

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2024

Helena Feistová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Elektrochemické stanovení nikotinu v nikotinových sáčcích

Helena Feistová

Bakalářská práce

2024

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2022/2023

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Helena Feistová**
Osobní číslo: **C20212**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Elektrochemické stanovení nikotinu v nikotinových sáčkích**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Z odborných publikací zpracujte přehled na téma elektrochemické detekce a stanovení nikotinu. Využijte pouze vědecké databáze, jako např. Web of Science nebo Scopus, a na minimum omezte populární články z internetu.
2. V úvodní části bakalářské práce shrňte fyzikálně-chemické vlastnosti nikotinu, jeho účinek v lidském organismu a možnosti analytického stanovení. Uveďte přehled různých netabákových výrobků obsahujících nikotin a podrobněji se věnujte nikotinovým sáčkům.
3. Jednotlivá elektrochemická stanovení nikotinu vhodně rozdělte do skupin podle použitého materiálu pracovní elektrody a konfigurace elektrochemického senzoru a stručně je v textu bakalářské práce popište. Zpracujte přehledovou tabulku elektrochemických metod stanovení publikovaných v odborných vědeckých časopisech s uvedením základních analytických parametrů jednotlivých metod.
4. Provedte elektrochemické stanovení nikotinu v nikotinových sáčkích na uhlíkové pastové elektrodě, optimalizujte experimentální podmínky analýzy a porovnejte výsledky vlastních experimentů s referenční instrumentální metodou.
5. Text zpracujte do formy bakalářské práce podle příslušné směrnice Univerzity Pardubice spolu se správným citováním zdrojové literatury podle normy ČSN ISO 690.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Radovan Metelka, Ph.D.**
Katedra analytické chemie

Datum zadání bakalářské práce: **23. prosince 2022**
Termín odevzdání bakalářské práce: **30. června 2023**

L.S.

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D.
děkan

doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2023

Prohlašuji:

Práci s názvem Elektrochemické stanovení nikotinu v nikotinových sáčcích jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 15. 04. 2024

Helena Feistová

PODĚKOVÁNÍ

Velké poděkování patří především Ing. Radovanu Metelkovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a trpělivost při realizaci praktické části i psaní mé bakalářské práce. Rovněž bych také chtěla poděkovat všem osloveným zubním lékařům a dentálními hygienistkám za jejich čas při konzultacích ohledně problematiky nikotinových sáček. Dále bych chtěla poděkovat své rodině a nejbližším za veškerou podporu.

ANOTACE

Bakalářská práce vypracovává přehled analytického stanovení nikotinu s převážným zaměřením na jeho elektrochemické stanovení. V úvodu je popsána historie a problematika užívání nikotinu ve společnosti. V další části jsou popsány jak fyzikálně-chemické vlastnosti nikotinu, tak i jeho působení v lidském těle. Dále je uveden přehled netabákových výrobků s obsahem nikotinu a možnosti analytického stanovení nikotinu. Práce také zahrnuje praktickou část, ve které je popsáno stanovení nikotinu v nikotinových sáčcích pomocí elektrochemie ve srovnání s referenční GC-MS metodou.

KLÍČOVÁ SLOVA

Elektrochemie, nikotin, netabákový výrobek, nikotinový sáček

TITLE

Electrochemical determination of nicotine in nicotine pouches

ANNOTATION

The bachelor thesis provides an overview of analytical methods of determination of nicotine, mainly focused on the determination of nicotine by electrochemical methods. In introduction, history and issues of nicotine use in society are described. Physical-chemical properties of nicotine and its metabolic pathways in human body are then mentioned. In the following pages, summary of non-tobacco products with nicotine and possibilities of analytical determination are present. Practical part is included in the thesis and describes determination of nicotine concentration in nicotine pouches by electrochemical method and its comparison with reference GC-MS method.

KEYWORDS

Electrochemistry, nicotine, non-tabacco product, nicotine pouch

OBSAH

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULKY	10
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK	11
ÚVOD	14
1 Historie a obecný přehled	15
2 Fyzikálně-chemické vlastnosti nikotinu	15
3 Účinek nikotinu v lidském těle	15
3.1 Závislost	19
3.2 Odvykání	19
3.3 Akutní intoxikace	19
3.4 Gynekologie a porodnictví	20
3.5 Psychologie	21
4 Přehled netabákových výrobků obsahující čistý nikotin	21
4.1 Nikotinové náplasti	22
4.3 Nikotinové žvýkačky	23
4.4 Nikotinové pastilky	24
4.6 Nikotinové spreje	24
4.6.1 Nikotinový nosní sprej	24
4.6.2 Nikotinový orální sprej	25
4.7 Nikotinový inhalátor	25
4.8 Sublingvální nikotinové tablety	25
4.9 Nikotinové sáčky	25
4.9.1 Jednotlivé složky nikotinového sáčku	25
4.9.2 Aplikace nikotinového sáčku	26
4.9.3 Onemocnění parodontu	26
4.9.5 Problematika nikotinových sáčků ve světě	27
4.10 Elektronické cigarety	28
5 Možnosti analytického stanovení nikotinu	28
5.1 Chromatografie	28
5.1.1 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie	28
5.1.2 Plynová chromatografie	29
5.2 Spektrometrie	31
5.2.1 UV-VIS spektrometrie	31
5.3 Elektroanalytické techniky	32
5.3.1 Voltametrie	32
5.3.2 Polarografie	34
5.3.3 Amperometrie	34
5.3.4 Kapilární elektroforéza	34
5.3.5 Elektrochemiluminiscence	35
5.4 Imunochemické metody	36
6 Rozdělení elektrochemických stanovení nikotinu podle použitého materiálu pracovní elektrody a senzoru	37
7 Praktická část	39
7.1 Přehled použitých chemikálií a přístrojů	39
7.2 Elektrochemické stanovení nikotinu v nikotinových sáčcích pomocí uhlíkových elektrod	40

7.2.1 Elektrochemické stanovení pomocí uhlíkové pastové elektrody	42
7.2.2 Elektrochemické stanovení nikotinu pomocí elektrody ze skelného uhlíku	45
7.3 Výsledky analýzy pomocí GC-MS referenční metoda	48
7.4 Porovnání výsledků vlastních experimentů s GC/MS	50
ZÁVĚR	51
POUŽITÁ LITERATURA	53

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULKY

Obrázek 1: Strukturní vzorec nikotinu (Sigma-Aldrich, 2023).	15
Obrázek 2: Struktura nervosvalové ploténky (VectorMine, 2023).	16
Obrázek 3: Struktura nAChR (Karlin, 2002).	17
Obrázek 4: Účinky nikotinu (překresleno z publikace Lüllmann, 2007).	18
Obrázek 5: X-Z profilové snímky vygenerované z Ramanových spekter každé vrstvy (Mohamed, 2008).	22
Obrázek 6: Aplikace nikotinového sáčku (M. Jackson, 2023).	26
Obrázek 7: Onemocnění parodontu (překresleno z článku Ye, 2023).	27
Obrázek 8: Schéma vysokoúčinného kapalinového chromatografu (Coufal, 1996).	29
Obrázek 9: Schéma plynového chromatografu (Wikipedie, 2024).	30
Obrázek 10: Schéma spektrofotometru (Vejražka, 2007).	32
Obrázek 11: Schéma tříelektrodového zapojení pro voltametrické měření (Kabátová, 2020).	33
Obrázek 12: Schéma kapilární elektroforézy (Heinz, 2015).	35
Obrázek 13: Uhlíková pastová elektroda a elektroda ze skelného uhlíku.	39
Obrázek 14: Dope Freeze Crazy Strong.	42
Obrázek 15: Dope Freeze #50	43
Obrázek 16: Snatch citrus strong edition.	44
Tabulka 1: Seznam rizikových vět pro nikotin.	20
Tabulka 2: Seznam bezpečnostních oznámení pro nikotin.	20
Tabulka 3: Eliminační poločasy rozpadu nikotinu a kotininu u novorozenců.	21
Tabulka 4: Rozdělení netabákových výrobků obsahující čistý nikotin.	21
Tabulka 5: Přehled použitých chemikálií a přístrojů	39
Tabulka 6: Přehled programu NOVA – Nikotin – CV	40
Tabulka 7: Přehled programu NOVA – Nikotin – SWV	40
Tabulka 8: Dope Freeze Crazy Strong – na uhlíkové pastové elektrodě.	42
Tabulka 9: Dope Freeze #50 – na uhlíkové pastové elektrodě.	43
Tabulka 10: Snatch citrus Strong Edition – na uhlíkové pastové elektrodě.	43
Tabulka 11: Dope Freeze Crazy Strong – na elektrodě ze skelného uhlíku.	45
Tabulka 12: Dope Freeze #50 – na elektrodě ze skleného uhlíku.	46
Tabulka 13: Snatch citrus Strong Edition – na elektrodě ze skelného uhlíku.	47
Tabulka 14: Dope Freeze Crazy Strong – GC-MS.	48
Tabulka 15: Dope Freeze #50 – GC-MS.	49
Tabulka 16: Snatch citrus Strong Edition – GC-MS	49
Tabulka 17: Porovnání výsledků vlastních experimentů s GC/MS	50

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

ADHD	Attention deficit hyperactivity disorder – porucha pozornosti s hyperaktivitou
Ag–GCE	Silver modified glassy carbon electrode – elektroda ze skelného uhlíku modifikovaná stříbrem
AMP	Amperometry – amperometrie
AuNPs/Fe(III)Pc/Gr-GCE	Gold nanoparticles/iron (III) phthalocyanine/graphene modified glassy carbon electrode – elektroda ze skelného uhlíku modifikovaná zlatými nanočásticemi, ftalocyaninem železitým a grafenem
ApoE4	Apolipoprotein E4
bAuNPs/SPE	Biosynthesized gold nanoparticles modified screen printed electrode – tištěná elektroda modifikovaná biosyntetizovanými zlatými nanočásticemi
BDDE	Boron-doped diamond electrode – borem dopovaná diamantová elektroda
CNC–SPE	Carbon nanotube cluster modified screen printed electrode – tištěná elektroda modifikovaná klastrem z uhlíkových nanotrubiček
CV	Cyclic voltammetry – cyklická voltametrie
CuWO ₄ /rGO–GCE	Reduced graphene oxide nanocomposite immobilized glassy carbon electrode – elektroda ze skelného uhlíku modifikovaná nanokompozitem z CuWO ₄ a redukovaného grafen oxidu
CPE	Carbon paste electrode – uhlíková pastová elektroda
CYP2A9	Cytochrome P450 2A6
DME	Dropping mercury electrode– kapající rtuťová elektroda
DPV	Differential pulse voltammetry – diferenční pulzní voltametrie
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
EVA	Ethylene vinyl acetate – ethylenvinylacetát
Ep	Electrochemical potential – potenciál maxima píku
Fe–MgNi ₂ O ₃ –GCE	Iron-magnesium nickel oxide modified glassy carbon electrode – elektroda ze skelného uhlíku modifikovaná směsným oxidem Fe, Mg a Ni
FIA	Flow injection analysis – průtoková injekční analýza
GC	Gas chromatography – plynová chromatografie
GCE	Glassy carbon electrode – elektroda ze skelného uhlíku

HPLC	High-performance liquid chromatography – vysokoúčinná kapalinová chromatografie
IR	Infrared spectroscopy – infračervená spektroskopie
LSV	Linear sweep voltammetry – lineární voltametrie
LOD	Limit of detection – limit detekce
miRNA	Micro ribonucleic acid – mikroRNA
MS	Mass spectrometry – hmotnostní spektrometrie
MXene/PHC–GCE	MXene/palladium hydroxide-supported carbon modified glassy carbon electrode – elektroda ze skelného uhlíku modifikovaná MXeny a uhlíkem s hydroxidem palladia
MWNTs–GCE	Multi-walled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode – elektroda ze skelného uhlíku modifikovaná víceštěnými uhlíkovými nanotrubičkami
nAChR	Nicotinic acetylcholine receptor – nikotinový acetylcholinový receptor
NGS–SPCE	Screen-printed carbon electrode modified with nitrogen-doped graphene sheets – uhlíková tištěná elektroda modifikovaná vrstvami grafenu dopovaného dusíkem
NMR	Nuclear magnetic resonance spectroscopy – spektroskopie nukleární magnetické rezonance
P–AHNSA–GCE	Poly(4-amino-3-hydroxynaphthalene sulfonic acid) modified glassy carbon electrode – elektroda ze skelného uhlíku modifikovaná poly(4-amino-3-hydroxynaftalen sulfonovou kyselinou)
PDA	Photodiode array detector – detektor s diodovým polem
PE	Polyethylene – polyethylen
PET	Polyethylene terephthalate – polyethylentereftalát
PGE	Pencil graphite electrode – tužková grafitová elektroda
PIB	Polyisobutylene – polyisobutylen
RIA	Radioimmunoassay – radioimunoanalýza
ROS	Reactive oxygen species – reaktivní kyslíkové sloučeniny
RSD	Relative standard deviation – relativní směrodatná odchylka
SD	Standard deviation – směrodatná odchylka
SDME	Static dropping mercury electrode – statická kapající rtuťová elektroda

SNM–CPE	Silver nano powder modified carbon paste electrode – uhlíková pastová elektroda s nanopráškem Ag
SWV	Square wave voltammetry – voltametrie se čtvercovými pulzy
TiO ₂ –CPE	Titanium dioxide modified carbon paste electrode – uhlíková pastová elektroda modifikovaná TiO ₂
TSNA	Tobacco specific nitrosamines – nitrosaminy specifické pro tabák
UV – VIS	Ultraviolet-visible spectrometry – UV-VIS spektrometrie
WHO	World Health Organization – Světová zdravotnická organizace

ÚVOD

V této práci jsem se zabývala především praktickým elektrochemickým stanovením nikotinu v nikotinových sáčkích, jak již napovídá samotný název. Cílem praktické části bylo stanovit obsah nikotinu z nikotinových sáčků pomocí elektrochemie a porovnání výsledků s referenční metodou. Mimo jiné jsem v této práci shrnula fyzikálně-chemické vlastnosti nikotinu a účinek nikotinu na lidské tělo, dále jsem vyhotovila přehled netabákových výrobků obsahující čistý nikotin, možnosti analytického stanovení nikotinu a dosud publikovaná elektrochemická stanovení nikotinu. Téma elektrochemické stanovení nikotinu v nikotinových sáčkích jsem zvolila v důsledku seberozvoje a informování společnosti o této problematice. První impulz pro mě bylo sledování informačních zdrojů na internetu a v televizních zprávách spojených s problematikou užívání toho produktu ve školách u mladistvých a také kvůli zvýšenému počtu uživatelů nikotinových sáčků v mém okruhu přátel a známých. Nikotinové sáčky jsou nové netabákové produkty na trhu a o jejich účincích a možnostech stanovení jejich obsahu není vypracováno mnoho studií. I když jejich regulace není plně vyhotovena, je tento produkt velmi rozšířený hlavně v severních zemích Evropy a dnes i v ČR. Samotný nikotin je v současnosti hlavně spojován se závislostí, nemocemi, úmrtností nebo enormním znečištěním přírody, ale také jako lék a součást celosvětové ekonomiky. Problematika a rizika spojená s užíváním nikotinu ve formě tabákových i netabákových výrobků negativně i pozitivně ovlivňuje celosvětovou populaci. Informace k této práci jsem čerpala z odborných článků, knih a od odborníků, které se touto problematikou zabývají.

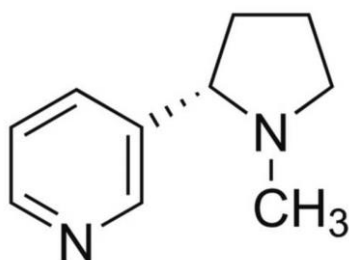
1 Historie a obecný přehled

První nikotin byl přivezen do Evropy z Ameriky, a to díky Kolumbově výpravě v roce 1492 ve formě tabákových rostlin. Další významnou osobou, která se zasloužila o rozšíření nikotinu po Evropě byl Jean Nicot – odtud vznikl název nikotin (Linhart, 2022). Sloučenina nikotinu byla poprvé získaná v čisté formě roku 1828, molekulární vzorec $C_{10}H_{14}N_2$ byl stanoven o 15 let později a syntetický nikotin byl vyroben až o 61 let později po jeho získání v čisté formě (Britannica, 2023). V minulosti byl nikotin využíván na ochranu rostlin jako pesticid proti hmyzu. Avšak později se ukázalo, že je pro zvířata velmi jedovatý. Proto byl kolem roku 1970 zakázán (Dreher, 2017). Rostlina tabáku, latinsky *nicotiana tabacum* je řazena do čeledi lilkovitých. Pět procent z hmotnosti rostliny tvoří alkaloid nikotin. Do čeledi lilkovitých řadíme i další plodiny jako je lilek, rajče, brambor nebo paprika, které obsahují také nikotin, ovšem v menším množství (Hosák, 2015).

2 Fyzikálně-chemické vlastnosti nikotinu

Nikotin patří mezi aminy, které lze zařadit do organických derivátů amoniaku. Atom dusíku s volným atomovým párem v molekule nikotinu zajišťuje bazické a nukleofilní vlastnosti (McMurry, 2007). Nikotin má systematický název 3-[(2S)-1-methylpyrrolidin-2-yl]pyridin, strukturní vzorec je uveden na obrázku 1. Molekulová hmotnost nikotinu je 162,234 g/mol. Nikotin je kapalná, olejovitá a bezbarvá tekutina, která zapáchá po tabáku či by se dal jeho zápach přirovnat k pyridinu. Bod tání je $-79\text{ }^{\circ}\text{C}$, bod varu se pohybuje v rozmezí $243\text{--}248\text{ }^{\circ}\text{C}$ a bod vzplanutí je $101\text{ }^{\circ}\text{C}$. Teplota rozkladu nikotinu je rovna bodu varu. Při $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ je jeho hustota rovna $1,010\text{ g/cm}^3$ (Sigma-aldrich, 2023). V kontaktu s kyselými složkami může nikotin absorbovat vázat až dva protony. Nikotin tak může existovat volně, v jednoduše protonovaném stavu, nebo ve dvojitě protonovaném stavu (Davis, 2003).

Obrázek č. 1 zobrazuje strukturní vzorec nikotinu. Skládá se z pyridinového kruhu a pyrrolidinu.



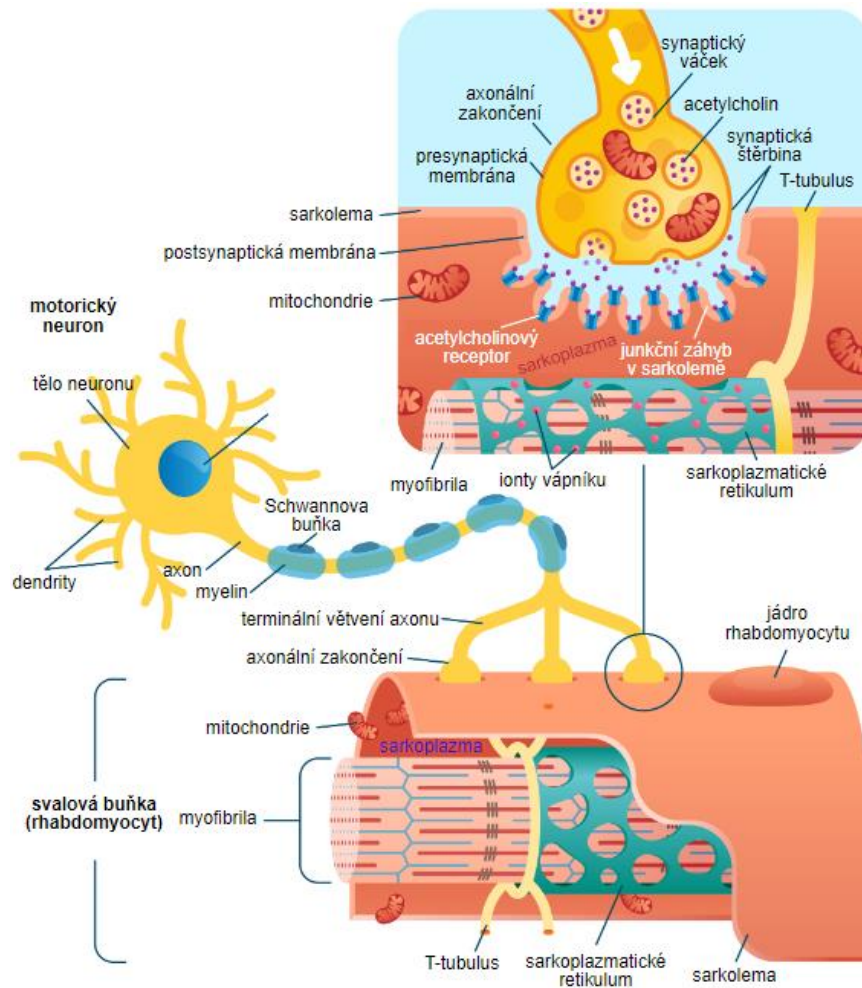
Obrázek 1: Strukturní vzorec nikotinu (Sigma-Aldrich, 2023).

3 Účinek nikotinu v lidském těle

Nikotin má výrazné účinky na člověka, a to především psychostimulační a euforizující. Letální dávka pro člověka se pohybuje již od 50-60 mg. Poločas eliminace je 20-30 minut. Odbourává se v játrech a vylučuje se ledvinami (Hosák, 2015). U čistého nikotinu nebyly potvrzeny žádné známe karcinogenní vlastnosti (Strunecká, 2012). Po užití nikotinu roste ostražitost a soustředěnost, zlepšení kognitivních schopností je krátkodobé. Naopak potlačuje nervozitu, agresivitu a apetit. Při opakovaném užívání roste závislost a tolerance (Martínková, 2007).

Acetylcholin je neurotransmitter neboli přenašeč vzruchu. Na nervosvalové ploténce (motorické ploténce) přenáší nervový vzruch, který způsobuje pohyb svalů. Acetylcholin má i regulační účinky, a to na mnoha místech ve vegetativním nervovém systému jako je například v srdci (snižuje jeho frekvenci) nebo ve střevě, kde podporuje pohyblivost střev a tím i lepší trávení. Na acetylcholinu jsou odkázány další funkční oblasti, jako je mozek, kde ovlivňuje kognitivní funkce (Dreher, 2017).

Obrázek č. 2 zobrazuje strukturu nervosvalové ploténky, v přiblížení dostáváme i přesnou pozici acetylcholinových receptorů v postsynaptické šterbině a acetylcholinu v axonálním zakončení neuronu.



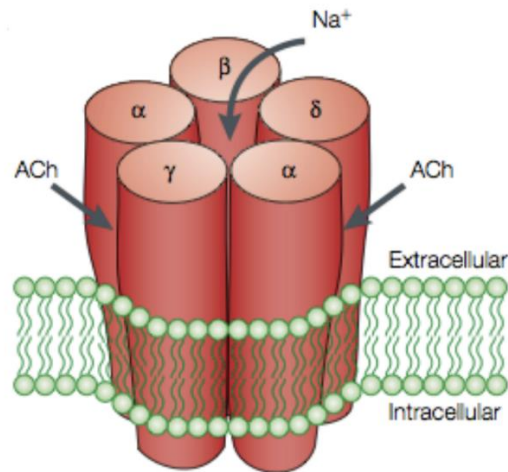
Obrázek 2: Struktura nervosvalové ploténky (VectorMine, 2023).

Acetylcholinové receptory jsou transmembránové bílkoviny umístěné v buněčných membránách. Acetylcholinové receptory lze rozdělit do dvou skupin na muskarinové (metabotropní) acetylcholinové receptory a nikotinové (ionotropní) acetylcholinové receptory. Oba acetylcholinové receptory jsou aktivovány endogenním transmitterem acetylcholinem. Typy acetylcholinových receptorů se od sebe odlišují nejen strukturou, ale i funkcí. Dle specifických agonistů, které je aktivují je nazýváme: muskarinové receptory – agonista muskarin, nikotinové receptory – agonista nikotin (Dreher, 2017).

Nikotinové acetylcholinové receptory (nAChR) se vyskytují na motorické ploténce, v gangliových buňkách, ve dřeni nadledvin a v centrálním nervovém systému. Nikotin pomáhá

k uvolnění hormonů adrenalin, dopamin a serotonin (Dreher, 2017). nAChR se skládají z pěti podjednotek, které tvoří výslednou formu pentamer. nAChR jsou ligandem řízené centrální iontové kanály, které se v přítomnosti agonisty (nikotinu) otevírají a propouští ionty Na^+ a K^+ . Nikotinové receptory mají tendenci k rychlému snížení citlivosti neboli desenzitizaci. Při dlouhodobém obsazení agonistou se iontový kanál sám uzavře a opětovně se znovu otevře po uvolnění molekuly agonisty. nAChR se odlišuje od muskarinových acetylcholinových receptorů jiným složením pěti podjednotek (Lüllmann, 2007).

Na obrázku č. 3 je zobrazena struktura nAChR s dvěma vazebnými místy pro acetylcholin. Šipkou je naznačen průchod sodíkového iontu.

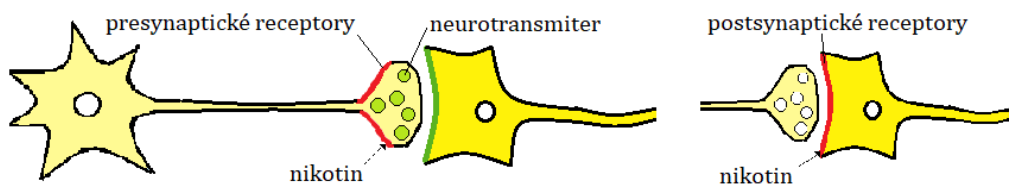
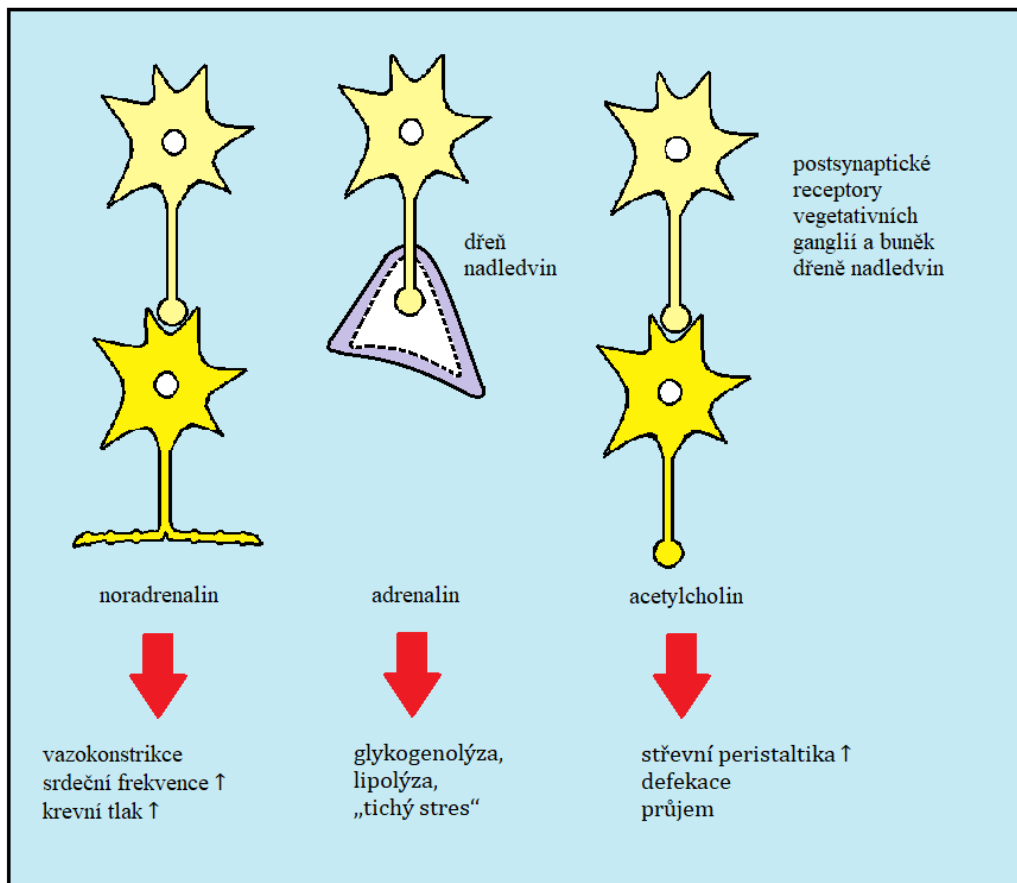
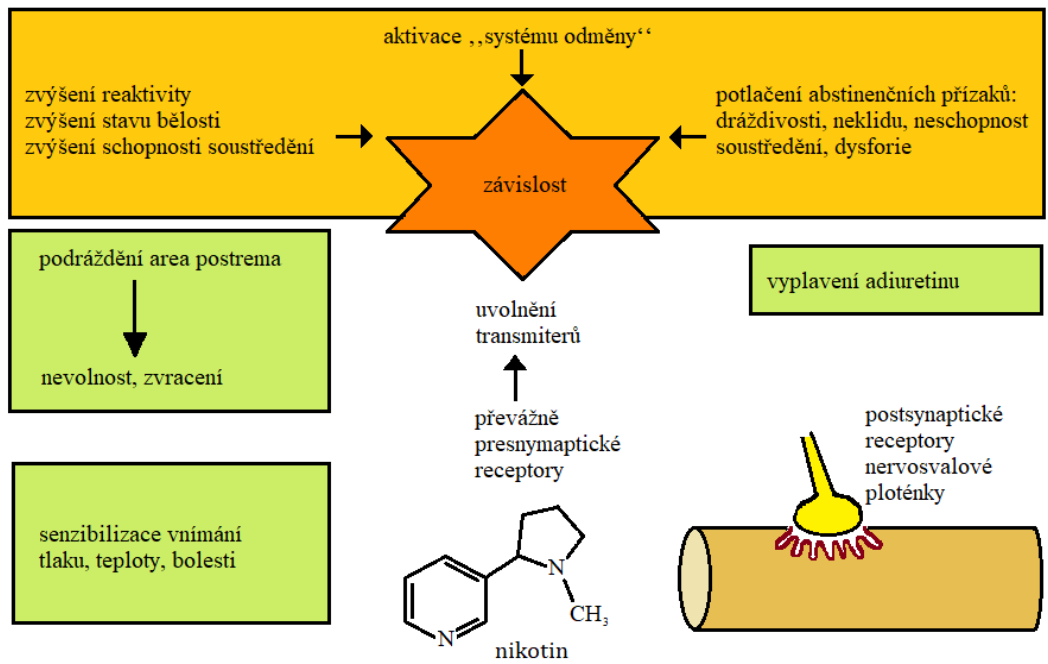


Obrázek 3: Struktura nAChR (Karlin, 2002).

Nikotinové acetylcholinové receptory lze dále rozdělit do dvou typů. Prvním je nAChR motorického typu a druhým je nAChR neuronálního typu. Například v nervosvalové ploténce jsou umístěny nAChR motorického typu a jsou lokalizovány postsynapticky. V centrální nervové soustavě a v gangliích jsou umístěny nAChR neuronálního typu a jsou lokalizovány hlavně presynapticky (Lüllmann, 2007).

Změna tělesných funkcí účinkem nikotinu je zapříčiněna aktivací systému odměn, což má za následek vznik závislosti. Pravidelné užívání nikotinu způsobí návyk, po jeho odepření se mohou projevit psychické abstinenční příznaky. Nejjednodušším způsobem zamezením abstinenčním příznakům u osob na nikotinu závislých je nadále užívat nikotinu. Účinky způsobené podrážděním vegetativních ganglií se mohou jevit jako částečně prospěšné (první ranní cigareta). Uvedení sympatiku v činnost bez adekvátní tělesné zátěže (tichý stres) by však mohlo z dlouhodobého hlediska způsobit kardiovaskulární poruchy (Lüllmann, 2007).

Na níže vloženém obrázku č. 4 je schématický popis účinku nikotinu na lidské tělo.



Obrázek 4: Účinky nikotinu (překresleno z publikace Lüllmann, 2007).

Metabolismus nikotinu je spojen s pohlavními hormony. Ženy, které jsou uživatelky perorální hormonální antikoncepce mají rychlejší metabolismus nikotinu a kotininu než ženy, které ji neužívají. Muži mají pomalejší metabolismus nikotinu a kotininu než ženy. Rychlejší metabolismus je pravděpodobně způsoben estrogény (Benowitz, 2006).

Byla vypracována studie zaměřená na přehled existujících dat týkajících se vztahu spotřeby nikotinu, abstinčních příznaků, substituční terapie a poruch spánku u zvířat i lidí. Při užívání nikotinu byly zaznamenány především symptomy nespavosti, jako je zvýšená latence spánku, přerušovaný spánek a snížený spánek s pomalými vlnami se sníženou účinností spánku a zvýšená ospalost během dne. Většina z použitých studií navíc naznačovala nikotinem vyvolané potlačení spánku rychlým pohybem očí (Jaehne, 2009).

3.1 Závislost

Nikotin spadá k velmi rizikovým látkám s nejvyšší závislostí, jako je například ilegální kokain. Závislost nesouvisí ani tak moc na přímém farmakologickém působení na receptoru, jako spíše na rychle navyklou a jako odměnu vnímanou aktivaci nAChR v nukleus accumbens, centrální části systému odměny (Dreher, 2017).

3.2 Odvykání

Fyzické abstinční příznaky mohou být léčeny nikotinovými náplastmi, nikotinovou žvýkačkou či nosními spreji. Nikotinová náplast nepřetržitě uvolňuje nikotin, to zmírňuje tělesné odvykácké symptomy. Nikotinové žvýkačky a spreje uvolňují větší množství nikotinu v kratším období. Tyto produkty mohou pomoci při velké chuti na nikotin (Dreher, 2017). Pozvolným omezováním dávky nikotinu ve formě nikotinových náplastí, žvýkaček či sprejů má návyk překonat a pomoci k odvyknutí na nikotin. V praxi se bohužel setkáváme s vysokou recidivou. Další možná léčba závislosti na nikotinu je lékem Bupropion (amfebutamon), který je strukturou velmi podobný amfetaminu a potlačuje zpětný neuronální příjem noradrenalinu a dopaminu. Má obdobné centrální působení jako nikotin (Lüllmann, 2007).

3.3 Akutní intoxikace

Letální dávka je 50-60 mg nikotinu, ale záleží, zda se jedná o uživatele nikotinu či nikoliv. Pravidelný uživatel nikotinu má letální dávku mnohem vyšší. Při předávkování nikotinem indikujeme prvotní projevy intoxikace jako jsou: nechutenství, neklid, vysušení sliznice, zrychlené dýchání, zvýšená produkce hlenu, vyšší tepovou frekvenci a krevní tlak. Druhá fáze intoxikace se projevuje poruchou spánku (nospavost), agresivitou, ztrátou pozornosti a úzkostí. Třetí fáze může být smrtelná, projevuje se křečí svalů, břišní kolikou a poruchou srdečního rytmu. Důsledkem čtvrté fáze je smrt na zástavu srdce nebo útlumem mozkového dechového centra (Hosák, 2015).

V tabulce č. 1 jsou uvedeny naleznete rizikové věty k čistému nikotinu a v tabulce č. 2 pak seznam bezpečnostních oznámení pro nikotin.

Tabulka 1: Seznam rizikových vět pro nikotin.

Rizikové věty	
H300 + H310 + H330	Při požití, styku s kůží nebo při vdechování může způsobit smrt.
H315	Dráždí kůži.
H318	Způsobuje vážné poškození očí.
H411	Toxický pro vodní organismy s dlouhodobými účinky.

Zdroj: (Sigma-Aldrich, 2023)

Tabulka 2: Seznam bezpečnostních oznámení pro nikotin.

Bezpečnostní oznámení	
P262	Zabraňte styku s očima, kůží nebo oděvem.
P273	Zabraňte uvolnění do životního prostředí.
P280	Používejte ochranné rukavice/ ochranný oděv/ ochranné brýle/ obličejový štít.
P302 + P352 + P310	Při styku s kůží: omyjte velkým množstvím vody. Okamžitě volejte toxikologické informační středisko/ lékaře.
P304 + P340 + P310	Při vdechnutí: Přeneste osobu na čerstvý vzduch a ponechejte ji v poloze usnadňující dýchání. Okamžitě volejte toxikologické informační středisko/ lékaře.
P305 + P351 + P338	Při zasažení očí: několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.

Zdroj: (Sigma-Aldrich, 2023)

3.4 Gynekologie a porodnictví

Nikotin u těhotných matek vyvolává vazokonstrikci v terminálním cévním řečišti a tím snižuje průtok krve dělohou, a tedy i placentou, což způsobí fetální oxygenaci. Pokud je plod vystaven sníženému příjmu kyslíku, dochází k nízké porodní hmotnosti novorozence až k rozvoji intrauterinní růstové retardace dětí (Hájek, 2004). Novorozenci jsou ohroženi syndromem náhlého úmrtí (Binder, 2015). Množství nikotinu v krvi plodu převyšuje hladinu nikotinu v krvi matky. U plodu nikotin vyvolává tachykardii (Hájek, 2014). Pokud je matka uživatelka nikotinu, nikotin se dostává do mateřského mléka a mění jeho chuť. Děti jsou při kojení nepokojné a nepřijímají prs (Roztočil, 2020). Chronický nikotinismus vede k nepravidelné ovulaci a tím klesá pravděpodobnost otěhotnění (Roztočil, 2011).

Pro lepší pochopení uvádím studii, která přímo vysvětluje poměr nikotinu v krvi matky a plodu. U novorozenců kojených matkami, které před kojením užily cigaretu, se zvýšilo množství nikotinu o 0,94 mg/kg tělesné hmotnosti novorozence. Přitom denní dávka nikotinu činila 6 mg/kg tělesné hmotnosti novorozence. Množství kotininu v plazmě a mléce matek a moči kojenců zobrazovaly kuřácký návyk matek během těhotenství (Dahlström, 1990). Další

studie vysvětluje přítomnost a kinetiku nikotinu a jeho metabolitů u novorozenců (Dempsey, 2000). Vzorky krve a denní vzorky moči novorozenců byly testovány na nikotin a kotinin. Novorozenců byly testovány na nikotin, kotinin a další metabolity. Výsledné eliminační poločasy rozpadu nikotinu a kotininu u novorozenců jsou shrnuty v tabulce č. 3.

Tabulka 3: Eliminační poločasy rozpadu nikotinu a kotininu u novorozenců.

	Krev	Moč
Eliminační poločas nikotinu	11,2 hodin	9,0 hodin
Eliminační poločas kotininu	16,3 hodin	22,8 hodin

Zdroj: (Dempsey, 2000)

Eliminační poločas rozpadu nikotinu a kotininu se různí pro novorozence a dospělé. U novorozenců je 3 - 4x vyšší než u dospělých, zatímco u kotininu je eliminační poločas rozpadu podobný. Důvodem těchto zjištění je enzym CYP2A6, který je u dospělých odpovědný za metabolismus nikotinu a kotininu. U novorozenců je prodloužená doba eliminace nikotinu způsobená odlišnou specifičností enzymatického substrátu CYP2A6 novorozence (Dempsey, 2000).

3.5 Psychologie

U neurodivergentních osob diagnostikovaných s onemocněními jako je ADHD, úzkostnými poruchami a depresemi, je v porovnání se zdravou populací pozorována vyšší míra užívání nikotinu. To ukazuje na silný vztah mezi nikotinem a symptomatologií těchto onemocnění. Studie uvádí, že nikotin napomáhá ke krátkodobému zmírnění příznaků spojených s duševním onemocněním. Osoby s těmito poruchami následně z tohoto důvodu přecházejí do chronického nikotinizmu za účelem samoléčby. Odvykání na nikotin pro osoby s duševním onemocněním je mnohonásobně těžší, protože příznaky jejich duševních poruch se zhoršují během období odvykací fáze. Abstinční doba se tedy zkracuje a recidiva je častější než u osob bez psychického onemocnění (Kutlu, 2015).

4 Přehled netabákových výrobků obsahující čistý nikotin

V tabulce č. 4 je uvedeno rozdělení netabákových výrobků obsahující čistý nikotin, dle zahřívání produktu. V případě elektronických cigaret se jedná pouze o produkty, které neobsahují tabák, například elektronická cigareta IQOS je tabákovým výrobkem.

Tabulka 4: Rozdělení netabákových výrobků obsahující čistý nikotin.

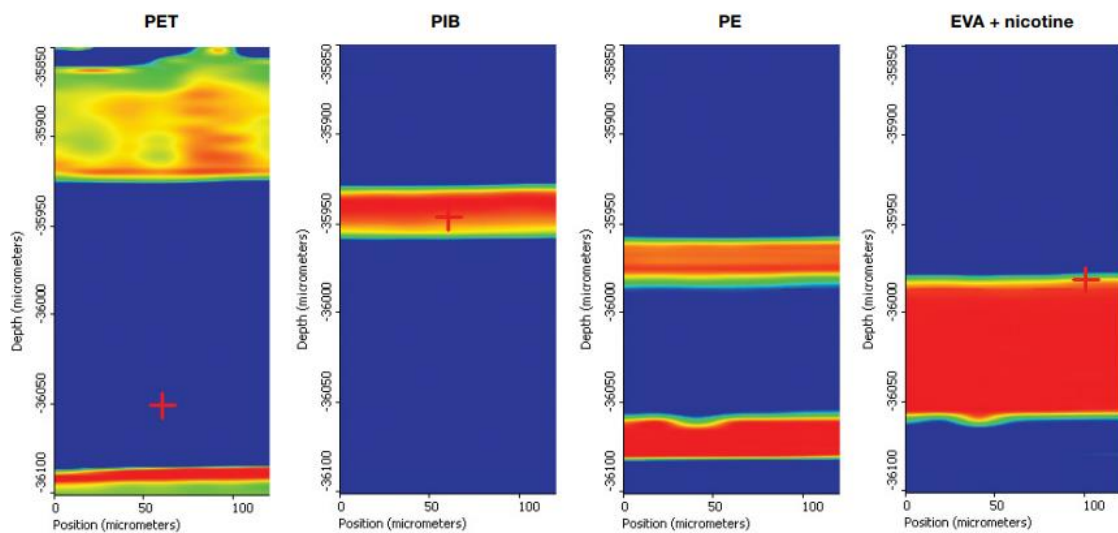
Nezahřívané	Zahřívané
<ul style="list-style-type: none"> • Náplasti • Žvýkačky • Pastilky • Spreje • Inhalátory • Sáčky 	<ul style="list-style-type: none"> • Elektronické cigarety <p>(vapování „liquidů“ na bázi vody nebo alkoholu)</p>

4.1 Nikotinové náplasti

Složení nikotinových náplastí může být mírně variabilní v závislosti na konkrétní značce a produktu, ale obvykle obsahuje následující vrstvy: ochranná vrstva, adhezivní (lepivá) vrstva, membrána a ochranná podložka (Mohammed, 2008). Konkrétně dle příbalové informace nikotinových náplastí značky NiQuitin se jedná o složky: nikotin (hlavní účinná látka), pomocné látky jako kopolymer ethylenu s vinyl-acetátem, polyesterová laminátová folie polyethylen vysoké hustoty, adhezivní polyisobutenová vrstva, složená polyesterová folie a bílý inkoust (NiQuitin, 2022).

První a šestá ochranná vrstva je složená polyesterová folie (PET), slouží k ochraně adhezivní vrstvy a účinných látek, které jsou uloženy v membráně. První vrstva zajišťuje ochranu před vnějšími vlivy jako je vzduch, vlhkost, světlo. Druhá a čtvrtá vrstva, polyesterová laminátová vrstva folie a polyethylen vysoké hustoty (PE), zajišťuje postupné uvolňování nikotinu. Třetí vrstva, kopolymer ethylenu s vinylacetátem (EVA), slouží jako matrice nebo nosič pro nikotin. Napomáhá zajistit rovnoměrnou absorpci nikotinu přes kůži. Pátá vrstva, adhezivní polyisobuten (PIB), zajišťuje přilnavost k pokožce. Její hlavní funkcí je udržet náplast na místě aplikace po dobu nošení (Mohamed, 2008).

Na obrázku č. 5 jsou zobrazeny pomocné složky z každé vrstvy nikotinové náplasti pomocí Ramanové spektrometrie.



Obrázek 5: X-Z profilové snímky vygenerované z Ramanových spekter každé vrstvy (Mohamed, 2008).

Nikotinové náplasti jsou převážně dostupné bez lékařského předpisu. Náplast se aplikuje na kůži každý den a ponechá se na místě po doporučenou dobu (obvykle 16-24 hodin). Do těla se uvolňuje kontinuální množství nikotinu, to znamená, že uživatel nedostane velkou dávku nikotinu na začátku, ale stejnou dávku v průběhu působení nikotinové náplasti. Nikotinové náplasti se většinou používají po dobu šesti až osmi týdnů, v některých případech i déle. V prvních týdnech se uživatelům doporučuje zakoupit náplasti s vyšším obsahem nikotinu a to 15-21 mg, následně se používají náplasti s nižšími dávkami. Nejběžnější vedlejší účinky jsou svědění, pálení, nebo brnění v místě a okolí aplikace nikotinové náplasti. Před spaním se doporučuje nikotinová náplast odstranit z důvodu možné poruchy spánku (Rose, 1998).

Užívání nikotinových náplastí se doporučuje pacientům, kteří bojují se závislostí na nikotinu. Nikotinové náplasti mohou využít i lidé, kterým byla diagnostikována Alzheimerova choroba, a dokonce pomocí nikotinových náplastí lze Alzheimerově onemocnění předcházet. Alzheimerova demence se v převážné většině projeví u lidí v pozdějším středním věku. Nemoc se projevuje velice nenápadně, a to občasným zapomináním, následně může (ale nemusí) se rychle zhoršit, kdy pacient má vážné problémy s pamětí, plánováním věcí, vyjadřováním, rozpoznávání lidí a podobně. Přechodný stav mírné kognitivní dysfunkce mezi normálními podmínkami a Alzheimerovou demencí může trvat až 10 let. Vědci a lékaři usilují o předcházení a snížení procenta lidí, kteří trpí mírnou kognitivní dysfunkcí. Každý rok se jedná asi o 10-15 % pacientů a je nutno zdůraznit, že se stále toto procento navyšuje (Carper, 2011).

Byla provedena dvojitá slepá studie pod vedením Paula A. Newhouse, v níž byli sledováni nekuřáci ve věku od padesáti let a výše, kteří trpěli mírnou kognitivní dysfunkcí. Ve studii nikdo ze zúčastněných nevěděl, zda bere náplast s obsahem nikotinu nebo jen čistou náplast bez obsahu nikotinu, takzvané placebo. Ve výsledcích testů se potvrdilo, že u lidí, kteří užívali nikotinovou náplast došlo ke zlepšení paměti, rychlosti reakce či rychlosti vyjadřování. Nejvýraznější zlepšení nastalo u lidí, kteří byli nositeli genu ApoE4 ze strany obou rodičů. Během studie se u zúčastněných neprojeví žádné závažné nežádoucí účinky, naopak jeden z pozitivních účinků bylo snížení krevního tlaku. Studie byla vyhodnocena jako úspěšná, poukazuje na jeden ze způsobů, jak předejít možným problémům s kognitivními funkcemi (Carper, 2011).

4.3 Nikotinové žvýkačky

Složení nikotinových žvýkaček může být mírně variabilní v závislosti na konkrétní značce a produktu, ale obvykle obsahují následující složky: nikotin, žvýkáci hmota, sladidla, aroma, stabilizátory a aditiva (Poulsen, 2022). Konkrétně dle příbalové informace nikotinových žvýkaček značky Nicorette se jedná o následující složení. Hlavní účinnou složkou je nikotin. Dalšími složkami jsou základ žvýkáci gumy s antioxidantem (obsahuje butylhydroxytoluen E 321), xylitol, silice máty peprné, uhličitan sodný, draselná sůl acesulfamu, levomenthol, oxid hořečnatý, složené tekuté mátové aroma, hypromelóza, sukralóza, polysorbát 80, předbobtnalý škrob, oxid titaničitý (E 171), karnaubský vosk a mastek, hydrogenuhličitan sodný, hlinitý lak chinolinové žlutí (E 104) a čištěná voda (Nicorette Icemint gum, 2020).

Hlavní účinnou látkou v nikotinových žvýkačkách je nikotin, obvykle ve formě nikotinové báze. Dále pak obsahují žvýkáci hmotu bez příchuti. Tato žvýkáci hmota je převážně vyrobena ze syntetických a přírodních pryskyřic, které působí jako elastomerní změkčovadla. Výběr pryskyřic a jejich bodů měknutí ovlivňuje kompatibilitu a texturu produktu a jsou kritickými surovinami z hlediska stability produktu. Přírodní pryskyřice se skládají z nestabilních konjugovaných vazeb, v přítomnosti kyslíku a vzduchu se snadno oxidují. Dalšími složkami typické žvýkáci hmoty jsou plniva, elastomery, vosky, tuk, emulgátory a antioxidanty. Celkové složení žvýkáci hmoty ovlivňuje pocit v ústech, texturu, příchut' a chemickou stabilitu. Dalšími pomocnými látkami jsou sladidla, aroma, stabilizátory a další aditiva. Sladidla slouží k maskování chuti nikotinu nebo aby produkt byl chutnější. Aroma zlepšuje chuť a vůni produktu. Stabilizátory a další aditiva pomáhají udržet konzistenci produktu nebo mu poskytují specifické vlastnosti (Poulsen, 2022). Nikotinové žvýkačky jsou obvykle k dostání bez lékařského předpisu. Obsah nikotinu v nikotinových žvýkačkách se pohybuje v rozmezí 2-4 mg. Nikotinová žvýkačka se užívá podobně jako běžná žvýkačka až na

to, že po několika rozžvýkání se umístí mezi tvář a dásně jako je u nikotinových sáčků, aby se nikotin mohl vstřebat sliznicí. Nikotin se z nikotinové žvýkačky uvolní poměrně rychle, to znamená že uživatel dostane poměrně velkou a rychlou dávku nikotinu na počátku (do 30 minut). Pro odvykání je důležité dbát na důsledné užívání, a to vždy až po dvou hodinách od posledního užití, a to po dobu jednoho až tří měsíců. Mezi možné vedlejší účinky se řadí bolest v ústech, bolest hlavy a čelisti (Rose, 1998).

Byla provedena studie, která se zabývala potřebou užívání zcela volně prodejných nikotinových žvýkaček. Studie prokázala, že nikotinové žvýkačky především přitahují jednotlivce, kteří v době studie kouřili anebo používali elektronické cigarety, ale přáli si přestat nebo alespoň snížit potřebu nikotinu. Studie také potvrdila, že mladiství projeví o nikotinové žvýkačky minimální zájem a tedy nedochází ke zneužívání tohoto produktu (Olson, 2023).

4.4 Nikotinové pastilky

Nikotinové pastilky jsou dostupné v lékárně bez lékařského předpisu. Používají ke zmírnění abstinčních příznaků a snížení neodolatelné touhy po nikotinu. Jsou určeny k orálnímu podání. Nikotinové pastilky se pomalu rozpouštějí přibližně 20 minut a uvolňující se nikotin se vstřebává do těla pomocí ústních sliznic. Nikotinové pastilky se nežvýkají ani nepolykají, při užívání je doporučeno nejíst a nepít. Hlavní účinnou látkou nikotinových pastilek je nikotin s obsahem 2-4 mg. Dalšími složkami jsou sladidla, aroma, stabilizátory a aditiva (Rose, 1998). Konkrétně dle příbalové informace nikotinových pastilek značky Nicorette jedna lisovaná pastilka obsahuje 4 mg nikotinu (ve formě nicotini resinas). Pomocnými látkami jsou: jádro pastilky – mannitol (E421), xanthanová klovatina, vysušené složené mentholové aroma (arabská klovatina (E414), aroma máty peprné, mentholové a cineolové), uhličitan sodný (E500), sukralosa (E955), draselná sůl acesulfamu (E950), magnezium-stearát (E470b), potahová vrstva – hypromelosa (E464), složené tekuté mentholové aroma (aroma máty peprné, mentholové a cineolové), oxid titaničitý (E171), sukralosa (E955), mikrokrystalická celulóza (E460), hlinitokřemičitan draselný (E555), draselná sůl acesulfamu (E950), polysorbát 80 (E433). Pastilky Nicorette Mint neobsahují cukr (Nicorette Mint, 2023).

Byla vypracovaná studie na účinnost nikotinové pastilky. Závěrem studie bylo, že u vysoce závislých uživatelů nikotinu 4 mg nikotinová pastilka významně snížila všechny emoční abstinční příznaky během prvních 4 týdnů léčby (Shiffman, 2008).

4.6 Nikotinové spreje

Hlavní účinnou látkou nikotinových sprejů je nikotin. Dalšími pomocnými látkami jsou rozpouštědlo, aroma, stabilizátory a aditiva. Rozpouštědlo slouží jako nosná látka nikotinu, může to být voda nebo speciální tekutina, která pomáhá přenést nikotin na sliznice. Aroma ve sprejích zlepšuje chuť a celkový zážitek z užívání. Stabilizátory a aditiva napomáhají udržet konzistenci a chemické vlastnosti produktu. Další součástí nikotinových sprejů je speciální mechanismus pro aplikaci tekutiny, často ve formě rozprašovače, který umožňuje uživateli aplikovat sprej do úst či nosu (Rose, 1998).

4.6.1 Nikotinový nosní sprej

Nikotinový nosní sprej je k dispozici pouze na lékařský předpis, protože u tohoto produktu hrozí větší riziko kardiovaskulárních chorob, předávkování a zneužití než u jiných nikotinových léků. Je to zatím jeden z nejrychlejších produktů pro dodání nikotinu do těla, svou

rychlostí zastínil nikotinové žvýkačky. Obvykle se předepisuje s obsahem 1 mg nikotinu (dávka 0,5 mg vstříknutá do každé nosní dírky). Uživatelům se doporučuje 8 dávek (16 vstříků) denně pro optimální účinnost, ale může se užít až 40 dávek denně. Dávky během dne se odvíjejí od míry závislosti na nikotinu. Mezi nejčastější vedlejší účinky lze řadit podráždění sliznice nosu a krku, slzení očí či rýma. Nikotinový nosní sprej není doporučován osobám s onemocněním nosu, nosních dutin, alergiemi nebo astmatem (Rose, 1998).

4.6.2 Nikotinový orální sprej

Konkrétně dle příbalové informace nikotinového orálního spreje značky Nicorette, jedna dávka (vstřík) spreje dodává 1 mg nikotinu. Pomocnými látkami jsou: propylenglykol (E1520), bezvodý ethanol, trometamol, poloxamer 407, glycerol (E422), hydrogenuhličitan sodný, levomenthol, tekuté mátové aroma, tekuté chladivé aroma, sukralóza, draselná sůl acesulfamu, butylhydroxytoluen (E321), kyselina chlorovodíková (k úpravě pH) a čištěná voda (Nicorette Spray, 2023). Nikotinový orální sprej poskytuje okamžitou úlevu, a to již do 30 sekund od podání dvou dávek. Během vstříku produkt není vhodné vdechovat a ani nepolykat, mohlo by dojít k podráždění sliznice krku. Doporučené dávkování jsou 1-2 vstříky během 30 minut až hodiny, které pomohou od silné touhy po nikotinu. Při užívání nikotinového orálního spreje je doporučeno nekouřit. Nikotinový sprej se obvykle používá po dobu 3 měsíců a nemá být používán déle než 6 měsíců. Během užívání není doporučováno jíst a pít (Nicorette Spray, 2023).

4.7 Nikotinový inhalátor

Nikotinový inhalátor je ve většině zemí dostupný pouze na předpis. Skládá z kazety naplněné nikotinem a náustku. Byl vyroben s cílem napodobit kouření. Uživatel vdechuje páry nikotinu do úst. Převážná většina nikotinu je absorbována ústní sliznicí. Množství dodaného nikotinu závisí na počtu inhalací a jejich intenzitě. Doporučená dávka se pohybuje okolo šesti až šestnácti vstříků ze zásobníku denně. Každá kazeta obsahuje 10 mg nikotinu, z čehož 4 mg jsou dodány do úst a pouze 2 mg nikotinu se absorbují. Obvyklé nežádoucí účinky se projeví místním podrážděním sliznice krku, kašláním nebo kýcháním (Rose, 1998).

4.8 Sublingvální nikotinové tablety

Sublingvální nikotinová tableta je dostupná v několika evropských zemích, ale není dostupná ve Spojených státech amerických. Jedna tableta obvykle obsahuje 2 mg nikotinu. Umisťuje se pod jazyk, dokud se nerozpustí. Nikotin je vstřebáván ústní sliznicí. Mezi nežádoucí účinky patří podráždění sliznice krku nebo sliznice pod jazykem. Stejně jako u nikotinových žvýkaček jsou pacienti poučeni, aby pohybovali tabletou v ústech, aby se tyto příznaky zmírily (Rose, 1998).

4.9 Nikotinové sáčky

4.9.1 Jednotlivé složky nikotinového sáčku

Nikotinové sáčky jsou výrobky, které se skládají z polopropustného sáčku a netabákového substrátu. Materiál vnějšího obalu se skládá z viskózních vláken propojených chemickou nebo tepelnou úpravou. Obsah netabákové matrice se může lišit podle značky a typu produktu, ale obecně se skládají z několika hlavních složek (M. Jackson, 2023). Obsah nikotinu v sáčcích se může lišit podle značky a varianty produktu a udává se na obalu krabičky

(takzvaného puku) v miligramech na nikotinový sáček nebo v miligramech na gram (M. Jackson, 2023). Nikotin může být přírodní z tabákových rostlin nebo může být vyroben synteticky. V nikotinových sáčkách se vyskytuje ve dvou formách. První formou je protonovaný nikotin a druhou formou je neprotonovaný nikotin. Každá z forem se absorbuje různě rychle v ústní sliznici. Neprotonovaný nikotin se absorbuje lépe a rychleji, což vede k vyšší koncentraci nikotinu v krvi a tím i ke vzniku rychlejší závislosti (Ye, 2023). Vlákna nebo celulóza slouží jako nosič pro nikotin. Mikrokrystalická celulóza nebo speciální druhy vlákniny jsou obvykle biologicky rozložitelné materiály a tvoří 80–90 % nikotinového sáčku. Mnoho nikotinových sáčků obsahuje různé příchutě nebo aroma, která mají za úkol se zkombinovat s nikotinem a poskytnout uživatelům příjemnou chuť a vůni. Aroma mohou být umělá nebo přírodní. Některé nikotinové sáčky mohou obsahovat stabilizátory, zvlhčovače, soli nebo jiná aditiva, která mají za úkol zlepšit konzistenci, chuť nebo dlouhodobou stálost produktu (M. Jackson, 2023).

4.9.2 Aplikace nikotinového sáčku

Nikotinové sáčky se aplikují vložením do úst mezi ret a dásně. Nikotin se absorbuje do krevního oběhu přes sliznici dutiny ústní, rozmezí doby absorpce nikotinu přes sliznici je 30–60 minut. Užívání nikotinových sáčků v běžném životě je velice snadné, lze je aplikovat kdykoliv ve společnosti, jedná se o velice diskrétní způsob užívání nikotinu bez vznikajícího rizika pasivního kouření pro okolí (Ye, 2023). Na obrázku č. 6 je znázorněna správná aplikace nikotinového sáčku do dutiny ústní.

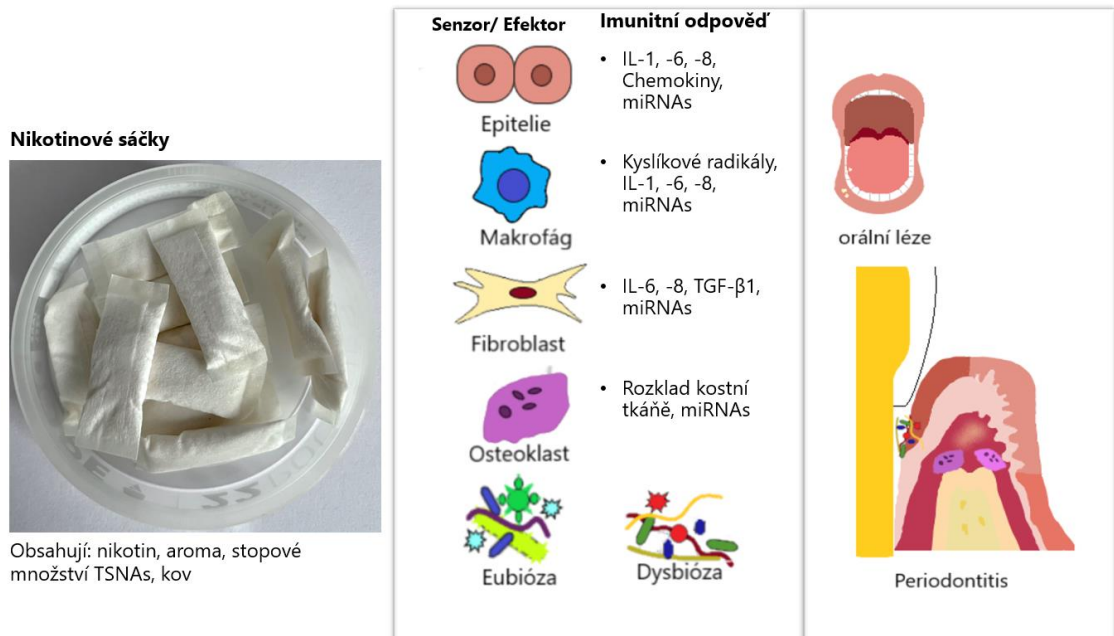


Obrázek 6: Aplikace nikotinového sáčku (M. Jackson, 2023).

4.9.3 Onemocnění parodontu

Nikotinové sáčky mohou způsobit onemocnění parodontu, toto onemocnění zahrnuje zánět dásní, parodontitidu a implantitidu. Onemocnění parodontu je jednou z hlavních příčin ztráty zubů a napomáhá k systémovým onemocněním. Vznik onemocnění parodontu je spojen s nerovnováhou mezi bakteriální virulencí a obranným mechanismem hostitele. V pouzdrech nikotinových sáčků byl zjištěný stopový obsah TSNA a toxického chromu. Tyto látky mohou ovlivnit celkové zdraví, zvláště zdraví parodontu. Nikotin interaguje s hostitelskými buňkami a má vliv na zánětlivé reakce. Může přímo či nepřímo způsobit degradaci parodontální tkáně aktivací nAChR, navýšením buněčného ROS a cytokinů/chemokinů, růstového faktoru, útlum fibroblastů, dále pak narušení rovnováhy mikrobioty, poruchy exprese miRNA a buněčnou smrt. Aromata obsažená v nikotinových sáčcích poškozují vrozené imunitní reakce parodontu a usnadňují průnik nitrosaminů, což představuje riziko pro lézi měkkých tkání v dutině ústní (Ye, 2023).

Na obrázku č. 7 jsou zobrazeny látky vyskytující se v nikotinovém sáčku, které mají hlavní vliv na onemocnění parodontu. Dále jsou zobrazeny senzory/efektory a jejich příslušná imunitní odpověď. V poslední části jsou zobrazeny možnosti onemocnění parodontu jako je orální léze či periodontitis.



Obrázek 7: Onemocnění parodontu (překresleno z článku Ye, 2023).

Po užívání nikotinových sáčků může vést k dočasnému či trvalému poškození dásní v podobě alergií či ústupu dásní (Dentální hygienistka, Krausová Michaela, Dis.).

4.9.5 Problematika nikotinových sáčků ve světě

Nikotinové sáčky jsou dostupné po celém světě, ale málo se ví, jak různé země regulují tyto produkty. Byla provedena studie, která shrnuje regulační politiku nikotinových sáčků v 67 zemích. Výzkum shrnuje informace o nikotinových sáčcích od odborníků na dané téma ve vládě nebo v organizacích občanské společnosti. Tyto země pokrývají všechny regiony WHO. Byly zjištěny významné rozdíly v tom, jak země klasifikují nikotinové sáčky, přičemž současný regulační přístup mnoha zemí nereguluje nikotinové sáčky, které používají syntetický nikotin. Bylo zjištěno, že ve 34 zemích regulují nikotinové sáčky, přičemž politika 23 těchto zemí zahrnuje syntetický nikotin. Země regulující syntetické i tabákové sáčky s nikotinem obecně spoléhají na stávající zásady pro tabákové výrobky anebo léky, případně vytvořily zásady nebo regulační klasifikace, které specifikují nikotin jako předmětnou látku (Duren, 2022).

Nikotinové sáčky vstoupili na trh ve Velké Británii v roce 2019. Ve Velké Británii byl proveden průzkum u dospělé populace v rozmezí let 2020-2021, která odhalila velké zastoupení užívání nikotinových sáčků v porovnání s kouřením či jiným užíváním nikotinu. Během téměř jednoho roku se užívání nikotinových sáčků zdvojnásobilo. Používání nikotinových sáčků bylo vícenásobně častější u mužů středního a mladšího věku než u žen středního a mladšího věku. Užívání nikotinových sáčků bylo nejčastější u kuřáků. Závěrem studie bylo zjištěno, že jeden ze 400 dospělých ve Velké Británii používá nikotinové sáčky, ale prevalence se od roku 2020 do roku 2021 zvýšila (Tattan-Birch, 2022).

4.10 Elektronické cigarety

Elektronické cigarety jsou systémy, které zahřívají tekutinu. Obvykle se jedná o látky propylenglykol nebo glycerin s nikotinem nebo bez nikotinu, nejčastěji s příchutí (ovoce). Na dnešním trhu je k dostání již přes 500 značek s více než 7500 příchutěmi. Stejně tak jako u nikotinových sáčků v současné době jsou intenzivní diskuse o jejich regulaci, která prakticky neexistuje. U některých produktů, které byli podrobeny testům, se detekovaly toxické látky, jako například formaldehyd a těžké kovy. Převážně se však jednalo o minimální množství v porovnání s klasickými cigaretami. Některé testy, které pobíhaly na základě zjištění toxických látek, byly provedeny za nestandardních podmínek, jako je vysoká teplota. To následně vedlo k vyšším výsledkům koncentrace toxických látek. Což je důležitý fakt, který je třeba zohlednit. Elektronické cigarety mohou pomoci uživatelům klasických cigaret přestat kouřit. V podstatě se jedná o alternativní formu terapie nikotinem. Avšak je třeba podstoupit další studie a opatření, aby se elektronické cigarety mohly doporučit jako léčivo. Ovšem již dnes je prokázáno, že elektronické cigarety představují téměř nulové riziko v porovnání s klasickými cigaretami. Pozitiva elektronických cigaret jsou především nepřítomnost hoření a nedopalků, riziko pasivního kouření pro okolí téměř nulové a snížení počtu požárů. Naopak negativa elektronických cigaret jsou především absence regulace, riziko užívání mladistvými, riziko zvýšení závislosti na nikotinu (duální užívání, snadné vstřebávání nikotinu), normalizaci kouření elektronických cigaret, tam kde klasické cigarety jsou již zakázány (Králíková, 2015).

5 Možnosti analytického stanovení nikotinu

V současné době používáme mnoho analytických metod pro stanovení nikotinu a jeho metabolitů. Stanovit nikotin již není velkou překážkou v tabákových i netabákových produktech či biologických tekutinách. Dle Evropského lékopisu se pro stanovení nikotinu doporučuje vysokoúčinná kapalinová chromatografie se spektrofotometrickou detekcí. US Pharmacopoeia doporučuje stanovení nikotinu plynovou chromatografií s plamenově ionizačním detektorem. Dále doporučovány i jiné metody stanovení jako je například spektrometrie, kapilární elektroforéza, kapalinová chromatografie s tandemovým detektorem hmotnostní spektrometrie a další (Dushna, 2022).

5.1 Chromatografie

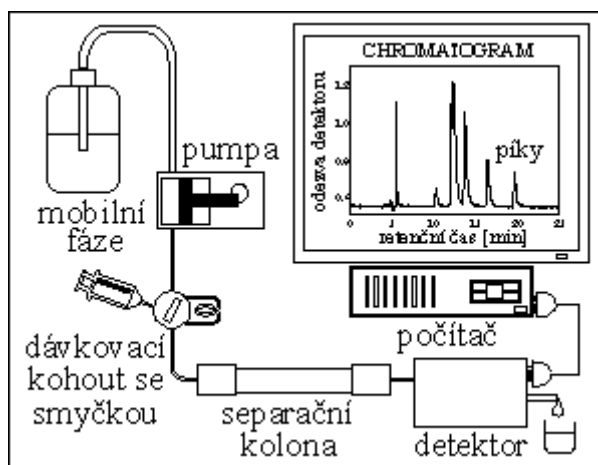
Chromatografie je jednou z nejvýznamnějších separačních technik, používá se k fyzikálně-chemické separaci a identifikaci složek směsi. Lze ji tedy využít pro kvalitativní i kvantitativní analýzu. Principem chromatografie je distribuce složek směsi mezi dvě fáze a to mobilní (pohyblivou) a stacionární (nepohyblivou). Výsledky analýzy jsou vyhodnoceny díky detektoru, který zachycuje signál a předává ho softwaru, který ho převádí do grafického zobrazení, které nazýváme chromatogram (Dastrych, 2014).

5.1.1 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie představuje nejvyužívanější chromatografickou techniku. Separace látek probíhá na základě rozdělování mezi dvěma nemísitelnými fázemi, jedná se o fázi stacionární a mobilní. Vysokoúčinnou chromatografií dělíme podle polaritativní fáze. Prvním typem je systém s normálními fázemi (polární stacionární a nepolární mobilní) a druhým typem je systém s obrácenými fázemi (polární mobilní a nepolární stacionární). Mobilní fáze pro HPLC je směs vody a organického rozpouštědla, stacionární fáze

je silikagel. Kapalinový chromatograf se skládá z několika základních součástí, zásobníku mobilní fáze, odplyňovače mobilní fáze, čerpadla, dávkovacího ventilu, termostatu, kolony, detektoru a vyhodnocovacího zařízení. Čerpadlo neboli vysokotlaká pumpa umožňuje dodávání mobilní fáze do systému chromatografu. Dávkovací ventil slouží k nástřiku vzorku do mobilní fáze. V chromatografické koloně probíhá separace vzorku pomocí silikagelu. Následně detektor detekuje složky vzorku podle jejich charakteristických vlastností. Detektory lze také rozdělit dle typu na spektrofotometrický (UV-VIS), fluorescenční (fluorimetrický), elektrochemický a hmotnostní. Záznamové zařízení zaznamenává signál z detektoru v průběhu času a vytváří grafické zobrazení. Chromatogram zobrazuje intenzitu signálu v závislosti na retenčním čase. (Dastrych, 2014).

Na obrázku č. 8 je zobrazeno schéma vysokoúčinného kapalinového chromatografu včetně popisu jednotlivých částí.



Obrázek 8: Schéma vysokoúčinného kapalinového chromatografu (Coufal, 1996).

Pro stanovení nikotinu v kapalinové chromatografii se upřednostňuje detekce pomocí UV-VIS spektrometrie. Důvodem využití detektoru spektrometrického UV-VIS jsou zejména následující výhody: specifická, citlivost, rychlost analýzy, jednoduchost a univerzálnost. Prvním krokem analýzy nikotinu pomocí HPLC-(UV-VIS) je opět příprava vzorku, stejně tak jako u plynové chromatografie pomocí extrakce, pokud je vzorek v pevné fázi. Dalším krokem je příprava mobilní fáze, obvykle se jedná o směs vody a organických rozpouštědel. Dále následuje aplikace vzorku, připravený extrakt obsahující nikotin je dávkován do systému HPLC pomocí dávkovacího ventilu. Vzorek je unášen mobilní fází přes chromatografickou kolonu, která obsahuje stacionární fázi. Nikotin a další látky obsažené ve vzorku jsou separovány na základě jejich afinit k mobilní a stacionární fázi. Jakmile nikotin opustí chromatografickou kolonu, prochází detektorem, který je schopen detekovat jeho přítomnost. V případě detektoru spektrometrického UV-VIS je měřena absorpce eluentu při specifických vlnových délkách. Nikotin absorbuje světlo ve viditelné a ultrafialové oblasti spektra, což umožňuje jeho identifikaci a kvantifikaci. Detektor předá signál softwaru, který ho převede do grafického záznamu (Gorrod, 1999).

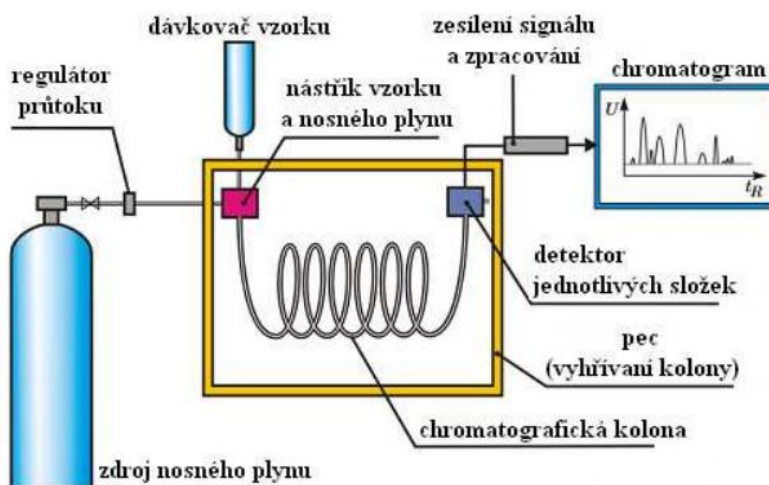
5.1.2 Plynová chromatografie

Mobilní fází v plynové chromatografii je inertní plyn (He, N₂, H₂, Ar), to znamená že nemá chemickou afinitu ke stacionární fázi nebo složkám vzorku. Stacionární fáze je buď tuhá nebo kapalná. Separace probíhá na základě rozdílných teplot varu (nepolární stacionární fáze)

a afinit k polárním stacionárním fázím. Vzorky pro plynovou chromatografii jsou těkavé plynné látky při zvýšené teplotě (400 °C), nesmí však během analýzy docházet jejich k rozkladu (Dastrych, 2014).

Vzorek se aplikuje nastříknutím pomocí dávkovače přes silikonové septum do zplynovače. Zplynovač je vyhřívaná trubička, ve kterém dojde k okamžitému zplynění vzorku. Páry vzorku jsou poté unášeny mobilní fází do chromatografické kolony. Během průchodu chromatografickou kolonou dochází k separaci látek, které jsou obsaženy v analyzovaném vzorku. Typy kolon pro plynovou chromatografii lze rozdělit na náplňové a otevřené kapilární kolony. Náplňové kolony jsou plněné chromatografickou náplní, jedná se především o sklo nebo hliník. Otevřené kapilární kolony se skládají ze skla, taveného křemene s polyimidem. Posledním krokem analýzy je průchod jednotlivých složek vzorku detektorem. Detektory pro plynovou chromatografii lze také dělit podle typu, a to na tepelně-vodivostní, plamenově ionizační, elektronový a hmotnostní. Detektor zachycuje signál a předává ho softwaru, který ho převádí do grafického zobrazení (Dastrych, 2014).

Na obrázku č. 9 je zobrazeno schéma plynového chromatografu včetně popisu jednotlivých částí.



Obrázek 9: Schéma plynového chromatografu (Wikipedie, 2024).

Pro stanovení nikotinu se upřednostňuje plynová chromatografie s hmotnostní detekcí. Důvodem pro upřednostnění hmotnostního detektoru je mnoho, například se jedná o faktory jako je vysoká selektivita a specifita, nízká úroveň pozadí, vysoká citlivost, možnost kvantitativní analýzy, stabilita výsledků a reprodukovatelnost. Prvním krokem je příprava vzorku s obsahem nikotinu. V případě, že vzorek je v pevné fázi, je nutná extrakce do kapalné fáze. Extrakce může být provedena vhodným rozpouštědlem jako je například metanol. Vzorek obsahující směs látek včetně nikotinu je aplikován vstříknutím do kolony, kde jsou složky vzorku separovány na základě rozdílů teplot varu (nepolární stacionární fáze) a afinit k polární stacionární fázi. Po separaci je nikotin detekován pomocí hmotnostní spektrometrie. To zahrnuje ionizaci molekul nikotinu za použití elektronového paprsku nebo jiného zdroje ionizace a následnou analýzu hmotnostního spektra fragmentovaných iontů nikotinu. Každá látka má své charakteristické hmotnostní spektrum, což umožňuje identifikaci jednotlivých složek směsi. Signály z hmotnostního spektrometru jsou analyzovány pomocí specializovaného

softwaru. Identifikace a kvantifikace nikotinu se provádí porovnáním hmotnostního spektra vzorku s referenčními spektry nikotinu (Gorrod, 1999).

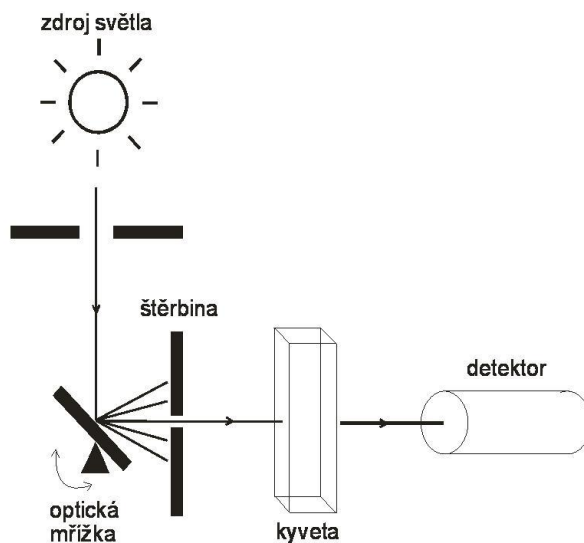
5.2 Spektrometrie

Spektrometrická technika se zabývá měřením světla nebo elektromagnetického záření v různých částech spektra. Tato technika se používá k analýze spektrálních charakteristik látek a může poskytnout informace o různých vlastnostech jako jsou absorpční, emisní, fluorescenční, Ramanovy a další spektrální vlastnosti. Základní princip spektrometrie spočívá v rozdělení elektromagnetického záření na jeho složky na základě různých vlastností jako je energie, frekvence nebo vlnová délka. Tyto spektrální charakteristiky mohou být dále analyzovány a interpretovány pro další identifikaci a kvantifikaci látek v analyzovaném vzorku. Spektrometrické metody lze dělit do několika skupin, např. UV-VIS, IR, NMR, MS a fluorescenční. UV-VIS spektrometrie měří absorpci elektromagnetického záření v ultrafialové a viditelné oblasti spektra. Infračervená spektrometrie analyzuje absorpci infračerveného záření, což umožňuje identifikaci funkčních skupin v molekulách. Jaderná magnetická rezonance studuje chování atomových jader v magnetickém poli, poskytuje informace o struktuře a interakci molekul. Hmotnostní spektrometrie měří hmotnost iontů za účelem identifikace molekul a jejich fragmentací. Fluorescenční spektrometrie studuje fluorescenci, což je emise světla, která vzniká po excitaci molekul.

5.2.1 UV-VIS spektrometrie

UV-VIS spektrometrie vychází z měření, kdy při interakci látky se zářením dochází k energetickým změnám na úrovni elektronů, jejíž důsledkem je specifická absorpce záření určité vlnové délky. Průchod elektromagnetického záření absorbujícím homogenním prostředím popisuje Lambertův–Beerův zákon. UV-VIS spektrometrie měří absorpci elektromagnetického záření v ultrafialové (10-380 nm, bezbarvé) a viditelné (380-780 nm, barevné) oblasti spektra. UV-VIS spektrofotometr je složen z následujících základních částí, z nichž každá má svou specifickou funkci v procesu měření absorpce světla vzorkem. Zdroj světla je obvykle tvořený deuteriovou lampou pro UV oblast a wolframovou lampou pro VIS oblast a generuje světelný paprsek. Monochromátor je optický prvek, který selektivně filtruje světlo a umožňuje přesné nastavení vlnové délky světla, které dále prochází vzorkem. To je důležité pro měření absorbance při konkrétní vlnové délce. Vzorková komora je prostor, ve kterém je umístěna kyveta se vzorkem, který je analyzován. Detektor měří intenzitu světla procházejícího vzorkem a poskytuje signál, který je nadále přenášen do softwaru. Software zpracovává signál z detektoru a převádí jej do grafické podoby v podobě spektrálních křivek.

Na níže vloženém obrázku č. 10 je zobrazeno schéma spektrofotometru včetně popisu jednotlivých částí.



Obrázek 10: Schéma spektrofotometru (Vejražka, 2007).

Pro stanovení nikotinu se obvykle používá UV-VIS spektrometrie, protože je relativně rychlá, jednoduchá a citlivá. Nikotin má charakteristické absorpční spektrum v této oblasti (Gorrod, 1999). Principem stanovení nikotinu pomocí spektrometrie je založeno na bromoční reakci nikotinu na dibromnikotin. Nadbytek bromu reaguje s jodidem draselným, následně se uvolní ekvivalentní množství jódu a stanoví se absorpcí světla modrého komplexu se škrobem (Dushna, 2022). Koncentrace nikotinu ve vzorku může být určena měřením absorpce při specifické vlnové délce, která odpovídá největší absorbanci nikotinu. Při analýze nikotinu UV-VIS spektrometrií se obvykle používají standardní roztoky nikotinu o různých koncentracích k vytvoření kalibrační křivky. Tato křivka spojuje koncentrace nikotinu s odpovídajícími hodnotami absorpce. Poté se absorpce vzorku měří a porovnává se s kalibrační křivkou k určení koncentrace nikotinu ve vzorku (Gorrod, 1999).

5.3 Elektroanalytické techniky

Elektroanalytické techniky jsou zaměřené na analýzu látek pomocí sledování elektrochemických procesů. Tyto techniky umožňují identifikaci, kvantifikaci a studium různých chemických látek a jejich vlastností. Lze je dělit do několika kategorií dle principů a způsobu použití na potenciometrii, polarografii, voltametrii, coulometrii, amperometrii a další (Braun, 2023).

5.3.1 Voltmetrie

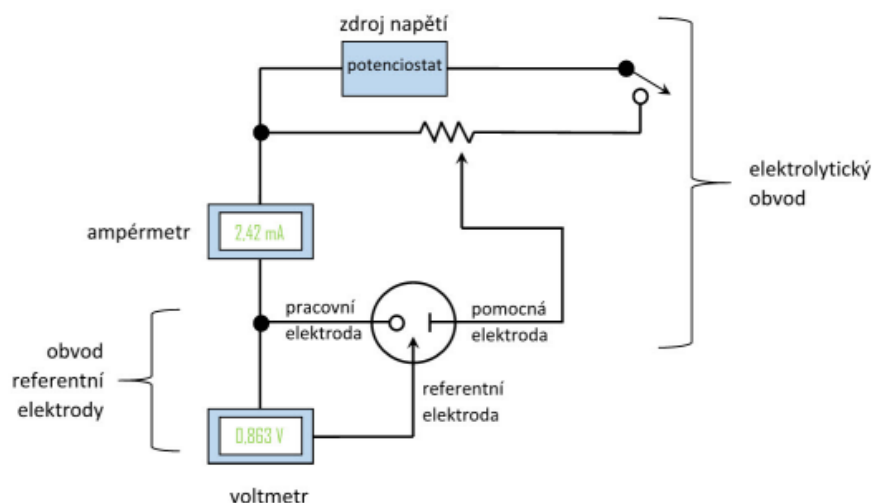
Voltametrii lze použít jak pro kvalitativní, tak pro kvantitativní analýzu široké škály molekulárních a iontových materiálů. Podstatou měření je elektrolyza na pracovní elektrodě, která má konstantní povrch, který se nemění s časem a je polarizovatelná. Při této metodě je sada dvou nebo tří elektrod ponořena do roztoku analytu a na indikační elektrodu je aplikován pravidelně se měnící potenciál vzhledem k referentní elektrodě. Analyt elektrochemicky reaguje na indikační elektrodě. Referentní elektroda je konstruována tak, že její potenciál je konstantní bez ohledu na roztok, do kterého je ponořena. Obvykle je do roztoku umístěna třetí pomocná elektroda za účelem přenášení většiny proudu. Potenciál je řízen mezi indikační a

referenční elektrodou, ale proud teče mezi pomocnou a indikační elektrodou. Charakteristickým znakem voltametrie je průběh vnucovaného napětí tzv. potenciálová rampa, která zobrazuje lineární nárůst a pokles s časem. Výsledkem je závislost proudu na potenciálu nebo derivace závislosti proudu na potenciálu, takzvaná voltametrická křivka neboli voltamogram (Braun, 2023).

Voltametrii lze rozdělit do několika následujících metod. Lineární voltametrie je často používanou metodou v oblasti elektrochemie. Tato technika zahrnuje postupné zvyšování nebo snižování potenciálu elektrody v lineárním trendu. Tento pohyb potenciálů způsobí oxidaci nebo redukci analytu, což vede k vytvoření asymetrického píku na výsledném grafu. Pro kvantifikaci analytu se obvykle hodnotí intenzita proudu, která je přímo spojena s velikostí píku. Diferenční pulsní voltametrie je další častou používanou technikou v elektrochemii. Tato metoda zahrnuje aplikaci opakujících se impulzů napětí na elektrodu s lineárně rostoucí nebo klesající rampou. Přítomnost analytu je detekována na základě změn v proudové odezvě, což může vést k vytvoření charakteristického asymetrického píku na grafu. Square wave voltametrie, také nazývána jako voltametrie čtvercových vln, umožňuje rychlé a citlivé měření elektrochemických reakcí a poskytuje informace o dynamice reakce analytu (Bard, 2001).

Voltametrie má hned několik výhod, zejména vysokou selektivitu a citlivost, dále pak nenáročné přístrojové vybavení, lze ji snadno automatizovat a splňuje požadavky zelené chemie, protože analýza nevyžaduje větší množství organických látek. V posledních deseti letech byly navrženy různé přístupy pro voltametrické stanovení nikotinu. Pro stanovení se používají různé druhy elektrod od klasických po komplexně modifikované elektrody (Dushna, 2022).

Na obrázku č. 11 je zobrazeno schéma tříelektrodového zapojení pro voltametrické měření s popisem jednotlivých částí.



Obrázek 11: Schéma tříelektrodového zapojení pro voltametrické měření (Kabátová, 2020).

5.3.2 Polarografie

Polarografii lze uplatnit v mnoha oborech například v anorganické a organické chemii, potravinářství i farmacii. Polarografie je voltametrická metoda, jehož podstatou je vnější elektrolýza na pracovní elektrodě. Jako pracovní elektroda je používána rtuťová elektroda s obnovovaným povrchem. Elektrický potenciál se pravidelně mění mezi indikační a referenční elektrodou, zatímco je sledován proud. Záznamem závislosti proudu na potenciálu se nazývá polarogram. Tvar polarogramu závisí na zvolené metodě analýzy, typu indikační elektrody a použitém potenciálu (Braun, 2023).

Diferenční pulzní polarografická metoda pro stanovení nikotinu je relativně rychlá, spolehlivá a jednoduchá. Používá se jako doplňková metoda ke chromatografické analýze. Z pevné formy vzorku je třeba nikotin vyextrahovat základním elektrolytem před polarografickou analýzou (Hannisdal, 2007).

5.3.3 Amperometrie

Amperometrie je elektroanalytická technika, při níž se na elektrodu vkládá konstantní napětí a měří se proud. Podmínkou amperometrie je, aby zvolené napětí umožnilo kvantitativní redoxní proces. Jako pracovní elektrody mohou být použity pevné elektrody jako např. platina nebo uhlík. Během amperometrických měření je potenciál indikační elektrody nastaven na hodnotu plató voltametrické vlny, podobně jako při elektrogravimetrii a coulometrii s řízeným potenciálem. Proud, který protéká mezi indikační elektrodou a referenční elektrodou v roztoku, je měřen a vztažen ke koncentraci analytu. Amperometrie se běžně používá dvěma způsoby, z nichž oba využívají lineární změny proudu při konstantním potenciálu s koncentrací elektroaktivních látek. Připraví se pracovní křivka proudu jako funkce koncentrace řady standardních roztoků a z křivky se určí koncentrace analytu nebo se použije amperometrie k nalezení koncového bodu v amperometrické titraci. Amperometrická křivka je graf proudu jako funkce objemu titračního činidla. Tvar křivky se mění v závislosti na tom, který chemický druh (titr, analyt neb produkt reakce) je elektroaktivní. V každém případě se křivka skládá z lineárních oblastí před a za koncovým bodem, které jsou extrapolovány na průsečík v koncovém bodě. Typickými amperometrickými záznamy je závislost proudu na čase nazývané amperogramy (Braun, 2023).

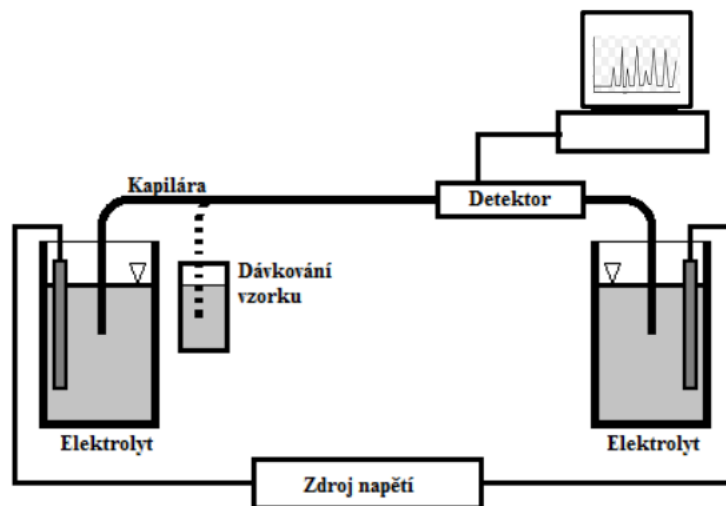
Amperometrická analýza je vhodná pro kvantifikaci cílené sloučeniny nikotinu v širokém lineárním rozsahu. Tato technika nabízí vynikající reprodukovatelnost, nízký limit detekce a vysokou citlivost. Stanovení nikotinu lze provést z biologického materiálu, jako jsou například sliny. Před analýzou je nutné vzorek zředit vodou; z této zředěné směsi se poté odebere požadované množství a aplikuje do fosfátového pufru. Jako pracovní elektroda může sloužit AuNPs/Fe(III)PC/Gr/GCE. Postupným přidáváním vzorku vzniká lineární vzrůstající proudová odezva, která je způsobena oxidací nikotinu (Kamalasekaran, 2023).

5.3.4 Kapilární elektroforéza

Kapilární elektroforéza je analytická technika používaná k separaci analýze látek v kapilárním kanálku za použití elektrického pole. Principem této metody je pohyb nabitých částic v kapilárním kanálku pod vlivem elektrického pole, které je aplikováno na oba konce kapiláry. Kapilára je plněna elektrolytem a připojena k elektrickému zdroji. Po připojení k napětí dochází k vytvoření elektrického pole uvnitř kanálku. Pokud jsou analyty nabitými molekulami například ionty, začnou migrovat v kapiláře směrem ke katodě nebo anodě podle

svého náboje. Rychlost migrace analytů závisí na jejich velikosti a náboji. Menší a silněji nabité analyty se pohybují rychleji, zatímco větší nebo méně nabitě analyty se pohybují pomaleji. Tím dochází k jejich separaci v kapiláře. Separované analyty jsou detekovány na základě jejich časového pohybu a signál je zaznamenáván (Klouda, 2003).

Na obrázku č. 12 je zobrazeno schéma kapilární elektroforézy včetně popisu jednotlivých částí.



Obrázek 12: Schéma kapilární elektroforézy (Heinz, 2015).

Kapilární elektroforéza je atraktivní metodou pro stanovení nikotinu díky své separační účinnosti, rychlosti a malé spotřebě vzorku pro analýzu. Pro stanovení nikotinu pomocí kapilární elektroforézy je třeba připravit kapiláru a elektrolyt vhodný pro analýzu. Poté se provede nabití kapiláry aplikací vysokého napětí, aby bylo vytvořeno elektrické pole. Vzorek obsahující nikotin se aplikuje na jednom konci kapiláry a pomocí elektrického pole je nucen pohybovat se kapilárou. Nikotin má specifickou migraci podle svého náboje a velikosti. Po separaci je nikotin detekován pomocí vhodného detektoru, například UV-VIS detektoru. Koncentrace nikotinu ve vzorku se stanoví na základě velikosti a časového pohybu separovaných píků nikotinu ve srovnání s kalibrační křivkou, která byla vytvořena pomocí standardních roztoků o známé koncentraci (Matysik, 1999).

5.3.5 Elektrochemiluminiscence

Elektrochemiluminiscence je spojení elektrochemie a chemiluminiscence. Elektrogenerované chemiluminiscenční signály se většinou získávají z excitovaných stavů luminoforu generovaného na povrchu elektrody během elektrochemické reakce. Systémy pro elektrochemiluminiscenci se skládají z bipotenciostatu/galvanostatu jehož schopností je produkovat reakce v luminoforu vkládáním napětí nebo proudu. Principem luminiscenční analýzy je měření intenzity světla dopadajícího na senzor. Rychlost této reakce je většinou dána koncentrací limitující složky. Kinetika luminiscenční reakce se dá popsat dvěma kroky: prvním krokem je excitace molekuly a v druhém kroku je vyzáření světelného kvanta. Stav luminoforu je zaznamenán detektorem. Detektorem je buď fotodioda nebo mikrospektrometr. Elektrochemické a chemiluminiscenční signály jsou propojeny a zobrazeny v reálném čase (Elektrochemiluminiscence, 2022).

Pro stanovení nikotinu byla vyvinuta elektrochemiluminiscenční metoda se senzorem na bázi křemíkového nanokanálu s papírovým krytem. Princip snímání jednorázového senzoru je postaven na efektu vylučování velikosti a nábojové selektivitě. Bylo zjištěno, že senzor vykazuje specifitu vůči nikotinu a většina komplexních matric neovlivňuje detekci. Senzor byl testován pro stanovení nikotinu v cigaretách, elektronických cigaretách, nikotinových žvýkačkách a nikotinových pastilkách. Ověření funkčnosti senzoru pro stanovení nikotinu ve výše zmíněných produktech bylo potvrzeno díky uspokojivé linearitě, citlivosti a přesnosti (Xiao, 2020).

5.4 Imunochemické metody

Imunochemické metody jsou analytické techniky, které využívají principů imunologie a chemie k detekci a kvantifikaci specifických látek v komplexních směsích. Tyto metody jsou velmi citlivé, specifické a často se používají v biologických vědách, lékařství, farmacii a dalších oblastech. Imunochemické metody lze rozdělit podle metodiky stanovení, např. ELISA, RIA, FIA (Gorrod, 1999).

Pro stanovení nikotinu může být využita imunochemická metoda známá jako ELISA. Princip metody ELISA je založen na specifickém vázání antigenu a protilátky a následné detekci této interakce za použití enzymatického označení. Reagencie potřebné pro test se skládají ze specifických protilátek proti nikotinu a enzymu spojeného s protilátkami, nejčastěji je používána alkalická fosfatáza nebo peroxidáza. Protilátky jsou navázány na povrch mikrotitračních destiček. Vzorek obsahující nikotin je inkubován v mikrotitrační destičce. Po dobu, kdy probíhá inkubace dochází k interakci nikotinu se specifickými protilátkami na povrchu destiček. Po skončení inkubace je nutné destičky důkladně opláchnout, aby byly odstraněny veškeré nepřipoutané látky, které by mohly ovlivnit výsledek testu. Do destiček se aplikuje substrát spojený s enzymem, který reaguje s enzymem vázaným na protilátky v přítomnosti nikotinu. Tato reakce produkuje měřitelný signál jako je změna barvy nebo fluorescenční záření. Po inkubaci s enzymatickým substrátem je měřen vzniklý signál pomocí spektrofotometru. Intenzita signálu je přímo úměrná koncentraci nikotinu ve vzorku. Koncentrace nikotinu ve vzorku je stanovena porovnáním naměřeného signálu s hodnotami na kalibrační křivce, která byla vytvořena pomocí standardních roztoků známých koncentrací nikotinu. Biologické vzorky, ve kterých můžeme stanovit nikotin nebo jeho metabolity je krevní sérum, moč nebo sliny (Gorrod, 1999).

6 Rozdělení elektrochemických stanovení nikotinu podle použitého materiálu pracovní elektrody a senzoru

Elektrochemické senzory jsou možná nejrozšířenějším typem senzorů. Schopnost elektrochemického senzoru poskytovat přesné informace v reálném čase je jedna z největších výhod. V bezchybném světě by taková technologie mohla fungovat neustále a v obou směrech, aniž by to ovlivnilo analyzovanou látku. Elektrochemické senzory mají transdukční složku pokrytou chemickým nebo biologickým rozpoznávacím filmem. V elektrochemickém senzoru se elektrický výstup generuje interakcemi požadovaného analytu a detekčního filmu k odvození analytických dat. Na základě analytu a kritérií citlivosti nebo specifčnosti lze pro hodnocení použít širokou řadu elektrochemických zařízení. Elektrochemické senzory lze rozdělit na impedimetrické, amperometrické, potenciometrické, elektrogenerované a fotoelektrochemické chemiluminiscenční (Thakur, 2023).

Uhlíková elektroda je běžným používaným senzorem pro elektrochemická měření, který je často vytvořen z uhlíkové pasty nebo jiných uhlíkových materiálů. Uhlíkové elektrody mají vynikající vodivost a chemickou stabilitu, což umožňuje citlivé a spolehlivé měření. Při stanovení nikotinu může být tato elektroda vystavena modifikaci povrchu nebo specifickým reaktivním látkám ke zlepšení selektivity a citlivosti. Senzory s kovovými elektrodami, jako je zlato, platina, železo, stříbro, titan, nebo polokovové, jako je křemík, mohou poskytnout výhody v oblastech chemické stability a selektivity, ale mohou být nákladnější. Elektrody z oxidů kovů mají vysokou vodivost a chemickou stabilitu a mohou být citlivé na adsorpci nikotinu.

Modifikované elektrody mohou být vyrobeny z různých materiálů. Modifikace nanočásticemi, např. zlata nebo oxidů kovů, jsou umístěny na povrchu elektrody v tenkém filmu. Tyto nanočástice mohou sloužit jako aktivní povrch pro specifické chemické reakce s analytem, což způsobuje změny v impedanci elektrody. Při modifikaci polymery mohou být nanášeny ve formě vrstvy na povrch elektrody a sloužit jako membrána pro selektivní separaci nebo jako matrice pro imobilizaci biologicky aktivních látek, jako jsou enzymy nebo antigenní receptory. Tyto polymerní vrstvy mohou interagovat s analytem a měnit elektrickou vodivost elektrody. Uhlíkové nanomateriály, jako je grafen, uhlíkové nanotrubičky nebo uhlíkové nanočástice, mohou být použity k modifikaci elektrody. Tyto materiály mají vysokou povrchovou plochu a vynikající elektrické vlastnosti, což umožňuje citlivé detekce analytů na jejich povrchu (Thakur, 2023), (Štulík, 2007).

Podrobný popis elektroanalytických technik pro stanovení nikotinu je uveden níže v tabulce č. 5. Tabulka je rozdělena ve sloupcích na jednotlivé části podle techniky, E_p nikotinu, materiálu elektrody, lineárního rozsahu koncentrace, LOD a charakteru vzorku.

Tabulka 5: Přehled elektroanalytických metod pro stanovení nikotinu.

Technika	Ep [V]	Elektroda	Lineární rozsah koncentrací [μM]	LOD [μM]	Testovaný vzorek
AMP	0,9	AgNP – GCE	2,5–105	0,14	Sliny
AMP	1	AuNPs/Fe(III)Pc/Gr - GCE	0,5–27	0,02	Sliny
CV	0,75	CNC–SPE	10–100	2.0	Sliny
CV	0,85	NGS–SPCE	0–200	0.47	Tabákový produkt, moč
CV	0,86	Fe-MgNi ₂ O ₃ –GCE	50–6000	0.098	Tabákový produkt, moč
CV	0,91	SNM–CPE	0.8–800	0.0036	Tabákový produkt, moč
CV/AMP	1	MXene/PHC – GCE	0,25–37,5	0,03	Pot
CV/DPV	0,87	TiO ₂ – CPE	2–540	0,01	Cigarety/moč
DPV	–1,3	DME	0.62–123	01.IX	Léčiva
DPV	–1,4	MWNTs–GCE	31–1900	09.III	Cigarety
DPV	1,45	BDDE	0.5–202,5	0.3	Cigarety, léčiva
DPV	–1,4	RGO/DPA–PGE	31–1900	07.VI	Tabákový produkt
DPV	1,19	CuWO ₄ /rGO–GCE	0.1–0.9	0.035	Tabákový produkt, moč
DPV	1,00	BDDE	0.18–2.47	0.04	Kapaliny pro elektronické cigarety
DPV	–0,86	bAuNPs/SPE	10–2000	II.33	Kapaliny pro elektronické cigarety, cigarety
DPV	01.IV	MWCNT – GCE	31–1900	09.III	Cigarety
SWV	0,88	P-AHNSA–GCE	1–200	0,87	Cigarety
SWV	0,90	CPE	50–1000	03.II	Kapaliny pro elektronické cigarety
SWV	0,99	P-AHNSA–GCE	1–200	0.866	Cigarety
SWV	0,84	GCE	1–200	0.7	Cigarety, tabák
SWV	0,91	PGE	7.6–107	2.0	Cigarety
LSV	-0,78	SDME	0.16–40	0.13	Léčiva, biologické tekutiny, tabák, cigarety

(Dushna, 2022; Kamalasekaran, 2023)

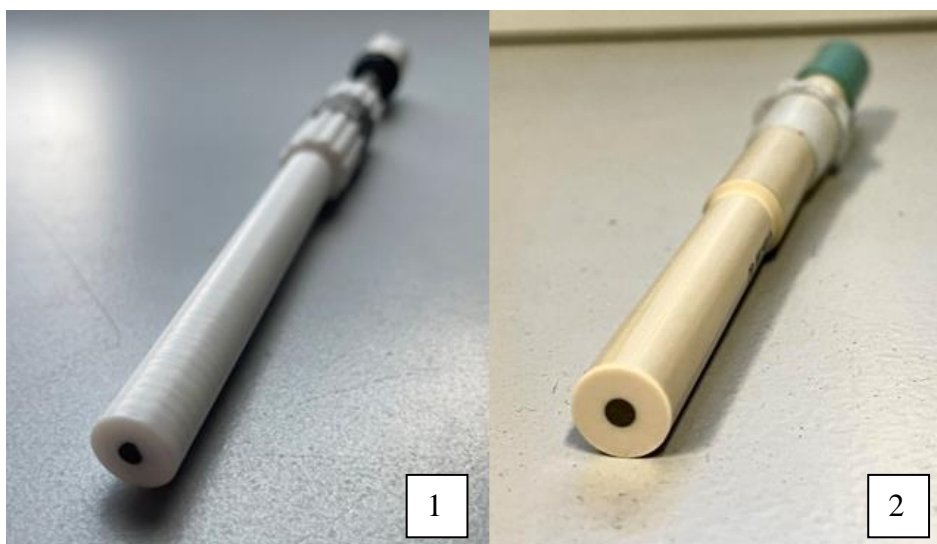
7 Praktická část

7.1 Přehled použitých chemikálií a přístrojů

Tabulka 5: Přehled použitých chemikálií a přístrojů

Chemikálie	
CR5 (krystalický grafit 5 μm) (Maziva Týn)	Kyselina octová ledová (p.a.) (Penta)
Hydroxid sodný (p.a.) (J.T.Baker)	Methanol (p.a.) (J.T.Baker)
Kyselina boritá (p.a.) (Lachema)	Nikotin (p.a) (Sigma-Aldrich)
Kyselina fosforečná (p.a.) (Penta)	Parafinový olej (p.a.) (Merck).
Přístroje	
Elektrody	pH elektroda SenTix81 pH 0-14/ 0–100 °C/ 3 mol/l KCl (WTW) Pomocná: platinová (ED, s.r.o., typ Pt 12+) Pracovní: uhlíková pastová elektroda a elektroda ze skelného uhlíku (Metrohm) Referentní: chloridostříbrná se solným můstkem (Metrohm)
Potenciostat/ galvanostat Autolab/PGSTAT101 (Metrohm)	

Na obrázku č. 13 je zobrazena uhlíková pastová elektroda (1) a elektroda ze skelného uhlíku (2).



Obrázek 13: Uhlíková pastová elektroda a elektroda ze skelného uhlíku.

7.2 Elektrochemické stanovení nikotinu v nikotinových sáčcích pomocí uhlíkových elektrod

Pro analytické stanovení byly použity tyto elektrody: pomocná – platinová, referentní – chloridostříbrná se solným můstkem, a pracovní – uhlíková pastová elektroda a elektroda ze skelného uhlíku. Dále pro analýzu byl použit elektrochemický přístroj (potenciostat/galvanostat) v kombinaci s výkonným softwarem NOVA. V softwaru NOVA byl před zahájením měření zvolen program Nikotin – CV pro aktivaci povrchu elektrod.

Tabulka 6: Přehled programu NOVA – Nikotin – CV

Počáteční potenciál	0.300
Optimalizovaný proudový rozsah	5
Počáteční potenciál	0.300
Horní vertexový potenciál [V]	1.300
Dolní vertexový potenciál [V]	0.295
Koncový potenciál [V]	0.300
Počet zastavených přechodů	20
Potenciál kroku [V]	0,005
Rychlost skenování [V/s]	0,100
Interval času [s]	0,050

Druhým krokem bylo přepnutí do programu Nikotin – SWV pro měření potenciálu nikotinu. Software NOVA následně zobrazil výsledný graf píku nikotinu.

Tabulka 7: Přehled programu NOVA – Nikotin – SWV

Kondicionační potenciál	-0.200
Kondicionační čas	30
Doba klidu	10
Optimalizovaný proudový rozsah	5
Počáteční potenciál [V]	0.300
Koncový potenciál [V]	1.250
Stupňový potenciál [V]	0.010
Amplituda [V]	0.020
Frekvence [Hz]	25

Jako standard byl použit čistý nikotin o koncentraci 63,859 mM ve všech kalibračních roztocích. Detekce a kvantifikace byla provedena pomocí elektrod. Bylo provedeno stanovení nikotinu od dvou různých výrobců: Dope a Snatch ve třech náhodně vybraných sáčcích, které byly před extrahováním zváženy. Obsah nikotinu ze sáčků byl vyhodnocen na základě kalibrační závislosti poměrů výšek a ploch píku nikotinu ze sáčku a standardu čistého nikotinu na koncentraci (pětibodová lineární kalibrace 25-125 mg/l).

Postup přípravy Brittonova–Robinsonova pufru (pH 11,20)

Bylo naváženo 2,744 g kyseliny borité a vloženo do 1 l odměrné baňky. Následně bylo napipetováno 2,52 ml kyseliny octové ledové a 2,71 ml kyseliny fosforečné. Hydroxid sodný byl přidáván dle potřeby do pH \approx 11,20. Objem byl doplněn po rysku destilovanou vodou. Pro měření pH byla použita pH elektroda.

Postup přípravy uhlíkové pastové elektrody

Bylo naváženo 0,5 g uhlíkového prášku CR5 a vloženo do třecí misky. K uhlíkovému prášku bylo přidáno 200 μ l parafinového oleje. Směs byla třena 30 minut. Elektroda byla naplněna směsí.

Postup extrakce nikotinu ze sáčku

Sáček byl nejprve zvážen a vložen do 50 ml kádinky. Ke vzorku bylo přidáno 20 ml vodného roztoku methanolu (1:1) a míchátko. Kádinka byla umístěna na magnetické míchadlo a vzorek byl takto extrahován 30 min. Následně tato směs byla zfiltrována přes filtrační papír a potřebný objem extraktu byl použit k analýze.

7.2.1 Elektrochemické stanovení pomocí uhlíkové pastové elektrody

Tabulka 8: Dope Freeze Crazy Strong – na uhlíkové pastové elektrodě.

Dope Freeze Crazy Strong VZ220525, 30 mg/g, 21 mg na sáček						
sáček	hmotnost (g)	číslo měření	nikotin v sáčku (mg/sáček)		nikotin v sáčku (mg/g)	
			výška píku	plocha píku	výška píku	plocha píku
1	0,5710	1	18,44 ± 0,27	17,39 ± 0,05	32,30 ± 0,47	30,46 ± 0,09
		2	18,26 ± 0,11	17,16 ± 0,05	31,99 ± 0,19	30,05 ± 0,09
		3	19,06 ± 0,06	17,68 ± 0,03	33,39 ± 0,10	30,96 ± 0,06
průměr			18,59	17,41	32,56	30,49
SD			0,34	0,21	0,60	0,37
RSD			1,84 %	1,22 %	1,84 %	1,22 %
2	0,5416	1	14,75 ± 0,11	13,86 ± 0,06	27,24 ± 0,20	25,59 ± 0,11
		2	14,62 ± 0,14	13,57 ± 0,09	26,99 ± 0,25	25,05 ± 0,16
		3	14,83 ± 0,17	13,74 ± 0,09	27,39 ± 0,31	25,36 ± 0,17
průměr			14,74	13,72	27,21	25,33
SD			0,09	0,12	0,17	0,22
RSD			0,61 %	0,88 %	0,61 %	0,88 %
3	0,5710	1	18,71 ± 0,13	17,31 ± 0,04	32,76 ± 0,23	30,32 ± 0,07
		2	19,71 ± 0,16	17,89 ± 0,09	34,52 ± 0,27	31,34 ± 0,16
		3	18,41 ± 0,12	16,70 ± 0,08	32,25 ± 0,21	29,25 ± 0,14
průměr			18,94	17,30	33,18	30,30
SD			0,55	0,49	0,97	0,85
RSD			2,93 %	2,82 %	2,93 %	2,82 %
celkový průměr	0,5612		17,42	16,14	30,98	28,71
celková SD	0,01		1,91	1,71	2,68	2,39
celková RSD	2,47		10,94 %	10,62 %	8,65 %	8,32 %



Obrázek 14: Dope Freeze Crazy Strong.

Tabulka 9: Dope Freeze #50 – na uhlíkové pastové elektrodě.

Dope Freeze #50 (VZ220510); 35 mg nikotinu/sáček, 50 mg nikotinu/g						
sáček	hmotnost (g)	číslo měření	nikotin v sáčku (mg/sáček)		nikotin v sáčku (mg/g)	
			výška píku	plocha píku	výška píku	plocha píku
1	0,6098	1	35,77 ± 0,83	34,23 ± 0,52	58,66 ± 0,50	56,14 ± 0,32
		2	38,17 ± 0,33	36,50 ± 0,53	62,60 ± 0,20	59,86 ± 0,32
		3	36,22 ± 0,27	34,42 ± 0,19	59,39 ± 0,16	56,44 ± 0,12
průměr			36,72	35,05	60,22	57,48
SD			1,04	1,03	1,71	1,69
RSD			2,84 %	2,93 %	2,84 %	2,93 %
2	0,5584	1	24,40 ± 0,13	23,72 ± 0,06	43,69 ± 0,07	42,48 ± 0,04
		2	24,48 ± 0,28	23,64 ± 0,24	43,84 ± 0,16	42,34 ± 0,13
		3	24,54 ± 0,15	23,71 ± 0,13	43,95 ± 0,08	42,46 ± 0,07
průměr			24,47	23,69	43,83	42,43
SD			0,06	0,03	0,11	0,06
RSD			0,24 %	0,14 %	0,24 %	0,14 %
3	0,5705	1	27,40 ± 0,28	26,45 ± 0,21	48,02 ± 0,16	46,37 ± 0,12
		2	28,75 ± 0,23	27,72 ± 0,19	50,40 ± 0,13	48,59 ± 0,11
		3	28,61 ± 0,36	27,44 ± 0,24	50,15 ± 0,21	48,09 ± 0,14
průměr			28,25	27,20	49,52	47,68
SD			0,61	0,54	1,07	0,95
RSD			2,16 %	2,00 %	2,16 %	2,00 %
celkový průměr	0,5796		29,82	28,65	51,19	49,20
celková SD	0,02		5,12	4,75	6,79	6,24
celková RSD	3,79		17,17 %	16,58 %	13,27 %	12,68 %



Obrázek 15: Dope Freeze #50

Tabulka 10: Snatch citrus Strong Edition – na uhlíkové pastové elektrodě.

Snatch citrus Strong Edition (VZ220383); 11,2 mg nikotinu/sáček, 16 mg nikotinu/g						
sáček	hmotnost (g)	číslo měření	nikotin v sáčku (mg/sáček)		nikotin v sáčku (mg/g)	
			výška píku	plocha píku	výška píku	plocha píku
1	0,536	1	6,35 ± 0,25	5,80 ± 0,18	11,84 ± 0,47	10,81 ± 0,34
		2	7,39 ± 0,13	6,47 ± 0,07	13,78 ± 0,24	12,06 ± 0,14
		3	7,89 ± 0,11	6,73 ± 0,07	14,72 ± 0,21	12,56 ± 0,12
průměr			7,21	6,33	13,45	11,81
SD			0,64	0,39	1,20	0,74
RSD			8,91 %	6,23 %	8,91 %	6,23 %
2	0,5244	1	5,99 ± 0,05	5,54 ± 0,03	11,42 ± 0,10	10,57 ± 0,05
		2	5,96 ± 0,05	5,46 ± 0,03	11,37 ± 0,10	10,41 ± 0,05
		3	6,35 ± 0,04	5,70 ± 0,01	12,11 ± 0,08	10,88 ± 0,03
průměr			6,10	5,57	11,63	10,62
SD			0,18	0,10	0,34	0,20
RSD			2,90 %	1,85 %	2,90 %	1,85 %
3	0,5282	1	6,60 ± 0,04	6,07 ± 0,02	12,50 ± 0,08	11,49 ± 0,04
		2	6,51 ± 0,07	6,08 ± 0,01	12,33 ± 0,13	11,51 ± 0,01
		3	6,58 ± 0,05	6,07 ± 0,02	12,45 ± 0,09	11,49 ± 0,04
průměr			6,56	6,07	12,43	11,50
SD			0,04	0,01	0,07	0,01
RSD			0,60 %	0,09 %	0,60 %	0,09 %
celkový průměr	0,5295		6,62	5,99	12,50	11,31
celková SD	0,00		0,45	0,32	0,74	0,51
celková RSD	0,91		6,87 %	5,30 %	5,95 %	4,47 %



Obrázek 16: Snatch citrus strong edition.

7.2.2 Elektrochemické stanovení nikotinu pomocí elektrody ze skelného uhlíku

Tabulka 11: Dope Freeze Crazy Strong – na elektrodě ze skelného uhlíku.

Dope Freeze Crazy Strong (VZ220525); 21 mg nikotinu/sáček, 30 mg nikotinu/g						
sáček	hmotnost (g)	číslo měření	nikotin v sáčku (mg/sáček)		nikotin v sáčku (mg/g)	
			výška píku	plocha píku	výška píku	plocha píku
1	0,5710	1	19,39 ± 0,75	19,81 ± 0,52	33,96 ± 1,32	34,70 ± 0,90
		2	21,04 ± 0,07	21,57 ± 0,17	36,84 ± 0,12	37,78 ± 0,30
		3	21,29 ± 0,10	22,36 ± 0,25	37,29 ± 0,17	39,16 ± 0,45
průměr			20,57	21,25	36,03	37,22
SD			0,84	1,07	1,48	1,87
RSD			4,10 %	5,01 %	4,10 %	5,01 %
2	0,5416	1	16,56 ± 0,09	17,34 ± 0,23	30,58 ± 0,16	32,02 ± 0,43
		2	17,24 ± 0,13	18,32 ± 0,29	31,83 ± 0,24	33,82 ± 0,53
		3	17,49 ± 0,18	18,75 ± 0,35	32,29 ± 0,33	34,61 ± 0,64
průměr			17,10	18,14	31,57	33,49
SD			0,39	0,59	0,72	1,08
RSD			2,28 %	3,24 %	2,28 %	3,24 %
3	0,5710	1	20,79 ± 0,13	22,57 ± 0,29	36,41 ± 0,23	39,53 ± 0,51
		2	20,26 ± 0,13	22,17 ± 0,27	35,47 ± 0,22	38,83 ± 0,47
		3	20,54 ± 0,11	22,65 ± 0,24	35,98 ± 0,19	39,67 ± 0,42
průměr			20,53	22,47	35,95	39,34
SD			0,22	0,21	0,38	0,36
RSD			1,06 %	0,93 %	1,06 %	0,93 %
celkový průměr	0,5612		19,40	20,62	34,52	36,68
celková SD	0,01		0,26	0,35	0,46	0,61
celková RSD	2,47		1,36 %	1,70 %	1,33 %	1,67 %

Tabulka 12: Dope Freeze #50 – na elektrodě ze skleného uhlíku.

Dope Freeze #50 (VZ220510); 35 mg nikotinu/sáček, 50 mg nikotinu/g						
sáček	hmotnost (g)	číslo měření	nikotin v sáčku (mg/sáček)		nikotin v sáčku (mg/g)	
			výška píku	plocha píku	výška píku	plocha píku
1	0,6098	1	38,13 ± 1,97	39,89 ± 2,53	62,53 ± 3,22	65,42 ± 4,15
		2	43,25 ± 0,20	45,38 ± 0,49	70,92 ± 0,33	74,42 ± 0,80
		3	43,69 ± 0,15	46,21 ± 0,43	71,64 ± 0,25	75,77 ± 0,71
průměr			41,69	43,83	68,36	71,87
SD			2,52	2,80	4,13	4,59
RSD			6,05 %	6,39 %	6,05 %	6,39 %
2	0,5584	1	29,95 ± 0,09	31,10 ± 0,18	53,64 ± 0,17	55,70 ± 0,32
		2	32,05 ± 0,06	33,68 ± 0,11	57,39 ± 0,10	60,32 ± 0,20
		3	33,06 ± 0,10	34,91 ± 0,21	59,20 ± 0,18	62,53 ± 0,37
průměr			31,69	33,23	56,74	59,52
SD			1,29	1,59	2,32	2,84
RSD			4,08 %	4,78 %	4,08 %	4,78 %
3	0,5705	1	35,07 ± 0,11	37,32 ± 0,20	61,47 ± 0,19	65,41 ± 0,34
		2	34,66 ± 0,07	36,91 ± 0,19	60,75 ± 0,12	64,70 ± 0,34
		3	35,91 ± 0,10	38,70 ± 0,14	62,94 ± 0,18	67,83 ± 0,24
průměr			35,21	37,64	61,72	65,98
SD			0,52	0,76	0,91	1,34
RSD			1,48 %	2,03 %	1,48 %	2,03 %
celkový průměr	0,5796		36,19	38,23	62,28	65,79
celková SD	0,02		0,82	0,84	1,32	1,33
celková RSD	3,79		2,28 %	2,19 %	2,12 %	2,02 %

Tabulka 13: Snatch citrus Strong Edition – na elektrodě ze skelného uhlíku.

Snatch citrus Strong Edition (VZ220383); 11,2 mg nikotinu/sáček, 16 mg nikotinu/g						
sáček	hmotnost (g)	číslo měření	nikotin v sáčku (mg/sáček)		nikotin v sáčku (mg/g)	
			výška píku	plocha píku	výška píku	plocha píku
1	0,536	1	10,52 ± 0,23	8,72 ± 0,25	19,62 ± 0,42	16,26 ± 0,46
		2	10,41 ± 0,24	8,49 ± 0,26	19,42 ± 0,44	15,84 ± 0,48
		3	10,87 ± 0,23	8,77 ± 0,25	20,28 ± 0,43	16,36 ± 0,47
průměr			10,60	8,66	19,77	16,15
SD			0,20	0,12	0,37	0,23
RSD			1,85 %	1,40 %	1,85 %	1,40 %
2	0,5244	1	10,49 ± 0,19	8,36 ± 0,21	20,00 ± 0,36	15,94 ± 0,41
		2	10,57 ± 0,14	8,39 ± 0,17	20,17 ± 0,26	15,99 ± 0,32
		3	10,80 ± 0,16	8,53 ± 0,20	20,59 ± 0,31	16,26 ± 0,38
průměr			10,62	8,43	20,25	16,07
SD			0,13	0,07	0,25	0,14
RSD			1,24 %	0,87 %	1,24 %	0,87 %
3	0,5282	1	9,07 ± 0,15	7,99 ± 0,11	17,17 ± 0,29	15,12 ± 0,21
		2	9,66 ± 0,29	8,35 ± 0,30	18,29 ± 0,55	15,81 ± 0,57
		3	9,24 ± 0,07	7,58 ± 0,05	17,50 ± 0,14	14,35 ± 0,09
průměr			9,32	7,97	17,65	15,09
SD			0,25	0,31	0,47	0,60
RSD			2,67 %	3,94 %	2,67 %	3,94 %
celkový průměr	0,5295		10,18	8,35	19,23	15,77
celková SD	0,00		0,05	0,10	0,09	0,20
celková RSD	0,91		0,47 %	1,25 %	0,47 %	1,25 %

7.3 Výsledky analýzy pomocí GC-MS referenční metoda

Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí

Na separaci byla použita chromatografická kolona Supelco SLB-5ms (30 m × 0,25 mm × 0,5 μm film). Mobilní fází bylo helium o průtoku 1 ml/min. Dávkování vzorku bylo provedeno pomocí split techniky (splitovací poměr 1:20) a dávkováno bylo 0,5 μl kapaliny. Teplota dávkovacího prostoru byla 250 °C. Na separaci byl použit gradient teploty. Jako vnitřní standard byl použit 3,3'-bipyridin o koncentraci cca 50 μl ve všech kalibračních roztocích i vzorcích. Detekce a kvantifikace byla provedena pomocí hmotnostního detektoru v režimu SIM. Kvantifikační ionty pro nikotin byly 84, 133 a 162 m/z a pro 3,3'-bipyridin 156 m/z. Obsah nikotinu byl vyhodnocen na základě kalibrační závislosti poměrů ploch píku nikotinu a vnitřního standardu na koncentraci nikotinu (šestibodová lineární kalibrace 1-100 mg/l),

Postup extrakce nikotinu ze sáčku:

Sáček byl nejprve zvážen a vložen do 50 ml centrifugační zkumavky. Ke vzorku bylo přidáno 50 ml vodného roztoku methanolu (1:1) a centrifugační zkumavka byla umístěna do rotátoru a vzorek byl takto extrahován 30 min. Následně tato směs byla ponechána 5 minut v ultrazvuku a poté byla provedena centrifugace k odstranění pevných složek a ředění.

Bylo provedeno stanovení ve třech až pěti náhodně vybraných sáčcích.

Autorem této analytické referenční metody je Ing. Tomáš Hájek, Ph.D. (KA1Ch, UPCE).

Tabulka 14: Dope Freeze Crazy Strong – GC-MS.

Dope Freeze Crazy Strong (VZ220525); 21 mg nikotinu/sáček, 30 mg nikotinu/g			
sáček	hmotnost (g)	nikotin v sáčku (mg/sáček)	nikotin v sáčku (mg/g)
A	0,6600	19,91	30,16
B	0,7153	22,08	30,86
C	0,7143	22,59	31,62
průměr	0,6965	21,52	30,88
	SD = 0,032	SD = 1,42	SD = 0,73
	RSD = 4,5 %	RSD = 6,6 %	RSD = 2,4 %

Tabulka 15: Dope Freeze #50 – GC-MS.

Dope Freeze #50 (VZ220510); 35 mg nikotinu/sáček, 50 mg nikotinu/g			
sáček	hmotnost (g)	nikotin v sáčku (mg/sáček)	nikotin v sáčku (mg/g)
A	0,6384	36,85	57,71
B	0,6400	35,23	55,05
C	0,6744	45,26	67,11
průměr	0,6509	39,11	59,96
	SD = 0,02	SD = 5,38	SD = 6,34
	RSD = 3,1 %	RSD = 13,8 %	RSD = 10,6 %

Tabulka 16: Snatch citrus Strong Edition – GC-MS

Snatch citrus Strong Edition (VZ220383); 11,2 mg nikotinu/sáček, 16 mg nikotinu/g			
sáček	hmotnost (g)	nikotin v sáčku (mg/sáček)	nikotin v sáčku (mg/g)
A	0,5740	10,50	18,30
B	0,5933	10,83	18,26
C	0,5807	11,02	18,97
D	0,5683	10,88	19,15
E	0,5448	10,61	19,47
průměr	0,5791	10,77	18,83
	SD = 0,02	SD = 0,21	SD = 0,53
	RSD = 3,1 %	RSD = 1,94 %	RSD = 2,8 %

7.4 Porovnání výsledků vlastních experimentů s GC/MS

Tabulka 17: Porovnání výsledků vlastních experimentů s GC/MS

Dope Freeze Crazy Strong (VZ220525); 21 mg nikotinu/sáček, 30 mg nikotinu/g				
metoda	nikotin v sáčku (mg/sáček)		nikotin v sáčku (mg/g)	
	výška píku	plocha píku	výška píku	plocha píku
Pastová uhlíková elektroda	17,42	16,14	30,98	28,71
Elektroda ze skelného uhlíku	19,40	20,62	34,52	36,68
Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí	21,52		30,88	
Dope Freeze #50 (VZ220510); 35 mg nikotinu/sáček, 50 mg nikotinu/g				
metoda	nikotin v sáčku (mg/sáček)		nikotin v sáčku (mg/g)	
	výška píku	plocha píku	výška píku	plocha píku
Pastová uhlíková elektroda	29,82	28,65	51,19	49,20
Elektroda ze skelného uhlíku	36,19	38,23	62,28	65,79
Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí	39,11		59,96	
Snatch citrus Strong Edition (VZ220383); 11,2 mg nikotinu/sáček, 16 mg nikotinu/g				
metoda	nikotin v sáčku (mg/sáček)		nikotin v sáčku (mg/g)	
	výška píku	plocha píku	výška píku	plocha píku
Pastová uhlíková elektroda	6,62	5,99	12,50	11,31
Elektroda ze skelného uhlíku	10,18	8,35	19,23	15,77
Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí	10,77		18,83	

ZÁVĚR

Cílem bakalářské práce bylo zpracování literární rešerše na popis nikotinových sáčků a stanovení nikotinu v nikotinových sáčcích. Celkově lze konstatovat, že nikotin má bohatou historii v Evropě, od prvního přivezení v roce 1942. Zkoumání a odhalování fyzikálně-chemických vlastností nikotinu byl dlouhý proces a čistá forma nikotinu byla získána až v 19. století. Dnes je znám jako psychoaktivní látka s psychostimulačními a euforizujícími účinky na lidské tělo. Závislost na nikotinu je vysoce riziková a může vyvolat především psychické abstinenci příznaky. Významným upozorněním pro budoucí matky, těhotné ženy a ženy kojící své novorozence je nejen kvůli vlastním potížím spojeným s užíváním nikotinu, ale především s ohledem na možné komplikace, které mohou postihnout jejich novorozence. Mezi tyto komplikace patří zejména nízká porodní hmotnost, odmítání prsu a nervozita novorozenců. Stejně tak osoby s diagnostikovanou neurodivergentní poruchou mohou čelit obtížím, které jsou spojeny s užíváním nikotinu, zejména v období, kdy se rozhodnou ukončit jeho užívání, jelikož prvotní příznaky abstinence pociťují výrazněji. Dostupné substituční terapie jako jsou nikotinové náplasti, žvýkačky, spreje, pastilky, inhalátory představují užitečné nástroje pro ty, kteří se snaží překonat závislost na klasickém kouření cigaret nebo jiných formách užívání nikotinu jako jsou elektronické cigarety nebo nikotinové sáčky.

Nikotinové sáčky představují inovativní produkt, který nabízí uživatelům možnost diskrétního a snadného způsobu užívání nikotinu bez rizika pasivního kouření. Tato nová forma nikotinu však nese potencionální rizika, zejména v oblasti zdraví parodontu. Aby bylo možné lépe porozumět dopadům užívání nikotinových sáčků na lidské zdraví, zajistit bezpečné užívání, regulovat a klasifikovat tuto formu nikotinu, je třeba dlouhodobějšího zkoumání. V současné době existuje široká škála analytických metod pro stanovení nikotinu a jeho metabolitů. Dle Evropského lékopisu se pro stanovení nikotinu doporučuje vysokoúčinná kapalinová chromatografie se spektrofotometrickou detekcí. US Pharmacopoeia doporučuje stanovení nikotinu plynovou chromatografií s plamenově ionizačním detektorem. Dále doporučovány i jiné metody stanovení jako jsou například imunochemické metody, spektrometrie a elektroanalytické techniky. Elektroanalytické techniky také poskytují široké možnosti pro analýzu nikotinu. Každá z těchto metod má své specifické výhody a omezení, což umožňuje flexibilitu ve výběru vhodné techniky v závislosti na konkrétních požadavcích analýzy.

Cílem praktické části bakalářské práce bylo stanovení nikotinu z nikotinových sáčků za využití elektrochemie. K tomu byla použita metoda square wave voltametrie. Pro analýzu byly použity dvě odlišné pracovní elektrody – uhlíková pastová elektroda a elektroda ze skelného uhlíku. Výsledky obou měření byly vzájemně srovnány s výsledky referenční instrumentální metody plynové chromatografie s hmotnostní detekcí, stejně jako s hodnotami deklarovanými výrobcem na obalu produktu. V porovnání mezi výsledky experimentu, referenční metodou a deklarovanými hodnotami výrobce se objevily určité odchylky. Tyto odchylky mohou být způsobeny různými faktory, přičemž jedním z klíčových aspektů je časový rozptyl při stanovení nikotinu. Vzhledem k téžavé povaze nikotinu mohlo dojít ke změnám koncentrace od doby stanovení výrobcem, referenční metodou až po mé vlastní měření. Dalším faktorem ovlivňující výsledky byla rozdílná technika stanovení. Každá metoda má své specifické výhody a omezení, které mohou ovlivnit citlivost stanovení. Posledním významným rušivým vlivem by mohla být aroma obsažené v nikotinových sáčcích, která mohla ovlivnit hlavně elektrochemickou detekci nikotinu. Bohužel kvůli omezenému času nebylo možné získat dostatek dat pro

kompletní statistickou analýzu, a tak porovnání výsledků vlastního experimentu slouží spíše jako orientační. Navzdory tomu je možné teoreticky využít tyto data pro stanovení nikotinu z nikotinových sáčků, neboť se výsledky blížily hodnotám referenční metody i deklarovaným hodnotám výrobce. Standardizace elektrochemického stanovení nikotinu z nikotinových sáčků by tak mohla poskytnout řadu výhod, zejména v oblasti jednoduché analýzy, časové efektivity a relativně nízkých finančních nákladů.

POUŽITÁ LITERATURA

BARD, Allen J. a FAULKNER, Larry R. *Electrochemical methods: fundamentals and applications*. 2nd ed. Hoboken: John Wiley, c2001. ISBN 0-471-04372-9.

BRITANNICA, THE EDITORS OF ENCYCLOPAEDIA. *Nicotine*. Online. 1998, Jan 19, 2024. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/nicotine>. [cit. 2024-02-07].

BENOWITZ, N; LESSOVSCHLAGGAR, C; SWAN, G a JACOBIII, P. Female sex and oral contraceptive use accelerate nicotine metabolism. Online. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2006, roč. 79, č. 5, s. 480-488. ISSN 00099236. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.clpt.2006.01.008>. [cit. 2024-02-07].

BINDER, Tomáš. *Porodnictví*. Karolinum, 2015, s. 177-178. ISBN 978-80-246-1907-1.

BRAUN, Robert Denton. Chemical analysis. Online. *Encyclopedia Britannica*. Roč. 12 Dec. 2023. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/chemical-analysis>. [cit. 2024-02-18].

CARPER, Jean. *100 jednoduchých věcí, které můžete udělat proti Alzheimerově nemoci a úbytku paměti*. V Praze: Vyšehrad, 2011, s. 193–204. ISBN 978-80-7429-194-4.

COUFAL, Pavel. *Schéma vysokoúčinného kapalinového chromatografu*. Online. In: UNIVERZITA KARLOVA PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA KATEDRA ANALYTICKÉ CHEMIE. Natur.cuni. 1996. Dostupné z: <https://web.natur.cuni.cz/~pcoufal/images/obr21.gif>. [cit. 2024-02-18].

DAHLSTRÖM, A.; LUNDELL, B.; CURVALL, M. a THAPPER, L. *Nicotine and Cotinine Concentrations in the Nursing Mother and Her Infant*. Online. *Acta Paediatrica*. 1990, roč. 79, č. 2, s. 142-147. ISSN 0803-5253. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.1990.tb11430.x>. [cit. 2024-02-07].

DASTYCH, Milan a KOLEKTIV. *Instrumentální technika. 2*. Brno: Masarykova univerzita, 2014. ISBN 978-80-210-7103-2.

Davis DL; Nielsen MT. *Tabák – výroba, chemie a technologie*; Wang YT; Yuan XS; Jin ZL; Xie JP; Yu MF; Liu GY; Zhang H.; Zheng FG; Zheng XZ. a kol., Eds.; Chemical Industry Press: Peking, 2003.

DEMPSEY, D. *Nicotine metabolism and elimination kinetics in newborns*. Online. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2000, roč. 67, č. 5, s. 458-465. ISSN 00099236. Dostupné z: <https://doi.org/10.1067/mcp.2000.106129>. [cit. 2024-02-07].

DREHER, Jan. *Psychofarmakoterapie: stručně, jasně, přehledně*. Přeložil Leoš LANDA. Praha: Grada Publishing, 2017, s. 138–141. ISBN isbn978-80-271-0133-7.

DUREN, Michelle; ATELLA, Lara; WELDING, Kevin a KENNEDY, Ryan David. *Nicotine pouches: a summary of regulatory approaches across 67 countries*. Online. *Tobacco Control*. S. tobaccocontrol;tc-2022-057734v1. ISSN 0964-4563. Dostupné z: <https://doi.org/10.1136/tc-2022-057734>. [cit. 2024-02-07].

DUSHNA, Olha; DUBENSKA, Liliya; PLOTYCYA, Serhiy; RYDCHUK, Mariana a BLAZHEYEVSIIY, Mykola. The Alternative Voltammetric Method for the Determination of Nicotine and Its Metabolite Nicotine N-Oxide. Online. *Journal of The Electrochemical Society*. 2022, roč. 169, č. 1. ISSN 0013-4651. Dostupné z: <https://doi.org/10.1149/1945-7111/ac4b26>. [cit. 2024-02-22].

Elektrochemiluminescence. Online. METROHM ČESKÁ REPUBLIKA S.R.O. Metrohm. 2022. Dostupné z: https://www.metrohm.com/cs_cz/products/electrochemistry/electrochemiluminescence.htm l. [cit. 2024-02-22].

GORROD, J. W. a Jacob PEYTON. *Analytical determination of nicotine and related compounds and their metabolites*. Amsterdam: Elsevier, 1999. ISBN 0444500952.

HANNISDAL, Atle; MIKKELSEN, Øyvind; SCHRØDER, Knut H. Analýza nikotinu v protikuřáckých farmaceutických výrobcích diferenciální pulzní polarografií a voltametrií. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, 2007, 72.9: 1207-1213.

HÁJEK, Zdeněk. *Rizikové a patologické těhotenství*. Vyd. 1. české. Praha: Grada, 2004, s. 220. ISBN 80-247-0418-8.

HÁJEK, Zdeněk; ČECH, Evžen a MARŠÁL, Karel. *Porodnictví*. 3., zcela přeprac. a dopl. vyd. Praha: Grada, 2014 s. 445–3315. ISBN 978-80-247-4529-9.

HEINZ, M., Instrumentální aspekty elektroforetické separace v mikročipovém formátu, Bakalářská práce, Univerzita Pardubice, 2015

HOSÁK, Ladislav; HRDLIČKA, Michal a LIBIGER, Jan. *Psychiatrie a pedopsychiatrie*. Praha: Univerzita Karlova v Praze, nakladatelství Karolinum, 2015, s. 172. ISBN 978-80-246-2998-8.

JAEHNE, Andreas; LOESSL, Barbara; BÁRKAI, Zsuzsanna; RIEMANN, Dieter a HORNYAK, Magdolna. *Effects of nicotine on sleep during consumption, withdrawal and replacement therapy*. Online. *Sleep Medicine Reviews*. 2009, roč. 13, č. 5, s. 363-377. ISSN 10870792. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.smr.2008.12.003>. [cit. 2024-02-07].

Kabátová, Andrea. Schéma tříelektrodeového zapojení pro voltametrické měření. Voltametrické techniky v praxi z analytické chemie. Online. 2020. Dostupné z: https://is.muni.cz/th/fkhyt/Voltametricke_techiky_v_praktiku_z_analyticke_chemie.pdf. [cit. 2024-02-07]

KAMALASEKARAN, Kavitha; MAGESH, Vasanth; ATCHUDAN, Raji; ARYA, Sandeep a SUNDRAMOORTHY, Ashok K. Development of Electrochemical Sensor Using Iron (III) Phthalocyanine/Gold Nanoparticle/Graphene Hybrid Film for Highly Selective Determination of Nicotine in Human Salivary Samples. Online. *Biosensors*. 2023, roč. 13, č. 9. ISSN 2079-6374. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/bios13090839>. [cit. 2024-02-24].

KARLIN, A. *Emerging structure of the nicotinic acetylcholine receptors*. Online. In: Media springernature. 01 February 2002. Dostupné z: https://media.springernature.com/full/springer-static/image/art%3A10.1038%2Fnrn731/MediaObjects/41583_2002_Article_BFn731_Fig1_HTML.gif. [cit. 2024-02-07].

KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-86369-07-2.

KRÁLÍKOVÁ, Eva. *Diagnóza F17: závislost na tabáku*. Aeskulap. Praha: Mladá fronta, 2015. ISBN 978-80-204-3711-2.

KUTLU, Munir Gunes; PARIKH, Vinay a GOULD, Thomas J. Nicotine Addiction and Psychiatric Disorders. Online. In: *Nicotine Use in Mental Illness and Neurological Disorders*. International Review of Neurobiology. Elsevier, 2015, s. 171-208. ISBN 9780128015834. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2015.08.004>. [cit. 2024-02-07].

LINHART, Igor. *Toxikologie: interakce škodlivých látek s živými organismy, jejich mechanismy, projevy a důsledky*. 3. upravené a rozšířené vydání. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2022, s. 284. ISBN 978-80-7592-103-1.

LÜLLMANN, Heinz; MOHR, Klaus a HEIN, Lutz. *Barevný atlas farmakologie*. Vyd. 3., české. Ilustroval Jürgen WIRTH. Praha: Grada, 2007, s. 114. ISBN 978-80-247-1672-5.

MARTÍNKOVÁ, Jiřina. *Farmakologie pro studenty zdravotnických oborů*. Praha: Grada, 2007, s. 157. ISBN isbn978-80-247-1356-4.

MATYSIK, Frank-Michael. Application of non-aqueous capillary electrophoresis with electrochemical detection to the determination of nicotine in tobacco. Online. *Journal of Chromatography A*. 1999, roč. 853, č. 1-2, s. 27-34. ISSN 00219673. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(99\)00512-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(99)00512-9). [cit. 2024-02-18].

MCMURRY, John. *Organická chemie*. Překlady vysokoškolských učebnic. V Brně: VUTIUM, 2007, s. 892. ISBN 978-80-214-3291-8.

M. JACKSON, Joshua; WEKE, Anthony a HOLLIDAY, Richard. *Nicotine pouches: a review for the dental team*. Online. *British Dental Journal*. 2023, roč. 235, č. 8, s. 643-646. ISSN 0007-0610. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41415-023-6383-7>. [cit. 2024-02-07].

Mohammed Ibrahim, Ph.D. *Confocal Raman analysis of a transdermal nicotine patch by a DXR2 Raman Microscope Thermo Scientific*. Online. APPLICATION NOTE AN52984, 2008, Dostupné z: Confocal Raman analysis of a transdermal nicotine patch by a DXR2 Raman Microscope (thermofisher.com). [cit. 2024-02-07].

NiQuitin. *Příbalová informace – NiQuitin CLEAR 21 mg/24 h transdermální náplast/ NiQuitin CLEAR 14 mg/24 h transdermální náplast/ NiQuitin CLEAR 7 mg/24 h transdermální náplast*. Online. 2022. Dostupné z: [priloha_1042608856_1_PIL_Niquitin-clear_56309-22.pdf](#). [cit. 2024-02-07].

Nicorette. *Příbalová informace – Nicorette Icemint Gum 2 mg léčivá žvýkáčková guma/ Nicorette Icemint Gum 4 mg léčivá žvýkáčková guma*. Online. 2020. Dostupné z: [Hreferralspcleancs \(notinoimg.com\)](#). [cit. 2024-02-07].

Nicorette. *Příbalová informace – Nicorette Mint 4 mg lisované pastilky*. Online. 2023. Dostupné z: [Hreferralspcleancs \(benu.cz\)](#). [cit. 2024-02-07].

Nicorette. *Příbalová informace – Nicorette Spray 1 mg/dávka orální sprej, roztok*. Online. 2023. Dostupné z: [Version 1 \(benu.cz\)](#). [cit. 2024-02-07].

OLSON, Cheryl K.; SHERWOOD, Neil; BERKANE, Maia; GILLIGAN, Karin a MCKINNEY, Willie J. *Perceptions, intentions, and actual use of a consumer nicotine gum*. Online. *Harm Reduction Journal*. 2023, roč. 20, č. 1. ISSN 1477-7517. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s12954-023-00864-0>. [cit. 2024-02-07].

POULSEN, Jessie; NIELSEN, Kent Albin a BAUER-BRANDL, Annette. Raman Imaging as a powerful tool to elucidate chemical processes in a matrix: Medicated chewing gums with nicotine. Online. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2022, roč. 209. ISSN 07317085. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2021.114519>. [cit. 2024-02-07].

ROSE, Christine A.; HENNINGFIELD, Jack; HILTON, Matthew J. a SWEANOR, David T. *Smoking*. Online. 1998, Jan 25, 2024. Dostupné z: <https://www.britannica.com/topic/smoking-tobacco>. [cit. 2024-02-07].

ROZTOČIL, Aleš a BARTOŠ, Pavel. *Moderní gynekologie*. Praha: Grada, 2011, s. 944–3228. ISBN 978-80-247-2832-2.

ROZTOČIL, Aleš. *Porodnictví v kostce*. Praha: Grada Publishing, 2020, s. 165. ISBN 978-80-271-2098-7.

SHIFFMAN, S. *Effect of nicotine lozenges on affective smoking withdrawal symptoms: Secondary analysis of a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial*. Online. *Clinical Therapeutics*. 2008, roč. 30, č. 8, s. 1461-1475. ISSN 01492918. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2008.07.019>. [cit. 2024-02-07].

Schéma plynové chromatografie. Schéma plynové chromatografie [online]. [cit. 2023-11-24]. Dostupné z: <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/81/SchemaGC.png>

SIGMA-ALDRICH. *Bezpečnostní list*. Online. SIGMA-ALDRICH. Merck. 2023, 2023-11-19. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/CZ/en/product/mm/820877>. [cit. 2023-11-24].

STRUNECKÁ, Anna a PATOČKA, Jiří. *Doba jedová*. Praha: Triton, 2012, s. 58. ISBN 978-80-7387-469-8.

ŠTULÍK, Karel; BAREK, Jiří a kolektiv. *Senzory*. [online]. Praha: VŠCHT Praha, 2007. ISBN 978-80-86238-20-3. Dostupné z: <https://old.vscht.cz/anl/paci/PAC/prezentace/senzory.pdf>. [cit. 2024-02-27].

TATTAN-BIRCH, Harry; JACKSON, Sarah E; DOCKRELL, Martin a BROWN, Jamie. *Tobacco-free Nicotine Pouch Use in Great Britain: A Representative Population Survey 2020–2021*. Online. *Nicotine & Tobacco Research*. 2022, roč. 24, č. 9, s. 1509-1512. ISSN 1469-994X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/ntr/ntac099>. [cit. 2024-02-07].

THAKUR, Abhinay a KUMAR, Ashish. Recent trends in nanostructured carbon-based electrochemical sensors for the detection and remediation of persistent toxic substances in real-time analysis. Online. *Materials Research Express*. 1 March 2023, roč. 10, č. 3, s. 1-33. Dostupné z: <https://doi.org/10.1088/2053-1591/acbd1a>. [cit. 2024-02-23].

VECTORMINE. *Neuromuscular junction*. Online. In: Depositphotos. 2023. Dostupné z: <https://depositphotos.com/cz/vector/neuromuscular-junction-vector-illustration-scheme-labeled-cell-infographic-214164432.html>. [cit. 2023-12-04].

VEJRAŽKA, Martin. *Schéma spektrofotometru*. Online. In: WikiSkripta. 2007, 2023. Dostupné z: <https://www.wikiskripta.eu/sites/www.wikiskripta.eu/images/0/0d/Spektrofotometr.jpg>. [cit. 2024-02-18].

XIAO, Yi; CHEN, Suhua; ZHANG, Guocan; LI, Zhimao; XIAO, Han et al. Simple and rapid nicotine analysis using a disposable silica nanochannel-assisted electrochemiluminescence sensor. Online. *The Analyst*. 2020, roč. 145, č. 14, s. 4806-4814. ISSN 0003-2654. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/D0AN00588F>. [cit. 2024-02-22]

YE, Dongxia; RAHMAN, Irfan a ISOLA, Gaetano. *Emerging Oral Nicotine Products and Periodontal Diseases*. Online. *International Journal of Dentistry*. 2023, roč. 2023, s. 1-7. ISSN 1687-8736. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2023/9437475>. [cit. 2024-02-07].