



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Scienze Chimiche

CORSO DI LAUREA IN SCIENZE E TECNOLOGIE PER L' AMBIENTE

Analisi del rischio per le sigarette elettroniche: la degradazione degli aromi presenti negli e-liquids

Relatore: Prof. Luca Cappellin

Laureando: Claudio Spatuzzi
Matricola 1170657

Anno Accademico 2022/2023

1	Introduzione.....	4
2	Scopo della Tesi.....	4
3	Inquadramento generale sulla legislazione Italiana ed internazionale su e-cigarette.....	5
4	Nuove frontiere di svapo.....	6
4.1	Limiti nella ricerca a lungo termine.....	8
5	Uso di e-cig durante la pandemia	9
6	Uno studio qualitativo per la composizione dell' e-liquid.....	10
7	Formulazione di e-liquid.....	15
8	Esperienza di laboratorio nell'ambito della Tesi.....	16
8.1	Risultati e analisi dei dati.....	18
9	Conclusioni	29
10	Bibliografia.....	30

1 Introduzione

Questa tesi ha come obiettivo l'approfondimento sul tema sigarette elettroniche e pericolosità derivata dall'uso di e-liquid, in seguito ad aerosolizzazione. Le nozioni che si sono apprese sulla pericolosità delle sigarette elettroniche lasciano ampio margine di incertezza che si riflette, nel panorama nazionale ed internazionale, in discordanti pareri da parte delle legislazioni in vigore. Da un quadro normativo generale, si evidenzia che il parere circa l'utilità dei dispositivi come strumenti e terapie per smettere di fumare non è condiviso. Ci sono aspetti sociali e comportamentali che hanno un'influenza sulla scelta dei dispositivi che non possono essere esclusi o sottovalutati.

La sigaretta elettronica, e-cig, è un dispositivo che ormai si presenta nel mercato con le più diversificate forme e potenze di vaping. La natura stessa di questi dispositivi è fornire una valida alternativa ai fumatori che vogliono smettere di fumare le sigarette tradizionali a combustione. Circa queste ultime esiste una letteratura sufficiente che permette di delineare la pericolosità della combustione di tabacco nella produzione di composti cancerogeni. L'e-cig è un dispositivo che in presenza di un liquido contenente un liquido aromatizzato, e all'occorrenza nicotina, viene scaldato da una resistenza e vaporizzato per essere aspirato dal consumatore.

Lo schema generale del dispositivo prevede:

- Serbatoio: un contenitore di capienza massima 2 mL di capienza ai sensi della direttiva europea TPD2014/40/EU;
- Resistenza (espressa in Ω)
- Drip tip: un filtro che può essere cavo o in cotone per simulare il filtro di sigaretta tradizionale

2.Scopo della tesi

In questo elaborato si cerca di mettere in evidenza le criticità circa questi dispositivi, che non fanno solo riferimento al funzionamento del dispositivo, ma soprattutto alla composizione del liquido (e-liquid o e-juice). Si è partiti dalla letteratura di settore e si è proceduto a realizzare un piccolo studio di confronto della composizione dell'aerosol di e-liquid a diversa composizione, generando l'aerosol tramite una vaping machine che simula le condizioni di svapata e analizzando il condensato dell'aerosol con una metodologia basata sulla gas cromatografia accoppiata alla spettrometria di massa.

3 Inquadramento generale sulla legislazione italiana ed internazionale su e-cigarette

Le sigarette elettroniche al giorno d'oggi hanno conquistato il mercato nazionale ed internazionale, proponendo una valida alternativa alla sigaretta a combustione. I primi design avevano in mente come primo approccio all'hardware la sigaretta classica, volendo così mantenere la stessa sensazione sia visiva che tattile al fruitore. La tecnologia prevede che il dispositivo attivi il circuito che fa passare la corrente al resistore, che per proprietà di resistenza elettrica maggiore, scalda e porta ad ebollizione un e-liquid; infine, la depressione derivante dall'aspirazione meccanica trasporta il vapore. La vendita e il consumo di questi hardware sono stati con il tempo oggetto di studi e di disposizioni normative a vari livelli e con successive modifiche da parte degli enti autoritari, portando a decisioni ben poco omogenee all'interno del panorama internazionale che vanno a controllare sia la vendita sia la pubblicità delle stesse. In Europa, l'Austria (oltre ad aver recentemente abolito il divieto di fumo di sigarette tradizionali nei locali pubblici) ha delle leggi piuttosto restrittive sulla vendita delle e-cig, che prevedono il divieto di ogni pubblicità e la limitazione delle vendite e dell'assistenza ai soli negozi specializzati (e non online). In Norvegia l'acquisto e l'uso della e-cig e di ogni prodotto correlato è ammesso soltanto se si ha la possibilità di dimostrare, con un documento redatto in presenza di un medico, che servono a smettere di fumare. Oltre oceano, in Giappone, il vaping è permesso, ma non lo sono i liquidi con qualsiasi contenuto di nicotina, che vengono considerati come sostanze medicinali prive di licenza e regolamentazione. In Thailandia è espressamente vietato possedere, vendere, importare ed esportare sigarette elettroniche e loro componenti. "Chi viene trovato in possesso di una sigaretta elettronica, compresi gli stranieri che si trovano in Thailandia per ragioni di turismo, è punibile con una multa pari a cinque volte il valore del bene cui può aggiungersi una pena che può arrivare a cinque anni di reclusione", riporta il Ministero degli Esteri Italiano. In America va prestata attenzione soltanto alle diverse leggi dei vari Stati: ciascuno di essi applica le proprie restrizioni allo svapo negli edifici pubblici, ed è bene informarsi prima di usare la propria e-cig. In Italia, al fine di approntare il più ampio strumento di tutela possibile a favore dei consumatori, l'art. 21, comma 10, del D.lgs. 12 gennaio 2016, n. 6 sancisce il divieto di ogni forma di pubblicità e/o sponsorizzazione delle sigarette elettroniche, mentre l'art. 14 del D.Lgs. 12 gennaio 2016, n. 6, sancisce il divieto di veicolare presso il pubblico messaggi aventi ad oggetto quanto indicato nel medesimo articolo. Con specifico riferimento al mercato italiano, la campagna commerciale e pubblicitaria del Kit My Blu sarebbe stata posta in essere dalle società resistenti in violazione dei suddetti divieti e proseguirebbe attualmente per il tramite: "di «comunicazioni commerciali aventi lo scopo o l'effetto diretto o indiretto di promuovere le sigarette elettroniche e i contenitori di liquido di ricarica». Ad aprile 2021 è stato pubblicato il parere finale del Comitato scientifico della Commissione europea, che valuta i rischi sanitari emergenti sugli effetti sulla salute e la dimensione di salute pubblica delle sigarette elettroniche.⁽¹⁾ Il Comitato ha riscontrato elementi di prova moderati dei rischi di danni irritativi locali alle vie respiratorie e un livello moderato, ma in crescita, di evidenze provenienti da dati umani che indicano che le sigarette elettroniche hanno effetti nocivi sulla salute, in particolare, ma non solo, sul sistema cardiovascolare. Inoltre, ha riscontrato elementi di prova da deboli a moderati dei rischi di cancerogenicità per le vie respiratorie

dovuti all'esposizione cumulativa a lungo termine alle nitrosammine e all'esposizione all'acetaldeide e alla formaldeide e ha concluso che vi sono forti elementi di prova del rischio di avvelenamento e lesioni a causa di ustioni ed esplosioni. L'uso della sigaretta elettronica tra i giovani è comune, con tassi di utilizzo in aumento dall'1,5% nel 2011 al 20,8% nel 2018. I dispositivi Pod mod hanno guadagnato il favore tra i giovani per il loro design elegante, la funzione intuitiva, i sapori desiderabili e capacità di essere utilizzati con discrezione nei luoghi in cui è vietato fumare.

4 Nuove frontiere di svapo

Gli studi hanno suggerito un effetto "gateway" per le sigarette non combustibili e l'uso di cannabis⁽²⁾. Le Pod mod dispongono di un serbatoio da 2 mL di capacità e vengono precaricate con liquido fino a 20 mg/ml ai sali di nicotina. La finalità di queste è da prevedere previo uso combinato con sigaretta elettronica e in sola combinazione con questa. L'uso saltuario e/o combinato con tabacco da combustione o sigarette industriali espone ad elevata assunzione di nicotina, manifestandosi al fumatore con classici sintomi di intossicazione da nicotina, vertigini, nausea, dolori addominali, emicrania, tachicardia, ipotermia e, superato il valore di 60 cmg di assunzione, il coma e la morte da intossicazione acuta. Recentemente sono stati sviluppati nuovi modi di consumare tabacco o nicotina che attraggono i fumatori non solo per la loro novità, ma anche perché sperano che diminuirà i loro rischi per la salute o li aiuterà a fumare in luoghi vietati. L'obiettivo di recenti lavori è quello di rivedere lo stato attuale delle conoscenze relative alla pipa ad acqua, al tabacco per uso orale, al tabacco da fiuto, alla sigaretta elettronica e ai dispositivi di riscaldamento del tabacco⁽³⁾. Sebbene alcuni prodotti sembrino meno dannosi delle sigarette, non si lanciano mai segnali di incoraggiamento verso le persone a usarli perché non si dispone ancora di dati scientifici sufficienti sulla loro sicurezza. La DGSANTE, basandosi sul parere dello SCHEER sulle conseguenze sulla salute e il ruolo importante che le sigarette elettroniche svolgono nell'iniziazione al fumo, sostiene l'approccio prudente e precauzionale adottato finora. Anche secondo i dati della Sorveglianza PASSI, nel quadriennio 2017-2020 l'uso della sigaretta elettronica coinvolge mediamente meno del 3% della popolazione. Questo prodotto è più in auge fra i più giovani di 18-24 anni coinvolgendo comunque una quota contenuta di persone (meno del 5%). I dati annuali mostrano un lento e aumento dell'uso della sigaretta elettronica, passando da poco meno del 2% del 2014 a quasi il 4% nel 2020. La geografia e il profilo delle persone che usano la sigaretta elettronica ricalca quello dei fumatori di tabacco, dal momento che la gran parte di loro è un fumatore abituale che ne fa un uso combinato. Dai dati della GYTS (Global Youth Tobacco Survey)⁽⁴⁾ sul'uso delle sigarette elettronica tra i giovani, risulta che sono più che raddoppiati gli studenti che la utilizzano passando dallo 0% nel 2010, all'8,4% del 2014 al 17,5% del 2018; in particolare sono i ragazzi a usarla abitualmente di più (21,9%) rispetto alle ragazze (12,8%). Sono quasi triplicati gli studenti che fanno uso esclusivamente di sigarette elettroniche dal 2,9% nel 2014 all'8,2% nel 2018 mentre se consideriamo gli utilizzatori duali che fanno uso sia di sigarette tradizionali che elettroniche arriviamo a una prevalenza del 27,9% in aumento rispetto al 2014 (26,3%). Il 76% dei giovani (13-15 anni) afferma inoltre di avere facilmente accesso a questo tipo di prodotto la cui vendita è però vietata a chi ha meno di 18 anni. Con l'obiettivo di offrire una lettura più completa delle dinamiche sociali in atto, l'Istat rende disponibili congiuntamente le informazioni su abitudine al fumo, eccesso di peso, consumo di alcol e sedentarietà. I dati sono stati raccolti attraverso l'indagine Multiscopo "Aspetti della vita quotidiana"⁽⁵⁾. Il campione comprende circa 19 mila 800 famiglie per un totale di circa 45 mila 600 individui. Le interviste sono state effettuate tra marzo e maggio 2021. Nel 2021, il 19,0% della popolazione di 14 anni e

più dichiara di essere fumatore (9 milioni 958 mila persone), il 24,0% di aver fumato in passato e il 55,7% di non aver mai fumato. È pari al 46,2% la popolazione di 18 anni e più in eccesso di peso (34,2% in sovrappeso, 12,0% obeso), mentre il 50,9% è in condizione di normopeso e il 2,9% è, sottopeso. Il 66,3% della popolazione di 11 anni e più ha consumato almeno una bevanda alcolica nel corso dell'anno: il 54,4% beve vino, il 50,4% consuma birra e il 45,4% aperitivi alcolici, amari, superalcolici o liquori. 19 milioni 667 mila persone (il 33,7% della popolazione di 3 anni e più) dichiarano di non praticare né sport né attività fisica nel tempo libero. Si osservano marcate differenze di genere: è sedentario il 36,9% delle donne contro il 30,3% degli uomini. Sarà proprio questa marcata differenza a riscontrarsi anche nella clientela di Pod mods, dispositivi di immediato utilizzo, nessuna manutenzione richiesta, nessun limite imposto per numero di puff, affidabilità del prodotto, che ben trova il favore di una clientela giovane e femminile. Nel 2015 nel mercato americano si mostrano le prime 'pods', con cartucce precaricate dal produttore dello stesso. Il primo brand ad avere raggiunto la maggioranza di mercato è JUUL con oltre il 32% di presenza nel 2017 e successivamente il 49,5% nel gennaio del 2018. La rapida ascesa di questi brand è stata associata alla forte campagna pubblicitaria sostenute dalle aziende sulle piattaforme social di maggiore spessore; Twitter, Instagram and YouTube. Risulta da analisi di profili social che i giovani sono stati maggiormente raggiunti da queste campagne con lo scopo di reclutare nuovi fumatori che non hanno mai fatto uso di nicotina. La capacità di attirare l'attenzione dei giovani è sempre associata ad attività o luoghi frequentati dagli stessi. Ad esempio, la pubblicità delle sigarette aveva come protagonista dei giovani che condividono il momento di svapo all'interno di edifici scolastici, dormitori, attività giovanili dove spesso il brand lascia indossare dei costumi- indumenti brandizzati. Nel 2022 la FDA ha bloccato le vendite negli USA del grande colosso Juul (che opera anche in Italia) fino a quando quest'ultimo non fornisca informazioni veritiere sui possibili rischi derivanti dall'uso di questi dispositivi o fino a quando non è in grado di produrre dati convincenti sulla sua sicurezza. Questo anche perché la stessa azienda è stata accusata di avere promosso i propri prodotti non solo con il fine ultimo di proporlo ai giovani, ma senza un vero obiettivo nel disincentivare l'uso dei dispositivi in maniera efficace. I rischi che sono associati alla tossicità d'impiego di questi dispositivi non sono correlati alla miscelazione e alla composizione base, bensì dall'uso continuativo, scorretto o in combinazione con sostanze che alterano lo stato psico fisico del fumatore. Il glicole propilenico è sicuro e non classificato come irritante per i polmoni. Poiché le sigarette elettroniche sono state ampiamente utilizzate solo per pochi anni, le implicazioni dell'esposizione a lungo termine non sono documentate e non sono state stabilite conclusioni definitive sulla sicurezza. Gli aerosol delle sigarette elettroniche possono emettere induttori neoplastici, questi possono portare al tratto polmonare, orofaringeo e respiratorio tumori di diverso tipo; tuttavia, le concentrazioni sono all'interno dei limiti di sicurezza stabiliti per l'inalazione. In generale le sostanze tossiche sono inferiori negli aerosol di sigaretta elettronica rispetto alla controparte di tabacchi e sigarette industriali.⁽⁶⁾ I funzionari della sanità pubblica del Regno Unito riferiscono che sono più sicure delle sigarette a combustione. Questo è confermato se il consumatore usa solo ed esclusivamente sigarette elettroniche, lì dove è stato ricavato che la presenza di metalli pesanti è nettamente inferiore in questi dispositivi elettronici che non nelle tradizionali sigarette a combustione di tabacco, informazioni ricavate grazie ai rigorosi standard di controllo qualità e sulla sicurezza imposti. L'Organizzazione Mondiale della Sanità raccomanda norme rigorose per limitare l'uso e limitare la pubblicità delle sigarette elettroniche. Quelle con la presenza di nicotina sono vietate in Brasile, Canada, Singapore e Uruguay. L'uso di sigarette elettroniche è vietato sugli aerei e diverse località non consentono le sigarette elettroniche ovunque sia vietato fumare convenzionale. Inoltre, molti stati ne vietano l'uso in luoghi

come bar, ristoranti e luoghi di lavoro. I liquidi di ricarica delle sigarette elettroniche a volte sono etichettati in modo inaffidabile o commercializzato. I casi di esposizione a sostanze tossiche, specialmente nei bambini, sono sempre più comuni.

Possono essere necessari decenni di fumo cronico per lo sviluppo di malattie broncopolmonari croniche per cui gli effetti sulla popolazione dovuti all'uso delle e-cig potrebbero non essere evidenti fino alla metà di questo secolo. Infine, alcune e-cig sono un "sistema aperto" in cui si può inserire il prodotto che si preferisce, è quindi fondamentale fare estrema attenzione alla grande variabilità dei componenti unici delle e-cig aromatizzate, come glicole propilenico, glicerina vegetale e alle diverse sostanze chimiche aromatizzanti, che potrebbero indurre altri effetti sulla salute. Soprattutto se associamo a questa grande variabilità di fragranze disponibili a brand diversi (talune volte anche con credibilità incerta), è razionale intuire che un modello standard di analisi e di studio non può essere applicato, e le analisi vengono condotte sempre all'interno di un range ottimale e spesso utopistico in cui il consumatore fa un uso corretto e moderato dello strumento. Al 10 dicembre 2019 ai Centers for Disease Control and Prevention (CDC)⁽⁷⁾ statunitensi sono stati segnalati 2409 casi di malattia polmonare associata all'uso di e-cig e 52 decessi⁽⁸⁾. Nonostante recenti aggiornamenti vedono questi numeri in crescita più che esponenziale, la maggior parte di questi casi hanno fatto uso di e-cig contenenti THC e alcuni CBD e come accennato poc'anzi spesso i canali di approvvigionamento dei liquidi non sono ufficiali o sono avvenuti da rivenditori non ufficiali. I CDC stanno collaborando con i dipartimenti sanitari statali e con la Food and Drug Administration (FDA) per le indagini epidemiologiche del caso, ma al momento nessuna singola sostanza o prodotto di sigaretta elettronica è stato associato alla malattia (pur se la causa sospetta sembra essere un'esposizione chimica).

4.1 Limiti nella ricerca a lungo termine

Troppe sono ancora le informazioni che non si conoscono sugli effetti sulla salute, specialmente a lungo termine, ed è importante che operatori sanitari e cittadini siano informati su tali aspetti tuttora poco conosciuti. Infine, un aspetto da non trascurare è la necessità che le istituzioni rafforzino il valore educativo della Legge 3/2003 ("Legge Sirchia") sul divieto di fumo nei luoghi pubblici: un dato preoccupante è, infatti, che le persone che utilizzano le sigarette elettroniche tendono a usarle anche nei luoghi dove vige il divieto di fumo⁽⁹⁾.

Negli utilizzatori di e-cig, alcuni studi⁽¹⁰⁾ riferiscono sintomi quali secchezza delle mucose, irritazione della gola, tosse secca, tosse cronica, catarro, respiro sibilante, bronchite, dispnea; altri studi riportano asma e altri ancora⁽¹¹⁾⁽¹²⁾ asma e broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO). Si riportano⁽¹³⁾ casi di sindrome da stress respiratorio acuto; tuttavia, resta da chiarire se questa sindrome respiratoria "associata allo svapo" sia causata dal glicole propilenico/glicerina vegetale e dalla nicotina contenuti nelle sigarette elettroniche, o sia dovuta ai tetraidrocannabinoli e/o ai solventi e adulteranti associati come per esempio la vitamina E. Gli effetti a lungo termine delle e-cig sono a oggi ancora sconosciuti e si pensi che decenni di fumo cronico sono necessari per lo sviluppo di malattie polmonari. Vi sono poi alcune criticità oggettive che rendono complesso studiare gli effetti sulla salute di tali dispositivi quali la rapida evoluzione dei dispositivi tecnologici esistenti nel settore delle e-cig, l'assenza di uno standard "liquido/dispositivo", l'assenza di standardizzazione per la generazione di "aerosol" e infine il potenziale ostacolo legato alle considerazioni etiche che rendono difficilmente conducibile lo studio dei liquidi/dispositivi che creano dipendenza e sono potenzialmente dannosi nei non fumatori.

Alla luce di ciò si può meglio comprendere come il processo di riscaldamento dei componenti di e-liquid sia il principale responsabile della liberazione negli aerosol di prodotti anche dannosi. Per quanto riguarda la tossicità, si sa poco sugli effetti degli umettanti quando vengono riscaldati e inalati cronicamente. Sebbene glicole propilenico e glicerolo siano i componenti principali degli e-liquid, sono stati rilevati altri componenti potenzialmente dannosi.

5 Uso di e-cig durante la pandemia

Diversi studi⁽¹⁴⁾ hanno avuto luogo durante la pandemia da COVID-19 per mettere in luce evidenti relazioni tra fumatori e vulnerabilità alle infezioni da SARS-CoV-2. 2019-nCoV utilizza una proteina spike (S) densamente glicosilata per ottenere l'ingresso nelle cellule ospiti. La proteina S è una proteina di fusione trimerica di classe I che esiste in una conformazione di prefusione metastabile che subisce un sostanziale riarrangiamento strutturale per fondere la membrana virale con la membrana della cellula ospite. Utilizzando saggi biofisici, gli autori mostrano che questa proteina si lega almeno 10 volte più strettamente della corrispondente proteina spike della sindrome respiratoria acuta grave (SARS) –CoV al loro recettore comune della cellula ospite. Hanno anche testato tre anticorpi noti per legarsi alla proteina spike SARS-CoV ma non hanno rilevato il legame con la proteina spike 2019-nCoV. Si sollecita a notare che la maggior parte di questi rapporti che collegano gli effetti dannosi di COVID-19 al fumo o allo svapo si basano sulla loro capacità di aumentare l'espressione dell'enzima di conversione dell'angiotensina 2 (ACE2) nel polmone. È noto che ACE2 è il gate per l'ingresso SARS-CoV-2 nelle vie aeree ed è espresso principalmente nelle cellule epiteliali alveolari di tipo 2 e nei macrofagi alveolari. In U.S.A tra Ottobre e Dicembre 2020, quattro università pubbliche (statali) sono state selezionate secondo criteri di geolocalizzazione e dimensione di utenza. Gli 800 candidati coinvolti avevano età compresa tra i 18 e i 26 anni, ed erano utenti di sigaretta elettronica esclusivamente e utenti che associavano uso di sigaretta elettronica e cannabis. Rispetto agli utenti esclusivi di sigarette elettroniche, i consumatori simultanei di sigaretta elettronica e cannabis avevano una probabilità 3,53 volte maggiore (IC 95% = 1,96–6,36) di segnalare sintomi COVID-19. Rispetto agli utenti esclusivi rari di sigaretta elettronica, agli utenti simultanei rari (AOR = 4,72, IC 95% = 1,31–17,00), agli utenti simultanei intermedi (AOR = 5,10, IC 95% = 1,37–18,97) e agli utenti simultanei frequenti (AOR = 7,44, IC 95% = 2,06–26,84) avevano maggiori probabilità di riportare i sintomi di COVID-19. Rispetto agli utenti esclusivi di sigarette elettroniche, i consumatori simultanei di sigaretta elettronica e cannabis avevano una probabilità 1,85 volte maggiore (IC 95% = 1,15–2,98) di segnalare una diagnosi di COVID-19. Utenti simultanei intermedi (AOR = 2,88, IC 95% = 1,13–7,35) e utenti simultanei frequenti (AOR = 3,22, IC 95% = 1,32–7). Le conclusioni dello studio hanno portato delle considerazioni generali che riguardano un risultato stocastico e si pone come principale obiettivo quello di educare gli studenti sugli impatti della sigaretta elettronica e dell'uso di cannabis sulla salute respiratoria, immunitaria e generale.

6 Uno studio qualitativo per la composizione dell'e-juice

Lo studio di Jason S. Herrington ⁽¹⁵⁾ mette in risalto alcuni possibili metodi di ricerca per un'analisi specifica non-target di VOC e SVOC nell'aerosol di sigaretta elettronica. Si tratta della prima applicazione di TD-GC-MS multi-sorbente per l'analisi dell'aerosol di sigaretta elettronica. Conferma l'assenza di molti composti nelle soluzioni, ma la loro presenza in aerosol. L'elenco più ampio di VOC e SVOC valutati nell'aerosol di sigaretta elettronica mostra sensibilità con una singola boccata da 40 ml di aerosol per sigaretta elettronica. Dimostra un nuovo approccio di campionamento per l'esame dell'aerosol di sigaretta elettronica. L'analisi GC-MS delle soluzioni per sigarette elettroniche ha rivelato numerosi composti oltre al glicole propilenico, alla glicerina e alla nicotina elencati dal fornitore. La soluzione del fornitore A aveva sessantaquattro componenti non identificati e identificati (alcuni solo provvisoriamente) contrassegnati. I composti sono stati considerati "identificati" quando verificati con uno standard esterno (100% Match Quality e $\pm 0,05$ min del tempo di ritenzione previsto); e i composti sono stati considerati "provvisoriamente identificati" quando la qualità spettrale di massa era pari o superiore all'80% secondo il database NIST 2011. Diverse pirazine sono state identificate provvisoriamente, il che è coerente con gli aromi aggiunti dal produttore. Ad esempio, l'acetilpirazina, che è stata provvisoriamente identificata, è un aroma ben noto per la produzione di sapori/aromi di "nocciola". Dalle quattro soluzioni di sigaretta elettronica valutate nel presente studio, sembrava esserci un modello composto molto distinto (cioè la firma), che potrebbe aiutare nei futuri studi di caratterizzazione. È importante notare che quasi la metà (trentasei) dei composti osservati nella soluzione per sigaretta elettronica del fornitore A non sono stati identificati e pertanto il lavoro futuro dovrebbe concentrarsi sull'identificazione di questi composti. Tutto quanto sopra indicato indica che le soluzioni per sigarette elettroniche sono più complesse di quanto indicato dai produttori⁽¹⁵⁾, e questa è una significativa lacuna di dati che deve essere affrontata. L'aerosol del fornitore A conteneva ottantadue composti non identificati e identificati (alcuni solo provvisori) oltre a glicole propilenico, glicerina e nicotina, il che è coerente con le precedenti osservazioni sulla soluzione. Tuttavia, durante lo studio della soluzione⁽¹⁵⁾ sono stati osservati altri diciotto composti.

Tab 1.

“vuoto”¹ rappresenta 40 mL di volume d’aria di controllo in laboratorio

"Regione" è la sezione colorata in fig1 dove potrebbe o si trova il composto.

Nome del composto 100% Match Quality e $\pm 0,05$ min del tempo di ritenzione previsto

Riprodotta da ⁽¹⁵⁾

#	Nome composto	Tempo ritenzione	Abbina qualità	Aerosol	Vuoto ¹	Regione
1	Azoto	0,685	100	X	X	Rosso
2	Diossido di carbonio	1.063	100	X	X	Rosso
3	Propene	1.200	100	X		Rosso
4	Formaldeide	1.227	100	X		Rosso
5	Diossido di zolfo	1.313	90	X		Rosso
6	Clorometano	1.380	100	X		Rosso
7	Acqua	1.453	100	X	X	Rosso
8	Acetaldeide	1.672	100	X		Rosso
9	Metanolo	1.715	100	X	X	Rosso
10	Non identificato	1.885		X		Rosso
11	Etanolo	2.270	100	X		Rosso
12	Non identificato	2.331		X		Rosso
13	Ossido di propilene	2.410	100	X		Rosso
14	2-Propenale	2.581	100	X		Rosso
15	Propano	2.629	100	X		Rosso
16	Cloruro di metilene	2.770	100	X	X	Rosso
17	Acetone	2.843	100	X		Rosso
18	Non identificato	2.892		X		Rosso
19	Esano	2.928	100	X		Rosso
20	Acetonitrile	3.160	100	X	X	Rosso
21	Non identificato	3.544		X		Arancia
22	Non identificato	3.842		X		Arancia
23	Trimetilsilanol	3.928	100	X		Arancia
24	Non identificato	4.092		X		Arancia
25	Non identificato	4.159		X		Arancia
26	Non identificato	4.245		X		Arancia
27	Non identificato	4.354		X		Arancia

#	Nome composto	Tempo ritenzione	Abbina qualità	Aerosol	Vuoto ¹	Regione
28	Benzene	4.452	100	X	X	Arancia
29	Non identificato	4.519		X		Arancia
30	Acido acetico	5.055	86	X		Arancia
31	Non identificato	5.141		X		Arancia
32	Non identificato	5.647		X		Arancia
33	Non identificato	5.756		X		Arancia
34	2-propanone, 1-idrossi-	6.073	80	X		Arancia
35	Non identificato	6.165		X		Arancia
36	Non identificato	6.220		X		Arancia
37	Toluene	6.280	100	X	X	Arancia
38	Ciclotrisilossano, esametil-	6.506	91	X		Arancia
39	Non identificato	7.231		X		Arancia
40	Non identificato	7.530		X		Arancia
41	Glicole propilenico	7.737	100	X		Verde
42	m-xilene	8.048	100	X		Verde
43	p-xilene	8.048	100	X		Verde
44	o-xilene	8.530	100	X		Verde
45	Stirene	8.597	100	X		Verde
46	Non identificato	9.158		X		Verde
47	Ciclotetrasilossano, ottametil-	9.218	91	X		Verde
48	Cicloesene,4-metil-1-(1metiletil) -	9.371	95	X		Verde
49	Non identificato	9.639		X		Verde
50	Non identificato	9.852		X		Verde
51	Non identificato	9.932		X		Verde
52	Non identificato	10.121		X		Verde
53	Non identificato	10.219		X		Verde
54	Trimetilpirazina	10.468	80	X		Verde
55	Benzaldeide	10.657	100	X		Verde
56	Non identificato	10.858		X		Verde
57	Non identificato	11.120		X		Verde
58	Non identificato	11.187		X		Verde

#	Nome composto	Tempo ritenzione	Abbina qualità	Aerosol Vuoto ¹	Regione
59	Acetilpirazina	11.468	93	X	Verde
60	Cyclopentasiloxane, decametil-	11.620	91	X	Verde
61	Fenolo	11.870	94	X	Verde
62	Non identificato	12.272		X	Verde
63	2-propanolo, 1,1'-ossibis-	12.333	90	X	Verde
64	Glicerina	12.748	100	X	Blu
65	Non identificato	13.327		X	Blu
66	Cicloesasilossano, dodecametil-	13.979	94	X	Blu
67	Piridina, 3-(1-metil-2-pirrolidinil)-, (S)-	15.862	100	X	Blu
68	Cicloeptasilossano, tetradecametil-	16.082	91	X	Blu
69	Non identificato	16.326		X	Blu
70	Non identificato	16.460		X	Blu
71	Piridina, 3-(3,4-diidro-2H-pirrol-5-il)-	17.216	94	X	Blu
72	Piridina, 3-(1-metil-1H-pirrol-2-il)-	17.807	90	X	Blu
73	Non identificato	18.002		X	Blu
74	2,3'-dipiridile	18.618	94	X	Blu
75	Non identificato	18.721		X	Blu
76	Non identificato	19.294		X	Blu
77	Non identificato	19.611		X	Blu
78	Non identificato	20.093		X	Blu
79	Non identificato	20.190		X	Blu
80	Non identificato	20.269		X	Blu
81	Non identificato	20.501		X	Blu
82	Non identificato	20.855		X	Blu

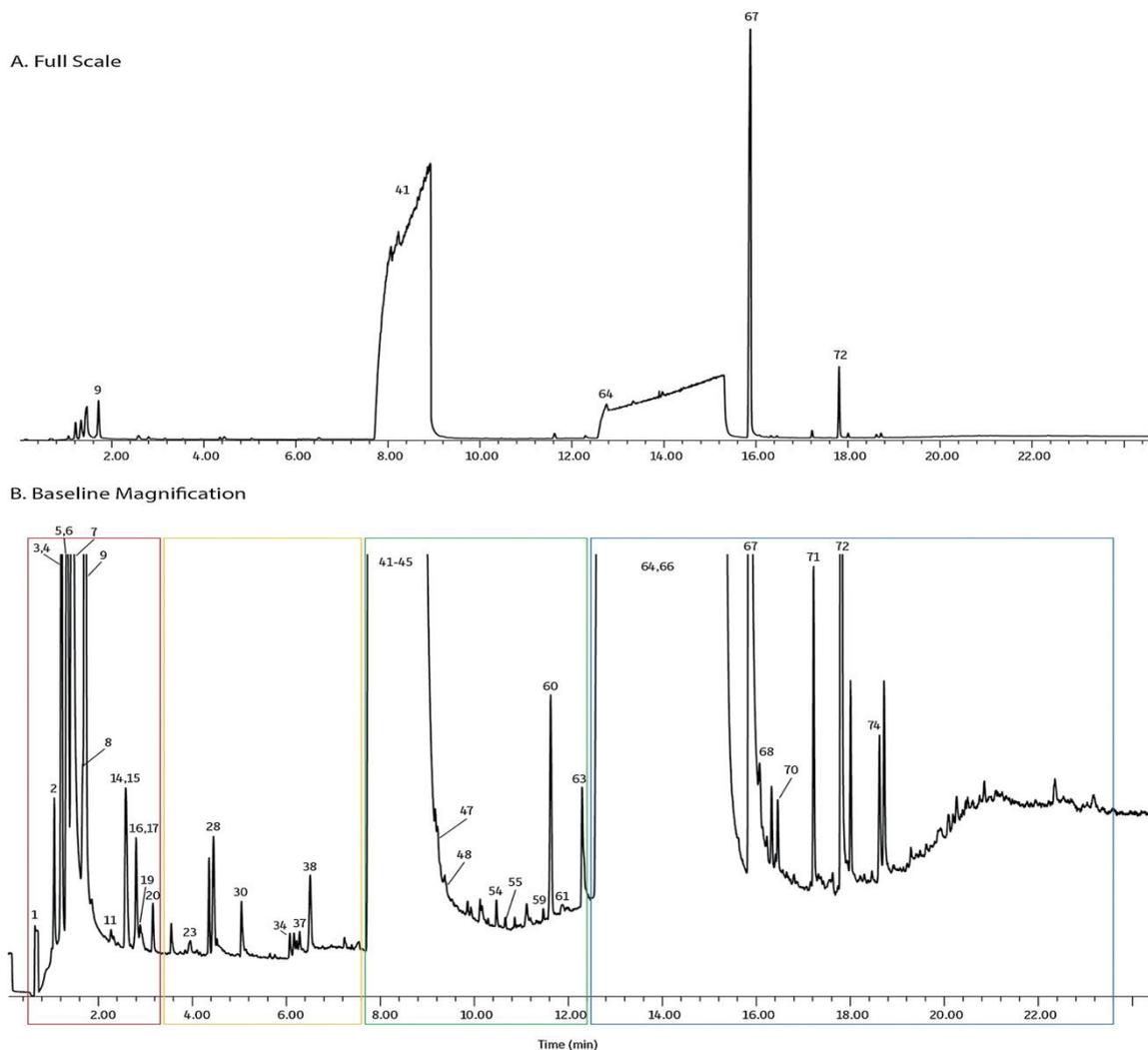


Fig. 1. Cromatogramma ionico totale (TIC) di una singola boccata da 40 mL di aerosol di sigaretta elettronica raccolto su un tubo di desorbimento termico e analizzato tramite GC-MS. ⁽¹⁵⁾

È stato sviluppato un dispositivo di campionamento semplice ma innovativo per aspirare l'aerosol di sigaretta elettronica in un tubo di desorbimento termico, che è stato quindi estratto termicamente e analizzato tramite un metodo GC-MS. Sebbene ci fossero solo diciotto composti aggiuntivi segnalati nell'aerosol sopra la soluzione, i profili dell'aerosol e della soluzione differivano di più di diciotto composti. Di particolare interesse è stata la presenza di formaldeide, acetaldeide, ossido di propilene, acroleina, propanale, acetone, esano, xileni, stirene, benzaldeide e diversi silossani nell'aerosol della sigaretta elettronica.

Le attuali osservazioni sono significative per i due seguenti motivi: tutti e tre questi carbonili sono acutamente tossici; inoltre, la formaldeide è un noto cancerogeno per l'uomo e l'acetaldeide è un probabile cancerogeno per l'uomo nel lavoro in corso è stato confermato che questi composti non sono presenti nell'e-juice, il che indica che sono stati generati esclusivamente dal processo di aerosolizzazione e/o dai materiali delle sigarette elettroniche. Ciò è coerente con il fatto che la pirolisi del glicole propilenico e della glicerina porta alla formazione di formaldeide, acetaldeide e acroleina.

7 Formulazioni di e-liquid

Per quanto riguarda la tecnologia dell'hardware, sigarette elettroniche, pods ricaricabili e pods usa e getta hanno lo stesso principio di funzionamento anche se con le dovute modifiche. Il tank che contiene il liquido è in continuità con un atomizzatore che dispone di un tessuto (cotone o TNT) che si impregna del liquido inalatore e, una volta scaldato e vaporizzato, svapato.

La formulazione base del liquido da svapata richiede due componenti, basi appunto:

Glicerina Vegetale (VG)-(propan-1,2,3-triolo)

Glicole Propilenico (PG)-(propan-1,2-diolo)

Alcoli, fenoli ed eteri ⁽¹⁶⁾ possono essere visti come derivati dell'acqua con uno, o entrambi, gli idrogeni rimpiazzati da gruppi organici: H-O-H diventa R-O-H, Ar-O-H oppure R-O-R. Non sorprende quindi che le tre classi di composti abbiano geometria pressoché identica a quella dell'acqua. Gli angoli di legame C-O-H e C-O-C sono approssimativamente tetraedrici. Come l'acqua, inoltre, alcoli e fenoli hanno punti di ebollizione più alti di quanto ci si potrebbe aspettare. Il propan-1,2,3-triolo ha punto di ebollizione pari 290°C decisamente più elevato del paragonabile idrocarburo 3-metil-pentano, che diversamente ha p.e. di 63°C. Analogamente, il fenolo bolle a 181,9 °C, mentre il toluene bolle a 110,6 °C. La ragione di questi punti di ebollizione così elevati è che, al pari dell'acqua, gli alcoli formano legami idrogeno.

Nello specifico il glicerolo, o glicerina (vegetale) è una molecola dove tre atomi di carbonio legano tre gruppi -OH. Si presenta come un liquido incolore con massa molecolare (u) 92.10 g/mol, densità (g/cm³, in c.s.) e temperatura di ebollizione 290°C(560K) oltre questo valore di temperatura si manifestano i prodotti di decomposizione. Il glicole propilenico o 1,2-propandiolo si presenta come un liquido incolore, inodore chiaro e viscoso dal sapore dolciastro e altamente igroscopico, cioè presenta capacità di assorbire molecole di acqua dall' ambiente circostante. Presenta una massa molecolare (u) di 79,06 g/mol, densità (g/cm³, in c.s.) e temperatura di ebollizione di 188,2°C. L'atomo di idrogeno, polarizzato positivamente, del gruppo-OH appartenente a una molecola è attratto dall'atomo di ossigeno, polarizzata negativamente, di un'altra molecola. Si instaura così una debole forza attrattiva che associa le molecole. Queste forze devono essere vinte affinché una molecola si liberi dallo stato liquido per passare allo stato di vapore, sicché la temperatura di ebollizione si innalza. La scelta del rapporto di miscelazione tra questi due composti restituisce sensazioni di fumata diverse. Un elevato rapporto di glicole propilenico si presta per le miscele dedicate ad un tiro da guancia, che si ritrova anche nelle Pod mod con rapporti

di miscela pari a solitamente 50PG/50VG o 60/40. Diversamente, una miscelazione a favore della glicerina, con rapporti solitamente pari a 40/60 o 30/70, presenta una fumata più corposa, adatta al cloud chasing o al tiro polmonare. Difatti questa miscelazione garantisce una persistenza dei vapori anche oltre il canale boccale (limitato al tiro da guancia), sino ai polmoni.

8 Esperienza di laboratorio nell'ambito della Tesi

Esistono due società che in Italia sono specializzate in analisi sulle sigarette elettroniche e sugli e-liquid. Una è lo spin-off dell'Università di Padova 3SLAB srl, che ha una sede operativa in provincia di Trento. L'altra società si trova in provincia di Torino. Devono fare richiesta di legittimazione della circolazione dei prodotti da inalazione senza combustione costituiti da sostanze liquide, contenenti o meno nicotina, ⁽⁶⁾ tutte le aziende che operano e vendono in territorio nazionale, e pertanto sono sviluppati dei metodi standardizzati per ottenere delle analisi che restituiscono dei risultati che dovrebbero essere coerenti con le dichiarazioni di etichetta del produttore. In un settore produttivo si possono però manifestare delle forti incongruenze tra le dichiarazioni di etichetta e i risultati di laboratorio.

Nell'ambito della presente tesi, per farsi un'idea ancora più chiara e per cercare di far emergere i limiti operativi nella classificazione della pericolosità di questi e-liquid in laboratorio è stata seguita la procedura standard che, a livello operativo, viene modificato nella scelta del liquido da analizzare, in quanto viene modulato in laboratorio con concentrazioni note di tutti gli analiti. I dettagli sulla procedura di analisi non vengono riportati qui perché proprietari del laboratorio ma ci si limita a riportare la lista degli step di analisi.

Si è seguita la seguente procedura:

- Scelta degli analiti di base: PG, VG, e aroma non nicotizzato
- Creazione di diverse formule a rapporto variabile PG/VG
- Raccolta del condensato del vapore di sigaretta elettronica generato con una vaping machine
- Analisi tramite GC-MS

L'ipotesi, formulata dal tesista e da verificare in questo lavoro, è che al variare della concentrazione di PG varia la presenza dell'aroma all'interno del condensato. Se così fosse, realisticamente il fumatore potrebbe percepire maggiormente l'aroma nella sua esperienza di svapata. Sotto un aspetto di sicurezza di dispositivo può essere interessante conoscere più nel dettaglio se c'è la possibilità che un aroma considerato potenzialmente pericoloso o classificato come tale, possa avere delle correlazioni dirette o non con la sicurezza nella modulazione del liquido. Pertanto, noto che il Glicole Propilenico ha forti capacità igroscopiche, l'aroma viene adsorbito sulle particelle del PG e vaporizzato durante l'azione di svapata.

Per la formulazione dei liquidi base sono stati inizialmente scelti alcuni possibili aromi da usare come analiti da monitorare in concentrazione al variare del rapporto PG/VG, (-)-Menthol(mentolo), Ethyl vanillin (etil-vanillina), 2-Ethyl-3-hydroxy-4H-pyran-4-one (etil maltolo), in questo studio.

Per ragioni logistiche, si è dovuto escludere l'etil maltolo. La soluzione finale in 10 mL di PG prevede pertanto le seguenti formulazioni:

(-)-Menthol	0,8673 g
Et. Vanillina	0,097 g

1,2-propandiolo 10 mL (portato a volume)

La soluzione finale da inalare ha una concentrazione al 10% di aroma sul totale del volume di e-liquid. Il setup per la raccolta e setting della smoking machine sono impostati secondo ⁽¹³⁾ (routine analytical machine for e-cigarette aerosol generation and collection – definitions and standard conditions), l'e-cig a disposizione è il modello eVicVTwo Mini e sono state mantenute le seguenti impostazioni del dispositivo: P=14 W, R=1.92 Ω (resistenza mai usata precedentemente). La smoking machine mantiene un'inalazione controllata per 3 s con 30 s di frequenza. Il condensato viene raccolto e analizzato. Sono state effettuate due sessioni di raccolta in due giorni diversi dal giorno della preparazione del liquido.

Tab. 1. Risultati sul consumo di e-liquid, in 20 puff espresso con la massa (g) in funzione del rapporto PG/VG

Rapporto PG/VG	Consumo (g)	Mentolo emesso in 20 puffs (μg)	Etil vanillina emessa in 20 puffs (μg)
100-0	0,1246	599,14	28,9
75-25	0,1647	527,79	36,32
50-50	0,1231	398,04	62,07
25-75	0,1209	302,05	54,23
0-100	0,1139	251,84	36,32
100-0	0,1344	420,63	33,69
75-25	0,1206	398,04	25,22
50-50	0,1431	393,92	88,19
25-75	0,1414	314,5	58,57
0-100	0,1134	251,84	33,89

Per la raccolta del condensato è stato usato il set-up schematizzato nella foto 1. L'e-cigarette viene attivata automaticamente dalla smoking machine quando l'azione di aspirazione è innescata e viene simulata l'azione di pressione del pulsante ON/OFF (A) del dispositivo. I vapori prodotti dalla depressione del pistone attraversano e persistono in un gorgogliatore (B), dove verranno poi prelevati e analizzati tramite GC-MS.



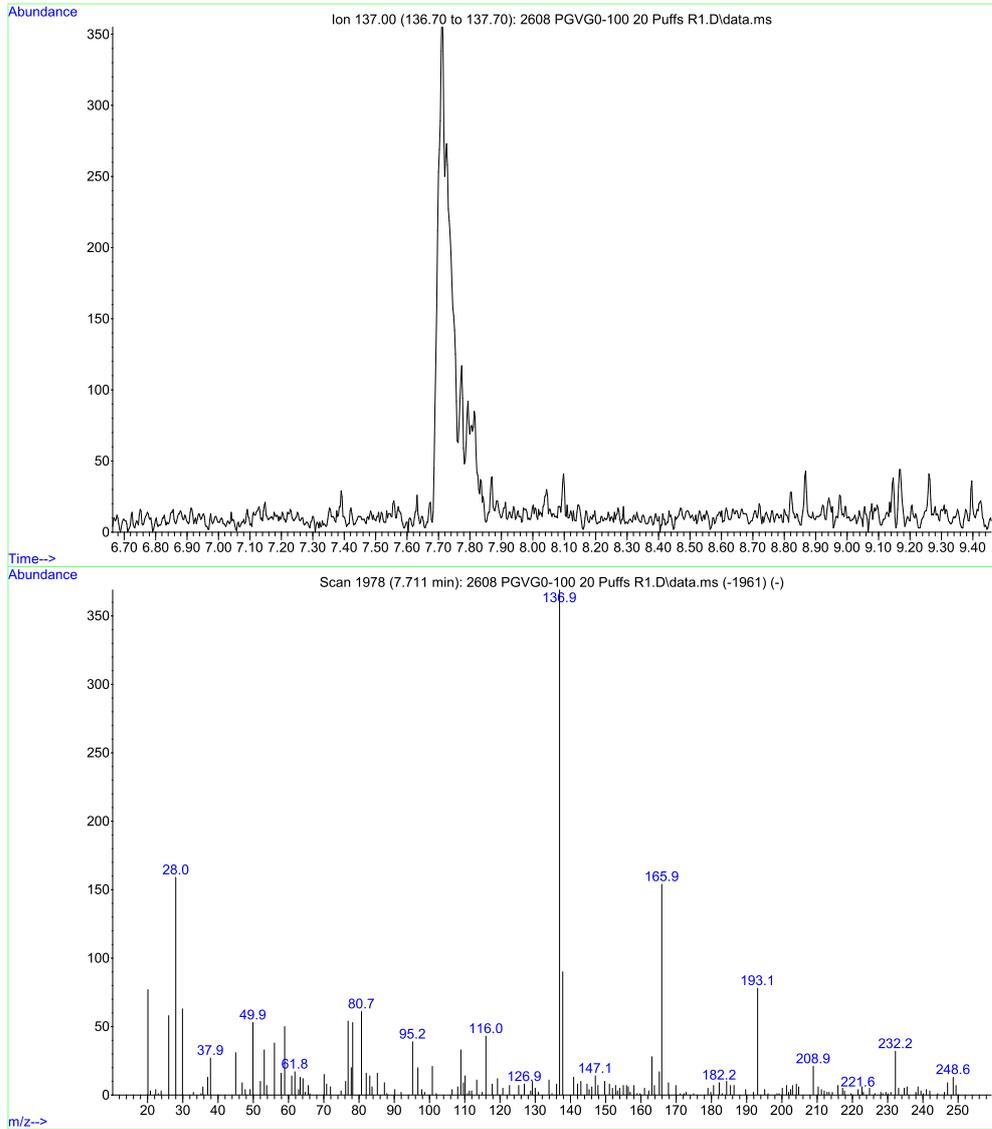
Fig2. Set-up smoking machine per la raccolta del condensato

Prima della raccolta e analisi, vengono effettuate delle sessioni a “vuoto” senza raccogliere il condensato. Nella sessione di raccolta del condensato è stato pesato l'e-juice prima della fumata sperimentale. Per ogni rapporto di miscelazione sono stati raccolti 20 puff, dalla durata di 3s ciascuno e con tempo di espirazione di 2 secondi. Nel gorgogliatore vi era una soluzione di quinaldine >95.0% (2-methylquinoline) a concentrazione nota. Le rette di calibrazione non sono riportate per brevità, mentre i risultati sono riportati in Tabella 1.

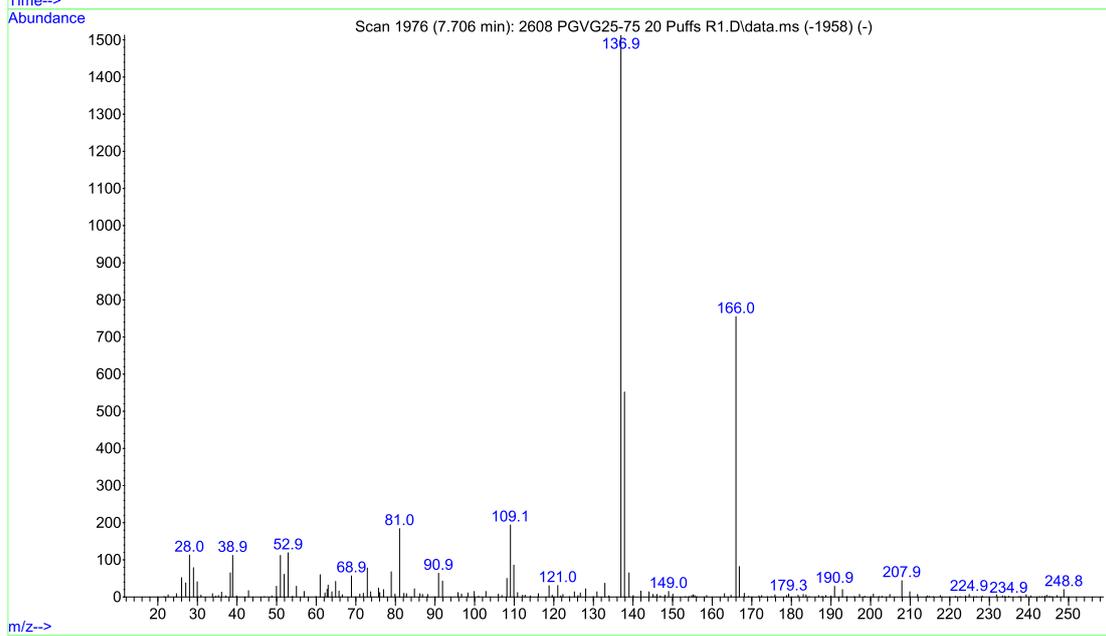
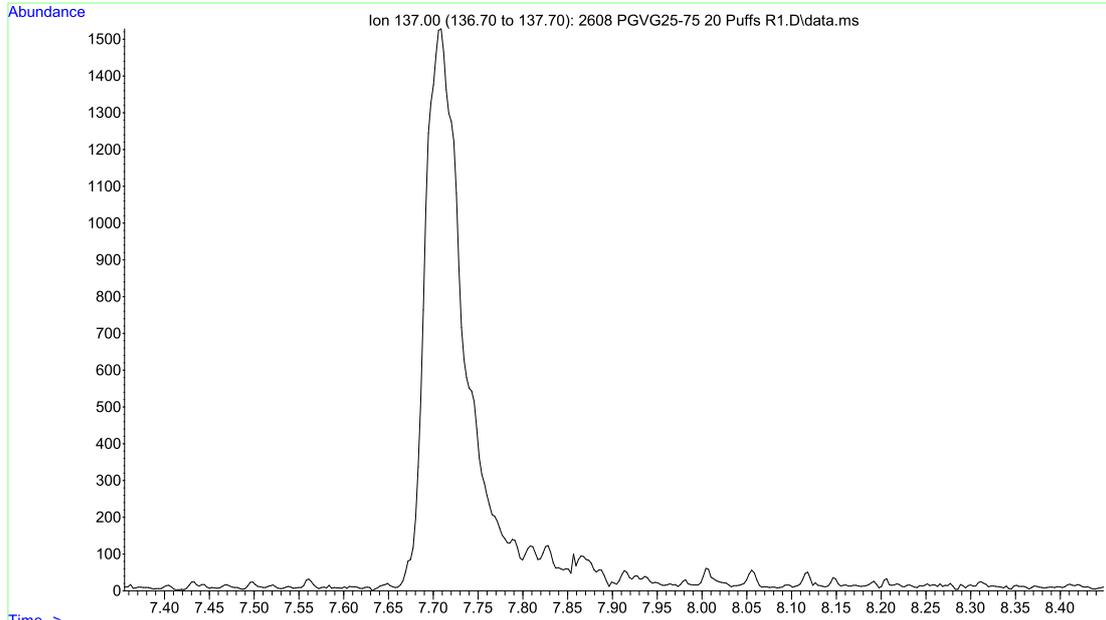
8.1 Risultati e analisi dei dati

Fig 3. ETIL VANILLINA- Risultati per 20 puffs con rapporto PG/VG variabile

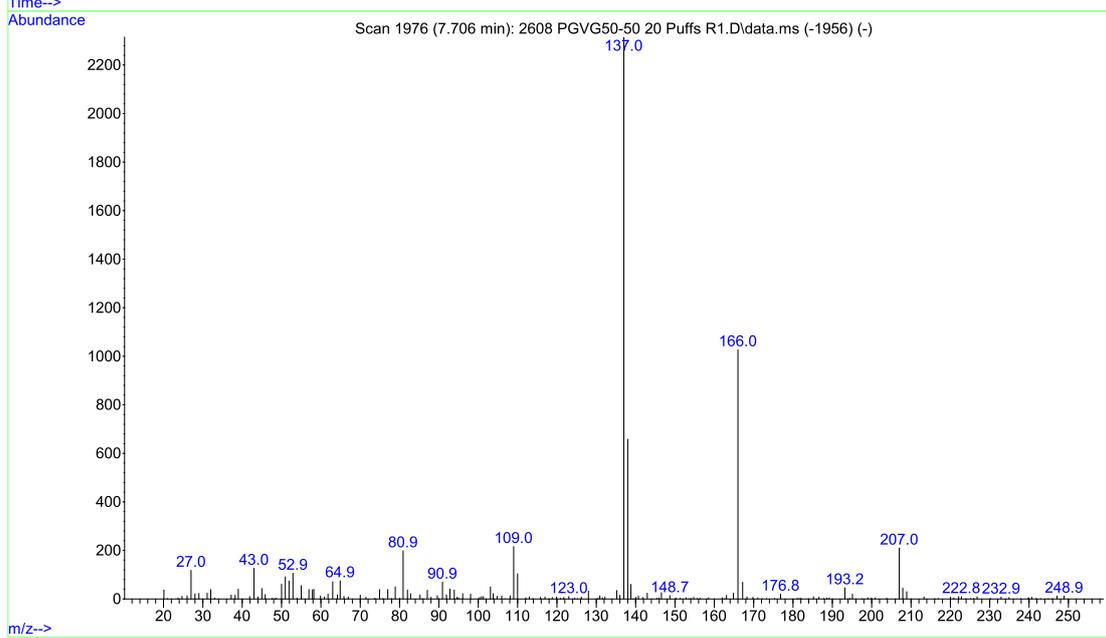
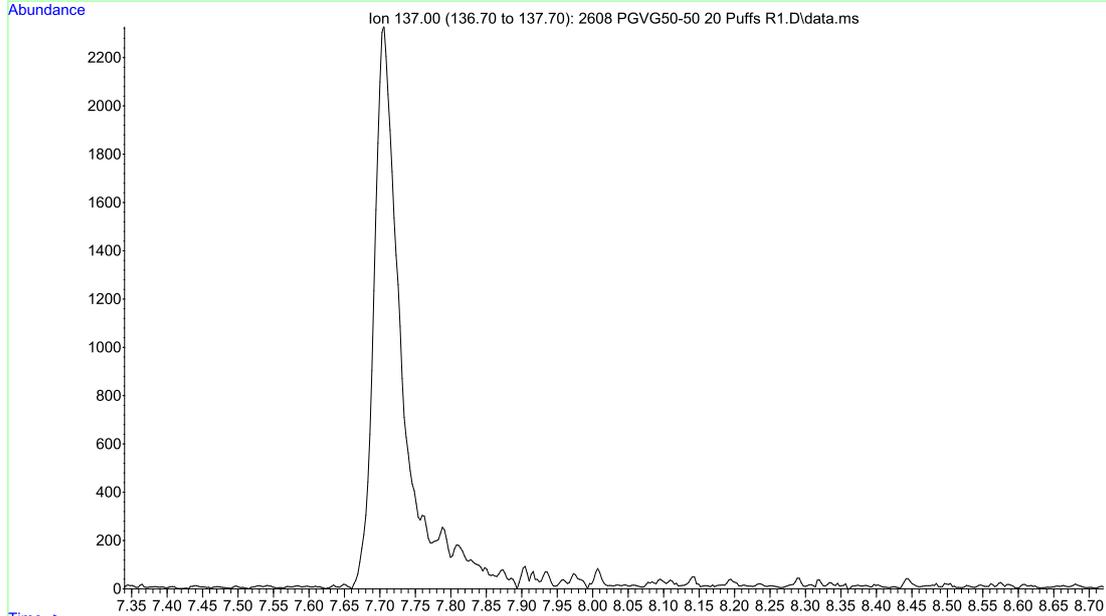
File :D:\MassHunter\GCMS\1\data\2022\Agosto\25082022 misure Claudi
... o\2608 PGVG0-100 20 Puffs R1.D
Operator :
Instrument : gc_msd
Acquired : 26 Aug 2022 12:57 using AcqMethod CompostiEliquids.M
Sample Name: 2608 PGVG0-100 20 Puffs R1
Misc Info :



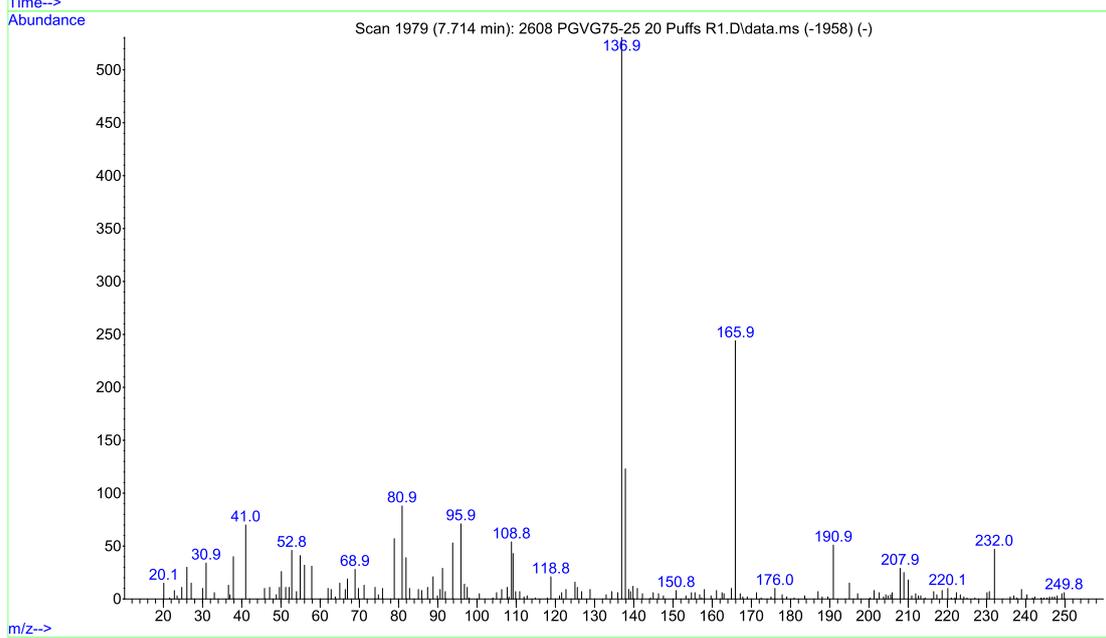
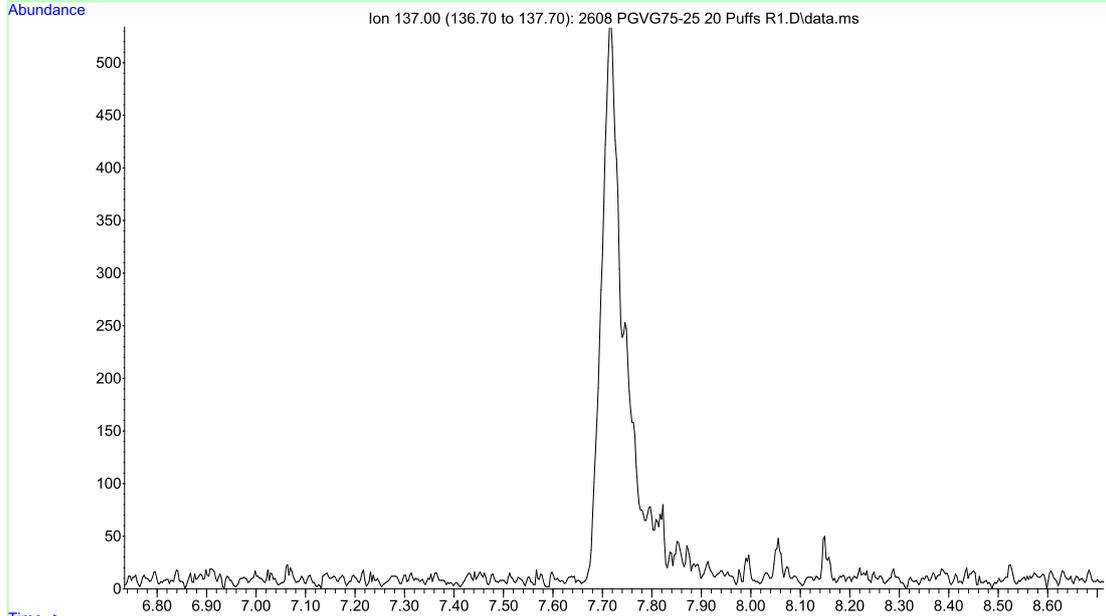
File :D:\MassHunter\GCMS\1\data\2022\Agosto\25082022 misure Claudi
... o\2608 PGVG25-75 20 Puffs R1.D
Operator :
Instrument : gc_msd
Acquired : 26 Aug 2022 14:18 using AcqMethod CompostiEliquids.M
Sample Name: 2608 PGVG25-75 20 Puffs R1
Misc Info :



File :D:\MassHunter\GCMS\1\data\2022\Agosto\25082022 misure Claudi
... o\2608 PGVG50-50 20 Puffs R1.D
Operator :
Instrument : gc_msd
Acquired : 26 Aug 2022 13:38 using AcqMethod CompostiEliquids.M
Sample Name: 2608 PGVG50-50 20 Puffs R1
Misc Info :



File :D:\MassHunter\GCMS\1\data\2022\Agosto\25082022 misure Claudi
... o\2608 PGVG75-25 20 Puffs R1.D
Operator :
Instrument : gc_msd
Acquired : 26 Aug 2022 12:17 using AcqMethod CompostiEliquids.M
Sample Name: 2608 PGVG75-25 20 Puffs R1
Misc Info :



File :D:\MassHunter\GCMS\1\data\2022\Agosto\25082022 misure Claudi
... o\2608 PGVG100-0 20 Puffs R1.D
Operator :
Instrument : gc_msd
Acquired : 26 Aug 2022 11:37 using AcqMethod CompostiEliquids.M
Sample Name: 2608 PGVG100-0 20 Puffs R1
Misc Info :

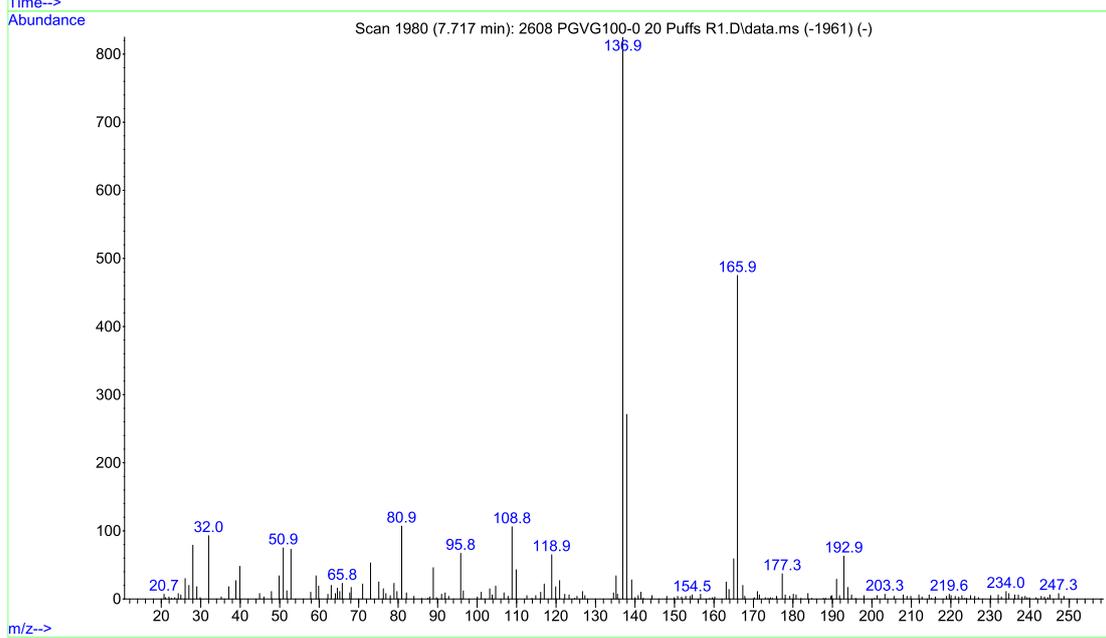
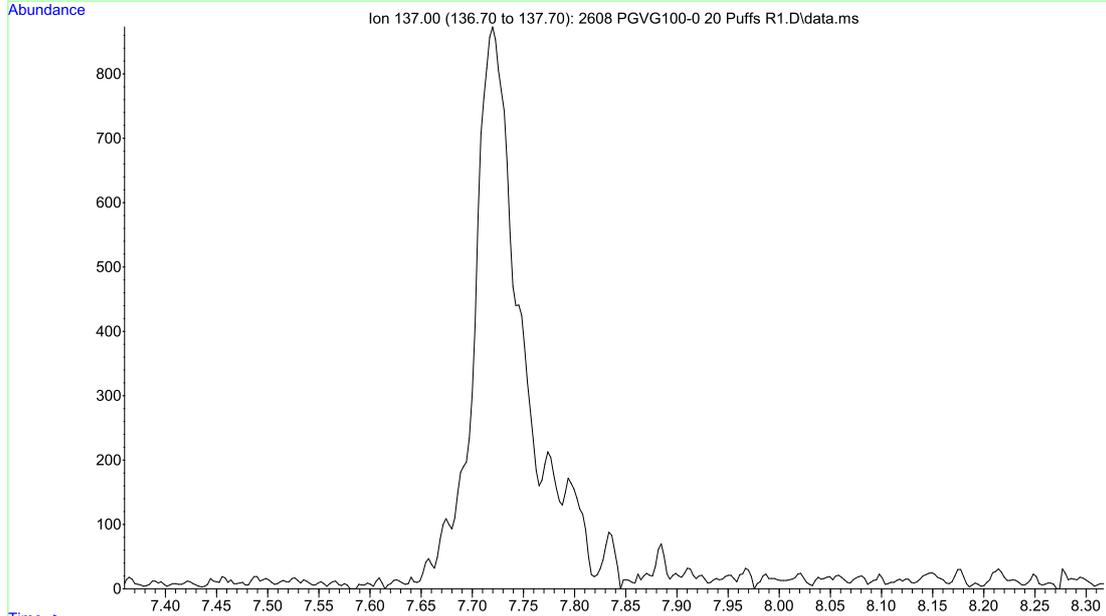
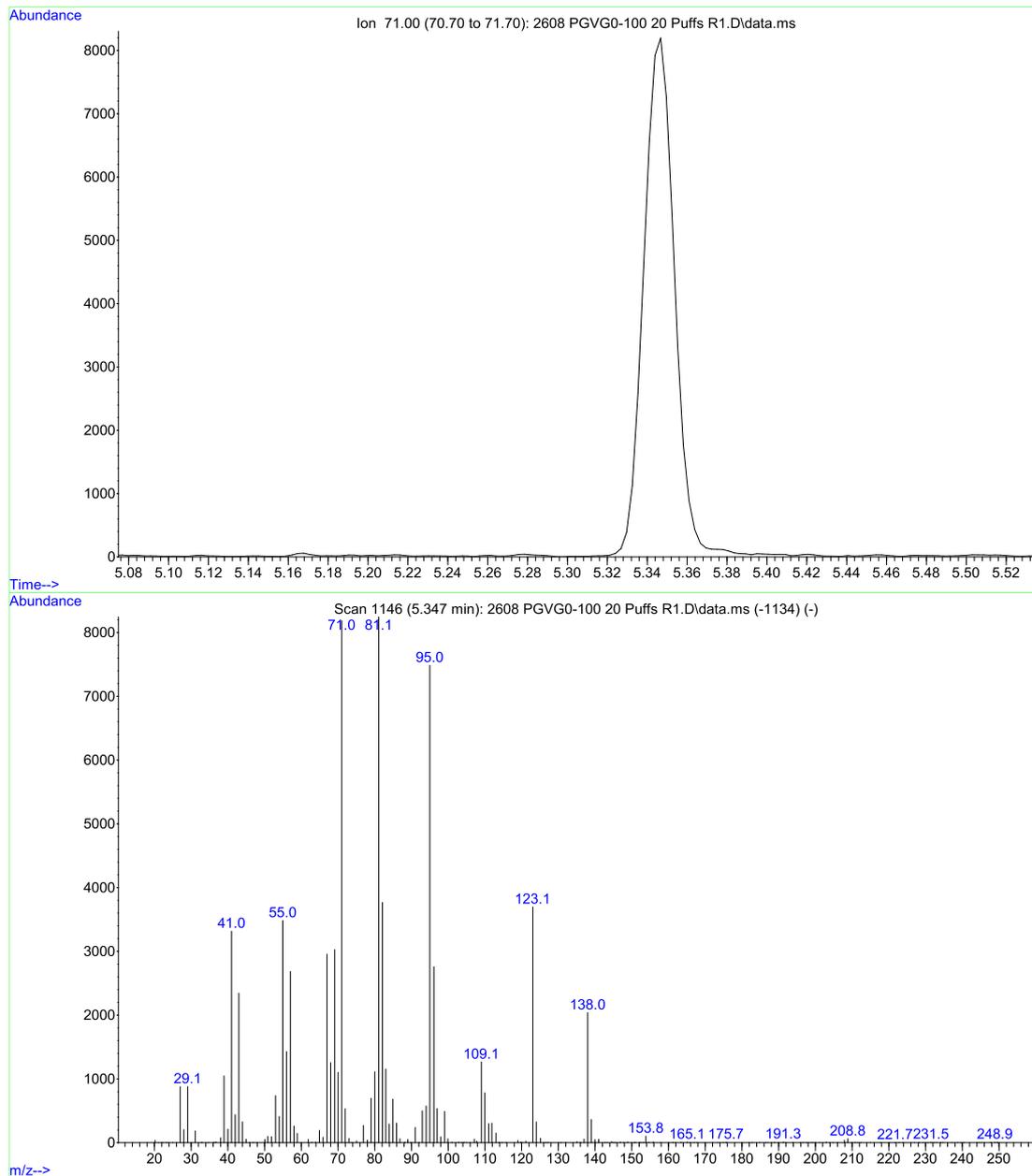
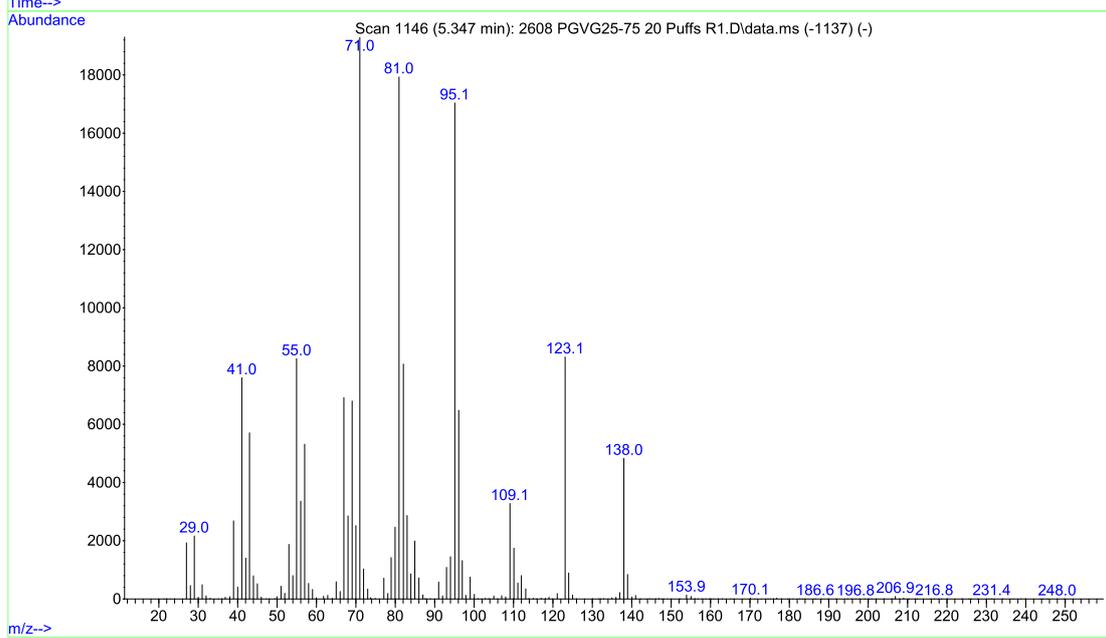
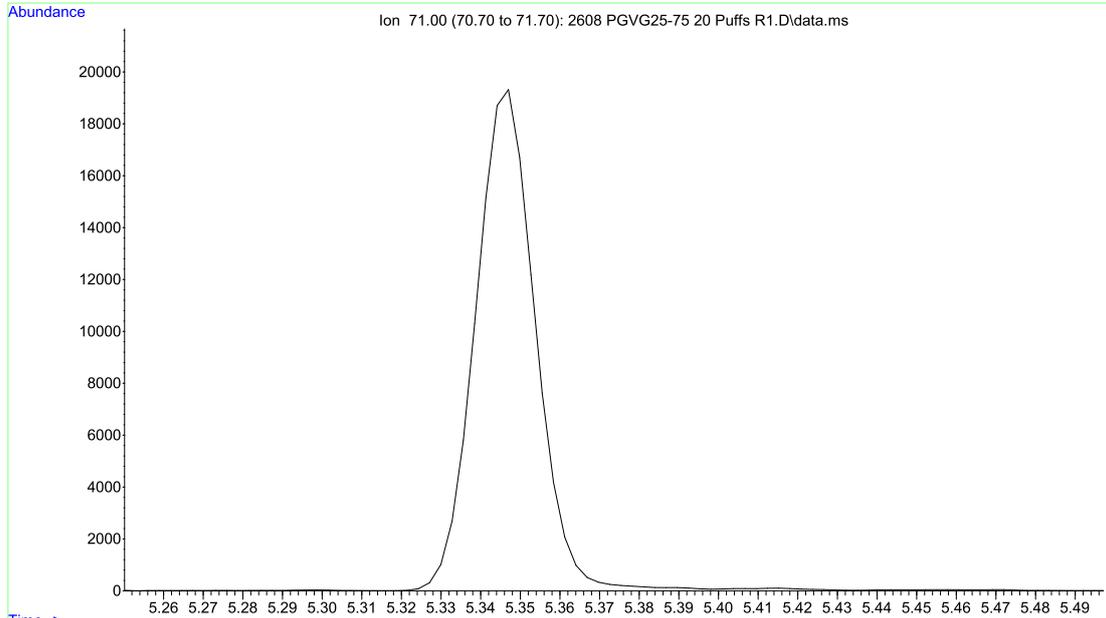


Fig 4. Mentolo- Risultati per 20 puffs con rapporto PG/VG variabile

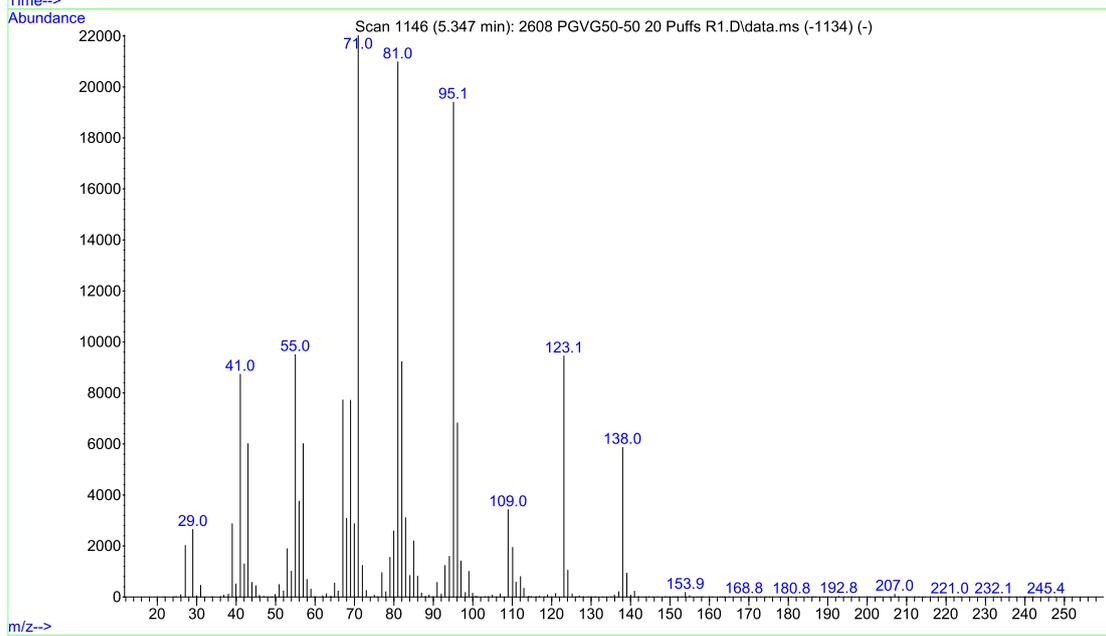
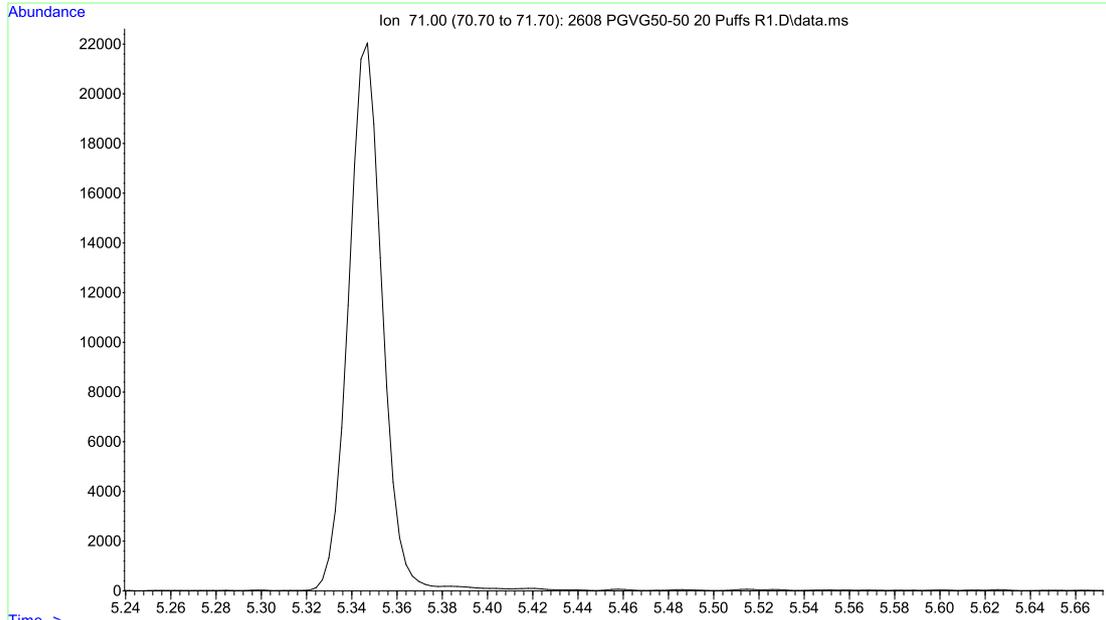
File :D:\MassHunter\GCMS\1\data\2022\Agosto\25082022 misure Claudi
... o\2608 PGVG0-100 20 Puffs R1.D
Operator :
Instrument : gc_msd
Acquired : 26 Aug 2022 12:57 using AcqMethod CompostiEliquids.M
Sample Name: 2608 PGVG0-100 20 Puffs R1
Misc Info :



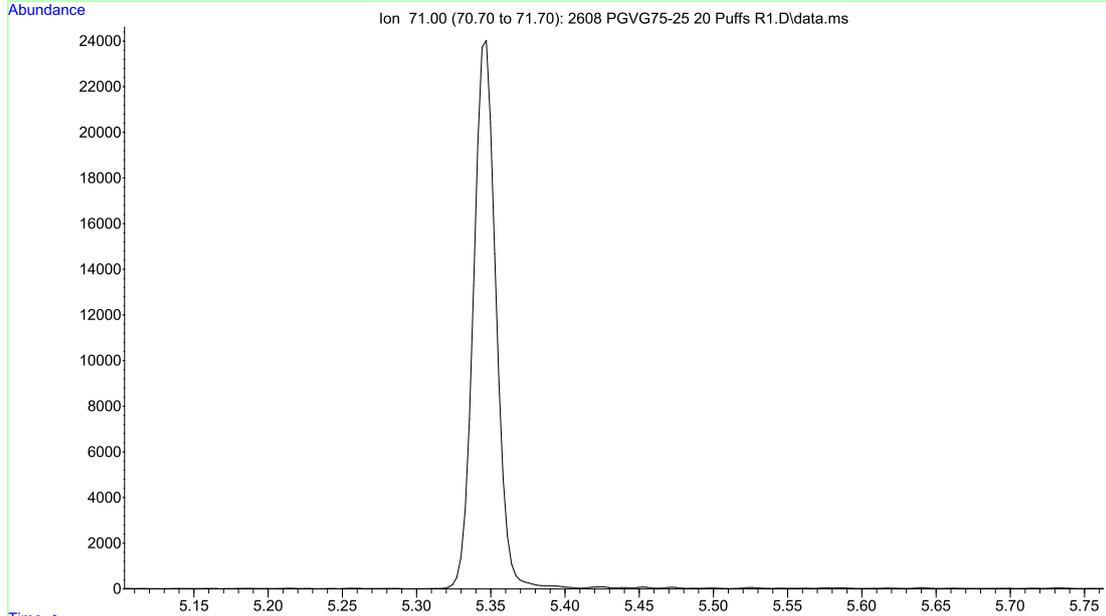
File :D:\MassHunter\GCMS\1\data\2022\Agosto\25082022 misure Claudi
... o\2608 PGVG25-75 20 Puffs R1.D
Operator :
Instrument : gc_msd
Acquired : 26 Aug 2022 14:18 using AcqMethod CompostiEliquids.M
Sample Name: 2608 PGVG25-75 20 Puffs R1
Misc Info :



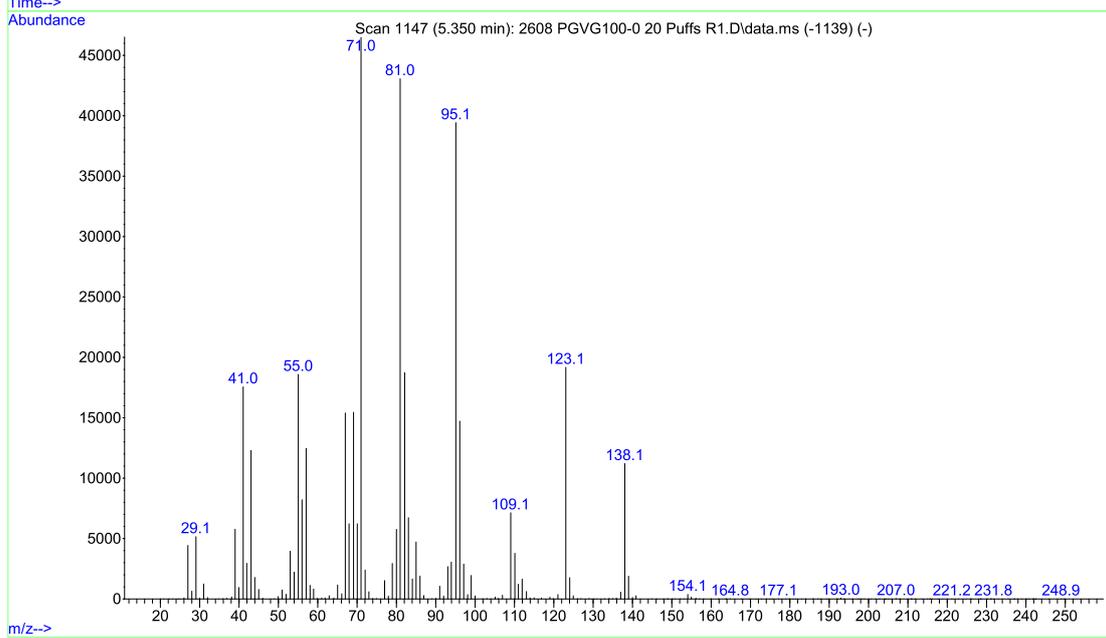
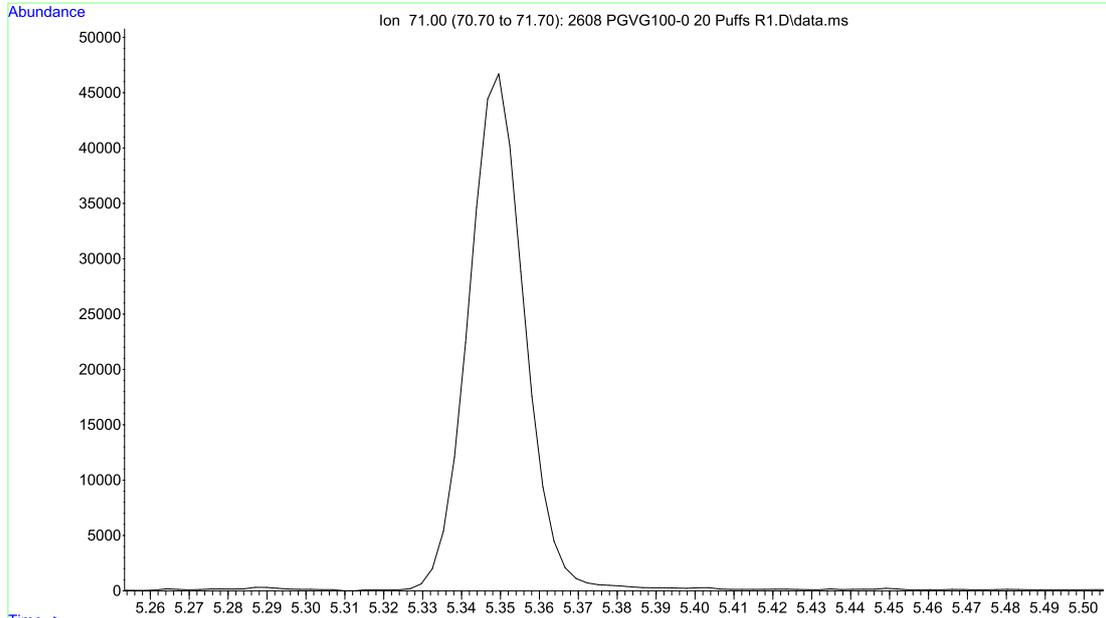
File :D:\MassHunter\GCMS\1\data\2022\Agosto\25082022 misure Claudi
... o\2608 PGVG50-50 20 Puffs R1.D
Operator :
Instrument : gc_msd
Acquired : 26 Aug 2022 13:38 using AcqMethod CompostiEliquids.M
Sample Name: 2608 PGVG50-50 20 Puffs R1
Misc Info :



File :D:\MassHunter\GCMS\1\data\2022\Agosto\25082022 misure Claudi
... o\2608 PGVG75-25 20 Puffs R1.D
Operator :
Instrument : gc_msd
Acquired : 26 Aug 2022 12:17 using AcqMethod CompostiEliquids.M
Sample Name: 2608 PGVG75-25 20 Puffs R1
Misc Info :



File :D:\MassHunter\GCMS\1\data\2022\Agosto\25082022 misura Claudi
... o\2608 PGVG100-0 20 Puffs R1.D
Operator :
Instrument : gc_msd
Acquired : 26 Aug 2022 11:37 using AcqMethod CompostiEliquids.M
Sample Name: 2608 PGVG100-0 20 Puffs R1
Misc Info :



Sebbene dalle pesate non si evidenziano particolari differenze nel consumo di e-liquid nelle sessioni con formulazioni diverse, è abbastanza evidente invece come il consumo di mentolo segua la concentrazione di PG, mentre per l'etil-vanillina questa abbia una tendenza a essere consumata più velocemente quando il PG ha basse percentuali nella composizione. Se lo studio aveva l'ipotesi che l'aroma potesse essere consumato tanto velocemente tanto quanto è maggiore il glicole propilenico nell'e-liquid questo è stato confermato per il mentolo, ma non per l'etil vanillina. Va sottolineato che più esperienze di laboratorio sono state eseguite secondo metodologia, ma restano di difficile interpretazione i dati. Nei cromatogrammi, oltre ai picchi corrispondenti ai composti di base e all'aroma, sono presenti anche altri picchi, che potrebbero essere oggetto di indagini future.

9 Conclusioni e approcci futuri

Le metodologie spesso impiegate negli studi per le analisi di e-liquid cercano di costruire e spiegare il comportamento dell'e-liquid in condizioni controllate e standardizzate. Il lavoro futuro dovrebbe concentrarsi sulla conferma delle identità dei composti non identificati e provvisoriamente identificati contrassegnati nel lavoro attuale. In sede operativa le condizioni potrebbero anche differire dal normale utilizzo del dispositivo, con l'intento di fornire una migliore comprensione del dispositivo in un contesto di alto controllo, utile a delineare comportamenti semplicistici e lineari. Inoltre, ci sono variabili legate allo stoccaggio del liquido e alla corretta maturazione dello stesso. Non viene mai preso in considerazione la possibilità d'uso non corretto o non convenzionale dell'e-cig. Ci sono parametri di svapata che vengono mantenuti costanti durante tutta la sessione di raccolta dati. Le e-cig sono un "sistema aperto" in cui si può inserire il prodotto che si preferisce, è quindi fondamentale fare estrema attenzione alla grande variabilità dei componenti unici delle sigarette elettroniche aromatizzate, come glicole propilenico, glicerina vegetale e alle diverse sostanze chimiche aromatizzanti, che potrebbero indurre altri effetti sulla salute. Vi sono poi alcune criticità oggettive che rendono complesso studiare gli effetti sulla salute di tali dispositivi, quali la rapida evoluzione dei dispositivi tecnologici esistenti nel settore delle e-cig, l'assenza di uno standard "liquido/dispositivo", l'assenza di standardizzazione per la generazione di "aerosol" e infine il potenziale ostacolo legato alle considerazioni etiche che rendono lo studio dei liquidi/dispositivi che creano dipendenza e potenzialmente dannosi nei non fumatori difficilmente conducibile. I numerosi composti non identificati segnalati nel presente lavoro possono essere impurità tossiche; pertanto, spetta alla comunità scientifica accertare quali siano questi composti. Potrebbe essere interessante, per uno studio futuro, allontanarsi da condizioni di forte controllo, per potere restituire un approccio più verosimile alla raccolta dei dati. Da come risulta da entrambe le indagini esistono nuovi prodotti di formazione nell'aerosol che non sono presenti nel e-juice e potrebbe essere correlato all'uso della e-cig in laboratorio; infatti la resistenza subisce uno stress e un consumo diverso da quello che si avrebbe in un uso continuativo in condizione reale.

10 Bibliografia e sitografia

- (1) <https://www.epicentro.iss.it/gyts/Indagine2018>; ultimo accesso 29/11/22
<https://www.salute.gov.it/portale/fumo/dettaglioContenutiFumo.jsp?lingua=italiano&id=5589&area=fumo&menu=vuoto>; accesso in rete 25/11/2022
https://health.ec.europa.eu/scientific-committees_en; accesso in rete 25/11/2022
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>; ultimo accesso 28/11/2022
- (2) Etter JF. Gateway effects and electronic cigarettes. *Addiction*. 2018 Oct;113(10):1776-1783. doi: 10.1111/add.13924. Epub 2017 Aug 7. PMID: 28786147.
- (3) Pasquini, Rossana. "Fumo: nuovi prodotti e riduzione del danno. Luci ed ombre sull'impatto delle sigarette elettroniche e tabacco riscaldato."
- (4) Open access Young adult perceptions of JUUL and other pod electronic cigarette devices in California: a qualitative study <http://bmjopen.bmj.com/> ; accesso in rete 25/11/2022
- (5) Ferkol TW, Farber HJ, La Grutta S, et al. Electronic cigarette use in youths: a position statement of the Forum of International Respiratory Societies. *Eur Respir J* 2018; 51: 1800278 [<https://doi.org/10.1183/13993003.00278-2018>].
- (6) Leone Shahab: Esposizione a nicotina, cancerogeno e tossina negli utenti di sigarette elettroniche a lungo termine e terapia sostitutiva della nicotina.
- (7) Osservatorio europeo delle droghe e delle tossicodipendenze (2019). Relazione europea sulla droga 2019: tendenze e sviluppi. Ufficio delle pubblicazioni dell'Unione europea, Lussemburgo. Available from <https://bit.ly/2fyin>
- (8) L. Amato et al.: Effetti delle sigarette elettroniche sulla salute: una revisione sistematica delle prove disponibili
- (9) Fact sheet in inglese "Italy 2018. Global Youth Tobacco Survey (GYTS). Fact sheet
- (10) D'Ruiz CD, Graff DW, Yan XS. Nicotine delivery, tolerability and reduction of smoking urge in smokers following short-term use of one brand of electronic cigarettes. *BMC Public Health* 2015; 15: 991.
- (11) Wang JB, Olgin JE, Nah G, et al. Cigarette and e-cigarette dual use and risk of cardiopulmonary symptoms in the Health eHeart Study. *PLoS One* 2018; 13: e0198681.
- (12) Wills TA, Pagano I, Williams RJ, et al. E-cigarette use and respiratory disorder in an adult sample. *Drug Alcohol Depend* 2019; 194: 363-70.
- (13) Layden JE, Ghinai I, Pray I, et al. Pulmonary illness related to e-cigarette use in Illinois and Wisconsin. Preliminary report. *N Engl J Med* 2019; 10.1056/NEJMoa1911614.
- (14) Differenze di sesso nell'induzione dell'enzima di conversione dell'angiotensina 2 (ACE-2) nei polmoni del topo dopo l'esposizione al vapore di sigaretta elettronica e la sua rilevanza per COVID-19. ; ultimo accesso 2/12/22

(15) Jason S. Herrington ^aColton Myers ^bRestek Corporation, 110 Benner Circle, Bellefonte, PA 16823, Stati Uniti Juniata College, 1700 Moore Street, Huntingdon, PA 16652, Stati Uniti

(16) John McCurry Fondamenti di chimica organica-quarta edizione italiana condotta sulla settima edizione americana -Zanichelli (Gennaio 2011)

(17) S. Herrington, C. Myers / J. Chromatogr. A 1418 (2015) 192–199

(18) <https://www.adm.gov.it/portale/modulistica-liquidi-inalazione> ; ultimo accesso 29/11/2022

(19) Routine analytical machine for e-cigarette aerosol generation and collection – definitions and standard

(20) https://www.coresta.org/sites/default/files/technical_documents/main/CRM_81.pdf; ultimo accesso 29/11/22

(21) <http://www.fda.gov/NewsEvents/PublicHealthFocus/ucm172906.htm>; ultimo accesso 28/11/2022

Ringraziamenti

Ringrazio il Professore Cappellin, per avermi proposto l'argomento di tesi, e per avermi guidato e supportato nella fase di stesura e nello svolgimento del tirocinio.

Ringrazio il sig. Werner Tolotti per avermi prestato la sua massima disponibilità durante tutta l'attività di tirocinio curriculare. La sua disponibilità professionale e umana è stata fondamentale per il corretto svolgimento delle attività in laboratorio, coinvolgendomi attivamente e dinamicamente.

Ringrazio Patrizia Dal Zovo per avermi fornito un tetto, il suo appoggio emotivo e personale.

Ringrazio la Famiglia, perché prima o poi le preoccupazioni e le ansie donate dovevano essere ripagate! Soldi non ne ho quindi con la speranza che la mia tesi possa bastarvi.

E infine ma non per importanza: Ringrazio me stesso per avere superato le difficoltà del mondo accademico, le difficoltà personali e gli ostacoli della vita Universitaria.