléhá rozkladu a nežloutne časem jako papír dřevitý (Sladký 2004; Ruman a Klvaňová, 2008).

Podstatné využití je v automobilovém průmyslu, kde se používá konopné pazdeří a vlákna k výrobě vnějších a vnitřních prvků (Gabrielová, 2007). Prvky využívané v interiéru, jsou automobilovými firmami více používány. Používají se hlavně pro výplně dveří, podlah, stropů a dalších míst. Konopí se k tomuto účelu využívá hlavně v Německu, Francii a České republice. Důvodem k používání je nízká váha, relativně nízká cena a dobré vlastnosti těchto materiálů při potencionálních nehodách (Carus et al., 2013).

3.3.2 Využití semene

Konopné semeno obsahuje asi 30 % oleje, který je vysoce ceněn v potravinářském i kosmetickém průmyslu pro velký obsah nenasycených mastných kyselin a dalších cenných látek. Další složky tvoří bílkoviny (20–25) % a sacharidy (10–15) %. Významnou složkou z potravinářského hlediska jsou vitamíny: A, B1, B2, B6, C a E, a fytylin. Konopná bílkovina obsahuje všechny esenciální aminokyseliny. Velmi vysoký podíl edistinu a albuminu odpovídá složení bílkovin v lidské plazmě. Konopný olej se skládá z unikátního komplexu mastných kyselin. Nejdůležitější je kyselina linolová a kyselina alfa linolenová. Poměr omega-6 a omega-3 mastných kyselin je podle odborníků nutričně nejvhodnější. Díky vysokému obsahu nenasycených mastných kyselin se předpokládá, že užívání oleje snižuje krevní tlak a hladinu cholesterolu v krvi, má protizánětlivé účinky a udržuje hormonální rovnováhu (Ruman a Klvaňová 2008; Bouloc et al., 2013).

Nejvíce semen (72,3 %) je na území Evropské unie prodáváno jako syrová semena, které jsou následovány konopným olejem (15,7%) a loupanými semeny (11,7%). Surová semena jsou využívány hlavně jako potrava pro hospodářská zvířata, hlavně ptáky a ryby. Loupaná semena slouží jako potrava pro konzumaci člověkem. Konopný olej je používán hlavně jako potrava pro lidi v menší míře pro výrobu kosmetiky (Carus et al., 2013).

Při produkci kosmetiky se používá hlavně za studena lisovaný olej z ekologického zemědělství. Konopí může být základem mnoha kosmetických produktů, jako jsou: krémy, masážní oleje, šampóny, parfémy, mýdla, pleťové vody. Konopný olej má obdobné účinky na pokožku jako olej z mandlí či avokáda (Gabrielová, 2007).

3.3.3 Využití květenství

Z konopných květů a listů z technického konopí lze připravovat čaj, pivo, víno a destiláty. Dále se používají pro výrobu mastí obsahujících kanabidiol, které se využívají pro léčbu kožních problémů, jako jsou opary, opruzeniny, akné, atopické a jiné ekzémy (Kubánek, 2008).

Největší význam má však konopný sušený květ zvaný *Cannabis flos*. Peč a Dušek (2009) popisují drogu jako tmavě zelené či zelenohnědé 1,5–3 cm velké konopné květenství. Pryskyřice již není lepkavá, ale je tvrdá. Droga chutná lehce nahořkle. Farmaceutická droga *Cannabis flos* se připravuje z neoplozených samičích květenství. Dalším produkováným výrobkem je extrakt z konopí zvaný Sativex. Jedná se o sprej obsahující Δ^9 -THC a CBD. Je vyráběn od roku 2010 britskou firmou GW Pharmaceutical (GW Pharmaceuticals, 2017, Carus et al. 2013).

Státní agentura pro konopí pro léčebné použití definuje konopí pro léčebné použití jako usušená vrcholičnatá samičí květenství z rostliny *Cannabis sativa* L. nebo *Cannabis indica* L. Konopí pro léčebné použití je v České republice dostupné ve formě individuálně připraveného léčivého preparátu vydávaného v lékárnách. Konopí, jež je určeno pro léčebné použití, se produkuje na úrovni léčivé látky a jeho kultivace přísně podléhá zákoným předpisům (SAKL, 2017).

Výrobky z konopných květenství se používají v lékařství k léčbě nebo snížení příznaků nemocí jako jsou: rakovina, roztroušená skleróza, epilepsie, různá bolestivá onemocnění, alergické astma, zelený zákal (Carus et al., 2013; Rättsch, 2013). V české republice mohou konopí předepisovat lékaři se způsobilostí: onkologie, neurologie, paliativní medicína, revmatologie, ortopedie, infekční lékařství, oftalmologie, dermatovenerologie, geriatric, psychiatrie (SAKL, 2017).

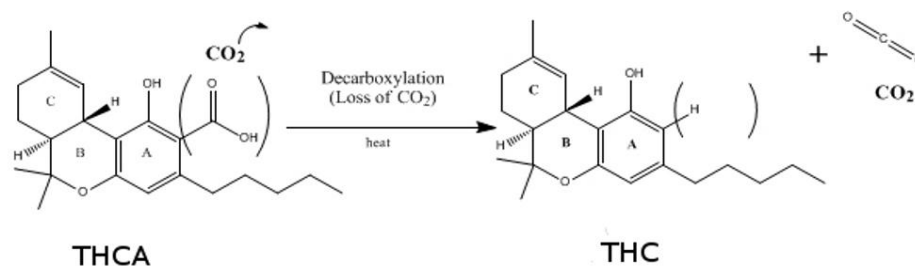
3.4 Obsahové látky

V konopí lze nalézt poměrně velké množství obsahových látek, které náleží k primárním i sekundárním metabolitům. Turner et al. jich v roce 1980 popsali 421, dnes autoři hovoří o 533 a více sloučeninách (Mioviský, 2008). Většina z nich se nachází v běžně rozšířených organismech. Bylo nalezeno 35 sacharidů, 20 jednoduchých kyselin, 18 aminokyselin, amidy, alkoholy, ketony, vitamíny a další látky. Ze sekundárních metabolitů tvoří rostliny silici, kde mají hlavní podíl (85 %) terpeny. Specifickou a z pohledu vědy nejzajímavější skupinu látek jsou kanabinoidy (Jahodář, 2003).

3.4.1 Kanabinoidy

Kanabinoidy jsou látky s 21 nebo 22 uhlíky, jejich kyseliny, analoga a transformační produkty. Nyní se uvádí, že kanabinoidy produkuje kromě konopí přibližně dalších 50 organismů z řad vyšších rostlin, jatrovek a hub (Hanuš et al., 2016). První úspěšný pokus identifikace kanabiondů uskutečnil Wood et al. (1896) v Anglii, kdy byl objeven kanabinol (CBN). Do současné doby bylo v konopí nalezeno 144 kanabinoidů, avšak většina z nich se nachází v rostlinách pouze v minimálním množství (Hanuš et al., 2016).

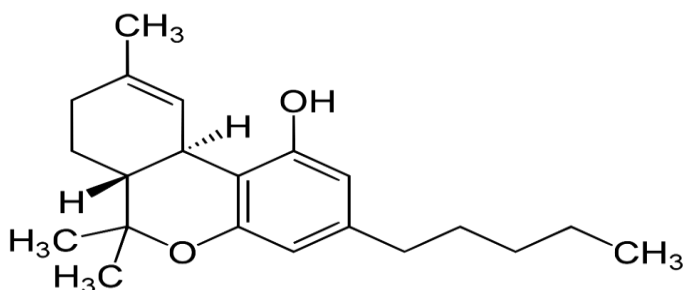
Pravděpodobně všechny kanabinoidy se v rostlině nachází ve formě kyselin, následně vlivem tepla dekarboxylují na zásady (obr. 4). Proces dekarboxylace je nezbytný pro využití lékařského potenciálu konopí. Samotné kyseliny nejsou psychoaktivní, některé však působí protizánětlivě (Holand, 2010). Přestože chemická struktura kanabinoidů je podobná, jejich farmakologické účinky mohou být velice odlišné. Kanabinoidy podle jejich základních struktur se dělí do 10 skupin (Elschly, 2007).



Obrázek 4: Schéma dekarboxylace kyseliny tetrahydrokanabinolové na tetrahydrokanabinol. Zdroj: <http://herb.co/wp-content/uploads/2015/10/decarb-01.jpg>

Dekarboxylace je způsobena působením vysokých teplot

Delta-9-trans-tetrahydrokanabinolový typ zahrnuje delta-9-trans-tetrahydrokanabinol (Δ^9 -THC), jeho kyseliny, delta-9-tetrahydrokanabivarol a delta-9-tetrahydrokanabivarin. Nejdůležitější z této skupiny je Δ^9 -THC (obr. 5) (Elsohly, 2007). Posledním procesem jeho syntézy je dekarboxylace delta-trans tetrahydrokanabinolové kyseliny. Vykazuje ze všech kanabinoidů největší psychoaktivní účinky. Dále uvolňuje svaly, působí protiepilepticky, antibioticky, zvyšuje chuť k jídlu, rozšiřuje bronchy, snižuje nitrooční tlak a působí analgeticky (Grotenhermen, 2009).

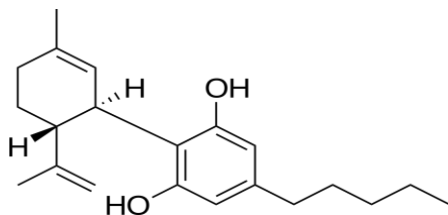


Obrázek 5: Strukturní vzorec (Δ^9 -THC) Zdroj: <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/4/4c/Tetrahydrocannabinol.svg/2000px-Tetrahydrocannabinol.svg.png>

Delta-8trans-tetrahydrokanabinolový typ je zastoupen delta-8-tetrahydrokanabinolem (Δ^8 -THC) a jeho kyselinou (Elsohly, 2007). Vykazuje stimulační, analgetické a neuroprotektivní účinky. Jeho psychoaktivní aktivita je asi o 20 % nižší než u Δ^9 -THC.

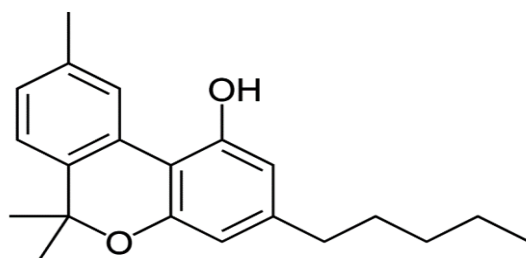
Kanabidiolový typ je reprezentován kanabidiolem (CBD), jeho ethylterem, kanabidiolovou kyselinou (CBDA), kanabidivarinem, a kanabidiorkolem (Elsohly, 2007). Nejdůležitější je ze skupiny je CBD (obr. 6), který na rozdíl od Δ^9 -THC nepůsobí na kanabinoidní receptory. Tvoří se dekarboxylací kyseliny kanabidiolové (Miovský, 2008).

Prokazuje sedativní, analgetické, antibiotické a antibakteriální účinky. Snižuje psychoaktivní účinek THC a tím zlepšuje snášenlivost této látky při léčbě (Rätsch, 2013).



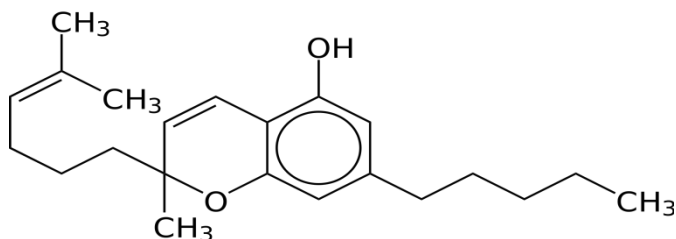
Obrázek 6: Strukturní vzorec CBD Zdroj: <https://www.zamnesia.com/img/cms/cannabis%20seeds/CBD.png>

Kanabinolový typ je zastoupen kannabinolem (obr. 7), jeho methyletherem, kanabinolovou kyselinou, kanabiarinem, kanabirkolem (Elsohly, 2007). Kanabinol (CBN) vzniká oxidací Δ^9 -THC, rostlinou není pravděpodobně vůbec produkován. V čerstvých rostlinách zastupuje většinou do 10 % kanabinoidního profilu, obsah se zvyšuje při vyšší teplotě v oblasti pěstování. Projevuje maximálně 10 % psychotropní aktivity Δ^9 -THC (Rätsch, 2013).



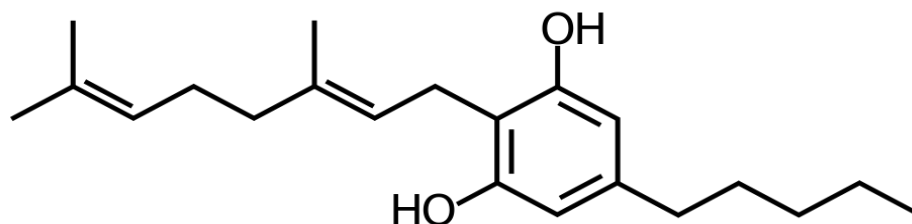
Obrázek 7: Stukturní vzorec CBN Zdroj: <https://sensiseeds.com/blog/wp-content/uploads/2013/06/CBN-1.png>

Další je **kanabichromenový typ**, kam patří kyseliny kanabichromenová a kanabichromevarinová, kanabichromevarin a kanabichromen (Elsohly, 2007). Kanabichromen (CBC) (obr. 8) má uklidňující účinky a snižuje psychoaktivní účinky Δ^9 -THC (Rätsch 2013).



Obrázek 8: Strukturní vzorec CBC Zdroj: <https://sensiseeds.com/blog/wp-content/uploads/2016/09/CBC-1-1.png>

Ke **kanabigerolovému** typu náleží kanabigerol, jeho methylether, kyseliny kanabigerolová a kanabigerovarinová, kanabigerovarin. Kanabigerol (CBG) (obr. 9) nevykazuje psychoaktivní účinky, ale uklidňuje, snižuje nitrooční tlak a působí antibioticky (Rätsch 2013). Pravděpodobně působí synergicky s CBD a Δ^9 -THC. Ve většině odrůd zastupuje CBG pod 10 % kanabinoidního profilu, avšak v některých technických odrůdách a dalších chemotypech zastupuje až 94 % (Seshata, 2017).



Obrázek 9: Strukturní vzorec CBG Zdroj: http://medicalmarijuana.co.uk/wp-content/uploads/2015/04/943px-Cannabigerol-skeletal.svg_.png

3.4.2 Terpeny

Terpeny jsou zodpovědné za vůni a chuť jednotlivých odrůd (Andre et al., 2016). Jejich výnos se podle studií pohybuje pod 1 % z rostliny, ale mohou tvořit až 10 % z produktů syntetizovaných v trichomech. V konopí bylo identifikováno více než 200 terpenů, ale jejich farmakologický potenciál byl studován pouze omezeně (Russo, 2011). Při léčbě mají synergetický účinek s kanabinoidy, což může zajišťovat komplexnější léčebný účinek než použití jednotlivých účinných látek.

Terpeny jsou isoprenoidní látky, které se podle počtu izoprenových jednotek rozlišují na monoterpeny, sekviterpeny, diterpeny. Monoterpeny byly analyzovány v květech, kořenech a listech konopí, jedná se o nejrozšířenější skupinu těkavých látek v sušených květech. Jsou to hlavně D-limonen, β -myrcen, α -pinen, β -pinen, terpinolen a linalool (Andre et al., 2016).

Pokud se pěstují rostliny ve standardizovaných podmínkách, byla zjištěna průkazná a pozitivní korelace mezi produkcí terpenů a kanabinoidů, to je pravděpodobně způsobeno tím, že se oba typy látek produkují ve žláznatých trichomech (Andre et al., 2016). Z důvodu jejich těkavosti je pro jejich udržení dbát opatrnosti při sklizni a skladování (Russo, 2011).

3.4.3 Polyfenoly

Fenolické látky jsou jednou z nejpočetnějších skupin sekundárních metabolitů v rostlinné říši. V konopí bylo identifikováno okolo 20 flavonoidů. Flavonoidy byly izolovány z květů, listů a pylu. Nebyl dokázán výskyt flavonoidů ve žláznatých trichomech (Flores-Sanchez a Verpoorte, 2008). Flavonoidy nalezené v konopí vykazují protizánětlivé, protirakovinné a neuroprotektivní účinky (Andre et al., 2010).

3.4.4 Alkaloidy

Alkaloidy jsou další majoritní skupina sekundárních metabolitů. Vždy obsahují dusík a zpravidla vykazují biologickou aktivitu v malých dávkách. V konopí bylo identifikováno 10 alkaloidů. Alkaloidy se vyskytují v koncentracích menších než 0.3 v konopných listech (Boulloc et al., 2013). Byly izolovány také z kořenů, stonku, pylu a semen (Van Pelt a Blair, 2008)

3.5 Stabilita kanabinoidů v konopí a v konopných extraktech

Dlouhou dobu je známo, že konopná pryskyřice ve formě sušené drogy ztrácí účinnost. Starší studie zaměřené na skladování sušených květů a roztoků obsahující kanabinoidy potvrzují, že se obsah Δ^9 -THC časem při skladování snižuje. Při skladování a manipulaci je velmi důležité co nejméně narušit charakter květenství, protože při stlačení či podrcení květenství dojde k poškození trichomů a snadnější oxidaci kannabinoidů. Z vlivů má největší význam světlo a velmi vysoké teploty (Fairbairn et al 1976, Myšíková 2008).

3.5.1 Vliv kyslíku

Vliv kyslíku na rostlinu se jeví jako mnohem méně podstatný, než vliv světla a vysokých teplot. To je pravděpodobně způsobeno faktem, že v pečlivě usušeném produktu jsou kanabinoidy uchovány ve žlázách, kde jsou téměř hermeticky uzavřeny. Pokud dojde k poškození květu a žláz, jsou ztráty při oxidaci více pravděpodobné (Fairbairn et al., 1976). Podle Myšíkové (2008) jemný prášek po ročním skladování obsahuje o 11 % méně kanabinoidů než prášek hrubý. Razdan et al. (1972) provedli experiment, při kterém rozprostřeli konopnou pryskyřici na filtrační papír ve tmě při 25 °C, aby dosáhli co největšího působení kyslíku. Za 10 měsíců skladování při těchto podmínkách stanovili ztrátu 75 % (Fairbairn et al., 1976). Při pokusu, kdy byly vzorky skladované za přístupu vzduchu, bylo zaznamenáno 50 % přeměna THCA na neutrální Δ^9 -THC. Tento jev byl doprovázen oxidací neutrálního Δ^9 -THC na CBN. (Grotenhermen, Russo 2002)

3.5.2 Vliv světla

Světlo má vysoký vliv na degradaci $\Delta 9$ -THC a jeho transformaci na CBN a také degradaci CBD. K degradaci na světle dochází jak u sušených květů, tak u hašiše a konopných roztoků. Fairbain et al. (1976) zjistili, že nejrapidněji dochází k degradaci kanabinoidů na světle u konopných roztoků. V čisté naftě a v chloroformovém roztoku došlo při pokojové teplotě k téměř absolutnímu rozkladu $\Delta 9$ -THC do 20 dní, zatímco vzorky uložené ve tmě zůstaly téměř identické. Trofin et al. (2012) zaznamenali při skladování hašiše na světle za teploty 22 °C 25,66 % úbytek $\Delta 9$ -THC během prvního roku skladování s průměrným měsíčním úbytkem 6,42 %. Zatímco u vzorků skladovaných na denním světle za teploty 4 °C činily ztráty v prvním roce 25,22 % s průměrnou měsíční ztrátou 6,30 %. Podrobnější výsledky jejich experimentu zobrazuje tabulka č. 3. U sušených květů dochází za působení světla k podstatně vyšším ztrátám než u hašiše, což je způsobeno větší plochou a strukturou květu. Skutečnost, že vysoký úbytek $\Delta 9$ -THC koresponduje s vysokým obsahem CBN potvrzují i další studie (Miovský 2008, Grotenhermen, Russo 2002).

Tabulka 3: Vývoj obsahu $\Delta 9$ -THC, CBD a CBN v průběhu skladování v rozdílných podmínkách (Trofin et al., 2012).

Kanabinody %	roky	vzorek 1		vzorek 2		vzorek 3	
		tma 4 °C	světlo 22 °C	tma 4 °C	světlo 22 °C	tma 4 °C	světlo 22 °C
$\Delta 9$ -THC	1	16,42	16,32	13,42	13,22	17,89	17,74
	2	10,90	10,65	9,04	8,64	11,93	11,58
	3	5,43	5,06	4,97	4,59	6,15	5,72
	4	0,93	0,62	1,85	1,33	1,67	1,32
CBD	1	1,54	1,79	2,33	2,61	2,61	2,83
	2	2,95	3,16	3,52	3,93	3,92	4,30
	3	3,95	4,19	4,83	5,34	5,40	6,10
	4	5,73	6,02	6,40	6,85	7,28	8,11
CBN	1	3,64	4,01	4,34	4,07	4,81	4,46
	2	3,19	3,40	4,01	3,97	4,40	4,09
	3	2,70	3,00	3,80	3,48	4,07	3,84
	4	2,09	2,54	3,48	3,25	3,71	3,44

3.5.3 Vliv teploty

Podle Fairbain et al. (1976) teploty v rozmezí 5 °C–20 °C nemají zásadní vliv na obsah Δ^9 -THC. Při jiném experimentu trvajícím 47 týdnů, kdy bylo skladováno suché konopí v temnu při teplotě 5 °C, klesla hladina Δ^9 -THC o 7 % a při teplotě 20 °C o 13 % (Grotenhermen, Russo 2002). Podle institutu NIDA (2013) vzorky pečlivě zabalených standardizovaných konopných cigaret skladovaných v teplotě -18 °C nedochází k žádným změnám obsahových látek, při teplotě 18 °C zaznamenali snížení Δ^9 -THC o třetinu během 5 let, přičemž zaznamenali mírný nárůst CBN. U cigaret s nižším obsahem Δ^9 -THC zaznamenali vyšší procentuální úbytek než u potentnějších cigaret. Pokud je konopí skladováno v mrazicím boxu při teplotách od -17 °C do -20 °C, během dvou let skladování nedochází k žádným výrazným změnám kanabinoidního profilu ani k změnám aromatu nebo barvy (Abramovici, 2013). Turner et al. (1973) zaznamenali, že při teplotách mezi 37 °C–50 °C dochází k výrazným ztrátám Δ^9 -THC. Při teplotě 37 °C zaznamenali 50 % úbytek Δ^9 -THC za rok. Lerner (1969) vystavoval vzorek s obsahem 2,5 % Δ^9 -THC a 0,12 CBN byly udržovány při teplotě 100 °C v průběhu jednoho měsíce. Na konci měsíce nebyl naměřen žádný obsah Δ^9 -THC a obsah CBN stoupl na 0,40 %. Společnost Bedrocan doporučuje své produkty skladovat v mrazicím boxu při teplotě -20 °C. Při ročním skladování při pokojové teplotě zaznamenali pouze dekarboxylaci THCA na Δ^9 -THC, zatímco při skladování v mrazicím boxu nezaznamenali žádné změny (Bedrocan, 2017).

3.6 Možnosti měření kanabinoidů v konopných produktech

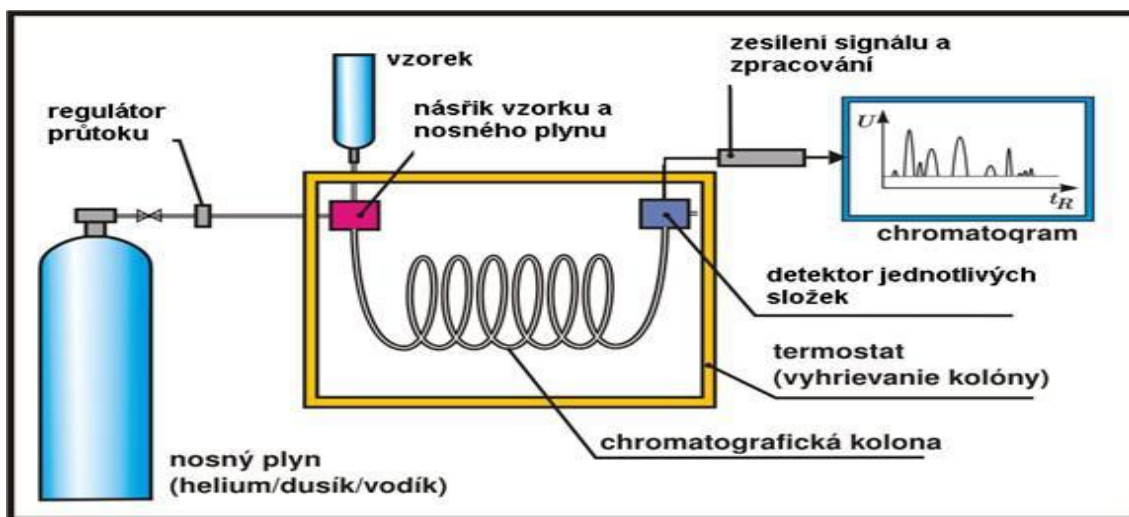
K vytvoření kanabinoidního profilu a měření obsahu jednotlivých kannabinodů je možno využít kapilární plynovou chromatografii s detekcí plamennou ionizací (GC-FID), hmotnostní spektrometrii (GC-MS) a vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii s UV detekcí (HPLC-UV) nebo s detekcí diodového pole (HPLC-DAD). Pro potravinářské účely je upřednostňováno použití HPLC. Používá se pro určení a kontrolu obsahu Δ^9 -THC v potravinách jako jsou olej, konopné čaje nebo konopné semeno. Před analýzou známými chromatografickými metodami se musí kanabinoidy z konopného produktu extrahovat. Většinou jsou rostlinné tkáně usušeny v sušárně, rozdrceny a následně přesáty. Výslednou formou je homogenní prášek (Myšíková, 2008).

3.6.1 Plynová chromatografie (GC)

Podle evropské legislativy plynová chromatografie je doporučena ke stanovování koncentrace Δ^9 -THC ve vzorcích technického konopí. Při použití plynové chromatografie s detekcí s plamennou ionizací dojde vlivem tepla k dekarboxylaci kanabinoidních kyselin. Proto je možné změřit celkový potencionální obsah kanabinoidů (Suurkuuts, 2010).

Plynová chromatografie je metoda určená k dělení a stanovení plynů, kapalin i pevných látek s bodem varu do 400 °C. Metoda funguje na principu dělení složek mezi dvě fáze, fází mobilní a fází stacionární. Jako mobilní fáze je využíván plyn, nazývaný nosný plyn. Stacionární fáze může být pevná látka (aktivní uhlí, silikagel, polymerní sorbenty apod.) nebo vysokovroucí kapalina nanesená v tenké vrstvě na inertním nosiči.

Kolonou se stacionární fází proudí stále nosný plyn. Vzorek se aplikuje do nástřikového portu, kde se odpaří a je dále unášen nosným plynem do kolony. Jednotlivé složky vzorku se sorbují na začátku kolony ve stacionární fázi a poté desorbují čerstvým nosným plynem. Nosný plyn unáší složky postupně ke konci kolony a dělicí proces se neustále opakuje. Detektor detekuje okamžitou koncentraci separovaných látek v nosném plynem. Signál z detektoru je následně upraven a plynule se zaznamenává. Grafický záznam signálu detektoru a jeho časového průběhu se nazývá chromatogram (Zachář a Sýkora, 2008).



Obrázek 10: Schéma plynového chromatografu http://images.slideplayer.cz/12/3648503/slides/slide_6.jpg

Hlavní části plynového chromatografu jsou (obr. 10):

Nástřikový port

Nástřikový port je místo, kde se aplikuje vzorek do separační kolony. Nástřik se provádí ručně (hamiltonovou stříkačkou) nebo automaticky. Nástřikovaný vzorek může být v kapalně nebo plynné formě. V případě kapalin musí mít nástřikový port dostatečnou teplotu, aby vzorek okamžitě přešel do plynného stavu (Polívková, 2003).

Regulátor průtoku nosného plynu

Regulátor průtoku nosného plynu slouží pro udržení stabilního tlaku nosného plynu v separační koloně. Zdrojem nosného plynu je tlaková láhev obsahující dusík, helium nebo argon. Při použití FID je kromě nosného plynu přiváděn k detektoru vodík a kyslík (Polívková, 2003).

Separační kolona

Současná GC používá zpravidla tzv. kapilární kolony, proto se označuje jako kapilární GC. Kapilární kolony jsou tvořené otevřenou kapilárou, kde funkci nosiče zastává vnitřní stěna kapiláry, která je pokryta stacionární fází. Kapilární kolony jsou vyráběny z křemenného skla, zevnějšku jsou potaženy vrstvou polymeru, který je chrání proti poškození. Kapilára je stočena dokola na kruhovém držáku a tento držák s kolonou je umístěn uvnitř chromatografu (Polívková, 2003).

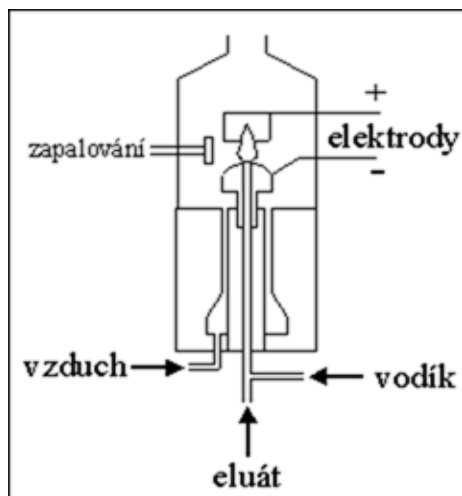
Termostat

Termostat udržuje stabilní teplotu separační kolony v průběhu analýzy nebo teplotu upravuje podle nastaveného programu (Polívková, 2003).

Detektor

Plamenoionizační detektor (FID) (obr. 11) je pravděpodobně nejspolehlivějším a nejlehčím a také nejrozšířenějším z používaných detektorů. Je schopný detekovat téměř všechny organické látky v širokém rozmezí koncentrací. Funguje na principu měření změny elektrické vodivosti vodíkového plamene způsobené přítomností eluované organické látky. Do nosného plynu se v detektoru přidává vodík. Organické látky, které se dostanou do plamene, jsou štěpeny na fragmenty iontového, nebo radikálového typu. Tyto

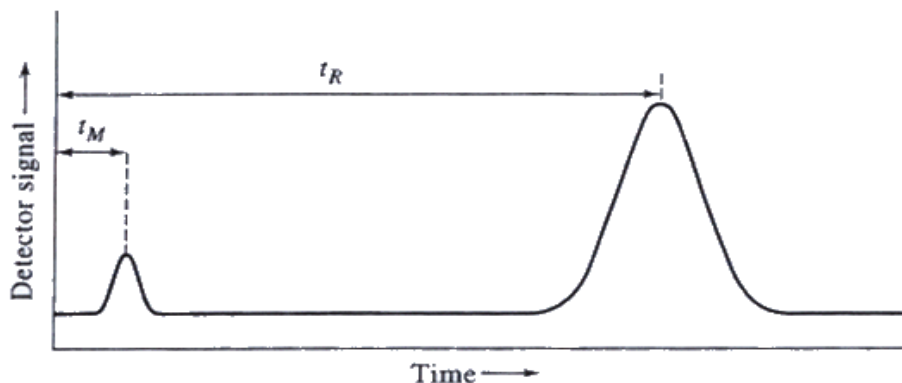
ionty a radikály získají na první elektrodě určitý potenciál, načež jsou přitahovány elektrodou druhou, kde potenciál odevzdají. Vzniklý ionizační proud, který protéká mezi elektrodami, je přímo úměrný počtu iontů a měří se (Goliáš, 2012).



Obrázek 11: FID detektor

Předpokladem pro úspěšnou kvalitativní analýzu je úplná separace všech složek vzorku. Pro identifikaci jednotlivých látek během plynové chromatografické analýzy je podstatná shoda hodnot měřeného vzorku a standartu měřeného za stejných laboratorních podmínek. Pro identifikaci lze také využít retenčních indexů, které odrážejí specifické interakce zkoušené látky se stacionární a mobilní fází. Vyjadřují polohu píku analyzované látky v chromatogramu vzhledem k poloze píků řady standardů.

Množství separované látky vystupující z kolony se měří detektorem, který obvykle indikuje okamžitou koncentraci látky na výstupu z kolony. V chromatogramu se na ose y nachází zaznamenaná odezva detektoru a na ose x retenční čas. (obr. 12) Podle teorie chromatografické separace má chromatografický pík tvar Gaussovy křivky a je definován 3 parametry: **retenční vzdáleností**, **výškou píku**, a **šířkou píku**. Celkové množství analyzované látky je úměrné ploše píku. Retenční čas (t_R) vyjadřuje celkovou dobu průchodu látky kolonou do okamžiku maximální koncentrace látky. Mrtvý retenční čas (t_M) vyjadřuje dobu průchodu kolonou do okamžiku maximální koncentrace složky, která není zadržována stacionární fází (Zachář a Sýkora, 2008; Goliáš, 2012).



Obrázek 12: Schéma chromatogramu <https://clu-in.org/characterization/technologies/images/retention.gif>

Chromatogram se dvěma píky a znázorněním retenčního času (t_R) a mrtvého retenčního času (t_M)

3.6.2 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC)

V kapalinové chromatografii se používá jako mobilní fáze kapalina. Na rozdíl od GC rozhodují o separaci nejen stacionární fáze, ale také fáze mobilní. Při použití kapalinové chromatografie nedochází k dekarboxylaci kyselin, jako u při použití chromatografie plynové. Z tohoto důvodu se používá k zjištění jak konopných kyselin, tak zásaditých forem kanabinoidů. Ve všech studiích i v praxi byla používána C18 kolona s různými mobilními fázemi. Nevýhodou ve srovnání s GC z pohledu účinnosti, je, že v kapalinové chromatografii je menší příspěvek molekulární difúze složek, jelikož kapalina má značně vyšší viskozitu než plyn. Podle Hazeckamp et al. (2005) je HPLC s hmotnostním spektrometrem nejvhodnější k analýze všech sloučenin kanabinoidního charakteru, nacházejících se ve vzorku i ve stopovém množství.

3.6.3 Spektrometrie v UV oblasti

V literatuře je uváděno pouze málo UV absorpčních spekter kalibrovaných kanabinoidů. Jsou obecně definovány několika hodnotami (maximum a minimum, úbočí UV spektra). Jelikož se většina kanabinoidů liší ve svých UV spektrech s několika absorpčními vrcholy, může být zvoleno pro kvantifikační hodnocení mnoho vlnových délek. Absorpce obecně klesá se vzrůstající vlnovou délkou (Hazeckamp et al., 2005).

3.6.4 Infračervená spektrometrie (IČ)

Infračervená spektrometrie se běžně využívá při experimentech k měření a objasnění struktury kanabinoidů a derivátů při izolaci a syntéze. Podobně jako u UV spektra jsou většinou spektra IČ charakterizována udáním pouze několika absorpčních maxim (Hazeckamp et al., 2005).

4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Materiál a přístroje

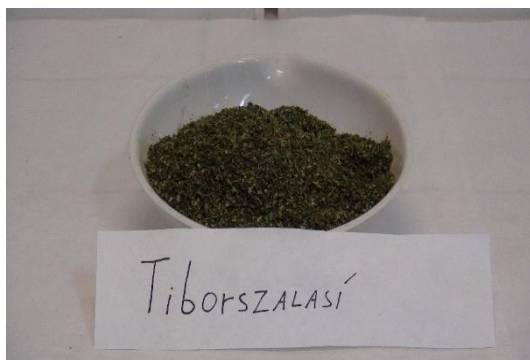
V průběhu jednoho roku byly analyzovány vzorky konopí setého (*Cannabis sativa* L.). Pro hodnocení obsahu Δ^9 -THC, CBD a CBN byly zvoleny 3 odrůdy technického konopí. Všechny rostliny byly vypěstovány na biofarmě Sasov. Měření probíhalo v laboratorii Ústavu biologie rostlin Mendelovy univerzity v Brně. Vzorky byly měřeny na plynovém chromatografu s plameno-ionizačním detektorem (FID). Stanovení látek probíhalo dle metodiky podle Evropské unie napsané v příloze č.1 Nařízení ES č. 1122/2009.

4.1.1 Použitý materiál

Všechny 3 analyzované odrůdy pochází z maďarského šlechtění. Zdrojem vzorků byly vrcholky sušeného samičího květenství.

Odrůda Tiborszálási

Je dvoudomá brzo dozrávající odrůda (obr. 13). Pěstuje se především pro vysoký výnos stonku. Hmotnost tisíce semen se pohybuje mezi 18–22 gramy. Obsah CBD by se měl pohybovat mezi 1,5–2 %. Obsah Δ^9 -THC by měl být pod 0,12 % (Agromag, 2011).



Obrázek č. 3: Vzorek odrůdy Tiborszálási připravený k extrakci

Odrůda Kompolti

Je nejstarší dvoudomá odrůda registrovaná v Evropě (obr. 14). Pěstuje se pro výnos stonku a velmi vysoký výnos vlákna. Obsah CBD by se měl pohybovat mezi 2–3 % a obsah Δ^9 -THC by měl být 0,1–0,15 % (Agromag, 2011).



Obrázek č. 14: Vzorek odrůdy Kompolti připravený k extrakci

Odrůda Tisza

Jedná se o jednodomou brzy dozrávající odrůdu (obr. 15). Hodnota CBD by se měla pohybovat okolo 1,5 %, hodnota Δ^9 -THC by měla být přibližně 0,12 %.



Obrázek č.15: Vzorek odrůdy Tisza připravený k extrakci

4.2.1 Nastavení pokusu

Vzorky byly uchovávány při 4 různých podmínkách skladování a to při -70 °C, -20 °C, 0 °C a 20 °C. Skladovány byly 3 různé formy a to: mletý samičí sušený květ, samičí sušený konopný květ ve formě pelet a mletý samičí sušený květ balený ve vakuu. Vzorky byly uchovávány jeden rok, během kterého byly průběžně 8x odebírány a následně připravovány k výsledné analýze.

4.2.2 Příprava vzorků

Všechny vzorky byly připraveny stejnou metodikou. Z vysušeného vzorku byly odstraněny stonky a semena. Vzorky byly následně rozdrobeny na středně jemný prášek, homogenizovány a prosety skrze síto s oky o velikosti 1 mm. Následně bylo odváženo 100 mg vzorku, který byl v odstředivé zkumavce zalit 5ml extrakčním roztokem (100ml hexanu (Roth) s vnitřním standardním vzorkem 35mg skvalenu (Sigma)). Vzorek byl umístěn na 20 minut do ultrazvukové lázně. Následně byl 5 minut odstředován při otáčkách 4000 za minutu. Poté bylo odebráno 10 ml roztoku nad sedimentem do vialek a do doby před analýzou plynovou chromatografií uložen v mrazicím boxu při -20 °C.

4.2.3 Podmínky GC analýzy

K analýzám byl použit plynový chromatograf GC Fisons instruments s FID detektorem a s 30 m kapilární kolonou DB-5MS - nepolární kapilární kolona 5% fenyl, 95% dimethylarylsiloxan, 30 m dlouhá, 0,25 mm I.D. 0,25 µm film – (firma JaW Scientific.) za teplotního programu od 150 – 270 °C termostát, 250 °C nástřik a 280 °C detektor.

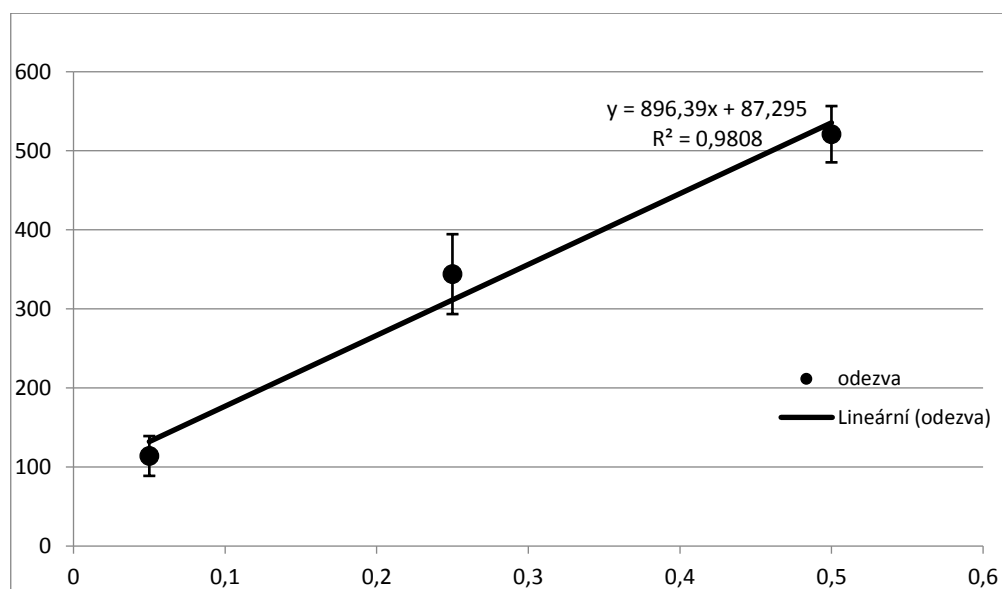
Jednotlivými standardními vzorky byly stanoveny retenční časy CBD, CBN, Δ9-THC a skvalenu (tab. 4).

Tabulka 4: Retenční časy stanovovaných látek a vnitřního standardu

látka	tR (min)	Rtr
CBD	26,4	0,825
Δ9-THC	28,1	0,878
CBN	29,5	0,921
skvalen	32,0	1,00

4.2.4 Kalibrace CBD

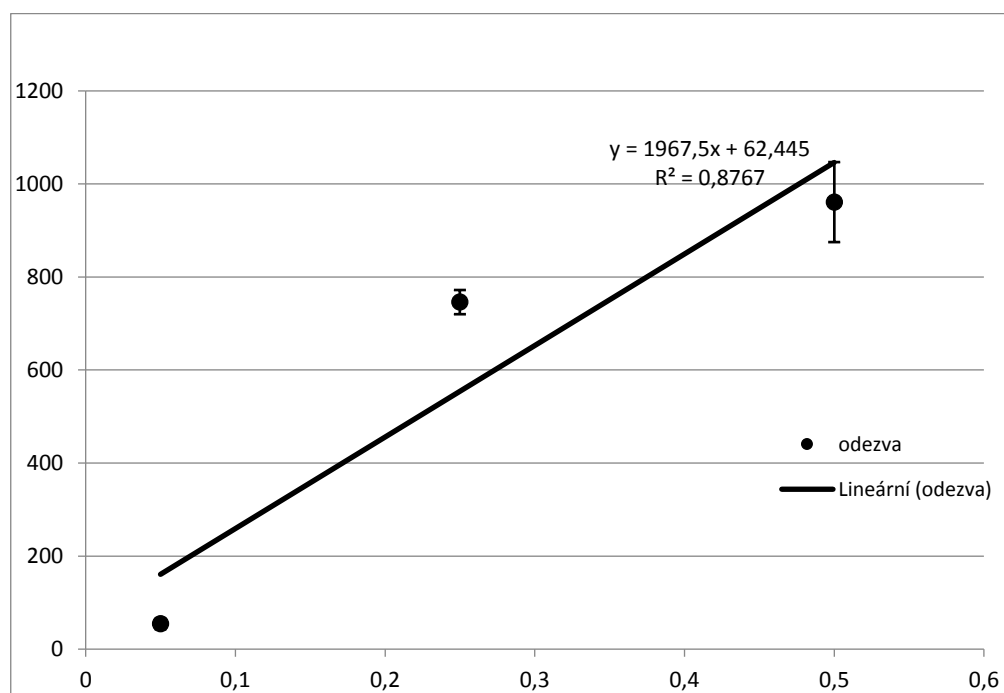
Aby mohlo být vyhodnoceno množství CBD ve vzorcích, bylo nutné sestavit kalibrační přímku CBD. Přístroj byl kalibrován třemi body od 0,05–0,5 % CBD, za použití standartu CBD (Sigma Aldrich) 1 mg.ml⁻¹ v methanolu (graf.1). Z každé koncentrace bylo provedeno 3 až 5 nástřiků, které byly průměrovány a byla spočítána střední chyba. Kalibrační přímkou byla vynesena jako závislost plochy píku na koncentraci roztoku a proložena spojnici trendu. Podle získané rovnice spojnice trendu pak byly přepočítávány odezvy jednotlivých vzorků, které byly také 3 až 5 x opakovány, průměrovány a byla spočítána střední chyba, která je uvedena v grafech. Obdobně byly kalibrovány i další kanabinoidy.



Graf 1: Kalibrační přímku CBD

4.2.5 Kalibrace Δ^9 -THC

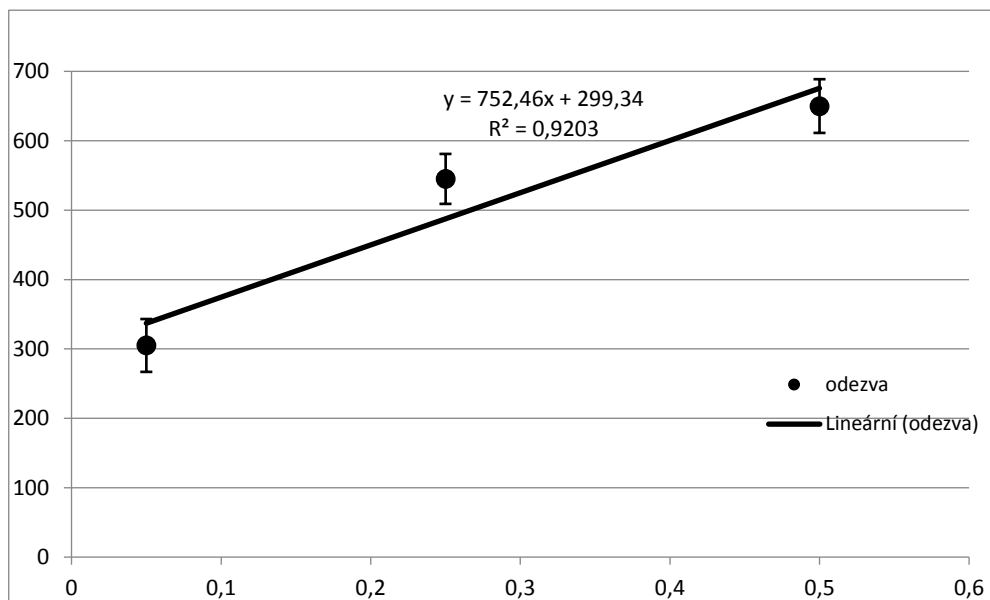
K vyhodnocení Δ^9 -THC bylo třeba sestavit kalibrační přímku Δ^9 -THC. Přístroj byl kalibrován třemi body 0,05–0,5 %, za použití standardu Δ^9 -THC (Ipomed) $1\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ v methanolu (graf.2). Kalibrační roztoky byly podrobeny GC analýze. Kalibrační přímka byla vynesena jako závislost plochy píku na koncentraci roztoku.



Graf 2: Kalibrační přímka Δ^9 -THC

4.2.6 Kalibrace CBN

Pro vyhodnocení množství CBN ve vzorcích, bylo nutné sestavit kalibrační přímku CBN. Pro tento účel bylo využito standardu CBN (Sigma Aldrich) 1 mg.ml⁻¹ v methanolu (graf. 3). Následně byl přístroj kalibrován třemi body od 0,05–0,5 %. Kalibrační přímka byla vynesena jako závislost plochy píku na koncentraci roztoku.



Graf 3: Kalibrační přímka CBN

5. VÝSLEDKY

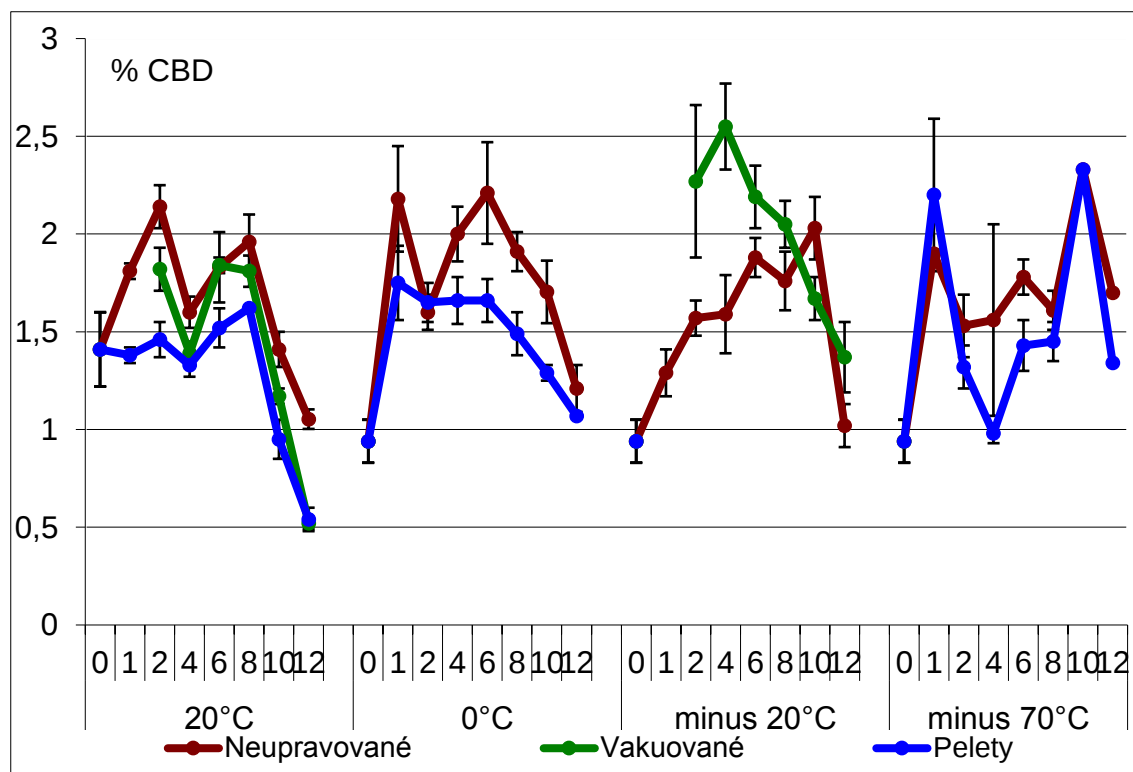
Předmětem analýzy bylo především CBD a THC. Obsah CBN byl naměřen v koncentracích do 0,02 %, proto nebyl jeho obsah podrobněji zahrnut do výsledků

5.1 Kanabidiol

Hodnoty naměřeného obsahu CBD se pohybovaly u všech odrůd a při všech podmínkách přibližně mezi 0,5 %–2,5 %, což zhruba odpovídá udávaným hodnotám od šlechtitelů.

Odrůda Tiborszálási

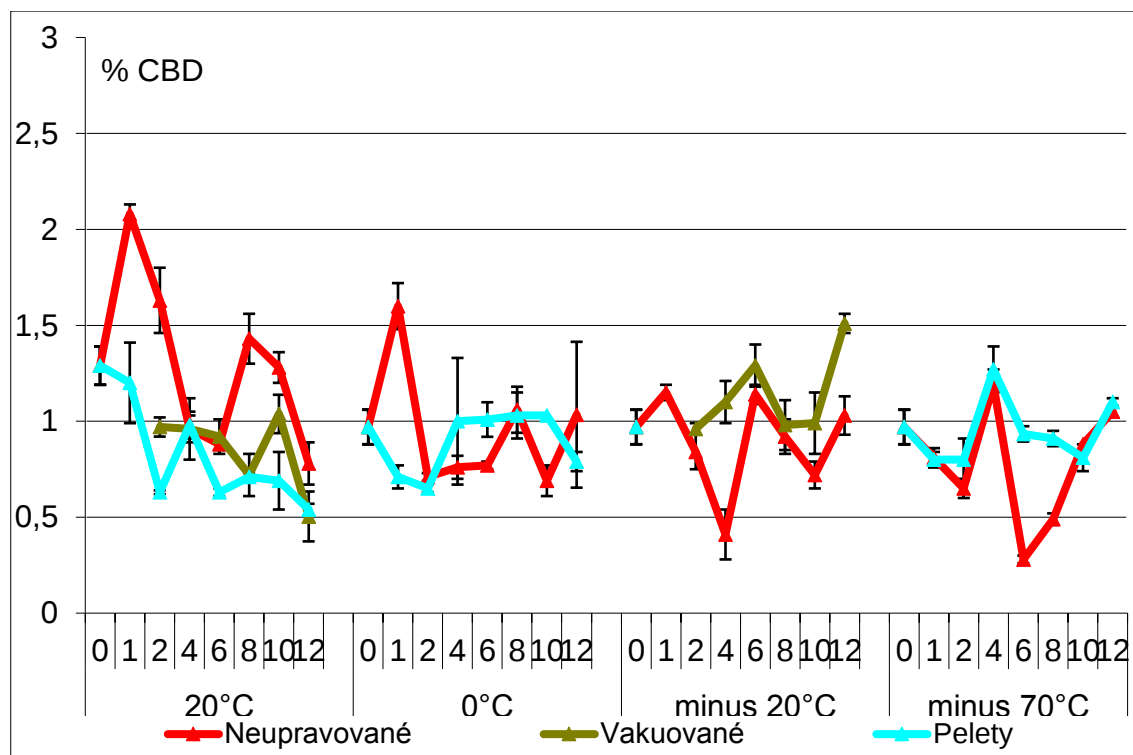
Na grafu č. 4 je vidět sestupný trend obsahu CBD při skladování za teploty 20 °C. Vzorky skladované při 0 °C vykazují také sestupný trend, avšak konečné koncentrace jsou značně vyšší. Nejvyšší konečné hodnoty byly naměřeny u vzorků skladovaných při -70 °C a to 1,70 % u neupravovaných vzorků a 1,34 % u pelet. Ve vakuovaném vzorku byly naměřeny vyšší koncentrace při -20 °C, než při 20 °C. Všechny vzorky ve formě pelet vykazovaly nižší hodnoty než ostatní varianty.



Graf 4: Změny obsahu CBD v samičích květenstvích u odrůdy Tiborszálási ve vzorcích neupravovaných, vakuovaných a peletkách skladovaných při 20. 0. -20 a při -70 °C po dobu 0,1, 2,4,6,8,10 a 12 měsíců.

Odrůda Kompolti

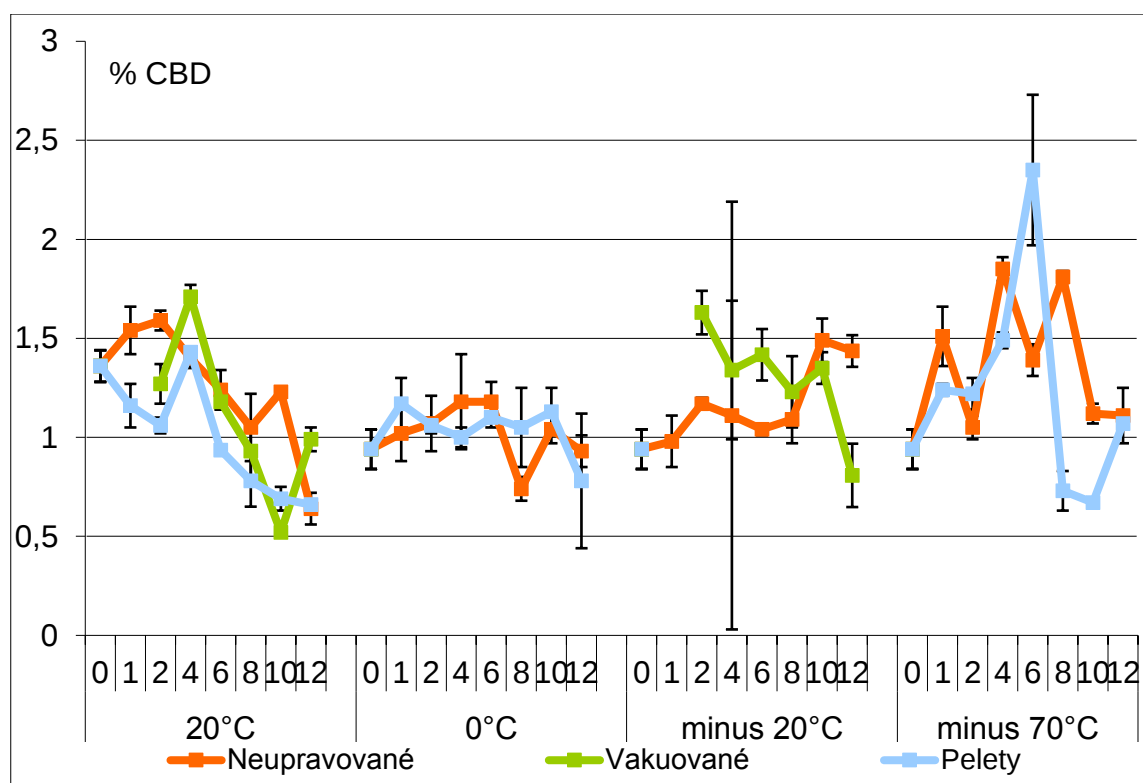
U odrůdy Kompolti (graf. 5) také došlo k nejvyšším ztrátám CBD při teplotě 20 °C a nejvyšší konečným hodnotám při 70 °C. Nejvyšší hodnoty vykazoval zavaukovaný vzorek skladovaný při -20 °C. Neupravované vzorky vykazovaly v posledním měsíci ve všech podmínkách kromě 20 °C téměř stejné hodnoty okolo 1,03 %. Nejstabilnější koncentrace v průběhu celého skladování byly změřeny u vzorku skladovaného při 0 °C.



Graf 5: Změny obsahu CBD v samičích květenstvích u odrůdy Kompolti ve vzorcích neupravovaných, vakuovaných a peletkách skladovaných při 20. 0. -20 a při -70 °C po dobu 0,1, 2,4,6,8,10 a 12 měsíců.

Odrůda Tisza

Také u odrůdy Tisza (graf. 6) byl pozorován nejvyšší úbytek CBD v posledních měsících skladování při teplotě 20 °C, kdy byly naměřeny konečné hodnoty 0,66 % u pelet a 0,64 % u neupravovaného vzorku. Při skladování za teploty 70 °C vykazovaly vzorky peletované i neupravované vzorky hodnoty mírně nad 0,1 %. Nejstabilnější koncentrace v průběhu celého skladování byly změřeny u vzorku skladovaného při 0 °C.



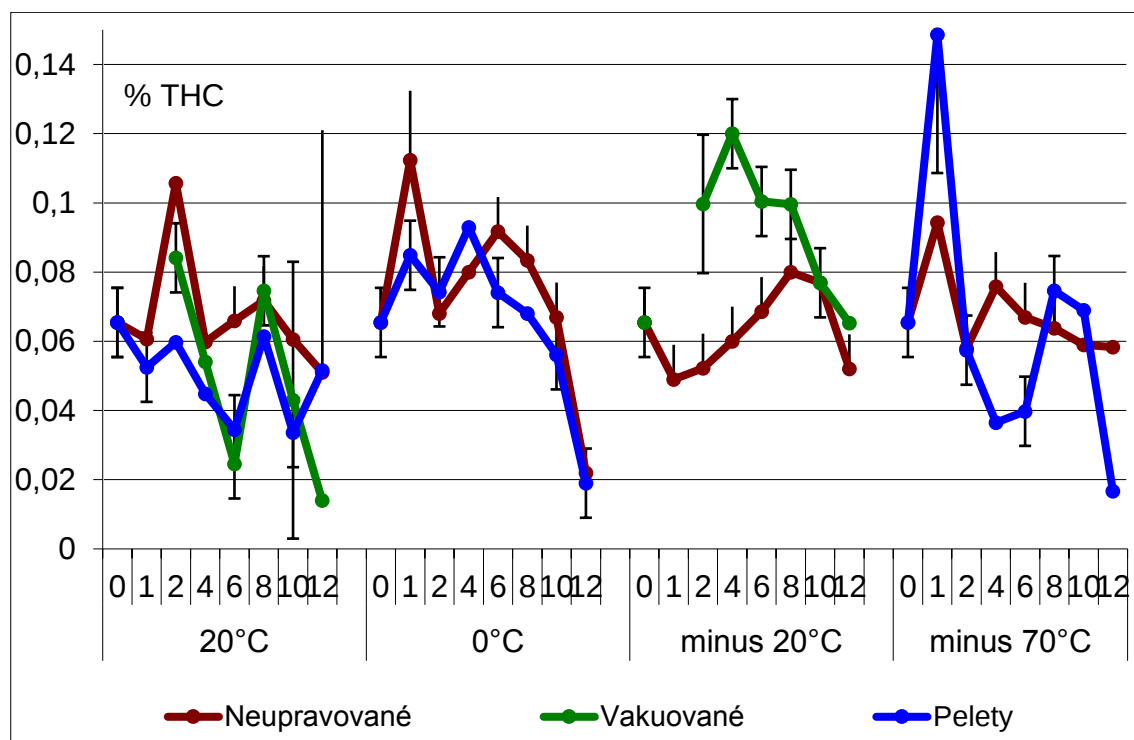
Graf 6: Změny obsahu CBD v samičích květenstvích u odrůdy Tisza ve vzorcích neupravovaných, vakuovaných a peletkách skladovaných při 20. 0. -20 a při -70 °C po dobu 0,1, 2,4,6,8,10 a 12 měsíců.

5.2 Delta-9-trans-tetrahydrokanabinol

Hodnoty $\Delta 9$ -THC se u všech odrůd pohybovaly v rozmezí 0,012–0,148 %. Tento rozptyl hodnot odpovídá hodnotám udávaným šlechtiteli. Z důvodu nízké koncentrace $\Delta 9$ -THC v odrůdě Kompolti a kalibrační křivce jen se třemi body nebylo možné vyhodnotit obsah $\Delta 9$ -THC v této odrůdě.

Odrůda Tiborszallási

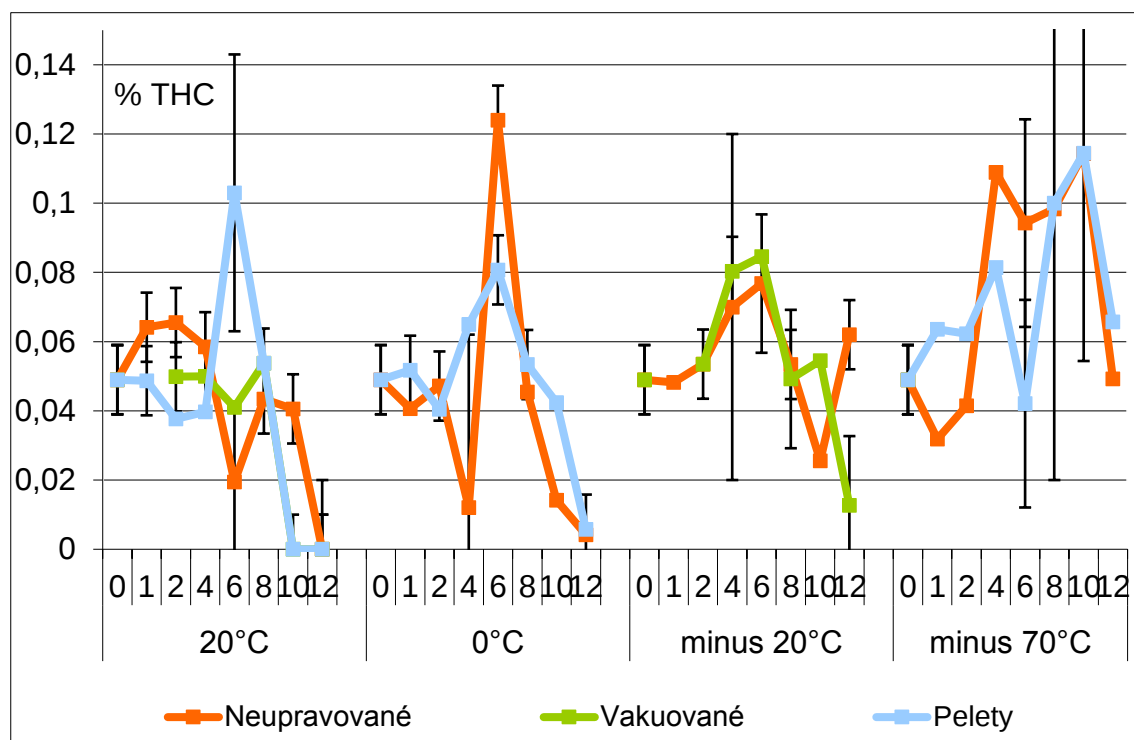
V grafu č. 7 je vidět sestupný trend obsahu $\Delta 9$ -THC u skladovaných vzorků při 0 °C. Při skladování při 20 °C nedošlo k výrazným ztrátám. Nejvyšší konečná hodnota 0,065 % byla naměřená u vakuovaného vzorku skladovaného při -20 °C. Nevakuovaný vzorek při stejné teplotě vykazoval konečnou hodnotu 0,052 %.



Graf 7: Změny obsahu $\Delta 9$ -THC v samičích květenstvích u odrůdy Tiborszallási ve vzorcích neupravovaných, vakuovaných a peletkách skladovaných při 20, 0, -20 a při -70 °C po dobu 0,1, 2,4,6,8,10 a 12 měsíců.

Odrůda Tisza

U vzorků skladovaných při teplotách 20 °C a 0 °C (graf. 8) byl zaznamenán sestupný trend přibližně od poloviny doby skladování. Celkově nejvyšší koncentrace byly naměřeny při -20 °C a při -70 °C.



Graf 8: Změny obsahu Δ^9 -THC v samičích květenstvích u odrůdy Tisza ve vzorcích nepravovaných, vakuovaných a peletkách skladovaných při 20. 0. -20 a při -70 °C po dobu 0,1, 2,4,6,8,10 a 12 měsíců.

6. DISKUSE

Kanabinoidy jsou skupina látek s nepochybným terapeutickým potenciálem. Nejvýznamnější jak z pohledu množství v rostlinách, tak z pohledu využití jsou Δ^9 -THC a CBD. Měřením obsahu těchto kanabinoidů v průběhu skladování se také zabývala tato práce. V dnešní době začíná být konopí stále více používáno po celém světě i v České republice. Z rostlin s vysokým obsahem CBD lze vyrábět masti které mají analgetický, protizánětlivý, antibakteriální a hojivý účinek. Dále se s CBD vyrábí olej v různých koncentracích. Nyní je v České republice na lékařský předpis možnost léčby konopím obsahujícím Δ^9 -THC. Protože se jedná o léčivo, je třeba brát zřetel na koncentrace účinných látek a jejich kontrolu. Je velmi pravděpodobné, že pěstování konopí obsahující CBD a Δ^9 -THC bude mít ve světě i tuzemsku vzestupný trend.

Kanabinoidy mají silný potenciál působením určitých vlivů degradovat či transformovat svou strukturu (Atakan, 2012). Již dlouho dobu je známo že jevy jako je světlo, vzduch, teplota mají významný podíl na stabilitu a obsah kanabinoidů ve sklizeném konopí (Fairbairn et al., 1976; Myšíková, 2008; Trofin et al., 2012; Abramovici, 2013; Small, 2017). Proto je důležité chápat zákonitosti těchto změn a také možnosti kontroly kanabinoidního profilu. V této práci byla pro analýzu zvolena plynová chromatografie, která měří celkový potencionální obsah kanabinoidů v rostlinném materiálu. Pokud by byla použita chromatografie kapalinová, bylo by možné sledovat korelaci mezi kanabinoidy a jejich prekurzory v průběhu skladování (Hazekamp et al., 2005).

Protože k analýze byly využity vzorky technického konopí byl v práci kladen důraz hlavně na obsah CBD. Všechny výsledky analýzy odpovídají hodnotám udávaným šlechtiteli, což potvrzuje kvalitu získaných výsledků. Podle dostupné literatury a internetových zdrojů by měly být vzorky nejstabilnější za nízkých teplot bez přístupu kyslíku (Mathre, 1997; Grotenhermen a Russo, 2002; Myšíková, 2008; Hyde, 2017; Bedrocan, 2017). Tato skutečnost se potvrdila, bohužel však nebyly vakuovány všechny vzorky a k prokázání vlivu na degradaci by bylo vhodné provést více opakování. Nejnižší hodnoty v průběhu skladování vykazovalo konopí ve formě pelet. To je dle mé úvahy způsobeno oxidací a úbytkem kanabinoidů při samotné výrobě pelet, kdy došlo k mírnému zahřátí. Prokazatelný byl také vliv teploty v průběhu skladování. Všechny vzorky vykazovaly v průběhu skladování za teploty 20 °C nižší koncentrace sledovaných přibližně od 6 měsíce skladování. Při všech dalších teplotách skladování byly naměřené hodnoty poměrně

stabilní, což koresponduje s výsledky dalších autorů (Fairbairn et al., 1976; Grotenhermen, Russo, 2002; Bedrocan, 2017)

Přestože obsah $\Delta 9$ -THC v technických odrůdách není příliš významný (Andre et al., 2016), byl v našich vzorcích dobře analyzovatelný a získané hodnoty také odpovídají udávaným hodnotám od šlechtitelů. Kalibrační křivka byla kvůli nedostatku času kalibrována jen třemi body na vyšší koncentrace byl problém se stanovením některých vzorků s nízkým obsahem $\Delta 9$ -THC. Odrůda Kompolti vykazovala nižší koncentrace $\Delta 9$ -THC než ostatní odrůdy, proto nejsou tyto hodnoty uvedeny ve výsledcích. Také $\Delta 9$ -THC vykazoval nejvyšší úbytek během skladování za teploty 20 °C. Jako nejstabilnější se jevily vzorky skladované při -20 °C a při -70 °C, kde byly počáteční hodnoty téměř shodné s konečnými. Fairbrain et al. (1976) provedli experiment z něhož učinili závěr, že teploty 5–20 °C nemají téměř žádný vliv na obsah kanabinoidů při skladování. Tento závěr však platí pro roztoky kanabinoidů. Při skladování rostlinného materiálu je již úbytek patrný. Brown (1998) uvádí, že teploty do 20 °C mají pouze nevýrazný vliv, avšak teploty nad 20 °C způsobují razantní úbytek $\Delta 9$ -THC. Pro ověření této skutečnosti by bylo vhodné experiment provést i při vyšších teplotách, v praxi však vyšší teploty považují při skladování za nesmyslné. Podle Lerner (1969) při průměrné teplotě 24 °C dochází k 3-5 % ztrátám $\Delta 9$ -THC měsíčně, což činí asi 31–46 % roční ztrátu. Tento experiment byl však prováděn za přístupu světla. Turner et al. (1973) zaznamenali roční ztráty do 7 % $\Delta 9$ -THC, pokud byly vzorky skladovány ve tmě nebo s omezeným přístupem světla.

CBN se v čerstvých rostlinách nevyskytuje a vzniká jako degradační produkt, během sklizně a skladování oxidací $\Delta 9$ -THC (Miovský, 2008; Small, 2017). V technickém konopí převažuje nejvíce obsah CBDA naopak obsah THCA je velmi nízký (Andre et al., 2016). Z toho to důvodu se kanabinoid CBN, který vzniká degradací $\Delta 9$ -THC vyskytoval v pozorovaných vzorcích v zanedbatelném množství a jeho koncentrace nebyla zahrnuta do výsledků. Měřit obsah CBN a jeho vývoj během skladování by mělo smysl u odrůd medicínálního konopí, jenž mají vyšší obsah $\Delta 9$ -THC.

Společnost Bedrocan doporučuje certifikovaným subjektům, kteří mohou nakládat s léčebným konopím skladovat konopí při -20 °C v temnu. Doporučují konopí zamrazit kdykoli je to možné a tvrdí, že po opětovném rozmrazení bude konopí v takové kvalitě jako by nikdy nebylo zmrazeno (Bedrocan, 2017). Skladování v mrazicím boxu doporučují i další autoři (Mathre, 1997; Thomas a ElSohly, 2016). Avšak někteří autoři tvrdí, že při zmrazení může dojít k poškození struktury trichomů a buněčných stěn, a proto je zmrazení nevyhovující (Cervantes, 2007; De La Luz, 2013; De Angelo, 2014; Hyde,

2017;). Toto tvrzení je logické, avšak nenašel jsem žádnou seriosní studii, která by se tímto problémem zabývala. Zároveň však nemohu souhlasit s tvrzením Bedrocanu, že při rozmrazování a zmrazování nedojde k žádným změnám ve struktuře a kvalitě produktu, protože to není fyzikálně možné. Z úhlu pohledu autorů, kteří zmrazení nedoporučují by bylo konopí nejlépe skladovat při teplotách mírně nad bodem mrazu. Většina autorů doporučuje konopí skladovat v temnu ve skleněných nádobách. (Potter a Joy, 1998; Adams, 2012; Witzel, 2014; Cervantes, 2007;)

Jelikož společnost Bedrocan má s pěstováním, skladováním a distribucí bohaté zkušenosti osobně souhlasím s jejich doporučením skladovat konopí při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ a myslím že nižší teplota jak z pohledu degradace kanabinoidů tak z pohledu zvýšené spotřeby energie je zbytečná. Cervantes (2007) doporučuje konopí skladovat při teplotě $5\text{ }^{\circ}\text{C}$, což je jak z pohledu potencionálního poškození trichomů zmražením, tak z pohledu ekonomického lepším řešením než skladování při teplotě -20°C . Pokud by však mělo být konopí skladováno delší dobu je nepochybně vhodné ho zamrazit. Obecně si myslím, že je konopí nejvhodnější spotřebovat či zpracovat na výsledný produkt co nejrychleji a zbytečně dlouho ho neskladovat. Skladovací doba 1 rok při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ nebo $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ je však naprosto v pořádku a bez významného konečného rozdílu v kanabinoidním profilu. Důležité z pohledu zachování kanabinoidů a terpenů je také pečlivě a správně provedené sušení a následné zacházení s konopím po sklizni s co nejmenším narušením trichomů na květenstvích (Guy, 2004; HMPC, 2006; SAKL, 2017; Small, 2017). Myslím, že prokazatelněji by šly sledovat změny při použití materiálu s vyšším obsahem kanabinoidů, čili u konopí pro medicínální využití. Zde má také sledování obsahu kanabinoidů praktičtější význam. Také by bylo vhodné podobný pokus provést v delším časovém horizontu. Dále považuji za vhodné do případného pokusu zařadit vliv světla, který podle literatury má markantní význam (Turner et al., 1973; Fairbrain et al., 1976; Grotenhermen, Russo 2002; Trofin et al., 2012).

7. ZÁVĚR

Konopí patří mezi jednu z nejstarších rostlin využívanou k léčebným účelům na světě. Obsahuje obrovské množství chemických sloučenin, z nichž velká část není důkladně prozkoumána. Nejznámější a nejvíce prozkoumané jsou zástupci kanabinoidů CBD a Δ^9 -THC. Tyto látky mají silný terapeutický potenciál a jejich obsah v rostlinách je zpravidla vyšší než obsah dalších kanabinoidů. V léčebném využití mají význam také terpeny a fenolické látky nacházející se v konopí, které mají při léčbě synergický účinek s kanabinoidy. Technické konopí má význam v potravinářském, papírnickém, stavebním, automobilovém, textilním průmyslu a dalších odvětvích. V současné době se konopí začíná opět používat v lékařské praxi v některých zemích je jeho užívání povoleno také k rekreačním účelům (Miovský, 2008).

U většiny odrůd technického konopí je obsah CBD přibližně do 2 %. Obsah Δ^9 -THC je legislativně limitován do 0,3 %, v praxi jsou hodnoty většinou pod 0,15 %. Pro léčebné použití jsou vyšlechtěny odrůdy dosahující až 20 % obsahu CBD nebo 30 % obsahu Δ^9 -THC. Odrůda Bedrocan pěstována a distribuovaná společností Bedrocan obsahuje 22 % Δ^9 -THC a méně než 1 % CBD. V České republice lze jako léčebné konopí používat konopí s obsahem maximálně 19 % Δ^9 -THC.

Z důvodu kontroly je třeba využívat kvalitní a spolehlivé metody k měření obsahu kanabinoidů jak u léčebného, technického konopí či konopí zabaveného při trestné činnosti. V praxi se nejčastěji používá stanovení plynovou a kapalinovou chromatografií. Zásadním rozdílem je, že při analýze na kapalinovém chromatografu lze analyzovat jak neutrální kanabinoidy, tak i jejich prekurzory ve formě kyselin. Při měření na plynovém chromatografu dojde k dekarboxylaci a je možné hodnotit výsledný maximální obsah neutrálních kanabinoidů v konopí.

Cílem praktické části diplomové práce bylo zhodnotit vliv 4 variant rozdílných teplotních podmínek ročního skladování tří úprav sušených samičích květů u tří odrůd konopí na stabilitu obsahových látek CBD, CBN a Δ^9 -THC. Vzorky byly skladovány ve třech formách a to neupravované, vakuované a ve formě pelet. V průběhu jednoho roku byly vzorky každé dva měsíce odebírány a následně analyzovány na plynovém chromatografu. Jelikož se jednalo o technické odrůdy byl kladen důraz hlavně na obsah CBD. Obsah CBN byl jak na počátku, tak na konci skladování minimální.

Stanovení látek probíhalo dle metodiky podle Evropské unie napsané v příloze č. 1

Nařízení ES č. 1122/2009. Výsledkem diplomové práce je ověření metodiky odběru rostlinného vzorku, jeho extrakce roztokem hexanu s vnitřním standardem skvalenem a analýze na plynovém chromatografu. Tomu předcházela kalibrace standardů a vytvoření kalibrační přímky s rovnicí spojnice trendu, podle které pak byly přepočítávány odezvy píků jednotlivých vzorků. Výsledky potvrdily markantní úbytek u všech odrůd CBD a Δ 9-THC po půl ročním skladování za teploty 20 °C. Vzorky skladované při nulových a minusových teplotních podmínkách měly po ročním skladování menší ztráty v obsahových látkách. Optimální je skladovat vakuované vzorky při teplotě -20 °C.

8. SOUHRN

Diplomová práce pojednává o vlivu skladování na obsah účinných látek konopí. Teoretická část je věnována stručné botanické charakteristice. Dále popisuje nároky a možnosti pěstování konopí v polních podmínkách a léčebného konopí v krytých prostorech. Součástí práce je část pojednávající o možnostech využití jednotlivých částí konopné rostliny. Práce obsahuje detailnější popis kanabinoidů a dalších obsahových látek. Dále popisuje vliv jednotlivých vnějších faktorů na stabilitu kanabinoidů v konopných produktech. Poslední část teoretické části je věnována možnostem analýzy kanabinoidů.

Cílem experimentální části bylo zjištění vlivu různých způsobů skladování na obsah kanabidiolu a delta-9-trans-tetrahydrokanabinolu ve vzorcích konopí. Stanovení probíhalo na plynovém chromatografu GC Fisons instruments s FID detektorem. Vzorky byly v průběhu jednoho roku skladování pravidelně odebírány a následně analyzovány. Byly stanoveny retenční časy jednotlivých kanabinoidů a sestaveny kalibrační křivky. Výsledky prokázaly degradaci kanabinoidů při vyšších teplotách. Nejvhodnější způsob pro skladování samičího květenství konopí je skladování vakuovaného materiálu při teplotě -20 °C.

Klíčová slova: CBD, CBN, Δ^9 -THC, plynová chromatografie, skladování,

RESUME

This thesis deals with the effect of storage of cannabis on the level of content of its active substances. The theoretical portion focuses on a botanical characteristics summary. It further describes the growing needs and options of cannabis on the fields and of medical cannabis in covered areas. Portion of the thesis deals with the use of each individual parts of the cannabis plant. The thesis contains detailed description of cannabinoids and other substances. It further describes the effect of individual external factors on the stability of cannabinoids in cannabis products. The last part of the theoretical section deals with the ability to analyze cannabinoids.

The goal of the experimental section was to discover effects of different type of storage on the level of content of cannabidiol and delta-9-tetrahydrocannabinol in cannabis samples. The setting included a gas chromatograph GC Fisons instruments with FID detector. These samples were regularly collected and extracted during the period of one year. Retention periods of individual cannabinoids and calibration curves were created. The results showed a reduction of cannabinoids in higher temperatures. The results further confirmed storage of vacuumed materials at -20 °C temperature as the most appropriate type of storage for female inflorescence of cannabis.

Key words: CBD, CBN, Δ 9-THC, gas chromatography, storage

9. PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY

Abramovici, H., 2013. Information for Health Care Professionals: *Cannabis (marihuana, marijuana) and the cannabinoids* [online]. 1st ed. [cit. 2017-04-14] Dostupné z: http://www.hc-sc.gc.ca/dhp-mps/alt_formats/pdf/marihuana/med/infoprof-eng.pdf

Adams, P., 2012. *Weedology: marihuana: vše o pěstování konopí*. Positive Publishers, ISBN 978-90-7658-335-8

Andre, Ch.; J. Hausman and G. Guerriero; 2016. *Cannabis sativa: The Plant of the Thousand and One Molecules*. Frontiers in Plant Science, [online] 7. [cit. 2017-04-14] Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4740396>

Atakan, Z. 2012. *Cannabis, a complex plant: different compounds and different effects on individuals*. Therapeutic Advances in Psychopharmacology, [online] 2(6), [cit. 2017-04-14] pp.241-254. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3736954/>

Bouloc, P.; Serge, A. a Laurent, A., 2013. *Hemp: industrial production and uses*. Wallingford, Oxfordshire, UK: CABI, ISBN 9781845937935.

Carus, M.; S. Karst; A. Kuffmann; J. Hobson; a S. Bertucelli;. 2013. *The European Hemp Industry: Cultivation, processing and applications for fibres, shivs and seeds* [online]. [cit. 2017-04-14]. Dostupné z: <http://eiha.org/media/2014/10/13-06-European-Hemp-Industry.pdf>

Celní správa České republiky. 2017. *Mák setý a konopí* | Celní správa ČR. Celnisprava.cz [online] [cit. 2016-12-17] Dostupné z: <https://www.celnisprava.cz/cz/clo/spolecne-zemelske-politiky-a-zvlastnich-kompetenci/Stranky/mak-sety-a-konopi.aspx>

Cervantes, J.; 2007. *Marijuana horticulture*. 1st ed. Vancouver, B.C.: Van Patten. ISBN 9781878823236

De la Luz, D.; 2013. *Storing Your Stash: Keeping Buds Pristine After Harvest*. Cannabisnow [online]. [cit. 2017-03-29]. Dostupné z: <https://cannabisnow.com/storing-your-stash-keeping-bud-pristine-after-harvest/>

DeAngelo, S.; 2014. *Storing Medical Cannabis* [online]. Oakland, [cit. 2017-04-29]. Dostupné z: <http://www.shopharborside.com/learn/storing-medical-cannabis.html#>
Elsohly, Mahmoud A. Marijuana and the cannabinoids. Totowa, N.J.: Humana Press, c2007. ISBN 15-882-9456-0.

Fairbrain, J. W.; J. A. Liebmann and M. G. Rowan; 1976. *The stability of cannabis and its preparations on storage*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* [online]. vol. 28, no. 1, pp. 1-7 [cit. 2017-3-17] Dostupné z: doi:10.1111/j.2042-7158.1976.tb04014.x

Flores S.; J. Isvett a R. Verpoorte; 2008. *Secondary metabolism in cannabis*. *Phytochemistry Reviews* [online]. 7(3), 615-639 [cit. 2017-04-14]. DOI: 10.1007/s11101-008-9094-4. ISSN 1568-7767. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s11101-008-9094-4>

Gabrielová, H.; 2007. *Konopí - biomasa pro život*. Chvaleč: Konopa, ISBN 978-80-254-1149-0.

Goliáš, J. 2012. *Metody analýzy potravin* [online]. Ústav posklizňové technologie zahradnických produktů: Mendelova univerzita v Brně Zahradnická fakulta [cit. 2017-04-14]. Dostupné z: <https://is.mendelu.cz/eknihovna/opory/index.pl?opora=5352>

Grotenhermen, F. a R. Ethan. 2002. *Cannabis and Cannabinoids: Pharmacology, Toxicology, and Therapeutic Potential*. Psychology Press, ISBN 9780789015075.

Grotenhermen, F.; 2009. *Konopí jako lék: praktický rádce k využívání konopí a dronabinolu v medicíně*. Olomouc: Fontána, ISBN 978-80-7336-552-3.

Guy, G.; B. Whittle a P. Robson; 2004. *The medicinal uses of cannabis and cannabinoids*. Chicago: Pharmaceutical Press, ISBN 0853695172.

GW Pharmaceuticals. 2016. Sativex [online]. [cit. 2017-03-15]. Dostupné z: <https://www.gwpharm.com/products-pipeline/sativex>

Hanuš, L. O.; S. M. Meyer; E. Muñoz; O. Tagliatela-Scafiti a G. Appendino. 2016. *Phytocannabinoids: a unified critical inventory*. *Nat. Prod. Rep* [online]. 33(12), 1357-1392 [cit. 2017-04-14]. Dostupné z: DOI: 10.1039/C6NP00074F. ISSN 0265-0568.

Hazekamp, A.; A. Peltenburg; R. Verpoorte and Ch. Giroud, 2005. *Chromatographic and Spectroscopic Data of Cannabinoids from Cannabis sativa L.* *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* [online]. vol. 28, no. 15, pp. 2361-2382 [cit. 2017-3-17]. Dostupné z: doi:10.1080/10826070500187558

Hazekamp, A., 2014. *Úvod do léčby konopím*. 1. Zwarthoed: Bedrocan BV,

Herbal Medicinal Products (HMPC). 2006. *Guideline on good agricultural and collection practice (GACP) for starting materials of herbal origins*. London: EMEA, [online]. [cit. 2017-04-14]. Dostupné z: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003362.pdf

Holland, J.; 2010. *The pot book*. 1st ed. Rochester, Vt.: Park Street Press. ISBN 978-1594773686

Hyde, W.; 2017. Cannabis 101: *How Long Is My Cannabis Good For? Leafly's Guide to Storing Cannabis*. Leafly [online]. [cit. 2017-03-29]. Dostupné z: <https://www.leafly.com/news/cannabis-101/how-long-is-my-cannabis-good-for-leaflys-guide-to-storing-cannabi>

Jahodář, L.; 2003. *Cannabis sativa L. var. indica - zdroj terapeuticky využitelných látek*. SOLUTIO, příruční kniha pro lékárny [online]. MEDON, (1) [cit. 2017-04-14]. Dostupné z: 1url.cz/Qtkvi

José, M.; 2012. *Jak pěstovat "indoor"*. Vyd. 2. Plzeň: Josef Krejčík, ISBN 978-80-905353-0-5.

Kaiser, Ch.; C. Christy a M. Ernst; 2015. *Industrial Hemp Production. University of Kentucky College of Agriculture, food and environment*. [online] cit. 2017-04-14]. <https://www.uky.edu/Ag/CCD/introsheets/hempproduction.pdf>

Kubánek, V.; 2008. *Konopí a mák: (pěstování, výrobky, legislativa)*. V Tribunu EU vyd. 1. Brno: Tribun EU, 152 s. ISBN 978-80-7399-438-9.

Lerner, P.; 1973. *The precise determination of tetrahydrocannabinol in marihuana and hashish*. Bull. Narcotics [online]. 39-42 [cit. 2017-04-28]. Dostupné z: https://www.unodc.org/unodc/en/data-and-analysis/bulletin/bulletin_1969-01-01_3_page007.html

Mathre, M. L.; 1997. *Cannabis in medical practice*. 1st ed. Jefferson, N.C.: McFarland. ISBN 9780786403615

McPartland, J. M.; Connell, R. Clarke; D. P. Watson; 2000. *Hemp diseases and pests: management and biological control : an advanced treatise*. Wallingford: CABI Publishing, ISBN 0-85199-454-7.

Miovský, M.; 2008. *Konopí a konopné drogy: adiktologické kompendium*. 1. vyd. Praha: Grada, 533 s. ISBN 978-802-4708-652.

Myšíková, J.; 2008. *Stabilita fytoKANABINOIDŮ při skladování Cannabis sativa*. Hradec Králové, Rigorózní práce. Univerzita Karlova v Praze Farmaceutická Fakulta v Hradci Králové. Vedoucí práce RNDr. Michaela Hamerníková, Ph.D.

Nielsen, H.; 2003. *The Royal Agricultural and Veterinary University*. Integrating hemp in organic farming systems: A Focus on the United Kingdom, France and Denmark. København,

Peč, J.; D. Jaroslav; 2009. *Konopí, konopná droga a související léčivé přípravky*. Prakt. lékař. 5(4), s. 189-193.

Polívková, J.; 2013. *Seznámení s plynovou chromatografií*. Eldiag.cz [online] [cit. 2016-12-17]. Dostupné z: <http://www.eldiag.cz/cz/texty/seznameni-s-plynovou-chromatografií>

Potter, B.; a D. Joy; 2009. *The Healing Magic Of Cannabis*. 1st ed. Berkeley, Calif.: Ronin., ISBN 9781579510824

Potter, D.; 2003. *Medicinal Cannabis Production: The Botanist's View. Pharmaceutical Manufacturing and Packing Sourcer* [online]. (1) [cit. 2017-04-14]. Dostupné z: <http://www.samedanltd.com/magazine/15/issue/60/article/1344>

Rannalli, P.; 1999. *Advances in Hemp Research*. Amerika: 272 s. ISBN 1-56022-872-5.

Rätsch, Ch.; 2013. *Marihuana jako lék: etnomedicína, užívání a recepty na léčení konopím*. Vyd. 1. Olomouc: Fontána, 240 s. ISBN 978-80-7336-703-9.

Razdan, R.; Z. Puttick, B. Zitko a R. Handrick, Hashish; 1972. VI1, *Conversion of (-)-Δ1(6)-Tetrahydrocannabinol to (-)-Δ1(7)-Tetrahydrocannabinol. Stability of (-)-Δ1 and (-)-Δ1(6)-Tetrahydrocannabinols*. Experientia [online]., **28**(2), 121-122 [cit. 2017-04-29]. DOI: 10.1007/BF01935704. ISSN 0014-4754. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/BF01935704>

Ruman, M.; a L. Klvaňová; 2008. *Konopí: staronový přítel člověka*. Chvaleč: Konopa, 31 s. ISBN 978-80-254-1825-3.

Russo, E.; 2011. *Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects*. British Journal of Pharmacology, [online] 163(7), pp.1344-1364. [cit. 2016-12-17] Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3165946/#b91/>.

SAKL; 2017. *Státní agentura pro konopí pro léčebné použití* [online]. [cit. 2017-04-14]. Dostupné z: <http://www.sakl.cz/>

Seed production; 2011. AGROMAG KFT. *Agromag* [online]. [cit. 2017-03-20]. Dostupné z: <http://www.agromag.hu/en/seed-business/seed-production>

Seshata; 2017. Cannabinoid Science 101: *What is Cannabigerol?* Sensi Seeds [online]. [cit. 2017-04-16]. Dostupné z: <https://sensiseeds.com/en/blog/cannabinoid-science-101-what-is-cannabigerol/>

Sladký, V.; 2004. *Konopí, šance pro zemědělství a průmysl*. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 64 s., 4 s. barev. obr. příl. Zemědělské informace. ISBN 80-727-1145-8.

Small, E.; 2017. *Cannabis: a complete guide*. CRC Press, ISBN 978-149-8761-635.

Bedrocan; 2017. *Storage*. [online]. [cit. 2017-04-16]. Dostupné z: <https://bedrocan.com/products-services/scientists/storage/>

Suurkuusk, G.; 2010. *Validation of the gas chromatographic method for THC, CBD and CBN determination*. Master`s thesis, UNIVERSITY OF TARTU, Faculty of Science and Technology, Institute of Chemistry, 1 – 40,

Thomas, B.; and M. Elsohly; 2016. *The analytical chemistry of cannabis. 1st ed*. Amsterdam: Elsevier. ISBN 978-0-12-804646-3

Thomas, M.; 2012. *Cannabis cultivation: a complete grower's guide*. 3rd ed. San Francisco: Green Candy Press,. ISBN 9781931160988.

Trofin, I. G.; G. Dabija; D. I. Vaireanu a F. Laurentiu; 2012. *The Influence of Long-term Storage Conditions on the Stability of Cannabinoids derived from Cannabis Resin*. Revista de Chimie -Bucharest [online]. vol. 63, pp. 422-427 [cit. 2016-11-15]. Dostupné z: <http://www.revistadechimie.ro/pdf/TROFIN%20I%204%2012.pdf>

Turner, C.; K. Hadley; P. Fetterman; N. Doorenbos; M. Quimby; a C. Waller; 1973. *Constituents of Cannabis sativa L. IV: Stability of cannabinoids in stored plant material*. J. Pharm. Sci., 62: 1601–1605. [cit. 2017-3-17] Dostupné z: doi:10.1002/jps.2600621005

Unschuld, P.; 1986. *Medicine in China: a history of pharmaceuticals*. Berkeley: University of California Press, ISBN 978-052-0050-259.

Valíček, P.; 2003. *Léčivé rostliny a omamné drogy*. Vyd. 1. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 94 s. ISBN 80-7157-725-1.

Van Pelt, B.; 2008. *Characterization of Medicinal Properties of Cannabis sativa L. roots* [online]. 1st ed. Moscow: Agricultural and Extension Education, College of Agricultural and Life Sciences University of Idaho [cit. 2016-11-15]. Dostupné z: <http://www.doc-developpement-durable.org/file/Culture-plantes-a-fibres/chanvre-textile/Characterization%20of%20Medicinal%20Properties%20of%20Cannabis%20sativa.pdf>

Wood, T.; Barlow, W. T. N. Spivey a T. H. Easterfield; 1896. XL.Charas. *The resin of Indian hemp*. J. Chem. Soc., Trans. [online]. vol. 69, no. 0, pp. 539-546[cit. 2017-04-14]. Dostupné z: doi:10.1039/ct8966900539

Zachář, P.; and D. Sýkora; 2008. *Plynová chromatografie* [online]. 1st ed. Praha: Ústav analytické chemie VŠCHT [cit. 2017-2-15]. Dostupné z: <http://old.vscht.cz/anl/lach2/GC.pdf>