

## Cibi, aromi e fragranze

# Analisi dei livelli di nicotina e delle impurezze nelle soluzioni e nel vapore delle sigarette elettroniche

Di Jason S. Herrington, Colton Myers e Amanda Rigdon

### Abstract

La popolarità delle sigarette elettroniche cresce in maniera esponenziale. Nonostante si tratti di prodotti sempre più accettati, ben poco è stato fatto in merito alla caratterizzazione del loro vapore. Ad oggi, la maggior parte delle ricerche sulle sigarette elettroniche si è concentrata sulla caratterizzazione delle soluzioni, che vengono vaporizzate perché l'utilizzatore finale le possa inalare. Il presente studio si è concentrato sullo sviluppo di un pacchetto analitico completo per l'analisi rapida e semplice delle soluzioni per sigaretta elettronica e del loro vapore per determinare i livelli di nicotina in esse contenuti e le diverse tipologie di impurezze. Sono stati sviluppati metodi rapidi (<5 min) di gaschromatografia con detector a ionizzazione di fiamma (GC-FID) (che utilizzano sia elio sia idrogeno come carrier gas) per la determinazione dei livelli di nicotina presenti nelle soluzioni per sigarette elettroniche. Inoltre, è stato sviluppato un semplice metodo di gaschromatografia-spettrometria di massa (GC-MS) per determinare le impurezze presenti nei liquidi per sigarette elettroniche. Infine, è stato sviluppato un dispositivo di campionamento semplice per catturare il vapore delle sigarette elettroniche in un tubo di desorbimento termico (DT), che è stato poi estratto termicamente e analizzato tramite lo stesso metodo GC-MS. Questo nuovo approccio è stato in grado di fornire livelli rilevabili di composti organici volatili (VOC) e composti organici semivolatili (SVOC), che non sono stati rilevati nei liquidi, da una singola svapata da 40 ml. Tutti e tre i metodi possono essere eseguiti con un GC, due rilevatori e una colonna analitica (Rtx®-VMS), riducendo così le risorse richieste e permettendo un facile confronto dei risultati.

### Introduzione

Le sigarette elettroniche non bruciano tabacco, ma piuttosto producono un aerosol (senza fiamma o fumo) da un elemento metallico riscaldante alimentato a batteria e una cartuccia che contiene un liquido [1]. Generalmente, il liquido è costituito da umettanti (glicole propilenico [1,2-propandiolo] e/o glicerina), aromatizzanti e nicotina [2]. Quando l'alimentazione di una sigaretta elettronica viene attivata, l'elemento riscaldante vaporizza il liquido per formare una nebbiolina che l'utilizzatore finale può poi inalare (spesso indicata come "svapo") [3]. Questo vapore alla vista è simile al fumo del tabacco e replica la sensazione calda del fumo nella gola e nei polmoni (spesso indicata come "colpo di gola"). Queste somiglianze con il fumo del tabacco, unite al gesto della mano che porta la sigaretta alla bocca, hanno abituato rapidamente gli utenti ad utilizzare le sigarette elettroniche [4-6]. Nonostante il loro crescente utilizzo su scala globale [3], si sa ancora poco sul profilo dei componenti chimici delle sigarette elettroniche. La maggior parte degli studi si è concentrata principalmente sulla concentrazione di nicotina e di impurezze (ad esempio, nitrosammine) nel liquido delle sigarette elettroniche (e-juice) [7]. Inoltre si sa poco della composizione chimica del vapore, che è in definitiva ciò a cui gli utilizzatori finali sono esposti [7, 8].

Solo pochi ricercatori (ad esempio, Goniewicz et al. [7], Kosmider [9] e Schober et al. [8]) hanno tentato di caratterizzare il vapore delle sigarette elettroniche analizzando la presenza di composti organici volatili (VOC), nitrosammine, metalli pesanti e idrocarburi aromatici policiclici (PAH); tuttavia, l'impianto analitico dei loro studi era relativamente complesso e/o richiedeva l'uso di una macchina per fumo specifica e/o di una serie di strumenti analitici specifici. Tali requisiti spesso non sono pratici per le analisi di routine in laboratori a contratto. Il presente studio valuta il contenuto di nicotina e di impurezze di varie sigarette elettroniche disponibili in commercio e delle rispettive soluzioni, attraverso metodi GC-FID e GC-MS semplici e rapidi. Inoltre, le emissioni primarie delle sigarette elettroniche sono state analizzate per rilevare VOC e composti organici semivolatili (SVOC) tramite una tecnica semplice e innovativa che unisce il desorbimento termico (TD) con la GC-MS. Verranno discussi i risultati, le tecniche analitiche, gli ostacoli e le soluzioni possibili.

## Dati sperimentali

### Sigarette elettroniche e liquidi

Quattro sigarette elettroniche presenti sul mercato (Tabella I) sono state scelte tra quelle presenti nella classifica "Best E-Cigarettes of 2014", la top 10 delle sigarette elettroniche recensite da "esperti e utilizzatori" [10]. È importante notare che queste quattro sigarette elettroniche sono apparse frequentemente su altri siti di recensioni online all'interno di "Top 10". Inoltre, questi quattro marchi sono facilmente reperibili presso i rivenditori locali. Tutte e quattro le sigarette elettroniche erano sigarette di "prima generazione" (ossia, generalmente riproducevano le dimensioni e l'aspetto delle normali sigarette) [11] e, ad eccezione del Vendor D, erano monouso. Oltre alle sigarette elettroniche, sono stati acquisiti anche i rispettivi liquidi (ovvero della stessa marca, aroma e concentrazione di nicotina).

I Vendor A, B e C dichiaravano che la percentuale di nicotina era stata calcolata tramite analisi peso/peso. Il Vendor D segnalava che il valore indicato in etichetta era stato calcolato tramite analisi vol/vol; tuttavia, su un lato del flacone di ricarica della soluzione D si indicavano 1.000 mg di nicotina, che è in linea con un'analisi peso/peso (che sembra essere lo standard del settore) o un'analisi peso/vol. Pertanto, non era del tutto chiara la modalità con cui il Vendor D aveva determinato la concentrazione di nicotina. Al momento della consegna, è stato pipettato 1 ml di ciascuna soluzione per sigarette elettroniche con una siringa calibrata su una bilancia tarata per determinare la densità di ciascuna soluzione. Le densità misurate sono state successivamente utilizzate per convertire i valori dell'etichetta riportante l'indicazione peso/peso in peso/vol, per consentire la comparazione diretta tra i valori peso/vol determinati analiticamente utilizzando la seguente equazione:

$$\text{Concentrazione di nicotina (mg/ml)} = \text{Densità della soluzione (mg/ml)} \times \text{Concentrazione dichiarata dal Vendor (mg/mg)}$$

**Tabella I:** Caratteristiche delle sigarette elettroniche e dei liquidi

Vendor	% di nicotina dichiarata (peso/peso)	Tipo	Densità misurata (g/ml)
A	1,8 (18 mg/1.000 mg)	Tabacco classico	1,1179
B	1,2 (12 mg/1.000 mg)	Tabacco classico	1,1843
C	1,2 (12 mg/1.000 mg)	Mentolo	1,2006
D	1,8 (18 ml/1.000 ml)*	Tabacco classico	1,1271

\* Un'etichetta sulla boccetta della soluzione di ricarica indicava la % di nicotina in termini di % vol/vol; tuttavia, l'altro lato della boccetta riportava 1.000 mg, che è in linea con l'analisi peso/peso.

## Nicotina

Il seguente sistema è stato utilizzato per analizzare le concentrazioni di nicotina presenti nel liquido per sigaretta elettronica: un GC Agilent 7890A dotato di detector a ionizzazione di fiamma (FID) Agilent. È stata scelta per l'analisi una colonna Rtx®-VMS per via della sua capacità unica di separare composti volatili. I parametri GC-FID per entrambi i carrier gas utilizzati, elio e idrogeno, sono riportati in Tabella II. I livelli di nicotina delle soluzioni per sigarette elettroniche sono stati determinati calibrando il GC-FID con uno standard di nicotina tracciabile del National Institute of Standards and Technology (NIST) (cat.# 34085). Lo standard di 1.000 µg/ml di nicotina è stato diluito in serie con cloruro di metilene per generare una curva di calibrazione esterna a 7 punti (Tabella III). Anche se non esposto, lo standard interno Metodo 8260 della United States (U.S.) Environmental Protection Agency (EPA) (cat.# 30074) è risultato essere adatto per il presente lavoro.

Tutte le soluzioni per sigaretta elettronica sono state diluite cento volte con cloruro di metilene. Questa diluizione è stata effettuata per i seguenti motivi: 1) Lavori iniziali con le soluzioni per sigarette elettroniche indicavano che i liquidi avevano una natura relativamente viscosa. Questa viscosità ha determinato la formazione di bolle d'aria nella siringa dell'autocampionatore. Una diluizione di 100:1 ha posto rimedio ad eventuali problemi legati alla viscosità. 2) Le soluzioni per sigarette elettroniche scelte per questo studio avevano concentrazioni di nicotina di ~15-25 mg/ml, valori al di fuori dell'intervallo di concentrazione della curva di calibrazione (Tabella III). Una diluizione di 100:1 ha determinato una riduzione dei livelli di nicotina entro i limiti superiore e inferiore della curva di calibrazione. È importante notare che il cloruro di metilene è stato scelto come diluente al posto del metanolo poiché il picco del solvente metanolo coeluiva con l'etanolo (uno dei principali costituenti delle soluzioni per sigarette elettroniche).

**Tabella II:** Sistema di analisi e parametri utilizzati per la quantificazione della concentrazione di nicotina nei liquidi per sigaretta elettronica.

GC-FID Agilent 7890A			
Colonna	Rtx-VMS, 30 m, ID 0,25 mm, 1,40 µm (cat.# 19915)		
Iniezione	Liquido per sigaretta elettronica diluito (100:1)		
Vol. iniez.	1,0 µL split (200:1)		
Liner	Restek Topaz Precision® Liner 4 mm (cat.# 23305)		
Temp. iniez.	250 °C		
Flusso di spурgo del setto	3 ml/min		
Detector	FID a 250 °C		
Carrier gas	He, flusso costante	H <sub>2</sub> , flusso costante*	H <sub>2</sub> , flusso costante*
Velocità flusso	2,0 ml/min	2,50 ml/min	2,50 ml/min
Velocità lineare	44,4 cm/sec	67,2 cm/sec	67,2 cm/sec
Forno	da 100 °C fino a 260 °C, a 35 °C/min (mantenimento 0,25 min)	da 100 °C fino a 260 °C, a 54 °C/min (mantenimento 0,15 min)	da 100 °C fino a 240 °C, a 35 °C/min

\*Richiede un forno a gradiente rapido

**Tabella III:** Curva di calibrazione esterna della nicotina per la quantificazione della concentrazione di nicotina nei liquidi per sigaretta elettronica.

Standard di nicotina 1,00 mg/ml (cat.# 34085)				
Livello	µL del livello precedente	µL di cloruro di metilene	Volume totale (µL)	Concentrazione (mg/ml)
1	ND	ND	ND	1,00
2	100	100	200	0,500
3	100	100	200	0,250
4	100	100	200	0,125
5	100	100	200	0,063
6	100	100	200	0,031
7	100	100	200	0,016

## Impurezze

Il seguente sistema analitico è stato utilizzato per la determinazione qualitativa di eventuali impurezze presenti nelle soluzioni per sigaretta elettronica: un GC Agilent 7890B accoppiato con un detector MS Agilent 5977A. I parametri GC-MS sono riportati in Tabella IV. Questa analisi ha anche utilizzato una colonna Rtx®-VMS in virtù della buona performance certificata per i composti volatili.

**Tabella IV:** Sistema analitico e parametri utilizzati per determinare le impurezze presenti nelle soluzioni per sigaretta elettronica.

Parametri GC-MS Agilent 7890B/5977A	
Colonna	Rtx-VMS, 30 m, ID 0,25 mm, 1,40 µm (cat.# 19915)
Iniezione	Liquido per sigaretta elettronica diluito (2:1)
Vol. iniez.	1,0 µL split (10:1)
Liner	Restek Topaz Precision® Liner 4 mm (cat.# 23305)
Temp. iniez.	250 °C
Flusso di spурgo	3 ml/min
Forno	da 35 °C (mantenimento 1 min) fino a 250 °C, a 11 °C/min (mantenimento 4 min)
Carrier gas	He, flusso costante
Velocità flusso	2,0 ml/min
Velocità lineare	51,15 cm/sec
Detector	MS
Modalità	Scan
Temp. linea di trasferimento	250 °C
Tipo analizzatore	Singolo quadrupolo
Temp. sorgente	230 °C
Temp. quad.	150 °C
Energia elettroni	70 eV
Tipo calibrazione	BFB
Modalità ionizzazione	EI
Intervallo di acquisizione	15 – 550 amu
Velocità	5,2 scan/sec

## Vapore

Il vapore della sigaretta elettronica è stato analizzato per rilevare i livelli di nicotina e le impurezze intrappolando il vapore su tubi di desorbimento termico. Goniewicz et al. e altri ricercatori hanno utilizzato macchine per fumo (ad esempio, Teague TE-2, Borgwaldt RM20S) per generare e raccogliere l'aerosol delle sigarette elettroniche; tuttavia, per questo studio questa strumentazione non era disponibile [7]. Pertanto, al fine di fornire risultati riproducibili e quantificabili, è stato adattato un semplice dispositivo di campionamento (Figura 1) da una siringa da 50 ml gas-tight (cat.# 24761). La siringa è stata utilizzata per aspirare 40 ml di vapore in ~4 secondi dalle sigarette elettroniche attraverso un tubo di desorbimento termico in acciaio inox, impaccato con Tenax TA, Carboograph TD e Carboxen 1003 (non condizionato [cat.# 26469] o condizionato [cat.# 26470]). Questo tubo è stato scelto sulla base della combinazione ottimale di tre sorbenti per analizzare i VOC nell'intervallo C2-3 fino a SVOC nell'intervallo C30-32. Anche se questo metodo era manuale, è stata utilizzata una svapata di ~4 secondi, come suggerito dalle osservazioni di Farsalinos et al. in materia di topografia delle sigarette elettroniche [12]. Oltre alla singola svapata campione, è stato analizzato anche un campione di 10 svapate per simulare il regime di un fumatore. Questo campione è stato prelevato effettuando manualmente dieci svapate di 4 secondi, separate da intervalli di 10 secondi tra una svapata e l'altra. Il tubo di desorbimento è stato poi trasferito al seguente sistema analitico per la determinazione dei VOC e SVOC emessi direttamente da sigarette elettroniche: un sistema di desorbimento termico Markes UNITY™ accoppiato ad un GC Agilent 7890B dotato di un detector MS Agilent 5977A. I parametri del sistema UNITY™ e del GC-MS sono riportati rispettivamente in Tabella V e Tabella IV.

Le concentrazioni nei vapori dei VOC selezionati sono state calcolate tramite una curva di calibrazione a 5 punti, generata analizzando una serie di volumi di uno standard primario di 10,0 ppbv (Tabella VI). Lo standard primario di 10,0 ppbv è stato generato iniettando 180 ml di una miscela di 1,00 ppmv di TO-15 da 75 componenti + NJ (cat.# 34396) e 180 ml di una miscela di 1,00 ppmv di precursore dell'ozono/PAMS (cat.n. 34420) in un contenitore sottovuoto da 6 litri SilcoCan® utilizzato per il monitoraggio dell'aria (cat.# 24142-650) e pressurizzato a 30 psig con azoto al 50% di UR. Ochiai et al. [13] hanno dimostrato che una UR del 50% è ottimale in termini di stabilità. Lo standard è stato lasciato a maturazione per 7 giorni.

**Figura 1:** Apparato di campionamento munito di siringa gas-tight per prelevare determinate quantità di vapore dalle sigarette elettroniche in un tubo di desorbimento termico.



**Tavella V:** Sistema di desorbimento termico Markes UNITY™ e parametri utilizzati per estrarre termicamente aerosol dalle sigarette elettroniche per la determinazione qualitativa e quantitativa dei VOC e SVOC emessi dalle sigarette elettroniche.

Parametri Markes UNITY		
Impostazioni generali		Impostazioni trappola
Modalità di funzionamento	Standard due fasi	Spurgo fiamma pre-trappola 1,0 min
Split di standby	Vero	Flusso 20,0 ml/min
Flusso di standby	5 ml/min	Trappola bassa 0 °C
Temperatura percorso flusso	210 °C	Velocità di riscaldamento Max
Pressione minima gas trasporto	5,0 psi	Trappola alta 320 °C
Tempo ciclo GC	0,0	Manten. trappola 5 min
		Split On Vero
<b>Pre-desorbimento</b>		Split On 20 ml/min
Tempo prespurga	1,0 min	
Trappola in linea	Falso	
Split On	Vero	
Flusso	20 ml/min	
<b>Desorbimento tubo/campione</b>		
Tempo 1	10,0 min	
Temperatura 1	320 °C	
Trappola in linea	Vero	
Split On	Falso	

**Tavella VI:** Curva di calibrazione per calcolare le concentrazioni di vapore determinate in un sistema di desorbimento termico Markes UNITY™.

Standard (ppbv)	Volume iniezione (ml)	Concentrazione di calibrazione (ppbv)
10,0	720	180
10,0	360	90
10,0	120	30
10,0	40	10
10,0	4	1,00

## Analisi in bianco

Nel sistema Markes UNITY™ l'olio è stato utilizzato come carrier gas per il desorbimento termico dei tubi e per la trappola criogenica durante il riscaldamento balistico degli analiti, concentrandosi sulla testa della colonna analitica. La combinazione dell'olio (in assenza di ossigeno) e delle temperature elevate può avere determinato condizioni ideali per la pirolisi del glicole propilenico e/o della glicerina. La pirolisi del glicole propilenico e della glicerina ha dimostrato di produrre formaldeide, acetaldeide e acroleina. Pertanto, sono stati condotti i seguenti esperimenti per valutare eventuali contributi composti dello stesso processo TD-GC-MS: nei tubi in acciaio inox vuoti (cioè, senza sorbenti) e nei tubi di desorbimento termico impaccati (cioè, con sorbenti multistrato) è stato iniettato 1  $\mu$ L di soluzioni per sigarette elettroniche; i tubi sono stati poi analizzati tramite TD-GC-MS. Inoltre, l'aria aspirata attraverso le sigarette elettroniche durante il campionamento veniva dal laboratorio. A causa della natura ubiquitaria di VOC come la formaldeide e il benzene, era fondamentale determinare i contributi di background dei VOC nell'analisi dei vapori. Pertanto, sono stati raccolti periodicamente campioni da 40 ml dell'aria del laboratorio tramite tubi di desorbimento termico e analizzati con lo stesso metodo TD-GC-MS.

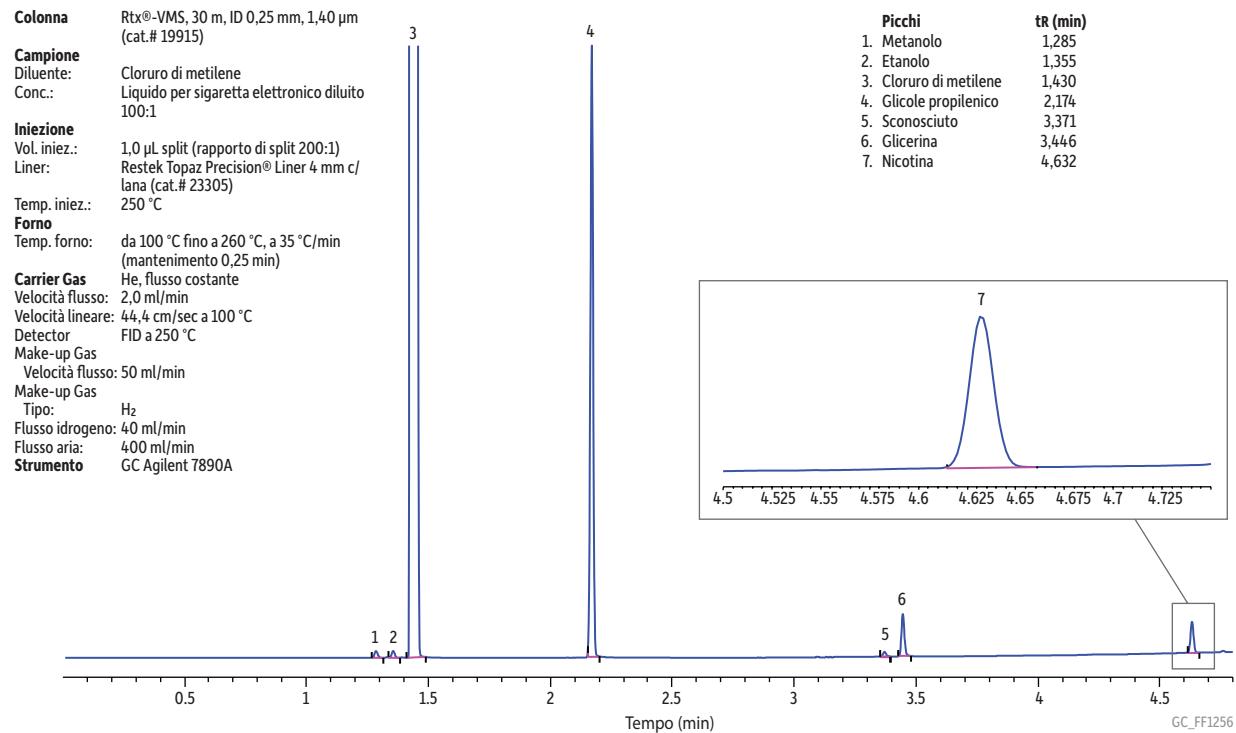
## Risultati e discussione

### Nicotina

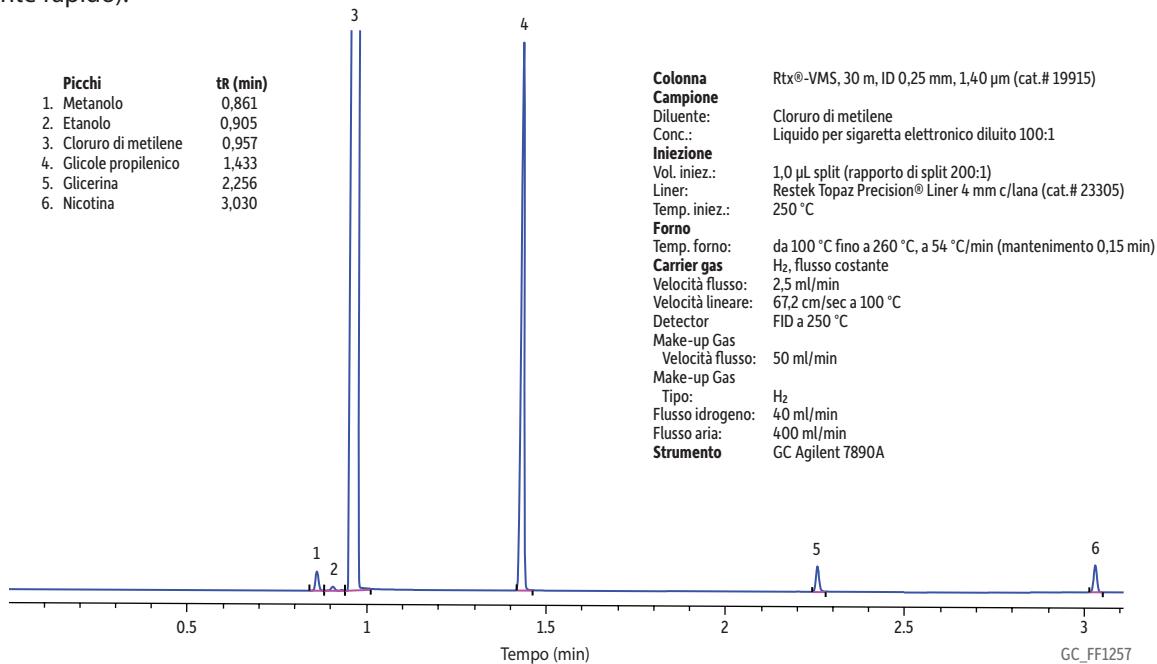
Le analisi delle soluzioni per sigaretta elettronica, come mostrato in figura 2 (olio), figura 3 (idrogeno, gradiente rapido), e figura 4 (idrogeno, gradiente standard), utilizzando le condizioni GC-FID riportate nella Tabella II, hanno consentito la rapida (< 5 minuti di tempo di esecuzione GC) determinazione dei principali componenti chimici. Tutti e quattro i liquidi per sigarette elettroniche dei Vendor contenevano etanolo, glicole propilenico, glicerina e nicotina. È importante notare che tutti e quattro i Vendor riportavano glicole propilenico, glicerina e nicotina; tuttavia, nessuno dei vendor riportava l'impiego di etanolo come ingrediente. Le analisi in bianco hanno mostrato che l'etanolo non derivava da una contaminazione di laboratorio. Il cloruro di metilene è stato utilizzato come diluente per risolvere i problemi di viscosità e concentrazione; da qui, l'abbondante presenza di cloruro di metilene. Come mostrato in figura 5, il metodo GC-FID rapido ha prodotto una calibrazione esterna accettabile della nicotina da 0,016 a 1,00 mg/ml ( $r > 0,995$ ).

Come mostrato nella Tabella VII, il Vendor dichiarava concentrazioni di nicotina inferiori dal 4% al 28% rispetto alle reali concentrazioni di nicotina rilevate. I riferimenti peso/peso nelle etichette sono stati convertiti in valori peso/vol utilizzando la densità misurata di ogni soluzione al fine di consentire un confronto diretto dei valori effettivi determinati analiticamente utilizzando la curva di calibrazione. L'osservazione di un aumento del contenuto di nicotina era coerente con quello che Schober et al. [8] e altri hanno osservato.

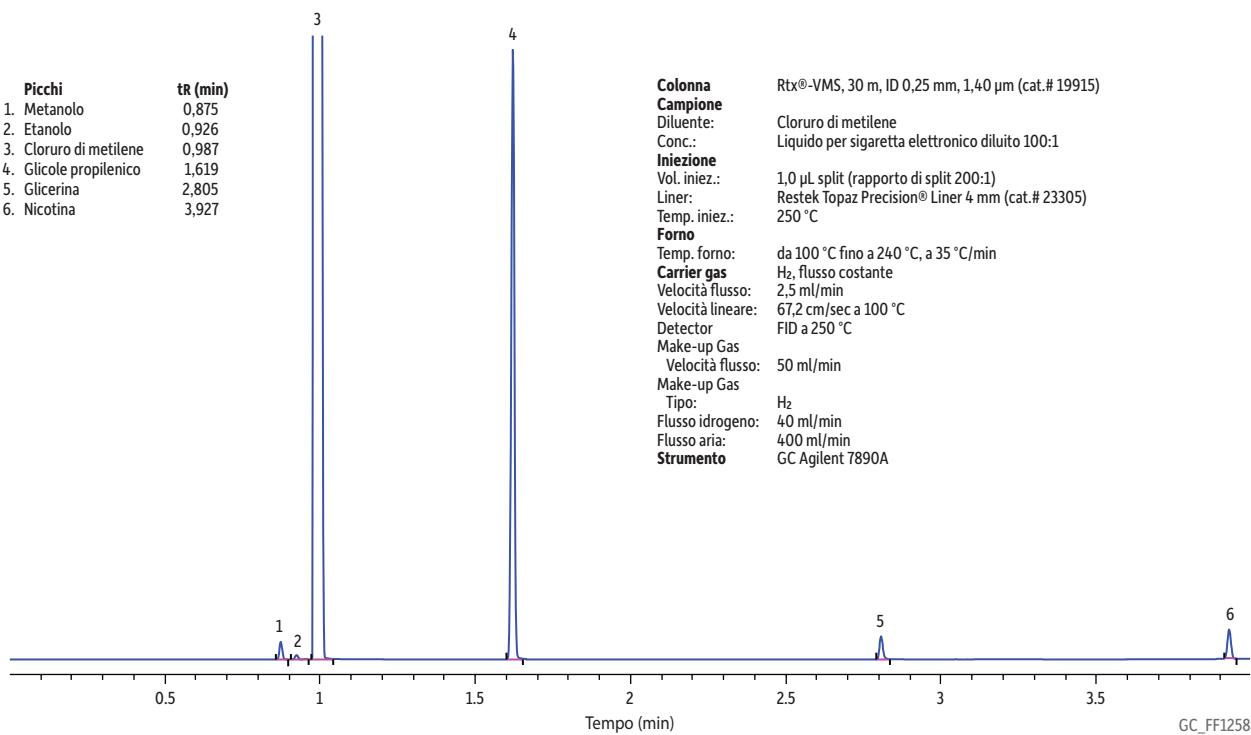
**Figura 2:** Analisi dei principali componenti della soluzione per sigaretta elettronica tramite GC-FID (olio).



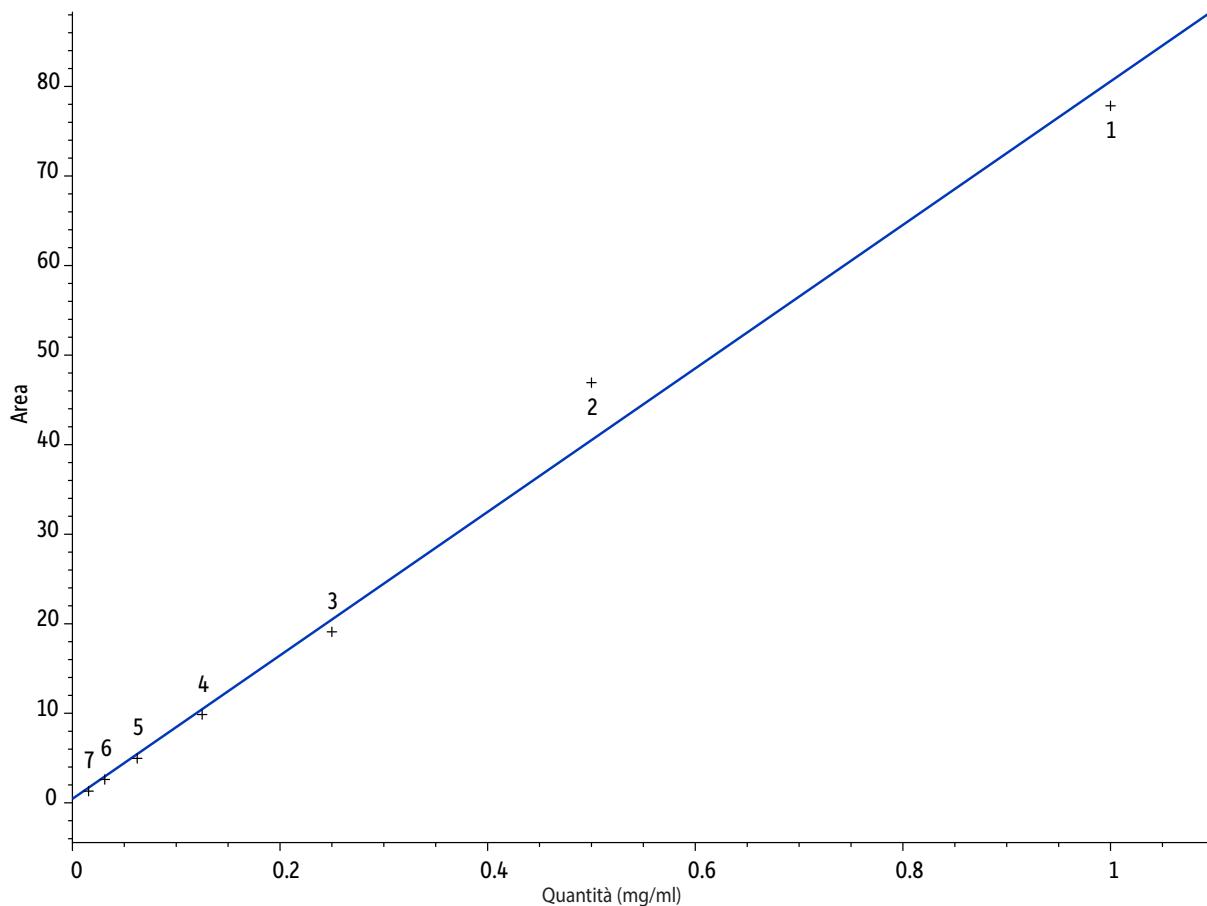
**Figura 3:** Analisi dei principali componenti della soluzione per sigaretta elettronica tramite GC-FID (idrogeno, gradiente rapido).



**Figura 4:** Analisi dei principali componenti della soluzione per sigaretta elettronica tramite GC-FID (idrogeno, gradiente standard).



**Figura 5:** Una risposta lineare è stata ottenuta per la nicotina in un intervallo di concentrazione tra 0,06 e 1,00 mg/ml utilizzando il metodo GC-FID come dimostrato dalla curva di calibrazione esterna ( $r > 0,995$ ).



**Tavella VII:** Concentrazioni di nicotina dichiarate dai Vendor e determinate nello studio corrente per confronto diretto con gli standard di nicotina pura tramite GC-FID.

Vendor	Nicotina dichiarata dal venditore (mg/ml) <sup>^</sup>	Nicotina (mg/ml) determinata*	Differenza %
A	20,1	23,4	17%
B	14,2	14,8	4%
C	14,4	17,4	21%
D	20,3	26,0	28%

<sup>^</sup> Calcolata in base alla densità determinata.

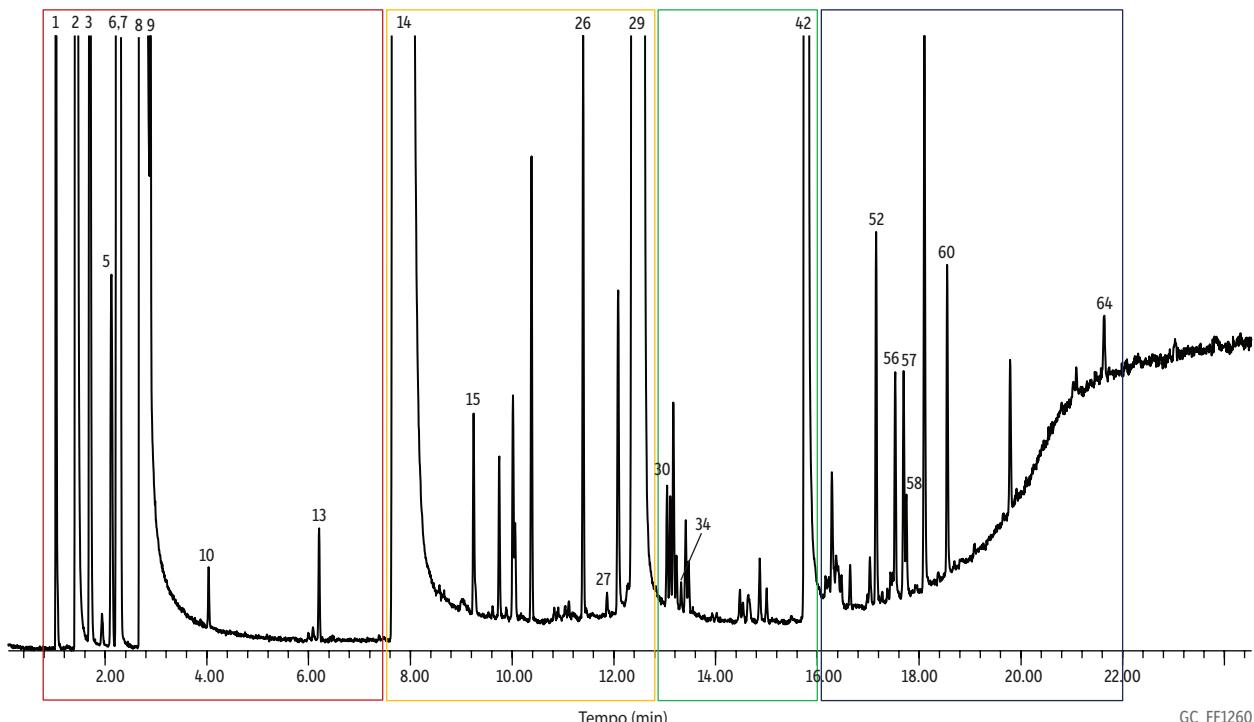
\* Media di 3 analisi.

#### Impurezze nelle soluzioni per sigarette elettroniche

Come mostrato in figura 6, l'analisi delle soluzioni per sigaretta elettronica ha rivelato che contenevano numerosi composti oltre a quelli dichiarati dal Vendor, ovvero glicole propilenico, glicerina e nicotina. Per la soluzione illustrata nella figura 6 (Vendor A) erano presenti all'interno della soluzione per sigarette elettroniche 64 composti non identificati e identificati (alcuni solo provvisoriamente). I composti sono stati classificati come "identificati" se verificati in un'analisi successiva con uno standard esterno con tempi di ritenzione e spettro di massa corrispondenti. I composti sono stati classificati come "provvisoriamente identificati", quando la qualità dello spettro di massa ha raggiunto almeno l'80% secondo il database NIST 2011 [14]. Diverse pirazine sono state identificate provvisoriamente, coerentemente con gli aromi aggiunti dal produttore. Ad esempio, l'acetylpirazina, identificata provvisoriamente, è un aromatizzante ben noto nella produzione di aromi/profumi di "noce". Inoltre, sono state identificate diverse piridine, coerentemente con la nicotina derivata dal tabacco. Ad esempio, la 3-(3,4-diidro-2H-pirrol-5-il)-piridina (miosmina) è stata identificata provvisoriamente; si tratta di un composto alcaloide presente nel tabacco [15]. È importante notare che quasi la metà (36) dei composti non è stata identificata; il lavoro dovrebbe ora concentrarsi sull'identificazione di questi composti.

**Figura 6:** L'analisi della soluzione per sigaretta elettronica (e-juice) mediante GC-MS ha rivelato la presenza di numerosi componenti in aggiunta ai composti elencati sulle etichette dei prodotti.

Picchi	tx (min)	Corrispondenza	Liquido	Bianco	Regione	Picchi	tx (min)	Corrispondenza	Liquido	Bianco	Regione
		Valore	EC					Valore	EC		
1. Azoto/ossigeno/anidride carbonica	1,051	100	x	x	Rosso	33. Non identificato	13,229	x			Verde
2. Acqua	1,441	100	x	x	Rosso	34. 1-(3-piridinil)etanone	13,321	94	x		Verde
3. Metanolo	1,709	100	x	x	Rosso	35. Non identificato	13,412	x			Verde
4. Non identificato	1,934		x	x	Rosso	36. Non identificato	13,463	x			Verde
5. cis-1,2-dimetilciclopropano	2,117	94	x	x	Rosso	37. Non identificato	14,479	x			Verde
6. Etanolo	2,239	100	x	x	Rosso	38. Non identificato	14,534	x			Verde
7. 1,1-dicloroetilene	2,282	94	x	x	Rosso	39. Non identificato	14,643	x			Verde
8. Cloruro di metilene	2,757	100	x	x	Rosso	40. Non identificato	14,863	x			Verde
9. 1,2-dicloroetilene	2,891	94	x	x	Rosso	41. Non identificato	15,003	x			Verde
10. Etilacetato	4,037	91	x	x	Rosso	42. Nicotina	15,800	100	x		Verde
11. Non identificato	6,000		x		Rosso	43. Non identificato	16,161	x			Blu
12. Non identificato	6,085		x		Rosso	44. Non identificato	16,222	x			Blu
13. Toluene	6,207	100	x		Rosso	45. $\alpha$ -damascone	16,289	95	x		Blu
14. Glicole propilenico	7,853	100	x		Arancio	46. Non identificato	16,374	x			Blu
15. 2,3-dimetilpirazina	9,243	91	x		Arancio	47. Non identificato	16,417	x			Blu
16. Non identificato	9,615		x		Arancio	48. Non identificato	16,478	x			Blu
17. Non identificato	9,713		x		Arancio	49. Non identificato	16,643	x			Blu
18. Non identificato	9,889		x		Arancio	50. Non identificato	16,984	x			Blu
19. Non identificato	10,017		x		Arancio	51. Non identificato	17,033	x			Blu
20. Non identificato	10,060		x		Arancio	52. Miosmina	17,155	95	x		Blu
21. Trimetilpirazina	10,383	94	x		Arancio	53. Non identificato	17,276	x			Blu
22. Non identificato	10,828		x		Arancio	54. Non identificato	17,380	x			Blu
23. Non identificato	10,907		x		Arancio	55. Non identificato	17,441	x			Blu
24. Non identificato	11,047		x		Arancio	56. Nicotina 1-N-ossido	17,533	93	x		Blu
25. Non identificato	11,114		x		Arancio	57. Anabasina	17,697	98	x		Blu
26. Acetilpirazina	11,394	95	x		Arancio	58. Nicotirina	17,752	91	x		Blu
27. N-(1-metiletil)benzenammina	11,864	80	x		Arancia	59. Non identificato	18,105	x			Blu
28. Glicole dipropilenico	12,071	91	x		Arancio	60. 2,3-dipiridile	18,550	97	x		Blu
29. Glicerina	12,473	100	x		Arancio	61. Non identificato	19,788	x			Blu
30. Glicole dipropilenico metiletere	13,040	80	x		Verde	62. Non identificato	21,025	x			Blu
31. Non identificato	13,107	x			Verde	63. Non identificato	21,092	x			Blu
32. Non identificato	13,168	x			Verde	64. Cottinina	21,635	91	x		Blu



GC\_FF1260

<b>Colonna</b>	Rtx®-VMS, 30 m, ID 0,25 mm, 1,40 $\mu$ m (cat.# 19915)	<b>Forno</b>	Temp. forno: da 35 °C (mantenimento 1 min) fino a 250 °C, a 11 °C/min (mantenimento 4 min)	<b>Linea di trasferimento</b>	Temp.: 250 °C
<b>Campione</b>		<b>Carrier Gas</b>	He, flusso costante	<b>Tipo analizzatore:</b> Quadrupolo	
Diluente:	Cloruro di metilene	Velocità flusso:	2,0 ml/min	<b>Tipo sorgente:</b> Estrattore	
Conc.:	Liquido per sigaretta elettronico diluito 2:1	Velocità lineare:	51,15 cm/sec a 35 °C	<b>Lente estrattore:</b> ID 6 mm	
<b>Iniezione</b>		<b>Detector</b>	MS	<b>Temp. sorgente:</b> 230 °C	
Vol. iniez.:	1 $\mu$ L split (rapporto di split 10:1)	Modalità:	Scan	<b>Temp. quad.:</b> 150 °C	
Liner:	Restek Topaz Precision® Liner 4 mm c/lana (cat.# 23305)	Programma scan:	Gruppo 1	<b>Energia elettronici:</b> 70 eV	
Temp. iniez.:	250 °C	Tempo inizio (min)	0	<b>Tipo calibrazione:</b> BFB	
		Intervallo scan (amu)	15-550	<b>Modalità ionizzazione:</b> EI	
		Velocità scan (sec/sec)	5,2	<b>Strumento:</b> GC Agilent 7890B e MSD 5977A	

## Vapore

Come mostrato in figura 7, il dispositivo di campionamento semplice (figura 1) è stato in grado di aspirare correttamente il vapore delle sigarette elettroniche all'interno del tubo di desorbimento termico e fornire livelli rilevabili dei VOC e SVOC da una singola svapata di 40 ml. Come osservato nello studio sulle impurezze, è chiaro che vi erano numerosi composti (cioè, 82 non identificati e identificati [alcuni solo provvisoriamente]) nel vapore delle sigarette elettroniche oltre al glicole propilenico, la glicerina e la nicotina. Tuttavia, l'analisi del vapore ha rivelato la presenza di 18 composti in aggiunta a quelli trovati nell'analisi del liquido. Di particolare interesse era la presenza di formaldeide, acetaldeide, acroleina e xileni, così come di diversi silossani. Il rilevamento di questi tre carbonili (formaldeide, acetaldeide e acroleina) era coerente con quanto osservato da Goniewicz et al. [7] e Kosmider et al. [9].

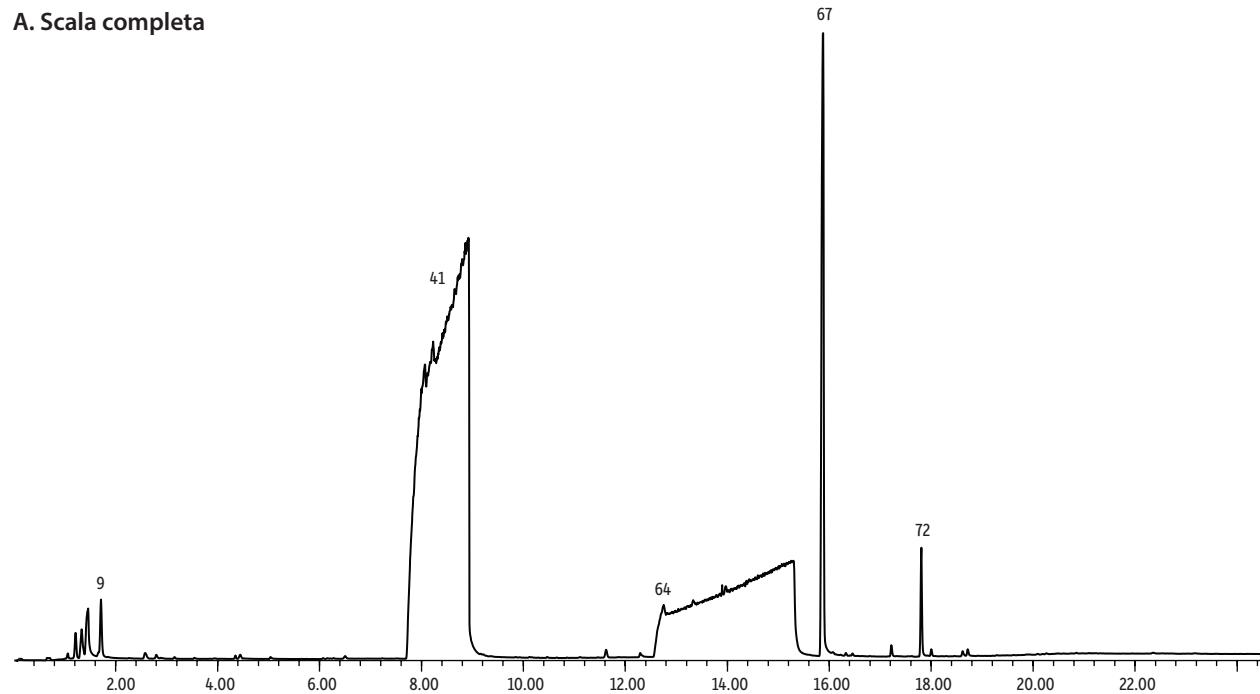
Queste osservazioni sono significative per due motivi: 1. Tutti e tre questi carbonili sono altamente tossici; inoltre, la formaldeide è un noto agente cancerogeno per gli esseri umani [16] e l'acetaldeide è probabilmente cancerogeno per gli esseri umani [17]. 2. Questi composti non erano presenti nell'e-juice, il che indica che sono stati generati durante il processo di vaporizzazione e/o dai materiali delle sigarette elettroniche. Questo è coerente con il fatto che la pirolisi della glicerina porta alla formazione di formaldeide, acetaldeide e acroleina [18]. Questo è anche coerente con il fatto che i polisilossani sono spesso utilizzati come additivi per materie plastiche e la maggior parte delle sigarette elettroniche di prima generazione, come quelle valutate in questo studio, hanno corpi in plastica. Quanto detto ha effetti profondi sulla valutazione delle sigarette elettroniche, soprattutto se si considera che gli utilizzatori finali sono esposti, alla fine, al vapore delle sigarette elettroniche piuttosto che al liquido.

Inoltre, l'acroleina non è stata trovata nelle soluzioni per sigaretta elettronica. Tuttavia, l'acroleina è stata trovata nel vapore di tutte e quattro le sigarette elettroniche analizzate nell'ambito del presente studio. La concentrazione di acroleina variava da 1,5 a 6,7 ppmv per svapate da 40 ml (0,003-0,015 µg/ml), che è paragonabile agli 0,004 µg/ml riportati da Goniewicz et al. [7]. Per inquadrare queste concentrazioni, esse superavano il limite di esposizione a breve termine (STEL) previsto dal National Institute of Occupational Safety and Health (NIOSH), pari a 350 ppbv. Inoltre, presumendo svapate da 40 ml e da 400 a 500 svapate per sigarette elettroniche (valori suggeriti da diversi produttori di sigarette elettroniche), ciascuna sigaretta genererebbe da ~20 a ~230 µg di acroleina. Dal punto di vista della salute umana, le emissioni di acroleina osservate nel presente studio sembrano essere in linea con quanto precedentemente riportato per le sigarette tradizionali a base di tabacco (da 3 a 220 µg di acroleina/sigaretta) [19]. Gli standard di formaldeide e acetaldeide non erano disponibili al momento della pubblicazione della presente nota applicativa. Tuttavia, le aree dei picchi erano dello stesso ordine di grandezza dell'acroleina, suggerendo in tal modo che la loro concentrazione fosse paragonabile, coerentemente anche con quanto riferito da Goniewicz et al. [7].

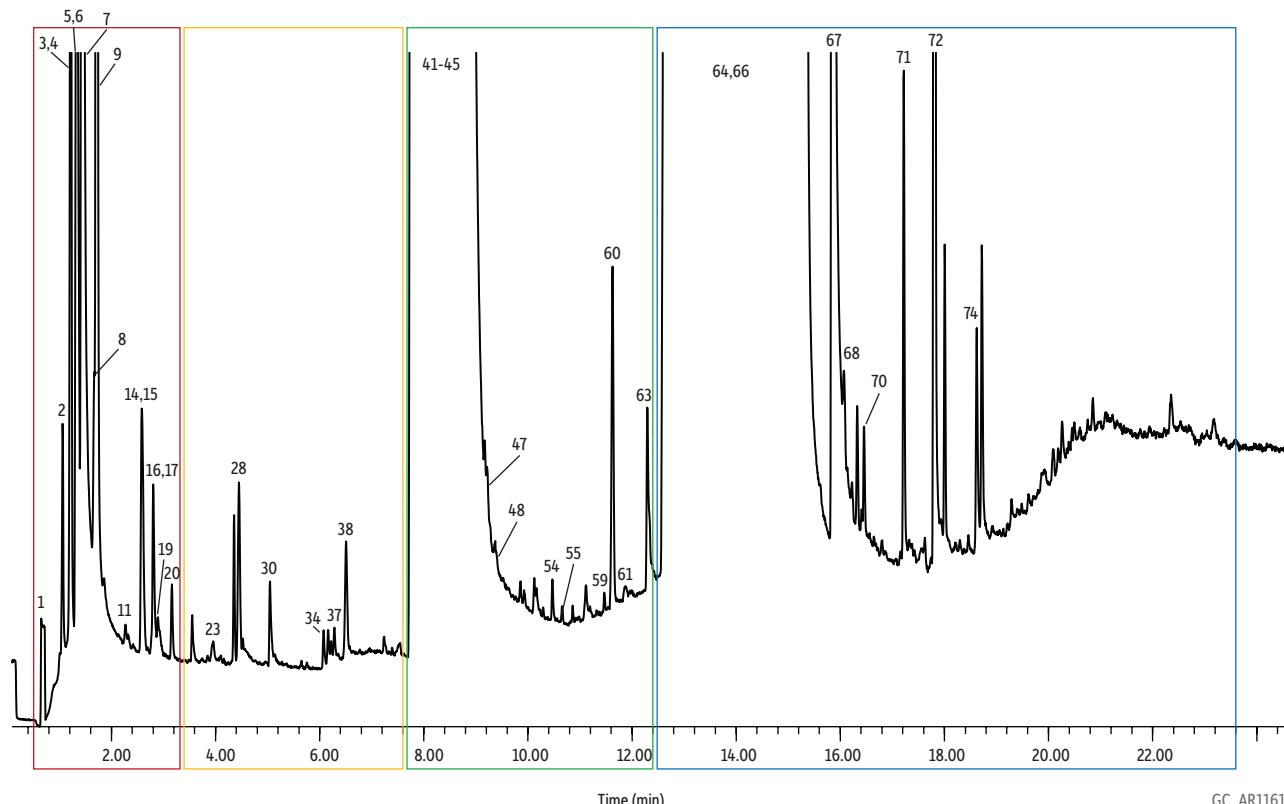
Attualmente, la Food and Drug Administration (FDA) americana non ha alcuna autorità di regolamentazione sulle sigarette elettroniche. Tuttavia, la FDA riconosce che le sigarette elettroniche, i rischi ad esse associati, i livelli di nicotina e tutte le sostanze chimiche potenzialmente dannose inalate, non sono stati studiati "in maniera completa". Pertanto, la FDA ha pubblicato una proposta di regolamento per estendere la propria autorità alle sigarette elettroniche [20]. Indipendentemente dall'autorità della FDA sulle sigarette elettroniche, emerge chiaramente dalla presente ricerca e da altri studi che quello delle sigarette elettroniche non è un mondo pienamente compreso. Tuttavia, sembra che le sigarette elettroniche non siano prive di rischi per la salute degli esseri umani. Sarebbe importante che, come dimostra questo lavoro, in fase di progettazione di studi futuri sulle sigarette elettroniche, i ricercatori prendessero in seria considerazione la differenza tra l'analisi delle soluzioni per sigaretta elettronica e l'analisi del vapore prodotto dalle sigarette elettroniche, in quanto è stato dimostrato che i loro profili chimici differiscono.

**Figura 7:** Una singola svapata da 40 ml raccolta in un tubo di desorbimento termico e analizzata tramite GC-MS.

**A. Scala completa**



**B. Ingrandimento della linea di base**



**Figura 7: Lista dei picchi**

Picchi	tx (min)	Valore corrispondenza	Vapore	Bianco*	Regione	Picchi	tx (min)	Valore corrispondenza	Vapore	Bianco*	Regione
1. Azoto/ossigeno	0,685	100	x	x	Rosso	43. <i>p</i> -xilene	8,048	100	x	Verde	
2. Anidride carbonica	1,063	100	x	x	Rosso	44. <i>o</i> -xilene	8,530	100	x	Verde	
3. Propene	1,200	100	x		Rosso	45. Stirene	8,597	100	x	Verde	
4. Formaldeide	1,227	100	x		Rosso	46. Non identificato	9,158		x	Verde	
5. Anidride solforosa	1,313	90	x		Rosso	47. Ottametilciclotetrasilossano	9,218	91	x	Verde	
6. Clorometano	1,380	100	x		Rosso	48. 4-metil-1-(1-metiletil)cicloesene	9,371	95	x	Verde	
7. Acqua	1,453	100	x	x	Rosso	49. Non identificato	9,639		x	Verde	
8. Acetaldeide	1,672	100	x		Rosso	50. Non identificato	9,852		x	Verde	
9. Metanolo	1,715	100	x	x	Rosso	51. Non identificato	9,932		x	Verde	
10. Non identificato	1,885		x		Rosso	52. Non identificato	10,121		x	Verde	
11. Etanolo	2,270	100	x	x	Rosso	53. Non identificato	10,219		x	Verde	
12. Non identificato	2,331		x		Rosso	54. Trimetilpirazina	10,468	80	x	Verde	
13. Non identificato	2,410		x		Rosso	55. Benzaldeide	10,657	100	x	Verde	
14. Acroleina	2,581	100	x		Rosso	56. Non identificato	10,858		x	Verde	
15. Propanale	2,629	100	x		Rosso	57. Non identificato	11,120		x	Verde	
16. Cloruro di metilene	2,770	100	x	x	Rosso	58. Non identificato	11,187		x	Verde	
17. Acetone	2,843	100	x		Rosso	59. Acetilpirazina	11,541	93	x	Verde	
18. Non identificato	2,892		x		Rosso	60. Decametilciclopentasilossano	11,620	91	x	Verde	
19. Esano	2,928	100	x		Rosso	61. Fenolo	11,870	94	x	Verde	
20. Acetonitrile	3,160	100	x	x	Rosso	62. Non identificato	12,272		x	Verde	
21. Non identificato	3,544		x		Arancio	63. 1,1'-ossibis-2-propanolo	12,333	90	x	Verde	
22. Non identificato	3,842		x		Arancio	64. Glicerina	12,748	100	x	Blu	
23. Trimetilsilanol	3,928	100	x		Arancio	65. Non identificato	13,327		x	Blu	
24. Non identificato	4,092		x		Arancio	66. Dodecametilcicloesasilossano	13,979	94	x	Blu	
25. Non identificato	4,159		x		Arancio	67. Nicotina	15,862	100	x	Blu	
26. Non identificato	4,245		x		Arancio	68. Tetradecametilcicloesasilossano	16,082	91	x	Blu	
27. Non identificato	4,354		x		Arancio	69. Non identificato	16,326		x	Blu	
28. Benzeno	4,452	100	x	x	Arancio	70. Non identificato	16,460		x	Blu	
29. Non identificato	4,519		x		Arancio	71. Miosmina	17,216	94	x	Blu	
30. Acido acetico	5,055	86	x		Arancio	72. Nicotirina	17,807	90	x	Blu	
31. Non identificato	5,141		x		Arancio	73. Non identificato	18,002		x	Blu	
32. Non identificato	5,647		x		Arancio	74. 2,3-dipiridile	18,618	94	x	Blu	
33. Non identificato	5,756		x		Arancio	75. Non identificato	18,721		x	Blu	
34. 1-idrossi-2-propanone	6,073	80	x		Arancio	76. Non identificato	19,294		x	Blu	
35. Non identificato	6,165		x		Arancio	77. Non identificato	19,611		x	Blu	
36. Non identificato	6,220		x		Arancio	78. Non identificato	20,093		x	Blu	
37. Toluene	6,280	100	x	x	Arancio	79. Non identificato	20,190		x	Blu	
38. Esametilciclotrisilossano	6,506	91	x		Arancio	80. Non identificato	20,269		x	Blu	
39. Non identificato	7,231		x		Arancio	81. Non identificato	20,501		x	Blu	
40. Non identificato	7,530		x		Arancio	82. Non identificato	20,855		x	Blu	
41. Glicole propilenico	7,737	100	x		Verde						
42. <i>m</i> -xilene	8,048	100	x		Verde						

\* Le concentrazioni di questi composti presenti nel vapore delle sigarette elettroniche erano troppo vicine alle concentrazioni delle prove in bianco e/o dell'aria di laboratorio per affermare in maniera definitiva che fossero emessi dalle sigarette elettroniche.

<b>Colonna</b>	Rtx®-VMS, 30 m, ID 0,25 mm, 1,40 µm (cat.# 19915)			
<b>Campione</b>				
Conc.:	Una svapata da 40 ml del vapore di una sigaretta elettronica prelevata tramite siringa gas-tight per replicare la svapata			
<b>Iniezione</b>	Diretta			
<b>Forno</b>				
Temp. forno:	da 35 °C (mantenimento 1 min) fino a 250 °C, a 11 °C/min (mantenimento 4 min)			
<b>Carrier Gas</b>	He, flusso costante			
Velocità flusso:	2,0 ml/min a 35 °C			
<b>Detector</b>	MS			
Modalità:	Scan			
Programma scan:				
	Gruppo	Tempo inizio (min)	Intervallo scan (amu)	Velocità scan (scan/sec)
	1	0	15-550	5,2
Linea di trasferimento				
Temp.:	250 °C			
Tipo analizzatore:	Quadrupolo			
Tipo sorgente:	Estrattore			
Lente estrattore:	ID 6 mm			
Temp. sorgente:	230 °C			
Temp. quad.:	150 °C			
Energia elettroni:	70 eV			
Tipo calibrazione:	BFB			
Modalità ionizzazione:	EI			
<b>Preconcentratore</b>	Markes UNITY™			
<b>Strumento</b>	GC Agilent 7890B e MSD 5977A			
<b>Ringraziamenti</b>	Markes			

### **Analisi in bianco**

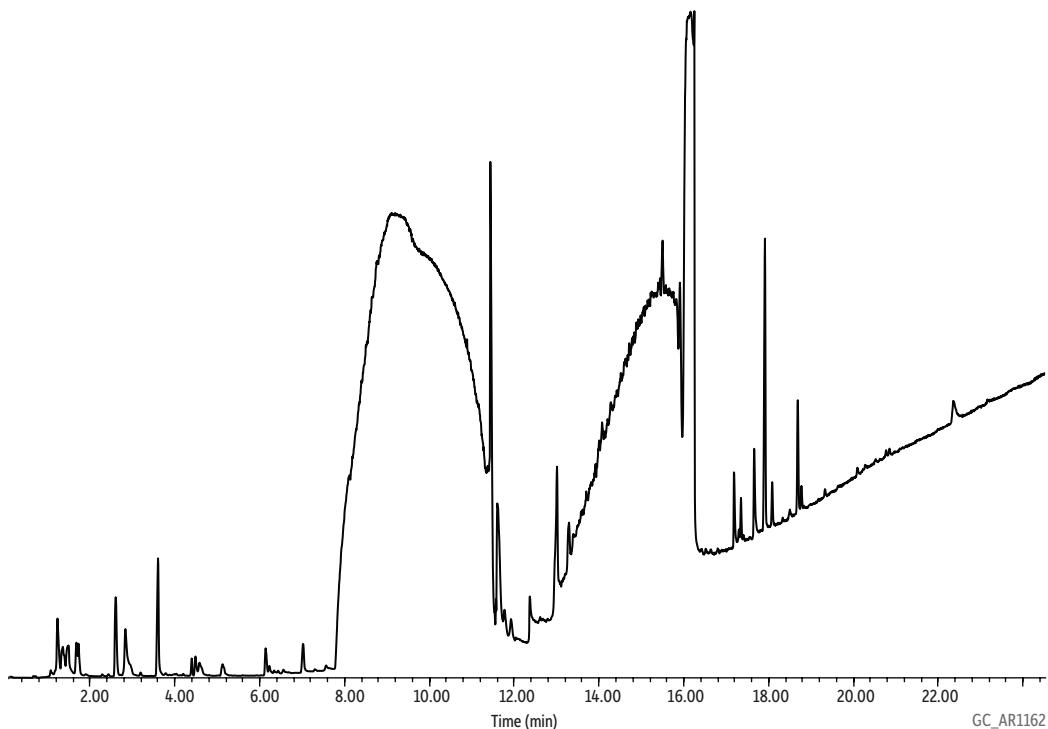
Le aliquote da 1  $\mu\text{L}$  di soluzioni per sigaretta elettronica iniettate in tubi di acciaio inossidabile vuoti (cioè senza sorbenti) e analizzate mediante il metodo TD-GC-MS hanno portato alla formazione di formaldeide, acetaldeide e acroleina. Tuttavia, la concentrazione di questi tre composti non è aumentata quando le aliquote di 1  $\mu\text{L}$  delle soluzioni per sigarette elettroniche sono state iniettate in tubi di desorbimento termico impaccati (cioè con sorbenti multistrato) e analizzate mediante il metodo TD-GC-MS. Le due suddette osservazioni sono coerenti con l'ipotesi che la pirolisi del glicole propilenico e/o della glicerina stesse avvenendo all'interno del sistema TD-GC-MS e non del tubo di desorbimento termico (cioè, nello strato multi-sorbente). Tuttavia, non era chiaro dove si svolgeva la pirolisi (cioè, sulla trappola criogenica durante il riscaldamento balistico o nelle linee di trasferimento riscaldate) nel sistema TD-GC-MS. A prescindere, la pirolisi è stata responsabile del 14-23% delle concentrazioni di formaldeide, acetaldeide e acroleina nel vapore, come osservato nel presente studio. I contributi percentuali riportati sono stati approssimati confrontando i rapporti carbonile/nicotina ottenuti da tubi in acciaio inossidabile vuoti e da tubi di desorbimento termico impaccati rispetto alle svapate campione da 40 ml. Inoltre, l'aria del laboratorio a volte è stata fonte di alcuni VOC; tuttavia, questi livelli (cioè, ppbv basse) sono stati spesso ben al di sotto dei livelli delle sigarette elettroniche (cioè, ppmv da basse a medie). In futuro, i ricercatori dovrebbero tenere in considerazione le concentrazioni nell'aria del laboratorio e la potenziale pirolisi all'interno del sistema TD-GC-MS, ed effettuare le regolazioni necessarie nei loro limiti di rilevamento e/o correzioni di background. Ciò era fuori del campo di applicazione del presente studio; tuttavia, in futuro ci si dovrebbe concentrare sulla riduzione del contributo della pirolisi, regolando le temperature nelle linee, la velocità di riscaldamento, la velocità di flusso, ecc.

### **Vantaggi/Limiti/Ricerca futura**

Ricercatori come Goniewicz et al. hanno avuto accesso a macchine per il fumo specializzate, che hanno permesso di ricreare regimi "realistici" di fumo (ad esempio, una svapata di 1,8 secondi con 10 secondi di intervallo tra le svapate). Questi regimi di fumo possono rivelare più informazioni sul vapore delle sigarette elettroniche e/o essere più precisi rispetto al dispositivo di campionamento semplice (figura 1), utilizzato in questo studio. Tuttavia, il presente lavoro è significativo in quanto non sono state necessarie svapate multiple perché le attuali tecniche analitiche hanno dimostrato la rivelabilità da una singola svapata da 40 ml. Infatti, è importante notare che un regime di fumo con svapate di 4 secondi inframmezzate da intervalli di 10 secondi per 10 svapate, è stato eseguito manualmente con il dispositivo di campionamento semplice (Figura 1). I risultati di questo campione da 10 svapate sono mostrati in figura 8. Il campione da 10 svapate ha rivelato alcuni composti che eluiscono precocemente (cioè identificati, identificati provvisoriamente, e non identificati), che non sono stati identificati nella singola svapata (Figura 7). Tuttavia, i picchi di glicole propilenico e glicerina, che erano già sovraccarichi nella svapata campione singola, sono aumentati talmente tanto nel campione da 10 svapate che la maggior parte dei picchi precedentemente identificati nella svapata singola sono stati persi a causa di interferenze con il glicole propilenico e la glicerina. Inoltre, questo sovraccarico di glicole propilenico e glicerina ha contaminato il sistema di desorbimento termico Markes UNITY™, richiedendo così una lunga pulizia per evitare l'effetto carryover.

Come accennato in precedenza nella discussione dei risultati delle prove in bianco, in futuro i ricercatori dovranno tenere in considerazione le potenziali condizioni di pirolisi all'interno del sistema TD-GC-MS e come queste possano influenzare le concentrazioni di formaldeide, acetaldeide e acroleina nel vapore. Sono disponibili approcci alternativi al campionamento/analisi (ad esempio, sorbenti solidi rivestiti con DNPH) per questi carbonili, che evitano i problemi di pirolisi; tuttavia, comportano lo svantaggio significativo di lunghe estrazioni dei solventi l'impossibilità di eseguire la scansione di un gran numero di composti (ad esempio, gli 82 VOC/SVOC osservati nel presente studio) in una svapata singola da 40 ml. Il lavoro futuro tramite TD-GC-MS sul vapore delle sigarette elettroniche dovrebbe concentrarsi sull'ottimizzazione dei parametri di desorbimento termico al fine di ridurre i contributi della pirolisi regolando le temperature delle linee, la velocità di riscaldamento, la velocità di flusso, ecc. In generale, l'attuale metodo è adatto ad uno screening semplice e rapido del vapore delle sigarette elettroniche per un gran numero di VOC e SVOC.

**Figura 8:** Dieci svapate da 40 ml raccolte in un tubo di desorbimento termico e analizzate tramite GC-MS.



<b>Colonna</b>	Rtx®-VMS, 30 m, ID 0,25 mm, 1,40 µm (cat.# 19915)
<b>Campione</b>	Dieci svapate da 40 ml del vapore di una sigaretta elettronica prelevate tramite siringa gas-tight per replicare la svapata
<b>Conc.:</b>	Diretta
<b>Iniezione</b>	
<b>Forno</b>	da 35 °C (mantenimento 1 min) fino a 250 °C, a 11 °C/min (mantenimento 4 min)
<b>Temp. forno:</b>	
<b>Carrier Gas</b>	He, flusso costante
<b>Velocità flusso:</b>	2,0 ml/min a 35 °C
<b>Detector</b>	MS
<b>Modalità:</b>	Scan
<b>Programma scan:</b>	Tempo inizio Intervallo scan Velocità scan
	Gruppo (min) (amu) (scan/sec)
	1 0 15-550 5,2
<b>Temp. transfer line:</b>	250 °C
<b>Tipo analizzatore:</b>	Quadrupolo
<b>Tipo sorgente:</b>	Estrattore
<b>Lente estrattore:</b>	ID 6 mm
<b>Temp. sorgente:</b>	230 °C
<b>Temp. quad.:</b>	150 °C
<b>Energia elettroni:</b>	70 eV
<b>Tipo calibrazione:</b>	BFB
<b>Modalità ionizzazione:</b>	EI
<b>Preconcentratore</b>	Markes UNITY™
<b>Strumento</b>	Agilent 7890B GC e 5977A MSD
<b>Ringraziamenti</b>	Markes

## Conclusioni

Con la sempre maggiore popolarità delle sigarette elettroniche, l'attenzione pubblica si sta rapidamente spostando verso il tema della sicurezza dei consumatori. Mentre la ricerca fino ad oggi si è concentrata principalmente sull'analisi dei componenti delle soluzioni per sigarette elettroniche, i dati qui presentati indicano la necessità di ulteriori ricerche sostanzialmente sul profilo chimico dei campioni di vapore. A tal fine, questo studio ha incluso lo sviluppo di metodi analitici per entrambi i campioni di soluzione e vapore. Tutti e tre i metodi sviluppati nel corso dello studio prevedevano l'utilizzo di una colonna Rtx®-VMS - fase proprietaria di Restek - che è stata scelta per ridurre le risorse necessarie e permettere un facile confronto dei risultati.

Per le soluzioni per sigarette elettroniche, sono state impiegate metodologie GC-FID rapide che utilizzano elio o idrogeno come carrier gas, per la determinazione del contenuto di nicotina. Queste metodologie sarebbero adatte per il controllo rapido della qualità delle soluzioni per sigaretta elettronica. Inoltre, è stato sviluppato un semplice metodo di GC-MS per determinare le impurezze presenti nelle soluzioni per sigarette elettroniche. I risultati hanno mostrato che le soluzioni per sigaretta elettronica contenevano numerosi composti in aggiunta a quelli riportati sull'etichetta dal Vendor (glicole propilenico, glicerina e nicotina). In questo studio, i profili delle soluzioni per sigarette elettroniche hanno rivelato la presenza di 64 composti identificati (alcuni solo temporaneamente) e non identificati, in aggiunta ai soli tre riportati in etichetta.

Per analizzare i campioni di vapore, è stato sviluppato un dispositivo di campionamento semplice ma innovativo per catturare il vapore delle sigarette elettroniche in un tubo di desorbimento termico, che è stato poi estratto termicamente e analizzato tramite un metodo GC-MS. Questo approccio ha fornito livelli rilevabili di 82 VOC e SVOC da una singola svapata da 40 ml e può essere facilmente implementato da laboratori che non hanno accesso ad una macchina per il fumo. In particolare, alcuni dei composti trovati sono noti per essere dannosi per la salute dell'uomo. Questi composti sono stati rilevati nel vapore, ma non nella soluzione delle sigarette elettroniche; ciò indica che sono stati prodotti durante il processo di vaporizzazione.

È chiaro quindi che le soluzioni per sigaretta elettronica e, ancora più importante, i vapori, contengono numerosi composti in aggiunta agli ingredienti riportati sull'etichetta del prodotto. Dal momento che questi composti hanno potenziali conseguenze sulla salute umana, la comunità scientifica ha bisogno di porre maggiormente l'accento sull'analisi dei vapori per individuare in via definitiva le sostanze chimiche presenti e determinare in che modo i tipici modelli di utilizzo sono collegati ai limiti di esposizione per la salute umana.

## Ringraziamenti

Markes International Inc., 11126-D Kenwood Road, Cincinnati, OH 45242

## Riferimenti

- [1] A. Trtchounian, M. Williams, P. Talbot, Conventional and electronic cigarettes (e-cigarettes) have different smoking characteristics, *Nicotine Tob Res* 12 (2010) 905.
- [2] C.J. Brown, J.M. Cheng, Electronic cigarettes: product characterisation and design considerations, *Tob Control* 23 Suppl 2 (2014) ii4.
- [3] J.K. Pepper, T. Eissenberg, Waterpipes and Electronic Cigarettes: Increasing Prevalence and Expanding Science, *Chemical Research in Toxicology* 27 (2014) 1336.
- [4] K.E. Farsalinos, G. Romagna, D. Tsiapras, S. Kyriopoulos, V. Voudris, Evaluating nicotine levels selection and patterns of electronic cigarette use in a group of "vapers" who had achieved complete substitution of smoking, *Subst Abuse* 7 (2013) 139.
- [5] C. Bullen, C. Howe, M. Laugesen, H. McRobbie, V. Parag, J. Willman, N. Walker, Electronic cigarettes for smoking cessation: a randomised controlled trial, *Lancet* 382 (2013) 1629.
- [6] P. Caponnetto, D. Campagna, F. Cibella, J.B. Morjaria, M. Caruso, C. Russo, R. Polosa, Efficiency and Safety of an eElectronic cigAreTte (ECLAT) as tobacco cigarettes substitute: a prospective 12-month randomized control design study, *PLoS One* 8 (2013) e66317.
- [7] M.L. Goniewicz, J. Knyshak, M. Gawron, L. Kosmider, A. Sobczak, J. Kurek, A. Prokopowicz, M. Jablonska-Czapla, C. Rosik-Dulewska, C. Havel, P. Jacob III, N. Benowitz, Levels of selected carcinogens and toxicants in vapour from electronic cigarettes, *Tob Control* 23 (2014) 133.
- [8] W. Schober, K. Szendrei, W. Matzen, H. Osiander-Fuchs, D. Heitmann, T. Schettgen, R.A. Jorres, H. Fromme, Use of electronic cigarettes (e-cigarettes) impairs indoor air quality and increases FeNO levels of e-cigarette consumers, *Int J Hyg Environ Health* 217 (2014) 628.
- [9] L. Kosmider, A. Sobczak, M. Fik, J. Knyshak, M. Zacierka, J. Kurek, M.L. Goniewicz, Carbonyl compounds in electronic cigarette vapors: effects of nicotine solvent and battery output voltage, *Nicotine Tob Res* 16 (2014) 1319.
- [10] E-Cig Reviews on the Best E-Cigarettes of 2014, Ecigarette Reviewed (2014). <http://ecigarettereviewed.com> (Accessed January 12, 2015).
- [11] K.E. Farsalinos, R. Polosa, Safety evaluation and risk assessment of electronic cigarettes as tobacco cigarette substitutes: a systematic review, *Ther Adv Drug Saf* 5 (2014) 67.
- [12] K.E. Farsalinos, G. Romagna, D. Tsiapras, S. Kyriopoulos, V. Voudris, Evaluation of electronic cigarette use (vaping) topography and estimation of liquid consumption: implications for research protocol standards definition and for public health authorities' regulation, *Int J Environ Res Public Health* 10 (2013) 2500.
- [13] N. Ochiai, A. Tsuji, N. Nakamura, S. Daishima, D.B., Cardin, Stabilities of 58 volatile organic compounds in fused-silica-lined and SUMMA polished canisters under various humidified conditions, *J Environ Monit* 4 (2002) 879.
- [14] NIST Mass Spectrometry Data Center, U.S. Department of Commerce, 2014.
- [15] A. Rodgman, T.A. Perfetti, *The Chemical Components of Tobacco and Tobacco Smoke*, CRC Press, 2nd ed., 2013.
- [16] V.J. Cogliano, Y. Grosse, R.A. Baan, K. Straif, M.B. Secretan, F. El Ghissassi, Meeting report: summary of IARC monographs on formaldehyde, 2-butoxyethanol, and 1-tert-butoxy-2-propanol., *Environ Health Perspect* 113 (2005) 1205.
- [17] IARC Working Group Lyon, 13-20 October 1987, Alcohol drinking, *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum* 44 (1988) 1.
- [18] Y.S. Stein, M.J. Antal, M. Jones, A study of the gas-phase pyrolysis of glycerol, *Appl Pyrolysis*, 4 (1983) 283.
- [19] Toxicological Profile for Acrolein, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, 2007.
- [20] Electronic Cigarettes (e-Cigarettes), U.S. Food and Drug Administration (2014).