



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

PŘÍPRAVA KOSMETICKÝCH VÝROBKŮ PROTI LUPŮM S VYUŽITÍM TECHNICKÉHO KONOPÍ

PREPARATION OF ANTI-DANDRUFF COSMETIC PRODUCTS USING TECHNICAL HEMP

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Kateřina Posoldová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Andrea Němcová, Ph.D.

BRNO 2020

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1456/2018 Akademický rok: 2019/20
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Kateřina Posoldová**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie a technologie
Vedoucí práce: **Ing. Andrea Němcová, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Příprava kosmetických výrobků proti lupům s využitím technického konopí

Zadání bakalářské práce:

V rámci práce budou řešeny následující dílčí úkoly:

- 1) vypracování literární rešerše shrnující problematiku tvorby lupů a aktuální informace o aktivních látkách používaných v přípravcích proti lupům
- 2) stanovení a charakterizace aktivních látek z vybraných částí rostliny konopí
- 3) návrh a testování vybraných kosmetických výrobků proti lupům s obsahem aktivních látek z konopí

Termín odevzdání bakalářské práce: 31.7.2020:

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Kateřina Posoldová
student(ka)

Ing. Andrea Němcová, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2020

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

Abstrakt

Hlavním tématem této bakalářské práce je technické konopí a jeho účinky na lupy. Konopí je rostlina známá už dlouhá léta, nejen kvůli halucinogenním látkám, které obsahuje, ale i těm, které jsou pro naše tělo prospěšné.

Teoretická část charakterizuje konopí a aktivní látky z něj. Poté pojednává o pokožce a onemocnění zvané lupy. Jako další téma je popsána kvasinka, která se velmi často vyskytuje při onemocnění vlasové pokožky.

Praktická část zahrnuje přípravu ethanolových extraktů z dvou odrůd konopí (Carmagnola a Ferimon), stanovení aktivních látek v připravených extraktech a výrobu kosmetických produktů s přídatkem konopného extraktu. Extrakty a výrobky byly testovány antimikrobiální metodou. Inhibiční účinek byl zkoumán na zástupcích bakterií a kvasinek.

Summary

The main theme of this bachelor's thesis is technical hemp and its effects on dandruff. Hemp has been a plant known for years not only because of the hallucinogenic substances which it contains, but also those for that are beneficial to our bodies.

The theoretical part characterises hemp and the active substances from it. Then the thesis discusses about skin and a condition called dandruff. The next part describes yeast, which is very often occurs in hair skin disease.

The practical part involves preparing ethanol extracts from two varieties of hemp, determining the active substances in the prepared extract and cosmetic products with added hemp extract. Extracts and products were tested using the antimicrobial method. The inhibitory effect was studied on representatives of bacteria and yeast.

Klíčová slova

Lupy, technické konopí, kanabinoidy, *Malassezia furfur*

Keywords

Dandruff, technical hemp, cannabinoids, *Malassezia furfur*

POSOLDOVÁ, K. *Příprava kosmetických výrobků proti lupům s využitím technického konopí*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2020. 56 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Andrea Němcová, Ph.D..

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně, že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je majetkem fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana fakulty chemické VUT v Brně..

Kateřina Posoldová

Ráda bych na tomto místě chtěla poděkovat vedoucí mé bakalářské práce Ing. Andree Němcové, Ph.D., za odborné vedení, trpělivost, cenné rady, vstřícný přístup a čas. Dále bych chtěla poděkovat svým kolegyním a kamarádkám za spolupráci a pomoc. Velké díky patří mé rodině a příteli za trpělivost a podporu při celé délce studia.

Kateřina Posoldová

Obsah

1	Úvod	8
2	Teoretická část	9
2.1	Kůže	9
2.1.1	Pokožka (<i>epidermis</i>)	9
2.1.2	Škára (<i>dermis</i>)	9
2.1.3	Podkožní tkáň (<i>tela subcutanea</i>)	9
2.2	Kožní orgány (adnexa)	10
2.2.1	Žlázová adnexa	10
2.2.2	Vlasy	10
2.3	Kožní onemocnění	11
2.3.1	Lupy (<i>Pityriasis capitis</i>)	11
2.3.2	Projevy a příčiny	11
2.3.3	Léčba	12
2.4	Kosmetické produkty proti lupům	13
2.4.1	Šampon	13
2.4.2	Produkty na trhu	14
2.5	Konopí (<i>Cannabis</i>)	15
2.5.1	Historie	15
2.5.2	Taxonomie	15
2.5.3	Druhy konopí	16
2.5.3.1	Konopí seté	16
2.5.3.2	Konopí indické	17
2.5.3.3	Konopí rumištní	17
2.6	Látky obsažené v konopí	17
2.6.1	Kanabinoidní povahy	17
2.6.2	Nekanabinoidní povahy	18
2.7	Použité mikroorganismy	19
2.7.1	<i>Candida glabrata</i> CCM 8270	19
2.7.2	<i>Escherichia coli</i> CCM 7395	19
2.7.3	<i>Malassezia furfur</i> CCY 85-2-1	19
2.7.4	<i>Micrococcus luteus</i> CCM 1569	20
2.8	Metody použité při analýze	21
2.8.1	Extrakce	21
2.8.2	Kapalinová chromatografie	21
2.8.3	Spektrometrie v UV-VIS oblasti	21
2.8.4	Difúzní agarový test	22
3	Cíl práce	23
4	Experimentální část	24
4.1	Využité přístroje, chemikálie a komerční produkty	24
4.1.1	Přístroje	24
4.1.2	Chemikálie	24

4.1.3	Komerční produkty	26
4.2	Příprava extraktů	26
4.3	Metody ke stanovení aktivních látek v konopí	28
4.3.1	Stanovení celkových polyfenolů	28
4.3.2	Stanovení celkových flavonoidů	28
4.3.3	Antioxidační aktivita	29
4.3.4	Stanovení vybraných kanabinoidů pomocí HPLC	30
4.4	Metoda ke stanovení antimikrobiální aktivity	30
4.4.1	Použité mikroorganismy a kultivační média	30
4.4.2	Difúzní agarový test	32
4.5	Kosmetické produkty	32
4.5.1	Příprava šamponu	32
4.5.2	Příprava vlasové vody	33
5	Výsledky	34
5.1	Stanovení celkových polyfenolů	34
5.2	Stanovení celkových flavonoidů	35
5.3	Antioxidační aktivita	36
5.4	Obsah kanabinoidů	38
5.5	Antimikrobiální aktivita	39
5.5.1	Extrakty	40
5.5.2	Kosmetické výrobky	42
5.5.2.1	Šampon	42
5.5.2.2	Vlasová voda	44
6	Závěr	46
7	Literatura	48
8	Seznam použitých zkratk	52
9	Přílohy	53

1. Úvod

Konopí, které pravděpodobně pochází z Asie, bylo v dřívějších dobách používáno především k výrobě lan a tkanin. V pozdější době se využívala semena k jídlu, květy a listy k obkladům. Ve 20. století se vyizoloval první kanabinoid, tedy biologicky aktivní látka. Proto v dnešní době je konopí hojně využíváno ve farmacii a kosmetice. Opět se také vrátíme i k obohacování jídel semínky této rostliny.

Kanabinoidy jsou strukturně řazeny mezi terpeny. Těchto aktivních látek je známo okolo 60. Patří mezi ně i nejznámější psychoaktivní látka konopí Δ^9 -tetrahydrokanabinol známa pod zkratkou THC. Proto aby bylo možné využívat konopí ve farmaceutickém průmyslu, je rostlina šlechtěna a označována jako technické konopí, které má nízké hodnoty obsahu psychotropních látek a zároveň obsahuje vyšší hodnoty léčivých látek.

Malassezia furfur je kvasinka vyskytující se při onemocnění kůže, a tedy i při lupech. Lupy jsou šedobílé šupinky odlupující se z pokožky hlavy. Vlasová pokožka, která je přesušená je daleko více náchylnější k tvorbě lupů. Toto onemocnění prodělá většina lidí. Není to závažná nemoc, ale jde spíše o estetiku a komfort člověka. Pokožka hlavy se časem může stát rezistentní vůči látkám obsažených v přípravcích proti lupům, a tak se může stát, že se začnou obracet na látky, které můžeme najít v rostlinách.

Předložená bakalářská práce charakterizuje technické konopí, aktivní látky v něm obsažené a využití extraktů z rostlin v kosmetických výrobcích proti lupům. Experimentální část se zabývá extrakty z dvou odrůd konopí (Carmagnola a Ferimon) a bylin (kopřiva, olivový list a myrta) u kterých bylo stanoveno množství aktivních látek (flavonoidy, polyfenoly, kanabinoidy). Ve vyrobených kosmetických přípravcích byly použity extrakty z konopí a bylin. U extraktů a kosmetických výrobků byla stanovena antimikrobiální aktivita.

2. Teoretická část

2.1. Kůže

Největším orgánem lidského těla je kůže vážící přibližně 15 kg celkové váhy dospělého člověka. Plocha ochranného povrchu těla je okolo 2 m². Tento orgán chrání tělo proti průniku škodlivých látek a úniku vody z těla, čímž zastává termoregulaci. Sekreční funkce je zastoupena produkcí mazu, potu, melaninu a keratinu. Díky receptorům se jedná o smyslový orgán sloužící pro přenos informací o teple, tlaku, bolesti, svědění nebo dotyku. Kůže má funkci depotní, kdy je zásobárnou vody, krve, podkožního tuku a glukózy. Kůže se skládá ze tří vrstev: *epidermis* (pokožka), *dermis* (škára) a *tela subcutanea* (podkožní tkáň). Každá z vrstev má své charakteristické funkce [1] [2].

2.1.1. Pokožka (*epidermis*)

Pokožka je nejsvrchnější a nejtenčí vrstva kožního povrchu, která je tvořena pěti vrstvami tvarově rozmanitými buňkami. Mezi nejhlavnější buňky patří keratinocyty. Jako další obsahuje pokožka melanocyty, Langerhansovy buňky a Merkelovy buňky. Tato vrstva je označována za živou, protože je neustále obnovována. Keratinocyty při migraci ze spodní vrstvy kůže k povrchu pokožky postupně keratinizují, což je proces, při kterém si buňka vytváří zásoby keratinu a poté dochází k buněčné smrti, ke ztrátě organel a zrohovatění. *Epidermis* je dělená na pět vrstev: *stratum basale*, *stratum spinosum*, *stratum granulosum*, *stratum lucidum*, *stratum corneum*.

Bazální vrstva (*stratum basale*) je nejnižší uložena v *epidermis* a je buněčnými spoji připojena k bazální membráně – rozhraní mezi pokožkou a škárou zajišťující výměnu buněk a tekutin. Pokožka není cévně zásobena [2].

2.1.2. Škára (*dermis*)

Škára zastává nejširší část kůže a dodává jí pružnost a pevnost, protože hlavní složka škáry je kolagen, strukturní bílkovina, která je odolná proti stresu. Kolagen tvoří až 70 % váhy suché kůže. Během stárnutí se vrstva *dermis* ztenčuje a ztrácí pružnost. Škára je protkána nervy, cévami a potními žlázami.

Tři základní buňky škáry jsou fibroblasty, makrofágy a žírné buňky. Fibroblasty jsou primární buňky škáry, které produkují kolagen, elastin a enzymy. Vlákňitou strukturu *dermis* zapříčiňují čtyři typy vláken: kolagenní, elastická, retikulinová a kotvící fibrily [1] [2] [3].

2.1.3. Podkožní tkáň (*tela subcutanea*)

Jako nejhlubší vrstva kůže je považována podkožní tkáň neboli *tela subcutanea* nebo také *hypodermis*. Podkožní tkáň je největší zásobárnou energie a uložištěm vitamínů, které se

rozpouští v tukách (K, E, D, A). Její funkcí je udržet orgány na svém místě, ochraňovat je před poškozením, vyplňovat místo mezi ostatními vrstvami a hraje velkou roli při termoregulaci a izolaci těla. Složky *tela subcutanea* jsou *adipocyty* (tukové buňky), krevní cévy a vazivové tkáně. Vazivová tkáň je spolu s vazivem škóry jakousi sítí pro tukovou tkáň.

Váha podkožní tkáně odpovídá okolo 9–20 % celkové váhy člověka, ale při obezitě může dosahovat až 70 % celkové tělesné váhy. Tloušťka *hypodermis* je závislá na umístění na těle, pohlaví a staří člověka (oční víčka × stehna) [2] [3].

2.2. Kožní orgány (adnexa)

Kožní orgány jsou především lokalizovaná v *dermis* ale úzce souvisí i s ostatními částmi kůže. Pokud dojde k jejich poškození, jsou schopny se obnovit díky migraci keratinocytů. Rozdělujeme je na žlázová adnexa (mazové žlázy, potní žlázy) a keratinizovaná adnexa (vlasy, nehty) [1] [2].

2.2.1. Žlázová adnexa

Mazové žlázy se vyskytují v takzvané seboroické lokalizaci, to je v místech horní části hrudníku a na obličeji. Na těle člověka jich najdeme okolo 300 000. Většina mazových žláz se vyskytuje u vlasových folikulů. Tato spojitost má význam v promašťování vlasů, protože mazové žlázy produkují *sebum* (maz), který pokožku chrání před smáčením a promazává ji. Kožní maz je složen z typického lipidu *squalen* a triacylglycerolů, po jejichž rozštěpení dochází k uvolnění volných mastných kyselin, které jsou příčinou kyselější pokožky. Tímto je pokožka hlavy chráněna proti mikrobiálnímu napadení. Činnost mazových žláz je ovlivňována hormonálně.

Potní žlázy jsou rozděleny na *ekrinní* a *apokrinní*. *Ekrinní* potní žlázy (malé potní žlázy) jsou rozmístěny po celém povrchu těla, především v podpaží, na dlaních a chodidlech. Ústí přímo na povrch kůže. Pomáhají člověku s termoregulací tím, že vylučují pot, který je složený především z vody a iontů. Sekrece je ovlivňována mnoha vlivy. *Apokrinní* potní žlázy (velké potní žlázy) se nacházejí v podpaží vázány na vlasový folikul. Také se jim říká „aromatické“ žlázy, protože produkují lipidický sekret, který samostatně nezapáchá, ale jeho bakteriální rozklad je doprovázen charakteristickým zápachem [1] [2] [4].

2.2.2. Vlasy

Vlasy patří mezi keratinizovaná kožní adnexa. Nejen že tělo chrání, ale mají roli i v psychosociální rovině lidí. Vlasový folikul (váček), z něž vyrůstá vlas, je vchlípená pokožka do škóry. Tvorba vlasových váčků a jejich rozmístění po těle je zahájena při vývoji plodu. Na těle jich najdeme okolo 5 milionů a na hlavě okolo 1 milionu. Po narození se další vlasové váčky netvoří.

Do vlasového váčku vyústuje mazová žláza, pod ní se upíná na váček sval – vzpřimovač vlasu. Folikul se skládá z vlasové pochvy, která sahá až po vyústění mazové žlázy. V dolní části váčku je rozšíření, které se nazývá vlasová cibulka, do jejíž spodní části je vchlípenina ze škóry spolu s cévami nazývaná jako vlasová bradavka (*papila*). Z vlasové cibulky vlas přechází do vlasového kořene. Tyto dva úseky jsou živá část vlasu. Vyčnívající část vlasu nad pokožkou, kmen (stvol) vlasu, je označovaná jako keratinizovaná (neživá) část.

Vlas je složen z dřene, kůry a kutikuly. Dřeň je soubor buněk, které se utváří ve vlasové *papile* a jsou „středem“ vlasu. Vlasová kůra zapřičiňuje barvu vlasu, protože obsahuje *pigment*, barvivo *melatonin* produkované melanocyty ve vlasové cibulce. Podle množství barviva je určen barevný typ vlasů. Do dospělosti lidem *melatonin* přibývá, poté ve vyšším věku ubývá. Šedivění, ale není příčina ztráty pigmentu, nýbrž přítomností vzduchových bublinek mezi buňkami vlasu.

Vlas za každý den vyroste o cca 0,3–0,5 mm a na hlavě zůstane po dobu 2–5 let. Jeho tloušťka je průměrně okolo 68 μm , záleží na umístění a pohlaví člověka. Jsou rozeznávány tři typy vlasů podle tvaru průřezu: rovné, vlnité, kudrnaté [1] [2] [4].

2.3. Kožní onemocnění

Kožní onemocnění jsou četná a mnoho lidí tuto nemoc prodělalo. se s tímto onemocněním potkal. Mezi tato onemocnění můžeme řadit atopický ekzém, dermatomykózy (onemocnění způsobená kvasinkami), akné, bradavice či bodnutí hmyzem. Velká většina nemocí negativně ovlivňuje psychiku člověka [5] [6].

2.3.1. Lupy (Pityriasis capitis)

Lupy se řadí mezi nemoci vlasové pokožky projevující se malými bílými šupinkami odumřelé kůže na jejím povrchu. Chorobu prodělá okolo 80 % populace lidí ve věku 20–40 let. Nejedná se o závažné onemocnění, spíše jde o kosmetický problém, který by se měl řešit kvůli psychické stránce člověka [7] [8] [9].

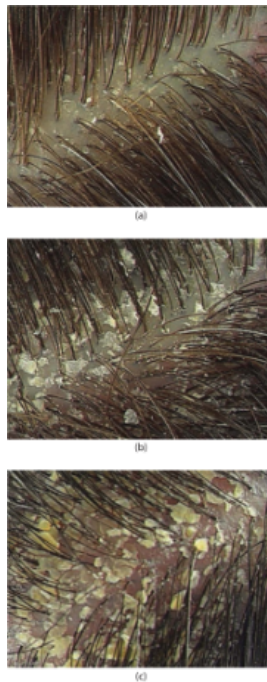
2.3.2. Projevy a příčiny

Toto onemocnění se projevuje suchou, svědivou a šupinatou kůží. Zdravá kůže bez onemocnění se také olupuje, ale v menší míře, které je sotva viditelné. Protože vrstva pokožky se neustále obnovuje (viz kapitola 2.1) jsou na povrchu *stratum corneum* odumřelé buňky a okem je vidíme jako malé šedobílé šupinky. Pokud se rychlost pohybu buňky k horní vrstvě v pokožce zvýší, tím se zvýší i četnost a viditelnost odlupujících se šupinek. Lupy se především vyskytují na mastné vlasové pokožce. Někteří výzkumníci míní, že pojmem lupy by měla být pojmenována jakákoliv se odlupující kůže. Druzí pokládají lupy za lehčí formu seboroické dermatitidy (SD) [7] [8] [9].

SD a lupy jsou v podstatě stejná onemocnění, jen se liší závažností zánětu a vzhledem šupinek. U seboroické dermatitidy se vyskytuje zarudlá pokožka a mastné nažloutlé

šupiny, které se nachází v oblasti s největším výskytem mazových žláz (pokožka hlavy, obličej a horní část trupu), které jsou u těchto onemocnění nadměrně aktivní. Onemocnění pokožky má dopad i na kvalitu vlasů. Při lupách i seboroické dermatitidě jsou vlasy křehčí, tenčí a postrádají lesk. Porovnání vlasových pokožek u onemocnění je vidět na obrázku 2.1.

Přesná příčina lupů není známá. Klimatické podmínky (především zimní období), zásaditá pokožka hlavy, stres, hormony nebo kvasinka rodu *Malassezia* jsou jedny z možných příčin lupů. Studie [10] potvrzuje, že při výskytu lupů je ve vlasové pokožce přítomna i *Malassezia furfur* (*M. furfur*). Další druhy z rodu *Malassezia* se vyskytují už jen v malé míře. Kvasinky mohou profitovat na přeměně látek kožního mazu [7] [8] [9].



Obrázek 2.1: a - zdravá pokožka, b - pokožka s lupy, c - seborrea [9]

2.3.3. Léčba

K léčbě lupů se využívají látky přidávající se nejčastěji do šamponů, protože toto použití je nejméně náročné pro uživatele. Jeden z názorů, jak na potlačení lupů, je zpomalení keratinizace vlasové pokožky a rozpad šupinek na menší částičky. Další možností je použití antimykotických přípravků, které léčí infekce způsobené houbami, plísněmi či kvasinkami [11].

Mezi látky, které se používají při léčbě patří sulfid seleničitý, kyselina salicylová, ketokonazol nebo pyrithion zinečnatý. Z výzkumu vyšlo najevo, že i flukonazol má velmi dobrou inhibiční zónu pro *Malassezii furfur* [10] [12].

Pyrithion zinečnatý je účinný v boji proti *M. furfur* a také zpomaluje šupinatění kůže.

2.4. KOSMETICKÉ PRODUKTY PROTI LUPŮM

Deriváty sulfidů jsou keratolytické, rozpouští keratin, který je na povrchu pokožky tvořený keratinizovanými buňkami. Výsledkem je rozpad viditelných šupinek kůže. Dlouhodobá léčba sulfidy má za příčinu lámání vlasů.

Kyselina salicylová působí podobně jako deriváty sulfidu. Dochází ke snížení šupinek na vlasové pokožce.

Ketokonazol je imidazolový derivát ze spektra antimykotických preparátů. Potlačuje růst a reprodukci hub tím, že narušuje syntézu ergosterolu, důležitá součást buněčných stěn hub [7] [10] [12] [13].

2.4. Kosmetické produkty proti lupům

Jako kosmetický přípravek lze považovat látku nebo směs, určenou pro styk s lidskou kůží a jejími částmi, zuby a sliznicemi v dutině ústní. Účelem tohoto přípravku je čištění, parfemace, změna vzhledu, ochrana a úprava tělesných pachů výše popsanych částí těla. Takto Evropská unie definuje kosmetický produkt. Evropský parlament v nařízení č. 1223/2009 právně ošetřuje uvedení na trh, nakládání s přípravkem, jeho obsah, označování, či stažení z trhu. Také uvádí, že rámcové složení deklaruje kategorie (viz Tabulka 2.1) a maximální koncentraci složek s jejich funkcí [14].

Tabulka 2.1: Kategorie rámcového složení [15]

Kategorie	Zástupci
Péče o pleť	Krém, gel, tonikum
Čištění pleti	Čistící gel, peeling, mýdlo
Odstraňování chloupků	Krém, gel, vosk
Odbarvování chloupků	
Korekce tělesného pachu a/nebo pocení	Deodorant, antiperspirant
Přípravky na holení	Krém, gel, pěna, balzám
Make-up	Korektor, pudr, řasenka
Parfémy	Toaletní voda, kolínská voda
Přípravky na opalování a samoopalovací přípravky	Krém, olej, mléko
Přípravky pro péči o vlasy a pokožku hlavy	Šampon, kondicionér, voda
Přípravky pro barvení vlasů	Šampon, zesvětlovač
Přípravky pro závěrečnou úpravu vlasů	Lak, pasta, vosk, tužidlo
Lak na nehty a odlakovač	Lak, bílá tužka
Péče o nehty	Kondicionér na bázi oleje
Péče o zuby	Zubní pasta
Ústní voda/ ústní sprej	

2.4.1. Šampon

Hustá viskózní kapalina s detergentem, která se používá k mytí vlasů se nazývá šampon. Jeho konzistence nemusí být vždy tekutá, můžeme mít sypký, aerosolový, gelový či spe-

2.4. KOSMETICKÉ PRODUKTY PROTI LUPŮM

ciální šampon. K speciálnímu typu se řadí ty, které jsou medikované. Látky pro výrobu šamponu by neměly být toxické a nijak dráždivé pro vlasovou pokožku a oči.

Směs tenzidů (povrchově aktivních látek) zvaná detergent, je schopna převádět nečistoty do druhé fáze (z povrchu pokožky a vlasů do kapaliny). Mezi nejčastěji používané tenzidy patří laurethsulfát sodný nebo laurylsulfát amonný. Jedna z mnoha složek může být kondicionér (například silikony), který by měl vlasy uhladit a pomoci snadnému rozčesávání. Další přísadou jsou konzervační látky, zabraňující růstu mikroorganismů a stabilizující produkt. Ostatní složky šamponu a rámcové složení tekutého šamponu je uvedeno na obrázku 2.2 [16] [17] [18].

Číslo rámcového složení: **10.1 - 2011**

ŠAMPON – TEKUTÝ, KRÉM, PASTA

<u>Přísady</u>	<u>Maximální obsahy (% hmot.)</u>
Aniontové povrchově aktivní látky (např. <i>sodium/ammonium/TEA lauryl sulfates, sodium/ammonium/TEA laureth sulfates</i>)	30
Amfoterní povrchově aktivní látky (např. <i>betaine-deriváty</i>)	20
Neiontové povrchově aktivní látky (např. <i>alkanolamidy mastných kyselin</i>)	15
Zahušťovadla (např. <i>propylene glycol, PEG</i>)	10
Kationtové povrchově aktivní látky $\geq C_{12}$ (např. <i>stearamidopropyl dimethylamine, behentrimonium chloride</i>)	5
Vlasové kondicionéry (např. <i>silikony, včetně prchavých silikonů (např. cyclopentasiloxane, dimethicone, amodimethicone), silany (např. alkoxyxilany), cystein-deriváty, cellulose-deriváty, estery mastných kyselin</i>)	15
Další přísady (např. <i>UV filtry, perleťující přísady, zneprůhledňovací přísady</i>)	10
<i>Parfum</i>	2
Konzervační přísady, antimikrobiální přísady	1
Chelatační činidla (např. <i>disodium EDTA</i>)	0,5
<i>Aqua</i>	až 100

Obrázek 2.2: Rámcové složení šamponu [15]

2.4.2. Produkty na trhu

Na trhu lze v dnešní době najít šampony obsahující různé látky působící proti lupům. Mezi látky přírodního původu můžeme řadit extrakty nebo oleje z konopí, kopřivy nebo šalvěže. Můžeme je nalézt v šamponech jako je: RYOR Konopný šampon, Topvet Wellnes konopný šampon, Cannaderm Capillus šampon proti lupům nebo Urtekram Šampon kopřivový proti lupům. Druhou skupinou jsou látky antimykotické, mezi něž patří ketokonazol, pyrithion zinečnatý, selen disulfid nebo piroctone olamine. Tyto složky se nacházejí v šamponech: Cannaderm Capillus šampon proti lupům, Sebamed šampon proti lupům,

Head & Shoulders šampon proti lupům. Jako další účinnou složku šamponů lze považovat i SLES nebo konzervanty, které vykazují antimykotické účinky [19].

2.5. Konopí (*Cannabis*)

Konopí je jednoletá rostlina z čeledi konopovitých pocházející z Asie, která je již po desetitisíce let využívána pro své léčebné účinky. Obsahuje nejen látky psychotropní a psychoaktivní, využívané v lékařství, ale i látky, které jsou lidskému tělu prospěšné. Například mastné kyseliny, vitamíny, proteiny či vláknina.

2.5.1. Historie

Předky konopí bychom mohli v historii najít v Asii na svazích Himalájí a na Altaji. V průběhu mladší doby kamenné se tlupy usazovaly, a tak při osidlování zarostlých ploch, mohli okolo svých obydlí narazit na *Cannabis*.

O využívání konopí i jeho pěstování se nejvíce prosadila Čína v údolí Žluté řeky, kde se vlákna z rostlin *Cannabis* používaly k výrobě lan, sítí pro rybolov a šatů. Okolo 1. století n. l. byly konopná semena ve stravě lidí nahrazena chutnějšími obilovinami. V Asii se také začalo s lisováním semen, kdy byl olej využíván při vaření, svícení či výrobě mýdla. Ani kořen *Cannabis* nezbyl bez povšimnutí, jeho účinky byly využívány při obkladech a operacích. Staré šatstvo a sítě z konopí se recyklovalo při výrobě papíru. Na africkém kontinentu v oblasti Viktoriina jezera je *Cannabis* spjaté s náboženskými rituály [20] [21].

V Evropě je konopí známé díky kočovnému kmenu Skytů. Jako v oblasti Asie se zde *Cannabis* používalo především na konopná lana. Fyzické důkazy o přítomnosti konopí v minulosti jsou nám známy z nalezišť v Německu, Švýcarsku, Rumunsku, ale i v České republice. Například na jižní Moravě v Dolních Věstonicích. Byly nalezeny otisky provázků na keramice, konopná semena, pyl konopí. Ve Středomoří zpracovávali konopí Keltové, Řekové a Římané na provazy a plachty.

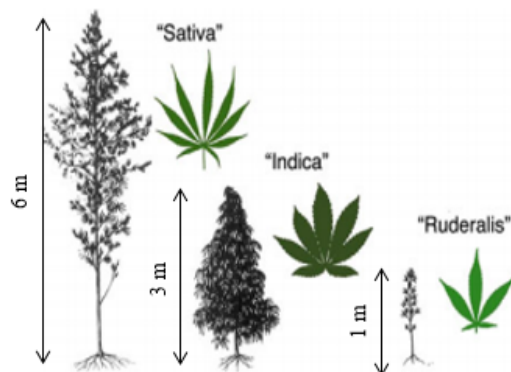
Během staletí se konopí dostalo do mnoha odvětví průmyslu, například první tištěná kniha v Evropě je vytištěna na konopném papíru. V některých zemích bylo vládci nakazováno poddaným, aby na části svých polí pěstovali konopí na výrobu lan, sítí nebo plachet. Lidé, ale časem přecházeli na jiné plodiny kvůli nízké výkupní ceně konopí. Velké odvětví hospodářství, úmluva o omamných látkách a světová válka zapříčinili velké omezení pěstování konopí [20] [21].

2.5.2. Taxonomie

Botanický popis rostliny sepsal římský botanik Plinius starší, který ve své knize popsal i postup setí, sklizení a zpracování této vzácné rostliny. Oficiální charakteristika rostliny je připisovaná švédskému botanikovi Carl Linému. Konopí se rozděluje na tři druhy *Cannabis sativa* (konopí seté), které našel a popsal Carl Liné, *Cannabis indica* (konopí indické) objevena francouzským biologem Jean Babtistou de Lamarckem a *Cannabis ruderalis*

2.5. KONOPÍ (CANNABIS)

(konopí rumištní), jež charakterizoval Rus Dmitrij Janiševskij. Výše zmíněné druhy jsou vyobrazeny na obrázku 2.3 [20] [21].



Obrázek 2.3: Druhy konopí - upraveno [22]

Konopí se nejdříve řadilo do čeledi kopřivotvarých, kam spadaly rostliny kopřivovité a hluchavkovité. Později byla vytvořena samostatná čeleď konopovité (*Cannabaceae*). Tato čeleď zahrnuje dva významné rody: konopí (*Cannabis*) a chmel (*Humulus*). Klasifikaci konopí v botanice zobrazuje tabulka 2.2 [20] [21].

Tabulka 2.2: Botanická klasifikace konopí [21]

	Česky	Latinsky
Podříše	cévnaté rostliny	<i>Tracheobionta</i>
Oddělení	krytosemenné	<i>Magnoliophyta</i>
Třída	vyšší dvouděložné	<i>Rosopsida</i>
Řád	růžotvárné	<i>Rosales</i>
Čeleď	konopovité	<i>Cannabaceae</i>
Rod	konopí	<i>Cannabis</i>
Druh	seté indické rumištní	<i>Sativa</i> <i>Indica</i> <i>Ruderalis</i>

2.5.3. Druhy konopí

2.5.3.1. Konopí seté

Cannabis sativa je štíhlá a šest metrů vysoká jednoletá rostlina. Světle zelené listy rostou řidčeji a jsou úzké. Nejlépe se jí daří v mírném klimatickém pásu, kde přirozeně obsahuje méně psychoaktivních látek. Z tohoto druhu byly vyšlechtěny hospodářsky využitelné odrůdy konopí [20] [21] [23].

2.5.3.2. Konopí indické

Cannabis indica je typické menším vzrůstem než konopí seté. Dorůstá do výšky 1–3 metrů. Podobá se keřům, má tmavě zelené hustě rostené široké listy a hojné květenství. Vyskytuje se v subtropickém až tropickém páse – Indie, Írán, Afghánistán. Květy produkují větší množství pryskyřice, ze které se vyrábí hašiš. Rostlina obsahuje více omamných látek, a tak je pro pěstitele marihuany zajímavější [20] [21] [23].

2.5.3.3. Konopí rumištní

Posledním druhem je *Cannabis ruderalis*, rostlina malého vzrůstu s tenkým vláknitým stonkem a malým množstvím listů. V ruských tajgách a tundrách roste jako plevel [20] [23].

2.6. Látky obsažené v konopí

Rostliny konopí obsahují více než 480 chemických látek, z toho je 66 kanabinoidní povahy. Obsah všech látek ale i růst je ovlivněn podnebím a klimatickými podmínkami [24] [25].

2.6.1. Kanabinoidní povahy

Kanabinoidy lze zařadit mezi fenolické terpeny, které spadají pod isoprenoidy. Koncentrace látek je ovlivněna odrůdou, dobou sklizně a částí rostliny, z které jsou látky extrahovány. Látky nacházíme v největších koncentracích především v květech konopí. Hlavním prekurzorem je CBGA (kyselina kanabigerolová), z které pak po dekarboxylaci vzniknou kanabinoidy THC, CBD a CBC. Struktura sloučenin je vyobrazena na obrázku 2.4. Tyto látky, které jsou izolovány z konopí jsou dnes označovány jako fyto-kanabinoidy, aby nemohlo dojít k záměně se syntetickými látkami [24] [25] [26].

- THC

THC neboli Δ^9 -tetrahydrokanabinol byl poprvé izolován v 60. letech 20. století. Je nejčastějším nositelem halucinogenních účinků konopí. Kromě toho má analgetické účinky a působí na uvolnění svalů. THC je možné nalézt ve všech odrůdách konopí. Jeho obsah v technickém konopí je regulován Evropskou unií [27] [28].

- CBD

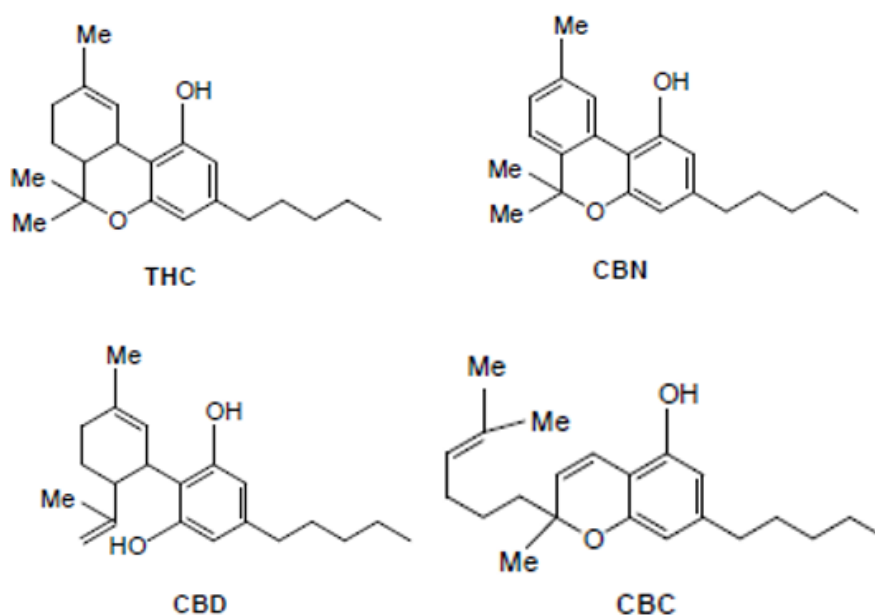
CBD je jedna z hlavních nepsychotropních látek konopí. Kanabidiol (CBD) se vyskytuje bezmála ve všech odrůdách konopí. Má antibakteriální, antioxidační a antimykotické účinky. V klinických studiích je dokázáno, že má protiúzkostné, antipsychotické a protiartritické vlastnosti. Vyšší obsah CBD může zvyšovat bezpečnost konopí, protože snižuje efekt THC [26] [29].

- CBC

Kanabichromen (CBC) je další nepsychootropní látkou. Mezi jeho účinky patří analgetické, protizánětlivé, cytotoxické, antibakteriální a sedativní vlastnosti. Má schopnost snižovat intoxikaci THC [26] [27].

- CBG

Kanabigerol (CBG) je v menší míře antimykotický, analgetický a bojuje proti začervenání kůže. Poslední výzkumy ukazují, že ve vysokých dávkách je cytotoxický pro buňky rakoviny [27].



Obrázek 2.4: Strukturní vzorce fytokannabinoidů [28]

2.6.2. Nekanabinoidní povahy

- Terpeny

Terpeny jsou sloučeniny lipofilní povahy a jsou snadno propouštěny membránami. Terpeny mohou být acyklické, monocyklické nebo polycyklické uhlovodíky. Charakteristická vůně a chuť konopí jsou způsobena přibližně stovkou různých molekul terpenů [25] [26].

- Ostatní látky

V konopí bylo detekováno 50 známých sloučenin uhlovodíků. Sacharidů bylo nalezeno 18, 12 cukerných alkoholů a 2 aminosacharidy. V oleji ze semínek konopí bylo identifikováno 33 různých převážně nenasycených mastných kyselin. Nejvíce zastoupené byly kyseliny linolová, α -linolenová a olejová [25].

2.7. Použité mikroorganismy

2.7.1. *Candida glabrata* CCM 8270

Haploidní kvasinka rodu *Candida* zapříčiňující kandidózy. Jediná z rodu *Candida* netvoří pseudohyfy při teplotě $> 37\text{ °C}$ [30].

Tabulka 2.3: Klasifikace *C. glabrata* [31]

Dělení	Latinsky
Doména	<i>Fungi</i>
Kmen	<i>Ascomycotas</i>
Třída	<i>Saccharomycetes</i>
Řád	<i>Saccharomycetales</i>
Čeleď	<i>Saccharomycetaceae</i>
Rod	<i>Candida</i>
Druh	<i>Candida glabrata</i>

2.7.2. *Escherichia coli* CCM 7395

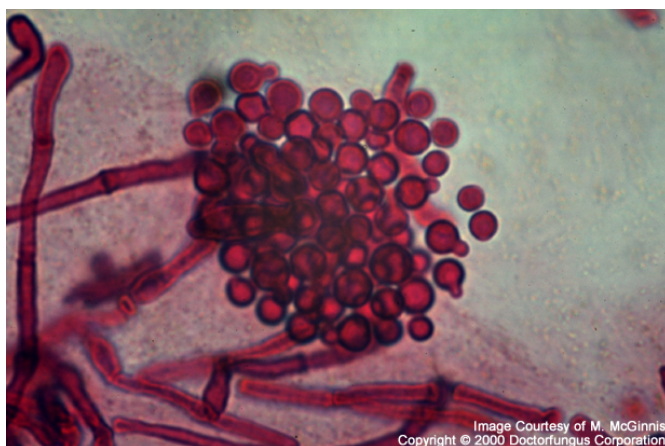
Escherichia coli (*E. coli*) je gramnegativní bakterie rodu *Escherichia*. Je používána jako modelový organismus. Běžně ji najdeme jako součást mikroflóry ve střevech. Zde se jedná o prospěšný mikroorganismus, pomáhající při tvorbě vitamínu K a bránící proti průniku patogenů. Pokud se nachází mimo střevo, je vždy choroboplodná [32].

Tabulka 2.4: Klasifikace *E. coli* [33]

Dělení	Latinsky
Doména	<i>Bacteria</i>
Kmen	<i>Proteobacteria</i>
Třída	<i>Gamma Proteobacteria</i>
Řád	<i>Enterobacteriales</i>
Čeleď	<i>Enterobacteriaceae</i>
Rod	<i>Escherichia</i>
Druh	<i>Escherichia coli</i>

2.7.3. *Malassezia furfur* CCY 85-2-1

Dřívějším názvem *Pityrosporum ovale* je lipofilní kvasinka rodu *Malassezia*. Tento rod zahrnuje tři druhy kvasinek vyskytujících se u zvířat a deset druhů vyskytujících se u lidí. Jedná se o mikroorganismus, který běžně v malé míře najdeme na lidské kůži. Ve větší míře se kvasinka vyskytuje při onemocnění lupy, seboroickou dermatitidou nebo *pityriasis versicolor*. Ve studii [10] se testovalo na 25 příkladech, jaké druhy rodu *Malassezia* budou přítomny ve vzorcích lupů. Výzkum ukázal více jak 60% přítomnost druhu *Malassezia furfur* ve zkoumaných lupech [12] [34].

Obrázek 2.5: *Malassezia furfur* [35]Tabulka 2.5: Klasifikace *M. furfur* [36]

Dělení	Latinsky
Doména	<i>Fungi</i>
Třída	<i>Exobasidiomycetes</i>
Řád	<i>Malasseziales</i>
Čeleď	<i>Malasseziaceae</i>
Rod	<i>Malassezia</i>
Druh	<i>Malassezia furfur</i>

2.7.4. *Micrococcus luteus* CCM 1569

Grampozitivní, kulovitá bakterie rodu *Micrococcus*. Tvoří shluky ve čtvercích a je striktní aerob. Při kultivaci na agaru tvoří žluté kolonie. Je velmi oblíbený při vědeckých výzkumech [37] [38] [39].

Tabulka 2.6: Klasifikace *M. luteus* [39]

Dělení	Latinsky
Doména	<i>Bacteria</i>
Kmen	<i>Actinobacteria</i>
Třída	<i>Actinobacteria</i>
Řád	<i>Actinomycetales</i>
Čeleď	<i>Micrococcaceae</i>
Rod	<i>Micrococcus</i>
Druh	<i>Micrococcus luteus</i>

2.8. Metody použité při analýze

2.8.1. Extrakce

Extrakce je jednou ze separačních metod, při které přechází látky mezi dvěma nemísitelnými fázemi (kapalina – kapalina, kapalina – pevná látka). Jde o zvolení vhodného rozpouštědla, aby byla podpořena vyšší rozpustnost jedné látky než druhé. Pokud jde o extrakci pevných látek, jedná se o luhování látek z pevné fáze do kapaliny [40] [41].

2.8.2. Kapalinová chromatografie

Chromatografie patří mezi separační metody. Základem je dělení zkoumané látky mezi pohyblivou (mobilní) a nepohyblivou (stacionární) fází. Chromatograf je označení pro přístroj určený k separaci. Jeho schéma je uvedeno na obrázku 2.6.

Kapalinová chromatografie je o unášení složek zkoumané látky kolonou pomocí mobilní fáze, která je kapalná. Nejznámější technikou je vysokoúčinná kapalinová chromatografie (High Performance Liquid Chromatography). Podle nanesení vzorku a průběhu separace dochází k rozdělení na chromatografie eluční, frontální a vytěšňovací. Pohyblivá fáze je tvořena rozpouštědlem čistým nebo směsí (nejčastěji směs polárnějšího a méně polárního rozpouštědla). Aby se získalo optimální rozlišení, dochází v čase ke změnám polarity směsi pohyblivé fáze. Této změně se říká gradient složení fáze a je umožněn pístovou pumpou. Další dávkovací zařízení je lineární dávkovač, který má přesně definovaný průtok mobilní fáze a před měřením je naplněn fází. Během měření nedochází ke změně fáze, tím je vytvořena izokratická eluce. Vzorek musí být nereaktivní se stacionární fází a rozpustný ve fázi mobilní. Složky vzorku jsou unášeny stejnou rychlostí jako mobilní fáze, nebo jsou zadržovány (adsorpce a rozpouštění složek ve stacionární fází) na koloně. K detekci se používají detektory spektrofotometrické, fluorometrické, amperometrické nebo diferenciální refraktometrické. Záznam signálu ve formě píků se nazývá chromatogram. Symetrický pík je ideálním tvarem. Jeho parametry udávají kvantitu a kvalitu zkoumané látky [41].



Obrázek 2.6: Schéma chromatografu [41]

2.8.3. Spektrometrie v UV-VIS oblasti

Ultrafialová oblast je 180–380 nm a viditelná oblast je definována 380–780 nm vlnové délky. Zkoumaný analyt je v základním energetickém stavu a při spektrometrickém měření dochází do stavu excitovaného. K tomu dochází při dodání tepelné energie nebo když je analyt ovlivněn zářením z vnějšího zdroje. Při absorpční spektrometrii dochází k deexcitaci (vrácení se zpět do základního energetického stavu), která je nezářivá, tedy

záření z vnějšího zdroje bylo absorbováno analytem. Nejčastěji se měří kapaliny v neabsorbujících rozpouštědlech. Pro analýzu jsou potřeba kyvety, a protože jde o oblast UV, je nutné provádět měření v křemenných kyvetách. Výstupem měření bývá spektrum se závislostí absorbance na vlnové délce záření. Kvantitativně se stanovují látky pomocí Lambert-Beerova zákona [41].

2.8.4. Difúzní agarový test

Jedná se o test kvalitativní a informuje o citlivosti zkoumaného kmene na antibiotikum nebo antimikrobiální látky. Na tuhém agarovém médiu v Petriho misce je naočkovaný zkoumaný mikroorganismus a v jamkách je přesné množství analyzované látky. Ta difunduje a způsobuje inhibiční zóny. Výsledky testu jsou ovlivněny mnoha faktory a musí být přesně definovány podmínky: kultivační půda, množství a koncentrace bakteriálního/kvasinkového inokula, velikost antibiotických disků a doba inkubace [42] [43].

3. Cíl práce

Cílem této bakalářské práce, která se zabývá technickým konopím v kosmetice působící proti lupům, je vypracování a shrnutí těchto bodů:

- vypracování literární rešerše shrnující problematiku tvorby lupů a aktuální informace o aktivních látkách používaných v přípravcích proti lupům
- stanovení a charakterizace aktivních látek z vybraných částí rostliny konopí
- návrh a testování vybraných kosmetických výrobků proti lupům s obsahem aktivních látek z konopí

4. Experimentální část

4.1. Využité přístroje, chemikálie a komerční produkty

4.1.1. Přístroje

- Sušárna Memmert GmbH + Co. KG (SRN)
- Předvážky Kern 440-43, Kern & Sohn GmbH (SRN)
- Analytické váhy Boeco (SRN)
- Spektrofotometr VIS, Helios , Unicam (GB)
- Vortex, TK35, Kartell spa (USA)
- Laminární box Airstream, ESCO (SN)
- Flow box Aura mini, Bio Air Instrument, USA
- Temperovaná třepačka HeidolphUnimax 1010, Labbicom (ČR)
- Sestava HPLC/PDA/MS, Thermo Finnigan Surveyor, Thermo Fischer (USA)
- Kolona Kinetex 5 μm C18, 4,6 \times 150 mm, Agient Technologies (USA)
- Automatické pipety, běžné laboratorní pomůcky a sklo

4.1.2. Chemikálie

- Ethanol absolute 99,98%, VWR (USA)
- Dusitan sodný, p. a., Lachema (ČR)
- Chlorid hlinitý, p. a., Lach-Ner (ČR)
- Hydroxid sodný, p. a., Lach-Ner (ČR)
- Katechin, SIGMA-ALDRICH (SRN)
- Folin-Ciocalteu činidlo, Serva (SRN)
- Uhličitan sodný, Lach-Ner (ČR)
- Kyselina gallová, SIGMA-ALDRICH (SRN)
- ABTS, SIGMA-ALDRICH (SRN)
- Peroxodisíran draselný, p.a., SIGMA-ALDRICH (SRN)
- Trolox, SIGMA-ALDRICH (SRN)

- NB medium, Himedia (IND)
- LB medium, SIGMA-ALDRICH (SRN)
- D-glukose, p. a., Lach-Ner (ČR)
- Glycerin bezvodý, p. a., Lach-Ner (ČR)

4.1. VYUŽITÉ PŘÍSTROJE, CHEMIKÁLIE A KOMERČNÍ PRODUKTY

- Agar Powder, Himedia (IND)
- Polysorbát 80, Dr. Kulich Pharma, s. r. o. (ČR)
- Pepton, Roth (SRN)
- Kvasničný extrakt, Himedia (IND)

- Methanol HPLC, PENTA (ČR)
- Kanabichromen CBC, SIGMA-ALDRICH (SRN)
- Kanabidiol CBD, SIGMA-ALDRICH (SRN)
- Kanabigerol CBG, SIGMA-ALDRICH (SRN)
- Kanabinol CBN, SIGMA-ALDRICH (SRN)

- Fenoxyetanol, ACE Trade (ČR)
- Glycerin bezvodý, p.a., Lach-Ner (ČR)
- Laurylethersulfát sodný, ACE Trade (ČR)
- Cocamidopropylbetaine, ACE Trade (ČR)
- Chlorid sodný, p.a., Lachema (ČR)

4.1.3. Komerční produkty

Pro přípravu směsi konopí a bylin byly zakoupeny sušené listy kopřiv a oliv od firmy Sonnentor na obrázku 4.1. Listy myrty jsou z vlastních zdrojů.

Pro porovnání vyrobených kosmetických přípravků byl zakoupen šampon značky Ryor a vlasová voda značky Bione cosmetics. Oba komerční produkty jsou na obrázku 4.1.

- Ryor Cannabis Derma Care Konopný šampon se zklidňujícím efektem má složení: Aqua, Sodium Laureth Sulfate, Cocamidopropyl Betaine, Disodium Laureth Sulfosuccinate, Sodium Olivoyl/Cocoyl Aminoacids Fructoside, Propanediol, Zizyphus Joazeiro Bark Extract, Sodium Chloride, Cannabidiol, Yogurt Powder, Cannabis Sativa Seed Oil, Guar Hydroxypropyltrimonium Chloride, Menthol, Sodium Benzoate, Potassium Sorbate, Sodium Hydroxide, Parfum, Citronellol, Linalool, Lactic Acid.
- Bione Vlasová voda CANNABIS s panthenolem má složení: Aqua, Alcohol Denat, Panthenol, Cannabis Sativa Leaf Extract, Parfum, Phenoxyethanol, Cetrimonium Chloride, Lactic Acid, C.I. 42051, C.I. 19140.



Obrázek 4.1: Komerční produkty

4.2. Příprava extraktů

Byly připraveny čtyři varianty extraktů konopí. Nejdříve byl připraven extrakt navážením 15 g směsi čerstvého konopí. Z usušeného konopí byly připraveny extrakty obsahující 15 g jen květů, jen listů a jejich směs. Navážené části rostlin byly zality 100 ml 60% roztoku ethanolu pro UV-VIS. Hrdla Erlenmeyerových baněk s připravovanými extrakty byla zabalena alobalem. Extrakt byl ponechán týden ve tmě a poté byl zfiltrován přes gázu do tmavých lékových lahviček na obrázku 4.2. Tento postup byl aplikován při přípravě extraktů pro odrůdy Carmagnola i Ferimon. Čerstvé konopí bylo sušeno v sušárně při 40 °C po dobu 4 dnů. Obsah vody byl stanoven gravimetricky.

4.2. PŘÍPRAVA EXTRAKTŮ



Obrázek 4.2: Úschova připravených extraktů

Vytvořeny byly i extrakty ze směsi konopí a bylin. Pro extrakt bylo naváženo 7,5 g směsi konopí odrůdy Carmagnola a 7,5 g listů kopřivy. Totéž bylo provedeno pro olivový list a listy myrty. Na obrázku 4.3 je vidět navážka bylin v baňkách. Navážené směsi bylin byly zality 100 ml 60% roztokem ethanolu pro UV-VIS. Tento postup byl použit i pro přípravu extraktů s odrůdou feromon. Doba extrakce, zfiltrování a následná úschova byla stejná jako pro přípravu extraktu z čistého konopí, která byla popsána výše. Takto vytvořené extrakty byly použity při stanoveních a výrobě kosmetických produktů.



Obrázek 4.3: Navážené byliny v Erlenmeyerových baňkách

4.3. Metody ke stanovení aktivních látek v konopí

4.3.1. Stanovení celkových polyfenolů

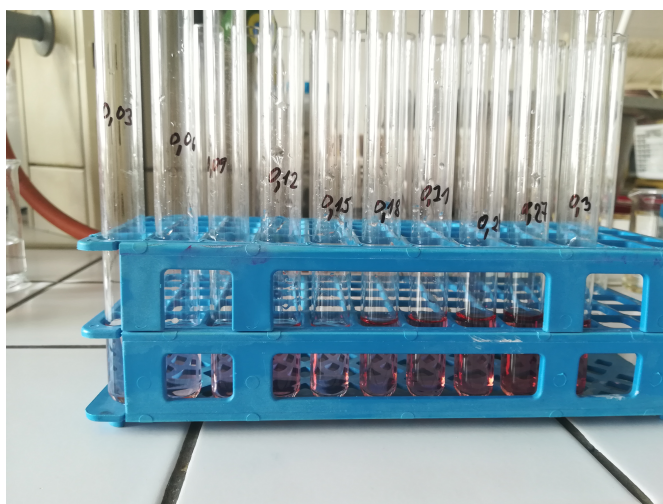
Pro stanovení celkových polyfenolů v extraktech byla použita spektrofotometrická metoda reakce Folin-Ciocalteuovým činidlem. Kalibrační křivka byla sestrojena pomocí standardu kyseliny gallové v rozmezí koncentrace 0–0,5 mg·ml⁻¹. Modré zbarvení měřených vzorků bylo proměřeno při vlnové délce 750 nm. Jako slepý vzorek při měření absorbance byl použit 60% roztok ethanolu pro UV-VIS.

Do zkumavky byl napipetován 1 ml Folin-Ciocalteuova činidla zředěného 1:9 destilovanou vodou. K tomu byl přidán 1 ml destilované vody a 50 μl extraktu konopí. Po zamíchání se nechala směs stát 5 min. Poté byl přidán 1 ml nasyceného roztoku Na₂CO₃ a směs byla promíchána. Po 15 min byla proměřena absorbance. V závislosti na vzniklém modrém zbarvení odpovídá intenzita koncentraci celkových polyfenolů v měřených vzorcích.

4.3.2. Stanovení celkových flavonoidů

Pro stanovení celkových flavonoidů v extraktech byla použita spektrofotometrická metoda reakce s dusitanem a hlinitou solí. Kalibrační křivka byla sestrojena pomocí standardu katechinu v rozmezí koncentrace 0–0,3 mg·ml⁻¹ (obrázek 4.4). Světle oranžové zbarvení vzorků bylo proměřeno při vlnové délce 510 nm. Při měření absorbance byl použit slepý vzorek 60% roztok ethanolu pro UV-VIS.

Do zkumavky bylo napipetováno 0,5 ml extraktu konopí, 1,5 ml destilované vody a 0,2 ml NaNO₂. Po promíchání směsi bylo po 5 min přidáno 0,2 ml AlCl₃. Směs byla promíchána a 5 min ponechána stát. Následně bylo přidáno 1,5 ml NaOH a 1 ml destilované vody. Po zamíchání a 15 min byla proměřena absorbance vzorků. V souvislosti na vzniku oranžového zbarvení je intenzita úměrná koncentraci flavonoidů ve vzorcích extraktů.



Obrázek 4.4: Roztoky pro kalibrační křivku standardu katechin

4.3.3. Antioxidační aktivita

Pro stanovení antioxidační aktivity byla využita metoda TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), kdy je sledována schopnost vzorku zhášet kation radikál. Jako stabilní a syntetický kation radikál byl připraven $\text{ABTS}^{\bullet+}$ (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonové kyseliny)) z 10 ml 7 mM roztoku ABTS. Ten byl připraven navážením 0,036 g ABTS a rozpuštěním v destilované vodě. Aby se vytvořil radikál kation byl přidán 2,45 mM roztok peroxodisíranu draselného. Odměrná baňka byla po dobu 12 hodin ve tmě, při laboratorní teplotě a zabalená alobalem.

Před samotným měřením musel být roztok $\text{ABTS}^{\bullet+}$ zředěn ethanolem pro UV-VIS na absorbanci $0,700 \pm 0,020$, která byla měřena při vlnové délce 734 nm. Jako slepý vzorek byl použit 60% ethanol. Pro všechna měření absorbance antioxidační aktivity byla použita zúžená křemenná kyveta.

Pro výpočet je potřebné znát počáteční hodnotu substrátu, tedy byla změřena absorbance 1 ml $\text{ABTS}^{\bullet+}$ s přidáním 10 μl destilované vody v čase 0 min (A_0). Poté byl do kyvety napipetován 1 ml $\text{ABTS}^{\bullet+}$ a 10 μl extraktu konopí. Směs byla promíchána a ponechána ve tmě. Po 10 min byla změřena absorbance (A_1). Takto byly proměřeny všechny připravené extrakty. Absorbance každého vzorku extraktu byla přepočítána pomocí rovnice (4.1). Aby bylo možné vypočítat antioxidační aktivitu vzorků, byla sestrojena kalibrační křivka pomocí standartu Trolox v rozmezí koncentrace 50–400 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$.

$$\Delta A = (A_0 - A_1) \quad (4.1)$$

4.3.4. Stanovení vybraných kanabinoidů pomocí HPLC

Připravené extrakty konopí museli být před stanovením nejdříve upraveny ředěním. Pro extrakt z čerstvého konopí byl poměr ředění 1:9 a pro sušené konopí 1:99. Zředěné vzorky byly přefiltrovány přes jednorázový filtr a poté byly analyzovány.

V kapalinovém chromatografu byla nastavena gradientová eluce, podle tabulky č. 4.1, při složení mobilní fáze čistý methanol pro HPLC a Milli-Q voda. Rychlost průtoku mobilní fáze byla nastavena na $500 \mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$ a objem pro dávkovací smyčku byl $20 \mu\text{l}$. Kolona byla použita Kinetex $5 \mu\text{C}18$, $4,6 \times 150 \text{ mm}$ značky Agilent Technologies. Teplota pro separaci byla nastavena na $40 \text{ }^\circ\text{C}$. Pro spektrofotometrickou detekci byly nastaveny vlnové délky při maximální absorbanci standardů kanabinoidů 210, 220 a 280 nm. Pro kalibraci byl využit směsný roztok kanabinoidů (CBC, CBD, CBG, CBN) v rozmezí koncentrace $0\text{--}25 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$.

Tabulka 4.1: Složení mobilní fáze při gradientové eluci

Čas [min]	Mobilní fáze [%]	
	Čistý methanol	Milli-Q voda
0	80	20
8	80	20
18	100	0
20	100	0
22	80	20
26	80	20

4.4. Metoda ke stanovení antimikrobiální aktivity

4.4.1. Použité mikroorganismy a kultivační média

- *Candida glabrata* CCM 8270
- *Escherichia coli* CCM 7395
- *Malassezia furfur* CCY 85-2-1
- *Micrococcus luteus* CCM 1569

Mikroorganismy využití při vypracování experimentální části bakalářské práce byly získány z České sbírky mikroorganismů Brno (Czech Collection of Microorganisms, CCM). Kvasinka *Malassezia furfur* byla získána ze sbírky kultur kvasinek Chemického ústavu SAV, Bratislava, Slovensko (Culture Collection of Yeasts, CCY).

Pro kultivaci mikroorganismů bylo připraveno v Erlenmayerově baňce 50 ml tekutého média specifického pro každý organismus. Zaočkování do tekutého média proběhlo z dlouhodobě uchovávané kultury. Kultivace probíhala po dobu 24 hodin na temperované třepačce při určité teplotě daného mikroorganismu. Takto připravené inokulum bylo použito při difúzním agarovém testu. Celé příprava a činnost s kulturami byla prováděna ve sterilním boxu.

4.4. METODA KE STANOVENÍ ANTIMIKROBIÁLNÍ AKTIVITY

Pro G- bakterie bylo připraveno medium LB. Pro bakterii G+ se připravilo NB medium. Pro *Malassezia furfur* bylo připraveno medium, jehož složení uvádí tabulka 4.2. Tato média s mikroorganismy byla kultivována při 37 °C. Pro kvasinku *Candida glabrata* bylo připraveno médium YPD, na kterém bylo kultivováno při 30 °C. Složení jednotlivých médií uvádí tabulka č 4.2. Po navážení jednotlivých složek byla přidána destilovaná voda a poté bylo médium sterilováno při 120 °C po dobu 40 minut.

Tabulka 4.2: Složení jednotlivých médií

Mikroorganismus	Název média	Zkratka pro medium	Složka	Množství [g·l ⁻¹]
Candida glabrata	Yest extrakt-peptone-dextrose medium	YPD	Pepton	20
			Glukóza	20
			Kvasničný extrakt	10
Escherichia coli	Lysogeny broth	LB	Trypton	10
			Kvasničný extrakt	5
			NaCl	10
Malassezia furfur			Glukóza	40
			Kvasničný extrakt	0,1
			Pepton	10
			Glycerol	2 ml
			Polysorbát 80	2 ml
Micrococcus luteus	Nutrient broth	NB	Pepton	10
			Hovězí extrakt	10
			NaCl	5

4.4.2. Difúzní agarový test

Byly připraveny média, která byla popsána v kapitole 4.4.1. Do každé připravené směsi bylo přidáno $20 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ agaru. Po vysterilování byla média za horka nalita na Petriho misky. Po ztuhnutí se zaočkovaly $100 \mu\text{l}$ příslušným inokulem s mikroorganismem. Poté do agaru byly udělány jamky, do kterých se pipetovalo $50 \mu\text{l}$ analyzovaného či slepého vzorku. V případě extraktů byl slepý vzorek 60% roztok ethanolu a při testování kosmetického výrobku byl slepý vzorek přípravek bez rostlinného extraktu. Petriho misky byly kultivovány 24 hodin při teplotách vhodných pro daný mikroorganismus. Po uplynulé době se změřila inhibiční zóna okolo jamek, z které byla vyhodnocena antimikrobiální aktivita daného vzorku.

4.5. Kosmetické produkty

Byly připraveny dva kosmetické výrobky: šampon a vlasová voda. Výrobky byly vyrobeny s přidávkou rostlinných extraktů ve dvou různých koncentracích 1% a 4%. Každý výrobek měl slepý vzorek bez přidávky rostlinného extraktu. Pro výrobu byly vybrány extrakty ze sušeného listu Ferimon a ze sušeného květu Carmagnola. Extrakt s příměsí bylin pro výrobu kosmetického přípravku byla použita směs Ferimon s olivovým listem. Pro 1% koncentraci byl připraven výrobek s obsahem konzervantu a bez konzervantu abychom porovnali antimikrobiální působení konzervantu v přípravcích. 4% produkt byl připraven pouze s konzervantem.

4.5.1. Příprava šamponu

Hmotnost celkového výrobku byla 50 g. Procentuální zastoupení jednotlivých látek použitých při přípravě je uvedeno v tabulce 4.3. Do kádinky se nejdříve navázil laurylethersulfát sodný spolu s částí destilované vody. Za stálého míchání byl přidán glycerol, betain a po případě konzervant. Po malých částech byl přidáván chlorid sodný, aby bylo dosaženo požadované konzistence. Opatrně byl vmíchán zbytek destilované vody. Poté se vmíchal extrakt podle procentuální koncentrace uvedené v tabulce 4.3. Byl připraven i produkt bez přidávky extraktů jako slepý vzorek, kde extrakt nahradila destilovaná voda.

Tabulka 4.3: Obsah složek pro jednotlivé šampony

Pří sada	Obsah pro 1% koncentraci [%]	Obsah pro 4% koncentraci [%]	Obsah pro 1% koncentraci bez konzervantu [%]
Destilovaná voda	57,5	54,5	58
SLES	30	30	30
Betain	4	4	4
Glycerol	4	4	4
NaCl	3	3	3
Extrakt	1	4	1
Konzervant	0,5	0,5	0

4.5.2. Příprava vlasové vody

Celková hmotnost připravená vlasové vody byla 50 g. Procentuální obsah jednotlivých složek ve výrobku je uvedeno v tabulce 4.4. Nejprve bylo naváženo cca 15 g vody. Za stálého míchání se přidal glycerol, ethanol, popřípadě konzervant a extrakt. K těmto naváženým a zamíchaným složkám byl přidán zbytek vody, aby celková hmotnost dávala 50 g. Jako u šamponu, tak i při výrobě tohoto přípravku byl připraven slepý vzorek bez extraktu, který byl nahrazen destilovanou vodou.

Tabulka 4.4: Obsah složek pro jednotlivé vlasové vody

Pří sada	Obsah pro 1% koncentraci [%]	Obsah pro 4% koncentraci [%]	Obsah pro 1% koncentraci bez konzervantu [%]
Destilovaná voda	57,5	54,5	58
Glycerol	30	30	30
Ethanol	4	4	4
Extrakt	4	4	4
Konzervant	3	3	3

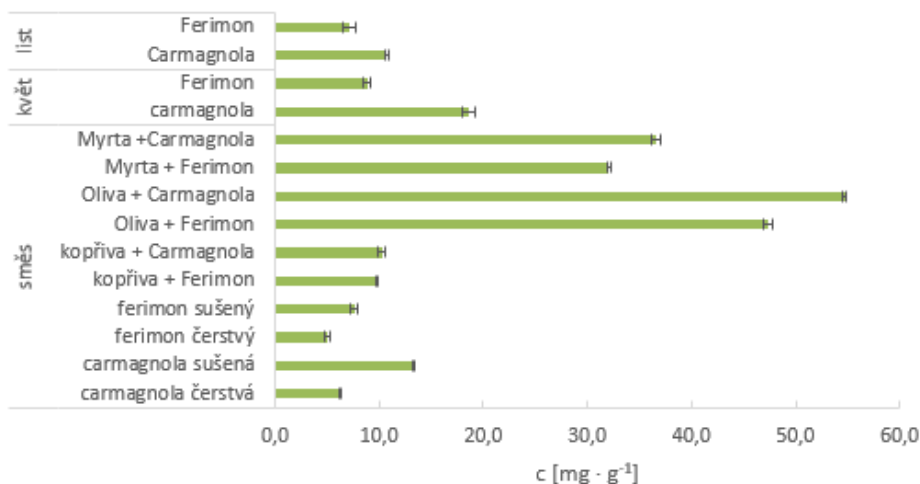
5. Výsledky

5.1. Stanovení celkových polyfenolů

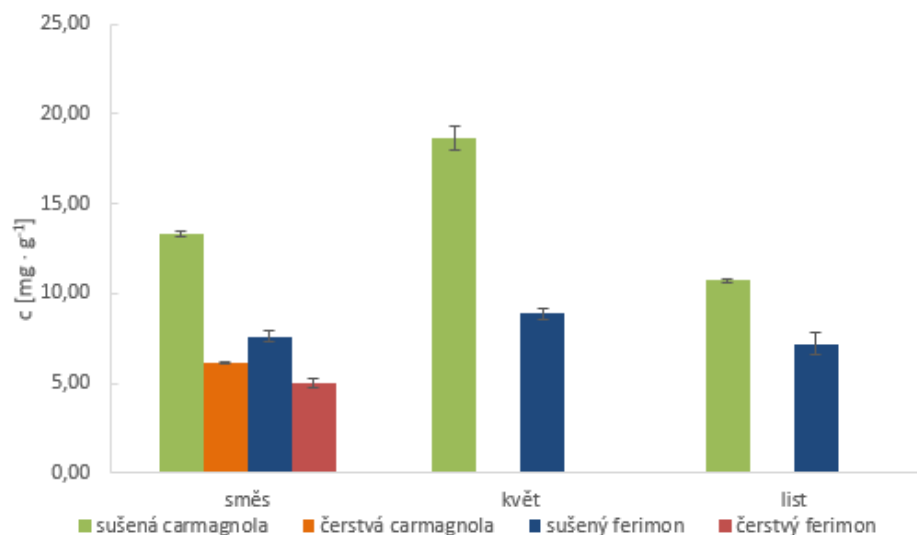
Stanovení obsahu celkových polyfenolů v extraktech z konopí bylo provedeno podle postupu popsaného v kapitole 4.3.1. Absorbance vzorku byla změřena třikrát a pro další výpočty byl použit průměr ze tří naměřených hodnot. Výpočet koncentrace polyfenolů v extraktech byl proveden pomocí rovnice kalibrační křivky vytvořené za použití kyseliny gallové jako standardu. Průměr absorbancí byl dosazen do rovnice $y = 1,575x$ (příloha 9.1). Extrakty z čerstvých rostlin konopí byly přepočítány na 1 g sušeného konopí. Pomocí programu MS excel byly zpracovány všechny výsledky.

V tabulce 9.1 jsou uvedeny všechny výsledky z měření celkových polyfenolů. Z ní vyplývá, že větší obsah polyfenolů najdeme v usušených rostlinách konopí než v čerstvých. Je to způsobeno tím, že během sušení dochází k dekarboxylaci, tedy vzniku aktivních látek. Na grafu (obrázek 5.1) je možné vidět, že nejvíce polyfenolů obsahovaly extrakty se směsí s olivovým listem a dále s obsahem myrty.

Pokud porovnáme obě odrůdy konopí mezi sebou, nejvíce polyfenolů najdeme u odrůdy Carmagnola. Kdy směs sušené Carmagnoly měla koncentraci $13,31 \pm 0,14 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ a Ferimon jen $7,59 \pm 0,32 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$. Toto porovnání můžeme vidět na grafu (obrázek 5.2). Obsah aktivních látek je ovlivněn šlechtěním a dobou sklizně. Kromě odrůd můžeme extrakty porovnat i podle částí rostliny. Největší obsah polyfenolů byl zjištěn v extraktech ze sušených květů konopí obou odrůd. Sušený květ odrůdy Carmagnola měl koncentraci $18,62 \pm 0,65 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$. Květ v porovnání se zbytkem rostliny obsahuje nejvíce aktivních látek. Extrakty ze směsi konopí a bylin jsou velmi bohaté na polyfenoly. Nejmenší obsah látek je ve směsi spolu s kopřivou a největší ve směsi olivového listu s odrůdou Carmagnola.



Obrázek 5.1: Graf celkového obsahu polyfenolů



Obrázek 5.2: Graf porovnávání odrůd - polyfenoly

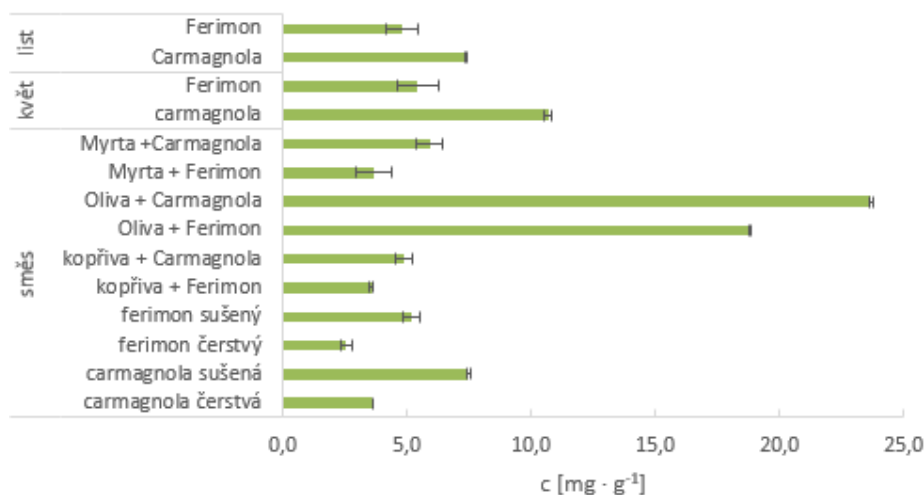
5.2. Stanovení celkových flavonoidů

Stanovení obsahu celkových flavonoidů v extraktech z konopí bylo provedeno podle postupu popsaného v kapitole 4.3.2. Vzorek byl opět proměřen třikrát a pro další výpočty byla použita hodnota průměru tří naměřených absorbancí vzorků. Pro výpočet flavonoidů v extraktech byla použita rovnice kalibrační křivky $y = 2,797x$ vytvořené za použití katechinu jako standardu (příloha 5.3). Extrakty z čerstvých rostlin konopí byly přepočítány na 1 g sušeného konopí. Pomocí programu MS excel byly zpracovány všechny výsledky.

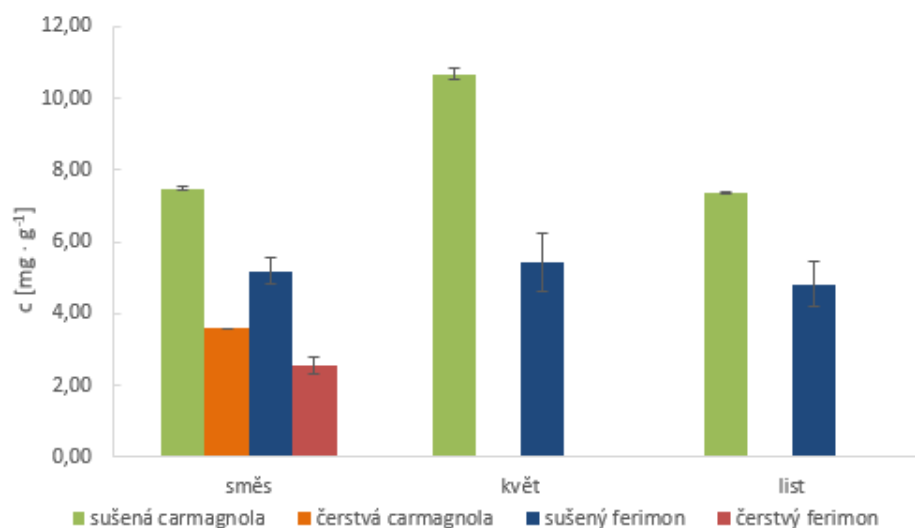
V tabulce 9.2 jsou uvedeny výsledné koncentrace celkových flavonoidů všech měřených extraktů. Je zřejmé, že po usušení, tedy dekarboxylaci, dochází k tvorbě aktivních látek, protože obsah flavonoidů a také polyfenolů je větší v extraktech ze sušeného konopí. Jako i při měření polyfenolů, je i zde vidět na obrázku 5.3, že nejvíce měřených látek obsahoval extrakt konopí spolu s olivovými listy. Pokud porovnáme grafy celkového obsahu polyfenolů a flavonoidů (obrázek 5.1 a 5.3) je patrné, že obsah flavonoidů je nižší, protože patří do skupiny polyfenolů.

Při porovnání obou odrůd je zřejmé, že obsah flavonoidů je vyšší u Carmagnoly, jako tomu bylo již výše u polyfenolů. Názorně je to viditelné na obrázku 5.3. Směs Carmagnoly má koncentraci flavonoidů $7,48 \pm 0,06 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ rostliny konopí a extrakt směsi odrůdy Ferimon má obsah flavonoidů $5,19 \pm 0,39 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$.

V květech konopí je koncentrováno nejvíce aktivních látek z celé rostliny. A při porovnání extraktů podle rozdílné části rostliny je opět viditelné na obrázku 5.3 i 5.4, že extrakt z květů konopí dosahuje nejvyšších koncentrací. U odrůdy Carmagnola obsah flavonoidů v květech dosahuje dvounásobku obsahu flavonoidů v květech z odrůdy Ferimon. Z tabulky 9.2 také vyplývá, že vyšší hodnoty koncentrace směsí konopí s bylinami mají vždy extrakty s odrůdou Carmagnola.



Obrázek 5.3: Graf celkového obsahu flavonoidů



Obrázek 5.4: Graf porovnávání odrůd - flavonoidy

5.3. Antioxidační aktivita

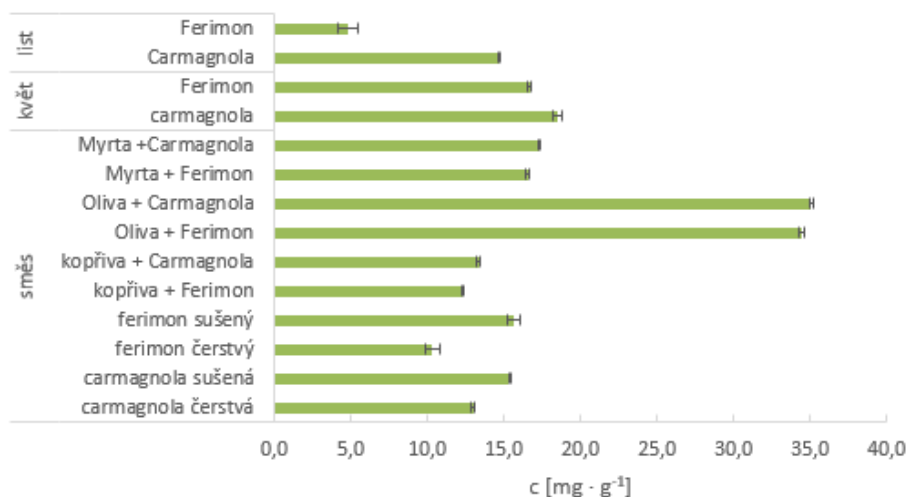
Antioxidační aktivita extraktů byla změřena podle postupu metody zvané Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) popsáno v kapitole 4.3.3. Výsledná absorbance je průměr tří naměřených hodnot každého extraktu. Antioxidační aktivita byla vypočítána pomocí kalibrační křivky, která byla sestavena za pomoci standardu Trolox. Výsledná křivka je $y = 0,0011x$ (příloha 5.5), kde byla dosazena průměrná hodnota absorbancí. Extrakty z čerstvých rostlin byly přepočítány na 1 g sušeného konopí. Všechny výsledky byly zpracovány pomocí programu MS excel.

Jako u předchozích dvou stanovení je z tabulky 9.3 jasné, že vyšší antioxidační aktivita je u extraktů, které jsou ze sušeného konopí. Důvod je stejný jako v přechodných případech, dekarboxylací vznikají další aktivní látky.

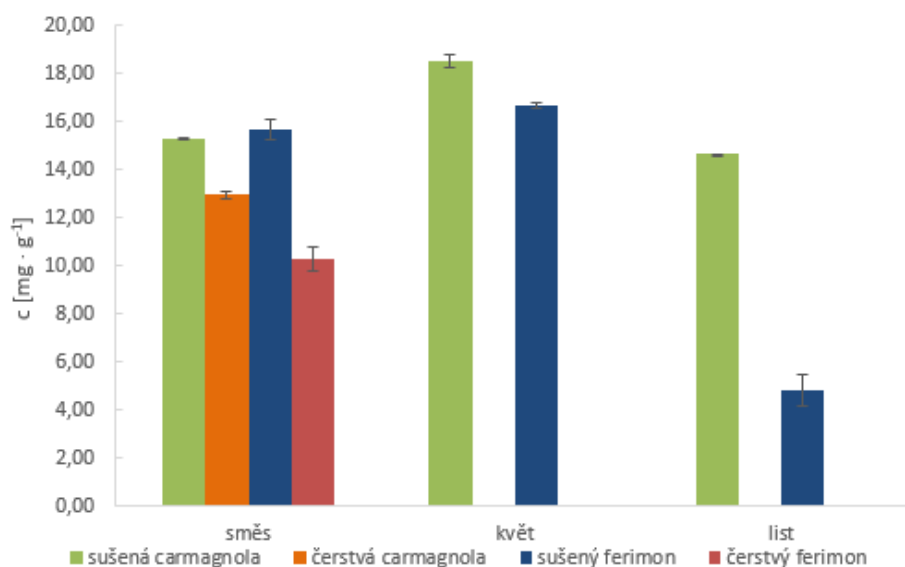
5.3. ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA

Při porovnání extraktů dvou odrůd jde z obrázku 5.6 vyčíst jako v předchozích stanovení, že nejvyšších koncentrací dosahují extrakty s odrůdou Carmagnola. Výjimku tvoří směs sušeného Ferimonu $15,67 \pm 0,40 \text{ mg teac}\cdot\text{g}^{-1}$, kde můžeme předpokládat, že směs byla z větší části složena z květů konopí anebo extrakt z Carmagnoly $15,32 \pm 0,04 \text{ mg teac}\cdot\text{g}^{-1}$ obsahoval více listů než květů rostliny.

I z předchozích stanovení je již zřejmé, že bude vyšší antioxidační aktivita v extraktech z květů, než je tomu u extraktů ze směsi či listů. V extraktech směsi konopí a bylin jednoznačně dosahuje nejvyšší antioxidační aktivity opět směs s olivovými listy jak dokládá graf na obrázku 5.5. Tyto dobré výsledky olivových listů mohou potvrdit studie [44] a [45], které prokazují velmi vysoké koncentrace aktivních látek.



Obrázek 5.5: Graf antioxidační aktivity



Obrázek 5.6: Graf porovnávání odrůd - antioxidační aktivity

5.4. Obsah kanabinoidů

V kapitole 4.3.4 je popsán postup podle kterého byl stanoven obsah kanabinoidů v extraktech z konopí. Kalibrační křivka byla sestrojena za pomocí standardu směsi zkoumaných kanabinoidů. Rovnice kalibrační křivky pro směs CBD a CBG je $y = 770\,937x$, pro CBC $y = 404\,310x$ a pro CBN $y = 674\,102x$. Zvolená metoda pro detekci obsahu má retenční časy pro směs CBD a CBG 8,88 min, pro CBN 14,69 min a pro CBC 16,42 min [46].

Tabulka 5.1: Obsah kanabinoidů extraktu z odrůdy Carmagnola

Extrakt	CBD + CBG		CBN		CBC	
	Koncentrace					
	$[\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}]$	$[\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}]$	$[\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}]$	$[\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}]$	$[\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}]$	$[\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}]$
Čerstvá směs	5	34				
Sušené směs	534	3 559	6	41	22	145
Sušený květ	1 739	11 594	7	45	53	353
Sušený list	439	2 928				

Obsah kanabinoidů v čerstvém konopí je velmi malý nebo nedetekovatelný, protože rostliny obsahují jen jejich prekurzory, což bylo měření potvrzeno a je viditelné v tabulkách 5.1 a 5.2. Obsah směsi kanabidiolu (CBD) a kanabigerolu (CBG) byla změřena na $34\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Nejvyšší koncentrace $11\,594\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dosáhla směs v extraktu sušeného květu konopí.

Kanabinoid CBC je metabolitem Δ^9 -tetrahydrokanabinolu (THC), kterého může být v technickém konopí jen ve velmi malém množství. Proto byl detegován v malé koncentraci.

Kanabichromen (CBC) byl zaznamenán v extraktech ze sušeného květu, a tudíž i ze směsi sušeného květu a listů konopí. Nejvyšší obsah byl v sušeném květu $353\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

Tabulka 5.2: Obsah kanabinoidů extraktu z odrůdy Ferimon

Extrakt	CBD + CBG		CBN		CBC	
	Koncentrace					
	$[\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}]$	$[\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}]$	$[\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}]$	$[\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}]$	$[\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}]$	$[\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}]$
Čerstvá směs	8	51				
Sušené směs	533	3 553	2	12	30	200
Sušený květ	675	4 500	2	15	69	458
Sušený list	328	2 186	2	12		

Jako v tabulce 5.1 pro odrůdu Carmagnola, tak v tabulce 5.2 je zřejmé, že čerstvé konopí obsahuje nejméně kanabinoidů ze všech dalších extraktů.

Jako u předchozí odrůdy i Ferimon je vyšlechtěné technické konopí, které může obsahovat malé množství THC, a tedy i jeho metabolitu CBN, který byl v koncentraci $51\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

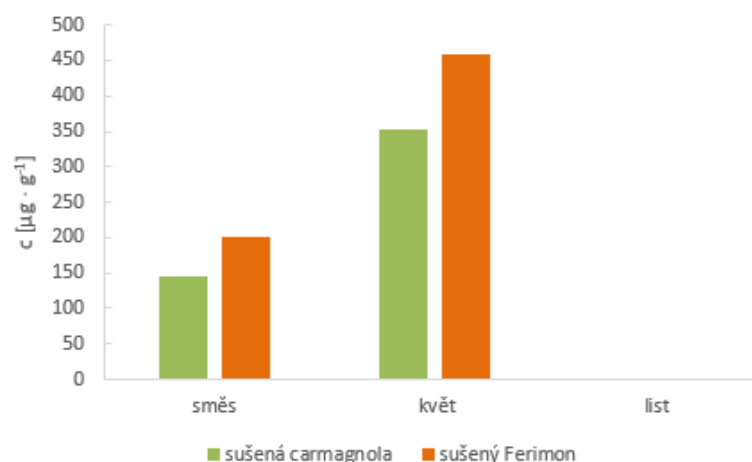
Směs kanabinoidů CBD a CBG má nejvyšší koncentraci v extraktu z květů $4\,500\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.



Obrázek 5.7: Graf obsahu směsi kanabinoidů CBD + CBG

Z obrázku 5.7 lze vyčíst, že nejvíce kanabinoidů obsahuje odrůda Carmagnola. V extraktu z květů je vidět patrně velký rozdíl mezi odrůdami. Carmagnola měla koncentraci $11\,594 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ a Ferimon jen $4\,500 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$. Chromatogram měřeného extraktu Carmagnola sušený květ je v příloze 9.4. Směs obou odrůd je velmi vyrovnaná, to může být zapříčiněno složením daných směsí, tedy jaká část rostliny převažovala.

Obrázek 5.8 zobrazuje převažující obsah CBC v extraktech z odrůdy Ferimon. Je možné, že Ferimon obsahuje větší množství tohoto kanabinoidu, protože výskyt kanabinoidů je u každé odrůdy jiný.



Obrázek 5.8: Graf obsahu kanabinoidu CBC

5.5. Antimikrobiální aktivita

Podle postupu popsaného v kapitole 4.4 byla stanovena antimikrobiální aktivita pro extrakty z konopí, extrakty z konopí a bylin, vyrobené přípravky a komerční produkty. Ke stanovení byl použit difuzní agarový test.

5.5.1. Extrakty

Při stanovování antimikrobiální aktivity ethanolových extraktů byl použit 60% roztoku ethanolu jako slepý vzorek. Tabulka 5.3 uvádí inhibiční zóny na všech zkoumaných mikroorganismech.

Tabulka 5.3: Antimikrobiální aktivita extraktů proti mikroorganismům

		<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida glabrata</i>	<i>Malassezia furfur</i>	<i>Micrococcus luteus</i>
		Velikost inhibiční zóny [mm]			
Carmagnola	Čerstvá směs	7,5	-	1,5	4,4
	Sušená směs	8,8	-	2,5	2,0
	Sušený květ	10,5	3,6	2,3	7,3
	Sušený list	6,8	3,0	1,8	5,8
Ferimon	Čerstvá směs	7,0	-	2,0	4,2
	Sušená směs	5,5	2,5	2,5	7,7
	Sušený květ	7,0	2,5	2,5	6,3
	Sušený list	7,5	-	2,0	7,0
Směsi	Kopřiva + Ferimon	4,0	-	1,8	7,3
	Kopřiva + Carmagnola	5,5	2,0	3,0	7,8
	Oliva + Ferimon	6,5	-	3,0	5,7
	Oliva + Carmagnola	7,0	-	2,8	7,3
	Myrta + Ferimon	10,0	2,3	2,3	6,8
	Myrta + Carmagnola	8,0	4,0	2,0	7,5

Z tabulky 5.3 je zřejmé, že nejmenší účinky měly extrakty na kvasinku *Candida glabrata*. I přesto nejvyšší inhibiční zónu měl extrakt ze směsi myrty a Carmagnoly 4,0 mm.

Vysokých účinků extraktů bylo pozorováno u bakterie *Escherichia coli*. Opět nejvyšších hodnot dosahoval květ Carmagnoly. Druhého největšího rozměru inhibiční zóny dosáhl extrakt z myrty a Ferimonu. *Escherichia coli* patří do skupiny G- bakterií, které mohou způsobovat různé kožné onemocnění s častou tvorbou abscesů a zánětlivých částí.

5.5. ANTIMIKROBIÁLNÍ AKTIVITA

Extrakty z daných odrůd konopí, by mohly být použity jako doplňková léčba těchto onemocnění.

Na *Malassezia furfur* nejvíce působil extrakt ze směsi kopřiva + Carmagnola a oliva + Ferimon. Jejich inhibiční zóna byla 3,0 mm. Druhou největší inhibiční zónu vytvořil extrakt olivy + Carmagoly. Obecně v porovnání s bakteriemi, extrakty z konopí a bylin působily na kvasinky méně inhibičně.

U *Micrococcus luteus* vidíme, že extrakty z odrůdy Ferimon a ze směsí konopí a bylin působí více. Největší aktivitu prokázal extrakt kopřivy + Carmagnoly. Druhá největší zóna byla u směsi z myrty a Carmagnoly. Na obrázku 5.9 jsou vidět inhibiční zóny směsí konopí a bylin na bakterii *Micrococcus luteus*. *Micrococcus luteus* patří do skupiny bakterií G+, což může znamenat, že extrakty z konopí a bylin mohou pomáhat při léčení nemocí, na kterých se spolupodílí i G+ bakterie, například onemocnění akné.

Podle předpokladů mají nejnižší hodnoty extrakty z čerstvého konopí. I Když vysokých inhibičních účinků dosahovali u bakterie *Escherichia coli*.

V porovnání mezi odrůdami, je Carmagnola o něco účinnější než Ferimon, což můžeme připisovat vyšším koncentracím aktivních látek, jak bylo vyobrazeno na obrázcích 5.2, 5.4 a 5.6. Nebo také při stanovení obsahu kanabinoidů v kapitole 5.4, kdy směs CBD + CBG v extraktu ze sušeného květu dosáhla koncentrace $11\ 594\ \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$.



Obrázek 5.9: Antimikrobiální aktivita extraktů konopí a bylin na *Micrococcus luteus* (13 – listy olivy + Ferimon, 14 – listy olivy + Carmagnola, E – ethanol)

5.5.2. Kosmetické výrobky

5.5.2.1. Šampon

Při stanovení antimikrobiální aktivity šamponu byl použit jako slepý vzorek šampon, který měl místo extraktu destilovanou vodu. Pro kontrolu inhibice byl aplikován na Petriho misky i ethanol a destilovaná voda. V tabulce 5.4 jsou uvedeny inhibiční zóny přípravků.

Tabulka 5.4: Antimikrobiální aktivita připraveného šamponu

Extrakt	Poloměr inhibiční zóny		
	<i>E. coli</i>	<i>M. furfur</i>	<i>M. luteus</i>
F-S-list ^a 1%	-	7,3	7,5
F-S-list 1% bez konzervantu	-	6,5	7,5
F-S-list 4%	3,3	6,5	7,5
C-S-květ ^b 1%	2,0	6,5	8,0
C-S-květ 1% bez konzervantu	-	6,3	7,5
C-S-květ 4%	-	6,0	7,3
F + O ^c 1%	2,5	5,8	8,3
F + O 1% bez konzervantu	2,0	5,5	7,5
F + O 4%	2,8	6,0	8,5
KŠ ^d RYOR	3,5	7,0	7,1

^aFerimon sušený list

^bCarmagnola sušený květ

^cFerimon + olivový list

^dkomerční šampon

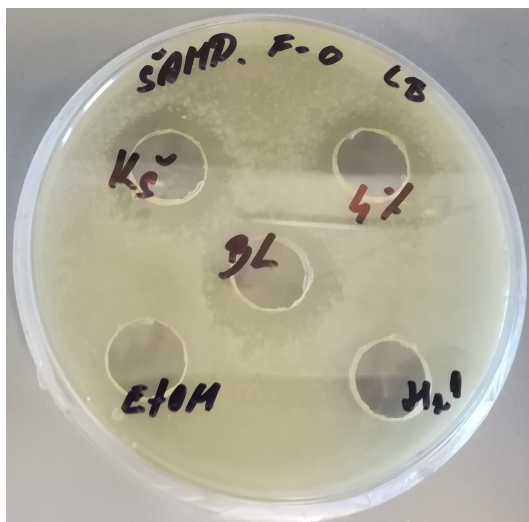
V tabulce 5.4 je vidět, že nejmenší účinnost měly kosmetické výrobky proti bakterii *Escherichia coli*. Nejlepších hodnot dosáhly 4% koncentrace extraktů ve výrobcích. Extrakt z odrůdy Ferimon sušený list 4% měl inhibiční zónu 3,3 mm. Avšak největší inhibiční zónu měl komerční šampon značky RYOR.

Při kvasince *Malassezia furfur* měl největší účinek šampon s 1% extraktem ze sušeného listu odrůdy Ferimon. Nejmenší inhibici vykazoval přípravek z 1% přídavku extraktu ze směsi Ferimon + oliva, který neobsahoval konzervant. Účinek komerčního šamponu vykazoval až druhou největší inhibiční zónu.

Nejlepších výsledků dosáhly připravené výrobky při působení proti *Micrococcus luteus*. Nejvyšší inhibiční zóny dosáhl šampon se 4% koncentrací extraktu ze směsi Ferimon + oliva. Zóny při této bakterii byly poměrně stejných velikostí. Při porovnání šamponů s konzervantem a bez něj nejsou viditelné rozdíly. Šampon s Ferimonem má inhibiční zónu 7,5 mm pro obě verze a u odrůdy Carmagnola má šampon bez konzervantu o 0,5 mm menší zónu než šampon s konzervantem. U této bakterie vykazoval zakoupený produkt nejnižší inhibiční aktivitu.

5.5. ANTIMIKROBIÁLNÍ AKTIVITA

Obrázek 5.10 vyobrazuje inhibiční zóny šamponu Ferimon + oliva na *Escherichia coli*. Lze vidět, že slepý vzorek také vykazuje inhibici (3,3 mm) vůči tomuto organismu. Tudíž účinek samotných extraktů je velmi minimální. Antimikrobiální účinnost slepého vzorku může být způsobeno SLES nebo phenoxyethanolem, který byl použit jako konzervant do výrobků.



Obrázek 5.10: Difúzní agarový test šamponu Ferimon s olivovým listem na *Escherichia coli* (Kš - komerční šampon, BL - slepý vzorek)

5.5.2.2. Vlasová voda

Antimikrobiální aktivita vlasové vody byla zjišťována při difuzním agarovém testu, ve kterém byla jako slepý vzorek použita vlasová voda bez přídavku extraktu. Pro kontrolu jako i v přechozím případě byl přidán ethanol a destilovaná voda.

Tabulka 5.5: Antimikrobiální aktivita vlasové vody

Extrakt	Poloměr inhibiční zóny		
	<i>E. coli</i>	<i>M. furfur</i>	<i>M. luteus</i>
F-S-list ^a 1%	3,0	-	-
F-S-list 1% bez konzervantu	3,0	-	-
F-S-list 4%	6,5	-	1,5
C-S-květ ^b 1%	2,0	-	-
C-S-květ 1% bez konzervantu	2,0	-	-
C-S-květ 4%	-	-	2,0
F + O ^c 1%	-	-	-
F + O 1% bez konzervantu	-	-	-
F + O 4%	-	-	2,0
Kv ^d Bione	1,8	3,1	2,0

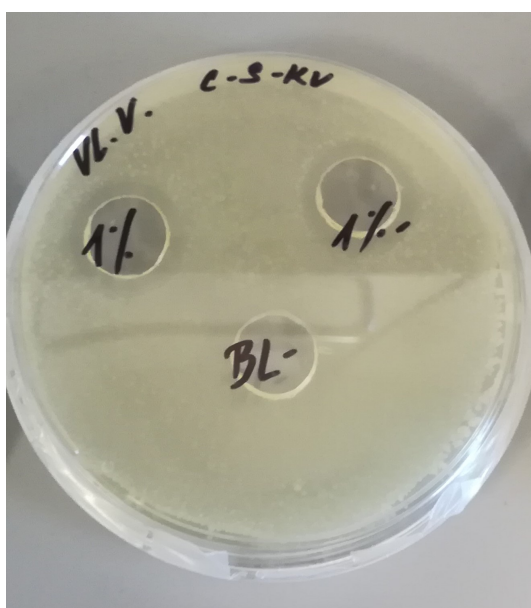
^aFerimon sušený list

^bCarmagnola sušený květ

^cFerimon + olivový list

^dkomerční voda

V tabulce 5.5 jsou uvedeny inhibiční zóny připravené vlasové vody. U kvasinky *Malassezia furfur* byl účinek připraveného produktu zcela nulový. U bakterie *Micrococcus luteus* působily jen extrakty v 4% koncentraci. Při *Escherichia coli* měla největší inhibiční zónu vlasová voda ze 4% extraktu sušeného listu odrůdy Ferimon. Rozdíl mezi vlasovou vodou s konzervantem a bez něj není při *Escherichia coli* pozorován. Na obrázku 5.11 je vidět, že slepý vzorek nemá žádnou inhibiční zónu, ale i tak je z tabulky 5.5 jasné, že připravená vlasová voda má jen velmi malé účinky. Komerční vlasová voda vykazovala inhibiční zóny při každém mikroorganismu. Největší účinek měl zakoupený produkt u kvasinky *M. furfur*.



Obrázek 5.11: Difúzní agarový test vlasové vody Carmagnola susšený květ na *Escherichia coli* (BL - slepý vzorek)

6. Závěr

Tato bakalářská práce pojednává o využití technického konopí v kosmetických přípravcích proti lupům. Teoretická část popisuje kůži, vlasy a jejich stavbu. Dále zahrnuje popis lupů, jejich příčiny a léčbu. Součástí je i charakteristika konopí a v něm aktivních látek, z nichž jsou nejvýznamnější kanabinoidy. Poslední částí je popis všech použitých metod při vypracovávání experimentální části.

Byly připraveny extrakty z konopí a ze směsi konopí a bylin. Pro výrobu ethanolových extraktů byly použity dvě odrůdy konopí – Carmagnola a Ferimon. Za léčivé byliny byly vybrány olivové listy, listy kopřivy a myrty. Extrakce probíhala v 60% roztoku ethanolu. Byly připraveny extrakty z čerstvých rostlin konopí (směs) a sušených (směs, květ, list). Směsi konopí s bylinami byly připraveny tři od každé odrůdy, taky aby každá bylina měla extrakt s oběma odrůdami konopí. Tyto extrakty byly využity pro experimentální část.

U extraktů byly spektrofotometricky stanoveny celkové polyfenoly, flavonoidy a antioxidační aktivita. Největší obsah polyfenolů a flavonoidů vykazovaly konopné extrakty ze sušeného květu a extrakty ze směsí, ty, které obsahovaly olivové listy. Větší obsah aktivních látek vykazovaly extrakty odrůdy Carmagnola. Antioxidační aktivita byla naměřena vyšší u extraktů odrůdy Carmagnola. Jako obsah aktivních látek byl vyšší u sušených květů, tak i antioxidační aktivita dosahovala lepších výsledků u extraktů z nich. Právě v květech se nachází nejvíce biologicky aktivních látek. Při porovnávání naměřených výsledků extraktů sušeného a čerstvého konopí je jednoznačně vyšší obsah látek v sušeném konopí. Je to způsobeno dekarboxylací, která probíhá během sušení. Již výše zmíněný vysoký obsah flavonoidů a polyfenolů v extraktech konopí s olivovými listy nám může pomoci v dosažení lepších výsledků.

Obsah kanabinoidů byl určen při gradientové eluci ve vysokoúčinné kapalinové chromatografii (HPLC). Kanabinoidy CBD a CBG byly stanovovány společně, protože mají velmi podobná spektra a nedošlo k jejich rozlišení. Další ze stanovovaných kanabinoidů byly CBC a CBN. Čerstvé konopí obsahuje jen prekurzory kanabinoidů a tak v extraktu z něj bylo stanoveno jen malé množství CBD a CBG. U sušeného konopí byl největší obsah CBD s CBG u odrůdy Carmagnola. Kanabinoid CBC měl největší výskyt u odrůdy Ferimon. Poslední stanovovaný kanabinoid byl CBN, který se v malých množstvích vyskytoval u obou odrůd. Malé množství je zapříčiněno tím, že tento kanabinoid je metabolitem THC, které se v technickém konopí vyskytuje jen v malém množství. Při porovnání extraktů podle částí rostlin, největší obsah měl extrakt z květů konopí. Tím bylo potvrzeno, že kanabinoidy vznikají v květech odkud jsou distribuovány dále v rostlině.

Úkolem bylo připravit kosmetické výrobky (šampon a vlasová voda) s přídavkem extraktů z konopí a směsi konopí a bylin. Pro přípravu byly vybrány jen tři extrakty – Ferimon sušený list, Carmagnola sušený květ a směs Ferimonu a olivových listů. Byly vyrobeny vždy tři typy daného produktu. Aby bylo možné porovnat, zda konzervant ovlivňuje antimikrobiální aktivitu či neovlivňuje, a jak moc velký je rozdíl, když se zvýší koncentrace extraktu o 3 %. Jednoprocentní účinné látky obsažené v kosmetických výrobcích jsou běžnou praxí komerčních výrobků. Obsah aktivní látek nad 1% bývá spojeno s luxusnější kosmetikou, která nebývá často dostupná v regálech běžných drogerií. Byl vyroben kosmetický přípravek s 1% koncentrací s přídavkem konzervantu, s 1% koncentrací bez

konzervantu a se 4% koncentrací extraktu. Pro porovnání byl zakoupen komerční šampon a vlasová voda.

Extrakty a výrobky byly testovány na antimikrobiální aktivitu proti *Escherichia coli*, *Candida glabrata*, *Malassezia furfur* a *Micrococcus luteus*. Extrakty dosahovaly nejnižší aktivity u kvasinky *Candida glabrata*. Zatímco nejvyšší účinky byly pozorovány u bakterie *Escherichia coli*. U kvasinky *Malassezia furfur* byly výsledky inhibičních zón mezi sebou podobné.

Připravené kosmetické výrobky vykazovaly malý nebo žádný účinek oproti extraktům. Vyrobený šampon účinkoval minimálně na bakterii *Escherichia coli*. Větších inhibičních zón dosahoval šampon jak u *Malassezia furfur*, tak i u *Micrococcus luteus*. Tyto výsledky, ale mohou být zavádějící, protože inhibiční zónu vytvořil i slepý vzorek šamponu, což může být připisováno antimikrobiálnímu působení konzervantu nebo SLES. Vlasová voda neměla skoro žádné antimikrobiální účinky. Ale bylo zřejmé, že mezi vlasovou vodou s konzervantem a bez něj nejsou žádné rozdíly. Komerční šampon značky RYOR vykazoval na mikroorganismy podobné inhibiční zóny jako připravené produkty. Vlasová voda značky Bione Cosmetics měla antimykotický účinek na všechny mikroorganismy oproti vyrobené vlasové vodě, která inhibovala jen dvě bakterie a to pouze pokud obsahovala vyšší koncentrace extraktu.

Podle získaných výsledků je možné říci, že konopí je vhodné využívat v kosmetice. K dosažení lepších výsledků je vhodnější používat konopí sušené, a to především jeho květy. Z výsledků antimikrobiální aktivity lze usuzovat, že využití konopného šamponu je možné tehdy, pokud bude doplněné dalšími přípravky na léčení postižené pokožky lupy. Také je možné využít těchto extraktů z odrůd konopí při kožních onemocnění způsobené G+ a G- bakteriemi. G- bakterie jsou příčinou abscesů a zánětlivých onemocnění, bakterii G+ je možné pozorovat při onemocnění akné. I při těchto onemocnění by bylo užitečné medikovanou léčbu doplnit přípravky s extrakty z konopí.

7. Literatura

- [1] KOLARSICK, Paul A. J., Maria Ann KOLARSICK a Carolyn GOODWIN. Anatomy and Physiology of the Skin. *Journal of the Dermatology Nurses' Association*. 2011, 3(4), 203-213. DOI: 10.1097/JDN.0b013e3182274a98. ISSN 1945-760X. Dostupné také z: <http://journals.lww.com/01412499-201107000-00003>
- [2] ARENBERGER, Petr a Iva OBSTOVÁ. *Obecná dermatovenerologie*. Praha: Czechopress Agency, 2001. ISBN 80-902-6324-0.
- [3] BAUMANN, L.S. *Cosmetic Dermatology: Principles and Practice*, Second Edition: Principles & Practice. McGraw-Hill Education, 2008. ISBN 9780071641289. Dostupné také z: <https://books.google.cz/books?id=JANbcDi89VoC>.
- [4] ČIHÁK, Radomír. *Anatomie 3*. Třetí, upravené a doplněné vydání. Praha: Grada, 2016. ISBN 978-80-247-5636-3.
- [5] GIANFALDONI, Serena; TCHERNEV, Georgi; TIRANT, Michael; WOL-LINA, Uwe; CASTILLO, David; FRANÇA, Katlein. *Skin and Skin Disease Throughout Life*. 2020. ISBN 978-3-319-45134-3. Dostupné z DOI:10.1007/978-3-319-45134-3_15-1.
- [6] ABU-NASER, Samy; AKKILA, Alaa. A Proposed Expert System for Skin Diseases Diagnosis. *Journal of Applied Sciences Research*. 2008, s.1682–1693.
- [7] SHAI, A.; MAIBACH, H.I.; BARAN, R.; YERUSHALMI-RAHAMIM, M. *Handbook of Cosmetic Skin Care*. Informa Healthcare, 2009. Series in Cosmetic and Laser Therapy. ISBN 9780367808037. Dostupné také z: <https://books.google.cz/books?id=ctBFzQEACAAJ>.
- [8] BAKI, G.; ALEXANDER, K.S. *Introduction to Cosmetic Formulation and Technology*. Wiley, 2015. ISBN 9781118763780. Dostupné také z: https://books.google.cz/books?id=tM%5C_0BgAAQBAJ.
- [9] BARAN, R.; MAIBACH, H.I. *Textbook of Cosmetic Dermatology*. CRC Press, 2017. Series in Cosmetic and Laser Therapy. ISBN 9781482257359. Dostupné také z: <https://books.google.cz/books?id=-K40DgAAQBAJ>.
- [10] BEGUM, Kohinur, Farjahan NUR a Mashmum Shababa SHAHID. Isolation and Characterization of Malassezia Species from Dandruff Samples and Determination of its Sensitivity Towards Antifungal Agents. *Bangladesh Pharmaceutical Journal*. 2019, 22(2), 146-152. DOI: 10.3329/bpj.v22i2.42298. ISSN 2408-8463. Dostupné také z: <https://www.banglajol.info/index.php/BPJ/article/view/42298>.
- [11] JOHNSON, D.H. Hair and Hair Care. Taylor & Francis, 1997. *Cosmetic Science and Technology*. ISBN 9780824793654. Dostupné také z: <https://books.google.cz/books?id=9-1jWuN4PBsC>.
- [12] TIWARI, Amit; MISHRA, Rohit; KUMAR, Awadhesh; SRIVASTAVA, Shalu; DIKSHIT, Anupam; PANDEY, Anand; KUMAR, Bajaj. A comparative novel method of antifungal susceptibility for Malassezia furfur and modification of culture medium by adding lipid supplement. *Journal of Phytology*. 2011, roč. 3, s. 44–52.

- [13] *PubChem Compound Summary for CID 3823, Ketoconazole*[online]. National Center for Biotechnology Information [cit. 2020-06-23]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ketoconazole.29>
- [14] EUR-Lex - 32009R1223 - EN - EUR-Lex. *EUR-Lex — Access to European Union law — choose your language* [online]. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/cs/TXT/?uri=CELEX%3A32009R1223>
- [15] *Cosmetic Products Notification Portal (CPNP) - Uživatelská příručka podle článku 13*[online] [cit. 2020-06-22]. Dostupné z:http://www.khshk.cz/khsdata/formulare/pbu/cpnp_uzivatelsky_manual_cz.pdf
- [16] ŠMIDRKAL, Jan. Tenzidy a detergenty dnes. *Chemické listy*. 1999, roč. 93, s. 421-427. Dostupné také z: http://www.w.chemicke-listy.cz/docs/full/1999_07_421-427.pdf
- [17] SHARMA, Gaurav; GADHIYA, Jayesh; DHANAWAT, Meenakshi. *Text-book of Cosmetic Formulations*, Kbuuk publications, Houston a Po-thi.com, India., 2016. ISBN 978-1-365-35591-2.
- [18] ARNDT, Kenneth A. *Manual of dermatologic therapeutics*. 8th ed. Philadelphia, PA: Wolters Kluwer, c2014. Lippincott manual. ISBN 978-145-1176-346.
- [19] BORDA, Luis; WIKRAMANAYAKE, Tongyu. Seborrheic Dermatitis and Dandruff: A Comprehensive Review. *Journal of clinical and investigative dermatology*. 2015, roč. 3. Dostupné z DOI:10.13188/2373-1044.1000019.
- [20] DUPAL, Libor. *Kniha o marihuaně*. 3., dopl. vyd. Praha: Maťa, 2010. Matamata. ISBN 978-80-7287-136-0.
- [21] RUMAN, Michal. *Cannabis - konopí: průvodce světem univerzální rostliny*. Praha: Malý princ, 2014. ISBN 978-80-87754-13-9.
- [22] MCPARTLAND, John M. Cannabis Systematics at the Levels of Family, Genus, and Species. *Cannabis and Cannabinoid Research*. 2018, 3(1), 203-212. DOI: 10.1089/can.2018.0039. ISSN 2378-8763. Dostupné také z: <https://www.liebert-pub.com/doi/10.1089/can.2018.0039>
- [23] MIOVSKÝ, Michal. *Konopí a konopné drogy: adiktologické kompendium*. Praha: Grada, 2008. ISBN 978-80-247-0865-2.
- [24] Fisar, Zdenek. (2006). Phytocannabinoids. *Chemické Listy*. 100. 233-242. http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2006_04_233-242.pdf
- [25] ELSOHLY, M.A. *Marijuana and the Cannabinoids*. Humana Press, 2007. Forensic Science and Medicine. ISBN 9781592599479. Dostupné také z: https://books.google.cz/books?id=G%5C_XtSXd4JH0C.
- [26] ANDRE, Christelle M., Jean-Francois HAUSMAN a Gea GUERRIERO. Cannabis sativa: The Plant of the Thousand and One Molecules. *Frontiers in Plant Science*. 2016, 7. DOI: 10.3389/fpls.2016.00019. ISSN 1664-462X. Dostupné také z: <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fpls.2016.00019/abstract>

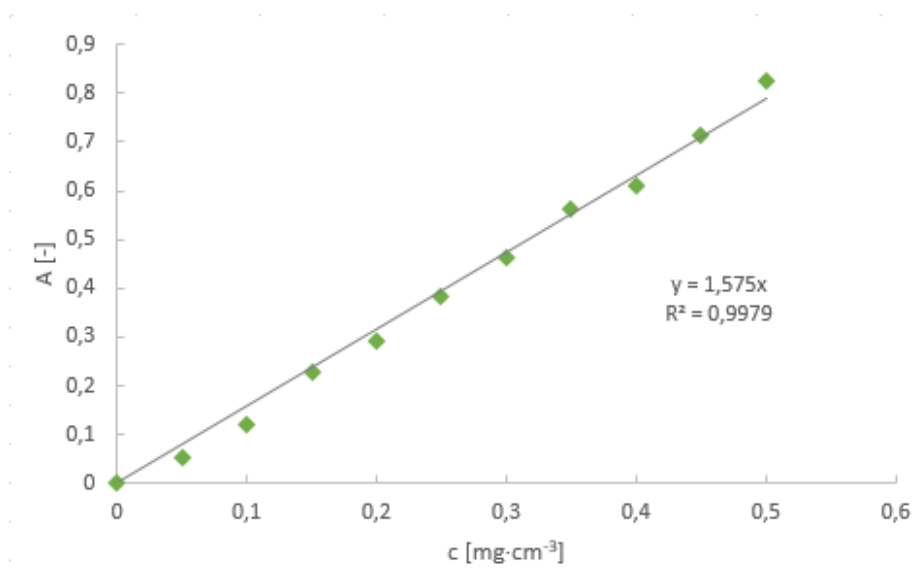
- [27] RUSSO, Ethan B. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *British Journal of Pharmacology*. 2011, 163(7), 1344-1364. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2011.01238.x. ISSN 00071188. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1476-5381.2011.01238.x>
- [28] MILFORTOVÁ, Lenka. Kanabinoidy. *Kontakt*. 2010, roč. 12, s. 343–351. Dostupné z DOI:10.32725/kont.2010.047.29
- [29] MECHOULAM, Raphael a Lumír HANUŠ. Cannabidiol: an overview of some chemical and pharmacological aspects. Part I. *Chemistry and Physics of Lipids*. 2002, 121(1-2), 35-43. DOI: 10.1016/S0009-3084(02)00144-5. ISSN 00093084. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009308402001445>
- [30] Fidel PL Jr, Vazquez JA, Sobel JD. *Candida glabrata*: review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to *C. albicans*. *Clin Microbiol Rev*. 1999 Jan;12(1):80-96. PMID: 9880475; PMCID: PMC88907. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC88907/>
- [31] *Candida glabrata* | BioLib.cz. *Taxonomic tree of plants and animals with photos / BioLib.cz* [online]. Copyright © 2020 [cit. 22.06.2020]. Dostupné z: <https://www.biolib.cz/cz/taxon/id341509/>
- [32] VOTAVA, Miroslav. Lékařská mikrobiologie speciální. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902-8966-5.
- [33] *Escherichia coli* | BioLib.cz. *Taxonomic tree of plants and animals with photos / BioLib.cz* [online]. Copyright © 2020 [cit. 22.06.2020]. Dostupné z: <https://www.biolib.cz/cz/taxon/id223901/>
- [34] VIJAYAKUMAR, Ramasamy; MUTHUKUMAR, Chinnasamy; KUMAR, T; SARAVANAMUTHU, Saravanamuthu Rengassamy. Characterization of *Malassezia Furfur* and its control by using plant extracts. *Indian Journal of Dermatology*. 2006, roč. 51. Dostupné z DOI: 10.4103/0019-5154.26942
- [35] *Malassezia Species - Doctor Fungus*. *Home - Doctor Fungus* [online]. Copyright © 2014 [cit. 22.06.2020]. Dostupné z: <https://drfungus.org/knowledge-base/malassezia-species/>
- [36] *Malassezia furfur* (pityrosporum oválné) | BioLib.cz. *Taxonomic tree of plants and animals with photos / BioLib.cz* [online]. Copyright © 2020 [cit. 22.06.2020]. Dostupné z: <https://www.biolib.cz/cz/taxon/id351521/>
- [37] YOUNG, Michael, Vladislav ARTSATBANOV, Harry R. BELLER, et al. Genome Sequence of the Fleming Strain of *Micrococcus luteus*, a Simple Free-Living Actinobacterium. *Journal of Bacteriology*. 2010, 192(3), 841-860. DOI: 10.1128/JB.01254-09. ISSN 0021-9193. Dostupné také z: <https://JB.asm.org/content/192/3/841>

- [38] GREENBLATT, C.L., J. BAUM, B.Y. KLEIN, S. NACHSHON, V. KOLTUNOV a R.J. CANO. *Micrococcus luteus* - Survival in Amber. *Microbial Ecology*. 2004, 48(1), 120-127. DOI: 10.1007/s00248-003-2016-5. ISSN 0095-3628. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s00248-003-2016-5>
- [39] *Micrococcus luteus* | BioLib.cz. *Taxonomic tree of plants and animals with photos / BioLib.cz* [online]. Copyright © 2020 [cit. 22.06.2020]. Dostupné z: <https://www.biolib.cz/cz/taxon/id829389/>
- [40] ZÁRUBA, Kamil. *Analytická chemie 1. díl*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2016. ISBN 978-80-7080-950-1.
- [41] ZÁRUBA, Kamil. *Analytická chemie 2. díl*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2016. ISBN 978-80-7080-951-8.
- [42] VESELÁ, Mária a Milan DRDÁK. *Praktikum z obecné mikrobiologie*. 2. vyd. přeprac. Brno: VUTIUM, 1999. ISBN 80-214-1305-0.
- [43] VYTRÁSOVÁ, Jarmila a Zuzana BÍLKOVÁ. *Laboratorní cvičení z obecné mikrobiologie*. Vyd. 2. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2003. ISBN 80-719-4610-9.
- [44] MEDINA, Eduardo; ROMERO, Concepción; GARCÍA, Pedro; BRE-NES, Manuel. Characterization of bioactive compounds in commercial olive leaf extracts, and olive leaves and their infusions. *FoodFunction*. 2019, roč. 10, č. 8, s. 4716–4724. ISSN 2042-6496. Dostupné z DOI:10.1039/c9fo00698b.
- [45] PEREIRA, Ana; FERREIRA, Isabel; MARCELINO, Filipa; VALEN-TÃO, Patricia; ANDRADE, Paula; SEABRA, Rosa; ESTEVINHO, Leticia; BENTO, Albino; PEREIRA, José. Phenolic Compounds and Antimicrobial Activity of Olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) Leaves. *Molecules*. 2007, roč. 12, č. 5, s. 1153–1162. ISSN 1420-3049. Dostupné z DOI:10.3390/12051153.29
- [46] ŽÁČKOVÁ, K. *Využití technického konopí do kosmetiky proti akné*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2018. 80 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Andrea Hároniková, Ph.D

8. Seznam použitých zkratek

A	absorbance
ABTS	2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová kyselina)
BL	blank, slepý vzorek
<i>C.glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>
CBC	kanabichromen
CBD	kanabidiol
CBG	kanabigerol
CBGA	kyselina kanabigerolová
CBN	kanabinol
CCM	Česká sbírka mikroorganismů (Czech Collection of Microorganisms)
CCY	Kulturní sbírka kvasinek (Culture Collection of Yeasts)
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
LB	Luria broth
<i>M. furfur</i>	<i>Malassezia furfur</i>
<i>M. luteus</i>	<i>Micrococcus luteus</i>
NB	Nutrien broth
SD	Seboroická dermatitida
SLES	Sodium Laureth Sulfate
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidant Capacity
THC	Δ^9 -tetrahydrokanabinol
UV	záření v ultrafialové oblasti spektra
VIS	záření ve viditelné oblasti spektra
YPD	Yeast extrakt peptone dextrose

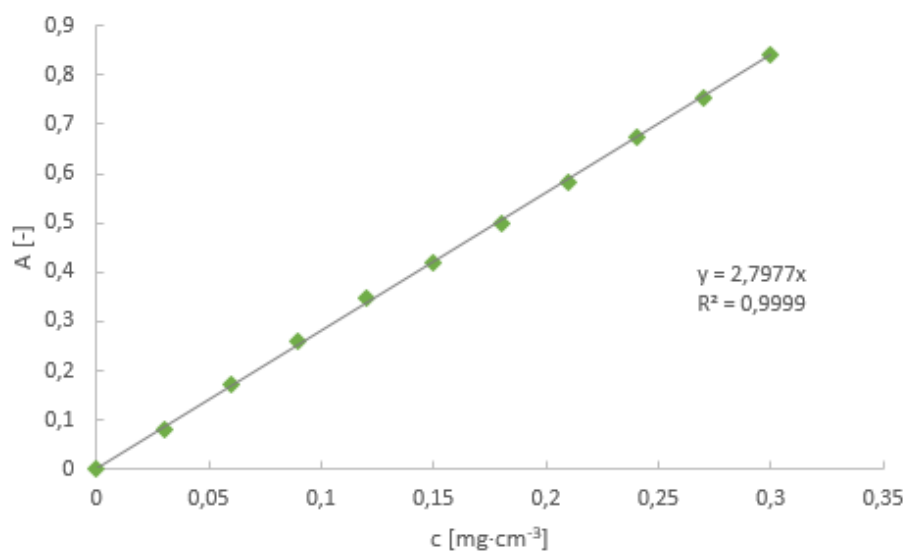
9. Přílohy



Obrázek 9.1: Kalibrační závislost celkových polyfenolů

Tabulka 9.1: Obsah celkových polyfenolů v extraktech

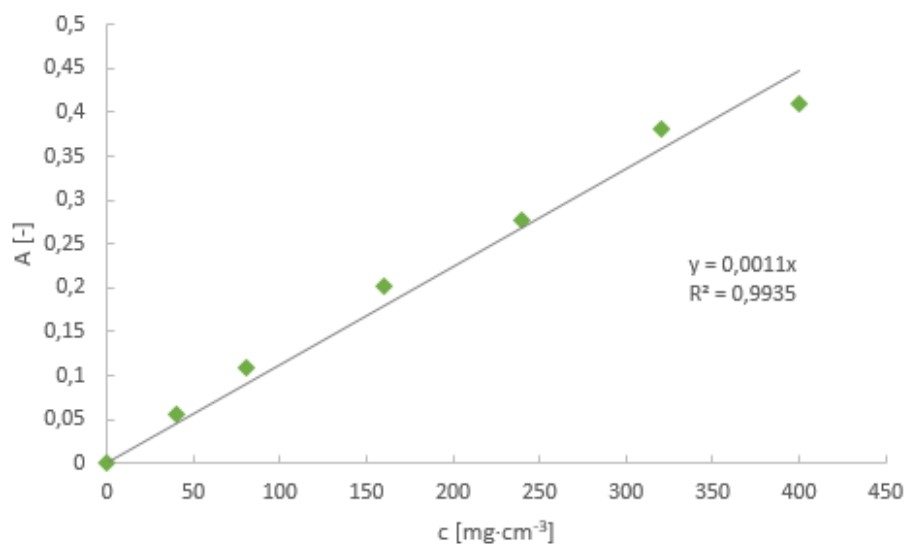
		Koncentrace	
		[mg · ml ⁻¹]	[mg · g ⁻¹]
Carmagnola	Čerstvá směs	0,80 ± 0,01	6,15 ± 0,04
	Sušená směs	2,00 ± 0,03	13,31 ± 0,14
	Sušený květ	2,79 ± 0,11	18,62 ± 0,65
	Sušený list	1,61 ± 0,02	10,73 ± 0,11
Ferimon	Čerstvá směs	0,67 ± 0,03	4,97 ± 0,26
	Sušená směs	1,14 ± 0,05	7,59 ± 0,32
	Sušený květ	1,33 ± 0,05	8,85 ± 0,33
	Sušený list	1,08 ± 0,09	7,20 ± 0,61
Směsi	Kopřiva + Ferimon	1,47 ± 0,01	9,78 ± 0,08
	Kopřiva + Carmagnola	1,53 ± 0,05	10,23 ± 0,33
	Oliva + Ferimon	7,11 ± 0,06	47,41 ± 0,41
	Oliva + Carmagnola	8,20 ± 0,03	54,70 ± 0,22
	Myrta + Ferimon	4,81 ± 0,02	32,04 ± 0,15
	Myrta + Carmagnola	5,49 ± 0,06	36,57 ± 0,38



Obrázek 9.2: Kalibrační závislost celkových flavonoidů

Tabulka 9.2: Obsah celkových flavonoidů v extraktech

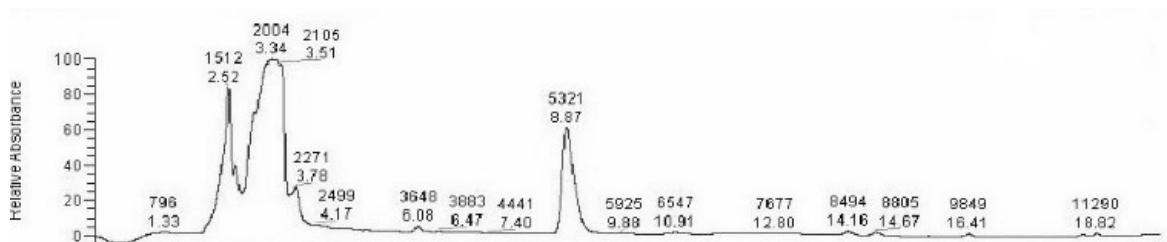
		Koncentrace	
		[mg · ml ⁻¹]	[mg · g ⁻¹]
Carmagnola	Čerstvá směs	0,47 ± 0,00	3,60 ± 0,00
	Sušená směs	1,12 ± 0,01	7,48 ± 0,06
	Sušený květ	1,60 ± 0,03	10,67 ± 0,17
	Sušený list	1,10 ± 0,02	7,35 ± 0,04
Ferimon	Čerstvá směs	0,35 ± 0,04	2,56 ± 0,24
	Sušená směs	0,78 ± 0,05	5,19 ± 0,36
	Sušený květ	0,82 ± 0,12	5,44 ± 0,80
	Sušený list	0,72 ± 0,10	4,82 ± 0,64
Směsi	Kopřiva + Ferimon	0,53 ± 0,01	3,55 ± 0,06
	Kopřiva + Carmagnola	0,73 ± 0,05	4,85 ± 0,33
	Oliva + Ferimon	2,83 ± 0,01	18,84 ± 0,04
	Oliva + Carmagnola	3,55 ± 0,01	23,69 ± 0,10
	Myrta + Ferimon	0,55 ± 0,11	3,65 ± 0,73
	Myrta + Carmagnola	0,89 ± 0,08	5,92 ± 0,53



Obrázek 9.3: Kalibrační závislost antioxidantní aktivity

Tabulka 9.3: Antioxidantní aktivita extraktů

		Koncentrace	
		[mg · ml ⁻¹]	[mg · g ⁻¹]
Carmagnola	Čerstvá směs	1,68 ± 0,02	12,97 ± 0,15
	Sušená směs	2,30 ± 0,01	15,32 ± 0,04
	Sušený květ	2,78 ± 0,05	18,51 ± 0,30
	Sušený list	2,20 ± 0,00	14,65 ± 0,01
Ferimon	Čerstvá směs	1,40 ± 0,06	10,30 ± 0,48
	Sušená směs	2,35 ± 0,06	15,67 ± 0,40
	Sušený květ	2,50 ± 0,02	16,66 ± 0,10
	Sušený list	1,88 ± 0,01	12,53 ± 0,08
Směsi	Kopřiva + Ferimon	1,85 ± 0,01	12,30 ± 0,09
	Kopřiva + Carmagnola	2,00 ± 0,02	13,33 ± 0,15
	Oliva + Ferimon	5,17 ± 0,02	34,45 ± 0,14
	Oliva + Carmagnola	5,26 ± 0,02	35,09 ± 0,12
	Myrta + Ferimon	2,48 ± 0,01	16,55 ± 0,09
	Myrta + Carmagnola	2,60 ± 0,01	17,32 ± 0,08



Obrázek 9.4: Chromatogram extraktu sušeného květu odrůdy Carmagnola