



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

**VYUŽITÍ VYBRANÝCH FRAKČÍ TECHNICKÉHO
KONOPI V KOSMETICE A FARMACII**

USE OF SOME FRACTIONS OF TECHNICAL HEMP IN COSMETICS AND PHARMACY

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Nela Pavlišťíková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.

BRNO 2022

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1676/2021 Akademický rok: 2021/22
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Studentka: **Nela Pavlišťiková**
Studijní program: Chemie a chemické technologie
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace
Vedoucí práce: **prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.**

Název bakalářské práce:

Využití vybraných frakcí technického konopí v kosmetice a farmacii

Zadání bakalářské práce:

Dílčí úkoly:

- 1) rešerše – zpracování technického konopí, frakce a jejich aktivní látky
- 2) optimalizace metod stanovení aktivních složek konopí a jejich biologického účinku
- 3) příprava extraktů z konopí, testování jejich antimikrobiálních a dalších účinků pro využití ve farmacii a kosmetice
- 4) ověření bezpečnosti materiálů pomocí testů cytotoxicity

Termín odevzdání bakalářské práce: 27.5.2022:

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

Nela Pavlišťiková
studentka

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2022

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Konopí se řadí mezi všestranně využitelné rostliny. Setkáváme se s ním prakticky ve všech odvětvích průmyslu, od papírenského po lékařský a farmaceutický. Předmětem této bakalářské bylo charakterizování frakcí konopí, které vznikly při jeho zpracování, a jejich aplikacemi v kosmetice a farmacii. V teoretické části je vypracována charakteristika rostliny, její chemické složení a bioaktivní látky včetně jejich využití v kosmetice. V experimentální části byly stanoveny některé vybrané metabolity hydrolyzátů z konopné mouky a konopných kalů. Všechny tyto frakce byly z odrůdy konopí *Santhica*. V analyzovaných vzorcích byl stanoven obsah sacharidů, lipidů, polyfenolů, chlorofylů, profil mastných kyselin, číslo zmydelnění, číslo kyselosti a jodové číslo. Dále byla u konopných hydrolyzátů stanovena antimikrobiální aktivita. Také byla připravena konopná mýdla z konopného kalu a kokosového oleje, u kterých proběhla senzorická analýza. Z hydrolyzátu z konopné mouky byl připraven šampon, který byl testován *in vivo*. V práci bylo prokázáno, že všechny použité materiály byly bezpečné a vhodné k použití. U připravených mýdel byl prokázán léčivý dezinfekční a hydratační účinek při umývání rukou. U konopného šamponu bylo zjištěno, že po umytí jsou vlasy hladké a hebké.

ABSTRACT

Hemp is known as a versatile usable plant with many industrial applications including pharmaceutical industry. The subject of this bachelor's thesis was to characterize the fractions of cannabis produced during its processing and their applications in cosmetics and pharmacy. In the theoretical part the characteristics of the plant, its chemical composition and bioactive substances are worked out. In the experimental part, some metabolites present in hydrolysates of hemp flour and hemp sludge were determined. All fractions were obtained from the *Santhica* variety. In the samples the content of carbohydrates, lipids, polyphenols, chlorophylls, fatty acid profile, acidity number and iodine number were determined. Furthermore, antimicrobial activity of hemp hydrolysates was tested and fat numbers of the sludge samples were determined. Hemp soaps from hemp sludge and coconut oil were prepared and analysed by sensory tests too. Hemp flour hydrolysate was used in shampoo, which was tested on humans. It was demonstrated that all the materials used were safe and suitable for use. The prepared soaps showed a hydration effect when washing hands. Hemp shampoo application led to smooth and soft hair when washed.

KLÍČOVÁ SLOVA

Technické konopí, aktivní látky, hydrolyzáty, konopné produkty

KEY WORDS

Technical hemp, active compounds, hydrolysates, hemp products

PAVLIŠTÍKOVÁ, Nela. Využití vybraných frakcí technického konopí v kosmetice a farmacii [online]. Brno, 2022 [cit. 2022-05-26]. Dostupné z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/139340>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Ivana Márová.

PROHLÁŠENÍ

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

.....

Nela Pavlišťiková

PODĚKOVÁNÍ

Touto cestou bych ráda poděkovala vedoucí mé bakalářské práce prof. RNDr. Ivaně Márové, CSc. za vedení, trpělivost a energii, kterou mi věnovala při vypracování mé práce. Ráda bych také poděkovala mé konzultantce Ing. Monice Wikarské za veškerou pomoc v laboratoři, inspiraci a trpělivost. Velký dík také patří mé rodině, přítelovi a kamarádům za veškerou pomoc a podporu i během studia.

OBSAH

1	ÚVOD	8
2	TEORETICKÁ ČÁST	9
2.1	Technické konopí	9
2.1.1	Historie	9
2.1.2	Charakteristika rostliny	9
2.1.3	Druhy konopí.....	10
2.2	Konopné frakce.....	11
2.2.1	Konopné semínko.....	11
2.2.2	Květy a listy	12
2.2.3	Konopný olej.....	12
2.2.4	Konopná mouka	12
2.2.5	Konopný protein.....	12
2.3	Chemické složení.....	12
2.3.1	Sacharidy	12
2.3.2	Mastné kyseliny.....	13
2.3.3	Proteiny	13
2.3.4	Flavonoidy.....	13
2.3.5	Terpeny.....	14
2.3.6	Dusíkaté sloučeniny	14
2.4	Bioaktivní látky	14
2.4.1	Kanabinoidy	14
2.4.2	Vitamíny.....	15
2.4.3	Fenolické látky	16
2.5	Využití konopí	16
2.6	Kůže.....	16
2.7	Vlasy.....	17
2.7.1	Stavba vlasu.....	17
2.8	Charakteristika použitých mikroorganismů.....	18
2.8.1	<i>Candida glabrata</i> CCM 8270	18
2.8.2	<i>Micrococcus luteus</i> CCM 1569.....	18
2.8.3	<i>Escherichia coli</i> CCM 7395	19
2.9	Použité metody	19

2.9.1	UV-VIS spektrofotometrie	19
2.9.2	Chromatografie.....	20
2.9.3	Agarový difúzní test	20
2.9.4	Testy cytotoxicity	20
3	CÍLE PRÁCE.....	22
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	23
4.1	Použití chemikálie, přístroje a mikroorganismy	23
4.1.1	Použité chemikálie	23
4.1.2	Použité přístroje.....	23
4.1.3	Použité mikroorganismy	24
4.2	Analyzované konopné frakce	24
4.2.1	Konopný kal	24
4.2.2	Konopná mouka	24
4.3	Konopný kal	24
4.3.1	Stanovení čísla zmydelnění	24
4.3.2	Stanovení čísla kyselosti	25
4.3.3	Stanovení jodového čísla.....	25
4.3.4	Stanovení oleje v kalu	25
4.3.5	Stanovení mastných kyselin pomocí plynové chromatografie.....	25
4.3.6	Příprava mýdla	26
4.4	Konopná mouka.....	27
4.4.1	Příprava hydrolyzátů z konopné mouky.....	27
4.4.2	Stanovení celkových sacharidů dle Dubiose	27
4.4.3	Stanovení proteinů metodou Bradfordové	27
4.4.4	Stanovení celkových polyfenolů	28
4.4.5	Stanovení chlorofylů	28
4.4.6	Stanovení antimikrobiální aktivity	28
4.4.7	Příprava šamponu	29
5	VÝSLEDKY A DISKUZE	30
5.1	Konopný kal	30
5.1.1	Stanovení čísla zmydelnění	30
5.1.2	Stanovení čísla kyselosti	30
5.1.3	Stanovení jodového čísla.....	30

5.1.4	Stanovení oleje v kalu	31
5.1.5	Stanovení profilu mastných kyselin pomocí GC.....	31
5.1.6	Analýza konopných mýdel.....	32
5.2	Konopná mouka.....	33
5.2.1	Stanovení celkových sacharidů dle Dubiose	33
5.2.2	Stanovení proteinů metodou Bradfordové	36
5.2.3	Stanovení celkových polyfenolů	39
5.2.4	Stanovení chlorofylů	42
5.2.5	Stanovení antimikrobiální aktivity	43
5.2.6	Testování konopného šamponu	45
5.3	Testy cytotoxicity	45
6	ZÁVĚR	48
7	LITERATURA	50
8	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	54
9	PŘÍLOHY	55

1 ÚVOD

Konopí se odjakživa řadí mezi významné tradiční rostliny, jež jsou lidmi po staletí hojně využívány a pěstovány. Poskytuje bohaté materiálové výnosy ve formě kvalitního vlákna a také obsahuje nespočet biologicky aktivních látek, které dosahují významných léčivých účinků. Má několik možných aplikací, mezi které patří také kosmetika a farmacie. V lékařství je konopí označováno jako potenciální lék proti rakovině, ale jeho léčivé účinky byly prokázány i u dalších méně či více závažných onemocněních. Konopí je mimo jiné používáno také pro své psychoaktivní účinky, jehož nadměrné užívání konopí jako drogy vedlo k zákazu používání a pěstování.

Co se týče chemického hlediska, konopí bylo a je stále detailně studováno, a jako jediná rostlina obsahuje skupinu látek zvané kanabinoidy. Jsou považovány za jednu z nejvýznamnějších sloučenin nacházející se v konopí. Kanabinoidy způsobují významně viditelné léčivé účinky, díky těmto vlastnostem se konopí využívá ve farmaceutickém průmyslu. V technickém konopí se množství kanabinoidů menší, proto se tak často v lékařství nevyužívá. V konopí jsou přítomny další aktivní látky, jako jsou například mastné kyseliny, proteiny, sacharidy nebo vitamíny. Mastné kyseliny se nacházejí v konopných semenech, ze kterých se vyrábí olej. Semínka také obsahují proteiny. Sacharidy tvoří buněčnou stěnu a vlákna. Vitamíny jsou obsaženy v cytoplazmatické membráně a jiných buněčných membránách.

Technické konopí se využívá především v textilním, papírenském a stavebním průmyslu, protože disponuje vysokou kvalitou stonku a pazdeří pro následné zpracování. Jeho produkty zahrnující především konopné semeno nachází uplatnění i v medicínských aplikacích. Mimo farmaceutický průmysl se ojedinělé účinky konopí využívají také v kosmetickém průmyslu díky svým antimikrobiálním účinkům při kožních onemocněních. Za hlavní účinnou složkou přírodní konopné kosmetiky je považován konopný olej, který se získává právě z konopného semínka.

Předložená bakalářská práce se zabývá charakterizací technického konopí, jeho chemickým složením a bioaktivními látkami. Tyto látky jsou dále analyzovány z různých frakcí technického konopí s možností aplikace v kosmetice a farmacii, za použití základních metod jako je spektrofotometrie a chromatografie. V práci je následně testován antimikrobiální účinek konopných hydrolyzátů. Dále je provedena senzorická analýza vyrobeného mýdla z konopného kalu. Vyrobený konopný šampon byl dán testován lidem a následně byl hodnocen.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Technické konopí

Konopí zvané technické konopí (*Cannabis sativa* L.) je termofilní plodina, která je náročná na vodu, půdu a živiny. Potlačuje růst plevelu a má rekultivační a protierozní vliv. Při pěstování nejsou nutné pesticidy ani herbicidy, které škodí životnímu prostředí. Obsahuje okolo 23 % vláken a asi 75 % dřevité hmoty, takzvané pazdeří [1].

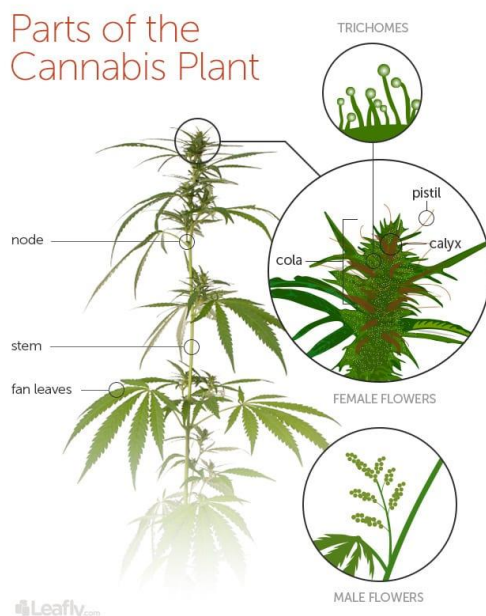
2.1.1 Historie

První zmínky o kultivaci technického konopí pocházejí ze starověku. V Xia Xiao Zheng, což je starověký čínský text, se můžeme dočíst, že konopí bylo jedno z hlavních plodin starověké Číny. Řada historiků tvrdí, že Číňané pěstovali konopí jako potravinářskou plodinu, jelikož má vysoce výživná semínka. Zemědělství se postupem času začalo zlepšovat a starověcí Číňané přišli na to, že mohou využít konopné stonky na výrobu vlákna na papír, lano nebo oblečení. První konopná lana a papír se objevily v Číně kolem roku 2800 př.n.l., avšak kultivace konopí se datuje již k roku 8000 př.n.l. [2].

2.1.2 Charakteristika rostliny

Konopí se řadí mezi dvoudomé, jednoleté byliny z čeledě konopovité (*Cannabaceae*), které dorůstají až do výšky čtyř metrů. Dobře se přizpůsobuje rozmanitým přírodním podmínkám a díky tomu se s konopím můžeme setkat prakticky ve všech vegetačních pásmech [3].

Konopí má tmavě zelenou barvu. Jak už bylo zmíněno, konopí se řadí mezi dvoudomé rostliny, tudíž u něj rozlišujeme samčí a samičí rostlinu. Samčí rostliny jsou vyšší a štíhlejší. Můžeme u nich zpozorovat světlejší listy a šedo zelený vrchol. Samčí rostliny dozrávají dříve než samičí, a to asi o 4-6 týdnů. Morfologicky jej můžeme rozdělit do několika částí. První částí je kořen, který nabývá kulovitěho tvaru s rozdílnou délkou. Stonek je v prvních fázích růstu měkký a dužnatý, postupem času začíná odspodu dřevnatět. Konopí je specifické svými pilovitými mnohočetnými listy. Další částí konopí jsou květy, které produkují charakteristickou pryskyřici, která obsahuje biologicky účinné látky, například kanabinoidy. Samčí a samičí květ se od sebe liší jak vzhledem, tak funkcí. Ku příkladu v samičích květech dozrávají malá semena. Samčí květy obsahují pylové váčky, které se otevírají a vypouštějí pyl do vzduchu [4].



Obrázek 1. Stavba rostliny konopí [9]

2.1.3 Druhy konopí

Z morfologického hlediska se konopí rozděluje na tři základní druhy, a to konopí seté, indické a rumištní. Tyto druhy se od sebe vzájemně liší obsahem kanabinoidů [4].

2.1.3.1 Konopí seté (*Cannabis sativa*)

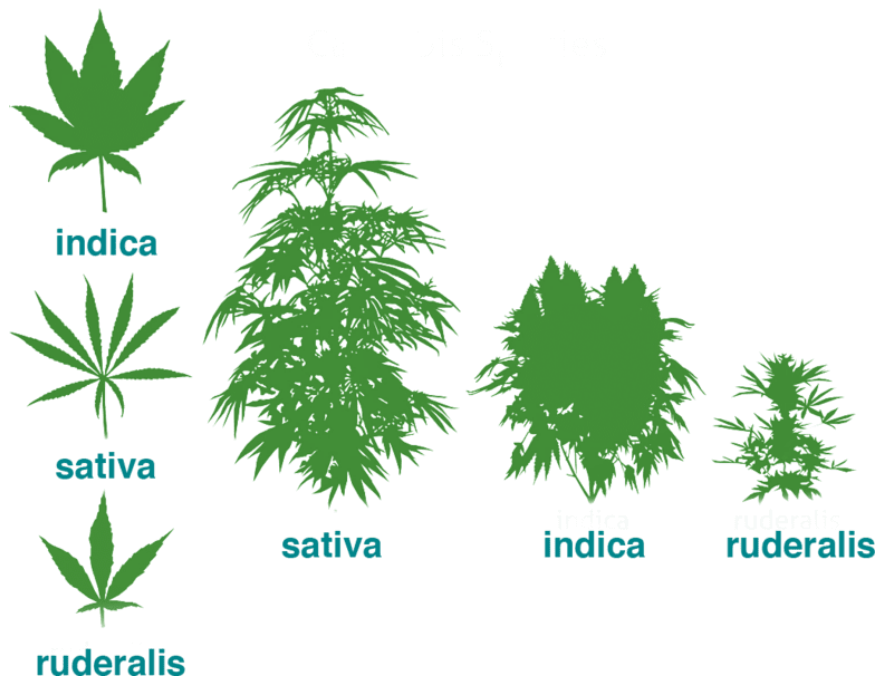
Jedná se o nejrozšířenější druh konopí, pěstován hlavně pro hospodářskými účely. Dorůstá do výšky až šesti metrů, má tedy nejvyšší vzrůst z uvedených druhů konopí. Disponuje slabým větvením a různou velikostí úzkých listů. Obsahuje malé množství THC a CBD. Konopí seté se pěstuje hlavně pro získání vlákniny a oleje, vyráběného z konopných semen [5, 6, 7].

2.1.3.2 Konopí indické (*Cannabis indica*)

Konopí indické se morfologicky zcela liší od konopí setého. Vyznačuje se středním růstem, dorůstá do výšky jednoho metru a půl. Rostlina je charakterizována silným větvením, z nichž každá větev je bohatě olistěná květenstvím. Listy jsou větší a širší. Na rozdíl od konopí setého, indické konopí obsahuje velké množství kanabinoidů, převážně Δ^9 -tetrahydrokanabinol a kanabidiol. V tomto důsledku je jeho pěstování na území České republiky zcela zakázáno, v Evropě nemá jeho pěstování žádný význam [6, 7].

2.1.3.3 Konopí rumištní (*Cannabis ruderalis*)

Má původ v jihovýchodním Rusku a je řazen mezi plevely. Ze všech tří druhů konopí má nejmenší vzrůst, a to maximálně jeden metr. Z morfologického hlediska je málo větvený a olistěný velkými dlouhými listy. Nejčastěji se využívá při šlechtění hybridů. Obsahuje nepatrné množství kanabinoidních látek, především převládá kanabidiol [8].



Obrázek 2. Základní druhy konopí [10]

2.2 Konopné frakce

Technické konopí je bráno jako všestranná rostlina, protože při zpracování se využívají všechny její části. Lze z něj čerpat suroviny sloužící k výrobě dalších produktů. Patří zde například kořen, listy, květy nebo semena. Nejvíce využívanou částí je stonek, ze kterého se získává konopné vlákno a dále se využívá například na výrobu papíru nebo netkaných textilií. Kratší konopná vlákna tvoří koudel. Dřevitá část stonku se nazývá pazdeří a hraje velkou roli v energetice a stavebním průmyslu [11].

Květ konopí obsahuje THC, je bohatý na pryskyřice a nejvíce je využíván ve farmacii. Ve květech dozrávají semena, ze kterých se získává konopný olej. Z odpadních látek vzniklých při zpracování konopí se poté vyrábí mouka a protein [12].

Z konopných semen získáváme konopný olej, a to nejběžnější používanou metodou-lisováním za studena. Díky této metodě má olej lepší nutriční hodnoty. Při lisování se vytvářejí také vedlejší produkty jako jsou kaly nebo výlisky. Konopný kal je hlavně tvořen z oleje, mastných kyselin, malých kousků lisovaných semen a pigmentů. Výlisky vznikají jako vedlejší produkt po lisování semen na extrakci oleje.

2.2.1 Konopné semínko

Jedná se o olejnatý oříšek, který dozrává v konopném květenství. Má tvrdou slupku a měkkým jádrem. Je bohaté především na tuky, bílkoviny, cukry, minerální látky a vitamíny. Vyrábí se z něj olej. Může obsahovat zbytky kanabinoidů. Konopná semínka pomáhají regulovat hladinu cholesterolu, posilují imunitní systém, svalovou hmotu a dodávají energii. Jsou vhodná pro celiaky, protože neobsahují lepek. Konopné semínko obsahuje optimální kombinaci esenciálních mastných kyselin pro produkci buněk a zdraví kůže. Jejich konzumování má vliv na zdravou pleť a vlasy, a proto se také využívají v kosmetice [13].

2.2.2 Květy a listy

Vyrábí se z nich esenciální oleje, které v současnosti již neobsahují stopy po THC. V sušené formě se s květy a listy setkáváme hlavně v čajích, které jsou bohaté na antioxidanty. Uplatňuje se také při dochucování jídel a pití [14].

2.2.3 Konopný olej

Konopný olej se vyrábí ze semínek, a to tak, že semena jsou lisována za studena. Obsahuje ideální zásobu omega-3 a omega-6 mastných kyselin, enzymů, fytosterolů, vitamínů, proteinů a minerálů. Posiluje imunitu, má výrazné protirakovinové účinky a chrání před záněty. Působí také na kožní potíže, jako jsou například opary, infekce způsobené plísněmi a kvasinky, akné nebo ekzémy. Je tedy hlavně využíván v kosmetice a potravinářství. Díky zbytkům chlorofylu, které obsahuje, má zelenou barvu. Nesmí se vařit, protože při teplotě vyšší než 45 °C dochází ke ztrátám potřebných a důležitých látek. Musí se ukládat do tmy, aby se chránil před světelnou degradací. Uchovává se v chladničce, aby nedošlo ke žluknutí [15].

2.2.4 Konopná mouka

Konopná mouka je vyráběna z konopných semen a pokrutin, a to jejich rozemletím. Je vhodná pro lidi trpící celiakií, protože neobsahuje lepek. Využívá se v potravinářství, je bohatá na rostlinné bílkoviny a je také vhodná jako zahušťovadlo při nízkosacharidových dietách. Má vysoký obsah vlákniny, vitamínů a hořčiku, obsahuje také kyselinu listovou. Slouží jako výborný zdroj bílkovin pro sportovce [16].

2.2.5 Konopný protein

Je získáván z loupání konopného semene. Semínka se rozmělní a dochází k mechanickému lisování, při kterém se konopný olej odděluje od pevné masy a vzniká útvar, který je označován jako koláč. Tento koláč se poté suší a zpracovává na prášek. Dále dochází k cezení, čímž dochází ke snížení podílu vlákniny a nárustu podílu bílkovin. Konopný olej tedy obsahuje malé množství tuku a velký podíl bílkovin. Využívá se jako doplněk stravy. Jedná se o téměř 100% proteinový koncentrát. Je lehce stravitelný a neobsahuje žádné alergeny [17].

2.3 Chemické složení konopí

Jelikož je konopí neustále studováno a zkoumáno, dodnes se neví přesný počet látek, které se v něm nacházejí. V současnosti se počet nalezených a popsanych chemických sloučenin udává v řádu stovek. Ví se však, že mezi základní látky, které konopí obsahuje, se řadí sacharidy, mastné kyseliny, aminokyseliny, proteiny, terpeny, flavonoidy, vitamíny a další, které dohromady zastupují primární a sekundární metabolity rostliny [11].

2.3.1 Sacharidy

Sacharidy jsou obsaženy v celé rostlině konopí. Jsou stavební složkou konopných vláken a součástí buněčné stěny. Mezi monosacharidy, které se v konopí nachází, řadíme převážně glukosu, fruktózu, galaktózu a v malém množství arabinózu. Z řad disacharidů obsahuje konopí sacharózu a maltózu. Povrch rostliny je tvořen polysacharidem celulózu nebo pektinem a

může obsahovat stopy sorbitolu nebo glycerolu. Dalšími zástupci polysacharidů v konopí jsou rafinóza a hemicelulóza [11].

2.3.2 Mastné kyseliny

Mastné kyseliny se nacházejí v konopných semínkách, ze kterých je lisován konopný olej. Obsahuje ω -3 a ω -6 nenasycené mastné kyseliny, které musí lidský organismus přijímat potravou. Mastné kyseliny vykazují mimo jiné protizánětlivé a regenerační vlastnosti. Konopné semeno obsahuje značné množství mastných nenasycených kyselin, z nichž nejvíce zastoupenými kyselinami jsou kyselina linolová a kyselina linolenová. Tyto kyseliny řadíme mezi významné esenciální kyseliny. Je nutné je přijímat stravou, protože lidský organismus je není schopen vytvořit. Dalšími nenasycenými mastnými kyselinami, nacházejícími se v konopném semínku jsou kyselina stearidonová, gondoová, olejová, nervonová a vakcenová. Zástupci nasycených mastných kyselin jsou v největším zastoupení kyselina palmitová a stearová, dále pak kyselina lignocerová, behenová, arachidová, margarínová a myristová [11, 18].

2.3.3 Proteiny

Bílkoviny řadíme mezi vysokomolekulární přírodní látky. Jedná se o biopolymery složené z aminokyselin, které jsou spojeny peptidovou vazbou. Tato vazba je tvořena mezi α -karboxylovou skupinou jedné aminokyseliny a α -aminoskupinou druhé aminokyseliny [19]. Konopí obsahuje v semínkách kvalitní proteiny, a to především albumin a edestin. Oba tyto proteiny jsou bohaté na esenciální aminokyseliny, dokonce jejich celkový podíl je významně vyšší než například v izolátu sójového proteinu. Proto jsou snadněji vstřebatelné a slouží jako vhodný doplněk stravy. Bylo studováno a prokázáno, že konopný protein může působit proti únavě a snížit oxidační stres [11, 20]. Díky své struktuře mají proteiny schopnost navázat se na pokožku. Udržují v ní vodu a zvláčňují ji. Těchto vlastností proteinů se využívá především v kosmetice. Na vlasovou pokožku a vlasy mají kladný efekt upravené proteiny. Upravený hydrolyzovaný protein totiž dokáže vstoupit do kutikuly a uchytit se v ní. Tím vyplní malé trhlinky, které mohly vzniknout chemickým nebo nešetrným mechanickým zacházením. Proteiny tak zabraňují poškozování vlasů [20].

2.3.4 Flavonoidy

Flavonoidy patří mezi vysoce účinné látky, které jsou jasně viditelné na UV světle díky schopnosti zvané fluorescence. Jejich funkcí je chránit citlivé části rostliny, především květy a plody, před slunečním zářením. Většina z nich má nepříjemnou hořkou pachut'. U některých druhů byla zaznamenána vysoká antibakteriální a protiplísňová aktivita. Flavonoidy dokáží zpevňovat cévy, díky čemuž se uplatňují při chronickém krvácení nosu, křečových žilách nebo hemeroidech. Mezi flavonoidy vyskytujícími se v konopí patří kanflavin A a B, které mají schopnost tlumit zánět, srovnatelně jako aspirin. Dále pak kvercetin, luteolin, kaempferol, apigenin, vitexin a další [21, 22].

2.3.5 Terpeny

Za terpeny jsou považovány nenasycené uhlovodíky převážně rostlinného původu. Jsou složeny minimálně ze dvou izoprenových jednotek. Vykazují těkavý charakter a jsou silně aromatické. U rostlin disponují ochrannou funkcí, například proti bakteriím, plísním nebo hmyzu. Terpeny jsou zodpovědné za specifickou vůni rostlin konopí. Mezi nejčastěji vyskytující se terpeny v konopí patří myrceny, konkrétně β -myrcen. Patří mezi monoterpeny a jeho aroma je přirovnáváno k hřebíčku. Má silně protizánětlivé, analgetické a antimutagenní vlastnosti. Bylo zjištěno, že myrcen dokáže blokovat aktivitu některých karcinogenů jako je například alfatoxin B. Usnadňuje a také urychluje průnik látek do mozku a krevního oběhu. Mezi další terpeny nacházející se v konopí patří limonen, α a β -pinen, β -karyofylen, linalool, terpinolen, kamfen, felandren, karen, humulen, pulegon, sabinen a geraniol [22].

2.3.6 Dusíkaté sloučeniny

Mezi kvartérní báze, které byly v konopí identifikovány patří cholin, neurin a muskarin. Mimo jiné je přítomných 12 jednoduchých aminů, například methylamin, ethylamin, pyrrolidin nebo piperidin, 8 amidů a jenom 2 alkaloidy. Mezi dusíkaté sloučeniny nacházející se v konopí patří také proteiny (albumin a edestin), aminokyseliny a enzymy [11, 23].

2.4 Bioaktivní látky

Bylo prokázáno, že kanabinoidy, které se vyskytují pouze v rostlinách konopí, jsou považovány za nejúčinnější složku konopí. Jsou známy hlavně díky svým analgetickým a protizánětlivým účinkům. Avšak kanabinoidy nejsou jedinou skupinou látek, které mají důležitou roli v kosmetice a farmacii. Mastné kyseliny, sacharidy a proteiny, popsány v kapitolách 2.3.2, 2.3.1 a 2.3.3 hrají důležitou roli především ve výživě. K nim dále náleží ještě vitamíny a významnými složkami jsou také antioxidanty [5].

Konopný olej ve stopovém množství disponuje methylsalicylátem. Jeho farmakologické účinky lze přirovnat účinkům léku zvaném aspirin, běžně používaným proti horečce.

Zástupci chemických prvků vyskytující se v konopí jsou hořčík, vápník, draslík a síra [24].

2.4.1 Kanabinoidy

Řadíme je mezi fenolické terpeny, které spadají pod skupinu látek zvané isoprenoidy. Množství kanabinoidů je ovlivněno odrůdami konopí, každý druh obsahuje jiné množství. Tyto látky nalezneme v největší koncentraci právě v konopných květech. Kanabinoidy vznikají z kyseliny kanabigerolové-CBGA, a to její dekarboxylací. Z hlavní kanabinoidní látky považujeme THC, CBD, CBG, CBC a CBN [23].

2.4.1.1 THC

Δ^9 -tetrahydrokanabinol neboli THC je díky svým známým psychotropním účinkům nejznámější kanabinoid. Je obsažen ve všech druzích konopí, avšak v lišících se množstvích. Kromě halucinogenních účinků působí také jako analgetikum a uvolňuje svaly. Zabraňuje také nevolnosti [23, 25].

2.4.1.2 CBD

CBD, také kanabidiol, patří mezi nepsychotropní látky. Vyskytuje se ve všech odrůdách konopí. Vyšší obsah CBD působí proti THC. Snižuje jeho efekt a tím zvyšuje bezpečnost konopí.

V dnešní době lze CBD pořídit ve formě oleje nebo kapek, které vykazují antipsychotické a protiúzkostné účinky [23].

2.4.1.3 CBG

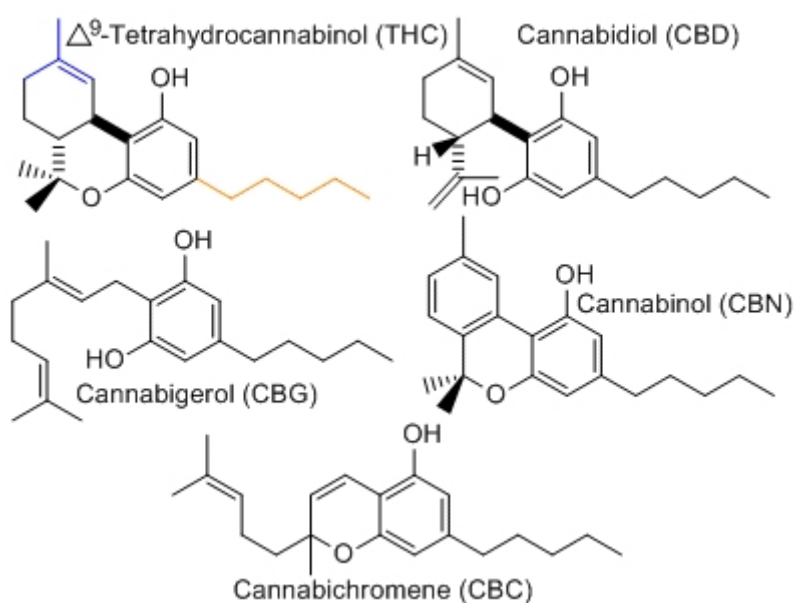
Kanabigerol byl první popsáný kanabinoid, který má významný protizánětlivý a protiplísňový účinek. Bylo zjištěno, že CBG je ve velkých dávkách cytotoxický pro buňky rakoviny. Může působit jako antibiotikum a analgetikum [23].

2.4.1.4 CBC

CBC neboli kanabichromen je další nepsychotropní látkou, která má analgetické, protizánětlivé, antibakteriální a cytotoxické vlastnosti. Stejně jako CBD, snižuje intoxikaci THC [23].

2.4.1.5 CBN

Kanabinol se v konopí nachází jen ve stopovém množství. Jeho obsah se může lišit dle stáří rostliny. Vykazuje sedativní, antibiotické a protizánětlivé účinky [23].



Obrázek 3. Nejvýznamnější kanabinoidy [26]

2.4.2 Vitamíny

Vitamín E neboli tokoferol patří mezi významné vitamíny nacházející se v konopí. Je součástí cytoplasmatické membrány a dalších biomembrán. Řadí se mezi vitamíny rozpustné v tucích. Má schopnost zachycovat volné radikály díky svému známému antioxidačnímu účinku. Vykazuje příznivý vliv na vitalitu buněk a je schopen způsobit vyšší fluiditu membrán. Je využíván v kosmetice, má totiž schopnost udržet složení přirozeného kožního filmu [27]. Jeho nedostatek se může projevit zkrácením doby života erytrocytů, poruchou funkce vaječnicků a varlat, dokonce může dojít až k neplodnosti [28].

Co se týče vitamínů rozpustných ve vodě, největší zastoupení v konopí má vitamín C-kyselina askorbová, který můžeme najít v konopných semenech. Přispívá ke snížení únavy a významně podporuje imunitu. Dalšími zástupci jsou vitamín B1, B2 a B6 [27].

2.4.3 Fenolické látky

Fenolické látky jsou rozsáhlou a neobyčejně různorodou skupinou sekundárních metabolitů. Rostlinné fenolické látky vznikají jen malým počtem několika základních biogenetických drah, které vedou k omezenému počtu dvou či tří klíčových meziproductů. Z těch pak dále vznikají jednoduchými enzymatickými transformacemi stovky až tisíce tzv. periferních derivátů. Nejběžnější typy rostlinných fenolických látek lze klasifikovat například podle počtu uhlíků a jejich vzájemných vazeb: jednoduché fenoly, benzofenony s dibenzopyrany, fenolické kyseliny a aldehydy, antrachinony a stilbeny [29].

Největší koncentrace konopných fenolů je hlavně v semínku, ale také v listech nebo květech. Fenoly nacházející se v květech nazýváme fenoly a flavonoidy, které jsou podrobněji popsány v kapitole 2.3.4. V semínku můžeme najít například kyselinu hydroxyskořicovou nebo lignamidy. Ze zástupců flavonoidů obsahuje konopná rostlina apigeniny a kanflaviny [11].

2.5 Využití konopí

Existuje celá řada alternativních způsobů, jak využít technické konopí v různých průmyslech. Traduje se, že první surovinou pro výrobu tkaniny nebyla bavlna, ale právě konopí. První zmínky o pěstování a zpracování pocházejí z Číny. V textilním průmyslu se využívají zejména stonky, které obsahují vlákna potřebná k šití plátna, potahových látek, ale také k výrobě kobereců, provazů, těsnícího materiálu nebo v automobilovém průmyslu výplně dveří. Z konopného vlákna lze vyrobít i obuv. Konopí seté je v současnosti významným zdrojem celulózy. Díky tomu můžeme z konopí vyrobit mnoho zajímavých papírenských výrobků. Při výrobě jsou používány dlouhá a krátká vlákna. Z dlouhých vláken vzniká vysoce kvalitní papír například na výrobu knih nebo časopisů. Krátká vlákna jsou využívána k výrobě toaletního nebo balicího papíru [30].

Konopí je bylina léčivá i užitková. O jejím nezměrném léčebném potenciálu se dozvídáme již z nejstarších dochovaných lékopisů. I z mnoha dalších písemných dokladů a archeologických nálezů je zřejmé, že lidé ji objevovali, znali a prakticky využívali po tisíce let. Léčebná síla konopí se přitom neukrývá pouze v nejčastěji užívaných sušených listech a květech samičích rostlin a jejich pryskyřici. Konopí totiž léčí již jako mladá rostlina, například v podobě čerstvé šťávy. Léčí také konopná vlákna, jež byla dříve přikládána na poranění a popáleniny. Léčebné účinky má i konopné semeno a v něm obsažený olej [31].

2.6 Kůže

Jedná se o největší orgán pokrývající zevní část lidského těla. Její celkový povrch nabývá až 2 m². Skládá se ze tří částí: pokožka, škára a podkožní tkáň. K hlavním funkcím kůže se patří termoregulace, ochrana, smyslové citění a účast na látkové výměně. S dalšími orgány vytváří bariérový kožní systém. Co se týče tloušťky kůže, záleží, na jakém místě na těle se nachází. Z hlediska pokožky se dělí na dva základní typy, a to na tlustý typ s hladkou kůží bez vlasů a silnou rohovitou vrstvou, například dlaně a chodidla, a tenký typ s ochlupenou kůží, která pokrývá 90 % povrchu těla. Přes kůži dochází ke vstřebávání látek rozpustných v plynech a tucích. Navíc také vylučuje maz, vodu a soli [32].

Konopný olej udržuje vlhkost pleti v rovnováze, a tak brání jejímu předčasnému stárnutí. Pomáhá k tomu, aby pokožka byla jemná, hladká, měkká a hydratovaná. Může zmírnit také některé kožní stavy – zejména ekzém, akné a psoriázu i zánět kůže dermatitidu. Mýdla obsahující konopný olej příznivě působí na hojení jizev, strií a akné. Regenerují pokožku a zabraňují jejímu vysoušení [33].

2.7 Vlasy

Vlasy se řadí mezi kožní útvary tvořené keratinem. Místo, ze kterého každý vlas vyrůstá, se nazývá vlasový folikul neboli váček. Jedná se o druh pokožky, která je vychlípená do škáry. Tyto váčky se tvoří již při vývoji plodu, po narození se žádné další folikuly netvoří. Na hlavě se jich vytvoří okolo jednoho milionu, na těle až pětkrát více.

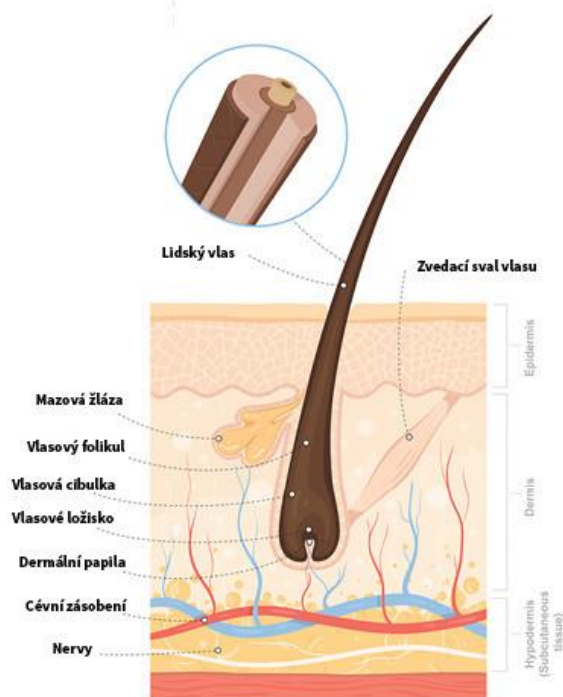
Podle tvaru průřezu jsou vlasy rozděleny na tři druhy, a to na rovné, vlnité a kudrnaté. Každý den vyroste vlas o cca 0,5 milimetrů, záleží však na jeho umístění a na pohlaví člověka [34].

Protein, základní stavební složka vlasu, je ve vodě nerozpustný, a proto do něj jen tak něco nevstoupí, nestane se jeho součástí. Šupinky tvořící povrch vlasu jsou také tvořené proteiny, které drží pohromadě díky různým aminokyselinám. Polypeptidové řetězce ve vlasu jsou příčně spojené čtyřmi typy vazeb: vodíkovou, iontovou, disulfidickou a peptidovou. Pokud se rozpojí všechny vazby, poškození vlasu je nevratné. Jak už bylo řečeno, upravený hydrolyzovaný protein dokáže vstoupit do kutikuly a uchytit se v ní. Tím vyplní malé trhlinky, které mohly vzniknout nešetrným mechanickým, ale i chemickým zacházením. Proteiny, které jsou obsaženy v konopí, přispívají k tvorbě keratinu, jehož silná vrstva pomáhá předcházet lámavosti vlasů [35].

2.7.1 Stavba vlasu

Skládá se z vlasového kořene, který je uložen již ve zmíněném vlasovém váčku. Ten je v dolní části rozšířen ve vlasovou cibulku. Uvnitř cibulky se nachází vazivová papila s kapilárami, jež zajišťují výživu vlasové cibulky. V místě škáry do folikuly vyúsťují potní apokrinní a mazové žlázy. Pod mazovou žlázou se na váček upíná sval zvaný vzpřimovač vlasu. Stvol vlasu se postupně ztenčuje. Kůra vlasů je tvořena keratinocyty, což jsou zrohovatělé protažené buňky pokryté kutikulou. Zůstávají pevně spojené, narozdíl od pokožky. V kůře vlasu se také nachází melanin, což je barvivo, které určuje barvu vlasů. S věkem se barvivo z vlasů vytrácí. Proces šedivění ale není příčinou ztráty pigmentu. Je to způsobeno přítomností vzduchových bublinek mezi buňkami vlasu [36].

ANATOMIE VLASU



Obrázek 4. Anatomie vlasu [37]

2.8 Charakteristika použitých mikroorganismů

2.8.1 *Candida glabrata* CCM 8270

Jedná se o druh haploidních kvasinek rodu *Candida*, dříve známe jako *Torulopsis glabrata*. Tato kvasinka jako jediná z rodu netvoří pseudohyfy při teplotě vyšší než 37 °C [38]. *Candida glabrata* je součástí přirozené mikroflóry. Má také vysokou odolnost vůči některým antimykotickým lékům, což může ztížit léčbu. Kvasinky rodu *Candida* způsobují infekci zvanou kandidóza. Jedná se o infekci uvnitř těla, která může mít dopad na vnitřní orgány nebo jiné části těla [39].

Tabulka 1. Klasifikace *C. glabrata* [40]

Klasifikace	
Doména	<i>Fungi</i>
Kmen	<i>Ascomycota</i>
Třída	<i>Saccharomycetes</i>
Řád	<i>Saccharomycetales</i>
Čeleď	<i>Saccharomycetaceae</i>
Rod	<i>Candida</i>
Druh	<i>Candida glabrata</i>

2.8.2 *Micrococcus luteus* CCM 1569

Řadí se mezi grampozitivní bakterie rodu *Micrococcus*, jež vykazují kulovitý tvar. Buňky jsou uspořádány v tetradách. Kultivují se při teplotě 25-37°C. Jsou nepohyblivé a živí se chemoorganotrofně [41].

Tabulka 2. Klasifikace *M. luteus* [42]

Klasifikace	
Doména	<i>Bacteria</i>
Kmen	<i>Actinobacteria</i>
Třída	<i>Actinobacteria</i>
Řád	<i>Actinomycetales</i>
Čeď	<i>Micrococcaceae</i>
Rod	<i>Micrococcus</i>
Druh	<i>Micrococcus luteus</i>

2.8.3 *Escherichia coli* CCM 7395

E. coli je gramnegativní bakterie rodu *Escherichia*. Jedná se o tyčinkovitou bakterii, která netvoří spory. Běžně se vyskytuje ve střevním traktu vyšších obratlovců a lidí. Kultivuje se při minimální teplotě 37 °C. Bakterie je značně odolná a ve vlhkém prostředí dlouho přetrvává vitální. Většina kmenů *E. coli* je za běžných podmínek nepatogenní. Ovšem za určitých okolností, jako je nemoc nebo oslabení organismu, se chovají jako patogeny, které mohou způsobit akutní i chronické zánětlivé procesy [43].

Tabulka 3. Klasifikace *E. coli* [44]

Klasifikace	
Doména	<i>Bacteria</i>
Kmen	<i>Proteobacteria</i>
Třída	<i>Gammaproteobacteria</i>
Řád	<i>Enterobacteriales</i>
Čeď	<i>Enterobacteriaceae</i>
Rod	<i>Escherichia</i>
Druh	<i>Escherichia coli</i>

2.9 Použité metody

2.9.1 UV-VIS spektrofotometrie

UV/VIS spektrofotometrie je fyzikálně-chemická metoda, která se řadí mezi molekulovou absorpční spektrometrii. Rozsah vlnových délek, při kterých UV/VIS spektrofotometrie pracuje je v rozmezí 200–800 nm. UV/VIS spektrofotometrie pracuje na principu měření energie pohlcené vzorkem (látkou) při průchodu záření. Měřením jsou získána absorpční spektra, která jsou graficky vyjádřena jako závislost absorbance na vlnové délce. Absorpcí elektromagnetického záření molekulou dojde ke změně elektronového stavu dané látky (molekuly) – dojde k elektronovým přechodům. Jinými variantami spekter jsou závislosti transmitance nebo extinkčního koeficientu na vlnové délce. Nejčastěji se využívá měření absorbance, přičemž závislost absorbance na koncentraci a tloušťce kyvety je popsána matematicko-fyzikální rovnicí plynoucí z Bouguerova–Lambertova–Beerova zákona. Platnost zákona je omezena na zředěné roztoky, protože tvrzení, že extinkční koeficient je nezávislý na koncentraci látky při dané vlnové délce, se vztahuje pouze na zředěné roztoky do koncentrace 10^{-2} mol/dm³. U roztoků s koncentrací nad 10^{-2} mol/dm³ je extinkční koeficient závislý na

indexu lomu roztoku, a tudíž není koeficientem. Extinkční koeficient je pro různé látky charakteristický.

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l$$

kde A = absorbance, ε = molární absorpční (extinkční) koeficient, c = látková koncentrace a l = délka kyvety [45].

2.9.2 Chromatografie

Chromatografie zahrnuje širokou škálu fyzikálních metod pro analýzu nebo separaci komplexních směsí. Tato metoda využívá vysoké rozlišení komponent, což vede k usnadnění separací velmi složitých směsí. Principem chromatografie je dělení složek směsi mezi dvěma fázemi, tzv. mobilní a stacionární, někdy také označovány jako pohyblivá a nepohyblivá fáze. Mobilní fáze může být plynná nebo kapalná, zatímco stacionární fáze může nabývat pouze kapalně nebo pevně skupenství. Kapalnou stacionární fází tvoří vrstva kapaliny nanesená na tuhých částicích nebo na vnitřní stěně kapilární kolony, zatímco pevnou stacionární fází představují malé porézní částice o průměru jednotek až stovek mikrometrů. Podle skupenství mobilní a stacionární fáze se dělí různé chromatografické techniky.

Při průchodu separačním systémem přejde každá složka vzorku mnohokrát z mobilní fáze do stacionární a zpět. V každém okamžiku musí být systém velmi blízko rovnováze, kdy počet částic nově vázaných na stacionární fází je roven počtu, které v daném okamžiku přejdou ze stacionární do mobilní fáze. Tuto rovnováhu popisuje distribuční konstanta KD, která je definovaná pro rovnováhu analytu mezi mobilní a stacionární fází. Časový záznam signálu detektoru, kterým protéká mobilní fáze za kolonou se označuje jako chromatogram. Protože se zóny jednotlivých složek během své cesty kolonou rozšiřují, záznam má tvar chromatografických píků [45, 46].

2.9.3 Agarový difúzní test

Tato metoda se řadí mezi difúzní semikvantitativní metody, které slouží k stanovení citlivosti mikroorganismů k antimikrobiálním látkám. Jedná se o orientační metodu poskytující informace o citlivosti příslušné kultury na danou antimikrobiální látku. V kulturou zaočkovaném agarovém systému dochází k difúzi antimikrobiální látky a tím k potlačení růstu mikroorganismu kolem místa aplikace antimikrobiální látky, čímž jsou vytvořeny prohlubně. Vzniká tak inhibiční zóna, která se hodnotí po 24hodinové inkubaci a citlivost mikroorganismu k dané antimikrobiální látce je vyhodnocena podle velikosti vzniklé inhibiční zóny. Kmeny rezistentní k antimikrobiální látce žádnou inhibiční zónu nevytváří, přičemž rezistence může být získaná nebo přirozená, jejíž příkladem může být nepropustnost vnější membrány gramnegativní bakterie pro danou antimikrobiální látku [47].

2.9.4 Testy cytotoxicity

Cytotoxicita je nejdůležitějším parametrem bezpečnosti při testování kosmetických přípravků, léčiv nebo potravinových doplňků. Jedná se o schopnost dané sloučeniny, která způsobuje buněčnou smrt, a to pomocí změn v buněčném chování nebo v buněčných procesech. *In vitro* testy cytotoxicity jsou založeny na sledování viability buněk, které jsou vystaveny dané testované látce. Existuje několik různých parametrů, podle kterých se posuzuje stav buňky.

Patří mezi ně proliferace buněk, sledování mitochondriální aktivity, integrita buněčné membrány a další. Tyto metody jsou zařazovány mezi metody jednoduché, díky tomu, že umožňují otestovat větší množství vzorků za poměrně krátký čas. Výsledky těchto testů jsou důležitým prvkem pro vývoj nových léčiv a doplňků. Testy mohou probíhat za pomoci redukce tetrazoliových solí, redukce resazurinu, měření množství laktátdehydrogenázy, měření množství ATP nebo barvení trypanovou modří.

Buněčné kultury, které se využívají k testování cytotoxicity materiálů, se získávají izolací z těla laboratorního zvířete nebo člověka. Pro *in vitro* testování toxicity se využívá několik tisíc buněčných kultur, které jsou izolovány z různých zdrojů. Každá buněčná kultura se vyznačuje specifickým stupněm složitosti a příbuznosti se související *in vivo* situací [48].

2.9.4.1 HaCaT linie

HaCaT buňky představují imortalizovanou linii lidských keratinocytů, jejíž využití představuje mnoho výhod. Snadněji se kultivují a buňky pomaleji stárnou. HaCaT buňky se široce využívají pro testování kožní senzitivity a cytotoxicity [48].

2.9.4.2 HeLa linie

HeLa se řadí mezi nesmrtelné buněčné linie lidských epiteliálních nádorových buněk, které byly izolovány v roce 1951. Pocházejí z nádoru děložního hrdla Henrietty Lacks-proto název HeLa. Jedná se o nejstarší využívanou lidskou buněčnou linii v mnoha oborech světového výzkumu zahrnující biologické, chemické a medicínské disciplíny. Byly to první lidské buňky, které byly namnoženy v laboratoři a označeny za „nesmrtelné“, protože nevykazují žádné známky poškození i po mnoha buněčných děleních díky přítomnosti enzymů telomeráz, které se podílí na zpětném prodlužování konců telomer po buněčném dělení [49].

3 CÍLE PRÁCE

Cílem této bakalářské práce, která se zabývá využitím vybraných frakcí technického konopí v kosmetice a farmacii, je vypracování a shrnutí těchto bodů:

- přehledná rešerše o zpracování technického konopí, frakcích a jejich aktivních látek
- optimalizace metod stanovení aktivních složek konopí a jejich biologického účinku
- příprava extraktů z konopí, testování jejich antimikrobiálních a dalších účinků pro využití ve farmacii a kosmetice
- ověření bezpečnosti materiálů pomocí testů cytotoxicity

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Použití chemikálie, přístroje a mikroorganismy

4.1.1 Použité chemikálie

Aceton, p.a., LachNer (ČR)
Agar Powder, Himedia (IND)
Ethanol, p.a., LachNer (ČR)
Fenol, p.a., LachNer (ČR)
Folin-Ciocalteu činidlo, Serva (SRN)
Glukóza monohydrát, p.a., LachNer (ČR)
Fenolftalein, LACHEMA, ČR
Hexan, g. r., LachNer (ČR)
Hydroxid draselný, p.a., LachNer (ČR)
Hydroxid sodný, p.a., LachNer (ČR)
Chlorid sodný, p.a., Lachema (ČR)
Chloroform, PENTA (ČR)
Jodid draselný, p.a., PENTA (ČR)
Jodobromid (98 %), ALFA AESAR, (GB)
Kvasničný extrakt, Himedia (IND)
Kyselina fosforečná, Lachema (ČR)
Kyselina chlorovodíková (35 %), LachNer (ČR)
Kyselina octová, Lachema (ČR)
Kyselina sírová (96 %), LachNer (ČR)
LB medium, SIGMA-ALDRICH (SRN)
NB medium, Himedia (IND)
Pancreatin NB, SERVA (SRN)
Pepsin, SIGMA-ALDRICH (SRN)
Pepton, Himedia (IND)
Škrob rozpustný (podle Laulier) p. a., Lachner, (ČR)
Thiosíran sodný bezvodý, p.a., Lachner (ČR)
Trypton, Himedia (IND)
Uhlíčan sodný, p.a., LachNer (ČR)

4.1.2 Použité přístroje

Analytické váhy Boeco (SRN)
Centrifuga Sigma Laborzentrifugen (SRN)
Předvážky Kern 440-43, Kern & Sohn GmbH (SRN)
Předvážky Scout Pro, OHAUS (USA)
Spektrofotometr VIS, Helios δ , Unicam (GB)
Sušárna, Memmert GmbH + Co. KG (SRN)
Ultrazvuková lázeň PS 02000 (ČR)
Vortex, TK35, Kartell spa (USA)
Běžné laboratorní sklo a vybavení

4.1.3 Použité mikroorganismy

Candida glabrata CCM 8270

Escherichia coli CCM 7395

Micrococcus luteus CCM 1569

4.2 Analyzované konopné frakce

V této bakalářské práci byly analyzovány frakce technického konopí, a to vedlejší produkty jeho zpracování: sedimentační konopný kal a konopné pelety.

4.2.1 Konopný kal

Konopný kal vzniká z konopného oleje. Nejprve dochází k vylisování oleje ze semen, kdy se získává surový olej, které se poté nechá sedimentovat. Poté, co odteče panenský olej, je získán sedimentační kal. Kromě konopného oleje obsahuje také nečistoty ze semínek a proteiny. Díky nim je kal hustší. Pro následné analýzy byly využívány kaly odrůdy Santhica, ze zpracování z roku 2019 a 2020.

4.2.2 Konopná mouka

Jedná se o výlisky, které vznikly lisováním konopných semínek. Pelety, které se zpracovávaly, byly také z odrůdy Santhica, z roku 2019. Pro následné analýzy byly tyto výlisky rozemlety na vibračním mlýnu a následně pomocí sítí rozděleny na frakce podle velikostí částic. Vzniklé frakce byly následně pojmenovány jako konopná mouka. Požadované částice měly velikost 800, 710, 400, 200, 100 a menší než 100 μm . Při síťování bylo zpozorováno, že frakce o velikosti 200 μm obsahovala jako jediná světle zelené a tmavě zelené částice. Částice byly od sebe odděleny a nadále bylo pracováno s každou frakcí zvlášť. Frakce byly pojmenovány jako 200 μm světlá a 200 μm tmavá. Pro následné analýzy bylo pracováno pouze s konopnou moukou o velikosti 710, 400, světlá a tmavá 200 μm .



Obrázek 5. Jednotlivé velikosti částic konopné mouky

4.3 Konopný kal

4.3.1 Stanovení čísla zmýdelnění

Číslo zmýdelnění neboli saponifikační číslo udává hmotnost hydroxidu sodného (v mg) potřebnou k neutralizaci volných i vázaných mastných kyselin v 1 g tuku. Do kádinek byly odváženy 2 g konopných kalů Santhica 2019 a 2020 s přesností na miligramy. Navážky byly kvantitativně převedeny 25 ml hydroxidu draselného o koncentraci 0,5 mol/l do destilační

baňky, byly přidány kousky pemzy a bylo zahájeno zmýdelňování pod zpětným chladičem. Současně byl prováděn i slepý pokus. Po 30 minutách byl proces zastaven, do horkého roztoku byly přidány 3 kapky fenolftaleinu a ihned bylo titrováno odměrným roztokem kyseliny chlorovodíkové, dokud se roztok neodbarvil. Současně byla provedena standardizace kyseliny chlorovodíkové pomocí hydroxidu draselného.

4.3.2 Stanovení čísla kyselosti

Udává množství volných mastných kyselin v tuku, které je vyjádřeno jako hmotnost hydroxidu draselného v mg potřebná k neutralizaci 1 g tuku. Do kádinek byly odváženy 4 gramy konopných kalů typu Santhica 2019 a 2020 s přesností na miligramy. Navážky byly kvantitativně převedeny 100 ml ethanolu do titračních baněk. Směs byla zahřívána na elektrickém vařiči a byla přivedena k varu. Poté byly titrační baňky promíchány, přidaly se 3 kapky fenolftaleinu a za horka bylo titrováno odměrným roztokem hydroxidu draselného do růžovofialového zbarvení, které bylo stále alespoň 30 sekund. Současně byl proveden slepý pokus se 100 ml ethanolu. Také byla provedena standardizace hydroxidu draselného pomocí kyseliny šťavelové.

4.3.3 Stanovení jodového čísla

Jodové číslo stanovené podle Hanuše udává hmotnost jodu v gramech, která se aduje na 100 gramů tuku za vhodných podmínek. Do kádinek byly odváženy 0,4 g konopných kalů s přesností na miligramy. Pomocí 10 ml chloroformu byly navážky převedeny do zábrusových Erlenmeyerových baněk a směs byla mírně zahřívána, aby došlo k rozpuštění. K roztokům bylo napipetováno 15 ml jodmonobromidového roztoku a baňky byly uzavřeny zabroušenými zátkami, které byly ovlhčeny v roztoku jodidu draselného. Baňky byly promíchány a nechány stát 1 hodinu ve tmě za občasného míchání. Po hodině byly zátky opláchnuty destilovanou vodou do baněk a bylo přidáno 25 ml jodidu draselného. Cca po dvou minutách bylo přidáno 100 ml vody a bylo titrováno OR thiosíranu sodného do žlutého zbarvení. Poté bylo přidáno 5 ml škrobového roztoku a bylo titrováno do odbarvení. Stejným postupem byl připraven slepý pokus. Byla provedena standardizace thiosíranu dichromanem draselným.

4.3.4 Stanovení oleje v kalu

Do kádinek bylo naváženo 100 gramů kalů odrůdy Santhica 2019 a 2020. Poté bylo ke každému kalu přidáno 120 ml hexanu. Vzniklá směs byla zfiltrovaná pomocí filtrace za sníženého tlaku automatickou vývěvou. Filtrát byl poté odpařen na vakuové odparce a bylo zjištěno množství oleje v konopných kalech.

4.3.5 Stanovení mastných kyselin pomocí plynové chromatografie

Obsah mastných kyselin byl stanoven pomocí GC po transesterifikaci mastných kyselin ve vzorcích. Mastné kyseliny byly stanovovány v konopném oleji Santhica 2019 a konopných kalech Santhica 2019 a 2020. Do vialek s 300 mg vzorků bylo přidáno 1,8 ml transesterifikační směsi, vialka byla uzavřena a inkubována dvě hodiny v termobloku při 85 °C, kdy došlo k transesterifikaci mastných kyselin. Po ochlazení bylo do 4 ml vialky přidáno 0,5 ml roztoku NaOH o koncentraci 0,05 mol/l. Dále byl přidán obsah uzavřené vialky a 1 ml hexanu pro

HPLC. Směs byla promíchávána po dobu 10 minut na vortexu. Po ustálení fázi byl odpipetován z horní vrstvy 0,1 ml do GC vialky a bylo přidáno 0,9 ml hexanu pro HPLC. Vzorky byly ponechány v mrazáku a následně analyzovány. Byl použit plynový chromatograf Trace GC. Analýza probíhala při 250 °C a trvala cca 30 minut. Získané hodnoty byly vyhodnoceny v programu Chromeleon 7.2 a převedeny do MS excel.

4.3.6 Příprava mýdla

Mýdlo se vyrábí procesem zvaným zmýdelnění, kdy na triacylglyceroly tuku nebo oleje působí alkálie. Jelikož v rámci této bakalářské práce bylo vyrobeno tuhé mýdlo, jako alkálie byl použit hydroxid sodný. Celkem byla vyrobená čtyři mýdla z konopného kalu Santhica 2019 a kokosového oleje v poměrech 80:20, 70:30, 60:40 a 50:50. Celkové množství mýdla bylo vždy 50 g. Hmotnosti hydroxidu sodného byly vypočítány pomocí čísla zmýdelnění, které byly zjištěno z předchozích stanovení. Mýdla byla vytvořena podle následující tabulky.

Tabulka 4. Vypočtené hmotnosti pro přípravu mýdel

Poměr kalu: kokos. oleje (g)	Hmotnost kalu (g)	Hmotnost kokosového oleje (g)	Hmotnost NaOH (g)	Hmotnost vody (g)
80:20	40	10	8,5932	19
70:30	35	15	8,6628	19
60:40	30	20	8,7324	19
50:50	25	25	8,8020	19

Nejprve bylo naváženo množství hydroxidu sodného. Do kádinek byla odvážena destilovaná voda a do ní přidán hydroxid, který byl zcela rozpuštěn. Práce byla kvůli toxickým parám hydroxidu prováděna v digestoři. Do kádinky byla navážena příslušná množství kalu a rozpuštěného kokosového oleje, navíc bylo přidáno 2,5 g konopného oleje do každé kádinky. Vychladnutý hydroxid byl postupně přeléván do směsi za stálého míchání. Jakmile hmota začala houstnout, byla převedena do forem na mýdlo, kde byla ponechána 24 hodin. Po 24 hodinách bylo mýdlo vytaženo z formy a ponecháno při laboratorní teplotě pro dozrání asi tři týdny.



Obrázek 6. Vyrobená mýdla (zleva-50:50, 60:40, 70:30, 80:20)

4.4 Konopná mouka

4.4.1 Příprava hydrolyzátů z konopné mouky

Z vybraných frakcí konopné mouky byly připraveny 2 druhy hydrolyzátů: v destilované vodě a v 1% kyselině sírové. Na předvážkách bylo odváženo 20 g z každé frakce. Navážky byly kvantitativně převedeny do pyrexových nádob, které obsahovaly 200 ml 1% H₂SO₄ a destilované vody. Nádoby byly vloženy do autoklávu. Po autoklávování byla část obou hydrolyzátů každé velikosti částic odebrána a přelita vždy do dvou zkumavek, do kterých byly napipetovány enzymy. Do jedné zkumavky bylo přidáno 200 μl pepsinu a do druhé 200 μl pankreatinu. Následně byly vzorky upravené na požadované pH a ponechány na třepačce 24 hodin při 75 °C.

Pro následné analýzy bylo tedy pracováno se šesti druhy vzorků pro každou velikost částic konopné mouky: hydrolyzáty ve vodě, ve vodě obsahující pepsin, ve vodě s přídatkem pankreatinu, v H₂SO₄, v H₂SO₄ s přídatkem pepsinu a v H₂SO₄ s přídatkem pankreatinu. V dalších částech této bakalářské práce je pracováno se zkratkami názvů hydrolyzátů uvedených v tabulce 5.

Tabulka 5. Přehled konopných hydrolyzátů

Zkratka	Hydrolyzát
H ₂ O-pep	Vodný hydrolyzát s přídatkem pepsinu
H ₂ O-pan	Vodný hydrolyzát s přídatkem pankreatinu
H ₂ SO ₄ -pep	Kyselý hydrolyzát s přídatkem pepsinu
H ₂ SO ₄ -pan	Kyselý hydrolyzát s přídatkem pankreatinu
H ₂ O	Vodný hydrolyzát
H ₂ SO ₄	Kyselý hydrolyzát

4.4.2 Stanovení celkových sacharidů dle Dubiose

Celkové sacharidy byly stanoveny spektrofotometricky podle Duboise. Kalibrační křivka byla sestavena ze základního vodního roztoku glukózy o koncentraci 1 mg/ml. Bylo měřeno koncentrační rozpětí 0,02-0,1 mg/ml. Do zkumavky byl přidán 1 ml konopného hydrolyzátu, poté 1 ml 5% roztoku fenolu a postupně 5 ml koncentrované kyseliny sírové. Přidávání fenolu a kyseliny sírové bylo prováděno v digestoři. Směs byla důkladně protřepána a ponechána stát 30 minut při laboratorní teplotě. Po uplynutí 30 minut byla při vlnové délce 490 nm změřena absorbance oproti slepému vzorku. Případné ředění směsi bylo provedeno destilovanou vodou.

4.4.3 Stanovení proteinů metodou Bradfordové

Proteiny byly stanoveny spektrofotometrickou metodou pomocí činidla Bradfordové obsahujícího barvivo Coomassie Blue G250. Po vazbě barviva na proteiny dochází k barevné změně odpovídající množství proteinů. Byl připraven standardní roztok proteinu o koncentraci 25 μg/ml zředění kalibračního standardu BSA 10x, pomocí něj byla sestavena kalibrační křivka. Do zkumavky byl napipetován 1 ml hydrolyzátu. Poté byly přidány 2 ml činidla Bradfordové, směs byla důkladně promíchána a inkubována 5 minut při laboratorní teplotě. Následně byla změřena absorbance při vlnové délce 795 nm oproti blanku.

4.4.4 Stanovení celkových polyfenolů

Ke stanovení celkových polyfenolů se využívá spektrofotometrická metoda s Folin-Ciocalteuovým činidlem, kdy jeho redukcí vzniká modře zbarvený produkt. Do zkumavky byl přidán vždy 1 ml Folin-Ciocalteuova činidla zředěného v poměru 1:9 destilovanou vodou, 1 ml destilované vody a 100 µl hydrolyzátu konopí. Směs byla důkladně promíchána a po 5 minutách byl přidán 1 ml nasyceného roztoku Na₂CO₃, který byl připraven rozpuštěním 29,5 g Na₂CO₃ v 95 ml destilované vodě. Směs byla opět promíchána a ponechána 15 minut stát. Poté byla změřena absorbance roztoku při vlnové délce 750 nm, kdy intenzita modrého zbarvení odpovídá koncentraci celkových polyfenolů ve vzorku. Slepý pokus byl proveden stejným způsobem, avšak místo vzorku byla přidána destilovaná voda. Výsledná koncentrace byla stanovena z kalibrační křivky standardu kyseliny gallové, a to v koncentračním rozmezí 0-0,5 mg/ml. Výsledné množství bylo přepočítáno na 1 g vzorku.

4.4.5 Stanovení chlorofylů

Chlorofyly se řadí mezi lipofilní barviva. Množství chlorofylu a i b se stanovuje spektrofotometrickou metodou při vlnové délce 645 nm a 663 nm, kdy se využity níže uvedené rovnice. Hydrolyzáty byly nality do kyvety a byla změřena absorbance při již zmíněných vlnových délkách oproti slepému vzorku.

$$c_a = 12,70 \cdot A_{663} - 2,69 \cdot A_{645} \quad [mg \cdot l^{-1}]$$

$$c_b = 22,90 \cdot A_{645} - 4,68 \cdot A_{663} \quad [mg \cdot l^{-1}]$$

4.4.6 Stanovení antimikrobiální aktivity

4.4.6.1 Použité mikroorganismy a kultivační média

Použité mikroorganismy jsou popsány v kapitole 2.8. Pro kultivaci mikroorganismů bylo v Erlenmeyerově baňce připraveno 150 ml tekutého média, pro každý mikroorganismus jiné. Z každého média bylo odlito 50 ml a do nich byla zaočkována dlouhodobě uchovávaná kultura. Kultivace probíhala 24 hodin na temperované třepačce při 37 °C. Takto připravená inokula byla následně použita k agarovému difuznímu testu.

Do 100 ml médií bylo přidáno 5 g agaru, média byla sterilována při 120 °C po dobu 45 minut. Příprava a práce s kulturami byla prováděna ve sterilním boxu.

Tabulka 6. Složení jednotlivých médií

Mikroorganismus	Médium	Složka	Množství (g)
<i>Candida glabrata</i>	YPD	Pepton	3
		Glukóza	3
		Kvasničný extrakt	1,5
<i>Escherichia coli</i>	LB	Trypton	1,5
		Kvasničný extrakt	0,75
		NaCl	1,5
<i>Micrococcus luteus</i>	NB	Pepton	1,5
		Hovězí extrakt	1,5
		NaCl	0,75

4.4.6.2 Agarový difuzní test

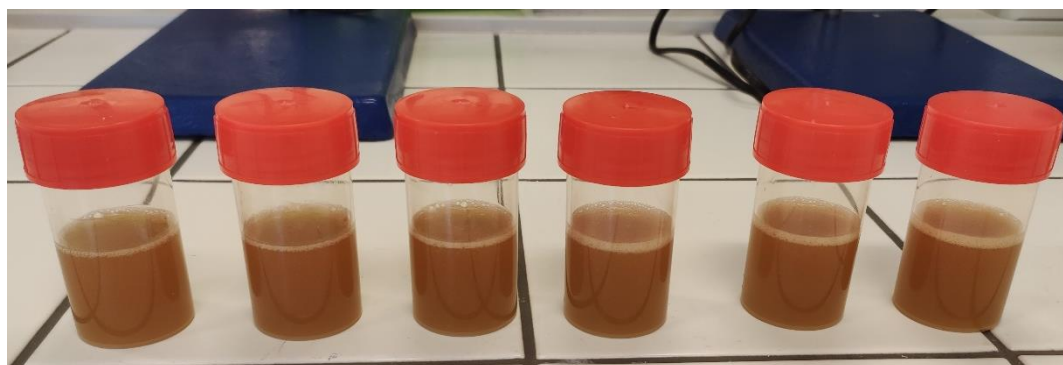
Po vysterilizování médií, která byla popsána v kapitole 4.4.6.1, byla média za horka nalita do plastových Petriho misek. Po ztuhnutí byly misky zaočkovány 60 μ l příslušného inokula obsahující daný mikroorganismus. Do agaru byly vloženy sterilní papírky, na které bylo pipetováno 20 μ l každého analyzovaného vzorku se slepým vzorkem. Takto zaočkované Petriho misky byly kultivovány po dobu 24 hodin při teplotě 37 °C.

4.4.7 Příprava šamponu

Kosmetický šampon obsahující vodný hydrolyzát konopné mouky o velikosti částic 200 μ m světlá byl připraven podle Tabulky 7 na celkovou hmotnost 200 g. Do kádinky obsahující 26% laurylethersulfát sodný a CADP Betaine byl přidán hydrolyzát a glycerin. Poté byl přidáván chlorid sodný až do požadované hustoty šamponu. Nakonec byla přidána vůně Tea tree oil a konzervant.

Tabulka 7. Složení konopného šamponu

Surovina	Množství (g)	Procentuální zastoupení (%)
CADP Betaine	30	15,0
26% SLES	65	32,5
Konopný hydrolyzát	91,2	45,6
Glycerin	10	5,0
NaCl	1	0,5
Vůně	1	0,5
Konzervant	1,8	0,9



Obrázek 7. Připravený šampon s konopným hydrolyzátem

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 Konopný kal

5.1.1 Stanovení čísla zmýdelnění

V kapitole 4.3.1 je popsána metoda, kterou bylo stanoveno číslo zmýdelnění v konopném kalu rodu *Santhica* z roku 2019 a 2020. Z každého kalu bylo číslo zmýdelnění stanoveno třikrát a poté byla vypočítána průměrná hodnota všech tří stanovení. Výsledná saponifikační čísla jsou uvedena v následující tabulce 8.

Tabulka 8. Stanovená čísla zmýdelnění

Typ konopného kalu	Číslo zmýdelnění (mg/g)
<i>Santhica</i> 2019	169,08
<i>Santhica</i> 2020	165,97

Protože konopný kal obsahuje mimo mastných kyselin také proteiny, hodnoty saponifikačních čísel kalů se lehce liší od hodnoty čísla zmýdelnění pro konopný olej. Ta je rovna 138 mg/g [50]. Jedná se sice o desítky miligramů, ale při výrobě mýdla, u kterého chceme docílit určitých vlastností, musí být toto číslo velmi přesné. Z tabulky 8 vyplývá, že při výrobě mýdla z kalu *Santhica* 2020 by bylo použito méně hydroxidu sodného než při použití kalu 2019.

5.1.2 Stanovení čísla kyselosti

Číslo kyselosti bylo stanoveno metodou popsanou v kapitole 4.3.2. Jeho hodnota závisí na stáří tuků a olejů, kdy dochází ke štěpícím procesům v triacylglycerolech, uvolňování mastných kyselin a tím pádem ke zvýšení čísla kyselosti. V následující tabulce jsou zobrazeny výsledná stanovená čísla kyselosti konopných kalů *Santhica* 2019 a 2020, která vznikla průměrnou hodnotou tří stanovení.

Tabulka 9. Stanovená jodová čísla

Typ konopného kalu	Číslo kyselosti (mg KOH/g)
<i>Santhica</i> 2019	42,6
<i>Santhica</i> 2020	47,3

Pro srovnání výsledků bylo využito standardní číslo kyselosti konopného oleje, které se udává v rozptylu 1,5-2,2 mg KOH/g [51]. Z tabulky vyplývá, že čísla kyselosti konopných kalů jsou mnohem vyšší než srovnávací číslo. V tomto případě je to způsobeno právě stářím kalů, kdy postupem času docházelo ke štěpícím procesům, způsobující uvolňování volných mastných kyselin a tím pádem ke zvýšení čísel kyselosti.

5.1.3 Stanovení jodového čísla

Jodové číslo je hodnota obsahu nenasycených mastných kyselin, respektive obsahu dvojných vazeb v analyzovaném vzorku. V kapitole 4.3.3 je popsán postup, kterým byla stanovená jodová čísla kalů *Santhica* 2019 a 2020. Čím nižší je hodnota jodového čísla, tím odolnější je olej proti žluknutí. V tabulce 10 můžeme pozorovat stanovená výsledná čísla.

Tabulka 10. Stanovená jodová čísla

Typ konopného kalu	Jodové číslo (g I ₂ /100 g)
Santhica 2019	68,01
Santhica 2020	70,93

Tyto hodnoty byly porovnány se standardizovanými jodovými čísly pro konopný olej. Jodové číslo konopného oleje se pohybuje v rozmezí 154-165 g jodu na 100 g tuku [52]. Stanovená čísla byla nižší, než je uvedeno v publikaci. Je to způsobeno tím, že konopný kal nepředstavuje 100% konopný olej. Konopný olej na rozdíl od sedimentačních kalů neobsahuje zbytky frakcí, například zbytky semínek.

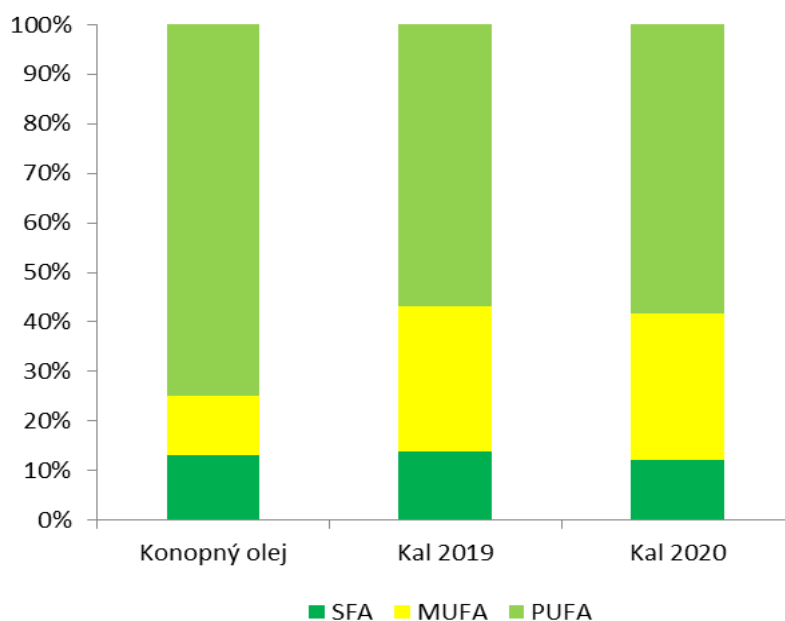
5.1.4 Stanovení oleje v kalu

Podle postupu uvedeném v kapitole 4.3.4 bylo stanoveno množství oleje v konopných kalech Santhica 2019 a 2020. Bylo zjištěno, že 100 gramů konopného kalu Santhica 2019 obsahovalo 51,75 gramů čistého oleje a 100 gramů konopného kalu Santhica 2020 obsahovalo 45,45 gramů oleje. Dá se tedy říci, že konopné kaly Santhica 2019 a 2020 byly zhruba z poloviny tvořeny konopným olejem.

5.1.5 Stanovení profilu mastných kyselin pomocí GC

Profil mastných kyselin byl stanoven plynovou chromatografií postupem popsáným v kapitole 4.3.5. Tyto výsledky jsou znázorněny na obrázku 8. Mastné kyseliny byly stanovovány v konopných kalech Santhica 2019 a 2020, a pro porovnání výsledků byl stanoven také konopný olej. Obsah polynenasycených mastných kyselin u konopného oleje byl trochu větší než u obou konopných kalů. To je zřejmě způsobeno tím, že kaly byly déle skladované a mohlo tak dojít k částečné oxidaci polynenasycených mastných kyselin. Pro srovnání byly použity výsledky z diplomové práce [53] z roku 2021, kde byly analyzovány stejné kaly. Darina pracovala se stejnými kaly. Předchozí ukazují, že procentuální zastoupení PUFA bylo okolo 75 %, výsledky získané v této práci udávají u kalu 2019 56,8 % a u kalu 2020 58,2 %. Nicméně je tento obsah PUFA v kalech stále vysoký a tyto kaly mohou být dále využity v kosmetice nebo potravinářství.

Naopak obsahy mononenasycených mastných kyselin obou kalů byly větší než u konopného oleje.



Obrázek 8. Profil mastných kyselin

5.1.6 Analýza konopných mýdel

Podle postupu popsáném v kapitole 4.3.6 byla vyrobena čtyři konopná mýdla. Každé mýdlo obsahovalo konopný kal odrůdy Santhica 2019 a konopný olej. Mýdla se od sebe lišila v poměru těchto látek. Následně byly provedeny analýzy vlastností všech mýdel.

Co se týče barvy a vzhledu, nejtmaší zelenohnědou barvu mělo mýdlo, které bylo tvořeno kalem a kokosovým olejem v poměru 80:20. Mýdla s poměry látek 70:30 a 60:40 měly velmi podobnou tmavě zelenou barvu. Nejsvětlejší zelenou barvu mělo mýdlo v poměru látek 50:50, protože obsahovalo nejméně konopného kalu ze všech. Vzhled mýdel je vyobrazen na obrázku 9.

Vůně mýdel byla hodnocena na základě intenzity specifické vůně konopí. U všech mýdel byla nejintenzivnější vůně u mýdla s poměrem látek 80:20, slaběji voněla mýdla s poměrem látek 70:30 a 60:40. U mýdla s poměrem látek 50:50 nebyla vůně konopí cítit.

Dalším hodnotícím prvkem byla pevnost a tvrdost mýdel. Všechna mýdla byla velmi pevná, avšak mýdlo s poměrem látek 50:50 bylo nejpevnější. Jak už bylo řečeno v kapitole 4.2, konopný kal se složen z oleje a proteinu. Jelikož neobsahuje pouze konopný olej, bylo stanoveno saponifikační číslo z konopného kalu. Ke zjištění čísla zmýdelnění kokosového olej byl použit online kalkulačtor [54]. Poté byl vytvořen recept k výrobě mýdel. Online kalkulačka pracuje s mastnými kyselinami na základě jejich zastoupení v různých olejích. Podle toho kalkulačtor určuje rozmezí hodnot pro různé parametry, jako je tvrdost nebo pěnivost mýdel. Rozmezí pevnosti mýdel udává kalkulačtor v rozptylu 29-54. Po zadání hodnot do kalkulačky pro konopný a kokosový olej v poměru 50:50 byla tvrdost stanovena na 44. Dále bylo ověřeno, že čím více mýdlo obsahuje konopného oleje, tím je méně pevné. Tato čísla jsou ale pouze orientační, protože mýdla v této práci byla vyrobena z konopného kalu, a ne z oleje. Co se ale týče seřazení mýdel od málo pevného po nejpevnější, pořadí vyrobených mýdel z kalu a potenciálních mýdel z oleje je shodné.

Dále byl hodnocen řez mýdel. Na Obrázku 9 vidíme, že mýdla s poměrem kalu a kokosového olej 80:20, 70:30 a 60:40 po odřezání části mýdla zůstala pevná, kdežto mýdlo s poměrem látek 50:50 se pořezu lámalo. Na řezu bylo mýdlo matné, kdežto zbylá mýdla se na řezu leskla.



Obrázek 9. Analýza mýdel (zleva 80:20, 70:30, 60:40, 50:50)

Čistící vlastnosti mýdel byly zkoumány na schopnosti umytí mastné kádinky. V této kategorii uspěla všechna mýdla.

Posledním hodnotícím atributem byla pěnivost mýdel, respektive jejich schopnost tvoření bublinek. Všechna mýdla byla opláchnuta vodou a byly vytvořeny bublinky. Ty byly přeneseny na podložní sklíčko a zkoumány od mikroskopem s možností vyfocení bublinek při zvětšení 40x. Tímto bylo prokázáno, že všechna mýdla jsou schopna bublinky tvořit. Vznikaly velmi velké i malé řádu setin až desetin milimetrů bublinky. Mezi jednotlivými mýdly nebyl tedy žádný rozdíl. Fotky jsou vloženy v Příloha 3.

Po analýze bylo mýdlo s poměrem látek 80:20 rozděleno a dáno testovat do čtyř rodin dobrovolníků, respektive šestnácti lidem. Respondentům bylo řečeno, že mají používat po dobu pěti dnů pouze toto vyrobené mýdlo. Měli pozorovat, jaké má mýdlo účinky po umývání. Vyhodnocení neproběhlo formou dotazníku, nýbrž společnou debatou. Po pěti dnech používání mýdla bylo zjištěno, že dlaně jsou působením mýdla hladší. Také bylo zjištěno, že kůže na ruce nevykazuje známky suchosti. Dokonce u jednoho případu mělo mýdlo velmi pozitivní vliv na léčbu popraskané kůže na dlaních.

Všechny sledované vlastnosti byly subjektivní. Mýdlo ale bylo testováno na malém počtu jedinců, takže by bylo dobré provést rozsáhlejší výzkum.

5.2 Konopná mouka

5.2.1 Stanovení celkových sacharidů dle Dubiose

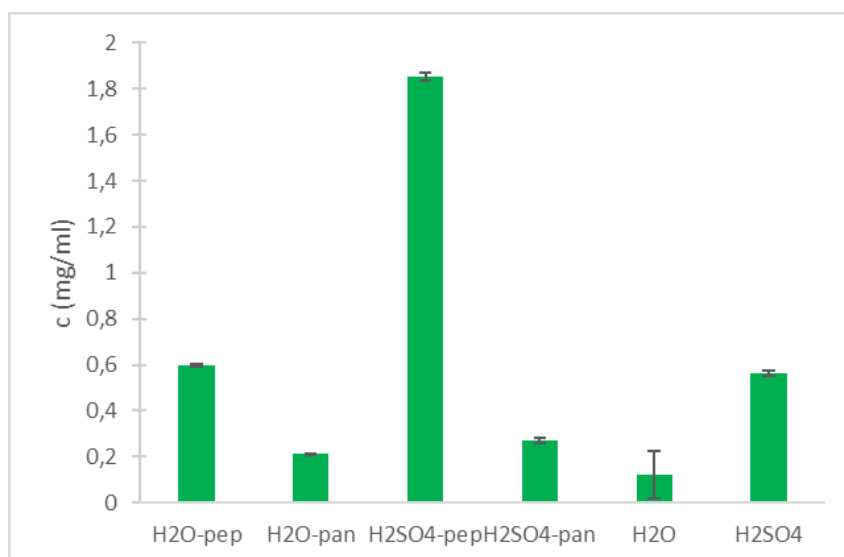
Obsah celkových sacharidů byl stanoven metodou dle Duboise popsanou v kapitole 4.4.2. Absorbance každého vzorku hydrolyzátu byla změřena při vlnové délce 490 nm celkem třikrát a pro výpočet výsledné koncentrace byla tato hodnota zprůměrována. Pomocí roztoku glukosy o koncentraci 1 mg/ml byla se stavena kalibrační přímka pro výpočet výsledných obsahů sacharidů v konopných hydrolyzátech. Kalibrační křivka je součástí Příloha 1. Výsledné koncentrace jsou vyobrazeny v tabulce 11.

Tabulka 11. Výsledný obsah sacharidů v konopných hydrolyzátech

710 μm		400 μm	
Hydrolyzát	c (mg/ml)	Hydrolyzát	c (mg/ml)
H ₂ O-pep	0,60 \pm 0,01	H ₂ O-pep	0,78 \pm 0,02
H ₂ O-pan	0,21 \pm 0,00	H ₂ O-pan	0,18 \pm 0,01
H ₂ SO ₄ -pep	1,85 \pm 0,02	H ₂ SO ₄ -pep	0,44 \pm 0,01
H ₂ SO ₄ -pan	0,27 \pm 0,01	H ₂ SO ₄ -pan	0,19 \pm 0,01
H ₂ O	0,12 \pm 0,10	H ₂ O	0,05 \pm 0,02
H ₂ SO ₄	0,56 \pm 0,01	H ₂ SO ₄	0,22 \pm 0,01
200 sv μm		200 tm μm	
Hydrolyzát	c (mg/ml)	Hydrolyzát	c (mg/ml)
H ₂ O-pep	0,91 \pm 0,03	H ₂ O-pep	0,37 \pm 0,01
H ₂ O-pan	0,55 \pm 0,01	H ₂ O-pan	0,38 \pm 0,10
H ₂ SO ₄ -pep	0,66 \pm 0,02	H ₂ SO ₄ -pep	0,70 \pm 0,03
H ₂ SO ₄ -pan	0,21 \pm 0,01	H ₂ SO ₄ -pan	0,30 \pm 0,02
H ₂ O	0,49 \pm 0,03	H ₂ O	0,99 \pm 0,01
H ₂ SO ₄	0,54 \pm 0,02	H ₂ SO ₄	0,19 \pm 0,01

5.2.1.1 Hydrolyzáty s konopnou moukou o velikosti 710 μm

Na obrázku 10 můžeme vidět, že nejvyšší koncentrace sacharidů byla stanovena v hydrolyzátech obsahující enzym pepsin. Koncentrace činila 1,85 mg/ml. Tato koncentrace byla mnohem vyšší než u ostatních hydrolyzátů. Nicméně u zbylých hydrolyzátů můžeme pozorovat podobné koncentrace sacharidů. Nejnižší obsah byl naměřen u vodného hydrolyzátu.

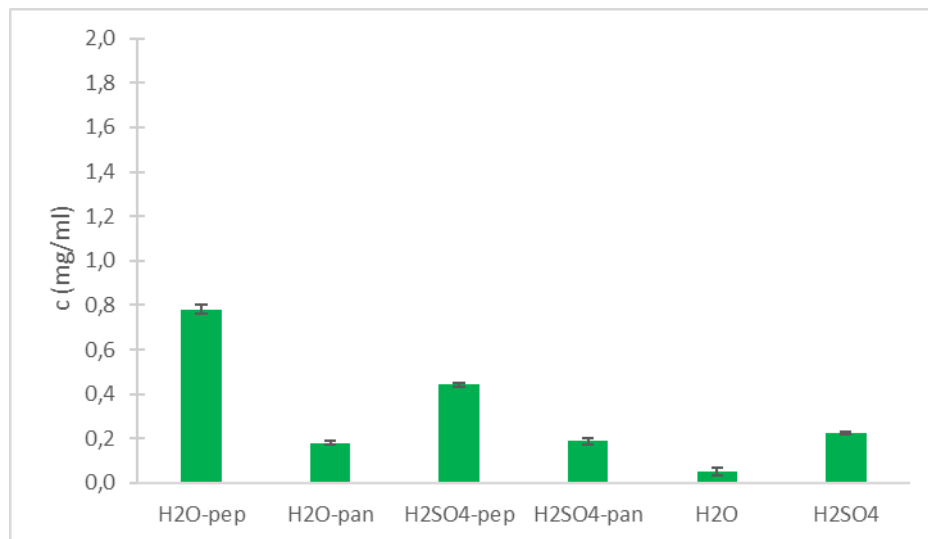


Obrázek 10. Výsledný obsah sacharidů v hydrolyzátech s konopnou moukou o velikosti 710 μm

5.2.1.2 Hydrolyzáty s konopnou moukou o velikosti 400 μm

Ve srovnání s výsledky hydrolyzátů o velikosti částic 710 μm můžeme pozorovat, že množství sacharidů v hydrolyzátech obsahující pankreatin byla téměř shodná. Z toho můžeme

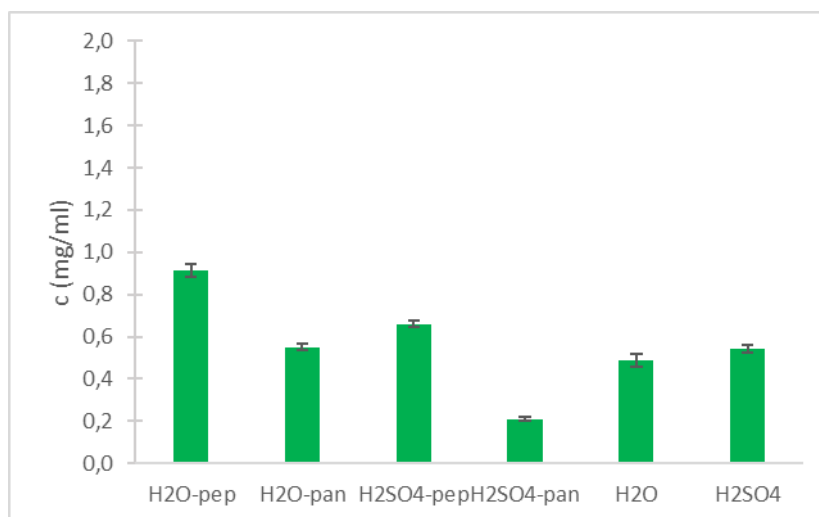
předpovídat, že pankreatin nemá na množství proteinů v hydrolyzátech značný vliv. Vodný hydrolyzát opět vykazoval nejmenší koncentraci proteinů. Nejvyšší koncentrace byla stanovena na 0,78 mg/ml u vodného hydrolyzátu obsahující pepsin.



Obrázek 11. Výsledný obsah sacharidů v hydrolyzátech s konopnou moukou o velikosti 400 µm

5.2.1.3 Hydrolyzáty s konopnou moukou o velikosti 200 µm světlá

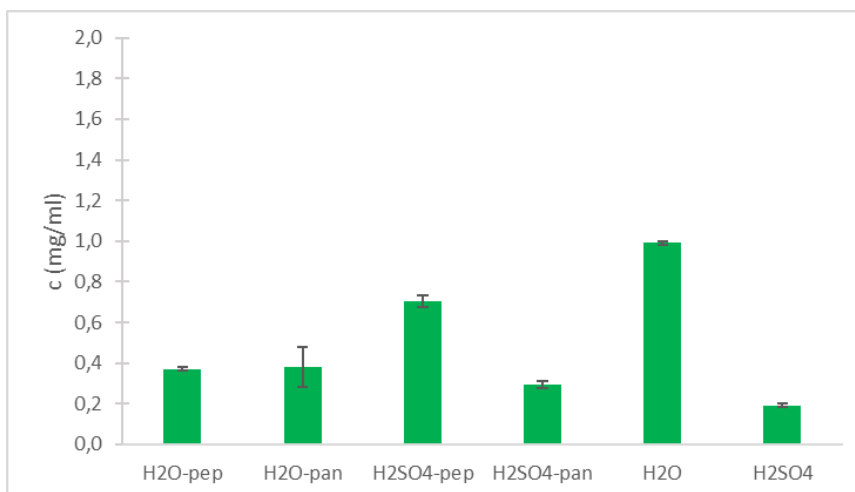
Na obrázku 12 můžeme vidět, že nejvyšší koncentrace sacharidů byla stanovena u vodného hydrolyzátu obsahující pepsin jako u hydrolyzátů o velikosti částic 400 µm. Obsah byl stanoven na 0,91 mg/ml. Celkové koncentrace hydrolyzátů s konopnou moukou o velikosti částic 200 µm světlá byly větší než u hydrolyzátů s velikostí 400 µm.



Obrázek 12. Výsledný obsah sacharidů v hydrolyzátech s konopnou moukou o velikosti 200 µm světlá

5.2.1.4 Hydrolyzáty s konopnou moukou o velikosti 200 µm tmavá

I když se jedná o hydrolyzáty se stejně velkými částicemi konopné mouky, naměřené výsledky sacharidů tmavých částic se zcela liší od světlých částic. Nejvyšší obsah sacharidů byl naměřen u vodného hydrolyzátu.



Obrázek 13. Výsledný obsah sacharidů v hydrolyzátech s konopnou moukou o velikosti 200 µm tmavá

5.2.2 Stanovení proteinů metodou Bradfordové

Celkové proteiny byly stanoveny metodou Bradfordové, a to podle postupu v kapitole 4.4.3. Každý vzorek hydrolyzátů byl změřen třikrát vlnové délce 595 nm. Zprůměrováním těchto hodnot byla stanovena výsledná absorbance. Pomocí roztoku BSA byla vytvořena kalibrační přímka, podle jejíž rovnice byl následně stanoven obsah proteinů v hydrolyzátech. Kalibrační přímka je znázorněna v Příloha 2. Výsledné hodnoty proteinů jsou znázorněny v tabulce 12.

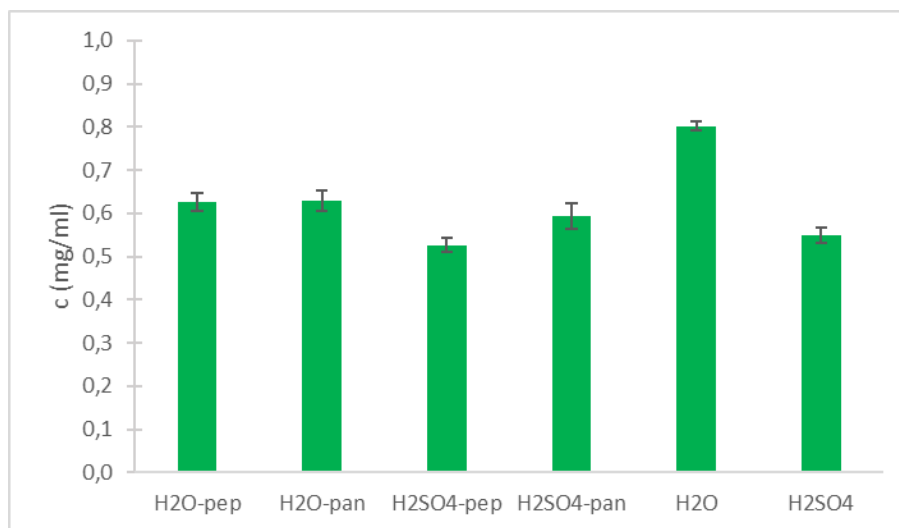
Tabulka 12. Výsledný obsah proteinů v konopných hydrolyzátech

710 µm		400 µm	
Hydrolyzát	c (mg/ml)	Hydrolyzát	c (mg/ml)
H ₂ O-pep	0,63 ± 0,02	H ₂ O-pep	0,75 ± 0,02
H ₂ O-pan	0,63 ± 0,02	H ₂ O-pan	0,70 ± 0,06
H ₂ SO ₄ -pep	0,53 ± 0,02	H ₂ SO ₄ -pep	0,57 ± 0,01
H ₂ SO ₄ -pan	0,59 ± 0,03	H ₂ SO ₄ -pan	0,59 ± 0,03
H ₂ O	0,80 ± 0,01	H ₂ O	0,79 ± 0,02
H ₂ SO ₄	0,55 ± 0,02	H ₂ SO ₄	0,57 ± 0,01
200 sv µm		200 tm µm	
Hydrolyzát	c (mg/ml)	Hydrolyzát	c (mg/ml)
H ₂ O-pep	0,69 ± 0,01	H ₂ O-pep	0,71 ± 0,00
H ₂ O-pan	1,03 ± 0,03	H ₂ O-pan	0,82 ± 0,00
H ₂ SO ₄ -pep	0,61 ± 0,02	H ₂ SO ₄ -pep	0,60 ± 0,01
H ₂ SO ₄ -pan	0,54 ± 0,03	H ₂ SO ₄ -pan	0,75 ± 0,05
H ₂ O	0,82 ± 0,02	H ₂ O	0,84 ± 0,02
H ₂ SO ₄	0,67 ± 0,01	H ₂ SO ₄	0,70 ± 0,01

5.2.2.1 Hydrolyzáty s konopnou moukou o velikosti 710 µm

Na obrázku 14 můžeme pozorovat, že množství proteinů v hydrolyzátech s konopnou moukou o velikosti částic 710 µm ať už vodných nebo kyselých, s přidavkem enzymů pepsinu, pankreatinu nebo bez nich, se nějak extrémně nelišilo. Nejvyšší obsahy bílkovin byly naměřeny

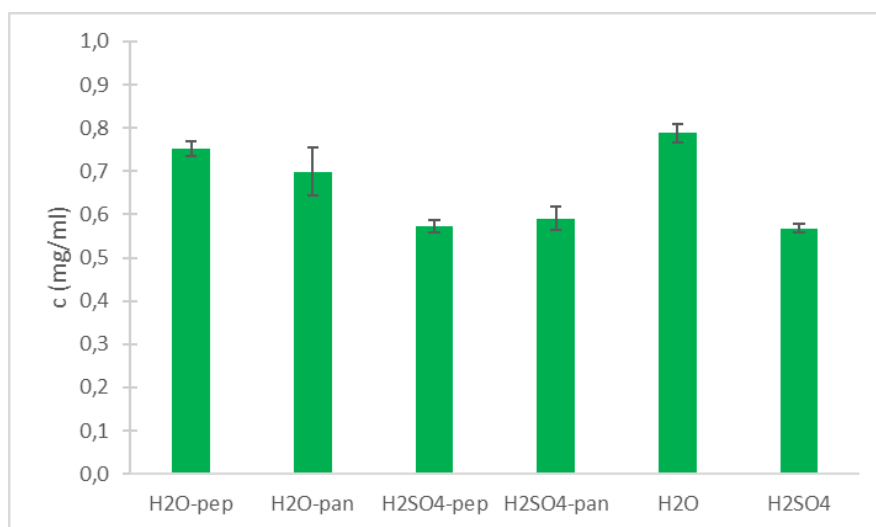
ve vodných konopných hydrolyzátech, což odpovídá očekávání. Kyselina sírová v konopných hydrolyzátech může mít vliv na prostorové uspořádání polypeptidických řetězců bílkovin [55], může je i hydrolyzovat, a proto je množství proteinů v kyselých hydrolyzátech nižší. Nejvyšší obsah proteinů byl naměřen ve vodném hydrolyzátu bez přídavku enzymu. Koncentrace byla stanovena na 0,80 mg/ml. Cílem bylo získat vyšší množství proteinů za pomoci kyseliny sírové.



Obrázek 14. Výsledný obsah proteinů v hydrolyzátech s konopnou moukou o velikosti 710 µm

5.2.2.2 Hydrolyzáty s konopnou moukou o velikosti 400 µm

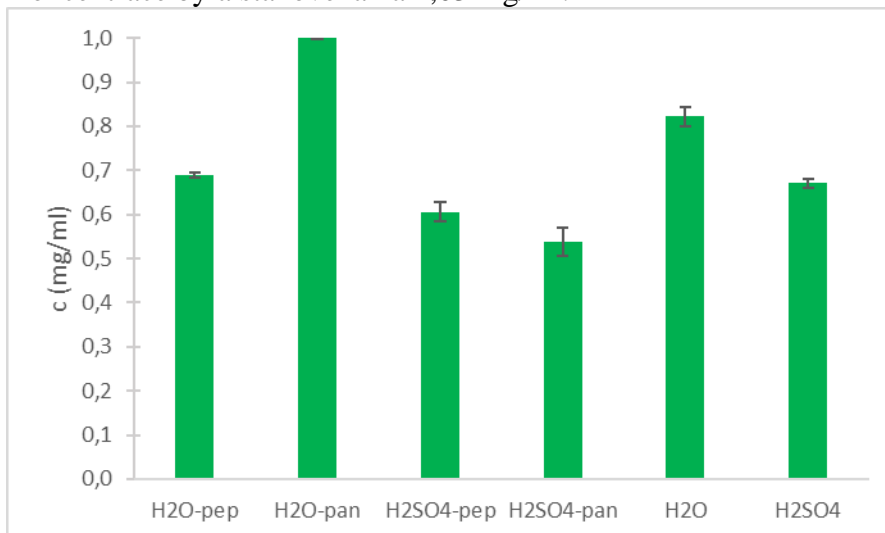
Jako u hydrolyzátů konopné mouky o velikosti částic 710 µm, stanovovaná množství bílkovin byla u všech hydrolyzátů téměř shodná. Byla potvrzena teorie popsána v kapitole 5.2.2.1, kdy kyselina sírová má negativní vliv na proteiny, tudíž nejvyšší obsahy byly naměřeny u vodných hydrolyzátů. Na obrázcích 14 a 15 můžeme pozorovat, že enzymy ve vodných hydrolyzátech měly pozitivnější vliv na částice o velikosti 400 µm. Nejvyšší obsah bílkovin byl opět naměřen ve vodném hydrolyzátu bez enzymu na 0,79 mg/ml.



Obrázek 15. Výsledný obsah proteinů v hydrolyzátech s konopnou moukou o velikosti 400 µm

5.2.2.3 Hydrolyzáty s konopnou moukou o velikosti 200 μm světlá

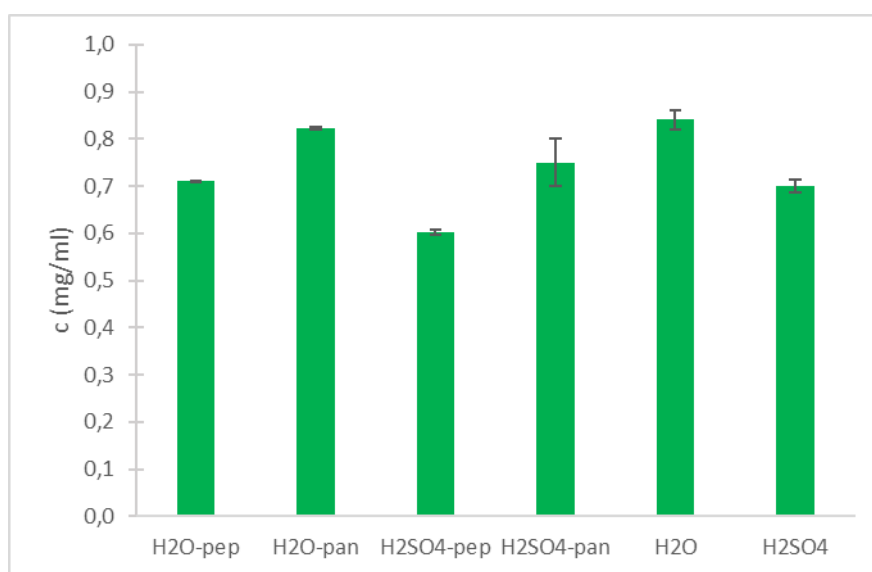
Vodné hydrolyzáty konopné mouky opět vykazovaly větší množství proteinů než kyselé, kyseliny totiž mohou proteiny částečně hydrolyzovat. Nejvyšší koncentrace bílkovin byla tentokrát naměřena ve vodném hydrolyzátu obsahující pankreatin, jak můžeme pozorovat na obrázku 16. Koncentrace byla stanovena na 1,03 mg/ml.



Obrázek 16. Výsledný obsah proteinů v hydrolyzátech s konopnou moukou o velikosti 200 μm světlá

5.2.2.4 Hydrolyzáty s konopnou moukou o velikosti 200 μm tmavá

Výsledky stanovených proteinů v konopných hydrolyzátech s konopnou moukou o velikosti 200 μm tmavá byly podobné jako u světlé mouky. Jestliže porovnáme obrázky 16 a 17, vidíme, že stanovenou koncentrací se od sebe liší pouze hydrolyzáty obsahující pankreatin. U kyselého hydrolyzátu bylo množství proteinů vyšší než u světlé mouky, u vodného naopak menší. Nejvyšší koncentrace proteinů byla stanovena u vodného hydrolyzátu. Koncentrace činila 0,84 mg/ml. Druhý největší obsah proteinů byl stanoven u vodného hydrolyzátu s pankreatinem, jako u částic o velikosti 710 a 400 μm . Můžeme pozorovat, že tyto koncentrace byly zcela shodné.



Obrázek 17. Výsledný obsah proteinů v hydrolyzátech s konopnou moukou o velikosti 200 μm tmavá

5.2.3 Stanovení celkových polyfenolů

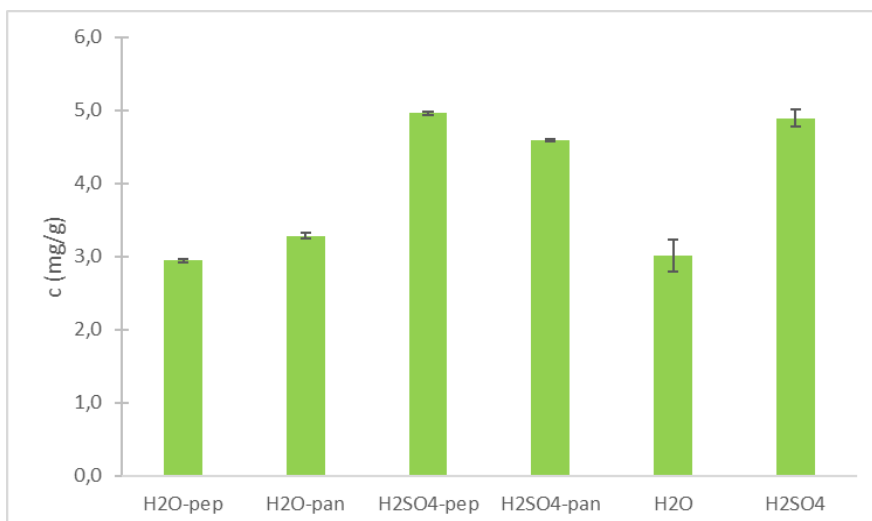
Stanovení obsahu celkových polyfenolů v konopných hydrolyzátech bylo provedeno podle popsání postupu v kapitole 4.4.4. Každý vzorek byl změřen třikrát a pro další výpočty byla použita zprůměrovaná hodnota všech tří absorbancí. Výpočet koncentrace polyfenolů byl proveden pomocí rovnice kalibrační křivky kyseliny gallové. Do rovnice byl dosazen průměr absorbancí a byla získána koncentrace celkových polyfenolů, kdy její množství bylo přepočítáno na 1 g suchého podílu. Všechny výsledky byly zpracovány pomocí MS Excel.

Tabulka 13. Výsledné koncentrace celkových polyfenolů

710 μm			400 μm		
Hydrolyzát	c (mg/ml)	c (mg/g)	Hydrolyzát	c (mg/ml)	c (mg/g)
H ₂ O-pep	0,29 ± 0,00	2,94 ± 0,02	H ₂ O-pep	0,33 ± 0,01	3,30 ± 0,10
H ₂ O-pan	0,32 ± 0,00	3,28 ± 0,03	H ₂ O-pan	0,43 ± 0,00	4,29 ± 0,03
H ₂ SO ₄ -pep	0,50 ± 0,00	4,96 ± 0,03	H ₂ SO ₄ -pep	0,51 ± 0,02	5,10 ± 0,21
H ₂ SO ₄ -pan	0,46 ± 0,00	4,59 ± 0,02	H ₂ SO ₄ -pan	0,48 ± 0,00	4,78 ± 0,03
H ₂ O	0,30 ± 0,02	3,01 ± 0,22	H ₂ O	0,31 ± 0,01	3,07 ± 0,06
H ₂ SO ₄	0,49 ± 0,01	4,90 ± 0,12	H ₂ SO ₄	0,54 ± 0,05	5,42 ± 0,48
200 sv μm			200 tm μm		
Hydrolyzát	c (mg/ml)	c (mg/g)	Hydrolyzát	c (mg/ml)	c (mg/g)
H ₂ O-pep	0,39 ± 0,00	3,92 ± 0,02	H ₂ O-pep	0,36 ± 0,00	3,56 ± 0,03
H ₂ O-pan	0,44 ± 0,04	4,44 ± 0,36	H ₂ O-pan	0,40 ± 0,01	3,96 ± 0,06
H ₂ SO ₄ -pep	0,46 ± 0,00	4,56 ± 0,03	H ₂ SO ₄ -pep	0,46 ± 0,01	4,63 ± 0,06
H ₂ SO ₄ -pan	0,41 ± 0,01	4,06 ± 0,05	H ₂ SO ₄ -pan	0,48 ± 0,00	4,78 ± 0,03
H ₂ O	0,33 ± 0,01	3,33 ± 0,06	H ₂ O	0,33 ± 0,00	3,34 ± 0,02
H ₂ SO ₄	0,49 ± 0,06	4,91 ± 0,58	H ₂ SO ₄	0,52 ± 0,03	5,16 ± 0,34

5.2.3.1 Hydrolyzáty s konopnou moukou o velikosti 710 μm

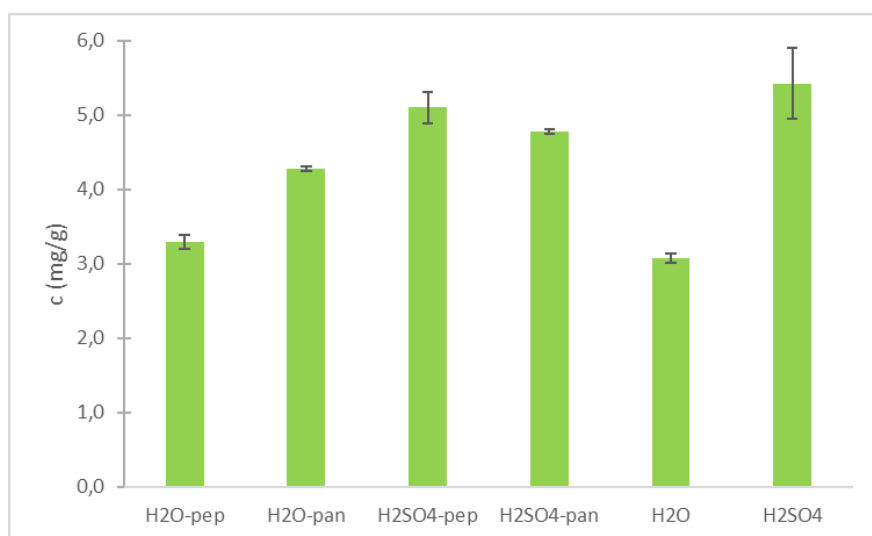
Výsledné hodnoty celkových polyfenolů obsažených v konopných hydrolyzátech obsahující konopnou mouku o velikosti částic 710 μm jsou znázorněny na Obrázku 18 a uvedeny v tabulce 13. Z pohledu druhů hydrolyzátu byly efektivnější hydrolyzáty obsahující 1% kyselinu sírovou. Množství stanovovaných polyfenolů ve vodných hydrolyzátech bylo cca 1,6x menší než v kyselých. Z obrázku vyplývá, že množství polyfenolů v hydrolyzátech doplněných o enzymy se nějak moc neliší. Nejvyšší obsah polyfenolů byl naměřen v kyselém hydrolyzáte obsahujícím enzym pepsin, koncentrace byla vypočtena na 4,96 mg/g. Nejnižší obsah polyfenolů byl stanoven ve vodném hydrolyzáte bez enzymu a hydrolyzáte obsahujícím pepsin.



Obrázek 18. Obsah celkových polyfenolů v hydrolyzátech s konopnou moukou o velikosti 710 µm

5.2.3.2 Hydrolyzáty s konopnou moukou o velikosti 400 µm

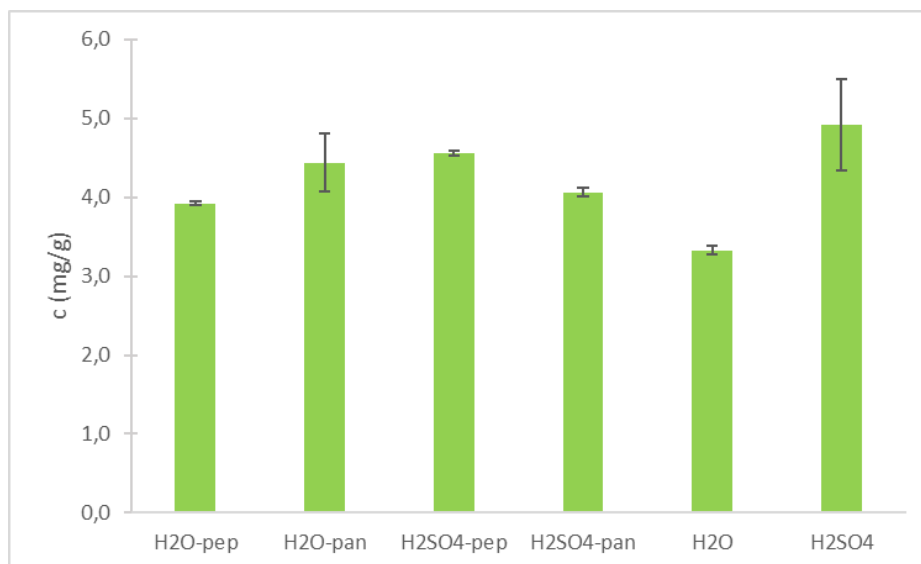
Na následujícím obrázku lze pozorovat, že kyselá hydrolyza byla, jako v případě hydrolyzátu mouky o velikosti 710 µm, opět efektivnější než vodné hydrolyzáty. Jestliže srovnáme množství polyfenolů v hydrolyzátech s částicemi 710 a 400 µm, zjistíme, že stanovovaná množství polyfenolů byla téměř shodná. Nejvyšší obsah polyfenolů byl opět naměřen v kyselém hydrolyzátu, avšak neobsahujícího žádný enzym. Koncentrace byla vypočtena na 5,42 mg/g. Nejnižší obsah byl naměřen u vodného hydrolyzátu bez přídavku enzymu.



Obrázek 19. Výsledný obsah celkových polyfenolů v hydrolyzátech s konopnou moukou o velikosti 400 µm

5.2.3.3 Hydrolyzáty s konopnou moukou o velikosti 200 µm světlá

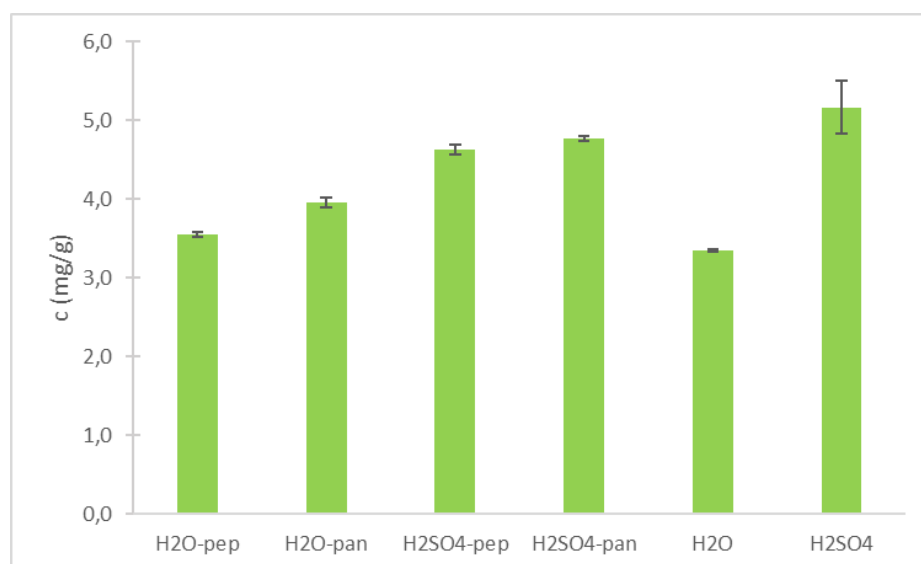
U hydrolyzátu s konopnou moukou o velikosti částic 200 µm světlá už můžeme pozorovat menší rozdíly oproti předešlým částicím. Kromě hydrolyzátu obsahující pouze vodu, byl obsah polyfenolů téměř shodný. Díky působení enzymů pepsinu a pankreatinu ve vodných hydrolyzátech se množství polyfenolů oproti předešlým částicím zvětšilo. Pravděpodobně je to způsobeno tím, že částice mají menší rozměry a tím pádem na ně enzymy lépe působí. Co se týče největšího obsahu polyfenolů, opět je na prvním místě kyselý hydrolyzáat bez přídavku enzymů jako u částic o velikosti 400 µm. Jeho obsah byl stanoven na 4,91 mg na gram vzorku.



Obrázek 20. Výsledný obsah celkových polyfenolů v hydrolyzátech s konopnou moukou o velikosti 200 µm světlá

5.2.3.4 Hydrolyzáty s konopnou moukou o velikosti 200 µm tmavá

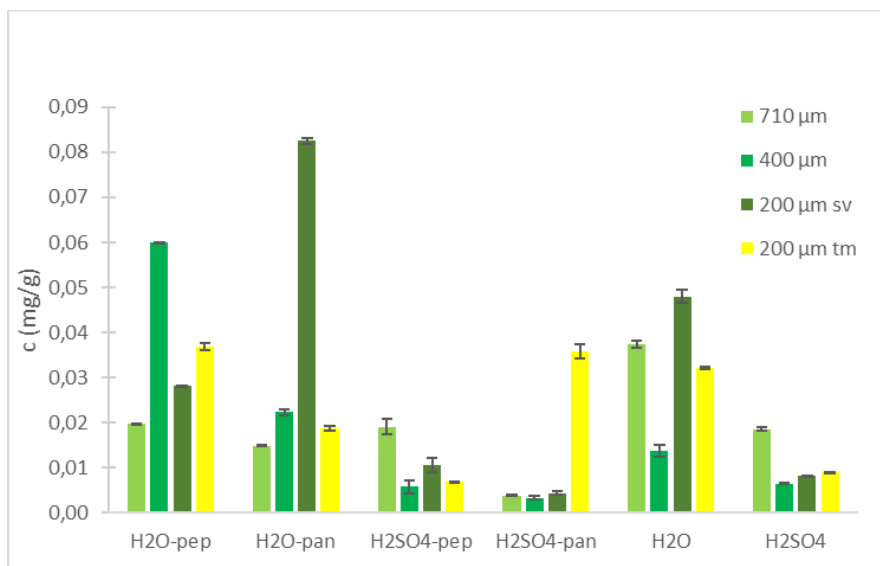
Jelikož tyto hydrolyzáty se liší od předešlých pouze odstínem barvy, dá se u nich předpokládat, že výsledky budou velmi podobné. Jak už bylo zmíněno v kapitole 5.2.3.3, působením enzymů na menší velikosti částic bylo pozorován nárůst obsahu polyfenolů u vodných enzymových hydrolyzátů. Právě díky tomu byla nejnižší koncentrace polyfenolů naměřena opět u vodného hydrolyzátu, množství bylo stanoveno na 3,34 mg/g. Nejvyšší obsah byl naměřen u kyselého hydrolyzátu jako u všech předešlých velikostí částic. Tímto bylo dokázáno, že hydrolyzát s 1% kyselinou sírovou byl nejlepší volbou pro stanovení polyfenolů.



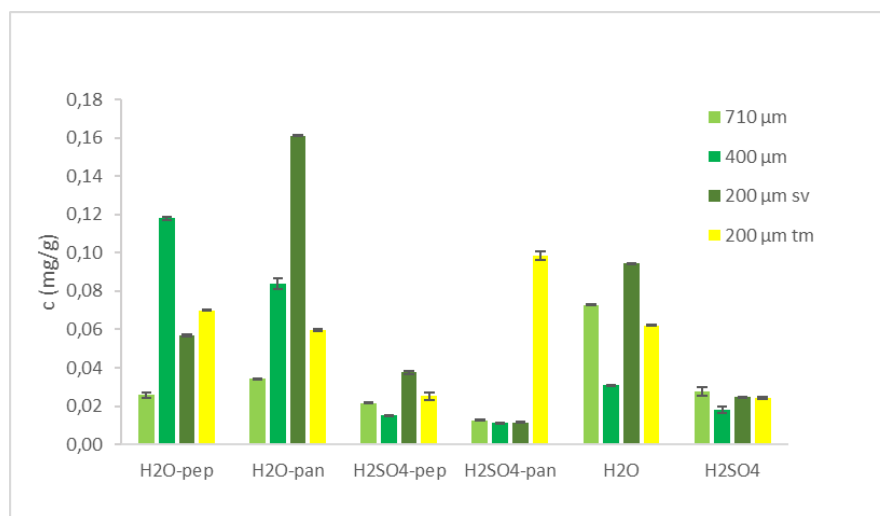
Obrázek 21. Výsledný obsah celkových polyfenolů v hydrolyzátech s konopnou moukou o velikosti 200 µm tmavá

5.2.4 Stanovení chlorofylů

Ve všech druzích konopných hydrolyzátů byl stanovený obsah chlorofylů A a B metodou, která je popsána v kapitole 4.4.5. U každého vzorku byla třikrát změřena absorbance a její zprůměrovaná hodnota byla dosazena do rovnic uvedených v kapitole 4.4.5. Poté bylo vypočítané množství chlorofylů, které bylo následně přepočítáno na gram vzorku. Tyto obsahy chlorofylů jsou znázorněny na obrázku 22 a 23. Celková množství chlorofylů A a B byla velmi nízká, protože konopná mouka se vyrábí z neloupaných semínek, a ty obsahují chlorofyly pouze ve slupce. Kdybychom pracovali s konopnými květy a listy, bylo by množství chlorofylů mnohem vyšší, protože se jedná o zelené části rostliny podílející se na fotosyntéze. Nejvyšší obsah obou typů chlorofylů byl naměřen u vodného hydrolyzátu s přidavkem pankreatinu s velikostí částic 200 μm světlá. U chlorofylu A byl obsah stanoven na 0,08 mg/g, u chlorofylu B na 0,16 mg/g. Ačkoliv tyto částice měly světle zelenou barvu, hydrolyzát s pankreatinem měl zelené až hnědé zbarvení a tím pádem byly tyto výsledky považovány za správné. Nejméně efektivní výsledek byl zjištěn u hydrolyzátu obsahující kyselinu sírovou, a to v případě obou druhů chlorofylů.



Obrázek 22. Obsah chlorofylu A v konopných hydrolyzátech



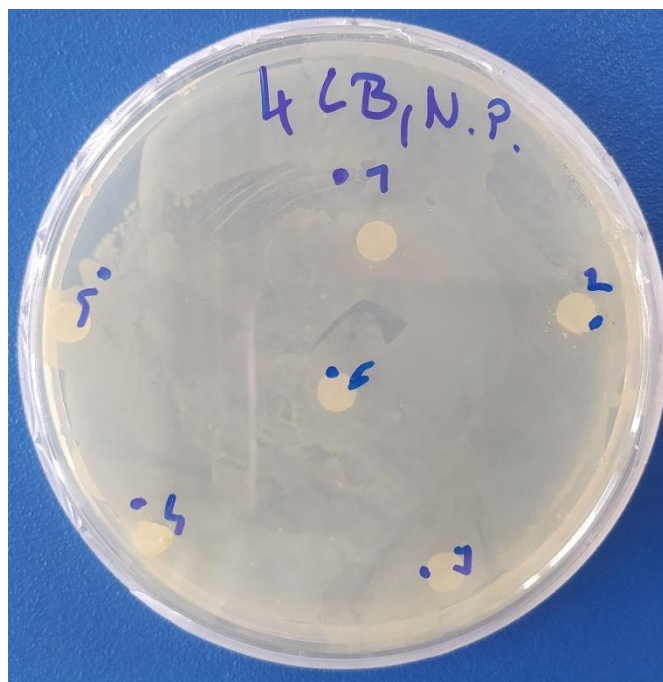
Obrázek 23. Obsah chlorofylu B v konopných hydrolyzátech

5.2.5 Stanovení antimikrobiální aktivity

Ke stanovení antimikrobiálního účinku konopných hydrolyzátů bylo využito agarových difúzních testů podle postupu v kapitole 4.4.6. Ke stanovení byly použity bakterie *Escherichia coli* a *Micrococcus luteus* a kvasinka *Candida glabrata*. K analýze byly použity všechny hydrolyzáty všech velikostí částic konopné mouky, které byly upraveny na neutrální pH.

5.2.5.1 *Escherichia coli*

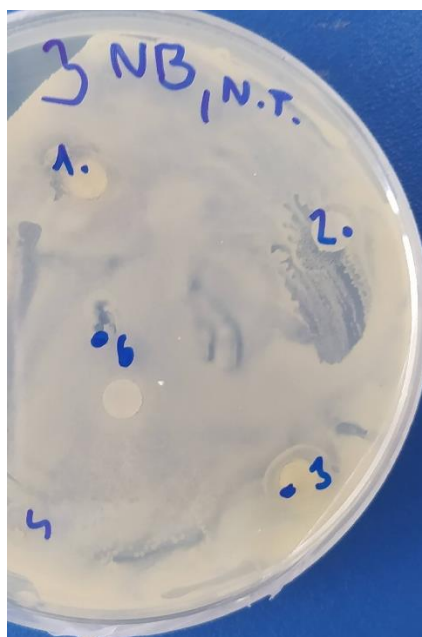
Antimikrobiální aktivita nebyla u hydrolyzátů konopí téměř vůbec prokázána vůči gramnegativní bakterii *Escherichii coli*. Některé hydrolyzáty velmi slabě antimikrobiálně účinkovaly, avšak inhibiční zóny byly velmi malé k prokázání antimikrobiálního účinku. Může to být způsobeno tím, že buněčná stěna bakterie *E. Coli* obsahuje navíc vnější membránu, která buňku chrání, a tím je přirozeně rezistentní. Na obrázku 24 můžeme pozorovat téměř neznatelné inhibiční zóny vůči *E. coli* na LB médiu, nanesenými vzorky byly hydrolyzáty o velikosti částic 400 μm konopné mouky.



Obrázek 24. Antimikrobiální účinek hydrolyzátů o velikosti částic 400 μm

5.2.5.2 *Micrococcus luteus*

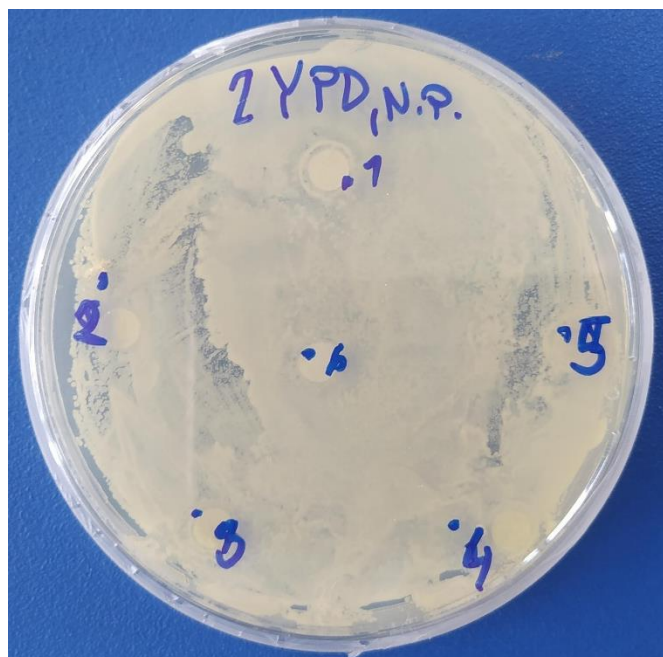
Stejně jako u bakterie *E. coli*, nebyla téměř vykázána žádná antimikrobiální aktivita vůči bakterii *Micrococcus luteus*, jak můžeme pozorovat na obrázku 25. U vzorku číslo 3, který představuje vodný hydrolyzát o velikosti částic 200 μm světlé konopné mouky s přidavkem pankreatinu, můžeme pozorovat vznik inhibiční zóny, avšak není příliš velká, aby se dala změřit. Je to nejspíše způsobeno tím, že se jedná pouze konopné hydrolyzáty bez přísad některých účinných látek.



Obrázek 25. Antimikrobiální účinek hydrolyzátů o velikosti částic 200 μm světlá

5.2.5.3 *Candida glabrata*

Antimikrobiální aktivita konopných hydrolyzátů o všech velikostech částic konopné mouky byla také testována vůči kvasince *Candida glabrata*. Na obrázku 26 můžeme pozorovat, že konopné hydrolyzáty antimikrobiální účinek téměř nevykazovaly. Obrázek zobrazuje hydrolyzáty konopné mouky s rozměry částic 400 μm . Pravděpodobně je to způsobeno tím, že hydrolyzáty neobsahují žádnou účinnou látku, která by působila proti kvasinkám. Antimikrobiální aktivita vůči *Candida glabrata* byla stanovována na YPD médiu.



Obrázek 26. Antimikrobiální účinek hydrolyzátů o velikosti částic 200 μm světlá

5.2.6 Testování konopného šamponu

Šampon obsahující konopný hydrolyzát byl připraven postupem popsáním v kapitole 4.4.7. Do šamponu byl přidán vodný hydrolyzát vyrobený z tmavých částic konopné mouky o velikosti 200 µm neobsahující žádný enzym. Tato velikost částic byla zvolena z důvodu vykazování Výsledný obsah proteinů v konopných hydrolyzátech. Připravený konopný šampon byl sensoricky zhodnocený 6 osobami. Testování trvalo po dobu deseti dní. Dané osoby byly obeznámeny, že po tuto dobu mají použít připravený šampon minimálně třikrát bez žádných jiných přípravků na vlasy.

Po deseti dnech respondenti hodnotili produkt v dotazníku, který je zobrazen v příloze 4.

Respondenti hodnotili konopný šampon velmi pozitivně ve všech ohledech. Šampon byl testován pouze na ženách, ve věkovém rozmezí 14-46 let. Všechny hodnotitelky šamponu běžně používají šampon na poškozené a suché vlasy, nebo šampony pro větší objem vlasů. Všechny respondenty byly s vyrobeným konopným šamponem velmi spokojené. U všech bylo prokázáno, že vlasy byly po použití velmi hladké a hebké. U nikoho nebyla prokázána žádná alergická reakce. Všechny hodnotitelky v dotazníku odpověděly, že konopný šampon pění akorát. U všech dotazovaných šampon splnil očekávání, dokonce by byly ochotny vyrobený šampon používat nadále. Odhadovací cena vyrobeného šamponu, za kterou by byly respondenty ochotny šampon koupit, byla v rozmezí 100-200 Kč.

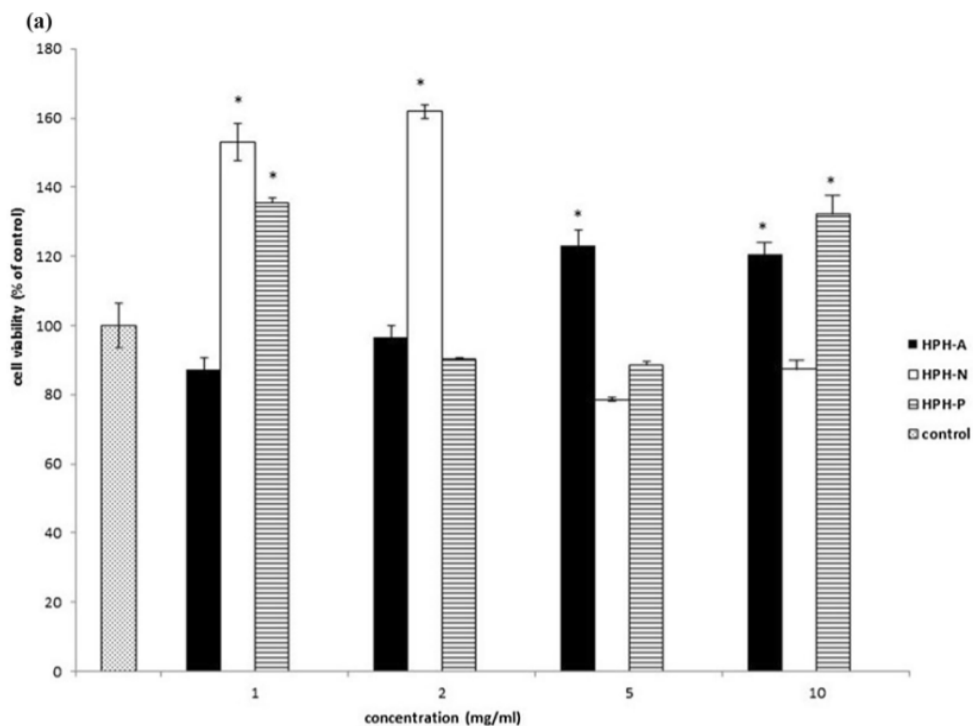
Bylo tedy prokázáno, že šampon s vodným hydrolyzátem světlé konopné mouky o velikosti částic 200 µm měl velmi pozitivní účinek na vlasy a respondenty by byly ochotny používat šampon nadále.

5.3 Testy cytotoxicity

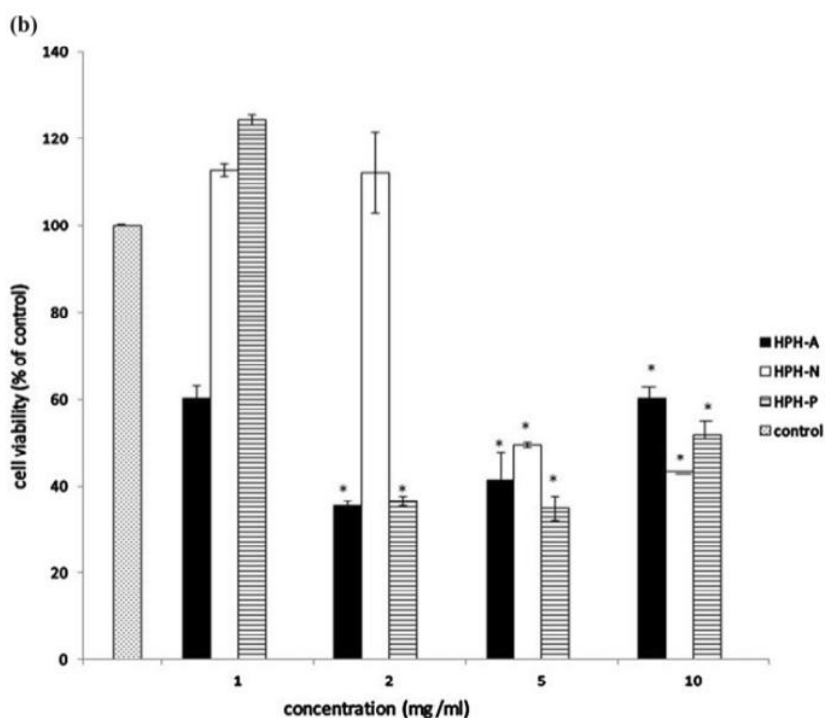
Konopí je označováno jako GRAS rostlina neboli Generally Recognized as Safe. Díky tomuhle označení může být konopí využíváno v potravinářství. V dnešní době je velmi pravděpodobné, že se konopný protein nachází běžně v potravinách [56].

Bezpečnost materiálů pomocí testů cytotoxicity byla ověřena na základě studie [57]. Bylo zjištěno, že bílkoviny z potravy mohou mít příznivý vliv na lidské zdraví tím, že uvolňují bioaktivní peptidy, které jsou šifrovány v jejich přirozených strukturách. Bylo zjištěno, že hydrolyzáty bílkovin nebo bioaktivní peptidy získané z potravinových proteinů vykazují imunitní, protinádorové, antihypertenzní, antioxidační a antimikrobiální účinky. Dále bylo prokázáno, že konopný protein hydrolyzuje účinky na proliferaci a vyvolává oxidační stres v normálních a nádorových buněčných liniích.

V tomto článku byl testovaný biologický potenciál hydrolyzátů konopných bílkovin získaných z izolátu bílkovin konopných koláčů. Tyto izoláty byly připraveny enzymovou hydrolyzou za použití tří různých proteáz mikrobiálního původu: Alcalasa, Neutrasa a Protamex. V rámci této studie bylo zjištěno, že konopný protein a z něho izolované materiály nejsou cytotoxické. Výsledky můžeme vidět na obrázku 27 a 28. Materiál neměl vliv na HaCaT buňkové linie a měl protirakovinové účinky, když zabíjel HeLa buňky.



Obrázek 27. Vlivy různých koncentrací PHS na proliferaci HaCaT stanovené MTS testem [57]



Obrázek 28. Vlivy různých koncentrací HPH na proliferaci HeLa buněk stanovenou MTS testem [57]

Pokud jde o bezpečnost testovaných konopných frakcí, byly připraveny z podobného materiálu a podobným způsobem jako vzorky komentované výše. K hodnocení jejich cytotoxicity byly použity standardní testy a buněčné systémy, které jsou používány i v laboratořích FCH. V rámci předložené práce byly provedeny pouze orientační testy inkubace buněk HaCaT (keratinocyty)

s připravenými extrakty. Extrakty byly hodnoceny vizuálně s využitím MTT testu. Žádný z extraktů neovlivňoval viabilitu buněk HaCaT natolik, aby významně poklesla viabilita buněk. Vzhledem k charakteru rostliny konopí (GRAS) lze předpokládat, že veškeré připravené materiály i výrobky (mýdla, šampón) lze považovat za bezpečné. Nemají dokonce ani negativní účinek na testované mikroorganismy. Mohou se používat bez škodlivých účinků v aplikacích do kosmetiky a potravinářství.

6 ZÁVĚR

Tato bakalářská práce je zaměřena na teoretickou a experimentální charakterizaci aktivních látek obsažených v technickém konopí a jejich využití kosmetice a farmacii. Teoretická část se zabývá charakteristikou konopí a jeho aktivních látek, popisem kůže a vlasů, a nakonec popisem všech použitých metod při vypracování experimentální části.

V této bakalářské práci se pracovalo s konopnými kaly odrůdy *Santhica* z roku 2019 a 2020 a s hydrolyzáty konopné mouky o různých velikostech částic. Materiály byly hydrolyzovány a charakterizovány. Zpracování materiálů bylo voleno tak, aby bylo jednoduché při převedení do průmyslové praxe. Každá velikost částic byla hydrolyzovaná ve vodě, ve vodě s přídavkem pepsinu, ve vodě s přídavkem pankreatinu, v 1% kyselině sírové, v 1% kyselině sírové s přídavkem pepsinu a v 1% kyselině sírové s přídavkem pankreatinu. V těchto konopných hydrolyzátech byly následně stanoveny spektrofotometrickými metodami aktivní látka, a to celkové sacharidy, proteiny, polyfenoly a chlorofyly. Tím byly frakce charakterizovány a podle naměřených hodnot biologicky aktivních látek využity v odpovídajících modelových výrobcích. Největší obsah sacharidů byl naměřen u kyselého hydrolyzátu s přídavkem pepsinu o velikosti částic konopné mouky 710 μm . Nejvyšší koncentrace proteinů byla stanovena ve vodném hydrolyzátu obsahující pankreatin o velikosti částic 200 μm světlé konopné mouky. Polyfenoly měly největší koncentraci v kyselém hydrolyzátu konopné mouky o velikosti částic 400 μm obsahující enzym pepsin. Oba typy chlorofylů s největším obsahem byly stanoveny ve vodných hydrolyzátech světlé konopné mouky o velikosti částic 200 μm s pankreatinem.

U konopných kalů byla stanovena tuková čísla, a to číslo zmýdelnění, číslo kyselosti a jodové číslo. Protože konopné kaly nejsou považovány za čisté oleje, tuková čísla byla odlišná od standardizovaných hodnot konopného oleje. Dále byl zjištěn profil mastných kyselin v kalech a v konopném oleji a hodnoty byly porovnány. V kalech i oleji byl naměřen největší obsah polynenasycených mastných kyselin. Číslo zmýdelnění bylo dále použito k přípravě konopných mýdel.

Dalším stanovením v experimentální části se zabývalo stanovením antimikrobiálních účinků všech připravených hydrolyzátů vůči bakteriím *Escherichia coli* a *Micrococcus luteus* a kvasince *Candida glabrata*. Po analýze bylo zjištěno, nebyla prokázána téměř žádná antimikrobiální aktivita vůči daným mikroorganismům.

V rámci aplikační části bylo cílem této bakalářské práce vyrobit dva kosmetické produkty, mýdlo a šampon, které by obsahovaly vhodnou frakci ze zpracování konopí a měly popsány respondenty pozitivní účinky při jejich používání.

Všechna vyrobená mýdla obsahující konopný kal *Santhica* 2019 a kokosový olej v poměrech 80:20, 70:30, 60:40 a 50:50 splňovala všechny požadované vlastnosti. Mýdlo s největším obsahem konopného kalu bylo dáno testováno do čtyř domácností. Bylo prokázáno, že mýdlo mělo pozitivní vliv na pokožku rukou. Díky používání neprokazovaly ruce známky suchosti. Dokonce byly zaznamenány léčivé účinky na popraskané ruce, což splňuje podmínky využití tohoto mýdla ve farmacii.

Konopný šampon obsahující vodný hydrolyzát světlé konopné mouky o rozměrech částic 200 μm byl testován na šesti osobách. U všech lidí bylo prokázáno, že šampon má pozitivní vliv na hebkost a hladkost vlasů po užití po době deseti dnů. Respondentky v dotazníku uvedly, že

by byly ochotny tento šampon používat nadále, což potvrzuje jeho pozitivní účinky z hlediska aplikace do kosmetiky.

Díky získaným výsledkům je možné samotné konopí a rovněž odpadní materiály získané při zpracování konopí do různých frakcí považovat za vhodný přídavek do kosmetických a farmaceutických přípravků.

7 LITERATURA

- [1] NOVÁKOVÁ, Petra a I. JUHÁSOVÁ ŠENITKOVÁ. Use of technical hemp in the construction industry. *MATEC Web of Conferences*. 2018, **146**. ISSN 2261-236X. Dostupné z: doi:10.1051/mateconf/201814603011
- [2] LAVRIEUX, Marlène, Jérémy JACOB, Jean-Robert DISNAR, Jean-Gabriel BRÉHERET, Claude LE MILBEAU, Yannick MIRAS a Valérie ANDRIEU-PONEL. Sedimentary cannabiniol tracks the history of hemp retting. *Geology*. 2013, 41(7), 751-754. ISSN 1943-2682. Dostupné z: doi:10.1130/G34073.1
- [3] *Konopí seté (Cannabis sativa L.)* [online]. [cit. 2022-03-31]. Dostupné z: https://www2.zf.jcu.cz/~moudry/database/Konopi_sete.htm
- [4] RUMAN, Michal. Cannabis-konopí: průvodce světem univerzální rostliny. Praha: Malý princ, 2014, 311 s. ISBN 978-80-87754-13-9.
- [5] MNEKIN, Léonid a Lionel RIPOLL. Topical Use of Cannabis sativa L. Biochemicals. *Cosmetics*. 2021, **8**(3). ISSN 2079-9284. Dostupné z: doi:10.3390/cosmetics8030085
- [6] MCPARTLAND, John M. a Geoffrey W. GUY. Models of Cannabis Taxonomy, Cultural Bias, and Conflicts between Scientific and Vernacular Names. *The Botanical Review*. 2017, **83**(4), 327-381. ISSN 0006-8101. Dostupné z: doi:10.1007/s12229-017-9187-0
- [7] PIOMELLI, Daniele a Ethan B. RUSSO. The Cannabis sativa Versus Cannabis indica Debate: An Interview with Ethan Russo, MD. *Cannabis and Cannabinoid Research*. 2016, **1**(1), 44-46. ISSN 2378-8763. Dostupné z: doi:10.1089/can.2015.29003.ebr
- [8] GLOSS, David. An Overview of Products and Bias in Research. *Neurotherapeutics*. 2015, **12**(4), 731-734. ISSN 1933-7213. Dostupné z: doi:10.1007/s13311-015-0370-x
- [9] Anatomie konopí. *Growmart.cz* [online]. [cit. 2022-03-29]. Dostupné z: <https://growmart.cz/anatomie-konopi/>
- [10] MURO, Anna, Ramon CLADELLAS a Judit CASTELLÀ. Cannabis and Its Different Strains. *Experimental Psychology*. 2021, 68(2), 57-66. ISSN 1618-3169. Dostupné z: doi:10.1027/1618-3169/a000510
- [11] TURNER, ELSOHLY a BOEREN. *Constituents of Cannabis L. XVII. A review of the natural constituents*. ISSN 0163-3864. Dostupné z: doi:10.1021/np50008a001
- [12] NOVÁKOVÁ, Petra a I. JUHÁSOVÁ ŠENITKOVÁ. Use of technical hemp in the construction industry. *MATEC Web of Conferences*. 2018, 146. ISSN 2261-236X. Dostupné z: doi:10.1051/mateconf/201814603011
- [13] JANG, Eunyoung, Hyojeong KIM, Seojeong JANG, et al. Concentrations of THC, CBD, and CBN in commercial hemp seeds and hempseed oil sold in Korea. *Forensic Science International*. 2020, **306**. ISSN 03790738. Dostupné z: doi:10.1016/j.forsciint.2019.110064
- [14] KWAŚNICA, Andrzej, Natalia PACHURA, Klaudia MASZTALERZ, et al. Volatile Composition and Sensory Properties as Quality Attributes of Fresh and Dried Hemp Flowers (*Cannabis sativa L.*). *Foods*. 2020, **9**(8). ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods9081118
- [15] SPANO, Mattia, Giacomo DI MATTEO, Mattia RAPA, et al. Commercial Hemp Seed Oils: A Multimethodological Characterization. *Applied Sciences*. 2020, 10(19). ISSN 2076-3417. Dostupné z: doi:10.3390/app10196933

- [16] RUSU, Iulian-Eugen, Romina Alina MARC (VLAIC), Crina Carmen MUREȘAN, et al. Advanced Characterization of Hemp Flour (*Cannabis sativa* L.) from Dacia Secuieni and Zenit Varieties, Compared to Wheat Flour. *Plants*. 2021, 10(6). ISSN 2223-7747. Dostupné z: doi:10.3390/plants10061237
- [17] KORUS, Jarosław, Mariusz WITCZAK, Rafał ZIOBRO a Lesław JUSZCZAK. Hemp (*Cannabis sativa* subsp. *sativa*) flour and protein preparation as natural nutrients and structure forming agents in starch based gluten-free bread. *LWT*. 2017, 84, 143-150. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2017.05.046
- [18] PEČ, Jaroslav a Jaroslav DUŠEK. Složení a využití konopného oleje se zaměřením na terapeutické účinky esenciálních mastných kyselin. In: *Praktické lékařství* [online]. 09.02.2008 [cit. 2022-03-30]. Dostupné z: <https://www.praktickelekarenstvi.cz/pdfs/lek/2008/02/09.pdf>
- [19] GURUPRASAD, Lalitha. Protein Structure. Resonance. 2019, 24(3), 327-338. ISSN 0971-8044. Dostupné z: doi:10.1007/s12045-019-0783-7
- [20] DAPČEVIĆ-HADNAĐEV, Tamara, Manda DIZDAR, Milica POJIĆ, Veljko KRSTONOŠIĆ, Lisa M. ZYCHOWSKI a Miroslav HADNAĐEV. Emulsifying properties of hemp proteins: Effect of isolation technique. *Food Hydrocolloids*. 2019, 89, 912-920. ISSN 0268005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2018.12.002
- [21] *Flavonoidy: Hra barev: Látky v konopí* [online]. In: . 11.4.2021 [cit. 2022-03-30]. Dostupné z: <https://magazin-konopi.cz/flavonoidy-hra-barev/>
- [22] Terpeny a flavonoidy. *Kanabinoidy.cz* [online]. [cit. 2022-03-29]. Dostupné z: <https://kanabinoidy.cz/vzdelani/terpeny-a-flavonoidy/>
- [23] ELSOHLY, Mahmoud A. *Marijuana and the cannabinoids* [online]. Totowa, N.J.: Humana Press, c2007, 322 s. [cit. 2022-03-30]. ISBN 9781592599479-. Dostupné z: <http://www.hampapartiet.se/09.pdf>
- [24] SIANO, Francesco, Stefania MOCCIA, Gianluca PICARIELLO, Gian RUSSO, Giuseppe SORRENTINO, Michele DI STASIO, Francesco LA CARA a Maria VOLPE. Comparative Study of Chemical, Biochemical Characteristic and ATR-FTIR Analysis of Seeds, Oil and Flour of the Edible Fedora Cultivar Hemp (*Cannabis sativa* L.). *Molecules*. 2019, 24(1). ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules24010083
- [25] Slovník pojmů: THC. *Botanic.cz* [online]. [cit. 2022-04-03]. Dostupné z: <https://botanic.cz/slovník-pojmu/thc>
- [26] Biotechnology and Medical Marijuana. *Montana biotech* [online]. [cit. 2022-04-05]. Dostupné z: <https://montanabiotech.com/2011/03/16/biotechnology-and-medical-marijuana/>
- [27] CERINO, Pellegrino, Carlo BUONERBA, Giuseppe CANNAZZA, et al. A Review of Hemp as Food and Nutritional Supplement. *Cannabis and Cannabinoid Research*. 2021, 6(1), 19-27. ISSN 2578-5125. Dostupné z: doi:10.1089/can.2020.0001
- [28] LEWIS, Erin Diane, Simin Nikbin MEYDANI a Dayong WU. Regulatory role of vitamin E in the immune system and inflammation. *IUBMB Life*. 2019, 71(4), 487-494. ISSN 1521-6543. Dostupné z: doi:10.1002/iub.1976
- [29] Harmatha, Juraj. (2002). FENYLPROPANOIDY, LIGNANY A JEJICH BIOLOGICKÉ ÚČINKY. 117-142.

- [30] KOCA ÇALIŞKAN, Ufuk a Selda YILDIRIM. HEMP AND ITS USE IN HEALTH. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi. 112-136. ISSN 1015-3918. Dostupné z: doi:10.33483/jfpau.559665
- [31] KARCHE, Tahseen a Manager Rajdeo SINGH. The application of hemp (*Cannabissativa* L.) for a green economy: a review. TURKISH JOURNAL OF BOTANY. 2019, 43(6), 710-723. ISSN 13036106. Dostupné z: doi:10.3906/bot-1907-15
- [32] CAUNA, Nikolajs a Leonard L. ROSS. THE FINE STRUCTURE OF MEISSNER'S TOUCH CORPUSCLES OF HUMAN FINGERS. *The Journal of Biophysical and Biochemical Cytology*. 1960, 8(2), 467-482. ISSN 1540-8140. Dostupné z: doi:10.1083/jcb.8.2.467
- [33] FARINON, Barbara, Romina MOLINARI, Lara COSTANTINI a Nicolò MERENDINO. The Seed of Industrial Hemp (*Cannabis sativa* L.): Nutritional Quality and Potential Functionality for Human Health and Nutrition. *Nutrients*. 2020, 12(7). ISSN 2072-6643. Dostupné z: doi:10.3390/nu12071935
- [34] KOLARSICK, Paul A. J., Maria Ann KOLARSICK a Carolyn GOODWIN. Anatomy and Physiology of the Skin. *Journal of the Dermatology Nurses' Association*. 2011, 3(4), 203-213. ISSN 1945-760X. Dostupné z: doi:10.1097/JDN.0b013e3182274a98
- [35] SHEN, Peiyi, Zili GAO, Baochen FANG, Jiajia RAO a Bingcan CHEN. Ferreting out the secrets of industrial hemp protein as emerging functional food ingredients. 2021, 112, 1-15. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2021.03.022
- [36] JI, Shuaifei, Ziyang ZHU, Xiaoyan SUN a Xiaobing FU. Functional hair follicle regeneration: an updated review. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2021, 6(1). ISSN 2059-3635. Dostupné z: doi:10.1038/s41392-020-00441-y
- [37] SECCHI, Gianfranco. Role of protein in cosmetics. *Clinics in Dermatology*. 2008, 26(4), 321-325. ISSN 0738081X. Dostupné z: doi:10.1016/j.clindermatol.2008.04.004
- [38] RIVERO-MENENDEZ, Olga, Patricia NAVARRO-RODRIGUEZ, Leticia BERNAL-MARTINEZ, et al. Clinical and Laboratory Development of Echinocandin Resistance in *Candida glabrata*: Molecular Characterization. *Frontiers in Microbiology*. 2019, 10. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2019.01585
- [39] PÁNKOVÁ, Růžena. *Komplexní léčba kandidóz: Dermatologická klinika I. LF UK a VFN* [online]. Praha, 2013 [cit. 2022-03-30]. Dostupné z: <https://www.solen.cz/pdfs/uro/2012/05/05.pdf>
- [40] FIDEL, Paul L., Jose A. VAZQUEZ a Jack D. SOBEL. *Candida glabrata*: Review of Epidemiology, Pathogenesis, and Clinical Disease with Comparison to *C. albicans*. *Clinical Microbiology Reviews*. 1999, 12(1), 80-96. ISSN 0893-8512. Dostupné z: doi:10.1128/CMR.12.1.80
- [41] NĚMEC, Miroslav, Ludmila KOTOUČKOVÁ a Zdena PÁČOVÁ. *Micrococcus luteus*. *Miniatlas mikroorganismů* [online]. [cit. 2022-04-05]. Dostupné z: <http://old.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/micr.htm>
- [42] *Micrococcus luteus*. *CABI* [online]. [cit. 2022-04-05]. Dostupné z: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/32820>
- [43] BLOUNT, Zachary D. The unexhausted potential of *E. coli*. *ELife*. 2015, 4. ISSN 2050-084X. Dostupné z: doi:10.7554/eLife.05826

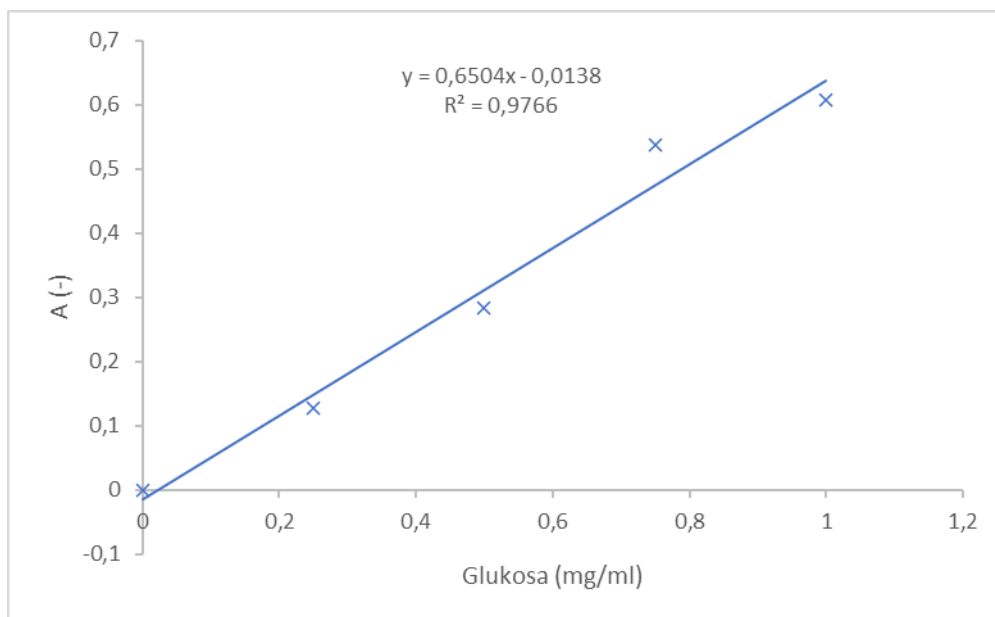
- [44] LIU, D. *Escherichia coli* ☆. Reference Module in Biomedical Sciences. Elsevier, 2014, 2014. ISBN 9780128012383. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-801238-3.02291-1
- [45] *Analytická chemie (1.díl)* [online]. Praha, 2016 [cit. 2022-04-12]. Dostupné z: https://vydavatelstvi.vscht.cz/katalog/publikace?uid=uid_isbn-978-80-7080-950-1
- [46] *Chromatografie* [online]. [cit. 2022-04-12]. Dostupné z: <http://old.vscht.cz/anl/oppa-sem-bio/PDFs/4OPPAst.pdf>
- [47] *Mikrobiologie potravin* [online]. [cit. 2021-6-24]. Dostupné z: https://fvhe.vfu.cz/files/cela-skripta-bursova-a-kol_obecna-mb_definitivni-elektronicka-verze_27-11.pdf
- [48] BALOUIRI, M., SADIKI, M., IBNSOUDA, S. K. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2016, 6(2), 71-79.
- [49] LANDRY, Jonathan J M, Paul Theodor PYL, Tobias RAUSCH, et al. The Genomic and Transcriptomic Landscape of a HeLa Cell Line. *G3 Genes|Genomes|Genetics*. 2013, 3(8), 1213-1224. ISSN 2160-1836. Dostupné z: doi:10.1534/g3.113.005777
- [50] Soapcalc: Recipe calculator [online]. [cit. 2022-04-11]. Dostupné z: <http://www.soapcalc.net/calc/soapcalcwp.asp>
- [51] 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 hempseed oil. *Energy Conversion and Management*. 2015, 103, 235-243. ISSN 01968904. Dostupné z: doi:10.1016/j.enconman.2015.06.054
- [52] MIKULCOVÁ, Veronika, Věra KAŠPÁRKOVÁ, Petr HUMPOLÍČEK a Leona BUŇKOVÁ. Formulation, Characterization and Properties of Hemp Seed Oil and Its Emulsions. *Molecules*. 2017, 22(5). ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules22050700
- [53] KOHŮTOVÁ, Darina. Komplexní zpracování technického konopí a využití izolovaných frakcí [online]. Brno, 2021 [cit. 2022-05-03]. Dostupné z: https://www.vut.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=232094. Diplomová práce. Vysoké učení technické. Vedoucí práce Prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
- [54] ViewRecipe. Soapcalc.net [online]. [cit. 2022-05-11]. Dostupné z: <http://www.soapcalc.net/calc/ViewRecipe.asp>
- [55] BEN HAMAD BOUHAMED, Sana a Nabil KECHAOU. Kinetic study of sulphuric acid hydrolysis of protein feathers. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 2017, 40(5), 715-721. ISSN 1615-7591. Dostupné z: doi:10.1007/s00449-017-1737-7
- [56] SHEN, Peiyi, Zili GAO, Baochen FANG, Jiajia RAO a Bingcan CHEN. Ferreting out the secrets of industrial hemp protein as emerging functional food ingredients. 2021, 112, 1-15. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2021.03.022
- [57] LOGARUŠIĆ, Marijan, Igor SLIVAC, Kristina RADOŠEVIĆ, Martina BAGOVIĆ, Ivana Radojčić REDOVNIKOVIĆ a Višnja Gaurina SRČEK. Hempseed protein hydrolysates' effects on the proliferation and induced oxidative stress in normal and cancer cell lines. *Molecular Biology Reports*. 2019, 46(6), 6079-6085. ISSN 0301-4851. Dostupné z: doi:10.1007/s11033-019-05043-8

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

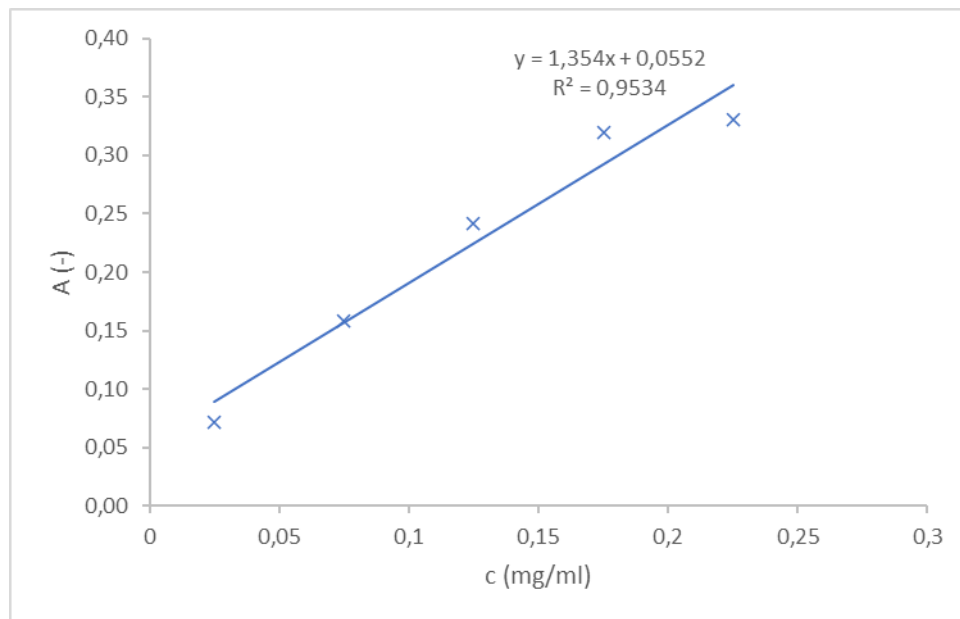
A	absorbance
c	koncentrace
CBC	kanabichromen
CBD	kanabidiol
CBG	kanabigerol
CBN	kanabinol
CCM	česká sbírka mikroorganismů
<i>C. glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
GC	plynová chromatografie
LB	Luria-Bertani (médium)
<i>M. luteus</i>	<i>Micrococcus luteus</i>
NB	Nutrient Broth (médium)
SLES	sodium laureth sulfate
THC	Δ^9 -tetrahydrokanabinol
UV	Záření v ultrafialové oblasti spektra
VIS	Záření ve viditelné oblasti spektra
YPD	Yeast Peptone Dextrose (médium)

9 PŘÍLOHY

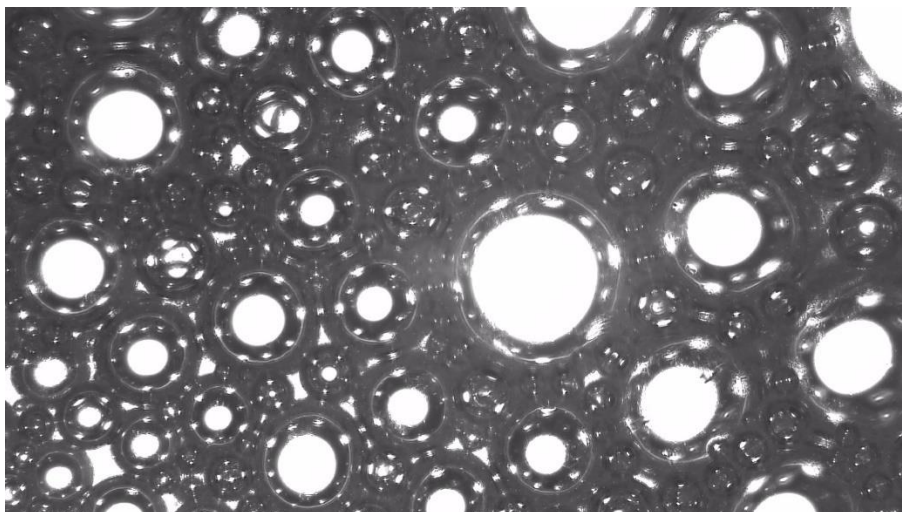
Příloha 1. Kalibrační křivka závislosti absorbance na koncentraci pro stanovení sacharidů dle Duboise



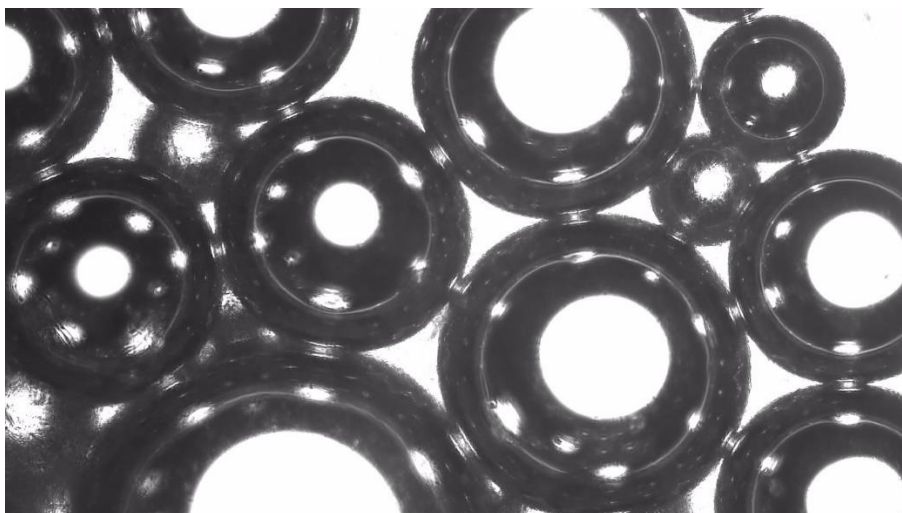
Příloha 2. Kalibrační křivka závislosti absorbance na koncentraci pro stanovení proteinů metodou dle Bradfordové



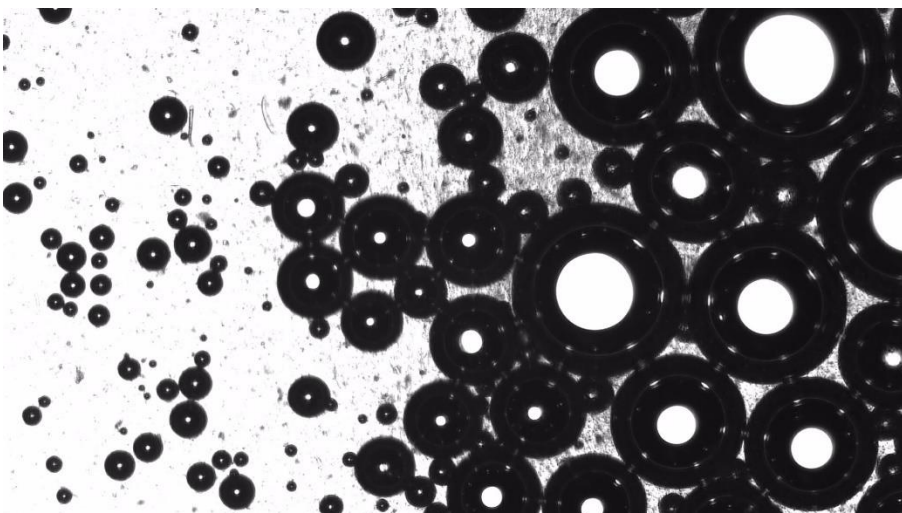
Příloha 3. Bublinky všech vyrobených mýdel– mikroskopické snímky, zvětšení 40x



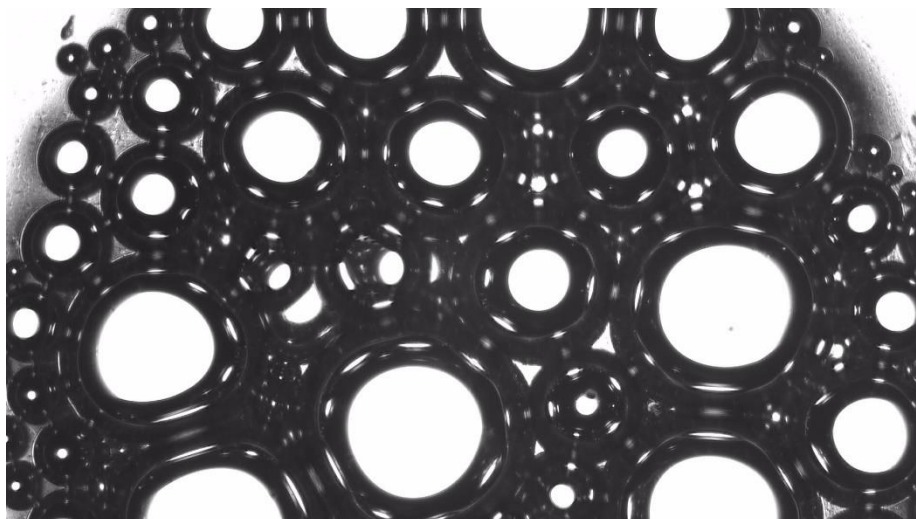
Obrázek 5. Bublinky mýdla s poměrem látek 80:20



Obrázek 6. Bublinky mýdla s poměrem látek 70:30



Obrázek 7. Bublinky mýdla s poměrem látek 60:40



Obrázek 8. Bublinky mýdla s poměrem látek 50:50

Příloha 4. Otázky v dotazníku: Hodnocení šamponu z hydrolyzátu konopí

Jste žena/muž?

Kolik je Vám let?

Používáte šampon?

Jak často si myjete vlasy?

Pro jaký typ vlasů používáte Váš běžný šampon?

Vyhovuje Vám váš šampon?

Kolik jste ochotni utratit za šampon?

Jak jste byli spokojeni s vyrobeným šamponem z konopí?

Jaké se Vám zdají vaše vlasy po umytí vyrobeným šamponem?

Máte po použití vyrobeného šamponu nějakou alergickou reakci?

Jak moc vyrobený šampon pěnil?

Splnil vyrobený šampon Vaše očekávání?

Byli byste ochotni vyrobený šampon používat nadále?

Kolik byste za vyrobený šampon byli ochotni zaplatit?