



# 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

## POTRAVINÁŘSKÉ A KOSMETICKÉ VYUŽITÍ TECHNICKÉHO KONOPÍ

FOOD AND COSMETIC USE OF TECHNICAL HEMP

### DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

### AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Radka Puškárová

### VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Andrea Hároniková, Ph.D.

BRNO 2019

## Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1324/2018 Akademický rok: 2018/19  
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií  
Studentka: **Bc. Radka Puškárová**  
Studijní program: Chemie a technologie potravin  
Studijní obor: Potravinářská chemie a biotechnologie  
Vedoucí práce: **Ing. Andrea Hároniková, Ph.D.**

### Název diplomové práce:

Potravinářské a kosmetické využití technického konopí

### Zadání diplomové práce:

V rámci práce budou řešeny následující dílčí úkoly:

- vypracování literární rešerše shrnující aktuální informace o aktivních látkách z konopí používaných v potravinářství a kosmetice
- stanovení a charakterizace aktivních látek z vybraných částí rostliny konopí
- návrh a testování konkrétních výrobků s obsahem aktivních látek z konopí

### Termín odevzdání diplomové práce: 10.5.2019:

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

-----  
Bc. Radka Puškárová  
student(ka)

-----  
Ing. Andrea Hároniková, Ph.D.  
vedoucí práce

-----  
prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2019

-----  
prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.  
děkan

## **Abstrakt**

Tato práce se zabývá využitím konopí v kosmetice a potravinářství. V teoretické části je konopí charakterizováno z hlediska obsahu aktivních látek. V experimentální části se práce zaměřuje na charakterizaci odrůd konopí Carmagnola a Ferimon z hlediska obsahu aktivních látek (polyfenoly, kanabinoidy, mastné kyseliny a vitamín E). Dále na přípravu kosmetických přípravků s obsahem konopných extraktů na boj proti akné. U přípravků a extraktů byl testován antimikrobiální účinek proti bakteriím *Propionibacterium acnes*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli* a kvasince *Candida glabrata*. U konopného semínka byl zjišťován obsah mastných kyselin a vitamínu E v oleji. Z výsledků práce vyplývá, že největší množství aktivních látek obsahují extrakty ze sušeného květu, které mají i největší antimikrobiální účinek proti všem typům bakterií, nepůsobily však na kvasinku. Kosmetické přípravky nejevily téměř žádný inhibiční efekt v důsledku nízké koncentrace účinných látek. Konopné semínko obsahovalo velké množství PUFA a esenciálních mastných kyselin. Vitamín E byl potvrzen ve všech olejích získaných ze semínek.

**Klíčová slova: konopí, kanabinoidy, akné, mastné kyseliny, vitamín E**

## **Abstract**

The thesis occupies with the use of hemp in cosmetics and in food processing. In the theoretical part hemp was characterized by the content of active substances. In the experimental part the thesis is concerned with characterization of two different hemp varieties Carmagnola and Ferimon in terms of presence of active substances. The next part focuses on preparation of cosmetic with hemp content. In cosmetic preparations and in the extracts the inhibitory effect against *Propionibacterium acnes*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli* and *Candida glabrata* was tested. The content of fatty acids and vitamin E was determined in hemp seed. The results show that dried hemp flower extract contains the largest amount of active substances and has the greatest inhibitory effect against all tested bacteria except *Candida* there was no effect. Cosmetic preparations did not show almost any inhibitory effect because of low concentration of active substances. The hemp seed contained high amount of PUFA and essential fatty acids. Vitamin E was found out in all of three hemp oils.

**Keywords: hemp, cannabinoids, acne, fatty acids, vitamin E**

PUŠKÁROVÁ, Radka. *Potravinářské a kosmetické využití technického konopí*. Brno, 2019. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/113474>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Andrea Hároniková.

#### PROHLÁŠENÍ:

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkanem FCH VUT.

.....

podpis studenta

#### PODĚKOVÁNÍ:

Ráda bych tímto poděkovala vedoucí mé práce Ing. Andree Háronikové, Ph.D. za odborné vedení, její rady, trpělivost a čas. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Marku Raptovi za jeho pomoc a rady a svým kolegyním Lence Pelánové a Kateřině Posoldové za spolupráci a pomoc.

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod.....</b>	<b>9</b>
<b>2</b>	<b>Teoretická část.....</b>	<b>10</b>
2.1	Konopí .....	10
2.1.1	Historie konopí .....	10
2.1.2	Legislativa .....	10
2.1.3	Taxonomie a popis rostliny .....	11
2.1.4	Odrůdy konopí.....	12
2.2	Biologicky aktivní látky v konopí .....	13
2.2.1	Kanabinoidy .....	13
2.2.2	Terpeny.....	14
2.2.3	Fenolické sloučeniny .....	15
2.2.4	Alkaloidy .....	16
2.2.5	Primární metabolity .....	16
2.3	Konopný olej.....	17
2.3.1	Vlastnosti .....	17
2.4	Využití konopí .....	17
2.4.1	Potravinářství.....	17
2.4.2	Kosmetika.....	18
2.5	Kůže.....	18
2.5.1	Pokožka ( <i>epidermis</i> ) .....	18
2.5.2	Škára ( <i>dermis</i> ) .....	19
2.5.3	Podkožní vazivo ( <i>hypodermis</i> ) .....	20
2.6	Testované mikroorganismy.....	21
2.6.1	<i>Candida glabrata</i> .....	21
2.6.2	<i>Escherichia coli</i> .....	21
2.6.3	<i>Microoccus luteus</i> .....	22
2.6.4	<i>Propionibacterium acnes</i> .....	22
2.6.4.1	Rod <i>Propionibacterium</i> .....	22
2.6.4.2	Charakteristika <i>Propionibacterium acnes</i> .....	22
2.6.4.3	Onemocnění způsobená <i>Propionibacterium acnes</i> .....	23
2.7	Akné.....	24

2.7.1	Vznik a průběh akné .....	24
2.7.2	Léčba akné .....	25
2.7.2.1	<i>Lokální léčba</i> .....	26
2.7.2.2	<i>Celková léčba</i> .....	27
2.7.2.3	<i>Doplňkové metody</i> .....	27
2.7.3	Vliv konopí na léčbu akné .....	28
2.8	Kosmetické přípravky .....	29
2.8.1	Legislativa .....	29
2.8.2	Klasifikace .....	29
2.8.3	Složky obsažené v kosmetických přípravcích .....	31
2.8.4	Mechanismus prostupu látek pokožkou .....	32
<b>3</b>	<b>Cíle práce .....</b>	<b>34</b>
<b>4</b>	<b>Experimentální část .....</b>	<b>35</b>
4.1	Použité chemikálie .....	35
4.2	Použité přístroje .....	36
4.3	Použité mikroorganismy .....	37
4.4	Použité odrůdy konopí .....	38
4.5	Příprava konopných extraktů .....	38
4.5.1	Pentylenglykol .....	38
4.6	Příprava kosmetických přípravků .....	38
4.6.1	Krém s obsahem konopné složky .....	39
4.6.2	Krém s oxidem zinečnatým a obsahem konopné složky .....	39
4.6.3	Cukrový peeling s obsahem konopné složky .....	40
4.6.4	Peeling s obsahem konopné složky .....	40
4.7	Komerční kosmetické přípravky .....	41
4.7.1	Extra výživný pleťový krém .....	41
4.7.2	Pleťový peeling Bio Cannabis .....	41
4.8	Stanovení celkových polyfenolů .....	42
4.9	Stanovení celkových flavonoidů .....	42
4.10	Stanovení antioxidační aktivity .....	42
4.11	Stanovení kanabinoidů pomocí HPLC .....	43
4.12	Stanovení antimikrobiálního účinku .....	43

4.12.1	Difúzní agarový test.....	44
4.12.2	Diluční jamkový test.....	44
4.13	Extrakce oleje ze semen.....	44
4.14	Stanovení tukových čísel .....	44
4.14.1	Číslo kyselosti .....	44
4.14.2	Jodové číslo .....	44
4.15	Stanovení obsahu mastných kyselin pomocí plynové chromatografie .....	45
4.16	Stanovení obsahu vitamínu E .....	45
<b>5</b>	<b>Výsledky a diskuze .....</b>	<b>46</b>
5.1	Celkové polyfenoly .....	46
5.2	Celkové flavonoidy .....	47
5.3	Antioxidační aktivita.....	49
5.4	Obsah kanabinoidů .....	51
5.5	Antimikrobiální aktivita.....	53
5.5.1	Extrakty .....	54
5.5.1.1	<i>Candida glabrata</i> .....	54
5.5.1.2	<i>Escherichia coli</i> .....	54
5.5.1.3	<i>Micrococcus luteus</i> .....	55
5.5.1.4	<i>Propionibacterium acnes</i> .....	56
5.5.2	Kosmetické přípravky.....	58
5.5.2.1	<i>Candida glabrata</i> .....	58
5.5.2.2	<i>Escherichia coli</i> .....	59
5.5.2.3	<i>Micrococcus luteus</i> .....	60
5.5.2.4	<i>Propionibacterium acnes</i> .....	61
5.6	Stanovení nutričních hodnot v semínech konopí .....	63
5.6.1	Obsah tuků v semínech.....	63
5.6.2	Tuková čísla.....	64
5.6.2.1	Číslo kyselosti.....	64
5.6.2.2	Jodové číslo .....	64
5.6.3	Obsah mastných kyselin .....	65
5.6.3.1	Olej ze semínek <i>Ferimonu</i> .....	66
5.6.3.2	Olej ze semínek <i>Carmagnoly</i> .....	67

5.6.3.3	<i>Olej z komerčních semínek</i> .....	68
5.6.4	Vitamín E.....	68
<b>6</b>	<b>Závěr</b> .....	<b>70</b>
<b>7</b>	<b>Literatura</b> .....	<b>73</b>
<b>8</b>	<b>Seznam zkratk</b> .....	<b>79</b>
<b>9</b>	<b>Přílohy</b> .....	<b>80</b>



# 1 ÚVOD

Konopí je od pradávna díky jeho mnohastrannému využití součástí lidského života. Už ve starověké Asii bylo využíváno například na výrobu ošacení, plachet a papíru. V dnešní době jeho význam není tak velký, jak tomu bylo v minulosti, ale to se postupně mění. Se snahou o ekologičtější život nabývá konopí opět na významu, protože se jedná o přírodní a recyklovatelnou surovinu. Opět se začíná využívat v průmyslu, díky obsahu aktivních látek v kosmetice a farmacii, jeho semínka nacházejí uplatnění v potravinářství. Konopí je zdrojem biologicky aktivních látek jako jsou kanabinoidy, terpeny, polyfenolické sloučeniny a alkaloidy. Těmto látkám vděčí konopí za uplatnění v kosmetice a farmacii. Semínko obsahuje vysoký podíl polynenasycených mastných kyselin, všechny esenciální aminokyseliny, je bohaté na minerály, obsahuje vitamín E a vlákninu, což z něj činí vhodnou potravinu na zařazení do našeho jídelníčku.

Tato diplomová práce se zabývá technickým konopím, obsahem aktivních látek v něm, vhodností využití do kosmetických produktů a do potravinářství. V teoretické části byla provedena rešerše řešící vhodnost konopí v boji proti akné a jeho uplatnění v potravinářství. V experimentální části byly tyto poznatky zkoumány u dvou odrůd konopí (Carmagnola a Ferimon). Práce se zabývá převážně vlivem konopí na akné a vývojem vhodných kosmetických prostředků na boj proti akné, u kterých zkoumá jejich antimikrobiální aktivitu. U konopných extraktů byl stanoven obsah aktivních látek (polyfenolů, flavonoidů, kanabinoidů) a jejich antimikrobiální aktivita. Dále se zabývá stanovením obsahu tuků, mastných kyselin a vitamínu E v konopném semínku a návrhem uplatnění semínka v potravinářství.

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Konopí

Konopí je jednoletá rostlina, známá více než deset tisíc let. Ovlivňovala kulturní vývoj člověka a ten působil na její biologický vývoj. V dnešní době začíná být opět využívána k různým účelům, například v zemědělství nebo v lékařství [1].

#### 2.1.1 Historie konopí

Ačkoli dnes konopí (*Cannabis*) existuje v různých formách, když bylo poprvé použito člověkem, bylo jednodomou rostlinou. Konopí je jednou z nejstarších kulturních plodin, známou přinejmenším deset tisíc let [2]. Semena konopí byla nalezena na nalezištích z mladší doby kamenné. Předpokládá se, že rostlo jako plevel. Nejstarší údaje o využívání konopí pocházejí z doby asi před sedmi tisíci lety ze staré Babylónie. Nejvíce informací o rané historii konopí pochází z Číny, kde se tato rostlina stala populární se vzestupem čínské civilizace. Z konopí se vyráběly šaty, síť na lov ryb a zvěře, lana nebo papír. Výhodou použití konopí byly poměrně jednoduché, vyvíjející se technologie na jeho zpracování. Číňané ale dokázali využít rostlinu celou, kromě stonku využívali i kořeny v medicíně a hlavně semena na jídlo a olej. Jako potravu využívali semena až zhruba do prvního století před naším letopočtem, kdy byly nahrazeny obilovinami. Naučili se také lisovat olej, který používali na vaření, do lamp ke svícení, do barev nebo na výrobu mýdla [1]. Číňané také využívali konopí k léčebným účinkům a to již 2 800 let před naším letopočtem zejména na snižování bolesti při revmatismu, proti malárii nebo roztržitosti. Indové naproti tomu konopí a hašiš nepoužívali v té době na léčbu, ale pro jejich psychotropní účinky. První léčebné využití je u nich datováno až do přelomu 12. a 13. století [3]. Do Evropy přinesli konopí nejspíše 2 800 let před naším letopočtem Skytové z jejich rodiště v centrální Asii [2]. Kouření marihuany nebylo do moderní doby intenzivně rozšířeno, ale konopí se stalo aspoň na krátký čas důležitou plodinou pro téměř každou evropskou zemi, znali ho už Germáni, Vikingové, Anglosasové i Slované. Staří Řekové a Římané využívali konopí hlavně hospodářsky a na výrobu lan a plachet [1]. V Českých zemích bylo konopí nalezeno ve slovanském sídlišti z 8. století našeho letopočtu v Kloboukách u Brna, avšak rozmach v pěstování této rostliny přišel až v 18. století [4].

Po druhé světové válce zájem o pěstování konopí klesl kvůli levnějším nylonovým nebo silonovým materiálům. Posloužilo k tomu i legislativní omezení pěstování konopí. V současné době zájem o pěstování konopí roste díky tomu, že se jedná o přírodní, ekologickou a recyklovatelnou surovinu, která má široké spektrum využití [4].

#### 2.1.2 Legislativa

V roce 1961 došlo k celosvětovému zákazu pěstování konopí dané Jednotnou úmluvou OSN o omamných látkách. To mělo za výsledek šlechtění odrůd se sníženým obsahem  $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinolu (THC), zástupce skupiny látek nazývaných kanabinoidy. V 80. letech vznikl pojem technické konopí, což je konopí do obsahu THC

0,2 %. Evropská unie zlegalizovala pěstování tohoto konopí pro technické a průmyslové účely [2]. Zákon č. 167/1998 Sb. o návykových látkách povoluje v České republice pěstování technického konopí do obsahu THC 0,3 %. Pěstitelé mají navíc ohlašovací povinnost, pokud osejí technickým konopím plochu větší než 100 m<sup>2</sup>[5]. Marihuana je léčivá, ale i psychotropní látka získávaná usušením květenství samičích rostlin konopí, které má obsah THC větší než 0,3 %. V České republice je legální jen na lékařský předpis jako lékařské konopí [6].

### 2.1.3 Taxonomie a popis rostliny

Tab. 1: Vědecká klasifikace rostliny konopí [7]

KLASIFIKACE	ČESKÝ NÁZEV	LATINSKÝ NÁZEV
říše	rostliny	<i>Plantae</i>
podříše	cévnaté rostliny	<i>Tracheobionta</i>
oddělení	krytosemenné	<i>Magnoliophyta</i>
třída	vyšší dvouděložné	<i>Rosopsida</i>
řád	řůžovotvaré	<i>Rosales</i>
čeleď	konopovité	<i>Cannabaceae</i>
rod	konopí	<i>Cannabis</i>

Konopí je jednoletá cévnatá rostlina, poměrně adaptabilní, takže ji můžeme najít v téměř všech podnebních pásech. Klasifikace konopí je zobrazena v tab. 1. Optimální teplota pro klíčení se pohybuje okolo 24 °C, avšak sazenice jsou schopné krátce vydržet teploty okolo -10 °C a vykvétlé rostliny teploty okolo -6 °C. Konopí můžeme najít buď volně v přírodě jako divoké konopí, nebo vyšlechtěné za různými účely (na vlákno, pro potravinářství, psychoaktivní účel) [8].

Kořenový systém rostliny je slabě vyvinutý, hlavní kořen má délku až 40 cm. Lodyha je přímá, dutá, s pevným vláknem. Listy mají dlanitou žilnatinu, skládající se z obvykle pěti až deseti čepelí, výjimečně jich může být i více. Čepelě mají tvar hrotu kopí a vroubené, pilovité okraje. Jejich uspořádání na stonku může být vstřícné nebo střídavé. Rostlina je dvoudomá, což znamená, že je rozlišena na samičí a samčí rostlinu. Květy produkují pryskyřici obsahující spoustu biologicky aktivních látek. Samčí květy jsou malé (5 mm), přisedlé, sprašné a mají bledě zelenou barvu. Rostliny jsou slabší a světlejší než ty samičí. Samičí rostliny jsou silnější s temněji zelenou barvou. Květy jsou až 1 cm dlouhé a tvoří kompaktní vrcholičnatá květenství zvaná hlavy nebo šišky či palice (obr. 1). Samčí květy přicházejí do květu o měsíc dříve než ty samičí [1].



Obr. 1: Porovnání samčího a samičího květu [9]

Rostlina dosahuje výšky běžně kolem 3 metrů, ale může i více, záleží na odrůdě a růstových podmínkách. *Cannabis sativa* bývá vysoká až 5 metrů, má volné, slabší větve. Jeho listy jsou velmi úzké. Jedná se o nejrozšířenější druh konopí, využívané pro hospodářské účely. *Cannabis indica* bývá nižší okolo 1,5 metru, je bohatěji větvená, má silnější a pevnější větve a širší listy. Díky vyššímu obsahu aktivních látek (kanabinoidů) je vhodná pro medicínské použití. *Cannabis ruderalis* nemá obvykle příliš větví, měří sotva půl metru a vytváří malé, krátké listy [1]. Největší praktické uplatnění má druh konopí seté (*Cannabis sativa*). Díky jeho minimálnímu obsahu THC, je označováno jako technické konopí a je hojně využíváno [4]. Pro uživatele marihuany je naopak významný druh konopí indického (*Cannabis indica*), který byl cíleně vyšlechtěn na vysoký obsah omamných látek [1].

#### 2.1.4 Odrůdy konopí

Ze základních odrůd byly vyšlechtěny další, specifické odrůdy. Odrůd technického konopí je velmi mnoho, Evropská unie jich povoluje pěstovat 54. Všechny musí mít obsah THC do 0,3 %, většina má obsah této látky nižší než ukládá zákonný limit [10].

Carmagnola je pozdější, původem italská dvoudomá odrůda. V minulosti byla považována za nejlepší na světě pro svou vysokou kvalitu vlákna. Dnes je vyhledávanou pro zvýšený obsah kanabinoidů, terpenů a jiných látek [9]. Obsah THC je nižší je 0,2 % a obsah CBD může být až 25 %. [12]. V 19. století byla používána ke genetickému zlepšení téměř všech evropských odrůd konopí. Při optimálních podmínkách dorůstá výšky až 6 metru. Plné kvetení rostlin bývá v srpnu [13]. Konopné pazdeří u Carmagnoly obsahuje 44 %  $\alpha$ -celulózy, 25 % hemicelulózy, 23 % ligninu a 4 % dalších látek (oleje, proteiny, aminokyseliny) [9]. Semínka obsahují okolo 31 % oleje, z celkových mastných kyselin je zhruba 18 % kyseliny  $\alpha$ -linolenové ( $\omega$ -3 mastných kyselin) a 56 % kyseliny linolové ( $\omega$ -6 mastných kyselin). Obsah polynenasycených mastných kyselin je zhruba 75 % [14].

Ferimon je jednodomá odrůda vyšlechtěná z Fibrimonu 21. Je nejranější francouzskou odrůdou s vysokým výnosem vlákna. Dorůstá výšky okolo 2,5 metru [15]. Semínka obsahují 30–32 % oleje, 16 % z celkových mastných kyselin je kyselina  $\alpha$ -linolenová ( $\omega$ -3 mastných kyselin) a 62 % kyselina linolová ( $\omega$ -6 mastných kyselin). Obsah polynenasycených mastných kyselin se pohybuje okolo 78 %. Semínka jsou velmi malá,

váží okolo 0,016 g. Obsah THC je menší než 0,1 % a obsah CBD se pohybuje většinou okolo 1,5 % [14].

Mezi další odrůdy technického konopí patří například Finola, Beniko, Bialobrzeskie, Futura 75, Santhica 23. V rámci evropské unie se konopí nejvíce pěstuje ve Francii a Velké Británii, celosvětově je na prvním místě Čína [4].

## **2.2 Biologicky aktivní látky v konopí**

Už více jak 540 látek reprezentujících různé chemické třídy bylo identifikováno v konopí a není to konečný počet, protože složení konopí se neustále studuje [16]. Některé sloučeniny patří do primárního metabolismu (aminokyseliny, mastné kyseliny, steroidy), zatímco jiné (kanabinoidy, flavonoidy, terpeny, ligandy a alkaloidy) zastupují sekundární metabolity. Koncentrace těchto látek v konopí závisí na spoustě faktorů, například na typu a věku rostliny, na podmínkách růstu, času sklizení a podmínkách skladování [17].

### **2.2.1 Kanabinoidy**

Jsou sekundárními metabolity rostliny konopí. Bývají považovány za hlavní biologicky aktivní látky konopí. Tato skupina látek obsahuje více než 100 různých členů, které jsou dále klasifikovány do 10 podtříd podle chemické struktury [18]. Většina kanabinoidů se v rostlině vyskytuje pouze v nepatrném množství a nemají tak dostatečné účinky. Množství těchto kanabinoidů má vliv na to, jaké vlastnosti bude rostlina mít [1].

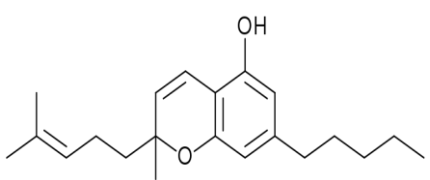
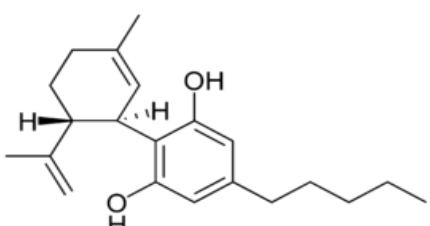
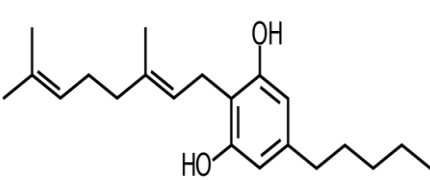
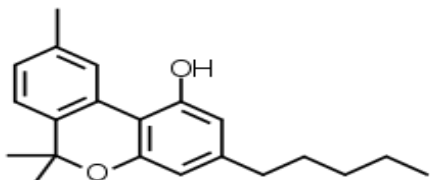
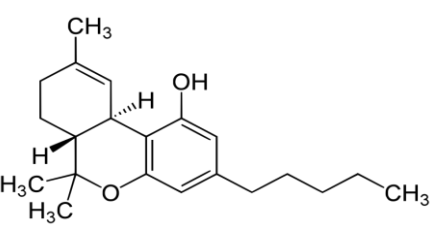
Biosyntéza fytoKANABINOIDŮ byla objasněna nedávno. Prekurzory kanabinoidů pocházejí ze dvou různých biosyntetických cest. První z nich je polyketidová dráha, která vede k olivetolové kyselině a 2-C-methyl-D-erythritol-4-fosfátová dráha, která vede k tvorbě geranyldifosfátu. Enzymovou alkylací kyseliny olivetové a geranyldifosfátu vzniká kyselina kanabigerolová, centrální prekurzor kanabinoidů a kyselá forma kanabigerolu (CBG). Pomocí enzymů oxidocykláz vznikají následně  $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinol (THC), kanabidiol (CBD) a kanabichromen (CBC). THC se za přístupu kyslíku degraduje na karabinol (CBN). Přehled nejdůležitějších kanabinoidů a jejich účinek je uveden v tab. 2. Kromě nich existují mnohé další například tetrahydrokanabivarin (THCV), kanabichromvarin (CBDV), kanabivarin (CBV) a další [19].

Jelikož jsou považovány za hlavní biologické látky v konopí, bývají izolovány jako čisté látky. Vyskytují se studie, které ale říkají, že pokud jsou kanabinoidy v kombinaci s jinými účinnými látkami v konopí, například terpeny, tak dochází k synergickému působení, k takzvanému entourageeffectu. To znamená, že dochází k vzájemnému působení látek tak, že působení směsi je ve srovnání se samostatnými látkami silnější [19].

V našem těle se vyskytuje endokanabinoidní systém, v němž působí účinné látky, které je možno nahradit látkami z konopí. Naše tělo si vyrábí endokanabinoidy (anandamid), které se vážou na kanabinoidní receptory. Endokanabinoidy jsou lipidy, které se vytváří z arachidonové kyseliny kondenzací s ethanolaminem nebo glycerolem.

Endokanabinoidy sice mají odlišné chemické složení od fytoKANABINOIDŮ, ale fungují podobně. Proto je možné nedostatek těchto látek vyráběných v těle přirozenou cestou vyrovnat dodáním KANABINOIDŮ z konopí. Endokanabinoidy mají na starost celou řadu životně důležitých funkcí od regulace příjmu potravy, přes vyrovnávání se se stresem až po imunitní systém. Chrání nás také proti nadměrné protizánětlivé reakci způsobené volnými radikály [18].

Tab. 2: Základní KANABINOIDY konopí [18], [20]

NÁZEV	STRUKTURA	VLASTNOSTI
<b>kanabichromen (CBC)</b>		antifungální, analgetický, protizánětlivý, sedativní, antibiotické, cytotoxický pro karcinogenní buňky, ve vodě nerozpustný
<b>kanabidiol (CBD)</b>		neuroprotektivní, analgetický, antioxidant, antibiotické, protiplísňový, nízká rozpustnost ve vodě, vysoká v organických rozpouštědlech
<b>kanabigerol (CBG)</b>		antifungální, analgetický, sedativní, cytotoxický pro karcinogenní buňky, inhibice proliferace keratinocytů, nerozpustný ve vodě
<b>kanabinol (CBN)</b>		protizánětlivý, stimuluje nábor buněk v kostní dřeni, inhibice proliferace keratinocytů
<b><math>\Delta^9</math>-tetrahydrokanabinol (THC)</b>		psychoaktivní, neuroprotektivní, antioxidant, protizánětlivý, proti svědění, nízká rozpustnost ve vodě, vysoká v organických rozpouštědlech

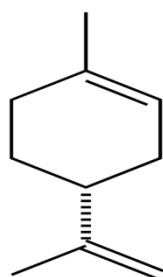
### 2.2.2 Terpeny

Terpeny tvoří největší skupinu rostlinných látek, jen v konopí jich bylo identifikováno 120, z toho 61 monoterpenů, 52 seskviterpenů, 2 triterpeny, jeden diterpen a 4 deriváty terpenů. Terpeny mohou být sekundární nebo primární metabolity. V primární metabolity mají funkci jako rostlinné hormony (cytosiny, gibberelová kyselina) a jako

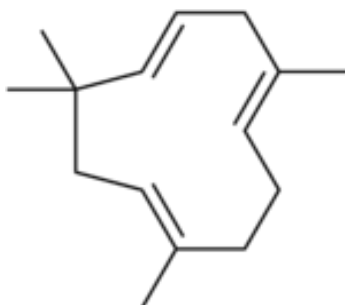
membránové stabilizátory (steroly), zatímco sekundární metabolity se účastní komunikace a obranných mechanismů. Terpeny jsou zodpovědné za vůni a aroma různých druhů konopí [17]. Jsou to lipofilní sloučeniny, snadno procházející membránami. Terpeny jsou klasifikovány podle počtu opakujících pěti uhlíkatých stavebních jednotek (izoprenových jednotek) na monoterpeny s 10 uhlíky, seskviterpeny s 15 uhlíky a triterpeny s 30 uhlíkatou kostrou. Obsah a distribuce terpenů v rostlině závisí na podmínkách prostředí nebo na zralosti rostliny. Mono- a seskviterpeny byly detekovány v květech, listech a kořenech konopí. V rostlině konopí převažují monoterpeny, hlavně D-limonen,  $\beta$ -myrcen,  $\alpha$ - a  $\beta$ -pinen, terpinolen a linalool. D-limonem (obr. 2), nacházející se i v citrusech, vykazuje protinádorové a imunostimulační vlastnosti.  $\beta$ -myrcen, vyskytující se i v chmelu, má protizánětlivé a analgetické schopnosti. Seskviterpeny a  $\alpha$ -humulen (obr. 3) se ve velkém nacházejí v konopných extraktech. Triterpeny se vyskytují v kořenech konopí, například friedelin, nebo v konopných vláknech jako  $\beta$ -amyrin (obr. 4) a v konopném oleji jako cykloartenol a  $\beta$ -amyrin. Tyto triterpeny vykazují antibakteriální, protiplísňové a protizánětlivé vlastnosti [22].

Při standardních podmínkách byla zjištěna významná pozitivní korelace terpenů s kanabinoidy. Jedním z důvodů, této interakce může být to, že mono- a seskviterpeny jsou syntetizovány ve stejných žlázových trichomech jako kanabinoidy [22].

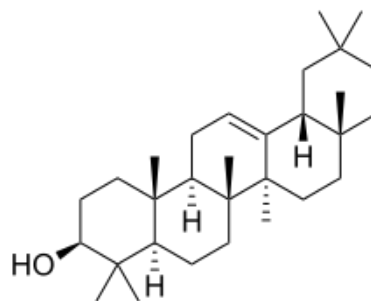
Stejně jako kanabinoidy i terpeny jsou syntetizovány dvěma cestami. Dráha mevalonové kyseliny se podílí na syntéze seskvi- a triterpenů, plastid-lokalizovaná dráha MEP přispívá k syntéze mono-, di- a tetraterpenů [22].



Obr. 2: D-limonen [23]



Obr. 3:  $\alpha$ -humulen [23]



Obr. 4:  $\beta$ -amyrin [23]

### 2.2.3 Fenolické sloučeniny

Fenolické sloučeniny patří k nejrozšířenějším skupinám sekundárního metabolismu v rostlinné říši. Patří sem více jak 10 000 různých sloučenin jako například fenolické kyseliny, stilbeny, lignany a flavonoidy [22].

V konopí bylo identifikováno okolo 20 flavonoidů, patřící převážně do flavonových a flavonolových podtříd. Patří sem luteolin, kaempferol, kvercetin, kanflavin A i kanflavin B, což jsou methylované izoprenoidní flavony, které jsou pro konopí jedinečné. Flavony a flavonoly vykazují širokou škálu biologických účinků, některé z nich mají sdílené s terpeny a kanabinoidy. Jsou protizánětlivé, neuroprotektivní, také

byly prokázány anxiolytické vlastnosti apigerinu. Kanflaviny A a B inhibují prostaglandin E2 a 5-lipoxygenázu a díky tomu mají protizánětlivé vlastnosti [22].

V rostlinách mohou fenolické sloučeniny působit jako antioxidanty a tím chránit rostlinu od oxidačního stresu. U lidí byla prokázána souvislost mezi příjmem fenolických sloučenin se sníženým výskytem chronických onemocnění jako rakoviny nebo kardiovaskulárních nemocí [22].

Konopné semena a kořeny mají 11 sloučeniny identifikovaných jako fenolické amidy a lignanamidy, například kanabisin-A,-B, až -G [17]. Obsah lignanů v konopném semínku je pouze 1 % z celého obsahu v semenu, což je 20krát méně než u lněného semínka. Lignany obecně vykazují širokou škálu vlastností podporující zdraví, jsou cytotoxické, antivirotické, protinádorové a antioxidační, dokonce vykazují i antiobezitní aktivitu [22].

Z konopí bylo zatím izolováno 19 stilbenů. Patří k nim kanabistilben I, IIa, IIb a dihydroresveratrol. Jejich funkcí v rostlinách jsou konstitutivní a indukovatelné obranné mechanismy, jsou inhibitory růstu a faktory spánku. Jsou protizánětlivé, neuroprotektivní, antioxidanty a mají efekt na dlouhověkost [17].

#### **2.2.4 Alkaloidy**

Jsou to bazické dusíkaté sloučeniny, které vykazují biologickou aktivitu i při nízkých koncentracích. U konopí bylo identifikováno 10 alkaloidů, například cholin, neurin a muskarin jsou protoalkaloidy, hordenin je fenethylamin, trigonelin je pyridin a kanabisativin je derivát polyaminu. Dále zde byla zjištěna přítomnost piperidinu a pyrrolidinu [17].

#### **2.2.5 Primární metabolity**

V konopí se nacházejí produkty primárního metabolismu jako aminokyseliny, proteiny, mastné kyseliny, steroidy [17]. Konopné semínko obsahuje 25–35 % lipidů, 20–25 % proteinů, 20–30 % sacharidů, 10–15 % nerozpustné vlákniny, vitamíny (E, C), je bohaté na minerály jako fosfor, draslík, hořčík, síru a vápník. Vitamín E (tokoferol) se vyskytuje v buněčných membránách. Má antioxidační vlastnosti, je schopen vychytávat volné radikály. Konopné semínko obsahuje všechny esenciální aminokyseliny a mastné kyseliny důležité k udržení zdravého životního stylu [14]. Z lipidů obsažených v konopí je asi 80 % polynenasycených mastných kyselin, hlavně kyseliny linolové ( $\omega$ -6) a  $\alpha$ -linolenové kyseliny ( $\omega$ -3). Z nasycených mastných kyselin se v konopí nachází například kyselina stearová nebo arachidonová. Látky obsažené v semenech mají protizánětlivé, anti-trombózní, antioxidační vlastnosti [24]. Kromě mastných kyselin je konopné semínko dobrým zdrojem proteinů, protože jsou snadno stravitelné a využitelné. Mezi hlavní bílkoviny v semínkách patří globulin edestin a albumin. Edestin představuje asi 60–80 % celkového obsahu bílkovin. Tento protein má vysoký obsah argininu a kyseliny glutamové, je snadno stravitelný a bohatý na esenciální aminokyseliny. Konopných proteinů se v kosmetice využívá na zvláčnění, díky schopnosti vázat se na pokožku.



Kvalita rostlinných bílkovin je ovlivnitelná mnoha faktory jako například genotypovou variabilitou nebo podmínkami při zpracování nebo obsahem půdy [14].

## **2.3 Konopný olej**

Olej je přírodní látka, která je složená z mastných kyselin a esterů glycerolu. Patří do třídy lipidů. Rostlinné oleje jsou skupinou tuků získávaných z rostlinných zdrojů. Většinou se vyskytují v semenech a jádrech rostlin. Pokud je koncentrace oleje v rostlině vysoká, je možné různé komerční využití.

### **2.3.1 Vlastnosti**

Hlavním zdrojem oleje u konopí je semínko. Konopný olej má žlutozelenou až tmavě zelenou barvu, s oříškovým aroma. Čím je ale olej tmavší, tím se aroma víc blíží travnatému. Jak bylo zmíněno výše, obsah oleje v semínku se pohybuje mezi 25–35 % v závislosti na odrůdě konopí. Konopný olej je zdrojem nasycených (SFA), mononenasycených (MUFA) i polynenasycených (PUFA) mastných kyselin. Jejich obsah závisí na odrůdě, pohybuje se okolo 80 %. Mezi mastné kyseliny vyskytující se v konopí patří kyselina palmitová, palmitoolejová, stearová, olejová, linolová,  $\alpha$ - i  $\gamma$ -linolenová, arachidonová, behenová, lignocerová a kyselina cis-11-eikosenová. Jejich množství se opět liší v závislosti na odrůdě. Pro potravinářství je konopný olej výhodný hlavně díky poměru  $\omega$ -6: $\omega$ -3, který je přibližně 3:1, což je optimální poměr pro lidské zdraví [14]. Výhodou konopného oleje je, že ho lze používat nepřetržitě bez hrozby deficitu esenciálních mastných kyselin. Nevýhodou je jeho nízká teplota kouřového bodu (165 °C), není tedy příliš vhodný ke smažení, je vhodné ho používat převážně ve studené kuchyni. V dnešní době se primárně používá jako potravinový doplněk. Bod tuhnutí oleje se pohybuje okolo -15 °C [24].

Olej z konopí pomáhá snižovat tělesnou hmotnost zrychlením látkové výměny, snižuje hladinu cholesterolu, vysoký krevní tlak, potlačuje touhu po cukrech a po tučných jídlech, je prospěšný při vývoji mozku a jeho funkci [4].

## **2.4 Využití konopí**

Konopí je rostlina, která má rozsáhlé využití. Využívá se v textilní, stavebním, papírenském nebo automobilovém průmyslu, v potravinářství a kosmetice, v lékařství nebo na výrobu zelené energie. Využívají se v podstatě všechny části rostliny. Základem jsou tři suroviny: vlákno, semeno, pazdeří [4]. Tato diplomová práce je zaměřená na využití konopí v kosmetice a potravinářství.

### **2.4.1 Potravinářství**

Jak bylo zmíněno v kap. 2.2.5, konopí je velmi ceněno díky vysokému obsahu proteinů, nenasycených mastných kyselin a vlákniny. S konopím se v potravinářství můžeme setkat jako s čistým olejem, nebo v pečivu, v čokoládě a cukrovinkách, v čajích, nebo limonádách. V těchto výrobcích se používá pouze technické konopí a je tedy nutné sledovat u něj obsah THC [4], [25].

Konopná mouka se získává pomletím pokrutin, je vysoce kvalitní hrubá surovina. Neobsahuje lepek a využívá se pouze na zatraktivnění chuti výrobku. Konopná bílkovina se získává ze semene, díky tomu, že je téměř 100% proteinový koncentrát, je dobré ji používat jako doplněk stravy. Konopný esenciální olej se získává z květů, vyrábí se destilací bez THC, v potravinářství se využívá pro přípravu čajů, nealkoholických nápojů i piva [4].

#### 2.4.2 Kosmetika

Konopný olej díky velkému obsahu nenasycených mastných kyselin udržuje jemnou a hebkou pokožku, napomáhá při léčbě akné, lupénky a ekzémů. Je základní surovinou při výrobě mýdel, šampónů, balzámů, krémů, mastí díky svým hydratačním a antibakteriálním vlastnostem. Nenasycené mastné kyseliny pomáhají při léčbě poškozené kůže, popálenin nebo poranění. Nenasycené mastné kyseliny udržují pleť hydratovanou, ochraňují ji před škodlivým slunečním zářením, dávají jí jemnost a hebkost. Konopný olej obsahuje aramidy, tuky, které regulují hydrataci pleti [4].

### 2.5 Kůže

Kůže je největším orgánem lidského těla, tvoří 15 % tělesné hmotnosti a celkový povrch bývá 1,5–2 m<sup>2</sup>. Tloušťka kůže se liší podle místa na těle, pohybuje se od 0,4 mm na očních víčkách do 4 mm na zádech [26]. Kůže zastává řadu velmi důležitých funkcí. Ochraňuje člověka proti teplotním výkyvům, před ztrátou tekutin a před vstupem škodlivých mikroorganismů. Kůže obsahuje smyslové buňky a díky ní je možné vnímat chlad, teplo nebo poranění. Má také důležitou termoregulační schopnost. Přes kůži dochází k vylučování mazu, vody, soli a naopak i vstřebávání látek rozpustných v tucích a plynů [27]. Skládá se ze tří částí – z pokožky, škáry a podkožní tkáně (obr. 5). Na vrchní vrstvě se nachází lipidový film, který má bariérovou funkci [26].

#### 2.5.1 Pokožka (*epidermis*)

Pokožka je nejsvrchnější vrstva kůže. Tvoří vodotěsný ochranný obal kolem povrchu těla a je tvořena tenkým vrstevnatým epitelem z dlaždicových buněk a bazální membránou. Vzhledem k tomu, že pokožka neobsahuje žádné cévy, musí být vyživována ze škáry difúzí. Pokožka obsahuje čtyři typy buněk - keratinocyty tvoří až 90 % buněk, melanocyty jsou pigmentové buňky a tvoří 8 %, Langerhansovi buňky jsou součástí imunitního systému a Merkelovy buňky, které jsou čidla hmatu [26]. Pokožka je tvořena z mnoha vrstev včetně:

**Stratum basale** – je nejspodnější vrstvou pokožky. Primárně je tvořena keratinocyty, avšak nacházejí se v ní i další typy buněk – melanocyty a Merkelovy buňky [27]. Stratum basale je jediná vrstva pokožky, která se skládá z buněk schopných dělení. Pomocí mitózy se vytváří dvě dceřiné buňky, jedna zůstává ve stratum basale, druhá migruje přes další vrstvy směrem k povrchu pokožky. Tento proces trvá asi 28 dní. Jak se buňka dostává více nahoru, dostává i méně živin a následně umírá. Kromě toho se

více keratinizuje – obsahuje více keratinu, který chrání kůži proti vlivům tepla, chemickým a mikrobiologickým vlivům. Další buňky v této vrstvě, melanocyty, produkují pigment melanin, který chrání pokožku před vlivy UV záření a na množství melaninu závisí i barva kůže, čím více je ho produkováno, tím tmavší kůže je [26].

**Stratum spinosum** – jak se dceřiné buňky keratinocytů pohybují do další vrstvy, ztrácí schopnost dělení. V této vrstvě se také nachází Langerhansovy buňky, vyvinuté ze specializovaných dendritických buněk imunitního systému. Kromě této vrstvy se nachází také ve škáře, lymfatických uzlinách a brzlíku. Tyto buňky vznikají v červené kostní dřeni a migrují do této vrstvy, kde se účastní imunitních reakcí. Jejich funkcí je rozpoznání invaze mikroorganismů a zničení jich [26].

**Stratum granulosum** – tato vrstva se skládá z tří až pěti vrstev zploštělých keratinocytů a zde dochází k procesu apoptózy, buněčné smrti. Zde buňky ztrácejí své jádro a keratinují [26].

**Stratum lucidum** – tato vrstva se nachází pouze na místech, kde je kůže tlustší (dlaně nebo spodní část nohou). Obsahuje tři až pět vrstev mrtvých keratinocytů, obsahující velké množství keratinu [26].

**Stratum corneum** – je nejsvrchnější vrstvou pokožky. Skládá se až z 30 vrstev mrtvých keratinocytů. Intracelulární lipid ze stratum granulosum spojuje buňky a slouží k prevenci vysušení buněk [26]. Nejvíce je tato vrstva vyvinuta na místech, kde dochází k největšímu tlaku na pokožku. Funkce této vrstvy spočívá ve vytvoření bariéry na ochranu před vniknutím mikroorganismů, před dehydratací, chemickými a mechanickými vlivy [27].

## 2.5.2 Škára (*dermis*)

Škára leží mezi pokožkou a podkožním vazivem a je zodpovědná za poskytování živin a fyzickou podporu pokožce. Tvoří 70–90 % celkové tloušťky kůže. Obsahuje lymfatické cévy, nervová zakončení, vlasové folikuly a žlázy. Škára je tvořena ze dvou vrstev z papilární, která obsahuje nervy a kapiláry, a z retikulární, která je tvořena z pojivové tkáně obsahující kolagen a elastická vlákna [26]. Kolagen a elastin tvoří síť vláken, která poskytuje pokožce pružnost, pevnost, zvlhčení, elasticitu [27]. S rostoucím věkem ale dochází ke snížení počtu kolagenních vláken, která se rozpadají. Elastická vlákna ztrácejí část své elasticity. Tyto změny mají za důsledek tvorbu vrásek [26].

Ve škáře se nachází nervová tělíska. Meissnerova tělíska jsou mechanoreceptory sloužící především pro hmat. Jejich největší hustota je na dlaních a ploskách noh [28]. Krauseova tělíska jsou receptory chladu. Ruffiniho tělíska patří mezi mechanoreceptory a pomalu se adaptující termoreceptory. Pokud se teplota okolí zvyšuje, jsou citlivější, se snižující se teplotou jejich citlivost klesá [27].

Kůže obsahuje tři až čtyři miliony potních žláz. Jejich funkcí je uvolnění potu přes póry do vlasových folikulů nebo na povrch pokožky. Žlázy jsou dvojího typu, endokrinní a apokrinní, vzájemně se lišící strukturou lokací a typem vylučování. Endokrinní žlázy

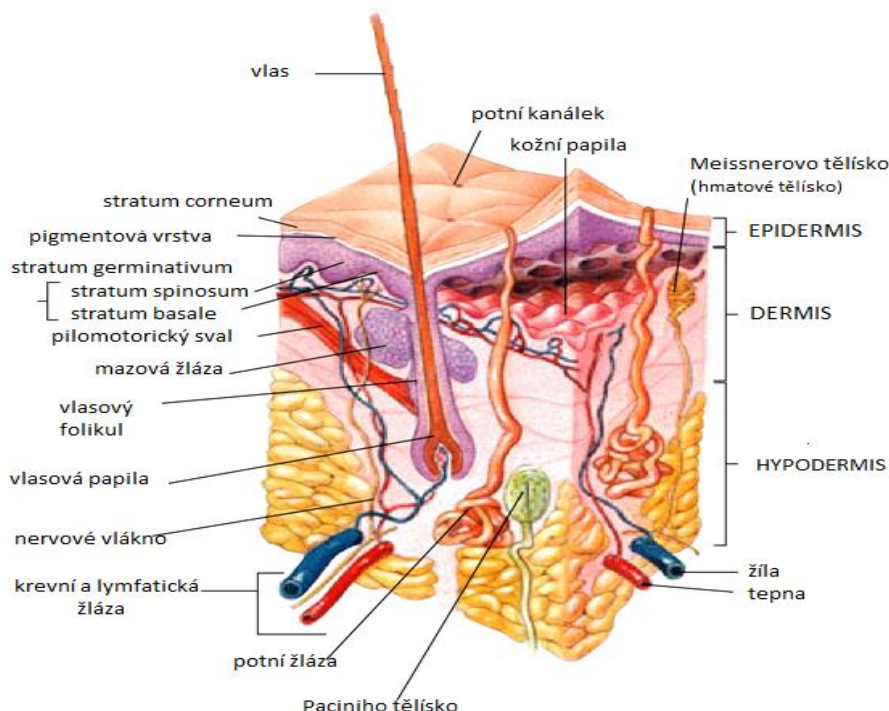
se vyskytují na spoustě míst na těle, ale hlavně na čele, dlaních a chodidlech. Produkují pot složený hlavně z vody, ale obsahuje i sodíkové a chloridové ionty, močovinu, glukózu a kyselinu mléčnou. Tvoří zhruba 600 ml denně. Hrají důležitou roli při termoregulaci odpařováním. Apokrinní žlázy jsou aktivovány hormony až během puberty. Nachází se hlavně v podpaží, ušních kanálcích a kolem pohlavních orgánů [26].

Mazové žlázy jsou většinou spojeny s vlasovými folikuly. Objevují se na obličeji, na krku, zádech. Vylučují maz, což je kombinace triacylglycerolů, cholesterolu, bílkovin a organických solí. Zabraňuje nadměrnému odpařování vody z povrchu těla. Hormonální aktivita během puberty může způsobit nadměrné vylučování mazu, které vede k tvorbě kordonů [26].

Ve škáře se také vyskytují cévy, nehty a hlasové folikuly. Vlasy vznikají z vlasových váčků a jsou to útvary tvořené keratinem. Jejich nejdůležitější funkcí je termoregulace. Jejich barvu ovlivňuje pigment melanin, který se s věkem ztrácí – vlasy zbledají. Nehty jsou vyrobeny z keratinu a slouží k ochraně konců prstů [26].

### 2.5.3 Podkožní vazivo (*hypodermis*)

Podkožní vazivo je nejspodnější vrstva kůže. Obsahuje tukové buňky, v některých místech více, jinde méně, dále krevní a lymfatické cévy a nervy. Tloušťka není rovnoměrná, nejtenčí bývá na víčkách, nejsilnější na hýždích, břiše a stehnech. Tyto buňky slouží jako zásobárna energie a rozpouští se v nich vitamíny A, D, E, K. Jeho funkcí je izolovat a chránit svaly. Určuje tvar a hmotnost těla, u žen bývá silnější vrstva. V podkožním vazivu můžeme najít receptory tlaku a tahu, Vater-Paciniho tělíska [27].



Obr. 5: Stavba kůže [29] – upraveno

## 2.6 Testované mikroorganismy

### 2.6.1 *Candida glabrata*

Doména: *Fungi*; Kmen: *Ascomycota*; Třída: *Saccharomycetes*;  
Řád: *Saccharomycetales*; Čeleď: *Saccharomycetaceae*; Rod: *Candida*; Druh: *Candida glabrata*

*Candida glabrata* je haploidní kvasinka dříve známá jako *Torulopsis glabrata*. Jako jediná z rodu *Candida* netvoří při teplotě nad 37 °C pseudohyfy. Je druhou nebo třetí nejčastější příčinou kandidózy mezi houbovými patogeny. Infekce způsobené *C. glabrata* mohou ovlivnit urogenitální trakt nebo způsobit systémovou infekci proniknutím houbových buněk do krevního oběhu. Tyto infekce se obtížně léčí, je často rezistentní vůči mnoha antimykotikům, konkrétně azolům. Výsledkem je vysoká mortalita u rizikových hospitalizovaných pacientů. Vedle tolerance vůči antimykotikům přispívají k patogenitě *C. glabrata* další potenciální faktory. Jedním z nich je exprese řady adhesinových genů. Tyto geny mají exprese výrazně aktivovanou přírodními podmínkami, organismus může přilnout k biotickým nebo abiotickým povrchům. Exprese adhesinu je mechanismus, kterým kvasinka tvoří houbové biofilmy, které jsou velmi rezistentní vůči antimykotikům. *C. glabrata* fermentuje/asimiluje pouze glukózu a trehalózu. Tato schopnost utilizace je v porovnání s většinou druhů rodu *Candida* jedinečná a používá se k identifikaci kvasinek na úrovni rodu a druhu [30].

### 2.6.2 *Escherichia coli*

Doména: *Bacteria*; Kmen: *Proteobacteria*; Třída: *GammaProteobacteria*;  
Řád: *Enterobacteriales*; Čeleď: *Enterobacteriaceae*; Rod: *Escherichia*;  
Druh: *Escherichia coli*

*Escherichia coli* je gramnegativní, fakultativně anaerobní spory netvořící bakterie, objevená v roce 1885 německým bakteriologem Theodorem Escherichem v tlustém střevě. Optimální růstové podmínky pro *E. coli* se pohybují okolo teploty 37 °C. Spadá pod čeleď *Enterobacteriaceae*, která zahrnuje mnoho patogenů. *E. coli* je součástí střevní mikroflóry u člověka i zvířat, proto je indikátorem fekálního znečištění pitné vody [31]. Vzhledem k rychlému růstu, snadným kultivačním podmínkám, bohatým znalostem biochemie a fyziologie se *E. coli* stala jedním z nejlepších hostitelských organismů pro genomové a metabolické inženýrství. Obvykle používané kmeny jsou považované za neškodné. Nepatogenní kmeny jsou využívány pro výrobu léčiv, potravin nebo chemikálií [32]. *E. coli* je jednou z nejvíce studovaných druhů, je nepřekonatelným modelovým organismem v oblasti biologie a je jedním z nejdůležitějších organismů používaných v průmyslu. Přesto, že nejčastěji jsou kmeny neškodné, žijící ve tlustém střevě, některé kmeny *E. coli* mohou způsobit vážné onemocnění. Patogenní kmeny *E. coli* způsobují onemocnění jako infekce močových cest, respirační onemocnění, infekce krevního oběhu nebo choroby trávicího ústrojí. *E. coli* má hlavní podíl na průjemových onemocněních [33].

### 2.6.3 *Micrococcus luteus*

Doména: *Bacteria*; Kmen: *Actinobacteria*; Třída: *Actinobacteria*; Řád: *Actinomycetales*; Čeleď: *Micrococcaceae*; Rod: *Micrococcus*; Druh: *Micrococcus luteus*

Bakterie rodu *Micrococcus* jsou grampozitivní, saprofytické, nepohyblivé koky. Jedná se o aerobní, chemorganotrofní organismy s optimální kultivační teplotou mezi 25 a 37 °C. *Micrococcus luteus* byl izolován Alexandrem Flemíngem v roce 1929. Jeho výhodou je přežití i za stresových podmínek jako je nízká teplota nebo nedostatek živin [35]. Vyskytuje se přirozeně na lidské kůži a jen zřídka bývá patogenní pro člověka. Studie naznačují, že tyto bakterie mohou mít vliv na snižování rizika kožních karcinomů, mají projektní význam. Jsou jim připisovány infekční nemoci jako meningitida nebo endokarditida [35].

### 2.6.4 *Propionibacterium acnes*

Doména: *Bacteria*; Kmen: *Actinobacteria*; Třída: *Actinobacteria*; Řád: *Actinomycetales*; Čeleď: *Propionibacteriaceae*; Rod: *Propionibacterium*; Druh: *Propionibacterium acnes*

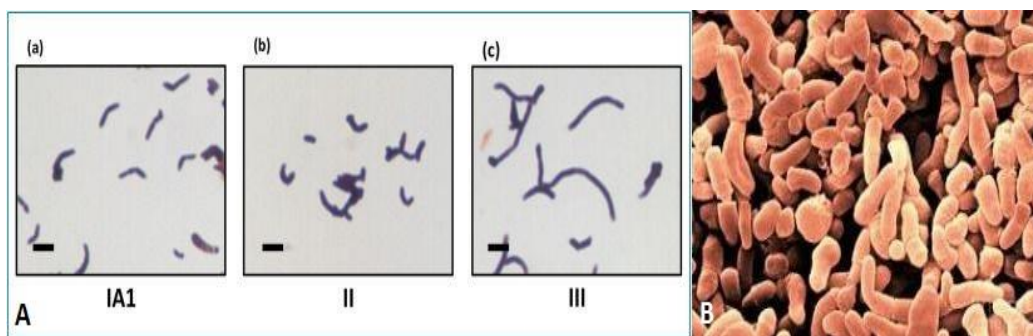
#### 2.6.4.1 Rod *Propionibacterium*

Historicky byla *P. acnes* nejprve izolována před více než sto lety od pacienta s chronickou kožní chorobou nazvanou akné vulgaris. Po tomto objevu byla bakterie předmětem několika taxonomických přesunů. V roce 1946 bylo dokázáno, že má nejbližší k rodu *Propionibacterium*, protože stejně jako jiné druhy tohoto rodu fermentuje kyselinu propionovou z laktózy za anaerobních podmínek, což dává kůži kyselé pH, které brání implantaci patogenních bakterií, jako jsou *Streptococcus pyogenes* nebo *Staphylococcus aureus*. Druhy v tomto rodě byly tradičně rozdělovány na tzv. klasické a kožní propionibakterie. Neformální název klasické propionibakterie se pojí s druhy izolovanými z mléčných výrobků, na rozdíl od kožních, které se nacházejí na kůži. Do kožních druhů patří i *P. acnes* [37].

#### 2.6.4.2 Charakteristika *Propionibacterium acnes*

*Propionibacterium acnes* je relativně pomalu rostoucí, aerotolerantní anaerobní grampozitivní bakterie nevytvářející spory, s velikostí v rozmezí 0,5–5 µm (obr. 6B) [36]. Primárně tato bakterie kolonizuje mazové žlázy a vlasové folikuly lidské kůže, hustota výskytu se mění podle topografie. Počet pilosebaceózních folikulů na obličeji, ramenou, zádech a trupu se liší, zejména ve vztahu k pohlaví. Kromě vlasů a obličeje se *P. acnes* vyskytuje také v ústech, nose, urogenitálním traktu a v tlustém střevě [37]. Patogenita *P. acnes* infekcí není velmi prostudovaná, infekce nemusí vždy vykazovat typické vlastnosti jiné bakteriální infekce, jako je zvýšený počet bílých krvinek, sedimentace červených krvinek nebo C-reaktivní protein [38]. Tato bakterie je považována za jednu z příčin výskytu akné. *P. acnes* moduluje diferenciaci keratinocytů a zvyšuje lokální zánět, podporuje tím vytváření zánětlivých lézí akné, stejně jako tvorbu mikrokomenda v raných stádiích akné [36].

U *Propionibacterium acnes* bylo identifikováno šest fylogenetických skupin IA1, IA2, IB, IC, II a III. V posledních letech bylo navrženo rozdělení do tří poddruhů na základě morfologických rozdílů: fylotyp I, II a III. Tyto rozdíly jsou patrné jak v elektronové mikroskopii, tak po Gramově barvení. Vzhledem k tomu, že buněčná stěna bakterie je tvořena peptidoglykenem a lipidy se v ní prakticky nenachází, je nepropustná pro organická rozpouštědla a po Gramově barvení je bakterie zabarvena modrofialově (obr. 6A). Taxonomie je založena na fylogenetických rozdílech a na procentuální hybridizaci DNA menší než 80 % mezi podtypy [37].



Obr. 6: *Propionibacterium acnes* [37],[39] – upraveno

Schopností bakterie *Propionibacterium acnes* je tvoření biofilmu. Biofilm je definován třemi základními složkami: mikrobiálními buňkami, povrchem, na který tyto buňky přilnou a extracelulární polymerní matricí, ve které jsou buňky vnořeny a tvoří větší společenství. Tento komplex ochranného glykokalyxu je produkován bakteriemi a chrání je před obrannými mechanismy hostitele tím, že omezuje efektivní antimikrobiální koncentrace v mikroprostředí biofilmu. Biofilmy jsou odolnější vůči antibiotické léčbě, je proto obtížnější úplně vymýt infekci. Mezi faktory podílející se na zvýšené rezistenci v biofilmech patří omezená penetrace antimikrobiálních látek, snížená rychlost růstu, exprese genů rezistence a přítomnost rezistentních buněk [36].

Biofilm *Propionibacterium acnes*, který proniká do kožního mazu, může působit jako pojivo, které vede k zvýšené soudržnosti korneocytů při akné. Mikrokomedony jsou tedy výsledkem látek vylučovaných *P. acnes* do mazu v úsilí přilnout k folikulové vrstvě pro vytvoření biofilmu. Kožní maz je hlavním zdrojem živin pro *P. acnes* [40]. Tvorba biofilmu také zvyšuje aktivitu *P. acnes* lipázy, dochází k uvolňování volných mastných kyselin narušení folikulární keratinizace. Nejběžnějšími mastnými kyselinami kožního mazu jsou kyselina palmitová, sapienová a olejová. V běžném kožním mazu je většina mastných kyselin kovalentně vázána v triacylglycerolech, zatímco u pacientů s akné je množství volných mastných kyselin vyšší o více jak 50 % v porovnání s lidmi bez akné. Biofilm *P. acnes* se tvoří i ve vlasovém folikulu [41].

#### 2.6.4.3 Onemocnění způsobená *Propionibacterium acnes*

*Propionibacterium acnes* je převážně známo díky jeho podílu na tvorbě akné. Kromě akné však způsobuje nebo ovlivňuje i další onemocnění. Způsobuje například absces mozku, dentální infekce, onemocnění očí, plicní infekce, osteomyelitidu, pooperační

infekce, endokarditidu, septickou artritidu, infekce centrální nervové soustavy. Jak už bylo zmíněno výše, ovlivňuje onemocnění akné vulgaris [42].

Pokud je tato bakterie identifikována v krevních kulturách, je považována za kontaminant. Závažné infekce způsobené *Propionibacterium acnes* jsou nahlašovány obzvláště ve spojitosti s bioprotetickým materiálem. Je vzácnou příčinou infekční endokarditidy, tedy infekčního onemocnění srdce, kdy z většiny *P. acnes* postihuje srdeční protézy, například kardiostimulátory [43].

Japonská studie ukázala, že DNA z *Propionibacterium acnes* může být detekována v lymfatických uzlinách jedinců se sarkoidózou. Sarkoidóza je granulomatózní onemocnění, které má za následek onemocnění lymfatických uzlin, plic, očí, jater a dalších tkání. Bakterie byla také izolována z několika ortopedických infekcí, silikonových protéz a infekcí protetických kloubů. Tyto infikované protézy obsahovaly bakteriální biofilm *Propionibacterium acnes*. Adheze *P. acnes* na povrch protéz byla důsledkem vazby propionibakteriálních buněčných povrchových proteinů na hostitelské proteiny plazmy nebo pojivové tkáně [44].

## 2.7 Akné

Akné (*Acne vulgaris*) je běžnou dermatologickou poruchou. Jedná se o multifaktoriální chronické zánětlivé onemocnění pilosebaceózního kanálku, které postihuje především oblast obličeje, krku, hrudníku nebo oblast zad, kde je největší hustota pilosebaceózních jednotek. Přibližně 85 % populace trpí na toto onemocnění během dospívání [45]. Objevuje se obvykle okolo 12. až 14. roku, u chlapců začíná později než u dívek, ale je častější u chlapců. V dospělosti naopak postihuje více ženy než muže [46]. Akné může ohrozit sebevědomí a sebeúctu jedince ve zranitelné životní etapě [45].

Akné probíhá čtyřmi hlavními patogenickými mechanismy: abnormální proliferací keratinocytů a olupováním kůže, které vede k ucpání kanálků, zvýšená produkce kožního mazu, proliferace *Propionibacterium acnes* a produkce zánětu. Klíčové pro kontrolu akné je vyhnout se kolonizaci *P. acnes* a zánětu v mazových žlázách [45].

### 2.7.1 Vznik a průběh akné

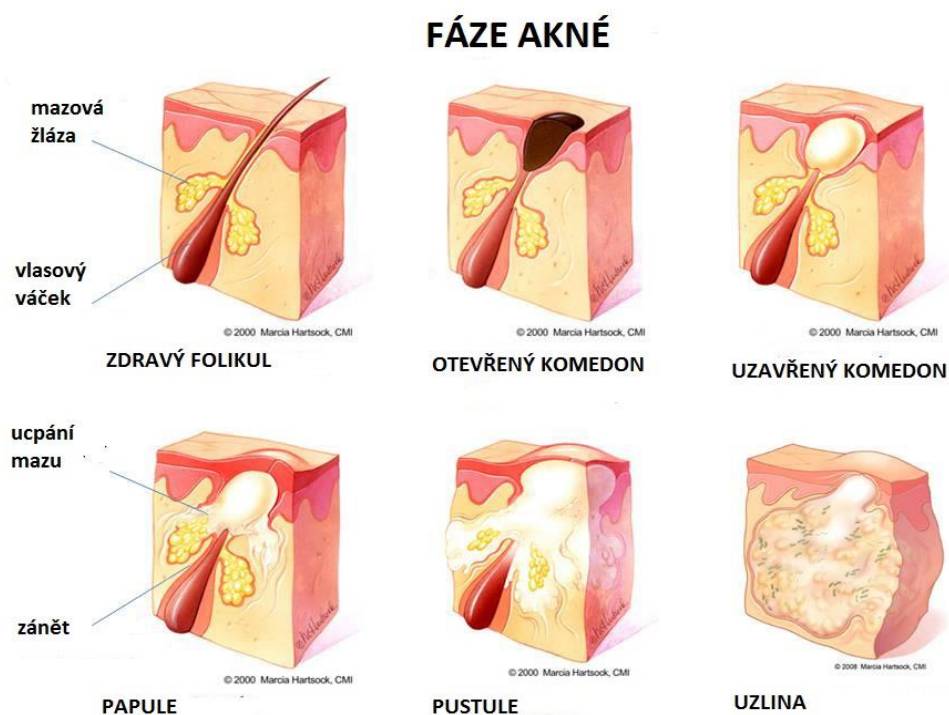
Akné vzniká souhrou více faktorů. Tyto faktory mohou být vnitřní nebo zevní, ty vnitřní mají však větší význam. Jedním z nejdůležitějších faktorů je genetika, jelikož počet a velikost mazových žláz a jejich činnost se dědí. Dědičnost je zhruba 80 % u příbuzných v prvním stupni [47]. Mezi další vnitřní faktory ovlivňující tvorbu akné patří hormonální nestabilita, nadměrná a zrychlená tvorba keratinocytů, kdy na rozdíl od zdravé kůže nedochází k průběžné obměně těchto buněk, ale tyto buňky jsou přilnavější, nejsou vylučovány pravidelně a maz se díky tomu hromadí. Dále pak mezi vnitřní faktory patří špatná výživa a životní styl, mezi ty zevní patří například nesprávná péče o pleť [44].

Aktivita mazových žláz je řízena hormonálně, zejména hormonem androgen dihydrotestosteronem. Během dospívání produkuje tělo tyto hormony z pohlavních žláz



a nadledvin. Tyto hormony působí přímo na mazové žlázy tak, že zvyšují tvorbu a vylučování kožního mazu. Toto zvýšené množství mazu v kombinaci s abnormální hyperkeratinací folikulů vede k tomu, že tzv. „lepivé“ keratinocyty blokuji pilosebaciální kanálek, dojde k jeho ucpání, maz nemůže odcházet na povrch kůže a tvoří semikomedony. Následuje tvorba uzavřených a otevřených komedonů (obr. 7), zde se jedná už o viditelný projev akné. Mazová žláza zůstává nadále ucpaná, což vede k rozvoji otevřených komedonů. Toto prostředí přispívá ke kolonizaci anaerobní bakterií *Propionibacterium acnes*. Tato bakterie stimuluje zánět prostřednictvím prozánětlivých mediátorů, jako jsou například interleukiny -12 a -8, nebo faktor nádorové nekrózy [47]. Dochází ke zvýšení aktivity *P. acnes* lipázy, k uvolňování volných mastných kyselin a nakonec k narušení folikulární keratinizace. Normální kožní maz se skládá převážně z triacylglycerolů, voskových esterů, skvalenu, volných mastných kyselin s menším množstvím cholesterolu, esterů sterolu a diacylglycerolů. Studie prokazují, že zvyšující se množství mononenasyčených mastných kyselin v mazu přispívá k tvorbě akné [41].

V závislosti na rozsahu poškození komedonové stěny se vytvářejí různé typy zánětlivých lézí klasifikované jako papuly, pustuly a uzliny (obr. 7). Uzliny jsou nejtěžším typem akné léze, přičemž jizvy mohou být spojeny s jakýmkoli formami těžkého zánětlivého akné [44].



Obr. 7: 6 fázi akné [48] upraveno

### 2.7.2 Léčba akné

Léčba akné se vždy odvíjí od formy akné, které se objeví na pokožce (tab. 3). Díky multifaktoriálnímu charakteru se doporučuje téměř ve všech případech léčba

kombinovaná. Nekombinovaná léčba se využívá u lehké formy komedonického akné a jako prevence výskytu akné. Léčebné prostředky se volí podle závažnosti onemocnění a podle možností pacienta, kterému musí léčba vyhovovat. Kromě léčebných prostředků je při léčbě akné důležitá trpělivost, doba léčení je různá, první výsledky se většinou dostaví až po měsíci. Léčba se dělí na místní, systémovou, fyzikální a chemickou. Nezbytné je i využití vhodné doplňkové péče [49].

Tab. 3: Dělení akné na základě aktivity choroby [49]

AKNÉ	PŘÍZNAKY
komedonické akné	přítomny komedony, ne více než jedna papula
lehké až středně závažné papulo-pustulozní akné	přítomno málo nebo mnoho nezáánětlivých morf, do 20 papul
těžké papulopustulózní akné, středně závažné nodulocystické akné	přítomny nezáánětlivé morfy v libovolném množství, více než 21 papul, několik nodulů
závažné nodulocystické akné, konglobátní akné	převažují abscedující noduly, cysty, zánětlivé infiltráty

### 2.7.2.1 Lokální léčba

Tato lokální léčba se využívá převážně u počáteční fáze a u lehkých až středně těžkých forem akné. Může být využita u celkové léčby jako její doplněk. K nejvíce používaným lokálním lékům patří retinoidy, benzoylperoxid, antibiotika a azelaová kyselina [47].

Retinoidy jsou deriváty vitamínu A. Srovnávají abnormální hyperkeratinizaci folikulů a inhibují vznik nových komedonů. Používají se i pro preventivní účely. Mezi nejčastěji používané retinoidy patří tretinoin, adapalen, isotretinoin. V rané fázi léčby se může objevit zarudnutí kůže. Tyto látky také mohou zvýšit fotosenzitivitu kůže, proto je doporučena ochrana pokožky před sluncem [47].

Benzoylperoxid je baktericidní činidlo, které má schopnost snížit populace *Propionibacterium acnes* v mazových folikulech. Je vhodné jak pro zánětlivé, tak pro nezáánětlivé léze akné a není spojován s bakteriální rezistencí. Ideální použití je společně s dalšími lokálními prostředky [47].

Z antibiotik se v lokální léčbě používá klindamycin, díky jeho působení proti *Propionibacterium acnes* a *Staphylococcus epidermidis*. Jejich efekt je protizánětlivý, avšak nevyskytuje se komedolytické působení. Avšak se zde objevuje riziko v podobě rezistence, proto se nevyužívá pro monoterapii. Obvykle se antibiotika kombinují s retinoidy nebo benzoylperoxidem. Užívání by mělo být omezeno na maximálně 12 týdnů [47].

Jako druhá možnost léčby slouží kyselina azelaová a to v případě, že jiné možnosti jsou nevhodné [47]. Její účinek je komedolytický, antibakteriální a protizánětlivý. Díky tomu, že se u ní nevyskytují teratogenní ani mutagenní účinky, může být využita při léčbě akné u těhotných žen [49].

### 2.7.2.2 Celková léčba

Celková léčba je indikována v případě těžké formy akné, popřípadě u středně těžké formy akné, kde by lokální léčba nevedla ke zlepšení. Zástupci této skupiny jsou perorálně podáváná antibiotika, izotretinoin a u žen kombinovaná hormonální antikoncepce. Léčba se pohybuje v rozmezí několika měsíců až do několika let [49].

Perorální antibiotika mají protizánětlivé vlastnosti a působí proti *P. acnes*. Mezi tyto antibiotika patří tetracyklin, oxytetracyklin, lymecyklin, erythromycin a azithromycin. Antibiotika mohou snížit počet zánětlivých lézí. Průměrná doba léčby se pohybuje okolo 12 týdnů [47].

Při hormonální terapii se využívá antikoncepční pilulka. Estrogen obsažený v této pilulce snižuje tvorbu kožního mazu a androgenů. Zvyšuje jaterní syntézu globulinu vázajícího se na pohlavní hormony, což má za následek pokles volného testosteronu [47].

Izotretinoin je systémový retinoid, který je účinný u těžkých forem akné. Působí jako protizánětlivé činidlo, snižuje tvorbu kožního mazu a koriguje abnormální epidermální diferenciaci. Má nežádoucí účinky jako fotosenzitivitu nebo bolest hlavy [47].

### 2.7.2.3 Doplnkové metody

Mezi další možnosti léčby řadíme fyzikální a chemické ošetření, dále dodržování životosprávy a léčebnou kosmetiku [49].

Mezi fyzikální léčbu akné se řadí fototerapie, která využívá účinků neionizujícího elektromagnetického záření. Sem se řadí terapie modrým a červeným zářením a fotodynamická terapie. Dále k fyzikálním metodám patří možnost léčby akné laserem, kdy lze laserem léčit aktivní formy akné, nebo i léčit výsledné stavy po akné (jizvy, hyperpigmentace). K léčbě akné mohou sloužit i chirurgické zákroky například drenáže cyst, aplikace implantátů do jizev, dermabraze. Patří sem i kryoterapie [49].

Do chemických metod léčby akné se zařazuje bělení pigmentových skvrn a chemický peeling. K chemickému bělení se využívají krémy s obsahem například kyseliny azelaové, kyseliny kojové a hydroxykyselin. Chemické peelings mohou být s obsahem  $\alpha$ -hydroxykyselin, kdy dochází k redukci komedogeneze, nebo s kyselinou salicylovou, která se využívá při folikulárních hyperkeratózách [49].

Vztah mezi tvorbou akné a stravou byl už od počátku diskutován s nejednoznačnými výsledky. Dnes existují důkazy, že strava s vysokým glykemickým indexem může přispět k tvorbě akné, stejně tak jako se vyskytly důkazy o negativním vlivu některých mléčných výrobků [47]. Obecně se doporučuje pestrá strava s dostatkem vitamínů. Stres má negativní vliv na tvorbu akné, při jeho omezení dochází k zlepšení stavu [49]. Správně zvolená léčebná kosmetika patří mezi důležité doplňky léčby. Může snižovat negativní vlivy léků na kůži (suchost, svědění, pálení, citlivost na slunce) nebo i sama přispět k prevenci výskytu akné [49]. Kůže by se měla umývat dvakrát denně a vyvarovat se komedogenním kosmetickým přípravkům [47]. Vzhledem k tomu, že spousta léků používaných k léčbě akné mají nežádoucí vedlejší účinky jako vysušování

kůže, bolest hlavy, nevolnost nebo fotosensitivita, a také jsou omezeny se svojí toxicitou, vyskytují častější tendence vyvinout účinné, bezpečné a levné přípravky proti akné. K tomuto účelu by mohly posloužit různé rostlinné zdroje, které jsou čím dál tím více populární, díky vyjmenovaným pozitivním vlastnostem [50]. Mezi rostliny s možným pozitivním vlivem na léčbu akné se řadí heřmánek pravý, měsíček lékařský nebo pšenice setá, které se ve formě krémů nebo vodních extraktů používají na kůži po čištění nebo parní lázni. Dále se využívá řepík lékařský, kontryhel měkký, levandule lékařská, divizna malokvětá, třezalka tečkovaná, šťovík kadeřavý, sedmikráska chudobka nebo pampeliška lékařská. Také se sem řadí například aloe vera, nebo zelený čaj. Tyto rostliny mají protizánětlivé, antioxidační a antibakteriální účinky díky obsahu aktivních látek (taniny, flavonoidy, vitamíny a další) [51].

### 2.7.3 Vliv konopí na léčbu akné

Na léčbu akné se využívají mimo jiné i konopné extrakty s obsahem účinných látek z konopí. Využívá se antibakteriálních, antialergenních a protizánětlivých vlastností konopí. Hlavní roli zde hrají kanabinoidy. V posledních několika letech proběhla řada studií na vliv endokanabinoidního systému (ECS) na kůži. Bylo prokázáno, že ECS hraje důležitou roli v imunitním systému kůže a reguluje fyziologii kůže, mimo jiné má vliv na sekreci kožního mazu. Četné studie uvádějí, že fytoKANABINOIDY modulují ESC pomocí kanabinoidních receptorů [52]. Kanabinoidy dokáží inhibovat proliferaci lidských keratynocitů v závislosti na dávce. Kanabinoidy jsou studovány také kvůli jejich sebestatické aktivitě. Byla mezi nimi pozorována heterogenita v souvislosti se syntézou lipidů v mazových žlázách. CBC, CBD a THCV syntézu lipidů potlačují, CBDV je k ní neutrální a CBG a CBGV je zvyšují. V současnosti se zkoumá vliv CBD při léčbě akné, jelikož má dobrou schopnost prostupu přes kůži. Jak bylo zmíněno výše, potlačuje syntézu lipidu v mazových žlázách, proliferaci mazových žláz, má protizánětlivý účinek [53] a způsobuje apoptózu v případě akné, ale pouze ve vyšších dávkách. Terpenoidy obsažené v konopí by mohly být rovněž využity při doplňující léčbě akné. Například limonen vykazoval inhibiční aktivitu proti bakterii *Propionibacterium acnes*. Také byla pozorována inhibice produkce faktoru nádorové nekrózy  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), což by mohlo naznačit protizánětlivý účinek. Díky minimální známé toxicitě CBD a terpenoidů by tyto látky mohly znamenat nový terapeutický přístup v léčbě akné [20].

Doplňkem léčby akné by také mohl být extrakt ze semen konopí. Studie zkoumající vliv 3% extraktu ze semen konopí zjistila, že při aplikaci dvakrát denně po 12 týdnů byl obsah mazu snížen [54]. I olej ze semínek konopí je vhodný pro léčbu akné [51]. Konopný olej slouží k snížení suchosti kůže i svědění, doplňuje pokožce lipidy a díky tomu je pokožka jemnější [53]. Díky vysokému obsahu nenasycených mastných kyselin, hydratačním a antibakteriálním vlastnostem napomáhá léčbě [4].

## 2.8 Kosmetické přípravky

Kosmetické přípravky jsou součástí každodenního života spotřebitelů všech věkových kategorií ve většině zemí světa. Používají se k zajištění osobní hygieny, vzhledu, pro pocit osobní pohody [56].

### 2.8.1 Legislativa

Kosmetický přípravek je definován v Evropském nařízení č. 1223/2009 jako „jakákoli látka nebo směs, která je určena ke styku s vnějšími částmi lidského těla (pokožka, vlasy, nehty, rty) nebo se zuby a sliznicemi dutiny ústní s cílem jejich čištění, parfémování, změnou vzhledu, zajistit ochranu, udržení v dobrém stavu nebo upravit tělesný pach.“ Konečný kosmetický přípravek je výsledkem kombinace přísad. Měl být bezpečný pro lidské zdravý, pokud je používám za obvyklých nebo předvídatelných podmínek použití [55]. Podle obsahu aktivní látky rozlišujeme kosmetické produkty na kosmetické přípravky a léčivé kosmetické přípravky. Kosmetické přípravky mohou být aplikovány jen na vnější část těla, neobsahují aktivní látku a nedeklarují účinek. Na druhou stranu léčivé kosmetické přípravky aktivní látku obsahují a jsou určeny k léčbě nebo prevenci onemocnění [57].

U kosmetického přípravku je vše pečlivě sledováno od počátku výroby, přes balení a dopravu, až k distributorovi. Je nutné dodržovat správné a bezpečné výrobní postupy a podmínky, správné značení a skladování, aby byla zajištěna ochrana spotřebitele před falšováním, a hlavně aby bylo ochráněno zdraví spotřebitele. Výrobek musí být identifikovatelný po celou dobu manipulace. Kosmetický přípravek musí být dodán na trh v označeném obalu, na kterém musí být čitelně, viditelně a nesmazatelně napsány tyto údaje: jméno nebo zapsaný název a adresa zodpovědné osoby, země původu, všechny obsažené složky seřazené sestupně podle množství v přípravku (od obsahu menším než 1 % mohou být v libovolném pořadí), datum, do kterého bude za vhodných skladovacích podmínek plnit svou funkci, číslo šarže, funkce přípravku, hmotnost/objem balení a bezpečnostní opatření [56].

### 2.8.2 Klasifikace

Kosmetické přípravky lze klasifikovat z různých hledisek, například podle formy, funkce, místa aplikace. Dělení podle formy je znázorněno v tab. 4 [57].

Tab. 4: Kosmetické formy [57]

KOSMETICKÁ FORMA		
Tekutá	Polotuhá	Tuhá
lotion	gel	kapsle
roztok	krém	prášek
suspenze	mast	tuhé tyčinky
-	pasta	-

První z tekutých forem je lotion. Jedná se o roztok většinou ve formě vodné nebo vodně alkoholické. Vyskytují se v něm specificky účinné látky. Složky zde nemusí být dokonale rozpustné (silice), mají charakter emulze. Jsou označovány buď jako vody (micelární nebo pleťové) nebo jako tonika. Dělí se na čistící, změkčovací a adstringentní. Další formou řadící se mezi lotiony jsou mikroemulze [59].

Suspenzí se využívá v případě, kdy je nutné aplikovat nerozpustné pevné složky dispergované v kapalině. Kapalná fáze může být vodná, hydroalkoholová nebo bezvodá. Mezi suspenze patří například antiperspiranty [57].

Emulze je velmi častou formou kosmetických přípravků. Jedná se o heterogenní směs alespoň dvou kapalin, které se samovolně nesměšují. Emulze je tvořena disperzním prostředím a dispergovanou látkou, která se v disperzním prostředí vyskytuje ve formě malých kapiček, jejichž velikost závisí na stupni homogenizace. Tvorba emulzí se nazývá emulgace a dochází při ní k silovému působení na fázové rozhraní. Pro zajištění stability částic je nutné využití emulgátoru, což je chemicky stabilní látka chemicky nereagující se složkami emulze. Existují dva základní typy emulzí: emulze olej ve vodě (O/V) a emulze voda v oleji (V/O) [59].

Krémy jsou velmi využívané kosmetické přípravky. Až na výjimky se vždy jedná o emulze V/O i O/V. Krémy se vyznačují poměrně vysokou viskozitou a dobrou roztíratelností. Olejová fáze obsahuje různé tuky a oleje, vosky, vyšší mastné kyseliny, vyšší alkoholy nebo silikonové oleje či parafinické oleje. Vodná fáze nejčastěji obsahuje humektanty, látky zvyšující viskozitu a nižší alkoholy [58].

Gely jsou v dnešní době čím dál tím více populární. Jedná se o homogenní systémy, kde jsou dispergované částice koloidních rozměrů fixovány a jsou pohyblivé pouze s objemem genu. Jako vnější fáze se používá voda (hydrogely) nebo olej. Hydrogely obsahují větší množství vody a ve vodě rozpustné polymery, které vytváří už při nízkých koncentracích gelové struktury. Nejběžnějšími jsou například methylcelulóza nebo karboxyvinylové sloučeniny. Dále se zde vyskytují tenzidy, humektanty, barviva, vonné látky či konzervanty. Olejové gely jsou používány například jako prostředky na odličování. Gelačním činidlem musí být polymer rozpustný v oleji [57], [59].

V posledních letech se stávají oblíbenou formou kosmetických přípravků pěny. Pěny jsou vytvářeny aerosolovou technikou, což znamená vytlačení prostředku schopného tvořit pěnu pomocí hnacího plynu z uzavřené nádoby. Tím se liší od kapalných kosmetických přípravků, kde se pěna tvoří mechanickým zpracováním vzduchu ve vodném prostředí. Disperzním prostředkem je tu plyn a disperzní fází kapalina. Většina pěn obsahuje vodu, ale známé jsou i bezvodé [58].

K tuhým kosmetickým prostředkům se řadí tyčinky a tužky. Jsou formou ideální pro zabudování pevných nerozpustných ingrediencí například pigmentů. Vyskytují se převážně u dekorativní kosmetiky, protože se používají k aplikaci na malou plochu pokožky. Dalším tuhým kosmetickým prostředkem je prášek, využívaný pro pudry, oční stíny nebo růž [57].

Klasifikace kosmetických přípravků podle způsobu použití a podle místa působení je znázorněna v tab. 5. Dále kosmetické přípravky můžeme dělit na funkční kosmetiku, která zahrnuje přípravky, které působí specificky na pokožku. Sem patří prostředky pro čištění pokožky hlavy a vlasů, prostředky pro zlepšení fyzikálních vlastností kůže a prostředky pro ochranu kůže před vnějšími vlivy. Například jsou sem přiřazovány deodoranty a antiperspiranty, opalovací přípravky, přípravky na holení, vlasová kosmetika, přípravky pro ošetření a čištění pokožky. Další skupinou je dekorativní kosmetika, která slouží k změně vzhledu pleti nebo útvarů pokožky (rty, řasy, obočí). Dále jsou do této skupiny zařazovány přípravky pro úpravu nehtů. Liší se na základě formy a složení přípravku, složení bývá mírně odlišné od jiných kosmetických přípravků. Součástí jsou pigmenty, jejichž obsah může dosahovat až desítky procent [57], [58].

V roce 2009 Evropská unie vydala klasifikaci kosmetických prostředků, která se v současné době prosazuje nejvíce. Dělí prostředky na dekorativní kosmetiku (make-up, oční a nehtová kosmetika), vlasovou kosmetiku (šampóny, kondicionéry, vlasová tonika, spreje, krémy), barviva na vlasy, parfémy, přípravky pro péči o kůži (pleťové, čistící, prostředky na ošetření rukou, tělové krémy, dětská kosmetika) opalovací prostředky a toaletní potřeby (mýdla, přípravky na holení, do koupele, deodoranty, antiperspiranty, depilační prostředky) [56].

Tab. 5: Klasifikace kosmetických přípravků podle použití [58]

<b>KLASIFIKACE</b>	<b>MÍSTO PŮSOBNOSTI</b>	<b>HLAVNÍ PRODUKTY</b>
kosmetika pro péči o pleť	pokožka	pleťové vody, krémy, masky, micelární vody
dekorativní kosmetika	pokožka	make-up, pudr, oční stíny, rtěnky, laky na nehty
tělová kosmetika	pokožka	mýdla, opalovací krémy, deodoranty, antiperspiranty,
vůně	pokožka	parfémy, toaletní vody
vlasová kosmetika	vlasy	šampony, kondicionéry, barva na vlasy
péče o pokožku hlavy	vlasy	vlasová tonika, přípravky pro růst vlasů
péče o ústní dutinu	ústa	zubní pasty, ústní vody

### 2.8.3 Složky obsažené v kosmetických přípravcích

Směsi základních složek tvoří všechny kosmetické přípravky. Tyto složky ovlivňují řadu vlastností (pH, barvu, vůni, chuť, texturu, stabilitu) a také formu a použití výsledného kosmetického přípravku. Tyto složky se mohou dělit podle jejich funkce, kterou mají v konkrétním kosmetickém prostředku [58]. V tab. 6 je znázorněno rozdělení kosmetických složek na základě jejich funkce a účinku.

Tab. 6: Základní složky kosmetických přípravků [57], [58]

SLOŽKA	PŘÍKLAD	ÚČINEK
<b>Látky určující fyzikální formu</b>		
Rozpouštědla	Voda, oleje, mastné kyseliny, vosky, toluen, vazelína, parafín, alkoholy	Rozpouštění pevných složek, formulace přípravku
PAL – tenzidy	Diisopropyladipát, Amoniumlauryl sulfát	Emulgátory, smáčedla, čisticí a pěnové látky, solubilizátory, snížení povrchového napětí
Zahušťující látky a gelotvorné látky	Xanthanová a gelanová guma, algináty, karboxymethylcelulóza	Zvyšování viskozity a zlepšení stability
Hnací plyny	Propan, butan, pentan	Udržení tlaku v aerosolových produktech
<b>Látky zlepšující aplikační vlastnosti</b>		
Emolienty	isopropylmyristát, isopropylpalmitát	Zvláčňující látky
Humektanty	Glycerol, sorbitol, popylenglykol	Vázání vlhkosti
<b>Látky dodávající barvu, vůni a chuť</b>		
Barviva a pigmenty	Oxidy zinečnatý, titaničitý, železnatý	Zlepšení vzhledu, dekorativní účel
Vonné látky	Linalol, limonen, cinnamal, citra	maskování zápachu, voňavost
Chuťové látky	Čokoláda, mentol, citrusy, aspartam	Zajištění chuti výrobku
<b>Látky stabilizující kosmetické výrobky</b>		
Antioxidanty	Kyselina citrónová, askorbová, vinná, vitamín C, A, E, polyfenoly	Stabilizace, ochrana proti volným radikálům
Konzervační látky	Parabeny, fenoxylethanol	Zabránění mikrobiální kontaminaci
<b>Specifické kosmetické látky</b>		
Abraziva	Pemza, jemně pomleté ořechy, ovesné otruby, uhličitan vápenatý	mechanické odstranění nežádoucích nečistot
Hydratační látky	Prolin, glycin, kyselina mléčná, hyaluronová, močovina	Zlepšení vazby vody v pokožce
Keratolytické látky	Kyselina salicylová	Odstranění odumřelých buněk

#### 2.8.4 Mechanismus prostupu látek pokožkou

Kůže je pro kosmetické přípravky nejdůležitější cestou vstupu. V případě kosmetických přípravků je první a jedinou bariérou rohová vrstva, dochází k adsorpci, kdy se látka naváže v rohové vrstvě na odlupující buňky a je odstraněna. U léčivých přípravků může docházet k prostupu do hlubších vrstev pokožky, popřípadě škáry, jedná se tedy



o absorpci. Látky pronikají do organismu pěti různými cestami: transcelulární cestou (přes korneocyty a keratinocyty), intracelulární cestou (mezibuněčnými prostory), vlasovými folikuly, mazovými žlázami a vývody potních žláz. Průnik látek kůže se považuje za pasivní difúzi. Nejnovější popis průniku rozděluje absorpci na penetraci (vstup do rovové vrstvy), na permeaci (vstup do jiné strukturně odlišné vrstvy kůže) a na resorpci (vstup do kožních lymfatických nebo krevních cév) [60].

### **3 CÍLE PRÁCE**

Cílem diplomové práce, která se týká využití technického konopí v kosmetice a potravinářství, jsou tyto:

- A) Vypracování literární rešerše shrnující aktuální informace o aktivních látkách z konopí používaných v potravinářství a kosmetice
- B) Stanovení a charakterizace aktivních látek z vybraných částí rostliny konopí
- C) Návrh a testování konkrétních výrobků s obsahem aktivních látek z konopí

## 4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 4.1 Použité chemikálie

$\alpha$ -tokoferol, Sigma Aldrich (SRN)  
ABTS, Sigma (SRN)  
Agar Powder, Himedia (IND)  
Bambucké máslo, Aromaterapeutická KH a.s. (ČR)  
BHI medium, Himedia (IND)  
Capric triglyceride, Acettrade (ČR)  
Cetearylalkohol, Cetylalkohol Míča a Harašta s.r.o., Blansko (ČR)  
D-glukose, p. a., LachNer (ČR)  
Dusitan sodný, p. a., Lachema (ČR)  
Ercawax MB 1, M & H, (ČR)  
Ethanolabsolute, VWR (USA)  
Fenolftalein, LACHEMA, ČR  
Fenoxyethanol. Acettrade (ČR)  
Folin-Ciocalteu činidlo, Serva (SRN)  
Gellinoveasy, LipoChemicals (USA)  
Glycerin bezvodý, p. a., LachNer (ČR)  
Heptadecylová kyselina, Sigma (SRN)  
Hexan, g. r., LachNer (ČR)  
Hydroxid draselný, p. a., LachNer, ČR  
Hydroxid sodný, p. a., LachNer (ČR)  
Chlorid hlinitý, p. a., LachNer (ČR)  
Chloroform, PENTA (ČR)  
Jodid draselný p.a., PENTA, (ČR)  
Jodobromid (98%), ALFA AESAR, (GB)  
Kakaové máslo, Aromaterapeutická KH a.s. (ČR)  
Kanabichromen CBC, Sigma Aldrich (SRN)  
Kanabidiol CBD, Sigma Aldrich (SRN)  
Kanabigerol CBG, Sigma Aldrich (SRN)  
Kanabinol CBN, Sigma Aldrich (SRN)  
Katechin, Sigma Aldrich (SRN)  
Konopný olej, Karel Hádek (ČR)  
Kvasničný autokatalyzát, Himedia (IND)  
Kyselina gallová, Sigma Aldrich (SRN)  
Kyselina sírová 96%, p.a., PENTA (ČR)

LB medium, Sigma (SRN)  
Methanol HPLC, PENTA (ČR)  
NB medium, Himedia (IND)  
Olej z jader hroznového vína, Karel Hádek (ČR)  
Oxid zinečnatý, LachNer (ČR)  
PEG-40, ACETRADE (ČR)  
Pentylenglykol, Minasolve (FR)  
Pepton, Roth (SRN)  
Peroxidisíran draselný, p.a., Sigma Aldrich,(SRN)  
Škrob rozpustný (podle Laulier) p. a., Lachner, (ČR)  
Thiosíran sodný bezvodý p. a., Lachner, (ČR)  
Trolox, Sigma Aldrich (SRN)  
Uhličitan sodný, LachNer (ČR)

## **4.2 Použité přístroje**

Analytické váhy Boeco (SRN)  
ELISA ReaderBioTek ELx808, Biotek (SRN)  
Extraktor SOX THERM SOX 42, Gerhardt (SRN)  
Flow box Aura mini, Bio Air Instrument, USA  
Kapilární kolona DB-23 o rozměrech 60 m x 0,25 mm x 0,25 μm, ThermoQuestS.p.A., (IT)  
Kolona Kinetex 5 μ C18, 4,6 x 150 mm, Agilent Technologies (USA)  
Laminární box Airstream, ESCO (SN)  
Sestava HPLC/PDA/MS, ThermoFinnigan SURVEYOR, Thermo Fischer (USA)  
Spektrofotometr VIS, Helios δ, Unicam (GB)  
Sušárna, Memmert GmbH + Co. KG (SRN)  
Temperovaná třepačka HeidolphUnimax 1010, Labicom (ČR)  
Termostat IP60, Biotech, ČR  
TRACE GC/FID, ThermoQuestS.p.a (IT)  
Ultrazvuková lázeň PS 02000, ČR  
Vakuová odparka RV 06, IKA, SRN  
Vortex, TK35, Kartellspa (USA)  
Vodní lázeň EL-20, Merci a.s. (ČR)  
Také byly použity automatické pipety o různých objemech, Pasteurovy pipety a běžné laboratorní sklo a pomůcky.

### 4.3 Použité mikroorganismy

Pro účely diplomové práce byly vybrány dva zástupci grampozitivní bakterie, jeden zástupce gramnegativní bakterie a kvasinka:

- grampozitivní *Micrococcus luteus* CCM 1569,
- grampozitivní *Propionibacterium acnes* CCM 3437,
- gramnegativní *Escherichia coli* CCM 7395,
- kvasinka *Candida glabrata* CCM 8270

Kultivace probíhala v obsahu 50 ml vhodného tekutého média v Erlenmeyerově bance. Toto médium bylo zaočkováno danou kulturou z dlouhodobě uchovávané kultury. V případě anaerobního *Propionibacterium acnes* byl zvolen jiný postup, kultivace probíhala v centrifugací zkumavce naplněné k uzávěru. Kultivace probíhala po dobu 24 hodin při 37 °C na třepače. Výsledné inokulum bylo použito na antimikrobiální testy. Veškerá práce s mikroorganismy probíhala ve sterilním prostředí očkovacího boxu. Složení médií je uvedeno v tab. 7. Při výrobě pevného média byl přidán agar v koncentraci 20 g·l<sup>-1</sup>.

Tab. 7: Složení médií pro kultivaci mikroorganismů

MIKROORGANISMUS	MÉDIUM	SLOŽKA	KONCENTRACE [g·l <sup>-1</sup> ]
<i>Escherichia coli</i>	LB	Trypton	10
		NaCl	10
		Kvasniční extrakt	5
<i>Candida glabrata</i>	YPD	Glukóza	40
		Kvasničný autolyzát	20
		Pepton	10
<i>Micrococcus luteus</i>	NB	Pepton	10
		Hovězí extrakt	10
		NaCl	5
<i>Propionibacterium acnes</i>	BHI	Hovězí srdce	250
		Telecí mozek	200
		Pepton	10
		NaCl	5
		Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2,5
		Dextróza	2

#### 4.4 Použité odrůdy konopí

Pro diplomovou práci byly použité dvě odrůdy *Cannabis sativa* (Carmagnola a Ferimon), které byly vypěstované v Kostelní Myslové u Telče.

#### 4.5 Příprava konopných extraktů

Pro přípravu extraktů byly využity dvě formy rostliny, a to čerstvá a sušená. U čerstvé rostliny byla připravena směs vytvořená ze všech částí rostliny, bylo jí naváženo 15 g. Poté byla tato navážka zalita 100 ml 60% vodného roztoku ethanolu pro UV-VIS (obr. 8). Baňky s extrakty byly obaleny alobalem a po jeden týden ponechány extrahovat ve tmě. Po týdnu byl obsah přefiltrován přes gázu a umístěn do tmavých lékových nádob.

U sušeného konopí byly obě dvě odrůdy sušeny v sušárně při teplotě 40 °C 4 dny. Obsah vody v konopí byl stanoven gravimetricky, kdy byla rostlina vážena před sušením a po něm. U sušené formy rostliny byly vytvořeny tři typy extraktů: sušený list, květ a směs. U všech extraktů byl poté postup stejný jako u čerstvé formy rostliny.

Byly vytvořeny i dva extrakty do pentylenglykolu. Pro ně byla vybrána směs konopí pro obě dvě odrůdy. Bylo naváženo 15 g směsi a ponecháno týden extrahovat v 100 ml pentylenglykolu.

##### 4.5.1 Pentylenglykol

Pentylenglykol je dvojsytný alkohol, bezbarvý a bez zápachu. Využívá se jako extrakční a solubilizační činidlo. Na rozdíl od alkoholu nemá pentylenglykol vliv na dehydrataci pokožky, ale má schopnost vázat vodu. Tato jeho vlastnost bývá využívána v kosmetice k hydrataci kůže. Velmi dobře proniká do Stratum corneum a pomáhá tak dopravit účinné látky do pokožky [61]. Z tohoto důvodu byl vedle ethanolu zvolen jako extrakční činidlo vzorků konopí.



Obr. 8: Tvorba konopných extraktů

#### 4.6 Příprava kosmetických přípravků

Celkem bylo připraveno 7 různých typů od každého druhu kosmetického přípravku. Podle obsahu účinných látek byly vybrány extrakty ze sušeného květu a směsi od každé

odřůdy a extrakty do pentylenglykolu. Posledním typem byl čistý přípravek bez přídavku extraktu jako kontrola.

#### 4.6.1 Krém s obsahem konopné složky

Hmotnost vzorku krému s obsahem konopného extraktu byla 50 g., hmotnost jednotlivých složek krému byla vypočítána dle tab. 8. Nejprve byly naváženy suroviny pro olejovou fázi, poté byla do druhé kádinky připravena vodná fáze. Obě kádinky byly umístěny do vodní lázně o teplotě 75 °C. Po ohřátí a rozpuštění všech složek obou fází byla za stálého míchání přilévána olejová fáze do vodné. Emulze byla míchána do zchladnutí, rychlost otáček a pozice míchadla byla měněna. Krém byl připraven bez konopných extraktů. Konopné extrakty byly přidány až do hotového krému po zchladnutí.

Tab. 8: Obsah složek pro výrobu krému

VODNÁ FÁZE		OLEJOVÁ FÁZE	
SUROVINA	OBSAH [%]	SUROVINA	OBSAH [%]
destilovaná voda	34,5	bambucké máslo	10
glycerol	10	kakaový tuk	10
ethanol	5	dimethicone	10
konopný extrakt	5	hroznový olej	5
		PEG-40	5
		cetylalkohol	3
		ercawax	2,5

#### 4.6.2 Krém s oxidem zinečnatým a obsahem konopné složky

Hmotnost vzorku krému s oxidem zinečnatým a s obsahem konopného extraktu byla 50 g., hmotnost jednotlivých složek krému byla vypočítána dle tab. 9. Nejdříve byly naváženy suroviny pro olejovou fázi, poté do druhé kádinky byly připraveny suroviny pro vodnou fázi. Obě kádinky byly umístěny do vodní lázně o teplotě 75 °C. Po ohřátí a rozpuštění všech složek obou fází byla za stálého míchání přilévána olejová fáze do vodné. Emulze byla míchána do zchladnutí, rychlost otáček a pozice míchadla byla měněna. Po zchladnutí byl odebrán vzorek krému bez oxidu zinečnatého a konopných extraktů. Poté byl přidán oxid zinečnatý, směs zamíchána a odebrán další vzorek. Konopné extrakty byly přidány až nakonec do hotového krému.

Tab. 9: Obsah složek pro výrobu krému s oxidem zinečnatým

VODNÁ FÁZE		OLEJOVÁ FÁZE	
SUROVINA	OBSAH [%]	SUROVINA	OBSAH [%]
destilovaná voda	50	bambucké máslo	10
konopný extrakt	5	kakaový tuk	10
oxid zinečnatý	2	konopný olej	10
gellinov	1	ceteareth-20	7
		dimethicone	5

#### 4.6.3 Cukrový peeling s obsahem konopné složky

Cukrového peelingu bylo vytvořeno 50 g, obsah složek byl přepočítán podle procentuálního zastoupení uvedeného v tab. 10. Už do hotové báze, byl přidán krystalový cukr, celý obsah byl důkladně promíchán a po rozdělení byly přidány konopné extrakty (obr. 9B).

Tab. 10: Obsah složek pro výrobu cukrového peelingu

SUROVINA	OBSAH [%]
SUCRABASE C (kaprylové triglyceridy, glycerin, voda, laurát sacharózy, stearát sacharózy)	64
krystalový cukr	34
konopný extrakt	2

#### 4.6.4 Peeling s obsahem konopné složky

Hmotnost vzorku peelingu s obsahem konopného extraktu byla 50 g., hmotnost jednotlivých složek peelingu byla vypočítána podle tab. 11. Nejdříve byly do kádinky naváženy suroviny pro olejovou fázi, následně byla do další kádinky připravena vodná fáze. Obě kádinky byly umístěny do vodní lázně o teplotě 75 °C. Po rozpuštění všech složek obou fází a zahřátí na 75 °C byla za stálého míchání přilévána olejová fáze do vodné. Po vychladnutí zhruba na 40 °C byla do směsi přidána abraziva. Emulze byla poté míchána do zchladnutí, rychlost otáček a pozice míchadla byla měněna podle potřeby. Peeling (obr. 9A) byl připraven bez konopných extraktů. Konopné extrakty byly přidány až do hotového peelingu po zchladnutí.



Tab. 11: Obsah složek pro výrobu peelingu

VODNÁ FÁZE		OLEJOVÁ FÁZE	
SUROVINA	OBSAH [%]	SUROVINA	OBSAH [%]
glycerol	30	konopný olej	18
SLES	15	PEG-40	13
abraziva (jadérka z grepu)	5	bambucké máslo	11
konopný extrakt	2	včelí vosk	6



Obr. 9: Peeling a cukrový peeling s obsahem konopných extraktů

#### 4.7 Komerční kosmetické přípravky

Pro porovnání účinku připravených konopných extraktů v kosmetických prostředcích byly zakoupeny přípravky z řady Bio Cannabisol společnosti Bione (obr. 10).

##### 4.7.1 Extra výživný pleťový krém

**Složení:** Aqua, Ethylhexyl Stearate, Hydrogenated Coconut Oil, Cetyl Alcohol, Glycerin, Glyceryl Stearate Se, Butyrospermum Parkii Butter, Stearic Acid, Allantoin, Panthenol, Xanthan Gum, Acrylates/Vinyl Isodecanoate Crosspolymer, Sodium Carbomer, Parfum, Sodium Hydroxide, Tocopherol, Allantoin, Capryloyl Glycine, Phenoxyethanol, Cannabis Sativa Seed Oil, Cannabis Sativa Leaf Extract, Inositol, Carnosine, Alcohol, Lecithin, Ectoin, Sorbitan Caprylate, Cyclotetrapeptide-24 Aminocyclohexane Carboxylate

##### 4.7.2 Pleťový peeling Bio Cannabis

**Složení:** Silica, Aqua, Sodium C14-16 Olefin Sulfonate, Glycerin, Titanium Dioxide, Xanthan, Sodium Carbomer, Phenoxyethanol, Parfum, CI 19140, 42051 Cannabis Sativa Leaf Extract.



Obr. 10: Komerční kosmetické prostředky

#### 4.8 Stanovení celkových polyfenolů

Do zkumavky byl napipetován 1 ml Folin-Ciocaltevova činidla zředěného v poměru 1:9 vodou. K činidlu byl napipetován 1 ml destilované vody a 50  $\mu$ l vzorku. Po promíchání byla směs ponechána 5 minut odpočívat. Po uplynutí 5 minut byl do směsi přidán 1 ml nasyceného roztoku uhličitanu sodného, vše bylo promícháno a ponecháno 15 minut stát. Jako slepý vzorek byla použita směs vytvořená stejným postupem, jen vzorek byl nahrazen 50  $\mu$ l 60% vodného roztoku ethanolu pro UV-VIS. Obsah polyfenolů byl stanoven spektrofotometricky při  $\lambda=750$  nm. Kalibrační křivka byla sestrojena za použití kyseliny gallové v rozmezí koncentrací 0–0,5  $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ .

Při stanovování obsahu polyfenolů v extraktech ze speciálního gelu bylo postupováno obdobně, pouze ethanol byl nahrazen destilovanou vodou.

#### 4.9 Stanovení celkových flavonoidů

Do zkumavky bylo postupně napipetováno 1,5 ml destilované vody, 0,5 ml vzorku a 0,2 ml 5% roztoku dusičnanu sodného. Po zamíchání byla směs ponechána stát 5 minut. Poté bylo do směsi přidáno 0,2 ml 10% roztoku chloridu hlinitého, směs byla zamíchána a ponechána stát dalších 5 minut. Následně bylo přidáno 1,5 ml 1M roztoku hydroxidu sodného a 1 ml  $\text{dH}_2\text{O}$ . Směs byla promíchána a ponechána stát 15 minut. U slepého vzorku byl vzorek nahrazen 0,5 ml 60% vodným roztokem ethanolu pro UV-VIS. Obsah flavonoidů byl stanoven spektrofotometricky při  $\lambda=510$  nm. Kalibrační křivka byla sestrojena za použití katechinu v rozmezí koncentrací 0–0,3  $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ .

Při stanovování obsahu flavonoidů v extraktech ze speciálního gelu bylo postupováno obdobně, pouze ethanol byl nahrazen destilovanou vodou.

#### 4.10 Stanovení antioxidační aktivity

Nejdříve bylo připraveno ABTS (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonové kyseliny)). Do odměrné baňky o objemu 10 ml bylo kvalitativně převedeno ABTS o koncentraci 7 mM, k němu byl přidán peroxodisírandrasený o koncentraci 2,45 mM. Baňka byla doplněna po rysku a celá obalena alobalem. Ve tmě a při pokojové teplotě byla nechána stát po dobu 12 hodin. Před samotnou analýzou došlo ke zředění ABTS ethanolem pro UV-VIS na absorbanci 0,7 při  $\lambda=734$  nm. Do zúžené kyvety byl

napípeován 1 ml takto zředěného ABTS a 10 µl vzorku, směs byla promíchána a ponechána 10 minut stát. Po uplynutí doby byla změřena absorbance. Substrátem byla směs 1 ml ABTS a 10 µl destilované vody. Měření probíhalo spektrofotometricky při  $\lambda=734$  nm, výsledná absorbance byla získána po odečtení hodnoty vzorku od hodnoty substrátu.

Postup měření pro sestavení kalibrační křivky byl podobný jako u vzorku. Bylo připraveno koncentrační rozmezí Troloxu (6hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina) v 60% vodném roztoku ethanolu pro UV-VIS od  $0\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  do  $400\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Dále bylo postupováno jako při měření vzorku. U substrátu byl vzorek nahrazen 60% vodným roztokem ethanolu pro UV-VIS.

#### 4.11 Stanovení kanabinoidů pomocí HPLC

Nejprve byly zředěny vzorky extraktů konopí, kdy extrakty z čerstvého konopí byly zředěny v poměru 1:9 a extrakty ze sušeného konopí v poměru 1:99. Tyto vzorky byly přefiltrovány přes jednorázový filtr a analyzovány pomocí HPLC.

Pro stanovení kanabinoidů byly nastaveny podmínky gradientové eluce (tab. 12) za použití kolony Kinetex 5 µ C18, 4,6 x 150 mm značky Agilent Technologies. Mobilní fáze A byl čistý methanol pro HPLC a mobilní fáze B byla Milli-Q voda. Rychlost průtoku byla  $500\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ , objem dávkovací smyčky byl 20 µl a teplota separace 40 °C. Detekce byla spektrofotometrická, nastavená pro vlnové délky při maximech píků standardů,  $\lambda_1=210$  nm,  $\lambda_2=222$  nm,  $\lambda_3=285$  nm. Kalibrace byla provedena směsným roztokem kanabinoidů (CBC, CBD, CBG, CBN) v rozmezí koncentrací 0–25  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ .

Tab. 12: Eluční podmínky

ČAS [min]	MOBILNÍ FÁZE [%]	
	A	B
0	80	20
8	80	20
18	100	0
20	100	0
22	80	20
26	80	20

#### 4.12 Stanovení antimikrobiálního účinku

Antimikrobiální účinek byl stanovován pro všechny extrakty konopí, vyrobené a komerční kosmetické přípravky u čtyř typů mikroorganismů: u bakterií *Micrococcus luteus*, *Propionibacterium acnes*, *Escherichia coli* a u kvasinky *Candida glabrata*.

#### 4.12.1 Difúzní agarový test

Byly připraveny Petriho misky s obsahem příslušného média vhodného pro konkrétní mikroorganismus a s přidavkem agaru (BHI, LB, NB, YPD média). Pro *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Propionibacterium acnes* a *Candida glabrata* byla média zakočkována po ztuhnutí 24 hodinovou kulturou těchto mikroorganismů. Do tuhého média byly vytvořeny jamky, do kterých se v případě extraktů napipetovalo 50  $\mu$ l vzorku včetně slepého vzorku 60% vodného roztoku ethanolu, v případě kosmetických výrobků bylo umístěno malé množství konkrétního výrobku. 24 hodinová kultura *Propionibacterium acnes* byla ještě z důvodu dodržení anaerobního prostředí přelita médiem o teplotě 45 °C. Takto připravené misky byly kultivovány po dobu 24 hodin při 37 °C. Vyhodnocení probíhalo změřením inhibičních zón okolo jamek.

#### 4.12.2 Diluční jamkový test

Na mikrotitrační destičku bylo nepipetováno 75  $\mu$ l vzorku konopných extraktů a slepých vzorků (60% vodný roztok ethanolu a čistá kultura *Propionibacterium acnes*) a následně bylo přidáno 225  $\mu$ l zředěné 24 hodinové kultury *Propionibacterium acnes*. Absorbance byla nejdříve změřena v čase 0 a poté po 24 hodinové kultivaci při 37 °C. Absorbance byla měřena pomocí ELISA readeru při  $\lambda=630$  nm.

#### 4.13 Extrakce oleje ze semen

Semínka z obou odrůd konopí a semínka zakoupená v obchodě Albert byla rozmělněna pomocí kávového mlýnku. Po rozmělnění byly zváženy v extrakční patroně. Patrona byla utěsněna vatou a vložena do destilační nádoby s pemzou, do nádoby bylo nalito 150 ml hexanu a vše bylo vloženo do extrakčního přístroje. Extrakce probíhala 3 hodiny. Hexan byl odpařen na vakuové odparce. Z rozdílu hmotností před a po extrakci byl zjištěn obsah tuku v semínkách.

#### 4.14 Stanovení tukových čísel

Byla stanovena tuková čísla kyselosti a jodové číslo.

##### 4.14.1 Číslo kyselosti

Do kádinky byl navážen 1 g oleje. Olej byl pomocí 25 ml ethanolu kvantitativně převeden do titrační baňky. Směs byla přivedena k varu a byly k ní přidány 3 kapky indikačního činidla (fenolftalein). Směs byla titrována za horka odměrným roztokem 0,1 M hydroxidu draselného do stálého růžového zbarvení. Byl proveden slepý pokus pouze s 25 ml ethanolu.

##### 4.14.2 Jodové číslo

Do kádinky bylo naváženo 0,3 g oleje. Olej byl převeden pomocí 10 ml chloroformu do zábrusové Erlenmayerovy baňky. Ke směsi bylo přidáno 12,5 ml jodmonobromidového roztoku, baňka byla uzavřena a obsah baňky byl promíchán. Za občasných míchání a bez přístupu světla byl roztok nechán stát 1 hodinu. Souběžně byl připraven slepý

pokus bez oleje. Po hodině bylo do každé baňky přidáno 25 ml roztoku jodidu draselného. Po 2 minutách bylo ke směsi přidáno 100 ml destilované vody. Následně byla provedena titrace odměrných roztokem thiosíranu sodného do žlutého zbarvení. Poté ke směsi bylo přidáno 3–5 ml škrobového mazu a titrace probíhala až do odbarvení vodné fáze. Chloroformová vrstva byla zbarvena do žlutohnědé.

#### **4.15 Stanovení obsahu mastných kyselin pomocí plynové chromatografie**

Nejdříve byly upraveny vzorky oleje. Vzorky byly naředěny do 10 ml odměrné baňky chloroformem na koncentraci  $5 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Poté byla připravena transesterifikační směs z methanolu, 96% kyseliny sírové a heptadecylové kyseliny o výsledné koncentraci ve směsi  $125 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Nejdříve se navázila heptadecylová kyselina, která byla kvantitativně převedena methanolem do 250 ml odměrné baňky. Za intenzivního míchání a chlazení byla do směsi pomalu přidávána 96% kyselina sírová na výslednou koncentraci 15 %. Po vychladnutí směsi byl do vialky nepipetován 1 ml vzorku a 0,8 ml transesterifikační směsi. Takto připravená směs byla dána na 2 hodiny transesterifikovat při teplotě  $85 \text{ }^\circ\text{C}$ . Následně byl připraven 50 mM roztok hydroxidu sodného a celý objem směsi po transesterifikaci byl smíchán s 0,5 ml tohoto hydroxidu. Směs byla dána na 5 minut do vertexu, kde došlo k oddělení fází. 0,1 ml spodní (chloroformové) vrstvy bylo odpipetováno do vialky s 0,9 ml chloroformu HPLC kvality. Takto připravený vzorek byl změřen pomocí plynové chromatografie. Celková doba analýzy byla 60 minut, teplota injektoru  $250 \text{ }^\circ\text{C}$ , dávkování  $1 \mu\text{l}$ , průtok vodíku byl  $35 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ , průtok vzduchu  $350 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ , make-up dusíku  $30 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ . Analýza byla ukončena pomocí plamenově ionizačního detektoru (FID) při teplotě  $250 \text{ }^\circ\text{C}$ .

#### **4.16 Stanovení obsahu vitamínu E**

Vzorky oleje byly vhodně upraveny. 0,3 g oleje bylo kvantitativně převedeno do vialky s 3 ml methanolu HPLC kvality. Tato směs byla nechána hodinu protřepávat. Po uplynutí doby byly vialky ponechány stát po dobu, než došlo k zřetelnému oddělení fází. Horní organická byla odpipetována.

Pro analýzu pomocí HPLC byly zvoleny izokratické podmínky za použití kolony Kinetex C18. Mobilní fází byl zvolen methanol s průtokem  $1 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ . Teplota separace byla nastavena na  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ , objem dávkovací smyčky na  $20 \mu\text{l}$  a doba průchodu mobilní fází na 8 minut. Analýza byla ukončena pomocí UV-VIS detekce při  $\lambda=295 \text{ nm}$ . Byla také sestavena kalibrační křivka za použití standardního roztoku  $\alpha$ -tokoferolu o rozmezí koncentrací  $0\text{--}1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ .

## 5 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 5.1 Celkové polyfenoly

Obsah celkových polyfenolů v konopných extraktech byl stanoven podle postupu uvedeného v kapitole 4.8. Každý vzorek byl změřen třikrát, výsledná absorbance měření byla vypočítána jako aritmetický průměr. Koncentrace celkových polyfenolů byla získána po dosazení výsledné absorbance vzorku do rovnice kalibrační křivky. Rovnice kalibrace je  $y = 1,575x$  pro ethanolové extrakty (příloha 1), pro extrakty v pentylenglykolu je rovnice  $y = 1,469x$  (příloha 2).

Vzorky extraktů obou odrůd čerstvého konopí byly přepočítány na 1 g sušené rostliny, podle gravimetrického stanovení z kapitoly 4.5.

Tab. 13: Obsah celkových polyfenolů

ODRŮDA	CARMAGNOLA		FERIMON	
VZOREK	KONCENTRACE			
	[mg·ml <sup>-1</sup> ]	[mg·g <sup>-1</sup> ]	[mg·ml <sup>-1</sup> ]	[mg·g <sup>-1</sup> ]
čerstvá směs	0,80± 0,01	6,15 ± 0,04	0,67 ± 0,03	4,97 ± 0,26
sušená směs	2,00± 0,03	13,31± 0,14	1,14± 0,05	7,59± 0,32
sušený květ	2,79± 0,11	18,62± 0,65	1,33± 0,05	8,85 ± 0,33
sušený list	1,61± 0,02	10,73± 0,11	1,08 ± 0,09	7,20 ± 0,61
sušená směs (PG)	0,62± 0,01	4,10 ± 0,07	0,56± 0,04	3,71 ± 0,27

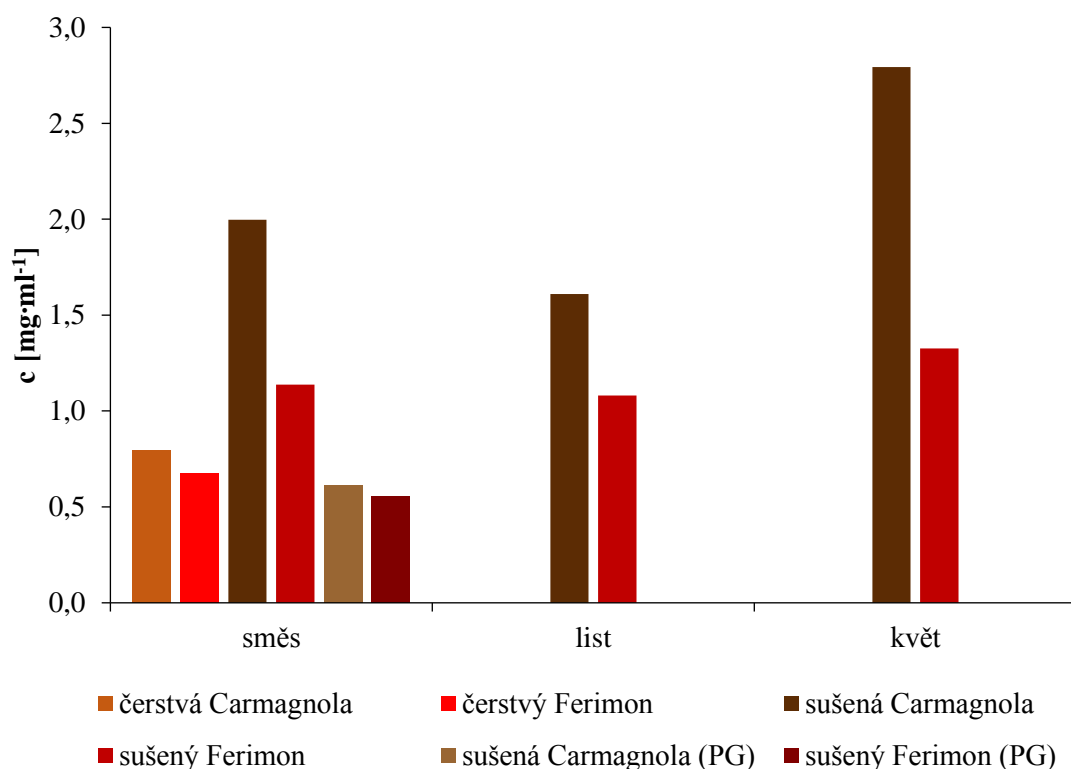
Množství celkových polyfenolů bylo vztaženo na kyselinu gallovou, která je zástupcem polyfenolů a byla použita jako standard.

V tabulce nahoře (tab. 13) jsou uvedeny výsledky měření extraktů i se směrodatnými odchylkami. Z této tabulky vyplývá, že větší množství obsahují sušené extrakty oproti extraktům z čerstvého konopí. To je způsobeno pravděpodobně tím, že podíl aktivních látek v rostlině konopí se zvyšuje během jejího sušení, kdy dochází k dekarboxylaci a tím vzniku dalších aktivních látek.

Nejmenší obsah vykazovaly extrakty sušené směsi v pentylenglykolu (PG), což mohlo být způsobeno buď horšími extrakčními vlastnostmi oproti ethanolu, anebo tím, že tyto extrakty byly vytvořeny až po delším skladování rostliny, mohlo tedy dojít ke ztrátám aktivních látek skladováním.

Kromě stavu rostliny (sušená, čerstvá) byly extrakty dále porovnávány podle odrůdy a části rostliny, ze které byl extrakt vytvořen (obr. 11). Porovnáváním odrůd se nám jako odrůda s vyšším obsahem polyfenolů jeví Carmagnola, která v porovnání s odrůdou Ferimon má obsah polyfenolů větší u všech testovaných vzorků. Tato odrůda patří mezi později sklizené odrůdy, což může mít vliv na obsah aktivních látek. Je možné, že i šlechtění obsah aktivních látek mohlo ovlivnit.

Největší obsah polyfenolů vykazovaly extrakty ze sušeného květu u obou odrůd rostliny konopí. V květu se nachází větší množství aktivních látek v porovnání s ostatními částmi rostliny. Nejvíce jich vykazoval extrakt ze sušeného květu Carmagnoly, kdy obsah polyfenolů činil  $18,62 \pm 0,65 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  rostliny. Následoval extrakt sušené směsi, kdy výsledek byl ovlivněn tím, jestli se ve směsi nacházelo více květů nebo spíše ostatních částí rostliny. Nejméně u etanolových extraktů vykazoval z výše uvedených důvodů extrakt z čerstvého konopí a to u odrůdy Ferimon. Nejmenší obsah polyfenolů vykazovaly extrakty v pentylenglykolu u Carmagnoly  $4,10 \pm 0,07 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  rostliny a u Ferimonu  $3,71 \pm 0,27 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  rostliny.



Obr. 11: Obsah celkových polyfenolů v konopných extraktech

## 5.2 Celkové flavonoidy

Obsah celkových flavonoidů v konopných extraktech byl stanoven podle postupu uvedeného v kapitole 4.9. Vzorek byl proměřen celkem třikrát, výsledná absorbance měření byla vypočítána jako aritmetický průměr. Koncentrace celkových flavonoidů byla získána po dosazení výsledné absorbance vzorku do rovnice kalibrační křivky. Rovnice kalibrace je  $y = 2,797x$  pro ethanolové extrakty (příloha 3) a pro extrakty v pentylenglykolu  $y = 3,230x$  (příloha 4)

Vzorky extraktů obou odrůd čerstvého konopí byly přepočítány na 1 g sušené rostliny, podle gravimetrického stanovení z kapitoly 4.5.

Tab. 14: Obsah celkových flavonoidů

ODRŮDA	CARMAGNOLA		FERIMON	
VZOREK	KONCENTRACE			
	[mg·ml <sup>-1</sup> ]	[mg·g <sup>-1</sup> ]	[mg·ml <sup>-1</sup> ]	[mg·g <sup>-1</sup> ]
čerstvá směs	0,47± 0,00	3,60 ± 0,00	0,35± 0,04	2,56 ± 0,24
sušená směs	1,12± 0,01	7,48± 0,06	0,78± 0,05	5,19± 0,36
sušený květ	1,60± 0,03	10,67± 0,17	0,82± 0,12	5,44± 0,80
sušený list	1,10± 0,02	7,35 ± 0,04	0,72± 0,10	4,82 ± 0,64
sušená směs (PG)	0,29± 0,02	1,91± 0,11	0,27± 0,04	1,82 ± 0,27

Množství celkových flavonoidů bylo vztaženo na katechín, který je zástupcem flavonoidů a byl použit jako standard.

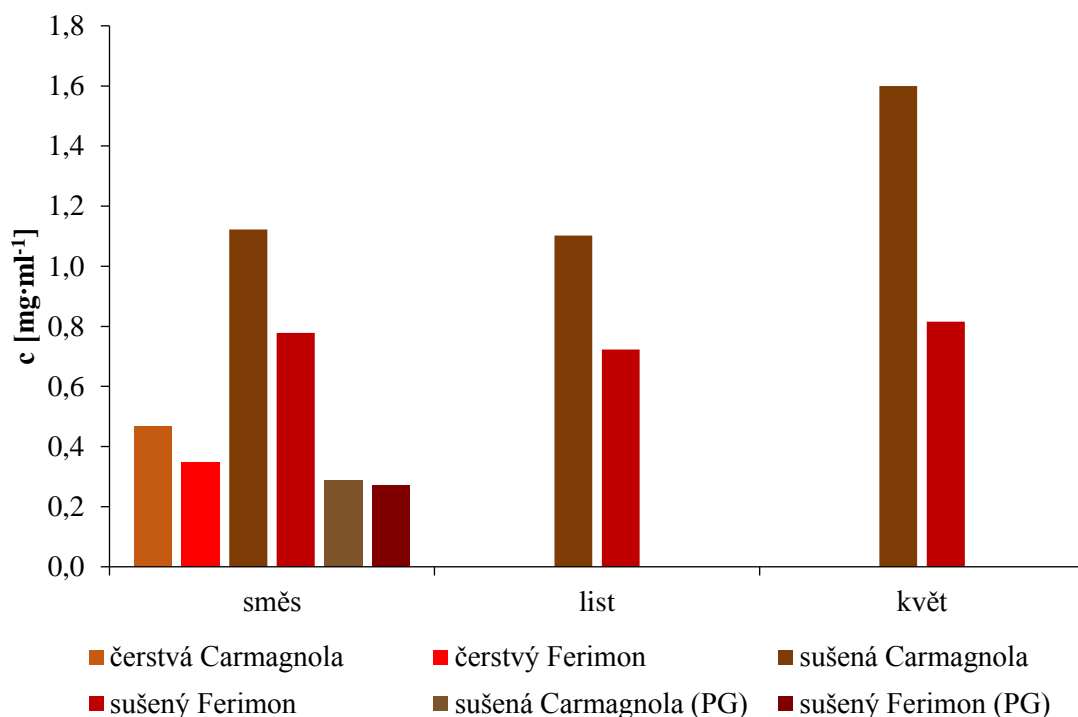
V tab. 14 jsou uvedeny výsledky měření extraktů konopí i se směrodatnými odchylkami. Flavonoidy patří do skupiny polyfenolů, takže jejich množství v extraktech by mělo být nižší v porovnání s polyfenoly (tab. 13). Po srovnání naměřených hodnot ve všech extraktech bylo zjištěno, že obsah flavonoidů je skutečně nižší než obsah polyfenolů.

Byl srovnáván obsah flavonoidů u obou forem rostliny. Jako forma s vyšším obsahem flavonoidů byla zjištěna sušená forma rostliny konopí. Je to způsobeno vznikem nových biologicky aktivních látek po sušení konopí (dekarboxylaci). Nejméně flavonoidů bylo obsaženo v extraktech pentylenglykolu u obou odrůd konopí a rozdíl mezi nimi byl nepatrný (obr. 12).

Podobně jako u celkových polyfenolů i zde nejvíce látek obsahoval extrakt ze sušeného květu konopí. U odrůdy Carmagnola byl obsah flavonoidů  $10,67 \pm 0,17 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  rostliny, což je téměř dvojnásobek obsahu flavonoidů u Ferimonu ( $5,44 \pm 0,80 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  rostliny). Rozdíl mezi obsahem flavonoidů v extraktech ze sušené směsi a sušeného listu u Carmagnoly nebyl velký (desetiny mg). Můžeme tedy usuzovat, že extrakt byl z větší části tvořen listy konopí.

Z obr. 12 a tab. 14 vyplývá, že celkový obsah flavonoidů byl opět větší u odrůdy Carmagnola u všech forem a částí rostliny. U ethanolových extraktů v některých případech téměř dvojnásobně. U extraktů z pentylenglykolu byl rozdíl mezi odrůdami nepatrný. Je možné, že došlo ke ztrátám během skladování rostliny, které mohlo ovlivnit celkový obsah v pentylenglykolových extraktech, které byly vytvořeny až po delší době skladování.





Obr. 12: Obsah celkových flavonoidů v extraktech z konopí

### 5.3 Antioxidační aktivita

Podle postupu uvedeného v kapitole 4.10 byla stanovena antioxidační aktivita konopných extraktů. Každý vzorek byl proměřen třikrát, výsledná absorbance měření byla vypočítána jako aritmetický průměr všech třech měření. Antioxidační aktivita byla získána po dosazení výsledné absorbance vzorku do rovnice kalibrační křivky. Rovnice kalibrace je  $y = 0,0011x$  pro ethanolové extrakty (příloha 5) a pro extrakty v pentylenglykolu  $y = 0,0009x$  (příloha 6).

Vzorky extraktů obou odrůd čerstvého konopí byly přepočítány na 1 g sušené rostliny, podle gravimetrického stanovení z kapitoly 4.5

Tab. 15: Antioxidační aktivita extraktů z konopí

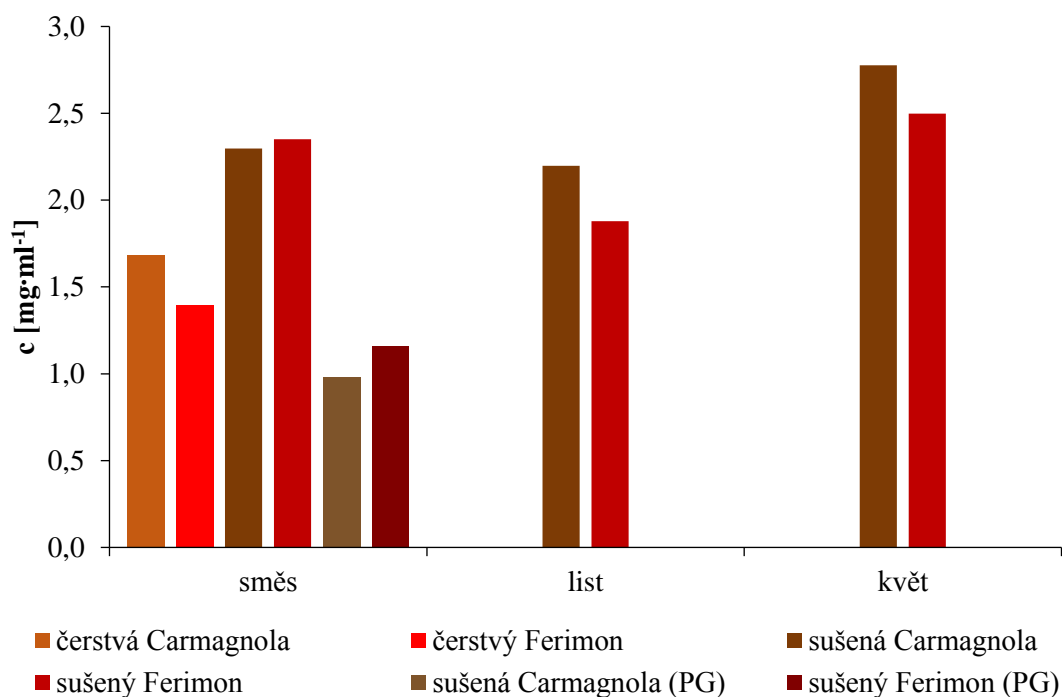
ODRŮDA	CARMAGNOLA		FERIMON	
	KONCENTRACE			
	[g·ml <sup>-1</sup> ]	[mg·g <sup>-1</sup> ]	[mg·ml <sup>-1</sup> ]	[mg·g <sup>-1</sup> ]
čerstvá směš	1,68 ± 0,02	12,97 ± 0,15	1,40 ± 0,06	10,30 ± 0,48
sušená směš	2,30 ± 0,01	15,32 ± 0,04	2,35 ± 0,06	15,67 ± 0,40
sušený květ	2,78 ± 0,05	18,51 ± 0,30	2,50 ± 0,02	16,66 ± 0,10
sušený list	2,20 ± 0,00	14,65 ± 0,01	1,88 ± 0,01	12,53 ± 0,08
sušená směš (PG)	0,98 ± 0,04	6,56 ± 0,19	1,16 ± 0,03	7,74 ± 0,10

Antioxidační aktivita byla vztažena na množství standardu Troloxu. Použitá metoda se nazývá Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC).

Opět jako u předchozích stanovení zde byl zjišťován rozdíl mezi jednotlivými odrůdami konopí, částmi rostliny a formou rostliny (čerstvá, sušená). Z tab. 15 je možné vyčíst, že vyšší antioxidační aktivitu vykazují extrakty připravené ze sušeného konopí. Jak již bylo uvedeno v kapitole 5.1, je to způsobeno tím, že některé biologicky aktivní látky v konopí vznikají až po dekarboxylaci látek.

Největší antioxidační aktivitu vykazoval extrakt ze sušeného květu konopí, což je dobře viditelné u obr. 13. U Carmagnoly výsledná hodnota byla  $18,51 \pm 0,30 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  rostliny a u Ferimonu  $16,66 \pm 0,10 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  rostliny. Jak bylo již zmíněno, v květu se nachází největší množství aktivních látek, proto vykazuje největší aktivitu.

Z obr. 13 i z tab. 15 je patrné, že vyšší antioxidační aktivitu vykazuje odrůda Carmagnola, výjimku tvoří sušená směs, u které je hodnota nepatrně vyšší u Ferimonu ( $15,67 \pm 0,40 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  rostliny). Mohlo dojít k odchylkám při měření, nebo směs Ferimonu obsahovala vyšší množství květů konopí. Také mohl být obsah aktivních látek v rostlinách u jedné odrůdy nepatrně odlišný. Tyto rozdíly mohou být způsobené například zpracováním, skladováním, nebo časem sklizně.



Obr. 13: Antioxidační aktivita konopných extraktů

## 5.4 Obsah kanabinoidů

Obsah kanabinoidů ve všech konopných extraktech byl stanovován podle postupu, který je obsažen v kapitole 4.11. Nejdříve byly stanoveny hodnoty kalibračních křivek pro jednotlivé kanabinoidy. Kalibrační křivka byla sestavena ze směšného roztoku zkoumaných kanabinoidů. Vzhledem k tomu, že v našich laboratorních podmínkách není k dispozici metoda, která by byla dostatečně citlivá na to, aby rozlišila od sebe kanabinoidy CBD a CBG, které mají velmi podobná spektra a jejich retenční časy se od sebe liší v setinách, jsou v následujících výsledcích tyto kanabinoidy uváděny vždy spolu (tab. 16 a tab. 17). Výsledné hodnoty jsou tedy vždy kombinací těchto dvou kanabinoidů a lze pouze podle tvaru píku odhadovat, kterého kanabinoidu by v extraktech mohlo být více. Rovnice kalibračních křivek pro směs CBD a CBG je  $y = 770\ 937x$ , pro CBC  $y = 404\ 310x$  a pro CBN  $y = 674\ 102x$  [62]. Podle zvolené metody byl retenční čas pro kanabinoidy CBD a CBG 8,88 minuty, pro CBN 14, 69 a pro CBC 16,42 minut.

Tab. 16: Obsah kanabinoidů u odrůdy Carmagnola

KANABINOID	CBD+CBG		CBN		CBC	
	KONCENTRACE		KONCENTRACE		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	-	-	-	-
sušená směs	534	3559	6	41	22	145
sušený květ	1739	11594	7	45	53	353
sušený list	439	2928	-	-	-	-

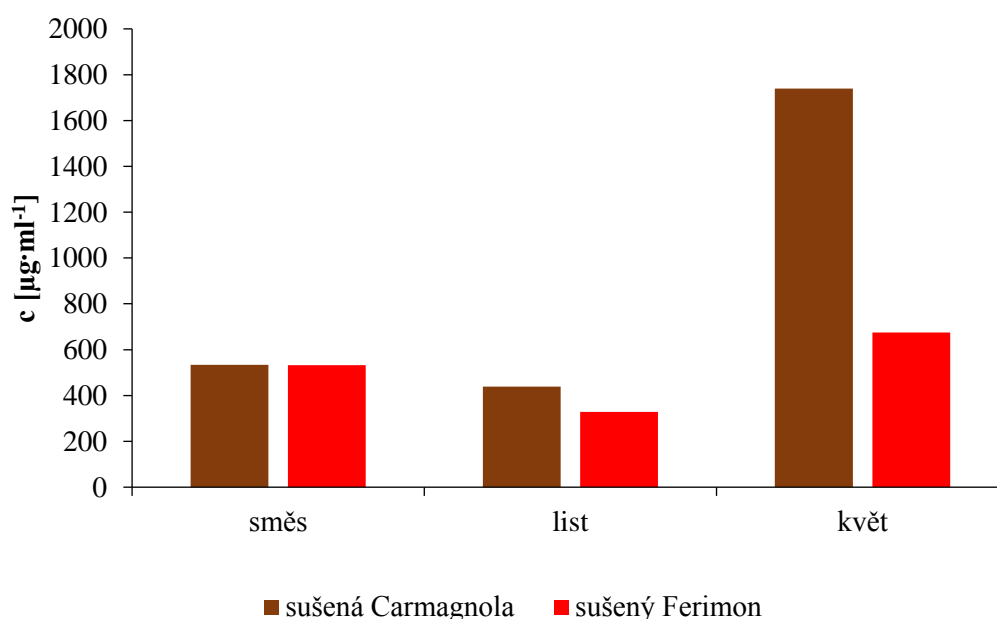
U odrůdy konopí Carmagnola byl obsah kanabidiolu (CBD) a kanabigerolu (CBG) poměrně vysoký (viz. tab. 16). Největší koncentrace byla u konopného květu a to  $11594\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  rostliny, nejmenší u čerstvé směsi  $34\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . Kanabichromen (CBC) byl identifikován pouze u extraktů ze sušeného květu a sušené směsi. Nejvíce ho obsahoval extrakt ze sušeného květu ( $353\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ). Kanabinol (CBN) byl v extraktech identifikován pouze ve velmi malém množství. Je metabolitem  $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinolu (THC), kterého je v technickém konopí obsaženo jen velmi malé množství, tedy i CBN byl detekován jen v minimálním množství a opět pouze u květu a ve směsi. Z porovnání koncentrací kanabinoidů v extraktech z květů, listů a ve směšném extraktu lze opět usuzovat, že extrakt ze směsi byl tvořen z větší části listy rostliny konopí.

U čerstvého konopí se vyskytují převážně prekurzory kanabinoidů (viz. 2.2.1), proto byl očekáván malý nebo nedetekovatelný obsah kanabinoidů, což bylo měřením potvrzeno. V rostlině se nejdříve tvoří kanabinoid CBG, dá se tedy usuzovat, že toto malé množství bylo tvořeno právě tímto kanabinoidem. Naopak květ, ve kterém se kanabinoidy primárně tvoří a jsou z něho transportovány do jiných částí rostliny, obsahuje tedy dle očekávání nejvíce kanabinoidů, ze všech částí rostliny.

Tab. 17: Obsah kanabinoidů u odrůdy Ferimon

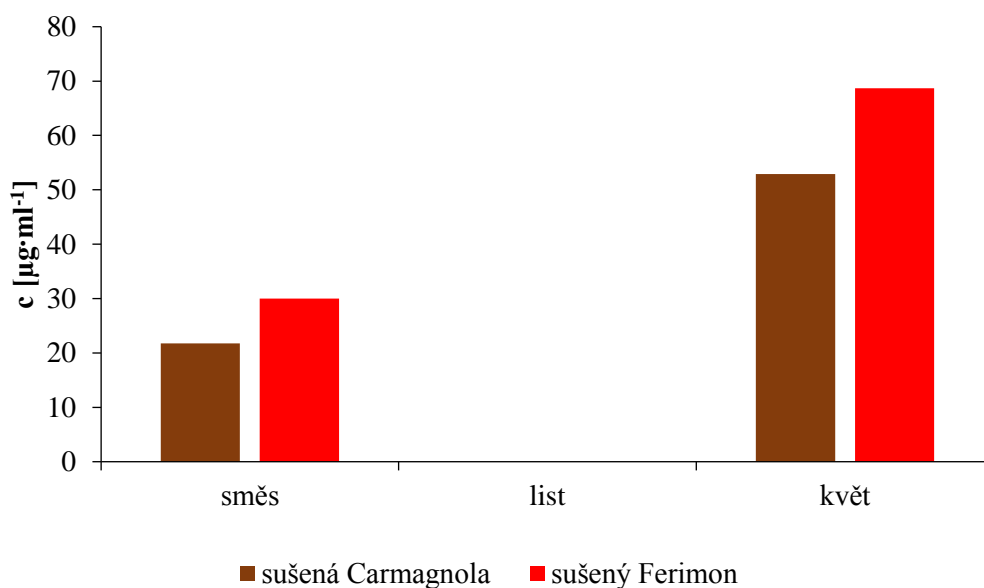
KANABINOID	CBD+CBG		CBN		CBC	
	KONCENTRACE		KONCENTRACE		KONCENTRACE	
	[ $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ]	[ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	[ $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ]	[ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	[ $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ]	[ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]
čerstvá směs	8	51	-	-	-	-
sušená směs	533	3553	2	12	30	200
sušený květ	675	4500	2	15	69	458
sušený list	328	2186	2	12	-	-

Podobně jako u odrůdy Carmagnola i zde se může pozorovat, že nejvíce kanabinoidů obsahuje extrakt ze sušeného květu a nejméně z čerstvého konopí (tab. 17). Nejvíce jsou opět obsaženy kanabinoidy CBD a CBG (až  $4500 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  u květu). Obsah CBC byl nižší než u předchozích dvou kanabinoidů. Nejvíce ho bylo obsaženo v extraktu z květu ( $458 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ). Ferimon je stejně jako Carmagnola druh technického konopí, proto i zde se vyskytovalo velmi malé množství CBN. Na rozdíl od extraktu sušené směsi u Carmagnoly, zde lze usuzovat, že obsah květů a listů byl v extraktu podobný.



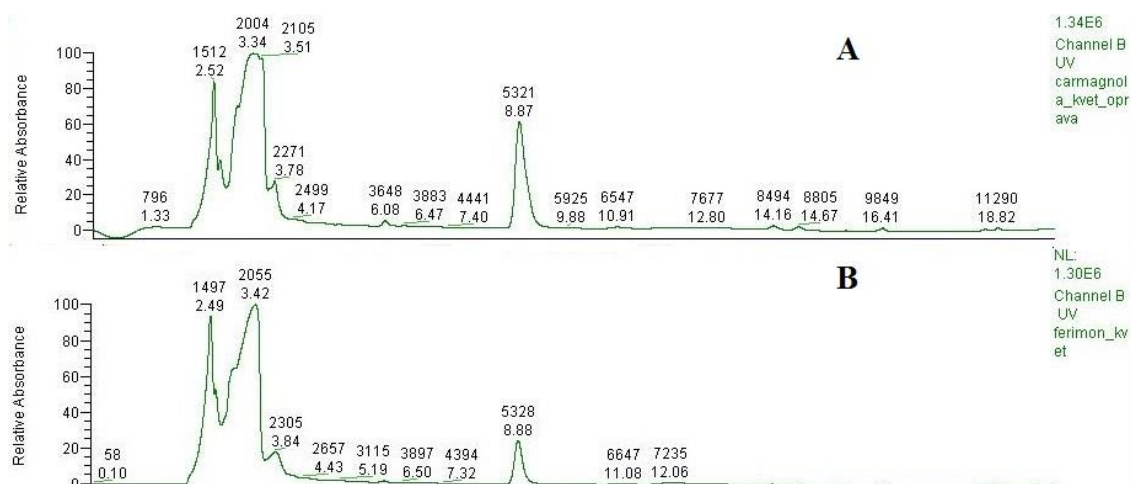
Obr. 14: Obsah CBD a CBG kanabinoidů

Při porovnávání obsahu kanabinoidů CBD a CBG u odrůd Carmagnola a Ferimon, lze pozorovat, že větší obsah je u odrůdy Carmagnola (viz. obr. 14). U sušeného květu je rozdíl více jak dvojnásobný. Naopak u sušené směsi obou byl rozdíl v obsahu CBD a CBG téměř nepoznatelný. To je nejspíš způsobeno tím, z jaké části rostliny byly extrakty tvořeny.



Obr. 15: Obsah CBC kanabinoidu

Na rozdíl od kanabinoidů CBD a CBG byl obsah CBC větší u odrůdy Ferimon. Obsah jednotlivých kanabinoidů může být odlišný u různých druhů rostlin, proto je možné, že CBC se ve větším množství vyskytuje právě u odrůdy Ferimon (viz obr. 15).



Obr. 16: Chromatogramy vzorků extraktu sušeného květu

Na obr. 16 jsou zobrazeny chromatogramy extraktů ze sušeného květu u odrůd Carmagnola (obr. 16A) a u Ferimonu (obr. 16B). Při porovnání je jasně patrný obsah CBD a CBG (retenční čas 8,88). U Carmagnoly jsou patrné i další kanabinoidy, CBN (retenční čas 14,67) a CBC (retenční čas 16,41). U Ferimonu tyto kanabinoidy nejsou zřetelné.

## 5.5 Antimikrobiální aktivita

Podle postupu uvedeného v kapitole 4.12 byla stanovena antimikrobiální aktivita extraktů, vyrobených a zakoupených kosmetických přípravků. Byly využity dva typy testů. Pro stanovení antimikrobiální aktivity extraktů a kosmetických přípravků proti

*Micrococcus luteus*, *Escherichia coli* a *Candida glabrata* a pro stanovení antimikrobiální aktivity kosmetických přípravků proti *Propionibacterium acnes* byl využit difúzní agarový test. U antimikrobiální aktivity extraktů proti *Propionibacterium acnes* byla využita diluční jamková metoda.

## 5.5.1 Extrakty

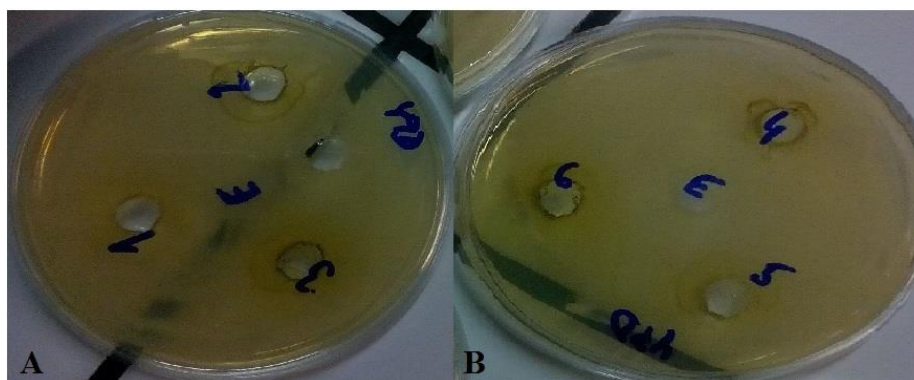
### 5.5.1.1 *Candida glabrata*

Pro kvasinku *Candida glabrata* byl použit difúzní agarový test. Antimikrobiální aktivita byla zjišťována pro všechny typy extraktů u obou odrůd konopí. Jako blank byl použit 60% vodný roztok ethanolu.

Z tab. 18 i z obr. 17 (A – Carmagnola čerstvá směs, květ a list; B – Carmagnola sušená směs, Ferimon – čerstvá směs, list) vyplývá, že účinek proti kvasince byl minimální, nebo pro většinu extraktů žádný. Největší inhibiční zónu (1 mm) vykazoval extrakt sušeného květu odrůdy Ferimon. U sušené směsi stejné odrůdy a u sušeného květu Carmagnoly byla inhibiční zóna 0,5 mm.

Tab. 18: Antimikrobiální účinek konopných extraktů u *Candida glabrata*

VZOREK	CARMAGNOLA	FERIMON
	VELIKOST INHIBIČNÍ ZÓNY [mm]	
čerstvá směs	-	-
sušená směs	-	0,5
sušený květ	0,5	1,0
sušený list	-	-
sušená směs (PG)	-	-



Obr. 17: Inhibiční zóny extraktů konopí u *Candida glabrata*

### 5.5.1.2 *Escherichia coli*

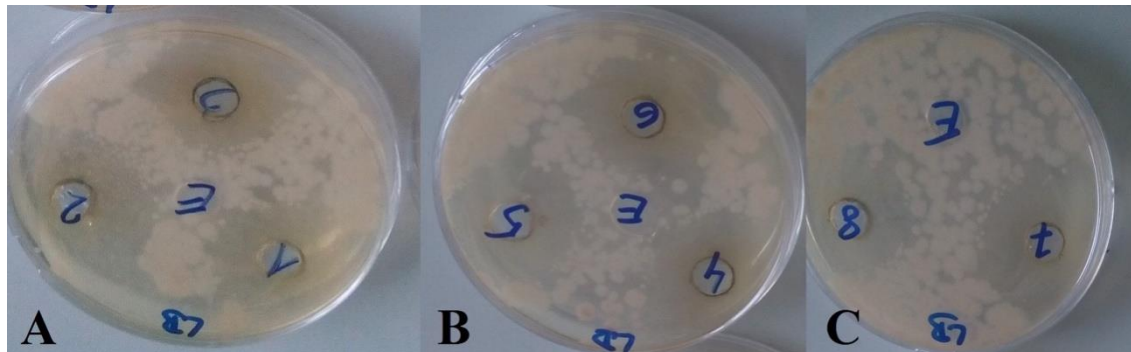
Pro gramnegativní bakterii *Escherichii coli* byl použit difúzní agarový test. Antimikrobiální aktivita byla zjišťována pro všechny typy extraktů u obou odrůd konopí. Jako blank byl použit 60% vodný roztok ethanolu.

Jak je patrné z tab. 19 i z obr. 18, tak vůči gramnegativním bakteriím vykazují konopné extrakty poměrně velký inhibiční účinek. Nejlépe dopadly extrakty ze sušeného květu a sušené směsi u odrůdy Ferimon (15,5 a 14,0 mm). Ale i ostatní extrakty vykazují znatelný inhibiční účinek, všechny se pohybují okolo 10 mm. Lepší účinek vykazovala u extraktů ze sušených částí konopí odrůda Ferimon, u čerstvého konopí to byla odrůda Carmagnola.

Tab. 19: Antimikrobiální účinek konopných extraktů u *Escherichie coli*

VZOREK	CARMAGNOLA	FERIMON
	VELIKOST INHIBIČNÍ ZÓNY [mm]	
čerstvá směs	11,0	10,0
sušená směs	11,5	14,0
sušený květ	12,5	15,5
sušený list	10,0	10,0
sušená směs (PG)	9,5	9,0

Obr. 18A znázorňuje inhibiční zóny u Carmagnoly pro čerstvý extrakt, pro extrakt ze sušeného květu a listu. Na obr. 18B jsou patrné inhibiční zóny extraktu ze sušené směsi odrůdy Carmagnola a poté pro čerstvou směs a list u odrůdy Ferimon. Poslední obr. 18C znázorňuje zóny u extraktu ze sušeného květu a směsi opět pro odrůdu Ferimon.



Obr. 18: Inhibiční zóny konopných extraktů u *Escherichie coli*

### 5.5.1.3 *Micrococcus luteus*

Pro grampozitivní bakterii *Micrococcus luteus* byl stejně jako pro *Escherichii coli* a *Candidu glabrata* použit difúzní agarový test. Antimikrobiální aktivita byla zjišťována pro všechny typy extraktů u obou odrůd konopí. Jako blank byl použit 60% vodný roztok ethanolu.

Z tab. 20 je zřejmé, že i vůči grampozitivním bakteriím vykazují konopné extrakty inhibiční účinek. Nejlépe dopadl extrakt ze sušeného květu odrůdy Carmagnola (10,0 mm). Nejhubře dopady extrakty z čerstvého konopí, ale i ty vykazují účinek poměrně velký (6,0 a 6,5 mm). Dle výsledků lze vyvodit, že spousta antimikrobiálně aktivních látek vzniká v konopí dekarboxylací. Také lze soudit, že nejvíce

antimikrobiálně účinných látek obsahuje květ rostliny, u všech difúzních agarových testů dopadl extrakt ze sušeného květu nejlépe.

Rozdíl antimikrobiálního účinku mezi jednotlivými odrůdami se pohyboval okolo 1 mm. Až na extrakty z čerstvého konopí vykazovala větší inhibiční zóny odrůda Carmagnola.

Tab. 20: Antimikrobiální účinek konopných extraktů u *Micrococcus luteus*

VZOREK	CARMAGNOLA	FERIMON
	VELIKOST INHIBIČNÍ ZÓNY [mm]	
čerstvá směs	6,0	6,5
sušená směs	8,5	7,5
sušený květ	10,0	8,5
sušený list	7,0	7,0
sušená směs (PG)	8,0	7,0

#### 5.5.1.4 *Propionibacterium acnes*

Podle postupu z kapitoly 4.12.2 byl proveden u bakterie *Propionibacterium acnes* diluční jamkový test za pomoci mikrotitrační destičky (obr. 19). Mikrotitrační destička byla vybrána, protože bylo nutné omezit přístup kyslíku, vzhledem k tomu, že *Propionibacterium acnes* je bakterií anaerobní.



Obr. 19: Diluční jamkový test konopných extraktů u *Propionibacterium acnes*

Principem této metody je spektrofotometrické měření zákalu v čase 0 (tedy na začátku testu) a po 24 hodinách. Získané absorbance byly od sebe odečteny a tím byl získán nárůst bakterie. Tato hodnoty nárůstu byla porovnávána s médiem obsahujícím čistou kulturu a s médiem obsahujícím 60% vodný roztok ethanolu. Hodnota nárůstu u extraktů by měla být menší než hodnota nárůstu čisté kultury. Pokud je hodnota nárůstu nižší, znamená to, že daný extrakt inhibuje růst mikroorganismu.

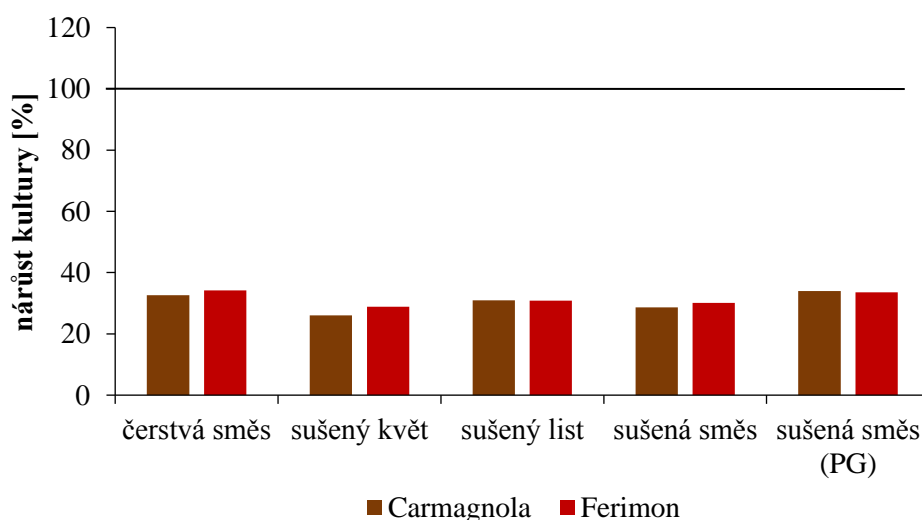


Výsledný nárůst byl přepočítán na procenta nárůstu kultury. Tento nárůst je vidět v tab. 21.

Tab. 21: Nárůst kultury po 24 hodinách u *Propionibacterium acnes*

VZOREK	CARMAGNOLA	FERIMON
	NÁRŮST KULTURY [%]	
čerstvá směs	32,58	34,21
sušená směs	28,69	30,12
sušený květ	25,99	28,83
sušený list	31,00	30,86
sušená směs (PG)	33,99	33,55

Jak již bylo uvedeno, pokud je zkoumán inhibiční účinek extraktů, hodnota nárůstu by měla být nižší než hodnota nárůstu čisté kultury. Zároveň platí, že čím menší nárůst daný extrakt má, tím větší antimikrobiální efekt vůči *Propionibacterium acnes* vykazuje.



Obr. 20: Inhibiční efekt konopných extraktů

Nejnižší inhibiční účinek byl zaznamenán u extraktu z čerstvé směsi odrůdy Ferimon (nárůst 34,21 %). Podobný účinek vykazovaly také pentylenglykolové extrakty sušeného konopí obou odrůd. Z tab. 21 je patrné, že největší inhibiční účinek vykazoval extrakt ze sušeného květu odrůdy Carmagnola (nárůst 25,99 %). I u odrůdy Ferimon byl pozorován největší inhibiční efekt u extraktu z květu rostliny, ale tyto rozdíly nebyly velké. Při bližším prozkoumání obr. 20 je zřejmé, že rozdíly v antimikrobiální aktivitě extraktů byly minimální. Není patrný velký rozdíl mezi odrůdami ani mezi formou rostliny, ze které byl extrakt připraven. Rozdíly jsou minimální i při porovnávání jednotlivých extraktů z květu, listu a směsi.

## 5.5.2 Kosmetické přípravky

### 5.5.2.1 *Candida glabrata*

Pro stanovení antimikrobiální aktivity přípravků u kvasinky *Candida glabrata* byl použit difúzní agarový test. Antimikrobiální aktivita byla zjišťována pro všechny typy kosmetických přípravků vytvořených z extraktů ze sušeného květu, směsi a u pentylenglykolových extraktů z obou odrůd konopí. Jako blank byl použit kosmetický přípravek bez obsahu účinných látek a v případě krému s oxidem zinečnatým krém bez něho a s ním.

Podobně jako u extraktů můžeme konstatovat, že účinek kosmetických přípravků proti kvasince *Candida glabrata* byl téměř nulový (viz tab. 22). U peelingu se vyskytovala malá inhibiční zóna, nebyla však větší jak 0,5 mm.

Tab. 22: Antimikrobiální účinek konopných přípravků u *Candida glabrata*

VZOREK	KRÉM	KRÉM S ZnO	PEELING	CUKROVÝ PEELING
	VELIKOST INHIBIČNÍ ZÓNY [mm]			
Ferimon sušená směs	-	-	-	-
Ferimon sušený květ	-	-	<0,5	-
Carmagnola sušená směs	-	-	-	-
Carmagnola sušený květ	-	-	-	-
Ferimon sušená směs (PG)	-	-	<0,5	-
Carmagnola sušená směs (PG)	-	-	-	-

U komerčních kosmetických přípravků byl účinek větší, u peelingu až 7 mm (tab. 23). Takto velká inhibiční zóna ale nebyla způsobena konopím, protože se jeho extrakt objevuje ve složení až na posledním místě. Podle legislativního nařízení musí být složky na obalu uvedeny v pořadí od nejvyšší koncentrace v přípravku po nejnižší. Složky s obsahem méně jak 1 % mohou být pak seřazeny v libovolném pořadí [56]. Inhibiční účinek byl způsoben konzervantem fenoxxyethanolem. U krému aktivita také nebyla způsobena konopím, protože se extrakt pohyboval až mezi posledními složkami ve složení. Za antimikrobiální aktivitu vděčí pravděpodobně alantoinu.

Tab. 23: Antimikrobiální účinek komerčních konopných přípravků u *Candida glabrata*

VZOREK	VELIKOST INHIBIČNÍ ZÓNY [mm]
KOMERČNÍ KRÉM	1
KOMERČNÍ PEELING	7

#### 5.5.2.2 *Escherichia coli*

Pro stanovení antimikrobiální aktivity přípravků u gramnegativní bakterie *Escherichia coli* byl použit difúzní agarový test. Antimikrobiální aktivita byla zjišťována pro všechny typy kosmetických přípravků vytvořených z extraktů ze sušeného květu, směsi a u pentylenglykolových extraktů z obou odrůd konopí. Jako blank byl použit kosmetický přípravek bez obsahu účinných látek a v případě krému s oxidem zinečnatým krém bez něho a s ním.

Na rozdíl od extraktů byl účinek kosmetických přípravků minimální nebo nulový (tab. 24). Největší inhibiční zónu (1 mm) vykazovaly peelinky vytvořené ze sušeného květu Ferimonu a Carmagnoly, dále sušená směs u Carmagnoly a sušená směs extrahovaná v pentylenglykolu u stejné odrůdy. Malý inhibiční účinek vykazovaly také krémy s obsahem oxidu zinečnatého (0,5 mm). U cukrového peelingu a u krému (obr. 21C) byl účinek nulový. Z obrázků je patné že u peelingu (obr. 21B) byly znatelné inhibiční zóny, ale ty se vyskytovaly i u blanku, inhibiční účinek zde tedy byl tvořen nejspíš i pomocí SLES, který má antimikrobiální účinek a jeho obsah v peelingu byl větší než obsah extraktů.

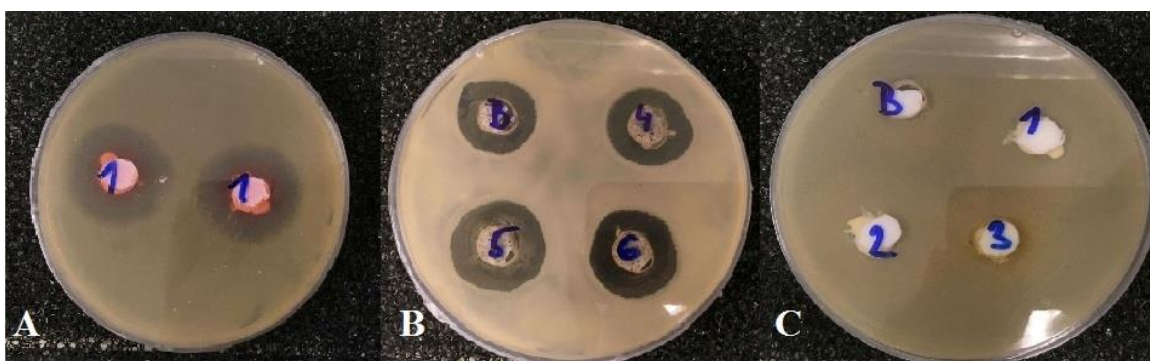
Tab. 24: Antimikrobiální účinek konopných přípravků u *Escheriacha coli*

VZOREK	KRÉM	KRÉM S ZnO	PEELING	CUKROVÝ PEELING
	VELIKOST INHIBIČNÍ ZÓNY [mm]			
Ferimon sušená směs	-	<0,5	-	-
Ferimon sušený květ	-	0,5	1	-
Carmagnola sušená směs	-	0,5	1	-
Carmagnola sušený květ	-	0,5	1	-
Ferimon sušená směs (PG)	-	0,5	0,5	-
Carmagnola sušená směs (PG)	-	-	1	-

U komerčních kosmetických přípravků byl účinek větší, u peelingu (obr. 21A) 8,5 mm u krému 2,5 mm (tab. 25). Inhibiční zóna ale nebyla způsobena konopím, protože se jeho extrakt objevuje ve složení až na posledním místě, ale byla způsobena konzervantem fenoxylethanol. Krém opět za antimikrobiální aktivitu vděčí pravděpodobně alantoinu.

Tab. 25: Antimikrobiální účinek komerčních konopných přípravků u *Escherichia coli*

VZOREK	VELIKOST INHIBIČNÍ ZÓNY [mm]
KOMERČNÍ KRÉM	2,5
KOMERČNÍ PEELING	8,5



Obr. 21: Inhibiční zóny kosmetických přípravků u *Escherichie coli*

### 5.5.2.3 *Micrococcus luteus*

Pro stanovení antimikrobiální aktivity přípravků u grampozitivní bakterie *Micrococcus luteus* byl použit stejně jako u extraktů difúzní agarový test. Antimikrobiální aktivita byla zjišťována pro všechny typy kosmetických přípravků vytvořených z extraktů ze sušeného květu, směsi a u pentylenglykolových extraktů z obou odrůd konopí. Jako blank byl použit kosmetický přípravek bez obsahu účinných látek a v případě krému s oxidem zinečnatým krém bez něho a s ním.

Na rozdíl od extraktů byl účinek kosmetických přípravků minimální (tab. 26). Avšak při porovnání s účinkem přípravků na *Escherichii coli* a *Candida glabrata*, je vidět o něco větší účinek. Největší inhibiční zónu (2 mm) vykazoval peeling vytvořený ze sušeného květu Carmagnoly. 1,5 mm bylo zjištěno u extraktu sušené směsi Carmagnoly v pentylenglykolu. Malý inhibiční účinek vykazoval peeling se všemi typy extraktů. Malý inhibiční účinek vykazovaly také cukrový peeling (0,5 mm) a u dvou typů extraktu i krém s oxidem zinečnatým. U krému byl účinek nulový.

Z obrázků jsou patné inhibiční zóny u vyrobeného peelingu (obr. 22B) a u komerčně pořízeného peelingu (obr. 22A). Inhibiční zóny u vyrobeného peelingu se zde vyskytují i u blanku tvořeného peelingem bez obsahu konopné složky. Inhibiční efekt byl nejspíš způsoben působením SLESu. U komerčního peelingu vznikly inhibiční zóny působením fenoxylethanolu.

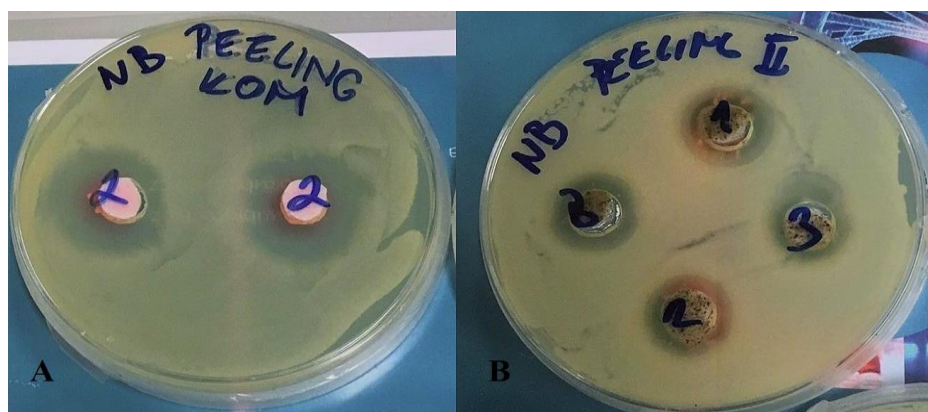
Tab. 26: Antimikrobiální účinek konopných přípravků u *Micrococcus luteus*

VZOREK	KRÉM	KRÉM S ZnO	PEELING	CUKROVÝ PEELING
	VELIKOST INHIBIČNÍ ZÓNY [mm]			
Ferimon sušená směs	-	-	0,5	-
Ferimon sušený květ	-	0,5	1	-
Carmagnola sušená směs	-	-	0,5	0,5
Carmagnola sušený květ	-	-	2	0,5
Ferimon sušená směs (PG)	-	1	0,5	0,5
Carmagnola sušená směs (PG)	-	-	1,5	0,5

U komerčních kosmetických přípravků byl účinek větší, u peelingu 8,5 mm u krému 1 mm. Inhibiční zóna zde byla způsobena fenoxylethanolem u peelingu a u krému allantoinem. (viz tab. 27).

Tab. 27: Antimikrobiální účinek komerčních konopných přípravků u *Micrococcus luteus*

VZOREK	POLOMĚR INHIBIČNÍ ZÓNY [mm]
KOMERČNÍ KRÉM	1
KOMERČNÍ PEELING	8,5



Obr. 22: Inhibiční zóny kosmetických přípravků u *Micrococcus luteus*

#### 5.5.2.4 *Propionibacterium acnes*

Pro stanovení antimikrobiální aktivity přípravků u gram pozitivní bakterie *Propionibacterium acnes* nebyl použit jako u extraktů diluční jamkový test, z důvodu

vysoké hustoty kosmetických přípravků a nemožnosti odměřit přesné množství do mikrotitrační destičky. Zde byl použit podobně jako u ostatních stanovení kosmetických přípravků difúzní agarový test. Antimikrobiální aktivita byla zjišťována pro všechny typy kosmetických přípravků vytvořených z extraktů ze sušeného květu, směsi a u pentylenglykolových extraktů z obou odrůd konopí. I při tomto stanovení byl použit jako blank kosmetický přípravek bez obsahu účinných látek a v případě krému s oxidem zinečnatým krém bez něho a s ním.

I zde byl patrný rozdíl mezi antimikrobiální aktivitou extraktů, kdy při diluční jamkové metodě byl nárůst bakterií poměrně malý. V tab. 28 jsou výsledky z měření pomocí difúzní agarové metody. Peeling má v porovnání všech mikroorganismů nejlepší účinek právě na *Propionibacterium acnes*. I zde je ale největší inhibiční zóna pouze 2 mm a to u sušené směsi Ferimonu. Peeling vykazoval nízkou aktivitou u všech extraktů. Dále byly pozorovány (kromě sušené směsi u Ferimonu) inhibiční zóny i u krému s obsahem oxidu zinečnatého. I zde byl účinek velmi malý. Cukrový peeling a krém nevykazovaly žádnou antimikrobiální aktivitu.

Tab. 28: Antimikrobiální účinek konopných přípravků u *Propionibacterium acnes*

VZOREK	KRÉM	KRÉM S ZnO	PEELING	CUKROVÝ PEELING
	VELIKOST INHIBIČNÍ ZÓNY [mm]			
Ferimon sušená směs	-	-	2	-
Ferimon sušený květ	-	0,5	1,5	-
Carmagnola sušená směs	-	0,5	0,5	-
Carmagnola sušený květ	-	1	0,5	-
Ferimon sušená směs (PG)	-	0,1	1	-
Carmagnola sušená směs (PG)	-	0,2	1	-

U komerčních vzorků byly inhibiční zóny opět větší. U komerčního peelingu až 8,5 mm. Krém vykazoval nižší aktivitu, inhibiční zóna byla 1 mm. I zde však antimikrobiální efekt nebyl způsoben extraktem konopí, ale fenoxyletanolem a allantoinem (tab. 29).

Tab. 29: Antimikrobiální účinek komerčních konopných přípravků u *Propionibacterium acnes*

VZOREK	POLOMĚR INHIBIČNÍ ZÓNY [mm]
KOMERČNÍ KRÉM	1,5
KOMERČNÍ PEELING	8,5

## 5.6 Stanovení nutričních hodnot v semíncích konopí

### 5.6.1 Obsah tuků v semíncích

Dle postupu uvedeného v kapitole 4.13 byl zjištěn procentuální obsah oleje v konopném semínku.

Z tab. 30 vyplývá, že největší obsah oleje měla semínka zakoupená v obchodě a to 51,44 %. Nutriční hodnoty na obalu uvádějí obsah tuku 51 g na 100 g výrobku, což odpovídá naměřeným 51,44 %. Tato semínka byla na rozdíl od semínek z ostatních dvou odrůd loupaná. Část váhy semínek z odrůd Carmagnoly a Ferimonu tvořil obal semínka, je tedy logické, že obsah oleje zde bude nižší. Obě odrůdy jsou pěstovány převážně pro kvalitní vlákno, proto je možné, že i to způsobuje nižší obsah oleje.

Tab. 30: Obsah oleje v semíncích konopí

VZORKY	OBSAH OLEJE [%]
KOMERČNÍ	51,44
FERIMON	25,12
CARMAGNOLA	20,54

Při porovnání semínek Carmagnoly a Ferimonu (obr. 23) je na první pohled zřejmé, že semínko první zmiňované odrůdy je větší než semínko Ferimonu. Semínko Carmagnoly je ale o poznání lehčí než semínko Ferimonu. To může mít za následek právě větší obsah oleje v semínku Ferimonu.



Obr. 23: Porovnání semínek Carmagnoly a Ferimonu

## 5.6.2 Tuková čísla

### 5.6.2.1 Číslo kyselosti

Podle postupu v kapitole 4.14.1 bylo stanoveno číslo kyselosti u oleje z komerčně zakoupených semínek, u oleje ze semínek Ferimonu a Carmagnoly.

Číslo kyselosti udává množství hydroxidu draselného v mg, které je potřebné na neutralizaci volných mastných kyselin obsažených v 1 g tuku. Vyjadřuje tedy obsah volných mastných kyselin v tucích. Je ukazatelem stárnutí tuku. Při stárnutí tuků se hodnota čísla kyselosti mění, zvyšuje se, protože dochází k uvolňování mastných kyselin z triacylglycerolů. Dále se zvyšuje například při špatném skladování.

Tab. 31: Čísla kyselosti pro konopné oleje

VZORKY	NAVÁŽKA [g]	OBJEM [ml]	ČÍSLO KYSELOSTI [mg g <sup>-1</sup> ]
KOMERČNÍ	1,00	0,65	3,09± 0,01
FERIMON	1,03	0,60	2,72± 0,01
CARMAGNOLA	0,24	0,2	2,34± 0,01

Z výsledků uvedených v tab. 31 můžeme soudit, že podíl volných mastných kyselin je největší u v obchodě zakoupených semínek (3,09 mg KOH·g<sup>-1</sup>) a nejmenší u semínek z odrůdy Carmagnola (2,34 mg KOH·g<sup>-1</sup>). Podle vyhlášky Ministerstva zemědělství nesmí číslo kyselosti pro oleje překročit 4 mg KOH·g<sup>-1</sup> [63]. Všechny stanovované oleje tuto podmínku splňují, jsou tedy vhodné pro potravinářské využití.

### 5.6.2.2 Jodové číslo

Dle návodu uvedeného v kapitole 4.14.2 bylo stanoveno jodové číslo u oleje z komerčně zakoupených semínek, u oleje ze semínek Ferimonu a Carmagnoly.

Jodové číslo je ukazatelem nenasycenosti tuku, tedy obsahu dvojných vazeb. Udává se jako množství halogenu vyjádřené jako hmotnost jodu v g, které se může kovat na 100 g tuku. Jodové číslo je i ukazatelem žluknutí tuků, přičemž čím je hodnota nižší, tím je tuk čerstvější.

Tab. 32: Jodové čísla konopných olejů

VZORKY	NAVÁŽKA [g]	OBJEM <sub>1</sub> [ml]	OBJEM <sub>2</sub> [ml]	JODOVÉ ČÍSLO [I <sub>2</sub> g100g <sup>-1</sup> ]
KOMERČNÍ	0,26	2	0,2	117,76 ± 0,05
FERIMON	0,25	1,8	0,25	119,29± 0,05
CARMAGNOLA	0,24	2,5	0,35	114,87± 0,03

Jodové číslo pro konopí se pohybuje v rozmezí 154–165 g I<sub>2</sub> na 100 g tuku [64]. Nejmenší jodové číslo měl olej získaný ze semínek odrůdy Carmagnola 119,29± 0,03, největší naopak olej získaný ze semínek Ferimonu 114,87± 0,05. Všechny hodnoty se ale pohybují daleko od údajů udávaných literaturou (tab. 32).



### 5.6.3 Obsah mastných kyselin

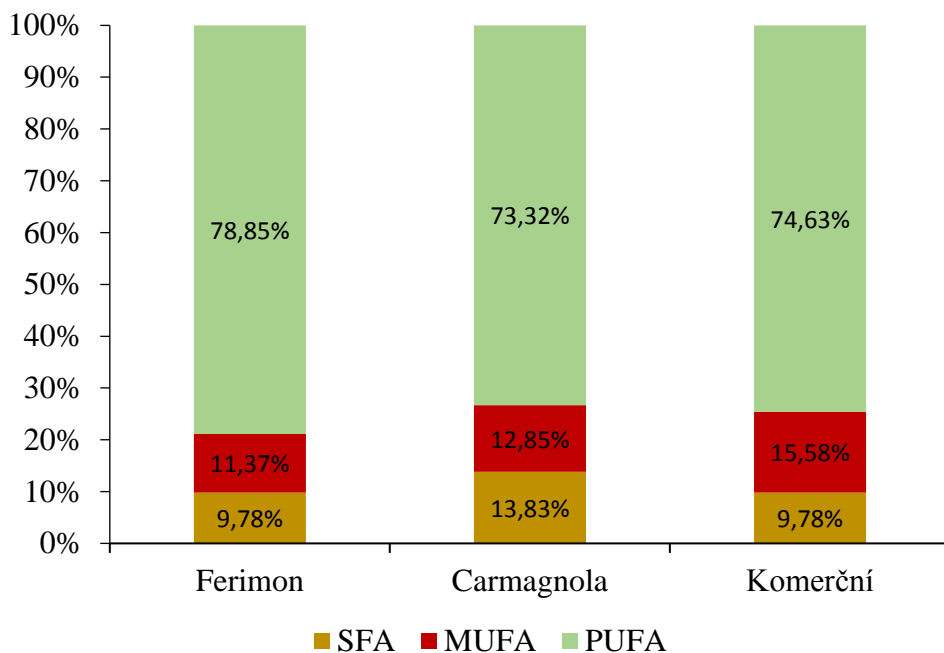
Podle postupu uvedeného v kapitole 4.15 byly připraveny roztoky na plynovou chromatografii a pomocí GC-FID byly změřeny. Analyzovány byly všechny tři oleje (z Carmagnoly, Ferminou a z komerčních semínek). Výpočet byl proveden pomocí standardů mastných kyselin pro GC analýzu. Zahrnují retenční časy, koncentrace a plochy píků methylesterů mastných kyselin za optimálních podmínek.

V tab. 33 jsou znázorněné mastné kyseliny, které se vyskytují v olejích z rostliny konopí. Jsou obsaženy v rozdílném množství. V následujícím textu bude pro přehlednost a zjednodušení uváděno pouze jejich označení (např. C16:0).

Tab. 33: Mastné kyseliny zastoupené v olejích z konopných semen

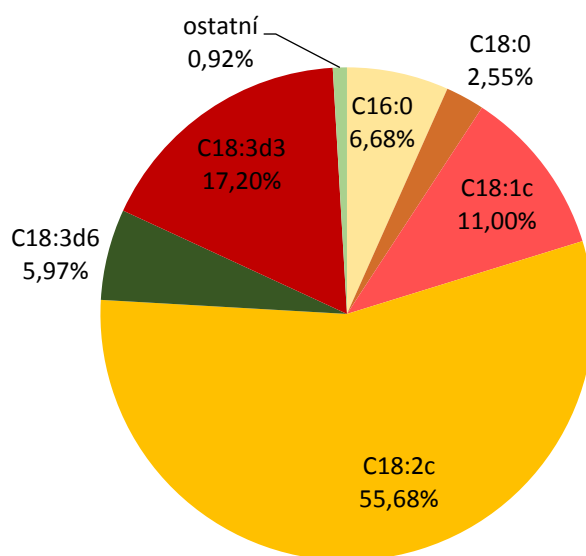
OZNAČENÍ	NÁZEV MASTNÉ KYSELINY
C16:0	Kyselina palmitová
C18:0	Kyselina stearová
C18:1c	Kyselina olejová
C18:2c	Kyselina linolová
C18:3d6	Kyselina $\gamma$ -linolenová
C18:3d3	Kyselina $\alpha$ -linolenová
C20:0	Kyselina arachidová
C20:1	Kyselina cis-11-eikosenová
C22:0	Kyselina behenová
C24:0	Kyselina lignocerová

Konopné semínko obsahuje velmi vysoké procento polynenasycených mastných kyselin (PUFA). V případě vzorků se obsah PUFA pochoval mezi 70 a 80 % z celkových mastných kyselin (obr. 24). Nejvíce PUFA obsahovalo semínko z odrůdy Ferimon a to 78,85 %. Nejméně těchto mastných kyselin obsahovalo semínko odrůdy Carmagnola (73,32 %). Obsah PUFA v jednotlivých odrůdách odpovídá množství uváděné v odborné literatuře (viz. 2.1.4). Obsah mononenasycených mastných kyselin (MUFA) se u vzorků pohyboval v rozmezí 11–16 %. Nejvíce jich obsahovalo semínko zakoupené v obchodě (15,58 %), nejméně semínko odrůdy Ferimon (11,37 %). Největší množství nasycených mastných kyselin (SFA) bylo zjištěno u odrůdy Carmagnola 13,83 %. Ostatní dva oleje obsahovaly shodně po 9,78 % SFA. Co se týká celkového obsahu, tak nejlepší se jeví semínko odrůdy Ferimon, protože obsahuje největší množství PUFA, které jsou esenciální pro život. Mezi PUFA patří například  $\omega$ -3 a 6 mastné kyseliny.



Obr. 24: Složení mastných kyselin v olejích z konopí podle nasycenosti

### 5.6.3.1 Olej ze semínek Ferimonu

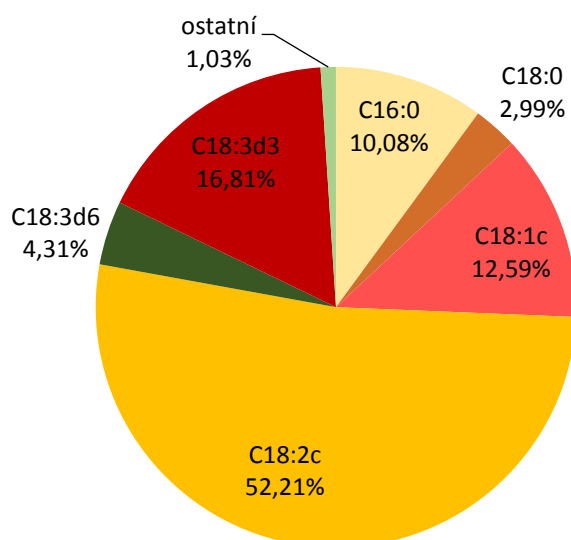


Obr. 25: Procentuální zastoupení mastných kyselin ve vzorku oleje z odrůdy Ferimon

Analýzou pomocí metody GC-FID byl zjištěn i celkový profil mastných kyselin v olejích. Na obr. 25 je znázorněno procentuální zastoupení mastných kyselin u odrůdy Ferimon. V grafu jsou znázorněny všechny mastné kyseliny, jejichž obsah v oleji byl větší než 1 %. Nejvíce zastoupenou mastnou kyselinou je C18:2c s 55,68 %, následována C18:3d3 s 17,20 % a třetí C18:1c s 11,00 %. V odborné literatuře se u odrůdy Ferimon obsah C18:2c uvádí okolo 60 %, obsah C18:3d3 okolo 16 %, obsah C18:1c okolo 11 %, obsah C16:0 okolo 6,5 % a obsah C18:3d6 okolo 4 % [14]. V porovnání s výsledky vzešlymi z analýzy je patrné, že obsah C18:1c je o 5 % menší

u zkoumaných semínek, obsah C18:3d3 naopak o procento vyšší, to stejné platí po obsah C18:3d6, který je vyšší o 2 % a obsah C18:1c a C16:0 odpovídá výsledkům z odborných zdrojů. Tyto malé rozdíly jsou způsobeny nejspíš tím, že žádná rostlina, a tedy ani semínko nejsou stejné, a proto se obsah může pokaždé mírně lišit. Mimo další mastné kyseliny uvedené v obr. 25 se v oleji vyskytovaly ještě C20:0, C20:1, C22:0 a C24:0. Tyto kyseliny ale byly obsaženy v množství menší než 1 % a jsou v obrázku zahrnuty pod pojem ostatní (0,92 %).

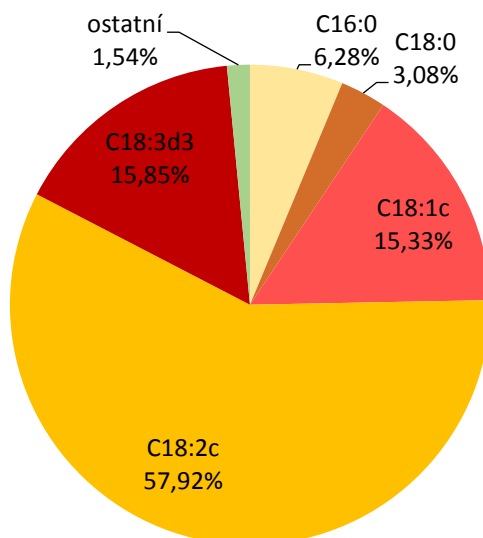
### 5.6.3.2 Olej ze semínek Carmagnoly



Obr. 26: Procentuální zastoupení mastných kyselin ve vzorku oleje z odrůdy Carmagnola

Stejně jako u oleje ze semínek Ferimonu byl zjištěn analýzou pomocí metody GC-FID i celkový profil mastných kyselin v oleji ze semínek Carmagnoly. Na obr. 26 je znázorněno procentuální zastoupení mastných kyselin u odrůdy Carmagnola. V grafu jsou zobrazeny všechny mastné kyseliny, u kterých byl obsah v oleji větší než 1 %. Nejvíce zastoupenou mastnou kyselinou je C18:2c s 52,21 %, následována C18:3d3 s 16,81 % a třetí C18:1c s 12,59 %. V odborné literatuře se u odrůdy Carmagnola uvádí obsah C18:2c okolo 56 %, obsah C18:3d3 okolo 18 %, obsah C18:1c okolo 13 %, obsah C16:0 okolo 7 % a obsah C18:3d6 okolo 1 % [14]. Rozdíl mezi naměřenými hodnotami a těmi uváděných v literatuře je v případě C18:2c asi 3 %, u C18:3d3 1 %, pro C18:1c je tento rozdíl asi 0,5 % a u analyzovaného vzorku je obsah C16:0 i C18:3d6 o 3 % větší, než je uváděno v literatuře. Tyto rozdíly jsou velmi malé a jsou nejspíš způsobeny rozdíly mezi jednotlivými semínky rostliny stejně jako v případě Ferimonu. Mimo mastné kyseliny uvedené v obr. 26 se v oleji vyskytovaly ještě C20:0, C20:1, C22:0 a C24:0. Tyto kyseliny ale byly v oleji obsaženy v množství menší než 1 % a jsou v obrázku značeny pojmem ostatní (1,03 %).

### 5.6.3.3 Olej z komerčních semínek



Obr. 27: Procentuální zastoupení mastných kyselin ve vzorku oleje z komerčních semínek

Olej ze semínek zakoupených v obchodě byl také analyzován pomocí metody GC-FID. Byl zjištěn celkový profil mastných kyselin v tomto oleji. Na obr. 27 je znázorněno procentuální zastoupení mastných kyselin. V grafu jsou znázorněny všechny mastné kyseliny, které mají ve vzorku obsah větší než 1 %. Stejně jako v předchozích dvou případech je nejvíce zastoupenou mastnou kyselinou C18:2c s 57,92 %, za ní následuje C18:3d3 s 15,85 % a třetí C18:1c s 15,33 %. Je patrné, že na rozdíl od olejů ze semínek odrůd Carmagnola a Ferimon se zde vyskytuje C18:3d6 v množství menší než 1 %. Obsah C16:0 je zde 6,28 %, tedy nejméně ze všech vzorků. Mimo mastné kyseliny, které jsou uvedené v obr. 27, se v oleji vyskytovaly ještě C18:3d6, C20:0, C20:1, C22:0 a C24:0. Tyto kyseliny se v oleji vyskytovaly v množství, které nebylo větší než 1 % a jsou v obrázku značeny pojmem ostatní (1,54 %).

Na obalu semínek v nutričních hodnotách se uvádí pouze obsah nasycených mastných kyselin (SFA) a to 5 g na 100 g semínek. Naměřený obsah SFA byl 9,78 %, což by odpovídalo 9,78 g na 100 g výrobku.

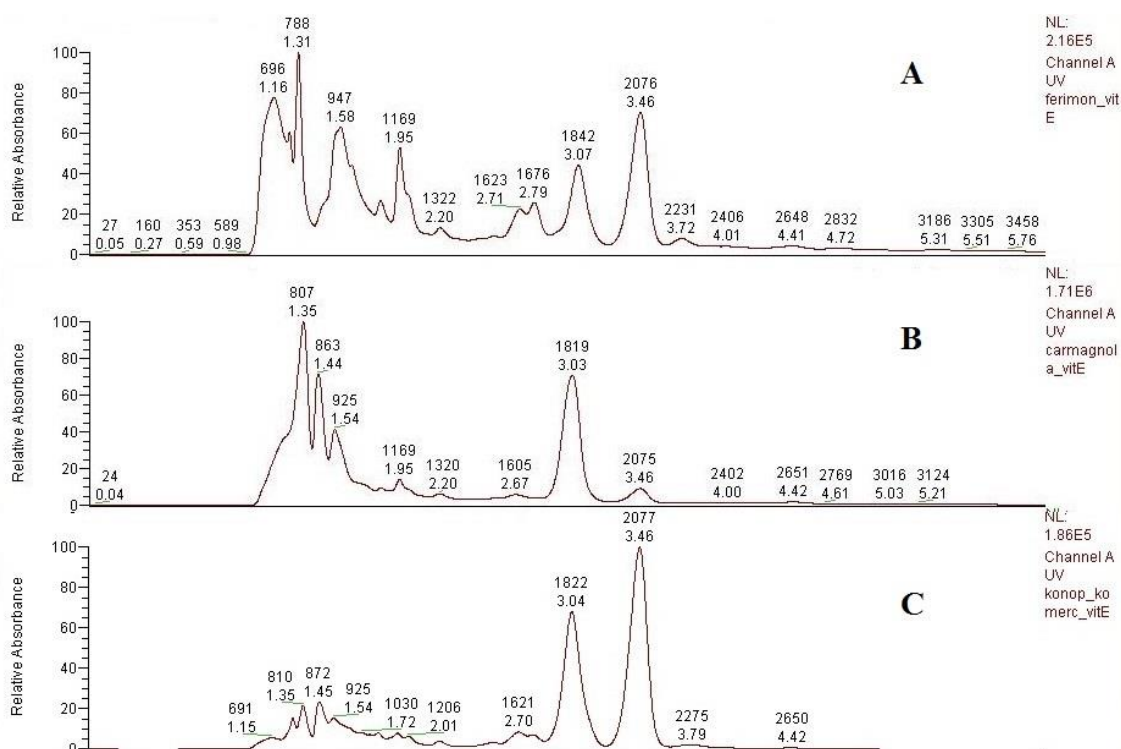
### 5.6.4 Vitamín E

Podle postupu z kapitoly 4.16 bylo stanoveno množství vitamínu E obsaženého v konopných semínkách obou zkoumaných odrůd a semínka zakoupeného v obchodě. Nejdříve byla sestavena kalibrační křivka. Rovnice kalibrační křivky byla  $y = 4222x$ . Výsledné množství bylo přepočítáno na 1 g vzorku. Výsledky jsou uvedeny v tab. 34. Retenční čas vitamínu E byl 3,46 minut u všech vzorků.

Tab. 34: Obsah vitamínu E v semínkách konopí

VZOREK	KONCENTRACE	
	[ $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ]	[ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]
CARMAGNOLA	39,09	396,05
FERIMON	48,52	456,14
KOMERČNÍ	57,58	542,54

Největší obsah vitamínu E byl stanoven u vzorku semínek zakoupených v obchodě  $542,54 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , nejmenší poté u semínek odrůdy Carmagnola  $396,05 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . Ke ztrátám vitamínu E dochází i při skladování. Obsah vitamínu E v konopí dle odborné literatury se pohybuje okolo  $0,9 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  vzorku [24]. Obsah vitamínu E ve zkoumaných semínkách je asi dvakrát nižší než hodnota udávána v literatuře. Jak bylo zmíněno výše, ke ztrátám vitamínu E dochází při skladování, kdy je nutné zabránit přístupu světla a vzduchu k oleji. Na obr. 28 jsou zobrazeny chromatogramy ze stanovení vitamínu E. Obr. 28A zobrazuje stanovení obsah vitamínu E u oleje ze semínek Ferimonu, obr. 28B je chromatogram pro stanovení u Carmagnoly a obr. 28C je pro komerční semínko.



Obr. 28: Stanovení vitamínu E pomocí HPLC

## 6 ZÁVĚR

Tato diplomová práce se zabývá využitím technického konopí v kosmetice a potravinářství. Literární rešerše je zaměřená na charakterizaci konopí, aktivních látek v něm, na jeho využití v kosmetice a potravinářství, na problematiku akné a jeho příčiny a léčbu. Dále jsou v ní charakterizovány druhy kosmetických přípravků, jejich složky a možnosti jejich účinku na lidskou kůži. Kůže, její stavba a vlastnosti jsou rovněž součástí této práce. Pro experimentální část byly využity dvě odrůdy technického konopí – Carmagnola a Ferimon. Z nich byly vytvořeny extrakty. Experimentální část se zabývá stanovením a obsahem aktivních látek v konopí. Byl stanoven obsah celkových polyfenolů, flavonoidů a antioxidační aktivita a to spektrofotometricky. Obsah kanabinoidů byl stanoven pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC). Byly připraveny čtyři druhy kosmetických přípravků s obsahem vybraných konopných extraktů – pleťový krém, krém s obsahem oxidu zinečnatého, cukrový peeling a peeling s abrazivy z grepových zrníček. Byl testován antimikrobiální účinek extraktů a přípravků proti *Propionibacterium acnes*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli* a *Candida glabrata* pomocí difúzních a dilučních testů. Ze semínek z konopí byl extrahován olej, u kterého byla zjišťována tuková čísla, dále obsah mastných kyselin pomocí GC-FID a nakonec obsah vitamínu E pomocí HPLC.

Nejdříve byly připraveny extrakty ve 100 ml 60% ethanolu a ve 100 ml pentylenglykolu z obou odrůd konopí. Byly připraveny extrakty z čerstvé směsi rostliny konopí (list, květ, stonek), ze sušené směsi, z květu a listu.

Tyto extrakty byly analyzovány na obsah polyfenolů, flavonoidů a antioxidační aktivitu. Extrakty ze sušeného konopí obsahovali více polyfenolů i flavonoidů a vykazovaly vyšší antioxidační aktivitu než extrakt z čerstvého konopí. Je to způsobeno tím, že při procesu sušení dochází k dekarboxylaci a tím vzniku více aktivních látek, které se v čerstvém konopí nenacházejí. Při porovnání výsledků extraktů z květů, listů a směsi bylo zjištěno, že nejvíce aktivních látek obsahují extrakty z květu. V květu se tyto aktivní látky nacházejí ve větším množství než ve zbytku rostliny. Odrůda Carmagnola vykazovala větší množství polyfenolů a flavonoidů u všech extraktů než odrůda Ferimon. Také antioxidační aktivita byla u odrůdy Carmagnola vyšší krom dvou případů extraktů sušené směsi v ethanolu a pentylenglykolu. To mohlo být způsobeno složením extraktů, kdy sušená směs Ferimonu mohla obsahovat více květů než směs Carmagnoly.

Extrakty byly také analyzovány na obsah kanabinoidů. Z důvodu nedostatečné optimalizaci metody, kdy kanabinoidy CBD a CBG mají velmi podobná spektra a retenční časy, byly tyto dva kanabinoidy stanovovány společně. Dále byl stanoven obsah kanabinoidů CBC a CBN. V čerstvém konopí bylo identifikováno jen velmi malé množství CBD+CBG, protože v čerstvém konopí se nacházejí prekurzory těchto kanabinoidů. Kanabinoidy vznikají v rostlině sušením. Největší množství kanabinoidů CBD+CBG bylo identifikováno u odrůdy Carmagnola, naopak kanabinoid CBC se

vyskytoval ve větším množství u odrůdy Ferimon. CBN se vyskytoval pouze v malém množství u obou odrůd a to jen u extraktů z listu a květu. Tento kanabinoid vzniká degradací THC, kterého je v technickém konopí velmi malé množství, proto i CBN se v technickém konopí vyskytuje jen velmi málo. Největší obsah kanabinoidů byl identifikován v extraktu z květu rostliny. Kanabinoidy vznikají z velké části v květu konopí, odkud jsou dopravovány do ostatních částí rostliny, proto se největší množství v květu dá očekávat.

Dalším krokem byla tvorba kosmetických prostředků na péči o akné pleť. Pro tyto přípravky byly vybrány pouze tři druhy extraktů od každé odrůdy na základě předešlého testování aktivních látek. Byly to extrakty ze sušeného květu, směsi a pentylenglykolové extrakty konopí. Byly vyrobeny dva druhy krémů a dva druhy peelingů. Na porovnání byly zakoupeny konopné produkty (peeling a krém).

Extrakty a kosmetické přípravky byly otestovány na antimikrobiální aktivitu. Extrakty vykazovaly inhibiční efekt vůči grampozitivním i gramnegativním bakteriím. Tento inhibiční účinek byl velký, pohyboval se v rozmezí 6–15 mm, nejvíce byl účinný vůči *Escherichii coli*. U *Propionibacterium acnes* byl inhibiční účinek testován diluční jamkovou metodou a vyhodnocován pomocí nárůstu buněčné kultury, kdy jako 100 % byl brán nárůst čisté kultury bez extraktů. Extrakty vykazovaly velmi podobný inhibiční účinek, kdy se nárůst byl nejmenší u extraktu z květu Carmagnoly (25,99 %) a největší u čerstvé směsi odrůdy Ferimon (34,21 %). Proti kvasince *Candida glabrata* extrakty neprojevovaly žádný nebo jen minimální inhibiční efekt. Kosmetické prostředky na rozdíl od extraktů nevykazovaly téměř žádný inhibiční účinek. Nejlepší inhibiční účinek vykazoval peeling s obsahem konopné složky. Zde však měl nejspíš podíl na antimikrobiální aktivitě SLES. Naopak pleťový krém inhibiční efekt proti žádnému mikroorganismu neměl. Zakoupené kosmetické prostředky naopak projevovaly poměrně velkou inhibiční aktivitu. V případě peelingu tato aktivita byla způsobena fenoxylethanol, který má baktericidní účinky, a u krému nejspíš allantoinem. Tyto konzervační látky nebyly v našich testovaných krémech záměrně obsaženy z důvodu zjištění antimikrobiálního účinku konopných extraktů v kosmetických přípravcích.

Součástí práce byla analýza oleje získaného extrahováním z konopného semínka. Byly porovnávány tři druhy semínek – z odrůd Carmagnola a Ferimon a z v obchodě zakoupeného semínka. Byl stanoven obsah oleje v semínku u všech třech zkoumaných vzorků. Obsah oleje odpovídal obsahu udávanému v literatuře, nejvíce ho obsahovalo semínko zakoupené v obchodě, nejméně semínko z Carmagnoly. Pravděpodobně to bylo způsobeno tím, že semínka z obchodu byla dokonale oloupána a neobsahovala zbytky slupek nebo části rostlin, což semínka z obou odrůd obsahovala. Odrůdy Carmagnola a Ferimon jsou pěstovány pro svoji kvalitu vlákna a obsah aktivních látek (kanabinoidů), potravinářský účel je zde vedlejší [11], [15]. Je možné, že i to je důvod nižšího procentuálního obsahu oleje.

Byla stanovena tuková čísla – kyselosti a jodové číslo. Nejdůležitější ohledně potravinářství je číslo kyselosti, které je ukazatelem stárnutí tuků a obsahu volných mastných kyselin. Pro rostlinné oleje je maximální povolené číslo kyselosti  $4 \text{ mg KOH} \cdot \text{g}^{-1}$ . Všechny zkoumané oleje tuto podmínku splňují a mohly by být vhodné na využití do potravinářství. Jodové číslo je ukazatelem nenasyčenosti mastných kyselin. U konopí se toto číslo pohybuje v rozmezí 154–165. Jodové číslo bylo největší u oleje ze semínka Ferimonu, tedy tato odrůda má největší počet nenasyčených mastných kyselin. Avšak naměřené hodnoty neodpovídají hodnotám udávaným v odporné literatuře. Je tedy možné, že docházelo ke žluknutí tuku.

Další částí práce bylo stanovení obsahu mastných kyselin ve vzorcích oleje. Toho bylo dosaženo pomocí plynové chromatografie. Pomocí jodového čísla bylo zjištěno, že největší množství nenasyčených mastných kyselin obsahuje olej ze semínek Ferimon a pomocí plynové chromatografie byla tato domněnka potvrzena. Bylo zjištěno, že největší množství polynenasycených mastných kyselin obsahuje semínko odrůdy Ferimon (78,85 %), nejvíce mononenasycených mastných kyselin semínko z obchodu (15,58 %) a nejvíce nasycených semínko Carmagnoly (13,83 %). Všechny oleje obsahují velké množství esenciální C18:2c, ve vzorcích byla obsažena z více jak 50 %. Také obsahují velké množství C18:3d3 a C18:1c. V olejích ze semínek Carmagnoly a Ferimonu se vyskytuje ve větším množství i C18:3d6.

Nakonec byl stanoven obsah vitamínu E pomocí HPLC. Vitamín E je antioxidantem a byl detekován ve všech třech olejích. Největší množství tohoto vitamínu bylo zjištěno v semínku zakoupeném v obchodě, nejméně ho obsahoval olej ze semínek Carmagnoly.

Dle získaných výsledků lze konstatovat, že konopí je vhodné na využití do kosmetiky i do potravinářství. V kosmetickém průmyslu je výhodnější využívat sušenou formu rostliny, díky vyššímu obsahu aktivních látek a i lepším skladovacím možnostem. Je lepší využívat extrakty ze sušeného květu, který obsahuje nejvíce aktivních látek z celé rostliny. Ze získaných výsledků antimikrobiální aktivity lze usuzovat, že konopnou kosmetiku je dobré využívat jako doplněk léčby akné dlouhodobě a nepoužívat ji jako léčivo. Mimo testované přípravky je možné využívat konopnou kosmetiku v jiných formách, například ve formě konopných tyčinek proti akné, nebo na pleťová tonika se zvýšeným obsahem konopného extraktu. Zvýšení koncentrace konopných složek v krémových kosmetických výrobcích není z ekonomického hlediska žádoucí. V potravinářství si konopí postupně získává místo a je velmi dobrým zdrojem esenciálních mastných kyselin a vitamínu E. Konopné semínko by mělo být součástí stravy díky jeho vysokému obsahu PUFA a poměru  $\omega$ -3 a  $\omega$ -6 mastných kyselin (1:3), který je optimální pro lidské zdraví.

Další práce by se mohla zabývat využitím kombinace konopného oleje a extraktů v kosmetice, zlepšením složení kosmetických přípravků nebo jejich využití na jiné účely. Také by mohla více prozkoumat složení konopného semínka z hlediska obsahu proteinů, sacharidů, vlákniny, minerálů a dalších látek.



## 7 LITERATURA

- [1] DUPAL, Libor. *Kniha o marihuaně: Kompilace*. Praha: Maťa, 1994. ISBN 80-901-5905-2.
- [2] NEWTON, David E. *Marijuana: a reference handbook*. Santa Barbara, Calif.: ABC-CLIO, c2013. Contemporaryworldissues. ISBN 9781610691499.
- [3] BLESCHING, Uwe. *Velká kniha o léčbě konopím pro 21. století: Léčebný index konopí (CHI)*. Praha: VolvoxGlobator, 2018. ISBN 978-80-7511-416-7.
- [4] *Konopí - biomasa pro život*. Chvaleč: Konopa, 2007. ISBN 978-80-254-1149-0.
- [5] ČESKÁ REPUBLIKA. *Sbírka zákonů*. In: . Praha: Ministerstvo vnitra, 2009, ročník 2009, číslo 40.
- [6] ČESKÁ REPUBLIKA. *Vyhláška o stanovení podmínek pro předepisování, přípravu, distribuci, výdej a používání individuálně připravovaných léčebných přípravků s obsahem konopí pro léčebné použití*. In: . Praha: Ministerstvo zdravotnictví a Ministerstvo zemědělství, 2015, ročník 2015, číslo 236.
- [7] SKOUMALOVÁ-HADAČOVÁ, Anna a Lubomír HROUDA. *Rostliny naší přírody: štětcem Anny Skoumalové, perem Lubomíra Hroudy*. Praha: Academia, 2018. ISBN 978-80-200-2867-9.
- [8] *Cannabissativa l. - botany and biotechnology*. New York, NY: SpringerBerlin Heidelberg, 2017. ISBN 978-331-9545-639.
- [9] *Jak rozpoznat samce konopí od samice* [online]. [cit. 2019-02-09]. Dostupné z: <http://cannabis-grower.blogspot.com/2012/07/jak-rozpoznat-samce-konopi-od-samice.html>
- [10] GANDOLFI, Stefano, Gianluca OTTOLINA, Sergio RIVA, Giuseppe Pedrocchi FANTONI a Ilababen PATEL. CompleteChemicalAnalysisofCarmagnolaHempHurds and StructuralFeaturesofItsComponents. *BioResources*. 2013, **8**(2), 2641-2656. DOI: 10.15376/biores.8.2.2641-2656. ISSN 1930-2126.
- [11] LESMA, G., R. CONSONNI, V. GAMBARO, C. REMUZZI, G. RODA, A. SILVANI, V. VECE a G.L. VISCONTI. Cannabinoid-free Cannabissativa L. grown in the Po valley: evaluationoffatty acid profile, antioxidant capacity and metaboliccontent. *Natural ProductResearch*. 2014, **28**(21), 1801-1807. DOI: 10.1080/14786419.2014.926354. ISSN 1478-6419.
- [12] PACIFICO, D., F. MISELLI, A. CARBONI, A. MOSCHELLA a G. MANDOLINO. Timecourseofcannabinoidaccumulation and chemotypeddevelopmentduringthegrowthofCannabissativa L. *Euphytica*. 2008, **160**(2), 231-240. DOI: 10.1007/s10681-007-9543-y. ISSN 0014-2336.
- [13] Carmagnola. *Canapuglia* [online]. Puglia, 2018 [cit. 2019-02-09]. Dostupné z: <https://www.canapuglia.it/it/carmagnola.html>
- [14] GALASSO, Incoronata, Roberto RUSSO, Sergio MAPELLI, Elena PONZONI, Ida M. BRAMBILLA, Giovanna BATTELLI a Remo REGGIANI. Variability in SeedTraits in a CollectionofCannabissativa L.

- Genotypes. *Frontiers in Plant Science*. 2016, **7**. DOI: 10.3389/fpls.2016.00688. ISSN 1664-462X.
- [15] BJELKOVÁ, Marie. Vybrané vlastnosti odrůd konopí setého. TRAWA [online]. Mníšek pod Brdy: TRAWA z.s, 2014 [cit. 2019-02-09]. Dostupné z: [http://trawa.cz/wpcontent/uploads/2015/04/23-konopi\\_sete.pdf](http://trawa.cz/wpcontent/uploads/2015/04/23-konopi_sete.pdf)
- [16] SMITH, Paul F., Yiwen ZHENG, Sergio MAPELLI, Elena PONZONI, Ida M. BRAMBILLA, Giovanna BATTELLI a Remo REGGIANI. Cannabinoids, cannabinoidreceptors and tinnitus. *HearingResearch*. 2016, **332**(3), 210-216. DOI: 10.1016/j.heares.2015.09.014. ISSN 03785955.
- [17] FLORES-SANCHEZ, Isvett Josefina, Robert VERPOORTE, Sergio MAPELLI, Elena PONZONI, Ida M. BRAMBILLA, Giovanna BATTELLI a Remo REGGIANI. Secondarymetabolism in cannabis. *PhytochemistryReviews*. 2008, **7**(3), 615-639. DOI: 10.1007/s11101-008-9094-4. ISSN 1568-7767.
- [18] MAURYA, Nancy, BharathKumar VELMURUGAN, Sergio MAPELLI, Elena PONZONI, Ida M. BRAMBILLA, Giovanna BATTELLI a Remo REGGIANI. Therapeuticapplicationsofcannabinoids. *Chemico-BiologicalInteractions*. 2018, **293**(3), 77-88. DOI: 10.1016/j.cbi.2018.07.018. ISSN 00092797.
- [19] PREEDY, Victor R. *Handbook ofcannabis and relatedpathologies: biology, pharmacology, diagnosis, and treatment*. London: Elsevier/AcademicPress, [2017]. ISBN 978-0-12-800756-3.
- [20] RUSSO, Ethan B. Taming THC: potentialcannabissynergy and phytocannabinoidterpenoidentourageeffects. *BritishJournalofPharmacology*. 2011, **163**(7), 1344-1364. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2011.01238.x. ISSN 00071188.
- [21] *Kanabinoid CBG a CBGA* [online]. [cit. 2019-02-09]. Dostupné z: <https://kanabinoidy.cz/kanabinoid-cbg-a-cbga/>
- [22] ANDRE, Christelle M., Jean-Francois HAUSMAN a Gea GUERRIERO. Cannabissativa: The Plant oftheThousand and OneMolecules. *Frontiers in Plant Science*. 2016, **7**(19). DOI: 10.3389/fpls.2016.00019. ISSN 1664-462x.
- [23] *Wikipedia* [online]. 2002 [cit. 2019-02-10]. Dostupné z: <https://www.wikipedia.org/>
- [24] FRASSINETTI, Stefania, Eleonora MOCCIA, Leonardo CALTAVUTURO, Morena GABRIELE, Vincenzo LONGO, Lorenza BELLANI, Gianluca GIORGI a Lucia GIORGETTI. Nutraceuticalpotentialofhemp (Cannabissativa L.) seeds and sprouts. *Food Chemistry*. 2018, **262**, 56-66. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.04.078. ISSN 03088146
- [25] KOLODZIEJCZYK, P., L. OZIMEK, J. KOZŁOWSKA, Morena GABRIELE, Vincenzo LONGO, Lorenza BELLANI, Gianluca GIORGI a Lucia GIORGETTI. Theapplicationofflax and hempseeds in food, animal feed and cosmeticsproduction. *Handbook of Natural Fibres*. Elsevier, 2012, 2012, **26**(1), 329-366. DOI: 10.1533/9780857095510.2.329. ISBN 9781845696986. ISSN 1058-7195.
- [26] MCLAFFERTY, Ella, Charles HENDRY a Alistair FARLEY. Theintegumentarysystem: anatomy, physiology and functionof skin. *Nursing*

- Standard*. 2012, **27**(3), 35-42. DOI: 10.7748/ns2012.09.27.3.35.c9299. ISSN 0029-6570.
- [27] ROOK, Arthur a Tony BURNS. *Rook's textbook of dermatology*. 7th ed. Malden, Mass.: Blackwell Science, 2004. ISBN 978-0-632-06429-8.
- [28] CAUNA, N. THE FINE STRUCTURE OF MEISSNER'S TOUCH CORPUSCLES OF HUMAN FINGERS. *The Journal of Cell Biology*. 1960, **8**(2), 467-482. DOI: 10.1083/jcb.8.2.467. ISSN 0021-9525
- [29] Human skin. *Wikipedia* [online]. [cit. 2019-02-12]. Dostupné z: [https://en.wikipedia.org/wiki/Human\\_skin](https://en.wikipedia.org/wiki/Human_skin)
- [30] FIDEL, Paul L., Jose A. VAZQUEZ a Jack D. SOBEL. Candidaglabrata: Review of Epidemiology, Pathogenesis, and Clinical Disease with Comparison to *C. albicans*. *Clinical Microbiology Reviews*. 1999, **12**(1), 80-96. DOI: 10.1128/CMR.12.1.80. ISSN 0893-8512.
- [31] CROXEN, M. A., R. J. LAW, R. SCHOLZ, K. M. KEENEY, M. WLODARSKA a B. B. FINLAY. Recent Advances in Understanding Enteric Pathogenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*. 2013, **26**(4), 822-880. DOI: 10.1128/CMR.00022-13. ISSN 0893-8512.
- [32] PONTRELLI, Sammy, Tsan-Yu CHIU, Ethan I. LAN, Frederic Y.-H. CHEN, Peiching CHANG a James C. LIAO. *Escherichia coli* as a host for metabolic engineering. *Metabolic Engineering*. 2018, **50**, 16-46. DOI: 10.1016/j.ymben.2018.04.008. ISSN 10967176.
- [33] BASCH, Corey H., Miryam Z. WAHRMAN, Sarah A. MACLEAN, Philip GARCIA, Peiching CHANG a James C. LIAO. *Escherichia coli* on the internet: The power of YouTube to educate and influence consumer behavior regarding pathogenic bacteria. *Metabolic Engineering*. 2019, **50**, 16-46. DOI: 10.1016/j.idh.2019.01.001. ISSN 24680451.
- [34] UMADEVI, Kaliappan, Marimuthu KRISHNAVENI, J. LANGO, B.D. HAMMOCK a G. SUN. Antibacterial activity of pigment produced from *Micrococcus luteus* KF532949: Characterization of Prodiginines and Their Applications on Textile Materials. *International Journal of Chemical and Analytical Science*. 2013, **4**(3), 149-152. DOI: 10.1016/j.ijcas.2013.08.008. ISSN 09761209.
- [35] SEIFERT, Harald, Matthias KALTHEUNER a Françoise PERDREAU-REMYNGTON. *Micrococcus luteus* endocarditis: Case report and review of the literature. *Zentralblatt für Bakteriologie*. 1995, **282**(4), 431-435. DOI: 10.1016/S0934-8840(11)80715-2. ISSN 09348840
- [36] DESSINIOTI, Clio, Andreas KATSAMBAS, A. KHAMMARI, B. DRÉNO a G. SUN. Propionibacterium acnes and antimicrobial resistance in acne: Characterization of Prodiginines and Their Applications on Textile Materials. *Clinics in Dermatology*. 2017, **35**(2), 163-167. DOI: 10.1016/j.clindermatol.2016.10.008. ISSN 0738081X.
- [37] CORVEC, S., M.-A. DAGNELIE, A. KHAMMARI, B. DRÉNO a G. SUN. Taxonomy and phylogeny of *Cutibacterium* (formerly *Propionibacterium*) acnes

- in inflammatory skin diseases: Characterization of Prodiginines and Their Applications on Textile Materials. *Annales de Dermatologie et de Vénéréologie*. 2019, **146**(1), 26-30. DOI: 10.1016/j.annder.2018.11.002. ISSN 01519638
- [38] TYNER, Harmony, Robin PATEL, A. KHAMMARI, B. DRÉNO a G. SUN. Propionibacterium acnes biofilm – A sanctuary for Staphylococcus aureus?: Characterization of Prodiginines and Their Applications on Textile Materials. *Anaerobe*. 2016, **40**(2), 63-67. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2016.05.014. ISSN 10759964.
- [39] *SCIENCE PHOTO LIBRARY* [online]. [cit. 2019-02-22]. Dostupné z: <https://www.sciencephoto.com/media/710085/view/propionibacterium-acnes-bacteria-sem>
- [40] DESSINIOTI, Clio a Andreas D. KATSAMBAS. The role of Propionibacterium acnes in acne pathogenesis: facts and controversies. *Clinics in Dermatology*. 2010, **28**(1), 2-7. DOI: 10.1016/j.clindermatol.2009.03.012. ISSN 0738081X.
- [41] MELNIK, Bodo C. a Andreas D. KATSAMBAS. Acne vulgaris: The metabolic syndrome of the pilosebaceous follicle. *Clinics in Dermatology*. 2018, **36**(1), 29-40. DOI: 10.1016/j.clindermatol.2017.09.006. ISSN 0738081X.
- [42] PERRY, Alexandra a Peter LAMBERT. Propionibacterium acnes: infection beyond the skin. *Expert Review of Anti-infective Therapy*. 2014, **9**(12), 1149-1156. DOI: 10.1586/eri.11.137. ISSN 1478-7210.
- [43] BANZON, J.M., S.J. REHM, S.M. GORDON, S.T. HUSSAIN, G.B. PETERSSON a N.K. SHRESTHA. Propionibacterium acnes endocarditis: a case series. *Clinical Microbiology and Infection*. 2017, **23**(6), 396-399. DOI: 10.1016/j.cmi.2016.12.026. ISSN 1198743X
- [44] KNOBLER, Stacey. *The infectious etiology of chronic diseases: defining the relationship, enhancing the research, and mitigating the effects : workshop summary*. Washington, D.C.: National Academies Press, c2004. ISBN 978-0309089944.
- [45] HAN, Rui, Hans-Matti BLENCKE, Hao CHENG a Chun LI. The antimicrobial effect of CEN1HC-Br against Propionibacterium acnes and its therapeutic and anti-inflammatory effects on acne vulgaris. *Peptides*. 2018, **99**, 36-43. DOI: 10.1016/j.peptides.2017.11.001. ISSN 01969781.
- [46] HAN, Rui, Hans-Matti BLENCKE, Hao CHENG a Chun LI. The antimicrobial effect of CEN1HC-Br against Propionibacterium acnes and its therapeutic and anti-inflammatory effects on acne vulgaris. *Peptides*. 2018, **99**, 36-43. DOI: 10.1016/j.ijwd.2016.11.002. ISSN 01969781.
- [47] MAHTO, Anjali, Hans-Matti BLENCKE, Hao CHENG a Chun LI. Acne vulgaris. *Medicine*. 2017, **45**(6), 386-389. DOI: 10.1016/j.mpmed.2017.03.003. ISSN 13573039
- [48] *AKNĚ - PRÍZNAKY, PRÍČINY, PRÍRODNÁ LIEČBA. AKO SA ZBAVIŤ AKNĚ?* [online]. 2016 [cit. 2019-03-08]. Dostupné z:

[https://kingray.sk/blog/23\\_akne-priznaky-priciny-prirodna-liecba-ako-sa-zbavit-akne.html](https://kingray.sk/blog/23_akne-priznaky-priciny-prirodna-liecba-ako-sa-zbavit-akne.html)

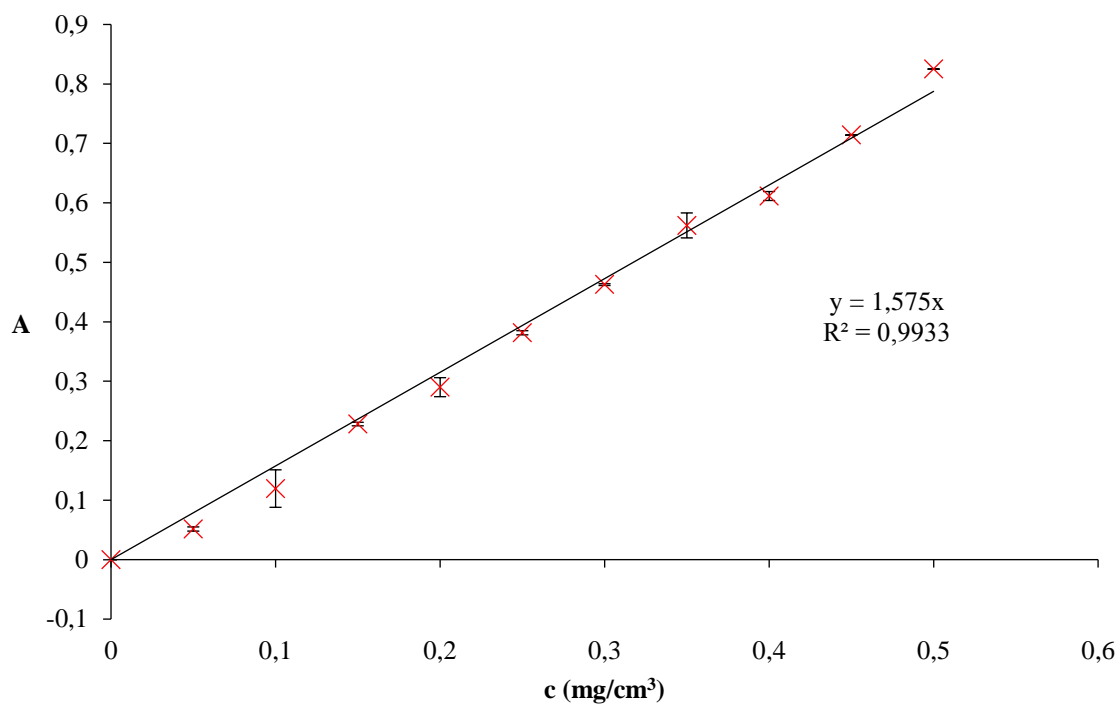
- [49] NEVORALOVÁ, Zuzana. Nové přístupy v léčbě akné. *Pediatr v praxi*. 2013, **14**(6), 352-356.
- [50] VORA, Jaykant, Anshu SRIVASTAVA a Hashmukh MODI. Antibacterial and antioxidant strategies for acne treatment through plant extracts. *Informatcs in Medicine Unlocked*. 2018, **13**(6), 128-132. DOI: 10.1016/j.imu.2017.10.005. ISSN 23529148.
- [51] NASRI, Hamid, Mahmoud BAHMANI, Najmeh SHAHINFARD, Atefeh MORADI NAFCHI, Shirin SABERIANPOUR a Mahmoud RAFIEIAN KOPAEI. Medicinal Plants for the Treatment of Acne Vulgaris: A Review of Recent Evidences. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2015, **8**(11), 128-132. DOI: 10.5812/jjm.25580. ISSN 2008-3645.
- [52] RÍO, Carmen del, Estrella MILLÁN, Víctor GARCÍA, Giovanni APPENDINO, Jim DEMESA a Eduardo MUÑOZ. The endocannabinoid system of the skin. A potential approach for the treatment of skin disorders. *Biochemical Pharmacology*. 2018, **157**, 122-133. DOI: 10.1016/j.bcp.2018.08.022. ISSN 00062952.
- [53] SINGH, Deeptej, Juliya FISHER, Devorah SHAGALOV, Aakaash VARMA, Daniel M. SIEGEL a Eduardo MUÑOZ. Dangerous plants in dermatology: Legal and controlled. *Clinics in Dermatology*. 2018, **36**(3), 399-419. DOI: 10.1016/j.clindermatol.2018.03.013. ISSN 0738081X.
- [54] ALI, Atif a Naveed AKHTAR. The safety and efficacy of 3% Cannabis seed extract cream for reduction of human cheek skin sebum and erythema content. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2015, **28**(4), 1389-1395.
- [55] FICHEUX, Anne-Sophie, Marie-Pierre GOMEZ-BERRADA, Alain-Claude ROUDOT a Pierre-Jacques FERRET. Consumption and exposure to finished cosmetic products: A systematic review. *Food and Chemical Toxicology*. 2019, **124**, 280-299. DOI: 10.1016/j.fct.2018.11.060. ISSN 02786915.
- [56] *Nářízení Evropského parlamentu a Rady (ES) o kosmetických přípravcích*. In: 2009, ročník 2009, číslo 1223.
- [57] BAKI, Gabriella a Kenneth S. ALEXANDER. *Introduction to cosmetic formulation and technology*. New Jersey: John Wiley, 2015. ISBN 978-1118763780.
- [58] BAREL, A. O., Marc PAYE a Howard I. MAIBACH. *Handbook of cosmetic science and technology*. 3rd ed. New York: Informa Healthcare, c2009. ISBN 978-1-4200-6963-1.
- [59] YAQOOB KHAN, Azhar, Sushama TALEGAONKAR, Zeenat IQBAL, Farhan JALEES AHMED a Roop KRISHAN KHAR. Multiple Emulsions: An Overview. *Current Drug Delivery*. 2006, **3**(4), 429-443. DOI: 10.2174/156720106778559056. ISSN 15672018.

- [60] KOTINGOVÁ, Lenka, Lenka BORSKÁ a Zdeněk FIALA. ESTOVÁNÍ TRANSDERMÁLNÍ ABSORPCE CHEMICKÝCH LÁTEK IN VITRO. *Chemické listy*. 2009, **103**(7), 1213-7103. ISSN 0009-2770.
- [61] STEINER, A., K. KUGARAJAN, M. WULLIMANN, B. RUTY a G. KUNZE. Margin of safety of pentylene glycol derived using measurements of cutaneous absorption and volatility. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2017, **87**, 106-111.
- [62] 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..
- [63] *Vyhláška Ministerstva zemědělství ze dne 30. března 2000, kterou se mění vyhláška Ministerstva zemědělství č. 328/1997 Sb., kterou se provádí § 18 písm. a), d), h), i), j) a k) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, pro mléko a mléčné výrobky, zmrzliny a mražené krémy a jedlé tuky a oleje*. In: . 2000, ročník 2000, číslo 90.
- [64] STAMENKOVIĆ, Olivera S., Ana V. VELIČKOVIĆ, Milan D. KOSTIĆ, Nataša M. JOKOVIĆ, Katarina M. RAJKOVIĆ, Petar S. MILIĆ a Vlada B. VELJKOVIĆ. Optimization of KOH-catalyzed methanolysis of hemp seed oil. *Energy Conversion and Management*. 2015, (Volume 103), 235-243. DOI: 10.1016/j.enconman.2015.06.054. ISBN 10.1016/j.enconman.2015.06.054.

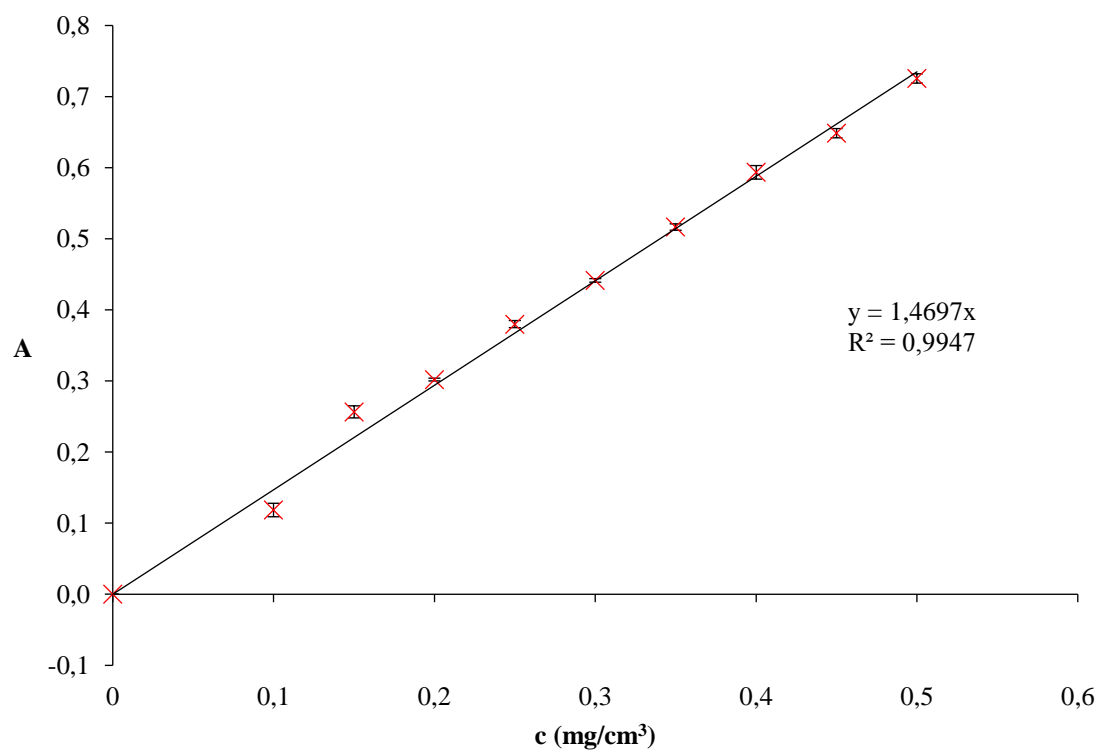
## 8 SEZNAM ZKRATEK

ABTS	(2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová kyselina))
BHI	brain heartinfusion
CBC	kanabichromen
CBD	kanabidiol
CBDV	kanabichromvarin
CBG	kanabigerol
CBN	kanabinol
CBV	kanabivarin
CCM	česká sbírka mikroorganismů
ECS	endokanabinoidní systém
FID	plamenově ionizační detektor
GC	plynová chromatografie
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
LB	luria-bertani
MUFA	mononenasyčené mastné kyseliny
NB	nutrientbroth
OSN	organizace spojených národů
PEG-40	polyethylenglykolový derivát ricinového oleje
PG	pentylenglykol
PUFA	polynenasycené mastné kyseliny
SFA	nasyčené mastné kyseliny
SLES	sodium laureth sulfate
TEAC	trolox equivalent antioxidant capacity
THC	$\Delta^9$ -tetrahydrokanabinol
THCV	tetrahydrokanabivarin
UV	záření v ultrafialové oblasti spektra
VIS	záření ve viditelné oblasti spektra
YPD	yeast peptone dextrose

## 9 PŘÍLOHY

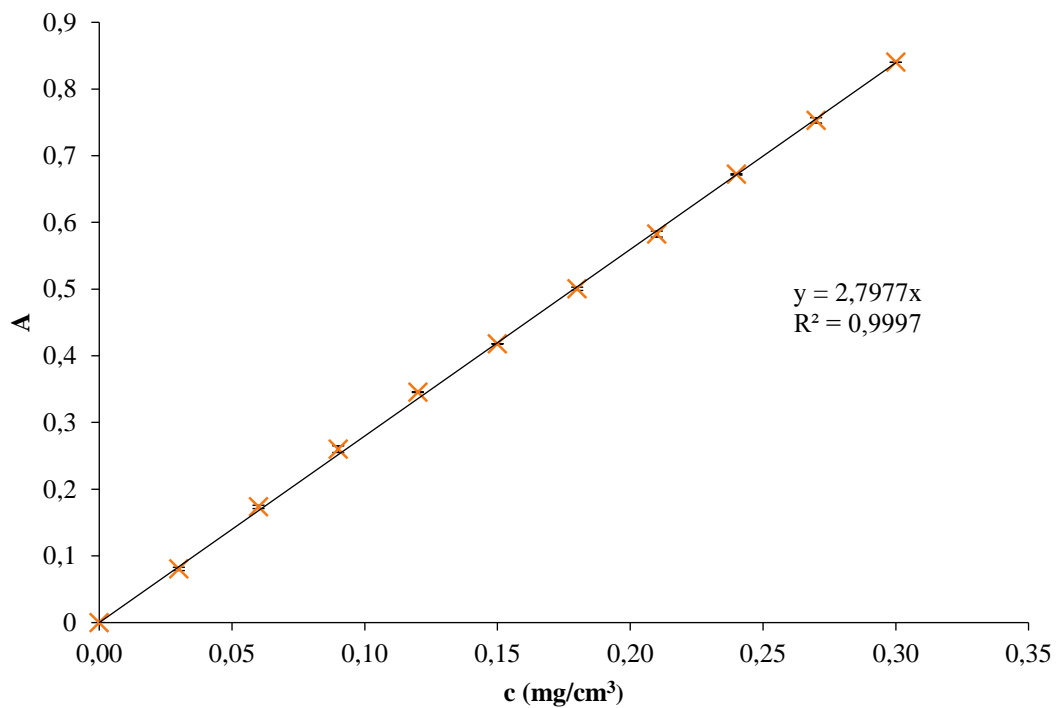


Příloha 1: Kalibrační křivka závislosti absorpance na koncentraci pro stanovení polyfenolů

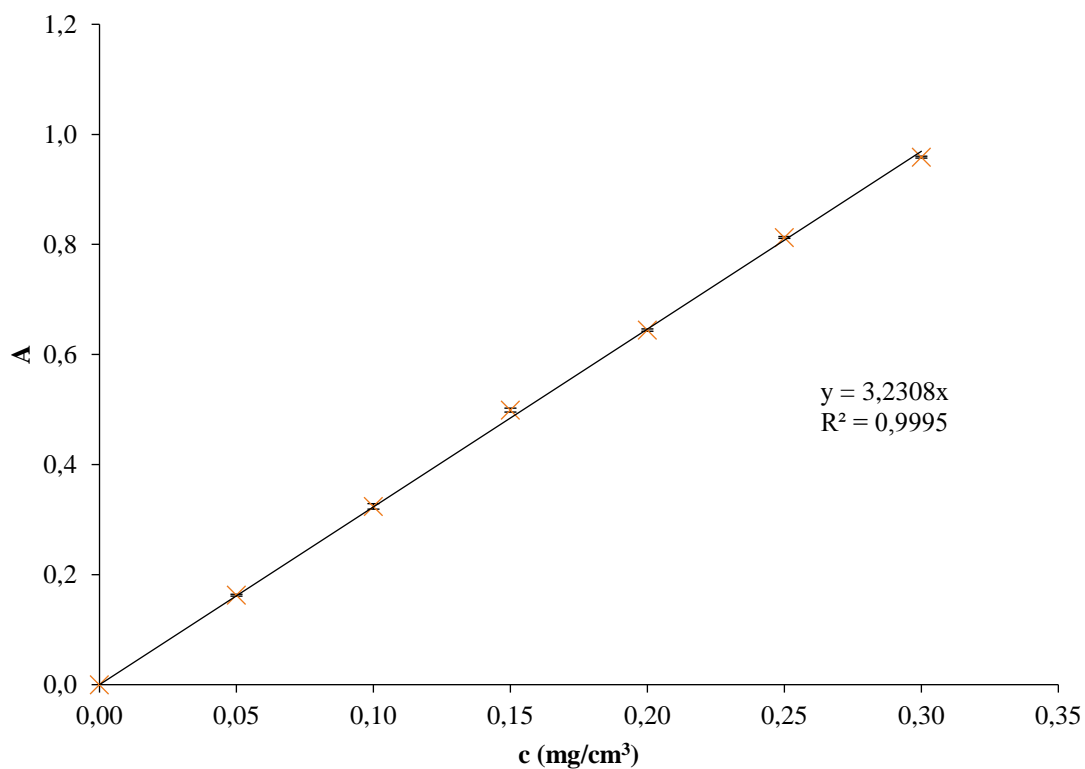


Příloha 2: Kalibrační křivka závislosti absorpance na koncentraci pro stanovení polyfenolů (pentylenglykol)

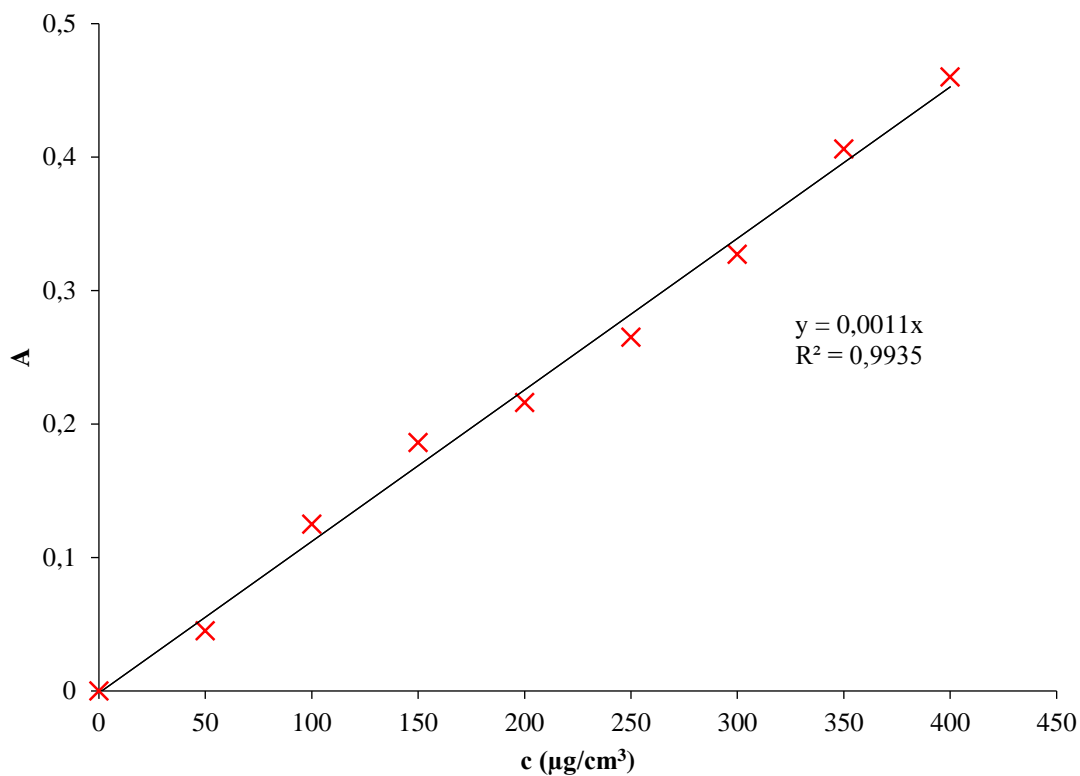




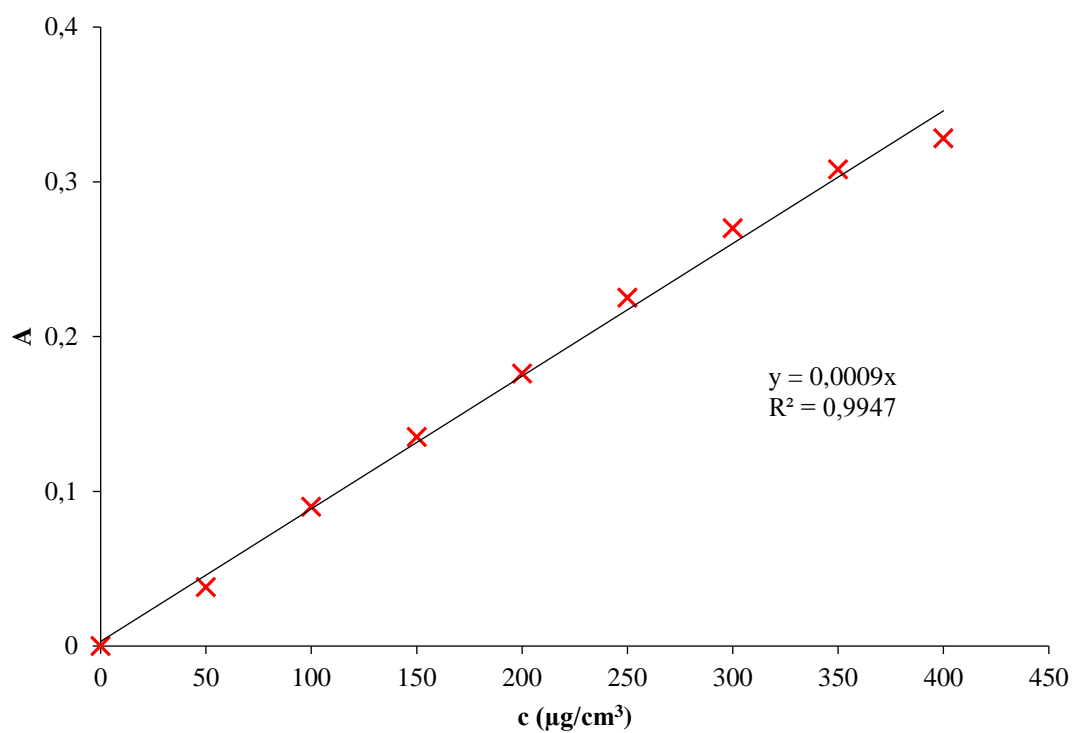
*Příloha 3: Kalibrační křivka závislosti absorpance na koncentraci pro stanovení flavonoidů*



*Příloha 4: Kalibrační křivka závislosti absorpance na koncentraci pro stanovení flavonoidů (pentylenglykol)*



*Příloha 5: Kalibrační křivka závislosti absorbance na koncentraci pro stanovení antioxidační aktivity*



*Příloha 6: Kalibrační křivka závislosti absorbance na koncentraci pro stanovení antioxidační aktivity (pentylenglykol)*