

**KARLOVA UNIVERZITA V PRAZE  
PEDAGOGICKÁ FAKULTA  
KATEDRA CHEMIE A DIDAKTIKY CHEMIE**

# **DIPLOMOVÁ PRÁCE**

**Využití konopí setého ve výuce chemie**

Vypracovala:

Bc. Adéla Stránská

Vedoucí diplomové práce:

Doc. RNDr. Karel Holada, CSc.

Studijní obor:

anglický jazyk a chemie

V Praze dne 13. dubna 2012

Adéla Stránská

Tato diplomová práce byla vypracována na Katedře chemie a didaktiky chemie Pedagogické fakulty Univerzity Karlovy v Praze v období listopad 2010 – duben 2012.

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně s vyznačením všech použitých pramenů a spoluautorství. Souhlasím se zveřejněním diplomové práce podle zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách, ve znění pozdějších předpisů. Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, ve znění pozdějších předpisů. Dále prohlašuji, že diplomová práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

V Praze dne 13. dubna 2012

Adéla Stránská

## ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá problematikou konopí setého. Cílem je zaměřit se na využití konopí setého ve výuce chemie. Teoretická část práce popisuje botaniku konopí, zpřehledňuje fytoKANABINOIDY, látky v konopí obsažené, a věnuje se i širokému využití rostliny v zemědělství a průmyslu. Praktická část se zabývá výběrem a uspořádáním možného učiva o chromatografii jako nejdostupnější separační technice analýzy konopí ve škole včetně vypracování metodiky edukačního pokusu pomocí tenkovrstvé chromatografie extraktu konopí setého prokazujícího přítomnost fytoKANABINOIDŮ konopí. V praktické části práce je rovněž vytvořeno schéma výukového projektu na téma konopí a popsány nejmodernější techniky, ale i metodiky práce s nimi, které jsou vhodné pro analýzu fytoKANABINOIDŮ konopí setého.

## ABSTRACT

The diploma thesis deals with *Cannabis sativa*. The aim is to focus on possible utilization of *Cannabis sativa* in teaching chemistry. The theoretical part describes the botany of cannabis, overviews phytocannabinoids, substances contained in cannabis, and it also includes wide use of cannabis in agriculture and industry. The practical part deals with the selection and arrangement of a possible curriculum about chromatography as the most affordable technique for analysis of cannabis at school, including the formulation of school experiment methodology using the thin-layer chromatography of *Cannabis sativa* extract to demonstrate the presence of phytocannabinoids. The practical part also includes the scheme of an educational project on cannabis and describes the latest techniques, as well as the methodology of work with them, which are suitable for analysis of phytocannabinoids.

## **Poděkování**

Ráda bych poděkovala Doc. RNDr. Karlu Holadovi, CSc. za odborné vedení a cenné rady a Doc. Dr. Ing. Kateřině Riddellové za poskytnuté konzultace a umožnění pobytů v Ústavu chemie a analýzy potravin Vysoké školy chemicko-technologické.

## Obsah

I. Úvod .....	8
II. Teoretická část .....	9
1. Botanika konopí .....	9
1.1 Druhy konopí .....	9
1.2 Morfologická a anatomická charakteristika konopí .....	11
2. Fytokanabinoidy .....	16
2.1 Kanabinoidy typu kanabigerolu (CBG) .....	17
2.2 Kanabinoidy typu kanabichromenu (CBC) .....	17
2.3 Kanabinoidy typu kanabidiolu (CBD) .....	17
2.4 Kanabinoidy typu $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinolu ( $\Delta^9$ -THC) .....	18
2.5 Kanabinoidy typu $\Delta^8$ -tetrahydrokanabinolu ( $\Delta^8$ -THC) .....	19
2.6 Kanabinoidy typu kanabicyklolu (CBL) .....	19
2.7 Kanabinoidy typu kanabielsoinu (CBE) .....	19
2.8 Kanabinoidy typu kanabinolu (CBN) a kanabinodiolu (CBND) .....	20
2.9 Kanabinoidy typu kanabitriolu (CBT) .....	20
2.10 Kanabinoidy smíšeného typu .....	21
3. Průmyslové a zemědělské využití konopí .....	27
3.1 Zemědělské využití .....	28
3.2 Průmyslová surovina .....	32
III. Praktická část .....	41
4. Specifické činnosti učitele a jeho žáků na téma chromatografie .....	41
4.1 Chromatografie .....	41
4.2 Princip chromatografické separace .....	42
4.3 Dělení chromatografických metod .....	42
4.4 Modelování chromatografické separace .....	46
4.5 Školní pokusy na téma chromatografie .....	50
4.6 Školní pokus: Chromatografie extraktu konopného čaje .....	56

5.	Exkurze a školní projekt: Konopná stezka .....	61
5.1	Úvod.....	61
5.2	Cíle.....	62
5.3	Struktura.....	62
5.4	Závěr .....	64
6.	Technika a metodika práce se SPME a DART.....	65
6.1	Mikroextrakce tuhou fází (SPME).....	65
6.2	Ionizační technika – Přímá analýza v reálném čase (DART) .....	72
IV.	Závěr .....	77
V.	Seznam použité literatury .....	78

## I. Úvod

Již od pradávna je konopí jako rostlina lidstvem využívána, ale i zneužívaná pro své psychoaktivní účinky. V současné době je problematika týkající se konopí, zejména jeho legalizace pro lékařské účely v České republice, velmi diskutovaná, proto jsem se rozhodla této kontroverzní rostlině věnovat ve své diplomové práci.

Cílem práce je zaměřit se na možná využití konopí setého ve výuce chemie. Konkrétně se jedná o vypracování metodiky edukačního pokusu pomocí tenkovrstvé chromatografie extraktu konopí setého prokazujícího přítomnost fytoKANABINOIDŮ konopí, vytvoření schématu výukového projektu na téma konopí a seznámení se s nejmodernějšími technikami vhodných k analýze fytoKANABINOIDŮ konopí a zvážení možnosti jejich zavedení do výuky na Katedru chemie a didaktiky chemie, případně střední odborné školy.

Práce je rozdělena na část teoretickou a praktickou. V teoretické části se v první kapitole věnuji botanice konopí, konkrétně jsou zde uvedeny doposud známé druhy konopí se zaměřením na konopí seté, u kterého je podrobně popsána a vlastními obrázky doplněna morfologická stavba rostliny.

Druhá kapitola je věnována látkám přítomným pouze v rostlinách konopí, a to fytoKANABINOIDŮM. Kapitola obsahuje tabulku, která zpřehledňuje fytoKANABINOIDY uvedením jejich názvů, strukturních vzorců a účinků na lidský organismus.

Ve třetí kapitole se zaměřuji na zemědělské a průmyslové využití konopí, zejména konopí setého technického včetně jeho agrotechniky a pěstování.

Praktická část je rozdělena do tří kapitol. Čtvrtá kapitola se zabývá nejdostupnější separační technikou analýzy konopí ve škole – chromatografií. Jsou zde uvedeny jednak tabulky, které zpřehledňují dělení chromatografických metod, tak i modely přibližující a znázorňující princip chromatografické separace. Součástí kapitoly jsou edukační pokusy využívající extraktu konopí setého technického (konopného čaje).

Pátá kapitola obsahuje návrh exkurze a školního projektu se zaměřením na celkovou problematiku konopí setého technického.

Šestá kapitola se věnuje popisu nejnovějších technik, ale i metodik práce s nimi, které jsou vhodné pro analýzu fytoKANABINOIDŮ konopí.



## II. Teoretická část

### 1. Botanika konopí

Konopí je velmi rozšířená planá, ale i člověkem pěstovaná rostlina. Právě díky člověku, a také vysoké schopnosti adaptace, se konopí mohlo rozšířit z Asie, ze které s největší pravděpodobností pochází, do celého světa. Nejprve bylo konopí řazeno do řádu kopřivovitých (*Urticaceae*) a později do čeledi morušovitých (*Moraceae*). Samostatná čeleď konopovité (*Cannabaceae*) vznikla až na základě pozdějších výzkumů. [1] Čeleď konopovité zahrnuje pouze dva rody. Prvním z nich je rod konopí (*Cannabis*), zahrnující čtyři druhy, druhým rodem je chmel (*Humulus*), který zahrnuje druhy dva. [2] Botanická příbuznost chmele a konopí nemá pro pěstitele konopí žádný význam, jelikož pryskyřice chmelu neobsahuje cannabinoidy, látky s psychotropními účinky. [3] Slovo *cannabis* má původ v řečtině, kde *kannabis* označovalo konopí, *canna* znamená v latině třtina nebo rákos. Podle konopí byla pojmenována celá řada dalších rostlin především prádňích jako například konopí manilské nebo novozélandské. [1]

#### 1.1 Druhy konopí

Roku 1737 v podhůří Himálaje v Indii švédský botanik Carl Linné jako první odborně popsal *Cannabis sativa* L.. O několik let déle v roce 1785 byl francouzským biologem Jeanem Baptistou popsán a pojmenován další druh konopí – *Cannabis indica* L.. Až v první polovině dvacátého století, roku 1924, objevil D. E. Janischewsky v jihovýchodním Rusku třetí a zároveň poslední oficiální druh konopí – *Cannabis ruderalis*. Zatím neoficiální čtvrtý druh konopí – *Cannabis rasta* – byl objeven na základě laboratorních výzkumů Simonem Gilmorem roku 2005. [1,2]

### 1.1.1 Konopí seté

Konopí seté (*Cannabis sativa* L.), které je nejrozšířenějším druhem konopí, zahrnuje další dva poddruhy. Prvním z nich je jednoletý plevel uzpůsobený k samovýsevu - konopí plané (*Cannabis sativa* ssp. *Spontanea*). Charakteristické znaky rostliny jsou nízký stonek, který se silně větví s krátkými internodii, malé listy a drobný plod, který má podélný tvar a na povrchu kresbu. Konopí plané je nenáročné na půdy i klima a také velmi odolné vůči různým chorobám a škůdcům. Konopí kulturní (*Cannabis sativa* ssp. *Culta*) je druhým poddruhem konopí setého. Rostlina je vyššího vzrůstu. Stonek je málo rozvětvený, listy i semeno jsou větší než u plané formy. Nároky na pěstování jsou vyšší, což vede k nižší odolnosti proti chorobám. [1]

### 1.1.2 Konopí indické

Konopí indické (*Cannabis indica* L.) je dalším druhem konopí. Rostlina dosahuje výšky až 1,5 metru, je bohatě rozvětvená a obrostlá až dvanáctičetnými listy. Semena jsou tmavá a lesklá, typické je mramorovité zbarvení. Hojně je pěstováno v Indii, Íránu, Afghánistánu, Turecku, Sýrii a severní Africe za účelem výroby hašiše z omamných látek obsažených v pryskyřici samičího květenství. [1]

### 1.1.3 Konopí rumištní

Konopí rumištní (*Cannabis ruderalis*), označované i jako konopí plané, nedosahuje takové výšky jako druhy předchozí. Stonek je tenký a velmi málo rozvětvený, listy jsou celkem velké. Obsahuje menší množství psychoaktivních látek. [1]

### 1.1.4 Konopí rasta

Konopí rasta (*Cannabis rasta*) je prozatím neoficiální název posledního známého druhu konopí, který byl určen na základě analýzy DNA australskými vědci, kteří prováděli pokusy s více než 200 rostlinami konopí z celého světa. Konopí rasta roste především v jihovýchodní Asii, Indii, ale i v Africe, Mexiku a Jamajce. Vzhledem i růstem se blíží konopí setému technickému typu, liší se v obsahu  $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinolu, kterého konopí rasta obsahuje větší množství. [2]

Kromě těchto tří základních druhů konopí existuje celá řada dalších odrůd. Vyšlechtěné odrůdy se získávají především křížením rostlin konopí indického a setého. Za vznikem těchto odrůd stojí záměr vypěstovat ve větším případě rostliny s vyšším obsahem kanabinoidů, především  $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinolu a kanabidiolu, ale i naopak rostlin se sníženým obsahem těchto látek.

### 1.1.5 Jiné způsoby dělení

Existuje ještě další způsob členění konopí, a to z hlediska geografického. Lze rozlišit čtyři geografické skupiny – severní, středoruské, jižní a hašišné. Zemědělský význam má především konopí jižní a středoruské, představující více než 90 % všech světových pěstitelských ploch.

Jiné možné dělení je na základě právního prostředí. Technické konopí jako odrůda konopí setého se sníženým množstvím  $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinolu, které se pěstuje pro získání vlákna nebo oleje, je v některých státech od 90. let povoleno, na rozdíl od konopí indického, které je ve velké části světa zakázáno. V České republice podléhá pěstování technického konopí oznamovací povinnosti ze zákona č.167/1998 Sb., O návykových látkách. Tato povinnost je zakotvena v § 29 zákona a nařizuje ohlásit pěstování konopí či máku setého v případě, kdy pěstební plocha přesáhne 100 m<sup>2</sup> příslušnému celnímu úřadu. Pěstitelé smí osít pole výhradně schválenou odrůdou konopí setého, která má kontrolovaný obsah THC v sušině podle norem EU. V České republice se jedná o odrůdu JUSO 11 a BENIKO – obě odrůdy obsahují méně než 0,3 % omamných látek THC. [1]

## 1.2 Morfologická a anatomická charakteristika konopí

Konopí seté je jednoletá dvoudomá rostlina, která tvoří na jedné rostlině samičí květenství, na druhé samčí. Dlouhodobé výběrové šlechtění vedlo k zisku jednodomých variant, které mají význam především v zemědělství díky záruce dostatečného opylení květů, následné vyrovnané produkci semene a také vyváženému dozrání porostu. Ve velmi malé míře existují i rostliny hermafroditní, které jsou neplodné. [1]

### 1.2.1 Kořenový systém

Kořen konopí (Obr. 1) je kolmý a kúlovitý, pro výživu a vlastní vývoj rostliny jsou nepostradatelné vlásečnicové kořinky, které jsou posazené po jeho stranách. Obecně platí, že čím hlouběji a řidčeji je semeno zaseto, tím delší a bohatší kořen se vytvoří. Samičí rostliny mají kořenový systém vyvinut více než rostliny samčí. Kvalita půdy je velmi důležitá a zásadní pro vývoj nadzemních částí rostliny.

Zatímco na minerálních půdách s nízkou hladinou spodní vody dosahuje kořen do hloubky 2 i více metrů, na půdách rašelinných s nízkou hladinou vody sahá kořen do hloubky 40 cm. [1]



© Adéla Stránská

**Obrázek 1** Kořen konopí

### 1.2.2 Stonek

Stonek konopí (Obr. 2) je přímá lodyha, která dosahuje délky až 6 m. Vyššího a štíhlého růstu jsou rostliny samčí. Síla stonku se pohybuje od 3 do 60 mm. Během růstu se zelená barva stonku v období plného vegetačního růstu v plné zralosti mění na citronově zelenou, poté stonek začíná dřevnatět a díky vlivu povětrnostních podmínek přechází v barvu hnědou. Stonek je většinou čtyřhranný nebo šestihranný, ve spodních částech je ale vždy kulatý. Počet a délka internodií se liší v závislosti na typu a podmínkách vývoje, obvykle jich ale vyvinutá rostlina má 7–15, přičemž nejtlustší bývají u kořene, nejtenčí uprostřed. Samčí stonek je na rozdíl od samičího světlejší barvy, štíhlejší a jeho internodia jsou delší. Stonek se skládá ze tří částí – lýka, dřeva a dřeně.

Lýko tvoří korovou část stonku, která je složena z vrstev pletiv z vnější strany. Povrch stonku je pokryt pokožkou, která je složena z podélných, vzájemně propojených buněk. Vnější stěny buněk jsou silnější a jsou pokryty kutikulou, která slouží jako ochrana před vnějšími vlivy. Část buněk pokožky je přeměněna na žláznaté chlupy. Výměna vzduchu probíhá průduchy, kterých má konopný stonek 10–18 na 1 cm<sup>2</sup>. Lýková část stonku je tvořena pletivy parenchymem, jehož buňky nepravidelného tvaru jsou umístěny hned pod pokožkou, a kolenchymem, jenž zajišťuje pružnost a pevnost stonku. Kolenchym je nejvíce přítomen v mladých rostlinách. Pletivo sklerenchym, sloužící k odvádění asimilátů z listů do nižších částí rostliny, je tvořeno síťkovitými rourkami, které jsou uloženy těsně pod svazky vláken. Hlavní funkcí těchto vláken je uchránit síťovité rourky a vlastní rostlinu před zlomením či roztrhnutím. Činností kambia ve starších rostlinách a dolních částech stonku jsou tvořena sekundární vlákna. Svazky sekundárních vláken nejsou z důvodu většího počtu krátkých vláček tak pevně vzájemně spojeny a při zpracování stonků poskytují materiál zvaný koudel.

Dřevovina tvoří 1/2–2/3 objemu stonku, a je tedy jeho hlavní součástí. Je složena ze zdřevnatělého parenchymu a mezi ním uložených vodicích pletiv xylému. Stabilitu rostliny zajišťují velmi krátká dřevná vlákna, která zároveň tvoří největší část dřeva konopného stonku.

Dřeň se skládá z buněk parenchymatického typu. Proniká radiálně v pramenech zevnitř stonku až ke kambiu. Díky slabě vyvinutým pramenům a vláknu nacházející se vně stonku se prameny dají snadno zpracovávat na vlákno. [1]



© Adéla Stránská

**Obrázek 2** Stonek konopí

### 1.2.3 List

Konopí má dva jednoduché děložní listy, které mají podlouhlý tvar. Zanedlouho po vzejití začínají opadávat a vytvoří na lodyze první kolénko. Stonek je po celé své délce osázen listy vstřícně, v době květenství je osazení hustější a střídavé. 3–13četné listy konopí (Obr. 3) jsou dlanitě dělené. Jejich tvar je kopinatý, pilovité okraje jsou tvořeny krátkými až středně dlouhými řapíky. Během dozrávání rostliny listy odspodu směrem k vrcholu začínají žloutnout, odumírají a nakonec opadnou. [1]



© Adéla Stránská

**Obrázek 3** List konopí

### 1.2.4 Květ

Samčí květenství (Obr. 4) je uskupeno v úžlabních latách na velmi dlouhých stopkách, které vyrůstají z úžlabí listů. Každý květ obsahuje pět tyčinek a pět žlutozelených květních šupinek. Především v teplých podmínkách v období plného kvetení samčí rostliny produkují velké množství pylu, které může být větrem rozneseno až na vzdálenost 10-12 km. Doba květu se pohybuje od 20 do 25 dnů, po odkvetení rostlina odumírá. Samičí květenství je rozloženo v horní části rostliny v několika vrstvách a utváří hustě olistěné krátké složité hrozny. Květy obsahují svrchní dvou pouzdrý semeník s jedním vysunutým vajíčkem a dvěma dlouhými nitkovitými bliznami. Rostliny samičí přecházejí na květ o 3–10 dní déle než samčí. 14–15 dnů po dozrání je pyl schopný oplodnění. Doba od opylení až do dozrání semena se pohybuje od 30 do 40 dní. [1,4]



© Adéla Stránská

**Obrázek 4** Samičí květenství konopí

### **1.2.5 Plod**

Konopným plodem (Obr. 5) je vejčitá jednosemenná nažka s malým obsahem endospermu a velkým podkovovitě stočeným klíčkem. Velikost semene se liší v závislosti na odrůdě a typu konopí. Délka se pohybuje v rozmezí 2–5 mm, šířka 2–4 mm a tloušťka 2,3–3,8 mm. Semena jsou zbarvená šedozeleně, tmavohnědě až černě s jemným mramorováním. Hodnota hmotnosti tisíce semen dosahuje 8–26 g. [1,4]



© Adéla Stránská

**Obrázek 5** Semena konopí

## 2. Fytokanabinoidy

V rostlinách konopí je možné nalézt velké množství primárních i sekundárních metabolitů. Doposud bylo popsáno 483 sloučenin. Většinou se jedná o látky, které se v živých organizmech běžně vyskytují. V konopí bylo prokázáno 35 sacharidů, 20 jednoduchých kyselin, 18 aminokyselin, proteiny, kvartérní báze, amidy, aminy, alkoholy, aldehydy, ketony, estery a laktony, vitaminy, pigmenty a uhličitany. Sekundární metabolity jsou obsaženy v silici, jež je tvořena z 85 % terpeny jako  $\beta$ -karyophylen, humulen,  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, limonen a myrcen. Dále jsou v konopí přítomny steroidy, nekanabinoidní fenoly a flavoidní glykosidy. Ve velmi malých množstvích lze nalézt i alkaloidy jako například hordenin, kanabisativin a anhydrokanabisativin. [2,5]

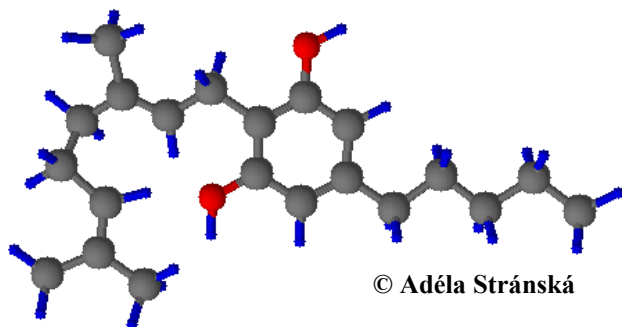
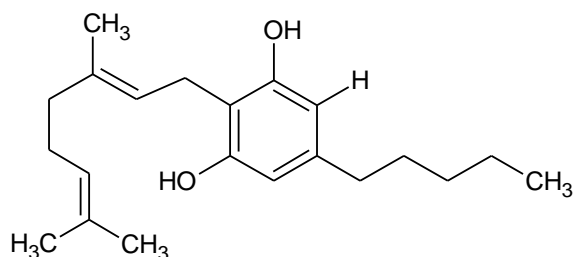
Typické látky, které byly nalezeny pouze v konopí, jsou sekundární metabolity nazývané kanabinoidy. V konopí je zhruba 66 různých fytokanabinoidů, které se tvoří v konopných plevách – žláznaté listeny, které obalují květy a plody. [6] Kanabinoidní látky izolované z konopí, které obsahují typickou  $C_{21}$  strukturu s pyranem a fenolovými cykly, jsou odvozeny od tří základních sloučenin, kterými jsou dibenzopyran (tetrahydrokanabinoly, kannabinol a kanabidiol), chroman (kanabichromen) a terpen geraniol (kanabigerol). V pryskyřici je obsaženo zhruba 40 % kanabinoidů, zatímco v listech a květenství 8–12 %. Pro fytokanabinoidy je společným znakem aromatický šestičlenný kruh s vicinálně uspořádanými substituenty, kterými jsou hydroxyskupina (-OH), vodík (-H) nebo karboxylová skupina (-COOH) a různé uhlíkaté nasycené alifatické zbytky (methyl, propyl, butyl apod.). [7]

Fytokanabinoidy lze rozčlenit do deseti různých tříd.



## 2.1 Kanabinoidy typu kanabigerolu (CBG)

Kanabigerol (Obr. 6) byl prvním identifikovaným kanabinoidem. Jeho prekurzorem je kyselina kanabigerolová (CBGA), která je prvním biogenním kanabinoidem utvářeným v rostlině. CBGA působí jako antibiotikum. Rovněž CBG vykazuje antibiotické, ale navíc i antifungicidní, antiflogistické a analgetické účinky.



Obrázek 6 Kanabigerol

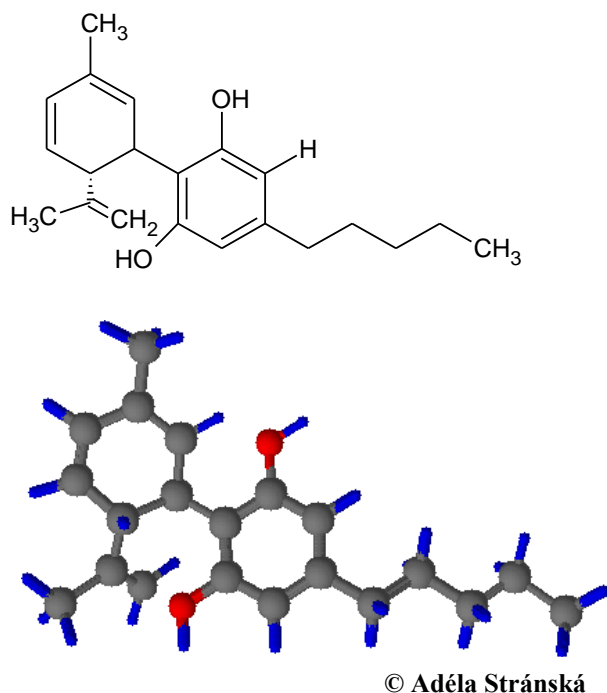
## 2.2 Kanabinoidy typu kanabichromenu (CBC)

Bylo rozpoznáno pět typů CBC-kanabinoidů, které se vyskytují především jako C<sub>5</sub>-analogy CBC. Kanabichromen má stejné farmakologické účinky jako předchozí kanabigerol.

## 2.3 Kanabinoidy typu kanabidiolu (CBD)

Struktura kanabidiolu (Obr. 7) je známa od roku 1963. Doposud bylo popsáno sedm kanabinoidů tohoto typu. Jedná se o rozvětvení bočního řetězce na uhlíku C<sub>1</sub> až C<sub>5</sub>.

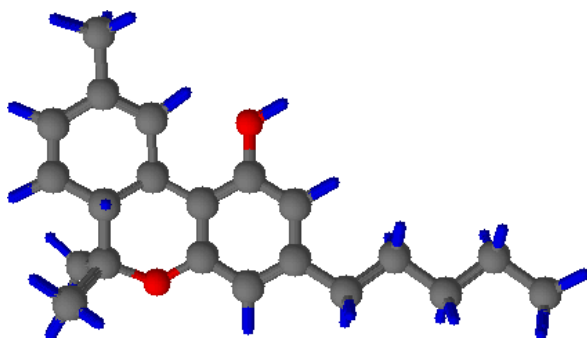
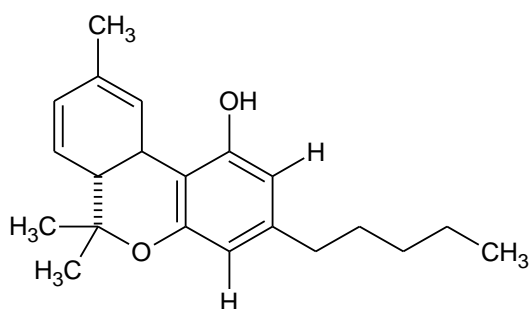
CBD a jeho prekurzorová kyselina kanabidiolová (CBDA), první objevená kanabinoideň kyselina, jsou hlavními kanabinoidey přítomné v technickém konopí. Kanabidiol vykazuje anxiolytické, antipsychotické, analgetické, antiflogistické, antioxidační a antispasmodické účinky. CBDA působí antibioticky.



Obrázek 7 Kanabidiol

## 2.4 Kanabinoidey typu $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinolu ( $\Delta^9$ -THC)

Existuje devět typů  $\Delta^9$ -THC-kanabinoidů s rozvětvením na uhlíku C<sub>1</sub> až C<sub>5</sub>. Hlavním biogenním prekurzorem  $\Delta^9$ -THC je  $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinolová kyselina A, typ B je přítomen v mnohem menším množství. Obě kyseliny nejsou psychoaktivní, na rozdíl od  $\Delta^9$ -THC, který je hlavní psychotropní látkou konopí.  $\Delta^9$ -THC (Obr. 8) byl poprvé izolován v roce 1942, ale jeho správná struktura byla objevena Gaonim a Mechoulamem v roce 1964.  $\Delta^9$ -THC má euforizační, analgetické, antiflogistické, antioxidační a antiemetické účinky. Euforizační a analgetické účinky vykazuje také propyl derivát  $\Delta^9$ -THC –  $\Delta^9$ -tetrahydrokanabivarin (THCV).



© Adéla Stránská

Obrázek 8  $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinol

## 2.5 Kanabinoidy typu $\Delta^8$ -tetrahydrokanabinolu ( $\Delta^8$ -THC)

$\Delta^8$ -THC a jeho prekurzorová kyselina jsou považovány za artefakty  $\Delta^9$ -THC a jeho kyseliny A.  $\Delta^8$ -THC je o 20 % méně aktivní než  $\Delta^9$ -THC, což je způsobeno tím, že dvojná vazba nacházející se mezi uhlíky 8 a 9 je termodynamicky stabilnější než dvojná vazba mezi uhlíky 9 a 10 v případě  $\Delta^9$ -THC.

## 2.6 Kanabinoidy typu kanabicyklolu (CBL)

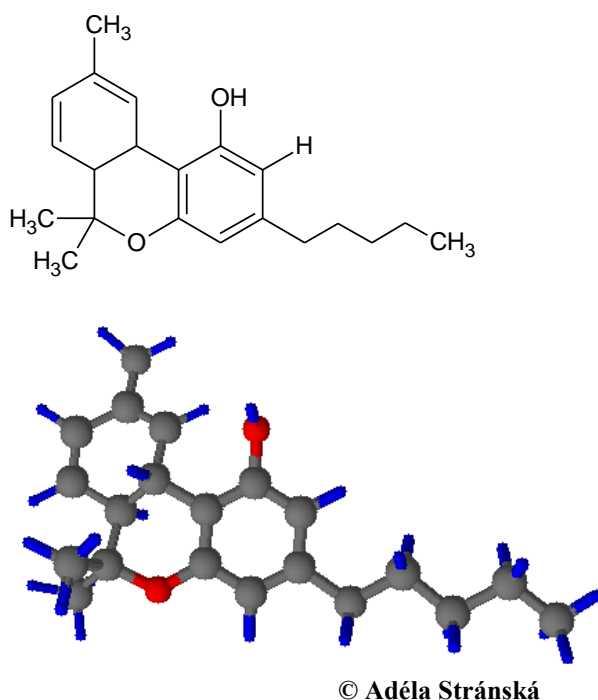
Doposud byly identifikovány tři typy CBL-kanabinoidů, pro které je charakteristickým znakem pětičlenný kruh a přemostění na uhlíku C<sub>1</sub>. CBC vzniká degradací kanabichromenu.

## 2.7 Kanabinoidy typu kanabielsoinu (CBE)

Kanabinoidů typu-CBE jsou metabolity kanabidiolu. Prekurzory CBE jsou kyseliny kanabielsoová A a B, které se liší polohou karboxylové skupiny.

## 2.8 Kanabinoidy typu kanabinolu (CBN) a kanabinodiolu (CBND)

Je známo šest typů CBN-kanabinoidů a dva typy CBND-kanabinoidů. CBN kanabinoidy se v zelené rostlině nevyskytují, vznikají oxidací  $\Delta^9$ -THC. Jejich koncentrace v konopných produktech závisí na stáří a podmínkách skladování. CBN (Obr. 9) byl poprvé pojmenován v roce 1896 Woodem, ale jeho struktura byla objasněna až v roce 1940. Kanabinol má sedativní, antibiotické, antikonvulzivní a antiflogistické účinky.



Obrázek 9 Kanabinol

## 2.9 Kanabinoidy typu kanabitriolu (CBT)

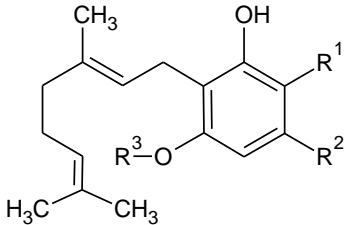
Existuje devět CBT-kanabinoidů, které jsou charakterizovány další substitucí skupiny -OH. CBT existuje jak ve formě isomerů, tak jako racemát. Tetrahydrokanabitriol ester kanabidiolové kyseliny je jediným dokázaným přirozeným esterem kanabinoidů.

## 2.10 Kanabinoidy smíšeného typu

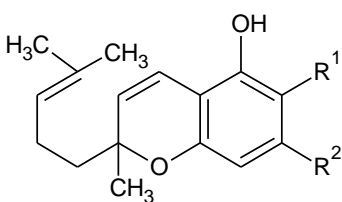
Bylo identifikováno jedenáct kanabinoidů s různými neobvyklými strukturami. Jedná se například o furanový kruh (dehydrokanabifuran, kanabifuran), karbonylovoufunkční skupinu (kanabichromanon, 10-oxo-<sup>TM</sup>-6a-tetrahydrokanabinol) nebo tetrahydroxy substituci (kanabiripsol). V Tab. I je uveden pouze jeden zástupce této skupiny. [5]

Tab. I uvádí jednotlivé třídy kanabinoidů, strukturální vzorce a molekulové hmotnosti a farmakologické vlastnosti hlavních kanabinoidů.

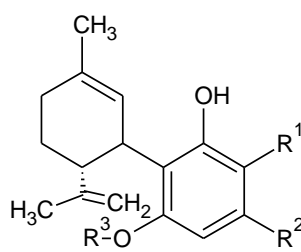
**Tabulka I Kanabinoidy [5]**

Sloučenina	Struktura	Molekulová hmotnost g/mol	Hlavní farmakologické charakteristiky
<b>Kanabigerolová třída</b>			
Kanabigerolová kyselina (CBGA)	 <p><math>R_1 = \text{COOH}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}, R_3 = \text{H}</math></p>	360,498	antibiotikum
Monomethylether kanabigerolové kyseliny (CBGAM)	<p><math>R_1 = \text{COOH}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}, R_3 = \text{CH}_3</math></p>		
Kanabigerol (CBG)	<p><math>R_1 = \text{H}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}, R_3 = \text{H}</math></p>	316,488	antibiotikum antifungicidum antiflogistikum analgetikum
Monomethylether kanabigerolu (CBGM)	<p><math>R_1 = \text{H}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}, R_3 = \text{CH}_3</math></p>		
Kanabigerovarínová kyselina (CBGVA)	<p><math>R_1 = \text{COOH}, R_2 = \text{C}_3\text{H}_7, R_3 = \text{H}</math></p>		
Kanabigerovarin (CBGV)	<p><math>R_1 = \text{H}, R_2 = \text{C}_3\text{H}_7, R_3 = \text{H}</math></p>		

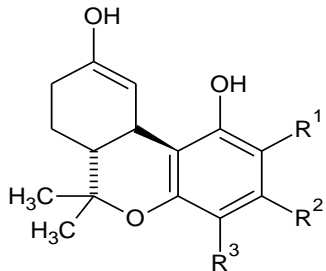
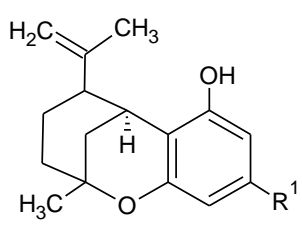
### Kanabichromenová třída

Kanabichromenová kyselina (CBCA)		358,482	
	$R_1 = \text{COOH}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}$		
Kanabichromen (CBC)	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}$ ,	314,472	antiflogistikum antibiotikum antifungicidum analgetikum
Kanabichromevarinová kyselina (CBCVA)	$R_1 = \text{COOH}, R_2 = \text{C}_3\text{H}_7$		
Kanabichromevarin (CBCV)	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{C}_3\text{H}_7$		

### Kanabidiolová třída

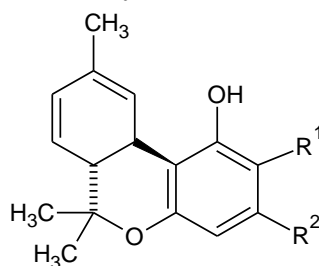
Kanabidiolová kyselina (CBDA)		358,482	antibiotikum
	$R_1 = \text{COOH}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}, R_3 = \text{H}$		
Kanabidiol (CBD)	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}, R_3 = \text{H}$	314,472	anxyolytikum antipsychotikum analgetikum antiflogistikum antioxidant antispasmodikum
Monomethylether kanabidiolu (CBDM)	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}, R_3 = \text{CH}_3$		
Kanabidiol-C <sub>4</sub> (CBD-C <sub>4</sub> )	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{C}_4\text{H}_9, R_3 = \text{H}$		
Kanabidivarinová kyselina (CBDA)	$R_1 = \text{COOH}, R_2 = \text{C}_3\text{H}_7, R_3 = \text{H}$		
Kanabidivarin (CBDV)	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{C}_3\text{H}_7, R_3 = \text{H}$		
Kanabidiorkol (CBD-C <sub>1</sub> )	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{CH}_3, R_3 = \text{H}$		

### Delta-9-tetrahydrokanabinolová třída

Delta-9-tetrahydrokanabinolová kyselina A (THCA-A)		358,482	
Delta-9-tetrahydrokanabinolová kyselina B (THCB-B)	$R_1 = \text{COOH}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}, R_3 = \text{H}$		
Delta-9-tetrahydrokanabinol ( $\Delta^9$ -THC)	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}, R_3 = \text{H}$	314,472	analgetikum antiflogistikum antioxidant antiemetikum euforiant
Delta-9-tetrahydrokanabinolová kyselina C <sub>4</sub> (THCA-C <sub>4</sub> )	$R_1 = \text{COOH}, R_2 = \text{C}_4\text{H}_9, R_3 = \text{H}$ nebo $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{C}_4\text{H}_9, R_3 = \text{COOH}$	344,455	
Delta-9-tetrahydrokanabinol C <sub>4</sub> (THC-C <sub>4</sub> )	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{C}_4\text{H}_9, R_3 = \text{H}$		
Delta-9-tetrahydrokanabivarinová kyselina (THCVA)	$R_1 = \text{COOH}, R_2 = \text{C}_3\text{H}_7, R_3 = \text{H}$	330,428	
Delta-9-tetrahydrokanabivarin (THCV)	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{C}_3\text{H}_7, R_3 = \text{H}$		analgetikum euforiant
Delta-9-tetrahydrokanabiorkolová kyselina (THCA-C <sub>1</sub> )	$R_1 = \text{COOH}, R_2 = \text{CH}_3, R_3 = \text{H}$ nebo $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{CH}_3, R_3 = \text{COOH}$		
Delta-9-tetrahydrokanabiorkol (THC-C <sub>1</sub> )	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{CH}_3, R_3 = \text{H}$		
Delta-7-cis-iso-tetrahydrokanabivarin			
	$R_1 = \text{C}_3\text{H}_7$		

### Delta-8-tetrahydrokanabinolová třída

Delta-8-tetrahydrokanabinolová kyselina ( $\Delta^8$ -THCA)



$R_1 = \text{COOH}$ ,  $R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}$

Delta-8-tetrahydrokanabinol ( $\Delta^8$ -THC)

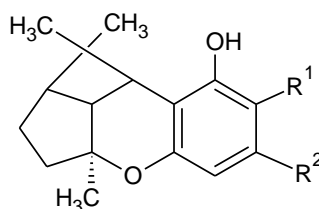
$R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}$

314,472

podobné  $\Delta^9$ -THC

### Kanabicyklolová třída

Kanabicyklolová kyselina (CBLA)



358,482

$R_1 = \text{COOH}$ ,  $R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}$

Kanabicyklo (CBL)

$R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}$

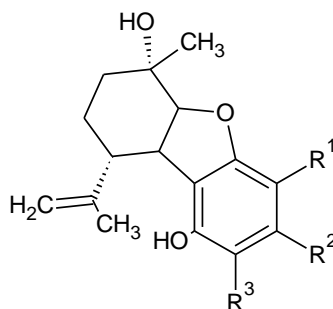
314,472

Kanabicyklovarin (CBLV)

$R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{C}_3\text{H}_7$

### Kanabielsoinová třída

Kanabielsoiová kyselina A (CBEA-A)



$R_1 = \text{COOH}$ ,  $R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}$ ,  
 $R_3 = \text{H}$

Kanabielsoiová kyselina B (CBEA-B)

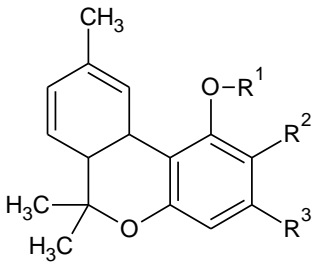
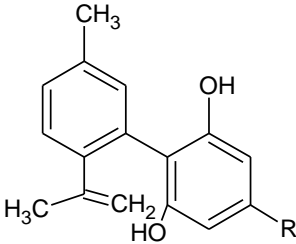
$R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}$ ,  
 $R_3 = \text{COOH}$

Kanabielsoin (CBE)

$R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}$ ,  $R_3 = \text{H}$

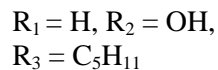
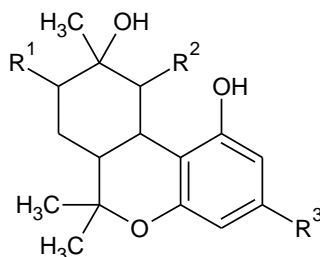


### Kanabinol a kanabinodiolová třída

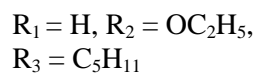
Kanabinolová kyselina (CBNA)		354,45	
	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{COOH},$ $R_3 = \text{C}_5\text{H}_{11}$		
Kanabinol (CBN)	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{H}, R_3 = \text{C}_5\text{H}_{11}$	310,44	sedativum antibiotikum antikonvulsivum antiflogistikum
Kanabinol methylether (CBNM)	$R_1 = \text{CH}_3, R_2 = \text{H}, R_3 = \text{C}_5\text{H}_{11}$		
Kanabinol-C <sub>4</sub> (CBN-C <sub>4</sub> )	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{H}, R_3 = \text{C}_4\text{H}_9$		
Kanabivarin (CBV)	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{H}, R_3 = \text{C}_3\text{H}_7$		
Kanabinol-C <sub>2</sub> (CBN-C <sub>2</sub> )	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{H}, R_3 = \text{C}_2\text{H}_5$		
Kanabiorkol (CBN-C <sub>1</sub> )	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{H}, R_3 = \text{CH}_3$		
Kanabinodiol (CBND)			
	$R = \text{C}_5\text{H}_{11}$		
Kanabinodivarin (CBVD)	$R = \text{C}_3\text{H}_7$		

### Kanabitriolová třída

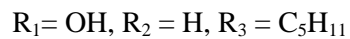
Kanabitriol (CBT)



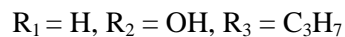
10-Ethoxy-9-hydroxy-delta-6a-tetrahydrokanabinol



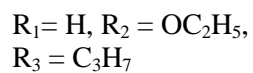
8,9-Dihydroxy-delta-6a-tetrahydrokanabinol



Kanabitriolvarin (CBTV)

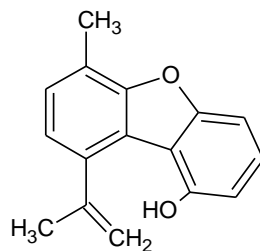


Ethoxy-kanabitriolvarin (CBTE)



### Smíšená kanabinoidová třída

Dehydrokanabifuran (DCBF)



### 3. Průmyslové a zemědělské využití konopí

Konopí je plodinou s mnohostranným využitím. Nicméně v současné době je zejména jeho farmaceutický potenciál ve vyspělých průmyslových zemích limitován zákonem. Tab. II uvádí přehled širokého využití konopí setého.

Tabulka II Přehled využití konopí setého [2]

Část rostliny	Produkty
<b>dlouhá vlákna</b>	<i>textilie</i> (svrchní oděvy, pracovní džínsy, potahy, dekorace) <i>technické textilie</i> (koberce, geotextilie, pytle, plachty) <i>technické prvky</i> (brzdové a spojkové obložení, náhrada azbestu, výlisky, lana, rybářské sítě, kordy)
<b>krátká vlákna</b>	<i>jemné textilie</i> <i>technické produkty</i> (čisticí vlna, stavební desky, izolační desky, přídavek do stavebních hmot, těsnicí koudel, čalounická koudel) <i>papír</i> (tiskový, novinový, obalový, filtrační, elektroizolační, lepenka)
<b>pazdeří</b>	<i>podestýlka pro zvířata, mulčování, topení</i> (brikety)
<b>semena</b>	<i>potravina</i> (müsli), <i>krmivo pro ptáky, konopná mouka, proteinová mouka</i>
<b>olej</b>	<i>potravinářský</i> – stolní (do salátů za studena lisovaný) <i>technický</i> (olejové barvy, tiskařské barvy, čisticí prostředky, fermež, emulgátory, technické biooleje) <i>palivo</i>
<b>extrakty</b>	<i>kosmetika</i> (mýdla, šampony, krémy, pěna do koupele) <i>nápoje</i> (pivo, vodka)
<b>pokrutiny</b>	<i>krmivo</i>
<b>rostliny (listy)</b>	<i>krmivo pro prasata, králíky</i>
<b>CBD/THC, fyтин</b>	<i>léčiva, konzervační prostředky</i>

## 3.1 Zemědělské využití

### 3.1.1 Zemědělská plodina

Konopná kultura není náročná na půdu, hnojení ani závlahu. Konopí je odolné proti škůdcům, využívá se při pěstování na semeno jako meziplodina, například mezi zelím a kapustou, jelikož odpuzuje bělásky. Svým růstem především díky odpadovým tlejícím listům a mikroklimatu, které vzniká mezi stonky, přispívá ke zlepšení kvality půdy. Konopí lze také použít k odplevelení půd, a tím připravit půdu pro pěstování dalších plodin. Je používáno jako předkultura pro velice náročné plodiny. Rychlého růstu kořenů se využívá při zúrodnování blátivé půdy, ale i odvodnění rašelinné půdy. S kořeny dále souvisí i protierozivní a dekontaminační vlastnosti. Konopí svými kořeny dokáže vytáhnout z půdy těžké kovy a následně je ukládat ve stonku. Pazdeří – dřevitá dužina – se pro svou vysokou savost používá jako podestýlka pro hospodářská zvířata nebo v zahradnictví při „mulčování“. [2,4]

### 3.1.2 Potravina a krmivo

#### 3.1.2.1 Semena

Konopná semena mají všestranné využití. Je třeba zmínit, že se ve skutečnosti nejedná o semínko, ale o nažku – ořech obalený tvrdou slupkou. Semena se řadí k potravinám s vysokou výživovou hodnotou (Tab. III). Jsou tvořena průměrně z 25 % jednoduchými proteiny, 31 % tuky a 34 % sacharidy. Obzvláště vyvážený poměr proteinů a esenciálních nenasycených mastných kyselin ze semen činí ideální složku naší potravy. Díky obsahu dvaceti aminokyselin, včetně osmi esenciálních, a mastných kyselin jsou považována za nejuplněnější proteiny v říší zeleniny. Snadná stravitelnost, vstřebatelnost, a tím dobré využití lidským organismem jsou způsobeny absencí inhibitorů trypsinu a oligosacharidů, které ztěžují trávení a způsobují plynatost. K dobré stravitelnosti přispívá především globulin edestin obsažený v konopném proteinu, který je velmi podobný globulinu v krevní plazmě a je spolu s albuminem – další bílkovinou obsaženou v konopném semenu – životně důležitý pro udržení zdravého imunitního systému. [4,8,9]

Konopná semena ve velkém množství obsahují dvě esenciální nenasycené mastné kyseliny – omega-6 kyselinu linolovou a omega-3 kyselinu alfa-linolenovou – které si organismus neumí syntetizovat sám, a tak musí být dodávány potravou. Tyto kyseliny snižují krevní tlak a hladinu cholesterolu v krvi a jsou potřebné pro syntézu buněčné membrány. V semenech se nachází v ideální rovnováze, a to v poměru 3:1. Konopná semena obsahují také poměrně vysoký podíl (2–4 %) kyseliny gamalinolenové, která je součástí mateřského mléka a její význam spočívá ve schopnosti snižovat hladinu cholesterolu, potlačovat průběh artritid a tlumit potíže spojené s premenstruačním syndromem. [4,10]

Semena lze konzumovat jako klíčky, konopný olej nebo jako konopnou mouku. Mezi potraviny vyrobené ze semen patří chlebové směsi, konopný burger, konopné těstoviny, konopná pizza, konopné pečivo, ochucené konopné semínko, konopná tyčinka, konopné pivo, konopný polévkový vývar a konopná pomazánka. [9]

**Tabulka III Obsah živin v konopném semeni na 100g [9]**

	<b>Konopné semeno (neloupané)</b>	<b>Konopné semeno (loupané)</b>	<b>Konopná mouka</b>
<b>Energie</b>	385 Kcal	560 Kcal	260 Kcal
<b>Obsah sušiny</b>	94 g	95 g	96,6 g
<b>Proteiny (bílkoviny)</b>	20–24 g	33 g	28,7 g
<b>Tuk celkem</b>	28–35 g	44 g	9,4 g
<i>z toho:</i>			
<b>Nasycené mastné kyseliny</b>	3 g	5 g	0,8 g
<b>Nenasycené mastné kyseliny</b>	28 g	39 g	8,6 g
<b>Sacharidy</b>	30–35 g	12 g	56,6 g
<i>z toho: vláknina</i>	33 g	5 g	42 g
<b>Minerální látky</b>	6 g	6 g	4,9 g

Samotná semena slouží jako zob pro exotické ptactvo nebo jako rybářská návnada. [2]

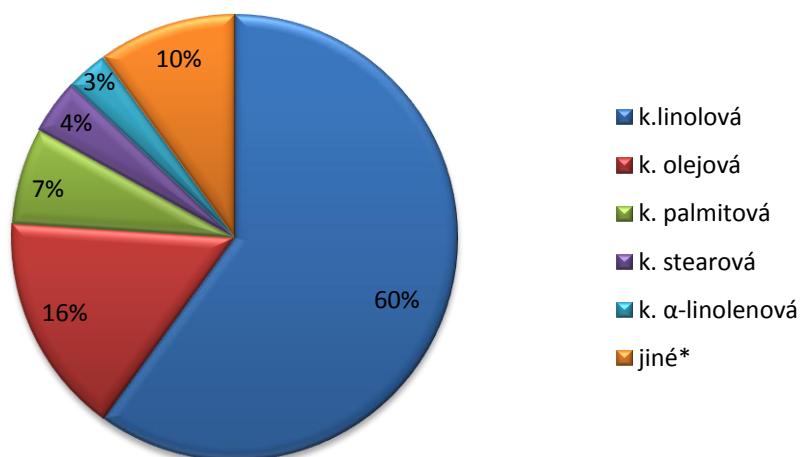
Tabulka IV Obsah vitamínů v konopném semeni [9]

	100 g konopných semen (neloupaných)	denní potřebná dávka (dospělý 80 kg)
<b>Vitamin A</b>	16,8 IE/lb	
<b>Vitamin B<sub>1</sub></b>	0,9 mg	1,1–1,4 mg
<b>Vitamin B<sub>2</sub></b>	1,1 mg	1,5–1,7 mg
<b>Vitamin B<sub>3</sub></b>	2,5 mg	15–18 mg
<b>Vitamin B<sub>6</sub></b>	0,3 mg	1,6–1,8 mg
<b>Vitamin C</b>	1,4 mg	
<b>Vitamin D</b>	< 10IE	
<b>Vitamin E</b>	3 mg	12 mg

### 3.1.2.2 Olej

Konopný olej má díky chlorofylu zlatavě zelenou barvu, typická je pro něj konopná vůně. Vyniká příjemnou a jemnou oříškovou chutí. Výjimečným mezi ostatními rostlinnými oleji ho činí vysoký obsah mastných kyselin (Obr. 10), zejména pak jedinečná kombinace nenasycených kyselin omega-3 a omega-6. Konopný olej také dále obsahuje vitamíny, fytylin, kyselinu kanabidiolovou a velké množství fytosterolů jako  $\beta$ -sitosterol a antioxidant  $\gamma$ -tokoferol – přírodní vitamin E. Vařením olej ztrácí svoji přírodní hodnotu, a není tedy vhodný pro smažení a vaření při vysokých teplotách. Za studena lisovaný olej je proto třeba skladovat na chladném a stinném místě a spotřebovat ho do dvou měsíců. Z 1000 kg semen je možné získat přibližně 260 kg čistého oleje. [1,4]

Pokrutina, zbytek po vylisovaných semenech, obsahuje ještě 5–7 % tuků a 25–30 % bílkovin, a tak ji lze použít jako samostatnou potravinu mající oříškovou chuť, nebo rozemletou jako bezlepkovou mouku. Dá se využít i jako krmivo. Oloupaná semena rovněž slouží k výrobě bezlepkové mouky, ale prodávají se i samostatně. [2]



Jiné\* – k.  $\gamma$ -linolenová, k. arachová, k. myristová, k. eruková, k. negenová, k. eikosenová, k. palmitoolejová, k. arachidonová, k. behenová, k. stearidonová, k. gadoleinová

**Obrázek 10** Graf složení mastných kyselin v konopném oleji [2]

### 3.1.3 Listy a květ

Listy i květy lze použít pro přípravu celé řady pokrmů, například konopný špenát, nebo jako čajovou směs. Destilací se z nich získává esence, která se používá pro přípravu nápojů jako je pivo či víno. [2,9]

## 3.2 Průmyslová surovina

Konopí lze uplatnit jako surovinu v celé řadě odvětví. V případě pěstování konopí pro průmyslové zpracování je pro dosažení žádoucí úrody třeba dodržovat určité podmínky. Je nutné klást důraz na dostatečný příjem vody v období největšího růstu, kvalitu a přípravu půdy, obsah živin i základní agrotechniku. [1]

### 3.2.1 Agrotechnika konopí

Konopí lze pěstovat kdekoliv v mírném pásmu s výjimkou trvale zamokřených nebo přesušených půd. Pro konopí jsou žádoucí hlinité až hlinitopísčité, dostatečně hluboké půdy, dobře zásobené živinami, především dusíkem a draslíkem. Štěrkovité a kamenité půdy nejsou vhodné. Konopí je možné pěstovat až do nadmořských výšek kolem 450 m n. m. [11]

Okopaniny, kukuřice, luskoviny, jetel nebo vojtěška jsou pro konopí nejvhodnější předplodiny, jelikož zanechají půdu v dobrém strukturním stavu a nezaplevelenou. Lze je pěstovat i po obilninách, ale snese i pěstování samo po sobě. Konopí zanechává půdu ve velmi dobrém stavu, používá se jako předplodina i pro náročné polní plodiny. Způsob pěstování konopí se řídí podle toho, zda se pěstuje na vlákno, semeno či na hmotu pro energetické účely. Konopí vyžaduje dostatečné množství živin. Nejlepší možností je, když je půda dobře vyhnojena statkovými hnojivy. Při hnojení hnojem se aplikuje 30 t/ha i více. Zelené hnojení působí také dobře. Podle půdní úrodnosti se již během orby zapravují průmyslová P a K hnojiva do větší hloubky, před setím pak jen z části do hloubky menší. Jelikož konopí odebírá velké množství vápníku a vyžaduje neutrální až zásaditou půdní reakci, tak se na podzim při nedostatku vápníku zaorávají i vápenatá hnojiva. Dále je možné předtím, než rostliny dorostou výšky 0,10–0,15 m, dát ledek vápenatý na listy. Půda se orá na podzim do hloubky 0,25–0,30 m a její povrch je nutné před setím vždy pečlivě urovnat. V druhé polovině dubna nebo začátkem května se konopí seje. V případě, že se konopí pěstuje na hmotu, seje se do řádků 200–250 mm širokých, hloubka setí se pohybuje mezi 20–30 mm s výsevkem 100 kg/ha. [11,12]



### 3.2.1.1 Choroby a škůdci

Půda se po zasetí válí. Zpočátku je růst konopí rychlý a stonek je brzy hustě olistěn. Když je výsev hustější, je konopí schopné potlačit různé plevele. Konopí patří k rostlinám poměrně odolným proti chorobám a škůdcům. Konopí může napadnout dřepčík chmelový (*Psylliodes attenuata* Koch), housenky můry gama (*Autographa gamma* L.), mšice konopná (*Phorodon cannabis* Pass.), zavíječ kukuřičný (*Ostrinia nubilalis* Hübn.), pidikřísek zelenavý (*Empoaso flavescens* F.), listohlodka konopáčová (*Liriomyza eupatorii* Kattenbach). Dále může být konopí poškozeno hmyzem, především moly *Ostrinia nuabilis* a *Grapholita deliniana*, zejména v oblastech s vysokým zastoupením kukuřice. Do chorob, které konopí nejčastěji postihuje, patří plíseň šedá (*Botrytis cinerea* Pers.), fusariosa (*Giberella pulicaris* (Fr.) Sacc.), septoriosa (*Septoria cannabis*), hnědá skvrnitost listů (*Stephylium botryosum*), rakovina a některé choroby virového původu. Bílá (sklerociová) hniloba, jejímž původcem je hlízenka obecná (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) Masse), je považována za nejnebezpečnější chorobu konopí. Někdy porosty na semeno při dozrávání navštěvuje ptactvo. [1,12]

### 3.2.1.2 Sklizeň

V případě konopí na produkci stonků (vlákna) obecně dochází ke sklizni, když jsou samčí rostliny v plném květu a zbavují se pylu nebo po pylovém spadu, kdy začínají opadávat listy. Díky houževnatým stonkům konopí nelze sklízet běžnými sklízecími mechanizmy. Ke sklizni konopí pro technické a energetické účely je většinou nemožné používat sklizňové řezačky, hlavně bubnové, jelikož se stébla namotávají na ústrojí. Pro průmyslové využití konopných vláken byly vyvinuty stroje kombinované. Jejich účelem je oddělení semen, stonky spolu s listím jsou vraceny na pole k doschnutí. Do balíků se poté lisuje oddělené vlákno. Nové upravené řezačky (Obr. 11), na rozdíl od původních, které neumožňovaly obracení ani sklizení konopí kvůli dlouhým stéblům (až 4 m), konopí odřezávají a zároveň je patentovým způsobem řežou na délku 500–600 mm a odkládají je na strniště do řádků.

Po třech dnech po dobu 14 dní se řádky obrací obracečem. Jako následek pomačkání stébla rychle zasychají na vlhkost do 20 %. Sběracím lisem na obří balíky se sbírá uschlá hmota. Výnosy u nadzemní fytomasy se v našich podmínkách pohybují kolem 5,0–7,0 t/ha. [12]



Obrázek 11 Řezačka Kemper v úpravě na konopí [12]

### 3.2.2 Vlákna

Konopí spolu se lnem a ramii patří do skupiny lýkových vláken, ze zmíněných rostlin jsou konopná vlákna nejjemnější, mají nejměkčí omak a vysokou pevnost v tahu. Vlákna jsou vysoce odolná vůči teplu, při teplotách kolem 370 °C dochází ke změně barvy, nad 1000 °C uhelnatí, ale ke vzplanutí nedochází. Na rozdíl od umělých vláken má antistatické účinky a nepřitahuje tak nečistoty. Látky, které jsou z konopí vyrobeny, dokážou zadržet až 95 % UV záření, také potraviny zabalené do konopných tkanin vydrží dvakrát delší dobu čerstvé. Konopné vlákno je složeno z celulózy (67 %), hemicelulózy (16,1 %), ligninu (3,3 %), látek rozpustných ve vodě (2,1 %), pektinů (0,8 %), tuků a vosků (0,7 %) a vlhkosti (10 %). Stejná kvalita vlákn je důležitá po celé jeho délce. Dělí se na tři díly. Střední část je ohebná, stejnorodá a pružná, a proto je nejkvalitnější. Díky těmto vlastnostem se používá k výrobě vysoce kvalitních jemných přízí. Délka tohoto vlákna je úměrná vzrůstu rostliny. Spodní (kořenové) a vrchní (špičkové) části nejsou tak kvalitní a v textilním průmyslu jsou hůře zpracovatelné – vlákna ze spodní části jsou velmi široká a málo pevná a vlákna z horní části jsou hrubší a špatně se štěpí.

Široké svazky konopných vláken se mechanicky dělí tzv. „vochlováním“ (lámáním) a česáním, čímž se utvářejí vlákna jemnější. Při těchto procesech jako vedlejší produkt vzniká krátké vlákno – koudel. Vochlované dlouhé vlákno je roztríděno podle jemnosti a spřadatelnosti. Po tzv. „odpočinku“ – skladování v chladné a tmavé úložně s vysokou relativní vlhkostí – se vlákno dodává do přádelen. Průměrný zisk jemného textilního spřadatelného vlákna činí 120 kg z původních 1000 kg konopného stonku [1,2]

### **3.2.2.1 Vlákná pro textilní a automobilový průmysl**

Tzv. technická vlákna jsou dlouhá 100 až 200 cm, délka konopné koudele se pohybuje okolo 20 cm. Trvanlivost vláken je 4x větší než u bavlny a zároveň jsou vlákna i 8x pevnější. Kvalitní vlákna mají světlou, plavou nebo stříbrošedou barvu a hedvábný lesk. Důležitým parametrem majícím vliv na výtěžnost suroviny a stabilitu procesu předení je čistota. Konopí je velmi odolné vůči vlivům atmosférické vlhkosti.

Konopné tkaniny jsou díky svým vynikajícím vlastnostem jako odolnost vůči horku a hnilobě, zadržování UV záření, pevnosti, pružnosti a výborné savosti využívány k výrobě plachet, hadic, koberců, stanových dílců, provazů a lan. Z dlouhých a pružných konopných vláken je možné utkat i látku tenčí, ale přesto pevnou. Pro tuto látku je typický přirozený lesk, je teplejší a saje dobře pot. Slouží k výrobě ručníků a plen a oblečení pro kojence. Z konopných vláken lze vyrobit i obuv. Oděvy vyrobené z konopí v kombinaci s dalšími tkaninami jako je hedvábí, bavlna nebo len je možné bez problémů prát v automatických pračkách.

Příkladem oblečení a doplňků vyrobených z konopí jsou džíny, trička, košile, tašky, kabelky a čepice. V automobilovém průmyslu se lze s konopným vláknem setkat ve formě potahů, vnitřního čalounění, rohožek a palubních desek. [2]

### **3.2.2.2 Vlákna pro chemický průmysl**

Z konopí je možné vyrobit ekologicky nezávadné plasty, ze kterých se neuvolňují škodlivé ftaláty a nevyvolávají alergické reakce. Plasty se dají recyklovat a jsou v přírodě rozložitelné, tedy se dají i kompostovat. Nejnovější výzkumy ukázaly, že tyto plasty vykazují vyšší pružnost a odolnost vůči tlaku oproti plastům syntetickým. Z krátkých vláken lze vyrobit nádoby na jedno použití nebo je možné je zpracovat na celofánový obalový materiál. Dále je možné je použít při stavbě domu jako instalační materiály – potrubí a kolena. Významné využití plastů z konopí se objevuje také v automobilovém průmyslu, kde snižují spotřebu, hluk a zvyšují odolnost při nárazu. Jsou použity například v sedačkách a výplních dveří. Pro výrobce bioplastů představuje budoucnost spotřební elektronika – obaly počítačů, mobilů, iPodů či televizorů. [2,13,14]

### **3.2.3 Stavební průmysl**

Konopí je praktický, levný a hlavně obnovitelný stavební materiál, který má výborné tepelné a zvukově izolační schopnosti. Ve stavebním průmyslu se konopí využívá jako výborné alternativy dřeva. Uplatnění nalézá při výrobě desek sendvičového tvaru, které jsou pevnější a pružnější než desky dřevěné. Dalším uplatněním jsou izolační rohože, které kromě konopí obsahují polyesterová vlákna (zvýšení kompaktnosti) a přísady sody (ohnivzdornost). Používají se k tepelné izolaci střech, podlah a zdí. Díky dobrým difuzním vlastnostem, které umožňují optimální prostup vlhkosti, zaručují v místnostech ideální zdravé klima. Izolační rohože jsou po enzymatické úpravě bezpečné proti hlodavcům i hmyzím škůdcům, nepodléhají hnilobě a lze je použít jako náhradu plíce a pokožku dráždicí skelné vaty. Konopné pazdeří a stejně tak i vlnu lze použít nejen k tepelné izolaci, ale i jako přísadu do betonu. Beton z konopí je 7x lehčí než klasický beton, je pružný a odolný vůči přírodním podmínkám.

V České republice se od roku 2006 vyrábí chanvribat, konopné pazdeří pro lehčenou maltu a izolační vrstvy, který po smíchání s vhodným pojivem (např. tradichanvre nebo tradical 70) umožňuje realizaci lehčené malty nebo kvalitní izolace.

Další využití konopí ve stavebnictví nabízejí nepálené cihly lisované z konopného pazdeří (25 %) a jílu (75 %). Jelikož je cihla ze tří čtvrtin tvořena jílem, nelze ji použít pro stavbu nosných zdí, ale užívá se například pro stavbu vícevrstevných zdí jako vnitřní izolace či jako obnovení klenutí. Kladem je, že vzhledem k izolačním vlastnostem konopného pazdeří zdivo nepotřebuje žádnou další izolační vrstvu. [2,13]

#### **3.2.4 Chemický průmysl**

Konopný olej lze použít jako součást různých barviv, laků, fermeže a tmelů. Při použití konopí jako složky nátěrů dochází ke zvýšení viskozity a odolnosti vůči saponátům a snížení počtu mikroprasklin. [2,8]

Olej, který je obsažený v pokrutinách, je možné po chemické extrakci a rafinaci dále zpracovat například pro získání tensidů – látek přidávaných do pracích prášků za účelem aktivně snižovat povrchové napětí. Oproti stálým tensidům jsou konopné snadno rozložitelné, a tím šetrné k životnímu prostředí. [1]

#### **3.2.5 Papírenský průmysl**

Výhodou konopného papíru oproti papíru ze dřeva je rychlost růstu konopí, množství celulózy, nižší obsah ligninu, větší pružnost, pevnost a odolnost vůči vlhku a také méně náročná výroba. Z jednoho hektaru konopí lze získat 2,5–4x větší výnos celulózy než z jednoho hektaru lesa. Konopná buničina obsahuje zhruba 10–12 % ligninu, tedy o 20 % méně než dřevo. Množství ligninu má vliv na spotřebu vody během výroby papíru a na užití výrobních metod. V případě použití konopí nedochází k tak velkému zatížení odpadních vod jako v případě užití dřeva, kde metody na odstranění ligninu jsou díky sloučeninám chlóru velice agresivní. Výroba papíru z rostlinných zdrojů jako je konopí by výrazně mohla omezit kácení lesů a s tím související ekologické problémy. Konopný papír se vyrábí recyklací starých konopných materiálů nebo přímo ze stonků konopí. Dlouhá vlákna se využívají pro výrobu vysoce kvalitního papíru, který se hodí pro knihy, časopisy, bankovky a umělecké papíry. Novinový, balicí nebo toaletní papír jsou příklady spotřebních výrobků, které jsou vyráběny z vláken krátkých. V České republice se konopný papír používá výhradně k výrobě cigaretového papíru. [1,2,4]

### 3.2.6 Kosmetický průmysl

V kosmetice se používá ze semen za studena a v ochranné atmosféře lisovaný konopný olej, který má blahodárný vliv na pokožku a vlasy. Olej se velmi dobře vstřebává do pokožky a obnovuje přirozený ochranný mikrofilm, čímž chrání pokožku před vysoušením, časnou tvorbou vrásek a před slunečním zářením. Pozitivně působí na kožní onemocnění jako ekzémy, lupénky či lupy. Kosmetické výrobky mají vysoce regenerativní účinky, působí pouze lokálně, nemají návykové či psychotropní účinky, a jelikož neobsahují parabeny ani parfém, jsou hypoalergení. [2,15]

### 3.2.7 Farmaceutický průmysl

Ve farmacii mají význam především účinky fytokannabinoidů konopí (Tab I). V České republice je jediným registrovaným lékem sublingvální (ústní) sprej Sativex<sup>®</sup> (Obr. 12). Jedná se o patentově chráněnou metodou připravený extrakt ze samičích rostlin s vysokým obsahem kannabinoidů. Produkt je ve formě roztoku  $\Delta^9$ -THC a CBD v alkoholu a propylenglykolu společně s pepermintovým olejem. Lék je u dospělých pacientů užíván jako analgetikum pro symptomatickou léčbu neuropatické bolesti u roztroušené sklerózy. [1,16]



Obrázek 12 Přípravek Sativex<sup>®</sup> [16]

### 3.2.8 Energetický průmysl

Konopí dosahuje vysokých výnosů biomasy, což umožňuje ekologicky šetrnou produkci obnovitelné energie. Na jednom hektaru konopí při použití organických hnojiv se vyprodukuje 10–12 tun biomasy, ze které lze získat až 190 GJ energie. Konopné stonky se po posečení nechají několik dnů ležet na poli, aby na ně mohla působit atmosférická vlhkost a půdní bakterie. Tento proces se nazývá rosení. Během něho se uvolňují vlákna od pazdeří, následným zpracováním konopí pro produkci vlákna jsou pak stonky mechanicky rozlámány a pazdeří je od vlákna zcela odděleno. Pro energetické využití se získané pazdeří lisuje do briket a pelet. Díky vysokému obsahu celulózy, hemicelulózy a ligninu je konopné pazdeří kvalitním materiálem pro proces spalování. Ve srovnání s uhlím konopné spaliny obsahují minimální množství síry a jiných škodlivin. Při spalování briket z konopného pazdeří nevzniká tolik popelovin jako při spalování uhlí a získaný podroštový popel lze použít jako hnojivo s dobrým obsahem vápníku, hořčíku, draslíku a fosforu. Výhřevnost konopí, která dosahuje až 18 MJ/kg, je srovnatelná s výhřevností hnědého uhlí, která se pohybuje mezi 16–17 MJ/kg. U moderních kotlů spalujících biomasu dosahuje účinnost spalování až 89 %. Pěstovat konopí pouze pro energetické účely není natolik efektivní jako jeho komplexní využití. Pro energetický průmysl je aktuální především využití pazdeří, které tvoří až 70 % ze zpracovaného objemu konopných stonků. Obecně ale platí, že materiálové využití by mělo mít přednost před energetickým zhodnocením. Za skutečně efektivní je považováno pouze pálení odpadu z výroby a energetickou potřebu pokrývat mixem energeticky využitelných rostlin a dalších druhů obnovitelných zdrojů energie. Výhodné je z pohledu rozvoje malého územního celku a jeho energetické soběstačnosti využití biomasy pro malé výtopny zásobující vesnice či malé provozy teplem. [1,17]

### 3.2.9 Zneužití konopí

Využití konopí jako drogy za účelem vyvolat změnu stavu vědomí je lidstvu známé již od dob šamanismu. Za psychotropní účinek je především zodpovědný  $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinol ( $\Delta^9$ -THC) viz 2.4. V jednotlivých částech rostliny se jeho množství značně liší. Nejvyšší obsah mají okvětní lístky vrcholů samičích rostlin, v pořadí horní listy, dolní listy, stonek, kořen a semena pak množství klesá.

Obvykle se konopí zneužívá ve třech formách. První, a zároveň nejznámější, formou jsou květy s okvětními lístky usušené samičí rostliny, které mohou být smíchány s většími listy, nazývané marihuana. Obsah  $\Delta^9$ -THC v marihuaně je v průměru 2–8 %, na rozdíl od druhé formy, hašiše, kde obsah  $\Delta^9$ -THC je v průměru 20 %. Hašiš se získává zpracováním zralých samičích květů bohatých na pryskyřici obsahující kanabinoidy. Třetí formou užívání drogy je konopný nebo hašišový olej získávaný extrakcí konopí nebo hašiše a obsahující 15–50 %  $\Delta^9$ -THC. Olej se ve formě kapek umísťuje na tabák nebo cigaretový filtr, případně se používá jako přísada do jídla. Pro nástup psychoaktivního účinku jsou dostačující pouhé dvě kapky.

Nejrozšířenějším způsobem aplikace konopných drog je kouření, kdy se psychoaktivní účinky dostavují od desítek sekund do minut a trvají přibližně od jedné do tří hodin. Marihuanový kouř je pro lidský organismus srovnatelně škodlivý jako kouř tabákový, výsledky studií dokazují, že zanesení plic dehtem je v případě kouření marihuany výrazně větší než v případě kouření tabáku. Jiný možný způsob aplikace drogy je perorálně, nejběžnější je požití v jídle. Při vaření konopných pokrmů je důležité si uvědomit, že  $\Delta^9$ -THC je rozpustný v tucích, olejích a alkoholu, nikoli ve vodě. Na rozdíl od inhalace konopí, v případě perorálního podání drogy nastupuje psychoaktivní účinek za delší dobu, řádově desítky minut, ale trvání euforie se pohybuje v rozmezí několika hodin. K oblíbeným pokrmům patří konopné mléko tzv. bhang, konopné kakao, káva, pivo či konopné koláčky nebo karamel.

Dlouhodobé užívání konopných drog vede k symptomům chronické bronchitidy, rozedmě plic, obstrukční nemoci plicní, rakovině plic i dehtu vystavených tkání jako jazyk, nosohltan, hrtan, dále pak má za následek periferní vazodilataci, tachykardii, snížení sekrece testosteronu, produkce spermatu a interferenci s ovulačním cyklem ženy. [1,18]



### **III. Praktická část**

#### **4. Specifické činnosti učitele a jeho žáků na téma chromatografie**

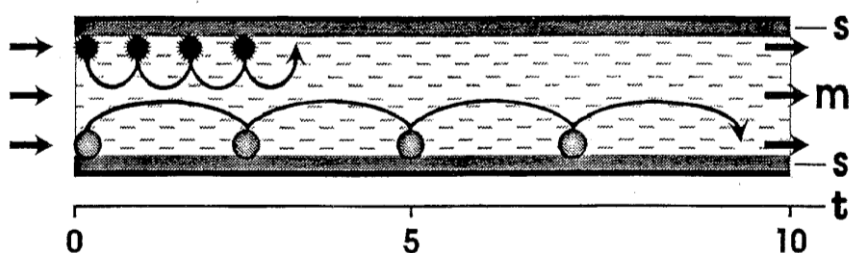
##### **4.1 Chromatografie**

Chromatografie se řadí mezi nejvýznamnější analytické metody, jelikož umožňuje dělení, identifikaci a stanovení velkého množství organických i anorganických látek. [19] Lze ji definovat jako fyzikální metodu separace, ve které jsou komponenty určené k separaci distribuovány mezi dvě fáze – stacionární (nepohyblivou) a mobilní (pohyblivou). V dnešní době je chromatografie díky jednotnému teoretickému základu, rozvinuté metodologii a pokročilé instrumentaci považována za významné odvětví separačních metod. Jelikož chromatografie umožňuje analyzovat látky od nejlehčích plynů až po homologické polymery, biomolekuly, buňky či viry, často také s přihlédnutím k isotopové, isomerní, iontové nebo chirální povaze, k velikosti a tvaru, výrazně přispěla k posunutí mezí detekce látek i manipulaci s nimi, stejně tak i jejich spektrum. Chromatografie ovlivnila metodickou úroveň nejen chemického výzkumu v celé řadě úseků základních věd jako je chemie, biologie či medicína, ale řeší i problémy v aplikovaných oblastech jako jsou kontrola životního prostředí, jakosti potravin, čistoty či metabolizace léčiv, zabývá se i otázkami kriminalistiky, vesmírného programu a řízení některých chemických výroby. [20]

## 4.2 Princip chromatografické separace

Ve stejnou chvíli vstupují do kolonky molekuly dělených látek, které mají tendenci střídavě pronikat do stacionární a mobilní fáze. V každé fázi se složky zdržují různě dlouhou dobu na základě jejich afinity k jednotlivým fázím. Složka s větší afinitou k mobilní fázi (šedé kroužky) je unášena rychleji než složka s větší afinitou k fázi stacionární (černé kroužky), čímž dochází k dělení složek směsi. [21]

Obr. 13 znázorňuje schéma principu chromatografického dělení.



**Obrázek 13** Princip chromatografické separace [21]

s – stacionární fáze, m – mobilní fáze, t – čas průchodu složky kolonkou, → směr pohybu mobilní fáze a složek směsi kolonkou, ● ● dvě rozdílné složky směsi

## 4.3 Dělení chromatografických metod

Chromatografické metody lze rozdělit na základě různých hledisek.

### 4.3.1 Povaha mobilní fáze

Podle skupenství mobilní fáze (plyn nebo kapalina) se rozlišuje chromatografie plynová (GC) a kapalinová (LC). Kompromis mezi těmito dvěma krajnostmi tvoří chromatografie v nadkritické tekutině (SFC). [22]

Tab. V uvádí dělení chromatografických metod na základě skupenství fází.

**Tabulka V Dělení chromatografických metod podle skupenství fází [22,23]**

<b>Fáze mobilní</b>	<b>Fáze stacionární</b>	<b>Technika</b>	<b>Symbol</b>
plyn (plynová chromatografie)	kapalina na nosiči	plynová rozdělovací chromatografie	GLC
	tuhá látka	plynová adsorpční chromatografie	GSC
kapalina (kapalinová chromatografie)	kapalina (polymer) vázaná na nosiči	kapalinová rozdělovací chromatografie	LLC
			RPC
	kapalina v pórech sorbentu	gelová permeační chromatografie	GPC
			SEC
	tuhá látka	kapalinová adsorpční chromatografie	LSC
		iontová chromatografie	IEC
kapalina	papírová rozdělovací chromatografie	PC	
		tenkovrstvá rozdělovací chromatografie	TLC
tuhá látka		tenkovrstvá adsorpční chromatografie	TLC
tekutina v nadkritickém stavu	kapalina (polymer) vázaná na nosiči	chromatografie s mobilní fází v nadkritickém stavu	SFC

#### 4.3.2 Způsob provedení

Další rozdělení je na základě uspořádání fáze stacionární. V případě, že je stacionární fáze umístěna v trubici (kolona, sloupec), jedná se o kolonovou (sloupcovou) chromatografii. Druhé možné uspořádání je tzv. plošné (planární), kde stacionární fáze je buď součástí chromatografického papíru, potom se jedná o papírovou chromatografii (PC), nebo je umístěna na pevném plochém podkladu, nejčastěji jde o skleněnou desku či hliníkovou folii, pak se technika nazývá tenkovrstvá chromatografie (TLC). [22]

### 4.3.3 Princip separace

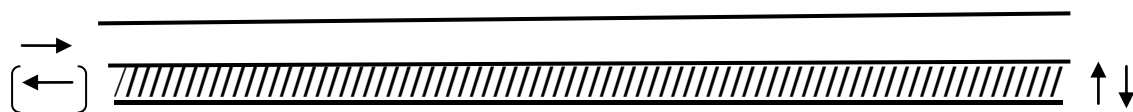
Z hlediska povahy převažujícího děje se rozlišují následující typy metod. Rozhoduje-li o dělení rozdílná rozpustnost složek vzorku ve stacionární fázi (kapalina) a mobilní fázi (kapalina nebo plyn), jedná se chromatografii rozdělovací, rozhoduje-li o separaci různá schopnost složek adsorbovat se na povrch stacionární fáze (pevná látka), jde o adsorpční chromatografii. Dochází-li k separaci na základě různě velkých elektrostatických přitažlivých sil mezi funkčními skupinami stacionární fáze (iontoměnič) a ionty vzorku, metoda se nazývá iontově-výměnná chromatografie. Další metodou je gelová chromatografie, kde dochází k dělení složek na pórovité stacionární fázi (gel) na základě jejich velikosti, menší molekuly se v pórech zdržují déle – molekulový síťový efekt. V případě, že je stacionární fáze schopna vázat ve vzorku určité složky, ke kterým má úzce selektivní vztah (afinitu), se jedná o afinitní chromatografii. [22]

### 4.3.4 Pracovní způsob

Dalším hlediskem rozdělení chromatografických metod je pracovní způsob, kterým je uskutečňovaný transport analyzované směsi prováděn. Rozlišuje se eluční, frontální a vytěšňovací technika. [22]

Tab. VI zpřehledňuje principy a metody chromatografie a analogických technik a Tab. VII uvádí základní realizační typy chromatografické separace podle profesora Jaroslava Janáka.

Tabulka VI Principy a metody chromatografie a analogických technik [20,24]



Směr toku (rovnováhy)	Fáze	Chromatografie
→	kapalina	"Cvetova"
	plyn	papírová
	superkritické fluidum	tenkovrstevní
	elektrický tok	plynová
		superkritická fluidní
↔		elektro
	sorbent	hypersorpce
↑↓	kapalina	protiproudné roztřepávání „denuder“
	adsorpce	kapalina-pevná látka (gel) plyn-pevná látka superkritické fluidum-pevná látka
	chemisorpce	ionto-výměnná afinitní tvorba komplexů
	absorpce (rozdělování)	kapalina-kapalina
	omezená difuze	plyn-kapalina
	fyzikální pole	gelová okluse
		frakcionace tokem v silovém poli

**Tabulka VII Základní realizační typy chromatografické separace [20]**

<b>Rovnováha (izoterma)</b>	<b>Provedení experimentu</b>	<b>Formát experimentu</b>	<b>Srážené techniky</b>
lineární	zónové	kolona	vícerozměrné
nelineární	frontální vytěšňovací	drážka plocha	kombinace se spektrálními metodami

## 4.4 Modelování chromatografické separace

### 4.4.1 Vodácké putování

Model se vyznačuje především svoji jasnou názorností a humorným pojetím, které ocení žáci základních i středních škol. Model je možné promítnout na videozáznamu<sup>1</sup>, načrtnout na tabuli nebo převyprávět.

Pomůcky: Kartonový papír, bílý balicí papír, tři různé barvy figurek, makety domů, barevné fixy.

Vytvoření modelu: Na balicí papír se nakreslí řeka. Podél řeky se rozmístí makety domů. Karton se použije na zhotovení lodí, na které se postaví barevné figurky.

---

<sup>1</sup> Nekomerční videozáznam (Holada, Wollrab).

Průběh modelu: Na začátku sjíždění řeky jsou tři různé posádky promíchány ve třech lodích. První posádka je červená, druhá žlutá a třetí černá. Všechny lodě zahajují cestu společně. Na první zastávce se ale na základě jejich oblíbeného nápoje začínají rozdělovat. Červená posádka ráda pije pivo, žlutí holdují vínu a černí pijí nealkoholické nápoje. Během první zastávky se vylodí všichni, ale černá posádka se vrátí nejdříve a pokračuje na další zastávku, žlutí „vinaři“ se zdrží déle a odplouvají jako druzí, zatímco červení, milovníci piva, zůstávají, pivo vychutnávají a odjíždí nejpозději. Během sjíždění řeky takto dochází na občerstvovacích stanicích k jejich dalšímu dělení. Do cíle tak dorazí v různých časových rozestupech.

Popis modelu: Mobilní fáze je představena tekoucí řekou, která unáší jednotlivé složky směsi, v tomto případě se jedná o lodě a jejich posádky. Stacionární fázi tvoří občerstvovací zařízení. Různý časový úsek strávený v zařízeních nad různými druhy nápojů, v tomto případě doba potřebná k vypití piva, vína nebo „nealka“, představuje afinitu jednotlivých složek ke stacionární fázi. Lodě stávají na každé zastávce různě dlouhou dobu, a tak dochází k dělení složek směsi.

Závěr: Model velice přehledně, zábavně, jednoduše a jasně objasňuje princip chromatografického dělení. [25]

#### 4.4.2 Model s mincemi a pravítky

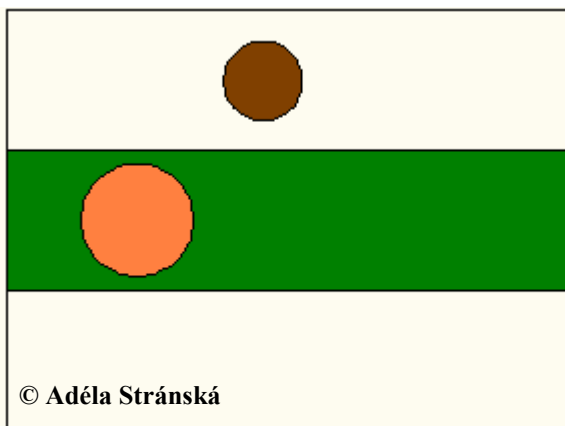
Model je možné společně s žáky vytvořit a předvést, promítnout pomocí zpětného projektoru nebo pustit na videozáznamu<sup>2</sup>.

Pomůcky: 1 zelené pravítko, 2 průhledná pravítka, 2 různě velké mince, průhledná fólie

Popis a zhotovení modelu: Pravítka se k sobě přiloží tak, aby zelené pravítko, představující mobilní fázi, bylo umístěno mezi dvě průhledná, která demonstrují fázi stacionární. Na proužky fólie se přilepí dvě rozdílné mince, které znázorňují dělenou směs.

Děj modelování: Do mobilní fáze je vstříknuta směs látek (dvě různé mince), která je unášena dále. Posouváním pravítka ve směru dělené směsi se zajistí pohyb mobilní fáze. Každá mince představující různou látku se pohybuje mezi stacionární a mobilní fází různou rychlostí. Jelikož každá složka zůstává ve stacionární fázi různě dlouho, dochází tak k rozdělení směsi na základě rozdílné afinity.

Závěr: Na modelu je opět velice snadné vysvětlit princip chromatografie.[25]



**Obrázek 14 Model s mincemi a pravítky**

dva bílé pruhy – dvě průhledná pravítka, zelený pruh – zelené pravítko, dva různě velké kroužky – dvě různé mince

<sup>2</sup> Nekomerční videozáznam (Holada, Wollrab).



#### 4.4.3 Nákupní horečka

Model, který je určen především pro ústní podání, jsem vytvořila na základě inspirace prvním zmíněným modelem.

Průběh modelu: Během školního výletu do Prahy dostanou žáci před obchodním domem v ulici Na Příkopech rozchod, aby si mohli projít obchody na Václavském náměstí. Sraz mají u sochy svatého Václava v horní části Václavského náměstí. Dívky a chlapci se nejprve drží pohromadě a do prvního obchodu jdou společně. Jelikož se jedná o obchod s oblečením, postupně nastává rozdělení. Dívkám se líbí oblečení, zkoušejí ho, čímž se v obchodě zdrží déle než chlapci, pro které obchody s oblečením nejsou zajímavé, a tudíž odcházejí z obchodu dříve. Jak postupují nahoru směrem k soše, dochází na základě oblíbenosti různých obchodů k dalšímu dělení.

Popis modelu: Mobilní fáze, která je složena ze složek směsi v našem případě se jedná o chlapce a dívky jako účastníky výletu, je představena davem lidí směřující z dolní části Václavského náměstí k jeho horní části. Stacionární fázi tvoří obchody na Václavském náměstí. Různý čas strávený v různých obchodech představuje afinitu složek, chlapců a dívek, ke stacionární fázi. Jelikož se jednotliví účastníci zdržují v každém obchodě jinou dobu, nastává dělení složek směsi.

Závěr: Model na příkladu z reálného života demonstruje princip chromatografické separace.

## 4.5 Školní pokusy na téma chromatografie

Vybrala jsem dva nové zajímavé pokusy, které jsou snadno proveditelné a dostupné i pro žáky na základních školách. V pokusu číslo 1 je druhá část věnována využití květu a listů konopí (konopného čaje<sup>3</sup>).

### 4.5.1 Pokus č. 1: Rozdělovací chromatografie

Název: **Dělení listových barviv**

Anotace: Cílem pokusu je pomocí papírové rozdělovací chromatografie dokázat přítomnost listových barviv – chlorofylu **a** a **b**, feofytinu, xantofylů a karotenoidů. V první části pokusu jsou uvedena dvě možná provedení papírové rozdělovací chromatografie. Ve druhé části, věnované analýze extraktu konopí setého technického (konopného čaje), se jedná o chromatografii adsorpční, ale z důvodu stejného postupu je pokus zařazen do pokusu číslo 1.

#### Část 1

Princip: Vzestupná rozdělovací chromatografie na papíře.

Pomůcky: Třecí miska s tloučkem, pipetka, chromatografický nebo filtrační papír, kádinka, běžná filtrační aparatura (nálevka, stojan, držák, filtrační papír), skleněný válec s Petriho miskou nebo preparátní válec s víkem.

Chemikálie: Zelené listy (špenát, kopřiva apod.), ethanol (denaturovaný), isopropanol, voda, technický benzín

Postup: 1) Příprava vzorku

Zelené listy se rozmačkají v třecí misce s několika mililitry ethanolu a kapalina se přefiltruje do kádinky. Vzniklý roztok musí být tmavě zeleně zbarven.

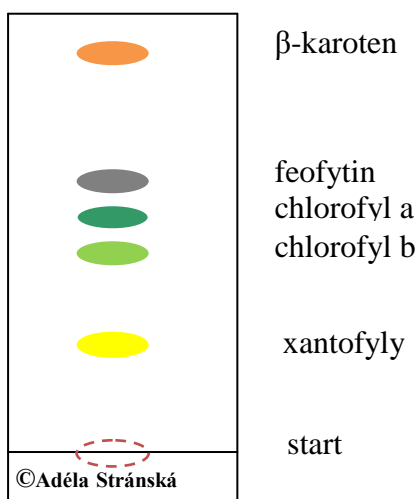
---

<sup>3</sup> Běžně dostupný produkt technického konopí prodávaný pod názvem Konopný list a květ vyráběný na Kozí farmě Břeží, cena za 40 g přibližně 100 Kč.

## 2) Vzestupná papírová chromatografie

*Provedení I.* Do kádinky s extraktem se ponoří pruh chromatografického, příp. filtračního papíru šířky 2–3 cm. Roztok začne směrem nahoru vzlínat a dochází k rozdělení na jednotlivé složky. Karotenoidy se adsorbují méně a postupují rychleji než chlorofyly (chlorofyl **a** a **b**) a feofytin, proto prolínají výše a vytvoří nad oběma chlorofyly oranžový pás (Obr. 15).

*Provedení II.* Na pruh chromatografického, příp. filtračního papíru šířky 2–3cm se pipetou 2 cm od spodního okraje tužkou vyznačí start a na něj se nanese kapka extraktu. Po zaschnutí se proužek vloží do skleněného válce, který obsahuje vyvíjecí soustavu vzniklou smícháním 25 ml benzínu, 2,5 ml isopropanolu a kapkou vody. Skleněný válec se přiklopí malou Petriho miskou. Jakmile dosáhne rozpouštědlo zhruba 1 cm pod horní okraj desky, chromatogram se vyjme a nechá se odvětrat. Následně se pozorují barevné skvrny značící přítomnost listových barviv (Obr. 15).

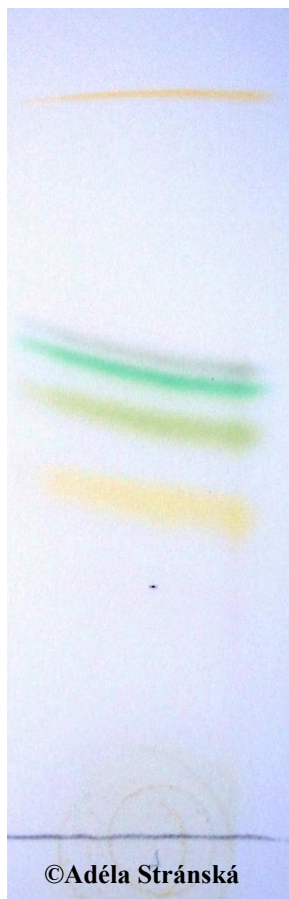


Obrázek 15 Schéma chromatogramu dělení listových barviv.

## Část 2

Princip: Vzestupná adsorpční chromatografie na tenké vrstvě.

Postup: Postup je stejný jako v *provedení II.*, ale místo chromatografického papíru se použije 3 cm široký pruh desky Silikagel 60 F<sub>254</sub> Merck<sup>4</sup>.



**Obrázek 16 Chromatogram dělení listových barviv konopí setého**

žlutý pruh – xantofyly, zelené pruhy – chlorofyly **b** a **a**, šedý pruh – feofytin, oranžový pruh –  $\beta$ -karoten

Závěr: První část pokusu pomocí papírové rozdělovací chromatografie demonstruje přítomnost listových barviv v zelených listech rostlin. [26] Druhá část pokusu prokazuje přítomnost listových barviv v suchém materiálu (konopném čaji) za využití adsorpční chromatografie na tenké vrstvě.

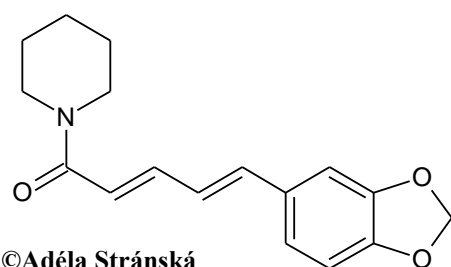
---

<sup>4</sup> Lze použít i jiný silikagel s velikostí pórů 60 Å (6 nm) a přítomností fluorescenčního indikátoru s vlnovou délkou excitace 254 nm.

## 4.5.2 Pokus č. 2: Adsorpční chromatografie

### Název: Důkaz piperinu v pepři

Anotace: Pokus je určen pro žáky středních škol. Cílem je prokázat přítomnost alkaloidu piperinu (Obr. 17) v černém pepři pomocí adsorpční chromatografie na tenké vrstvě. Jelikož se v případě mobilní fáze jedná o látky, s nimiž žáci nemohou pracovat, je třeba, aby učitel připravil vyvíjecí soustavu do preparátního válce sám a dbal na bezpečnost práce během průběhu celého pokusu.



**Obrázek 17 Piperin**

Princip: Vzestupná adsorpční chromatografie na tenké vrstvě.

Pomůcky: Třecí miska s tloučkem, zkumavka se zátkou, preparátní válec s víkem zabroušeným dovnitř, Silikagel 60 F<sub>254</sub> Merck<sup>5</sup>, odměrný válec, běžná filtrační aparatura (nálevka, stojan, držák, filtrační papír), mikropipeta, lahvička s rozprašovačem.

Chemikálie: ethanol, benzen, octan ethylnatý, Dragendorffovo činidlo

---

<sup>5</sup> Lze použít i jiný silikagel s velikostí pórů 60 Å (6 nm) a přítomností fluorescenčního indikátoru s vlnovou délkou excitace 254 nm.

## Postup:

### 1) Příprava vzorku

1 g peře se v třecí misce rozdrť a přelije se 10 ml 96% ethanolu, se kterým se následně 10 minut protřepává ve zkumavce. Následně se extrakt přefiltruje a pomocí ethanolu upraví na objem 10 ml.

### 2) Vzestupná chromatografie na tenké vrstvě

Na pruh chromatografické desky se na tužkou načrtnutý start nanese na dvě vyznačená místa 10  $\mu$ l extraktu. Ve vzdálenosti 10 cm od startu se rovněž vyznačí čelo eluátu. Takto připravená deska se vloží do preparátního válce obsahujícího vyvíjecí soustavu, která vznikne smícháním 7 ml benzenu a 3 ml octanu ethylatého. Válec s vyvíjecí soustavou se použije nejdříve 30 min po nalití směsi. Po dosažení čela se deska vyjme a nechá se odvětrat.

### 3) Detekce

#### Dragendorffovo činidlo

*Roztok I:* 850 mg zásaditého dusičnanu vizmutitého se rozmíchá se 40 ml vody a přidá se 10 ml 20% kyseliny octové.

*Roztok II:* 8 g jodidu draselného se rozpustí ve 20 ml vody.

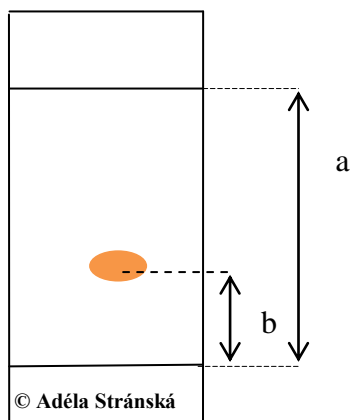
Oba roztoky se těsně před použitím smísí. Pro detekci se 10 ml zásobního roztoku smísí s 20 ml 20% kyseliny octové a 100 ml vody.

Odvětraný a suchý chromatogram se postříká detekčním činidlem. Piperin se projeví jako oranžová skvrna na světlejším pozadí. Změří se hodnota retenčního faktoru ( $R_F$ ) (Obr. 18), která by se měla pohybovat kolem hodnoty 30. [27]

$$R_F = \frac{b}{a} \times 100$$

a...vzdálenost čela rozpouštědla od startu,

b...vzdálenost středu skvrny od startu



**Obrázek 18** Schéma chromatogramu důkazu piperinu v extraktu pepře

Závěr: Pokus demonstruje přítomnost piperinu za použití adsorpční chromatografie na tenké vrstvě. Extrakty je možné připravit ze tří různých druhů pepře a následně provést porovnání chromatogramů.

## 4.6 Školní pokus: Chromatografie extraktu konopného čaje

Na základě studia odborné literatury navrhuji školní pokus využívající tenkovrstvé chromatografie extraktu konopného čaje pro průkaz základních fytoKANABINOIDŮ konopí. Jelikož se v případě mobilní fáze jedná o látky, s nimiž žáci nemohou pracovat, je třeba, aby učitel připravil vyvíjecí soustavu do preparátního válce sám a dbal na bezpečnost práce během průběhu celého pokusu. Ostatní kroky mohou, nejlépe ve skupinách, provést sami žáci. V rámci pokusu je také vhodné ukázat žákům modely molekul jednotlivých fytoKANABINOIDŮ viz kapitola 2. Důraz by měl být kladen na molekulu  $\Delta^9$ -THC, u které by měly být vysvětleny i vlastnosti a účinky na lidský organismus.

**Název:** Chromatografie extraktu konopného čaje

**Anotace:** Cílem pokusu je pomocí chromatografie na tenké vrstvě a následné detekci pomocí UV lampy, případně čidla Fast Blue B, dokázat přítomnost základních fytoKANABINOIDŮ v extraktu konopí setého technického (konopný čaj). Jedná se především o  $\Delta^9$ -tetrahydroKANABINOL ( $\Delta^9$ -THC), KANABIDIOL (CBD) a KANABIDIOLOVOU Kyselinu (CBDA), KANABINOL (CBN) a KANABICHROMEN (CBC). Pokus nabízí dvě možné varianty vyvíjecích soustav.

**Princip:** Vzestupná adsorpční chromatografie na tenké vrstvě.

**Pomůcky:** Třecí miska s tloučkem, zkumavka se zátkou, Silikagel 60 F<sub>254</sub> Merck<sup>6</sup>, běžně dostupná filtrační aparatura (nálevka, stojan, držák, filtrační papír), kádinky, mikropipeta, preparátní válec s víkem zabroušeným dovnitř, UV lampa (254 nm)<sup>7</sup>, lahvička s rozprašovačem.

---

<sup>6</sup> Lze použít i jiný silikagel s velikostí pórů 60 Å (6 nm) a přítomností fluorescenčního indikátoru s vlnovou délkou excitace 254 nm.

<sup>7</sup> Lze použít i jiné dostupné přístroje včetně horského sluníčka.



Chemikálie: Vzorek konopného čaje<sup>8</sup> (Obr. 19), ethanol, chloroform, methanol, toluen, sůl Fast Blue B (3,3'-dimethoxybifenyl-4,4'-di(diazonium)chlorid zinečnatý)



Obrázek 19 Konopný čaj list a květ

Postup: 1) Příprava vzorku

Přibližně 1 g konopného čaje<sup>9</sup> se v třecí misce rozdrtí a přelije se 10 ml 96% ethanolu, se kterým se ve zkumavce za pokojové teploty protřepává po dobu 15 min. Extrakt se následně přefiltruje do kádinky.

2) Vzestupná chromatografie na tenké vrstvě

Na pruh chromatografické desky se 1 cm od spodního okraje tužkou načrtne start a ve vzdálenosti 10 cm od startu se vyznačí čelo eluátu. 10–20  $\mu$ l vzorku se mikropipetou nanese na dvě vyznačená místa na startu a nechá se zaschnout.

---

<sup>8</sup> Běžně dostupný produkt technického konopí prodáváný pod názvem Konopný list a květ vyráběný na Kozí farmě Březi, cena za 40 g přibližně 100 Kč.

<sup>9</sup> Doporučuji vybrat především vrcholové květenství s minimálním množstvím listů z důvodu minimalizace dělení listových barviv na chromatogramu.

Takto připravený chromatogram se umístí do skleněného válce, který lze naplnit a) 20 ml mobilní fáze, jež vznikne smícháním 9 ml chloroformu a 1 ml methanolu [28], nebo b) 20 ml toluenu [29]. Válec s vyvíjecí soustavou se použije nejdříve 15 min po nalití směsi.<sup>10</sup> Po dosažení čela se chromatogram vyjme z komory a nechá se odvětrat<sup>11</sup>.

### 3) Detekce

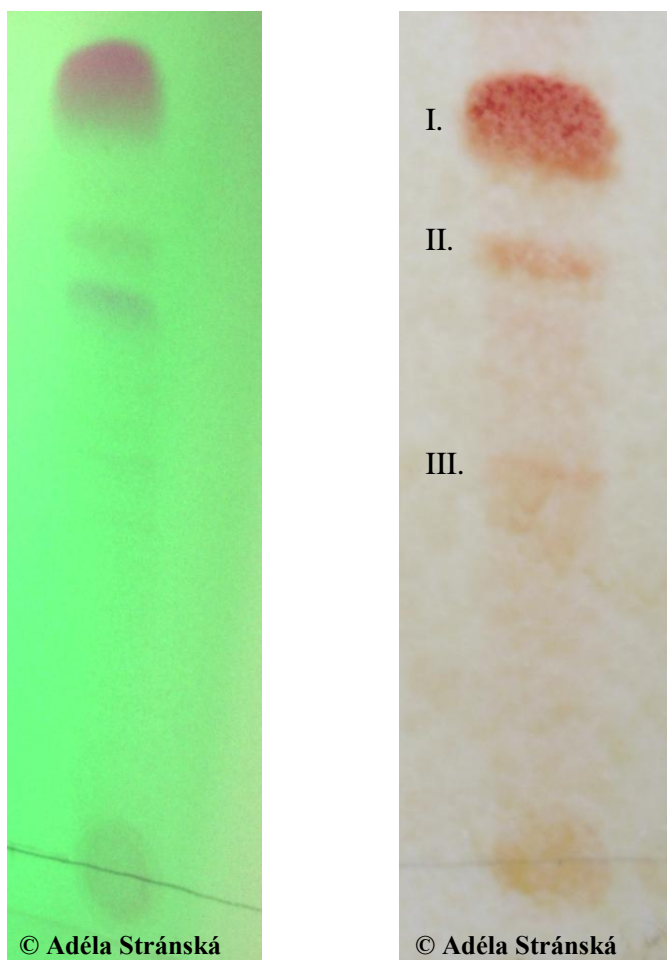
K detekci fykanabinoidů se odvětraný chromatogram položí pod UV lampu, kde je možné pozorovat fialové skvrny značící přítomnost fytkanabinoidů. Pokud je to možné, lze fytkanabinoidy zviditelnit postříkáním chromatogramu 0,5% roztokem činidla Fast Blue B ve vodě, kde pak lze pozorovat fytkanabinoidy jako červené, fialové a oranžovo-hnědé skvrny (Tab. VIII). Na základě změřených hodnot retenčních faktorů ( $R_F$ ) lze usuzovat, o který fytkanabinoid se jedná. (Obr. 20 a 21). [28]

**Tabulka VIII Hodnoty  $R_F$   $\Delta^9$ -THC, CBD, CBN, CBC a CBDA**

Fytkanabinoid	Hodnota $R_F$	Hodnoty $R_F$	Barva
	soustava <i>a</i>	soustava <i>b</i>	
$\Delta^9$ -THC	0,65	-	červená
CBD	0,64	0,52	oranžovo-hnědá
CBN	-	0,43	fialová
CBC	0,55	-	červená
CBDA	0,37	0,05	červená

<sup>10</sup> V případě práce ve skupině je třeba, aby každá skupina měla vlastní vyvíjecí soustavu.

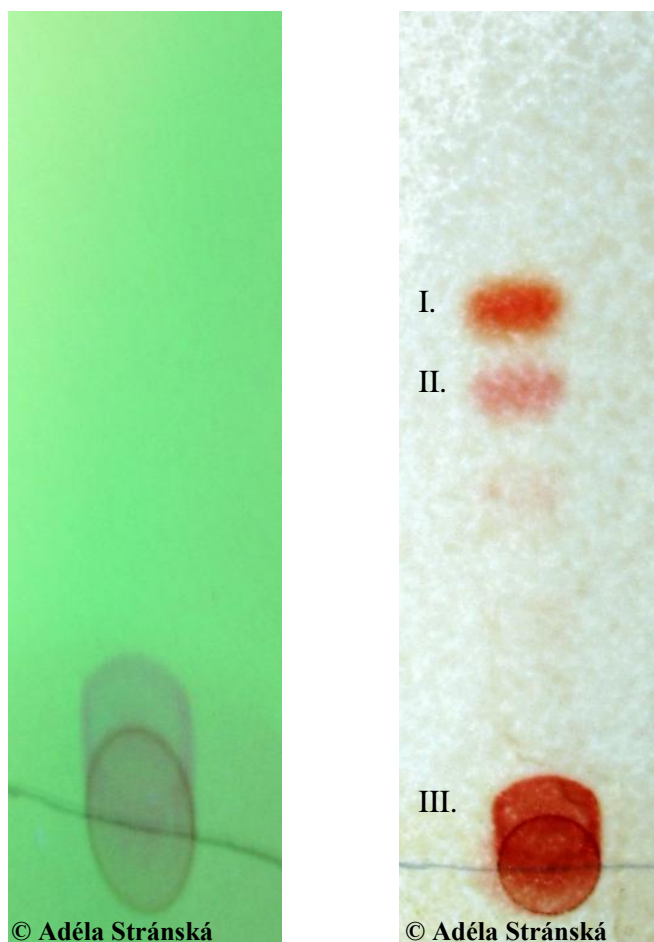
<sup>11</sup> V digestoři, za oknem nebo pomocí fěnu.



**Obrázek 20** Chromatogram extraktu konopného čaje pod UV lampou a následném postřiku činidlem Fast Blue B (vyvíjecí soustava *a*)

Na základě změření hodnot  $R_F$  a zbarvení skvrn lze usuzovat, že se jedná o fytoKANABINOIDY:

- I.  $\Delta^9$ -tetrahydroKANABINOL (svrchní červená část skvrny) a KANABIDIOL (spodní oranžovo-hnědá část skvrny)
- II. KANABICHROMEN (světle červená skvrna)
- III. KANABIDIOLOVÁ KYSELINA (světle červená skvrna)



**Obrázek 21** Chromatogram extraktu konopného čaje pod UV lampou a následném postřiku činidlem Fast Blue B (vyvíjecí soustava *b*)

Na základě změření hodnot  $R_F$  a zbarvení skvrn lze usuzovat, že se jedná o fytoKANABINOIDY:

- I. kanabidiol (oranžovo-hnědá skvrna)
- II. kanabinol (světle fialová skvrna)
- III. kanabidiolová kyselina (červená skvrna)

Závěr: Pokus za využití adsorpční chromatografie na tenké vrstvě a následné detekci pomocí UV lampy, případně činidla Fast Blue B, demonstruje průkaz hlavních fytoKANABINOIDŮ v extraktu konopného čaje.

## 5. Exkurze a školní projekt: Konopná stezka

### *Anotace*

*Projekt je určen především pro žáky gymnázia, ale lze ho použít i při výuce na středních odborných školách. Cílem je získat celkový přehled o problematice technického konopí. Během projektu je kladen důraz na spolupráci žáků, vyhledávání a zpracování informací. Projekt je na závěr prezentován formou powerpointové prezentace nebo posteru.*

### *Klíčová slova*

*exkurze, projekt, technické konopí, práce ve skupině*

### 5.1 Úvod

Školnímu projektu, který je zaměřen především pro žáky gymnázií, ale je možné ho využít i na středních odborných školách, předchází exkurze do rakouské vesnice Hanfthal, kde se nachází konopná stezka. Délka trvání vlastního projektu jsou čtyři týdny. Během této doby žáci pracují buď samostatně, nebo ve skupinách, vyhledávají a zpracovávají informace a konzultují své postupy a kroky s pedagogy. Na závěr žáci představí svůj projekt formou powerpointové prezentace nebo posteru před ostatními spolužáky ve třídě, případně škole.

Projekt vychází z Rámcového vzdělávacího programu pro gymnázia. Rozvíjí klíčové kompetence k učení, k řešení problémů, k podnikavosti, komunikativní kompetenci, sociální a personální a občanskou. Projekt lze zařadit do vzdělávacích oblastí, jako jsou člověk a příroda, člověk a společnost, jazyk a jazyková komunikace, informatika a informační a komunikační technologie a umění a kultura. Přispívá k rozvoji mezipředmětových vztahů, zvláště pak chemie, biologie, geografie, anglického jazyka, informační a komunikační technologie, základů společenských věd a výtvarné výchovy. V projektu je možné zařadit průřezové téma osobnostní a sociální výchova. [30]

## 5.2 Cíle

Primárním cílem je seznámení žáků s problematikou pěstování, zpracování a využití technického konopí na základě vytvoření imaginární konopné naučné stezky včetně muzea konopí na reálném místě v České republice. Projekt dále směřuje k propojení vzdělávacích oblastí, uvědomění si interdisciplinárních vztahů a snaze propojit školní učivo s reálným životem. Projekt rovněž vede ke zlepšení spolupráce ve skupinách, zdokonalení ve vyhledávání a zpracování informací a jejich prezentaci před ostatními žáky školy.

## 5.3 Struktura

### 5.3.1 Motivace žáků – mimoškolní část

Samotnému projektu předchází jednodenní exkurze v konopné vesničce Hanfthal. V této vesnici, která se nachází v blízkosti rakousko-českých hranic, žáci s průvodcem absolvují prohlídku konopné stezky (Obr. 22) a konopného muzea. Túru s názvem „*Poznejte konopí v Hanfthalu*“ lze po telefonické domluvě absolvovat každé úterý, ale je možné se dohodnout i na jiný termín. Vstupné pro jednu osobu činí 5 €. Během exkurze se žáci dozvědí informace týkající se pěstování technického konopí, kritérií pěstování, parametrů technického konopí, zejména obsahu  $\Delta^9$ -THC, dále se žáci seznámí s využitím technického konopí i s vlastními výrobky. Součástí exkurze je i ochutnávka specialit z konopí jako je konopný řízek, klobása, konopné pivo či konopné víno – místní typická odrůda zeleného veltlínu s květy marihuany.



Obrázek 22 Průvodce a zastavení na stezce

### **5.3.2 Motivace žáků – školní část**

Ve třídě je téma projektu uvedeno brainstormingem, během kterého si žáci vybavují pojmy, které si zapamatovali v souvislosti s tím, co viděli a zažili na exkurzi. Učitel zapisuje tyto pojmy na tabuli, zároveň usměrňuje, ale i podněcuje nápady další. Následuje další práce s pojmy, která vede k uskupení pojmů do celků a vytvoření jednotlivých témat k dalšímu zpracování.

### **5.3.3 Vysvětlení projektu**

Při brainstormingu jsou žáci učitelem vedeni k vytvoření a pojmenování tří velkých témat ke zpracování. K jednotlivým tématům se žáci podle svých zájmů sami rozdelí. První téma je možné nazvat Lokalita v České republice, druhé Management a ekonomie projektu a třetí může nést název Využití konopí. V rámci prvního tématu žáci zpracovávají informace týkající se výběru vhodného místa pro pěstování technického konopí, tvorbu stezky a muzea. Dále se zabývají problematikou botaniky konopí setého a legislativou s jeho pěstováním spojenou. Druhé téma zahrnuje vlastní financování projektu. Například se může jednat o sehnání sponzorů, stavebních a jiných firem na vybudování stezky, muzea a informačních panelů na jednotlivých zastávkách. Do tématu lze také zařadit vytvoření reklamy a zajištění správce a průvodce. Třetí téma se týká zpracování a využití konopí za účelem vybrání nejdůležitějších informací a údajů na popisky nacházející se na informačních tabulích na stezce a výstavě v muzeu. Tyto popisky se přeloží rovněž i do anglického, případně německého jazyka.

### **5.3.4 Časový plán projektu**

#### 1. etapa

V rámci první etapy jsou žáci seznámeni s projektem a na základě brainstormingu jsou učitelem navedeni k vytvoření jednotlivých témat. Žáci si rozdělení do skupin určí sami tak, aby se vytvořily přibližně stejně početné skupiny.

#### 2. etapa

Ve druhé etapě se po týdnu od zadání projektu uskutečňuje konzultace ve třídě. Cílem je zjistit přesné rozdělení žáků do skupin, co do svého tématu chtějí zahrnout, popřípadě co již mají vyhledané či připravené, a pomoci s konkrétními problémy a dotazy.

#### 3. etapa

Během této etapy žáci intenzivně pracují na přípravě finální verze projektu a konzultují s pedagogy své postupy. Týden před koncem projektu proběhne ve třídě skupinová konzultace nad společnou závěrečnou prezentací.

#### 4. etapa

Závěrečná prezentace projektu formou powerpointové prezentace, popř. posteru, s následnou diskusí ve třídě. Dále je možné představit projekt i před ostatními třídami školy.

### **5.4 Závěr**

Žáci získají hlubší vhled do problematiky technického konopí. Seznámí se s podmínkami pěstování, způsoby zpracování a vlastními výrobky. Získají také přehled o podobě legislativy, která se týká technického konopí pro pěstování v ČR. V průběhu projektu je kladen důraz na komunikaci a spolupráci mezi žáky i učiteli, rozvíjení schopnosti vyhledávání informací z mnoha zdrojů, jejich zpracování, prezentování výsledků ve třídě, ale i před ostatními třídami. Jelikož je projekt interdisciplinární, umožňuje žákům uvědomit si a navázat mezipředmětové vztahy.



## 6. Technika a metodika práce se SPME a DART

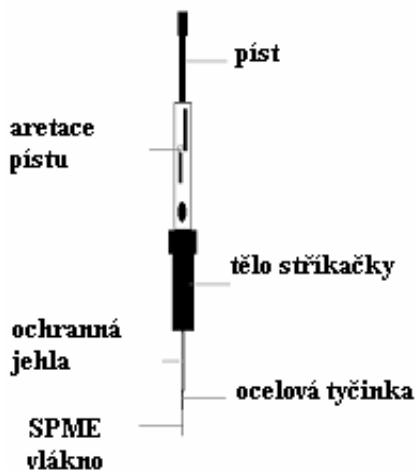
V rámci pobytů v Ústavu chemie a analýzy potravin Vysoké školy chemicko-technologické jsem se seznámila s nejmodernějšími technikami, které jsou používány k analýze potravin. Jednalo se o izolační techniku známou jako mikroextrakce tuhou fází (*Solid Phase Microextraction*, SPME) a instrumentální koncovku využívanou pro identifikaci a kvantifikaci sloučenin tzv. přímou analýzu v reálném čase (*Direct Analysis in Real Time*, DART). Obě techniky jsem viděla při práci a byla mi vysvětlena metodika práce s nimi. Na základě studia odborné literatury jsem zjistila, že by je bylo možné využít k analýze fytoalkanabinoidů konopí setého, proto bych chtěla jednak vysvětlit princip jejich fungování, ale i popsat vlastní metodiku práce.

### 6.1 Mikroextrakce tuhou fází (SPME)

Mikroextrakce tuhou fází (SPME) je jednoduchá, adsorpční/desorpční technika, která je účinná nejen pro přípravu vzorku, ale i pro kvalitativní a kvantitativní analýzu. Výhodou SPME je eliminace potřeby rozpouštědel, rychlost, nízké náklady a mnohoúčelnost, jelikož SPME lze použít pro těkavé i netěkavé polární i nepolární sloučeniny v plynných, kapalných i pevných vzorcích. SPME je kompatibilní s analytickými metodami jako je plynová chromatografie (GC) ve spojení s hmotnostní spektrometrií (MS) či konvenčními detektory, popřípadě vysoce účinná kapalinová chromatografie (HPLC) opět ve spojení s hmotnostní spektrometrií (HPLC-MS). [31,32]

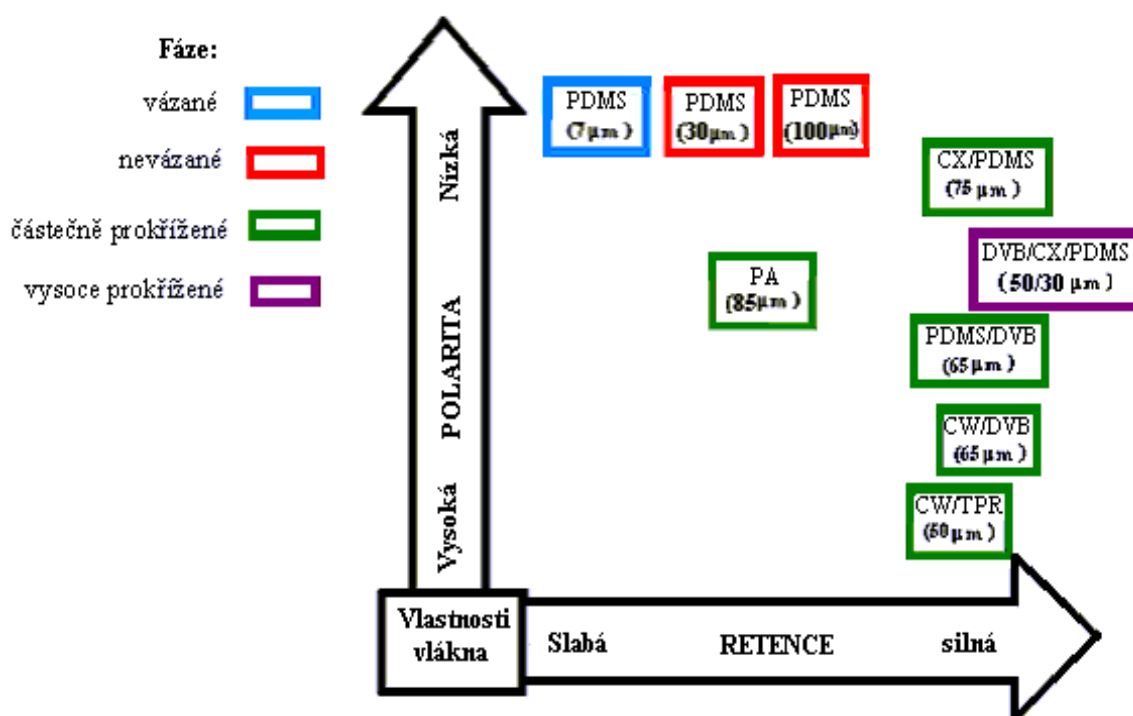
### 6.1.1 Princip

Zařízení pro SPME (Obr. 23) je tvořeno držákem vlákna, který se podobá injekční stříkačce. Píst stříkačky, se kterým je vlákno spojeno, umožňuje vysunutí vlákna z ochranné duté jehly. [31]



Obrázek 23 Zařízení pro SPME vlákno [33]

Během jednoho kroku probíhá extrakce a zkoncentrování na velmi tenkém zhruba 1 cm dlouhém křemenném vlákně potaženém polymerní stacionární fází a následně pak dochází desorpci do chromatografu. Podle způsobu zadržky analytu existují dva druhy stacionárních fází – adsorbenty a absorbenty. První skupina jsou pevné porézní materiály charakteristické omezeným počtem sorpčních míst. Tyto fáze váží analyty na základě chemické vazby a fyzikálních interakcí v pórech. Druhá skupina jsou kapalné polymerní fáze, které během sorpce z matrice vzorku koncentrují organické analyty v celém objemu. Imobilizaci stacionární fáze umožňují vazebné, nevazebné, částečně nebo vysoce prokřížené interakce. Obr. 24 ukazuje typy komerčních vláken pro extrakci a jejich sorpční vlastnosti. [31]



PDMS – polydimethylsiloxan, PA – polyakrylát, PDMS/DVB – polydimethylsiloxan/ divinylbenzen, CX/PDMS – carboxen/ polydimethylsiloxan, CW/DVB – carbowax/divinylbenzen, DVB/CX/PDMS – divinylbenzen/carboxen/polydimethylsiloxan, CW/TPR – carbowax/pryskyřice

**Obrázek 24** Komerčně dostupná vlákna a jejich sorpční vlastnosti [33]

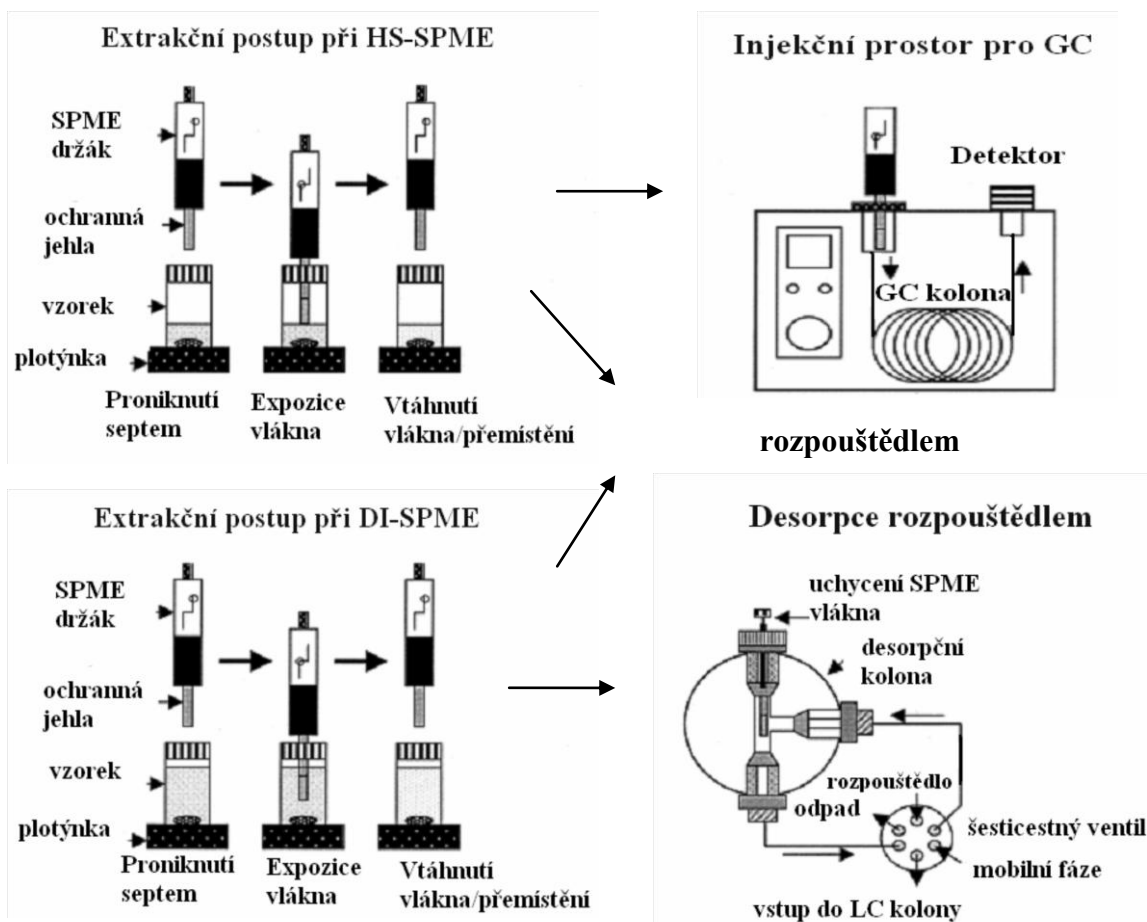
### 6.1.2 Proces SPME na vlákně

Extrakci lze provádět buď headspace technikou (HS), při které je vlákno vystaveno plynné fázi nad plynným, kapalným nebo pevným vzorkem, nebo přímým ponořením (*Direct Immersion*, DI), kdy je vlákno ponořeno v kapalném vzorku. Vlastní proces probíhající při SPME znázorňuje Obr. 25. Vzorek je umístěný ve vialce, která je neprodyšně uzavřena víčkem se septem. [31]

## Sorpce

## Desorpce

teplná



Obrázek 25 Procesy probíhající při SPME [31]

### 6.1.3 Faktory ovlivňující SPME

#### 6.1.3.1 Volba vlákna

Druhy komerčních vláken a jejich sorpční vlastnosti uvádí Obr. 24. Vlákna jsou velmi křehká a lehce se dají zlomit. Z důvodu dosažení dobré citlivosti a opakovatelnosti stanovení je třeba před použitím provést optimalizaci vlákna. Při volbě vlákna hrají úlohu polarita a tloušťka stacionární fáze. Na účinnost extrakce má vliv distribuční konstanta analytu mezi stacionární fází a matricí vzorku, která umožňuje odhadnout citlivost stacionární fáze k analytu. Platí, že čím vyšší je hodnota distribuční konstanty, tím vyšší je citlivost pro analyty.

Typy vláken s rozdílnými vlastnostmi nebo tloušťkou jsou vybírány tak, aby byly v souladu s rozdílnými fyzikálně-chemickými vlastnostmi sloučenin. Pokud se jedná o polaritu, afinita vlákna pro analyty vychází z principu „podobné se rozpouští v podobném“. Například PDMS vlákna jsou nepolární, takže k nim vykazují vysokou afinitu látky nepolární. Různé aplikace vyžadují různou tloušťku použité stacionární fáze. Silnější filmy mají sice za následek prodloužení extrakční doby z důvodu pomalé difúze analytů, ale zároveň umožňují citlivější stanovení, proto je vhodné využít pro danou aplikaci přijatelného kompromisu. V případě PDMS vlákna by měl být ke stanovení látky s vysokou distribuční konstantou v daném systému použit velmi tenký film. [31]

#### **6.1.3.2 Podmínky sorpce**

Množství extrahovaných analytů na vlákne závisí také na době sorpce, teplotě, míchání, úpravě vzorku, poloze vlákna při vzorkování a typu nádoby a uzávěru. Úpravu vzorku lze ovlivnit přidávkem rozpouštědla či vysolením a úpravou pH. Citlivost a opakovatelnost metody je nejlepší, když sorpce probíhá v systému, ve kterém došlo k ustanovení rovnováhy. V reálných měřeních jsou ale sorpční doby záměrně zkracovány, jelikož dosažení rovnováhy je často dlouhodobý proces. [31]

#### **6.1.3.3 Podmínky desorpce**

Desorpce analytů z vlákna je v případě spojení SPME s GC prováděna zahřátím vlákna v injekčním prostoru, v případě SPME-HPLC nasátím rozpouštědla do desorpční komory, ve které je vlákno umístěno. Následně dochází k přemístění analytů přímo do kolony pro finální analýzu. Na desorpci má vliv poloha vlákna v nástřikovém prostoru, rychlost vysunutí vlákna, objem GC lineru, desorpční teplota a délka desorpce. [31]

#### **6.1.4 Kvantifikace**

Jelikož se jedná o odlišné nanesení vzorku do systému, kvantifikaci v případě spojení s plynovou chromatografií nelze provádět přímým srovnáním chromatogramu získaného při SPME sorpci s chromatogramem získaným nástřikem kapalného standardu. Pro kvantifikaci se používají postupy jako externí kalibrace, kvantifikace pomocí standardního přídatku nebo značené standardy. [31]

### 6.1.5 Výhody a nevýhody

Tab. IX zpřehledňuje základní výhody a nevýhody používání techniky SPME.

Tabulka IX Výhody a nevýhody SPME [31]

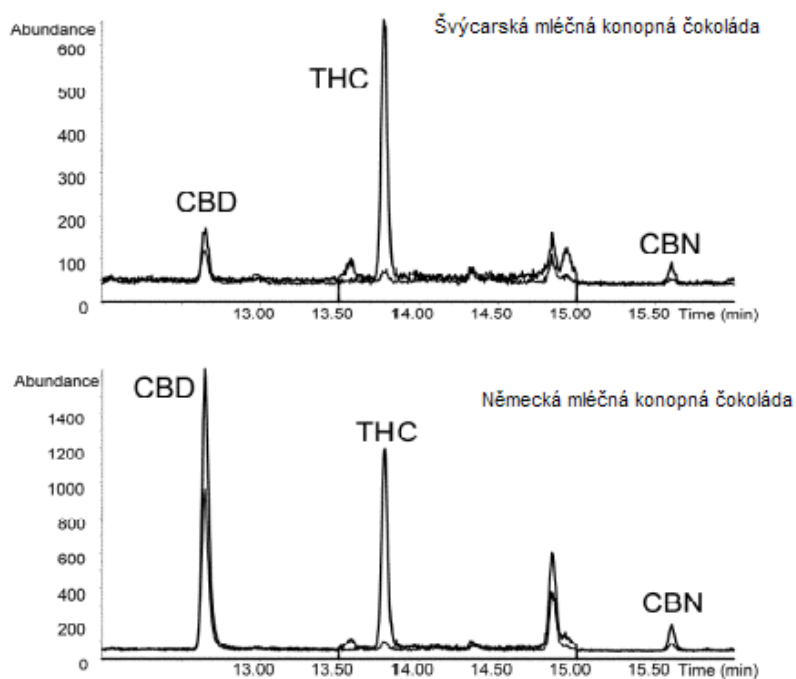
Výhody	Nevýhody
snadné provedení	někdy náročná optimalizace
ekonomicky nenáročné	nereprezentativnost (malé objemy vzorku)
bez použití rozpouštědel	nemožnost použití nepolárních rozpouštědel
citlivost	horší opakovatelnost
automatizovatelnost	možná saturace detektoru
vzorkování in-situ	nerobustnost
opakované použití vlákna	

### 6.1.6 Metodika práce

Vzorek umístěný v headspace vialce je pomocí autosampleru, který umožňuje automatizaci ve spojení s plynovým chromatografem (Obr. 26), nastříknut do injekčního prostoru GC zařízení, kde je pak dále nosným plynem unášen do kolony, ve které na základě selektivní interakce mezi mobilní a stacionární fází probíhá vlastní chromatografická separace látek, které jsou pak detekovány pomocí hmotnostního spektrometru. Výsledný chromatogram, charakterizovaný jako závislost signálu detektoru na čase, je pak vyhodnocován pomocí počítače.



Obrázek 26 SPME autosampler značky Varian (1) ve spojení s plynovým chromatografem (2)



Obrázek 27 HS-SPME-GC-MS chromatogramy švýcarské a německé konopné čokolády [34]

CBD – kanabidiolu, THC – tetrahydrokanabinol, CBN – kanabinol

## 6.2 Ionizační technika – Přímá analýza v reálném čase (DART)

V poslední době došlo v oblasti hmotnostní spektrometrie k velkému rozvoji tzv. přímých desorpčních technik, které umožňují přímou analýzu během krátkého časového úseku vyšetření vzorků různé povahy za atmosférického tlaku a získání hmotnostních spekter bez nutné chromatografické separace analytů. DART patří do skupiny technik, které vychází z chemické ionizace za atmosférického tlaku. Jedná se o tzv. „plasmové techniky“, které jsou vhodné pro většinu středně polárních analytů i pro nepolární sloučeniny. K desorpci analytu dochází spojením tepelné desorpce a desorpce hybností ohřátého proudu plynu. K ionizaci se používají nestabilní (metastabilní) excitované molekuly, atomy nebo ionty. DART je technika, která nevyžaduje použití rozpouštědla či jinou přípravu vzorku, je možné umístění vzorků přímo před DART iontový zdroj (Obr. 28). Technika DART je spojena s hmotnostně spektrometrickým detektorem, v němž dochází k detekci ionizovaných molekul.[35]

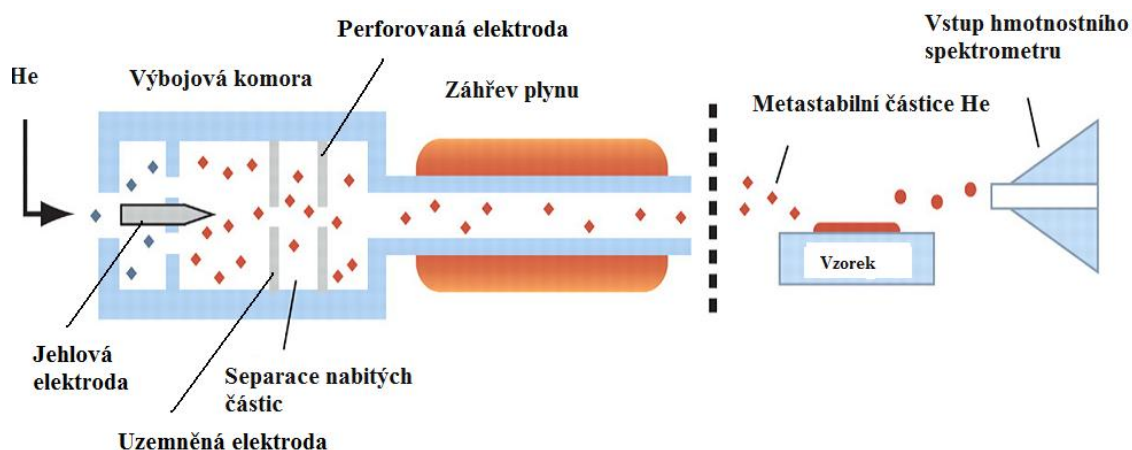


Obrázek 28 Iontový zdroj DART a vstup do hmotnostního spektrometru [36]



### 6.2.1 Princip

Do iontového zdroje je veden ionizační plyn, nejčastěji helium nebo dusík. Plyn vtéká do výbojové komory, která obsahuje jehlovou elektrodu, na které je vloženo napětí zhruba o velikosti 3000–4000 V, jehož důsledkem dochází k výboji a následnému vytvoření plasmu – směsi kladných a záporných nabitých iontů plynu a nenabitých metastabilních atomů plynu, většinou se jedná o helium. Elektroda zachytí nabité částice, a tak dále vyhřívanou částí pokračuje pouze částice metastabilní. Řízení tepelné desorpce nebo pyrolýzy látek z analyzované matrice je možné díky zahřívání plynu. Mezi vstupem do hmotnostního spektrometru a výstupem iontového zdroje dochází v proudu ionizačního plynu k vlastní ionizaci vzorku. Obr. 29 uvádí schéma iontového zdroje. [35]



Obrázek 29 Schéma iontového zdroje DART [37]

### 6.2.2 Mechanismy ionizace

DART využívá plasmou excitované atomy reakčního plynu a komponenty atmosféry ( $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{O}_2$ ) k ionizaci složek vzorku. Různé mechanismy ionizace se uskutečňují v závislosti na typu a koncentraci vzorku, povaze nosného plynu a polaritě vzniklých iontů. Vzniklé ionty vstupují do hmotnostně-spektrometrického detektoru, ve kterém dochází k jejich detekci. Následně jsou získána relativně jednoduchá hmotnostní spektra charakterizovaná ionty  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (popř.  $[\text{M}]^+$ ) v pozitivním módu (Obr. 31), nebo  $[\text{M}-\text{H}]^-$  (popř.  $[\text{M}]^-$ ) v negativním módu. [35,38]

### **6.2.2.1 Penningova ionizace**

Jedná se o interakci mezi molekulou analytu a elektronově excitovanými atomy nebo vibračně excitovanými molekulami, kdy dochází k přenosu energie, uvolnění elektronu z molekuly analytu a vznikne radikálový kation, který je vyražen z povrchu a následně unášen proudem plynu do hmotnostního analyzátoru. K uskutečnění ionizace je nutné, aby energie excitovaného stavu molekuly plynu byla vyšší než ionizační potenciál neutrální molekuly. [35,38]

### **6.2.2.2 Pozitivní ionizace**

Ve zdroji vzniklý metastabilní atom helia reaguje s vodou z atmosféry za vzniku ionizovaných molekul klastrů vody, které následně mohou reagovat s dalšími molekulami vody za vzniku protonizovaných klastrů vody, které reagují s molekulou analytu, a vzniká protonizovaná molekula analytu. [35]

### **6.2.2.3 Negativní ionizace**

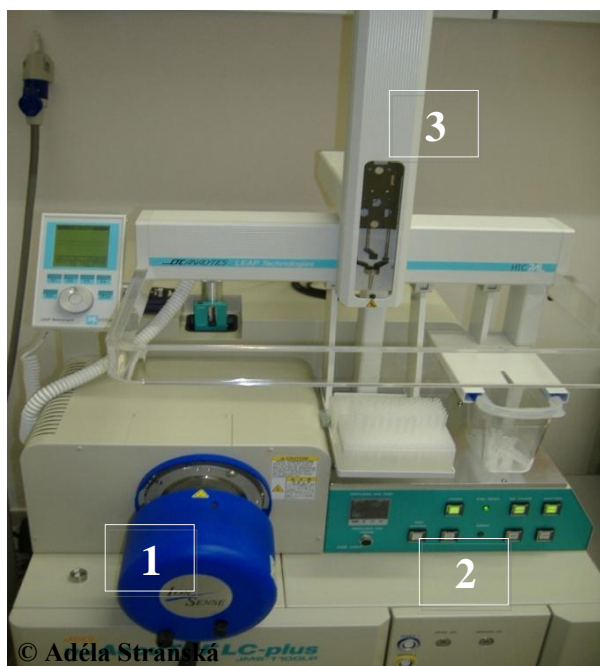
V negativním modu dochází ke srážce metastabilní molekuly plynu s vnitřním povrchem iontového zdroje a vzniká elektron, který má velkou rychlost, kterou ale ztrácí během srážek s molekulami plynu v atmosféře. Elektron je dále zachycen kyslíkem z atmosféry, a tak dochází ke vzniku negativně nabitě molekuly kyslíku. Podle povahy molekuly analytu pak dochází k reakci s negativně nabitou molekulou kyslíku za vzniku deprotonované molekuly analytu. [35]

### 6.2.3 Aplikace

DART ve spojení s hmotnostní spektrometrií zaznamenal úspěch při testování stovek polárních i nepolárních chemických látek. Jedná se například o chemické bojové látky, léčiva, metabolity, pesticidy, peptidy a oligosacharidy, syntetické organické látky, drogy, výbušniny nebo toxické látky. Tyto sloučeniny byly analyzovány na různých druzích povrchu jako je beton, asfalt, lidská kůže, bankovky, vizitky, tělní tekutiny, oblečení, ovoce a zelenina, nápoje nebo koření. [38]

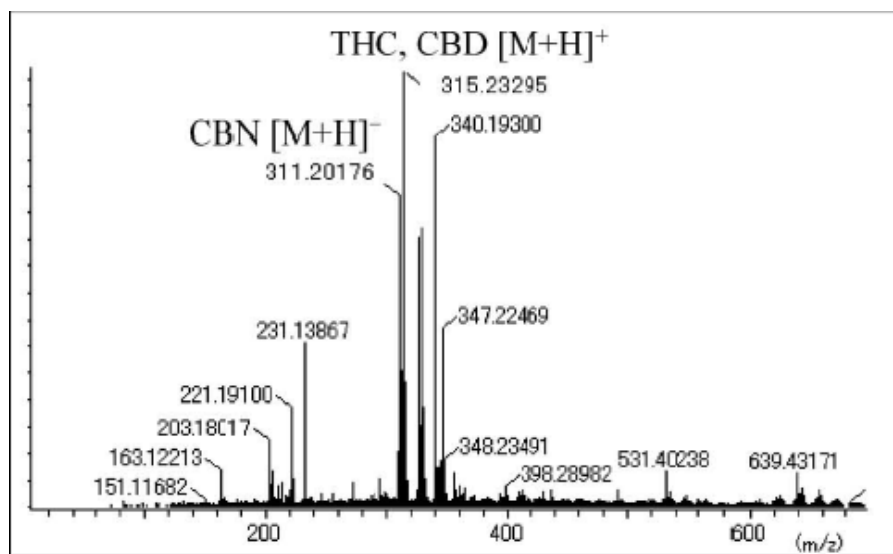
### 6.2.4 Metodika práce

Vzorek je buď pomocí autosamplaru, nebo přímo, umístěn do prostoru mezi DART iontový zdroj a vstup do hmotnostního spektrometru (Obr. 29), kde v proudu horkého ionizačního plynu (He) dochází k vlastní ionizaci vzorku. Vzniklé ionty pak vstupují do hmotnostně-spektrometrického detektoru, ve kterém dochází k jejich detekci. Následně jsou získána relativně jednoduchá hmotnostní spektra (Obr. 31), se kterými se pak dále pracuje pomocí počítače vybaveného speciálním softwarem.



Obrázek 30 DART-100 iontový zdroj (IonSense, USA) (1), AccuTOF LC plus (Jeol, Japan) (2), AutoDart-96 sampler (Leap Tech, USA) (3)

Obr. 31 ukazuje hmotnostní spektra marihuanové cigarety obsahující kanabinoidy THC, CBD, CBN získané za použití techniky přímé analýzy v reálném čase (DART) ve spojení s hmotnostní spektrometrií s analyzátozem doby letu iontů (TOFMS)



Obrázek 31 Hmotnostní spektrum marihuanové cigarety [39]

## IV. Závěr

V práci jsem se zabývala problematikou konopí setého. Cílem bylo zaměřit se na možná využití konopí setého ve výuce chemie.

V teoretické části jsem popsala botaniku a morfologii rostliny se zaměřením na konopí seté. Dále jsem pomocí tabulky a modelů molekul zpřehlednila fytoKANABINOIDY, látky obsažené v rostlině konopí. Poslední kapitolu teoretické části jsem věnovala využití konopí setého v různých odvětvích zemědělství a průmyslu.

V praktické části jsem vybrala a uspořádala možné učivo o chromatografii jako nejdostupnější separační technice analýzy konopí ve škole včetně vypracování metodiky edukačního pokusu „*Chromatografie extraktu konopného čaje*“. Jedná se o tenkovrstvou chromatografii extraktu konopí setého technického (konopného čaje) prokazující jednak pomocí UV lampy, tak barevné vizualizace detekčním činidlem Fast Blue B přítomnost fytoKANABINOIDŮ konopí. V praktické části jsem rovněž vytvořila schéma výukového projektu „*Konopná stezka*“, které se zaměřuje na celkovou problematiku konopí setého technického a nabízí tak žákům jiný pohled na konopí než jako drogu. Jedním z úkolů bylo seznámit se s nejmodernějšími technikami, jakožto i metodikami práce s nimi, vhodných k analýze fytoKANABINOIDŮ konopí. Jednalo se o izolační techniku mikroextrakce tuhou fází (SPME) ve spojení s plynovým chromatografem a hmotnostním spektrometrem a iontový zdroj nazvaný přímá analýza v reálném čase (DART) ve spojení s hmotnostní spektrometrií. Pod vedením proděkanky Riddelové se mi v rámci pobytů v Ústavu chemie a analýzy potravin podařilo metodiky osvojit a prakticky je zvládnout. Avšak původní záměr vedoucího práce zavést některé z těchto technik na KCHDCH se pro nepříznivé podmínky na katedře nezdařil, proto jsem vypracovala alespoň metodiku edukačního pokusu.

Osobně shledávám přínos diplomové práce ve čtyřech následujících ohledech:

1. výběr možných a zajímavých poznatků o chromatografii pro všeobecně vzdělávací chemii,
2. vypracování edukačního pokusu „*Chromatografie extraktu konopného čaje*“,
3. vytvoření schématu výukového projektu „*Konopná stezka*“,
4. osvojení si metodiky SPME a poznání DART.

## V. Seznam použité literatury

- [1] MIOVSKÝ, Michal. *Konopí a konopné drogy: Adiktologické kompendium*. Praha: Grada, 2008. ISBN 978-80-247-0865-2.
- [2] KUBÁNEK, Vladimír. *Konopí a mák*. Brno: Tribun, 2009. ISBN 978-80-7399-895-0.
- [3] DUPAL, Libor. *Kniha o marihuaně*. Praha: Mat'a, 2004. ISBN 80-7287-082-3.
- [4] CONRAD, Chris. *Konopí pro zdraví: fakta o léčivých účincích marihuany*. Praha: Pragma, 2001. ISBN 80-7205-834-7.
- [5] ELSOHLY, Mahmoud A. *Marijuana and the Cannabinoids*. ElSohly. New Jersey: Humana Press, 2007. ISBN 1-59259-947-8.
- [6] FIŠAR, Zdeněk. Fytokanabinoidy. *Chemické Listy*. 2006, č. 100, 233–242.
- [7] VALÍČEK, Pavel. *Rostlinné omamné drogy*. Benešov: Start, 2000. ISBN 80-86231-09-7.
- [8] ROBINSON, Rowan. *Velká kniha o konopí*. Praha: Volvox Globator, 2000. ISBN 80-7207-339-7.
- [9] *Konopa : Občanské sdružení* [online]. 2008 [cit. 2011-11-14]. Obživa. Dostupné z WWW: <<http://www.konopa.cz/index.php?dok=01080000000099,det>>.
- [10] BENHAIM, Paul. *Konopí zdraví na dosah: holistická kuchařka*. Frýdek-Místek: Alpress, s.r.o., 2001. ISBN 80-7218-605-1.
- [11] HONZÍK, Roman. *Nové technologické postupy sklizně technického konopí : METODIKA PRO PRAXI*. Praha : Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., 2007. ISBN 978-80-87011-31-7.
- [12] MOUDRÝ, Jan; KALINOVÁ, Jana . *Pěstování speciálních plodin : Multimediální texty* [online]. České Budějovice, 2004 [cit. 2011-11-14]. Dostupné z WWW: <<http://www2.zf.jcu.cz/~moudry/skripta/>>.

- [13] MENOŠEK, Jiří. Využití konopí v současném stavebnictví. *EnviWeb* [online]. 2011[cit. 2012-03-06]. ISSN 1803-6686. Dostupné z: <http://www.enviweb.cz/clanek/staveni/85729/vyuziti-konopi-v-soucasnem-stavebnictvi>
- [14] RUMAN, Michal. Konopné plasty a jiné přírodniny. *Legalizace: První magazín pro konopnou kulturu*. 2011, č. 5.
- [15] O KONOPÍ. *Cannaderm* [online]. © 2006–2011 [cit. 2012-03-01]. Dostupné z: <http://www.cannaderm.cz/cs/stranka/47/64/vyuziti.htm>
- [16] POLÁK, Jaroslav. Sativex – Naděje i riziko pro konopnou léčbu. *Legalizace: První magazín pro konopnou kulturu*. 2010, č. 2.
- [17] Konopí jako obnovitelný zdroj energie. GABRIELOVÁ, Hana. *Sít ekologických poraden* [online]. 2010 [cit. 2012-03-10]. Dostupné z: [http://www.ekoporadna.cz/wiki/doku.php?id=energie:konopi\\_jako\\_obnovitelny\\_zdroj\\_energie](http://www.ekoporadna.cz/wiki/doku.php?id=energie:konopi_jako_obnovitelny_zdroj_energie)
- [18] GOTTLIEB, Adam. *Vaříme s konopím*. Olomouc: Votobia, 1995. ISBN 80-85885-70-0.
- [19] HOLZBECHER, Závěš a Jaroslav CHURÁČEK. *Analytická chemie*. Praha: SNTL, 1987.
- [20] JANÁK, Jaroslav. Zamyšlení nad chromatografií. *Chemické listy*. 2011, č. 105, s. 292–293
- [21] MIKULÁŠOVÁ, Eva. *Elementarizace chromatografie zejména kapalinové*. Praha, 2005. Diplomová práce. Univerzita Karlova v Praze, Pedagogická fakulta, Katedra chemie a didaktiky chemie.
- [22] ŠTULÍK, Karel. *Analytické separační metody*. Praha: Karolinum, 2004. ISBN 80-246-0852-9.
- [23] CHURÁČEK, Jaroslav. *Analytická separace látek*. Praha: SNTL, 1990. ISBN 80-03-00569-8.

- [24] JANÁK, Jaroslav. Separální metody v českých zemích. *CHEMagazín*. 2005, roč. 15, č. 6, s. 24–26.
- [25] SITOVÁ, Veronika. *Elementarizace chromatografie zejména plynové*. Praha, 2005. Diplomová práce. Univerzita Karlova v Praze, Pedagogická fakulta, Katedra chemie a didaktiky chemie.
- [26] KÁČ, Jan, Milan KODÍČEK a Olga VALENTOVÁ. *Laboratorní techniky biochemie*. Praha: VŠCHT Praha, 2005. ISBN 80-7080-586-2.
- [27] ŠITA, František, Vlasta CHMELOVÁ-HLAVATÁ a Karel CHMEL. *Chromatografická analýza drog*. Votice, 1973.
- [28] HAZEKAMP, Arno. Chromatographic and Spectroscopic Data of Cannabinoids from *Cannabis sativa* L. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*. 2005, č. 28, s. 2361-2382.
- [29] COLE, Michael D. *The Analysis of Controlled Substances: Cannabis sativa and Products*. West Sussex: John Wiley & Sons, Ltd., 2003. ISBN 0-471-49253-1.
- [30] *Rámcový vzdělávací program pro gymnázia*. [online]. Praha: Výzkumný ústav pedagogický v Praze, 2007. [cit. 2012-04-01]. Dostupné z WWW: <[http://www.vuppraha.cz/wp-content/uploads/2009/12/RVPG-2007-07\\_final.pdf](http://www.vuppraha.cz/wp-content/uploads/2009/12/RVPG-2007-07_final.pdf)>. ISBN 978-80-87000-11-3.
- [31] KLIMÁNKOVÁ, Eva. *Využití SPME k hodnocení kvality potravin a potravinářských surovin*. Praha, 2003. Diplomová práce. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Ústav chemie a analýzy potravin.
- [32] SIGMA-ALDRICH. *Solid Phase Microextraction CD: SPME Application Reference Guide* [CD]. 7th Edition. 2009 [cit. 2012-03-13].
- [33] RIDDELLOVÁ, Kateřina. *Mikroextrakce tuhou fází (SPME, SBSE)*. Praha, 2011. Přednáška.



- [34] LACHENMEIER, Dirk W., Lars KROENER, Frank MUSSHOFF. Determination of cannabinoids in hemp food products by use of headspace solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2004, č. 378, s. 183–189.
- [35] MORAVCOVÁ, Eliška. *Studium tepelně indukovaných reakcí složek potravinových surovin pomocí hmotnostní spektrometrie v otevřeném prostoru*. Praha, 2010. Diplomová práce. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Ústav chemie a analýzy potravin.
- [36] Atmospheric Pressure Mass Spectrometry: DART Direct Analysis in Real-Time. *KR Analytical: Partners in Progress* [online]. © 2012 [cit. 2012-04-02]. Dostupné z: <http://www.kranalytical.co.uk/products/products.php?item=21>
- [37] HAJŠLOVÁ, Jana, Tomáš ČAJKA a Lukáš VÁCLAVÍK. Challenging applications offered by direct analysis in real time (DART) in food-quality and safety analysis. *Trends in Analytical Chemistry*. 2011, roč. 30, č. 2, s. 204–218.
- [38] CODY, Robert B., James A. LARAMÉE a H. Dupont DURST. Versatile New Ion Source for the Analysis of Materials in Open Air under Ambient Conditions. *Analytical Chemistry*. 2005, roč. 77, č. 8, s. 2297–2302.
- [39] KAWAMURA, Maiko, Ruri KIKURA-HANAJIRI a Yukihiro GODA. Simple and Rapid Screening for Psychotropic Natural Products Using Direct Analysis in Real Time (DART) - TOFMS. *Yakugaku zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*. 2009, č. 129, s. 719–725.