ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΙ ΠΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΒΑΡΕΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΣΕ ΥΓΡΑ ΑΝΑΠΛΗΡΩΣΗΣ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟΥ ΤΣΙΓΑΡΟΥ

Ελένη Καμηλάρη[1], Κωνσταντίνος Φαρσαλινός[2,3,*], Αθανάσιος Νιάρχος[2], Ευαγγελία Κωνσταντίνου[2], Χρίστος Κοντογιάννης[1,4], Κωνσταντίνος Πουλάς[2,*] και Μαλβίνα Όρκουλα[1,*]

[1]Εργαστήριο Ενόργανης Ανάλυσης, Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Πατρών
[2]Εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας και Ανοσολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Πατρών
[3]Ωνάσειο Καρδιοχειρουργικό Κέντρο, Αθήνα
[4]ΙΤΕ/ΙΕΧΜΗ, Πάτρα
e-mail: malbie@upatras.gr, kpoulas@upatras.gr, kfarsalinos@gmail.com

Περίληψη

Τα ηλεκτρονικά τσιγάρα (e-cigarettes) είναι προϊόντα που τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιούνται ως εναλλακτικά του καπνίσματος ή ακόμη και ως αυτόνομα καταναλωτικά προϊόντα. Η λειτουργία τους βασίζεται στην άτμιση, μέσω κατάλληλης συσκευής, των ειδικά παρασκευασμένων υγρών αναπλήρωσης (e-liquids).

Τα υγρά αυτά περιέχουν νικοτίνη, σε διάφορες συγκεντρώσεις, αρώματα καθώς και προπυλενογλυκόλη, φυτική γλυκερίνη και νερό. Κατά τη διαδικασία της παραγωγής ή της άτμισης (ειδικότερα κατά τη δεύτερη, όπου το υγρό έρχεται σε επαφή με τη μεταλλική αντίσταση της συσκευής άτμισης σε υψηλή θερμοκρασία) ενδέχεται να εισέρχονται στο υγρό αναπλήρωσης και τελικά να εισπνέονται από τον ατμιστή ή τον παθητικό ατμιστή, μέταλλα, με τοξικές συνέπειες για την υγεία τους.

Στο πλαίσιο της παρούσας εργασίας αναπτύχθηκε μεθοδολογία για την ανίχνευση και ποσοτική ανάλυση των μετάλλων Cd, Pb, Ni, Cu και Cr τα οποία ορίζονται από την Αμερικανική Φαρμακοποιία ως επικίνδυνα για τα εισπνεόμενα φάρμακα. Η μεθοδολογία στηρίχθηκε στην τεχνική της Ολικής Ανάκλασης του Φθορισμού των Ακτίνων-Χ (T-XRF) με βασικά πλεονεκτήματα την ταχύτητα και την αμεσότητα της ανάλυσης, την ταυτόχρονη εκτίμηση όλων των στοιχείων, ενώ η απαιτούμενη προετοιμασία των δειγμάτων είναι ελάχιστη. Η προτεινόμενη μεθοδολογία εφαρμόστηκε σε ένα μεγάλο αριθμό υγρών αναπλήρωσης από την ελεύθερη αγορά αλλά και στους υγροποιημένους ατμούς τους, δηλ. μετά την άτμισή τους με χρήση ατμοποιητών ευρείας χρήσης επίσης από την ελεύθερη αγορά, σε μια προσπάθεια αποτίμησης της καταλληλότητας τόσο των υγρών όσο και των ατμοποιητών.

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι, μέχρι στιγμής τουλάχιστον, δεν υπάρχει κάποια κανονιστική διάταξη στην Ευρωπαϊκή Νομοθεσία που να υπαγορεύει τον τρόπο ελέγχου (και τον έλεγχο γενικότερα) των υγρών πλήρωσης των ηλεκτρονικών τσιγάρων καθώς και των ατμοποιητών. Η προτεινόμενη μεθοδολογία μπορεί να αποτελέσει σημαντικό εργαλείο στην ανίχνευση των επιπέδων των βαρέων μετάλλων στην άτμιση για την προστασία της υγείας του καταναλωτή.

Λέξεις-Κλειδιά: ηλεκτρονικό τσιγάρο, υγρό αναπλήρωσης, μέταλλα, XRF spectroscopy.

Abstract

Electronic cigarettes are constantly gaining acceptance in many countries as healthier alternatives to cigarettes containing tobacco or as consumer products. Electronic cigarettes are battery operated devices that deliver vapor to the user through vaporization of specially produced solutions, which are known as electronic cigarette refill liquids (e-liquids).

Electronic cigarette refill fluids consist of propylene glycol, vegetable glycerin, nicotine (in various concentrations), water and flavoring agents. Heavy metals may enter the refill liquid during the production process or during vaporization (especially during the latter, where the liquid is in contact with the metallic resistance of the steaming device at high temperature). Those metals may ultimately be inhaled by the consumer or the passive consumer with potential toxic effects on their health.

The objective of the present study was the development of a methodology for the detection and quantitative analysis of cadmium (Cd), lead (Pb), nickel (Ni), copper (Cu) and chromium (Cr), which are considered hazardous for inhaled drugs, according to US Pharmacopoeia. For this purpose, the technique of Total Reflection X-Ray Fluorescence Spectroscopy (TXRF) was chosen due to its advantages, which include short analysis time, promptness, simultaneous multielement analysis capability and minimum sample preparation. The proposed methodology was applied to a large number of electronic cigarette liquids commercially available, as well as, to liquids produced after vaporization through commercially available cartomizers, in order to evaluate the safety of both liquids and cartomizers.

It should be noted that, at the moment, there is no provision in the European legislation that dictates the inspection and testing of the refill liquids and cartomizers. The proposed methodology may be a valuable tool for probing heavy metals before and after vaporization to serve for the protection of human health.

Keywords: electronic cigarette, refill liquid, heavy metals, XRF spectroscopy.

1. Εισαγωγή

Τα ηλεκτρονικά τσιγάρα κερδίζουν συνεχώς έδαφος στις προτιμήσεις των καταναλωτών ως μια περισσότερο υγιεινή εναλλακτική λύση σε σύγκριση με τα τσιγάρα που περιέχουν καπνό. Πρόκειται για συσκευές που έχουν σχεδιαστεί με τέτοιο τρόπο ώστε να μοιάζουν με τα συμβατικά τσιγάρα, αλλά λειτουργούν με μπαταρία και παράγουν ατμό με θέρμανση ενός διαλύματος (Grana et al, 2014). Το διάλυμα αυτό, γνωστό ως υγρό αναπλήρωσης, συντίθενται από ένα υγραντικό μέσο, όπως προπυλενογλυκόλη (propylene glycol) ή φυτική γλυκερίνη (vegetable glycerin), νικοτίνη (σε διάφορες συγκεντρώσεις) και αρώματα. Διάφορα είδη υγρών αναπλήρωσης είναι διαθέσιμα σε καταστήματα και στο διαδίκτυο.

Μελέτες που έχουν διεξαχθεί για τη χημική αξιολόγηση του παραγόμενου αερολύματος αναφέρουν την ύπαρξη μετάλλων σε αυτό. Οι Williams et al. μελέτησαν την παρουσία μετάλλων στο αερόλυμα που παράχθηκε από έναν ατμοποιητή με την τεχνική της Φασματομετρίας Οπτικής Εκπομπής Επαγωγικά Συζευγμένου Πλάσματος (Inductively

Coupled Mass Spectrometry - Optical Emission Spectroscopy, ICP-OES) και προσδιορίστηκαν τα εξής στοιχεία: αλουμίνιο (Al), ασβέστιο (Ca), βάριο (Ba), βόριο (B), ζιρκόνιο (Zr), θείο (S), κάλιο (K), κασσίτερος (Sn), λίθιο (Li), μαγγάνιο (Mn), μαγνήσιο (Mg), μόλυβδος (Pb), νάτριο (Na), νικέλιο (Ni), πυρίτιο (Si), σίδηρος (Fe), στρόντιο (Sr), τιτάνιο (Ti), χρώμιο (Cr), χαλκός (Cu) και ψευδάργυρος (Zn) (Williams et al, 2013). Από αυτά, ο μόλυβδος (Pb), το κάδμιο (Cd), το νικέλιο (Ni), ο χαλκός (Cu) και το χρώμιο (Cr) ορίζονται από την Αμερικανική Φαρμακοποιία ως επικίνδυνα για τα εισπνεόμενα φάρμακα. Σε μία άλλη εργασία, οι Goniewicz et al χρησιμοποίησαν την τεχνική της Φασματομετρίας Μαζών Επαγωγικά Συζευγμένου Πλάσματος (Inductively Coupled Mass Spectrometry - Mass Spectrometry, ICP-MS) για τη μέτρηση μετάλλων στα αερολύματα 12 διαφορετικών υγρών ηλεκτρονικών τσιγάρων και τα αποτελέσματα αναφέρουν την παρουσία καδμίου (Cd), νικελίου (Ni) και μολύβδου (Pb) σε αυτά (Goniewicz et al, 2014). Τέτοιου είδους μέταλλα στα ηλεκτρονικά τσιγάρα μπορεί να πηγάζουν από τα επιμέρους συστατικά που χρησιμοποιούνται στην παρασκευή των υγρών ή εισέρχονται ενδεχομένως στο αερόλυμα κατά τη διαδικασία της άτμισης, όπου το υγρό έρχεται σε επαφή με τα μεταλλικά μέρη της συσκευής σε υψηλές θερμοκρασίες.

Με τον όρο βαρέα μέταλλα αναφέρονται τα φυσικά απαντώμενα στοιχεία που έχουν υψηλό ατομικό βάρος και πυκνότητα μεγαλύτερη από 5g/cm^3 (Jarup, 2003), τα οποία όταν βρίσκονται σε χαμηλές συγκεντρώσεις συντελούν στη ρύθμιση διαφόρων φυσικών και βιοχημικών διεργασιών, αλλά αν τα επίπεδά τους ξεπεράσουν ορισμένη κρίσιμη τιμή προκαλούν τοξικές επιδράσεις στον οργανισμό. Εισέρχονται στον ανθρώπινο οργανισμό μέσω του εισπνεόμενου αέρα, του νερού, της τροφής και της απορρόφησης μέσω του δέρματος και η χρόνια έκθεση σε αυτά μπορεί να προκαλέσει βλάβη σε όργανα και στο κεντρικό νευρικό σύστημα, μειωμένη ανάπτυξη και κακοήθειες (Tchounwou et al, 2013). Συνεπώς, ο έλεγχος των επιπέδων τους σε διαφόρων ειδών προϊόντα καθημερινής χρήσης, όπως το νερό, τα τρόφιμα, τα καλλυντικά, τα φάρμακα και κατ' επέκταση και τα ηλεκτρονικά τσιγάρα, είναι αναγκαίος για την προστασία της ανθρώπινης υγείας.

Στην παρούσα εργασία, αναπτύχθηκε μεθοδολογία βασισμένη στην τεχνική της Φασματοσκοπίας Φθορισμού Ακτίνων-Χ Ολικής Ανάκλασης (Total Reflection X-Ray Fluorescence Spectroscopy, TXRF) για την ανίχνευση και τον ποσοτικό προσδιορισμό βαρέων μετάλλων σε υγρά αναπλήρωσης ηλεκτρονικών τσιγάρων, καθώς και στα επιμέρους συστατικά τους (προπυλενογλυκόλη, φυτική γλυκερίνη, νικοτίνη και αρώματα). Στη συνέχεια, η ίδια μεθοδολογία εφαρμόστηκε και σε υγροποιημένα αερολύματα των παραπάνω υγρών αναπλήρωσης, στοχεύοντας στην αποτίμηση της καταλληλότητας όχι μόνο των υγρών αλλά και των ατμοποιητών. Η επιλογή της συγκεκριμένης μεθόδου στηρίχτηκε στα βασικά πλεονεκτήματά της, τα οποία περιλαμβάνουν την ταυτόχρονη ανάλυση όλων των στοιχείων, την ακρίβεια, το μικρό χρόνο ανάλυσης, την αμεσότητα της ανάλυσης, τα χαμηλά όρια ανίχνευσης (στην περιοχή των ppb) και το γεγονός ότι απαιτείται ελάχιστη προεργασία των δειγμάτων. Επιπλέον, η ποσοτική ανάλυση είναι λιγότερο πολύπλοκη με τη χρήση εσωτερικού προτύπου (Antosz et al, 2012).

2. Μεθοδολογία

Χρησιμοποιήθηκε το φορητό φασματοφωτόμετρο διασποράς ενέργειας φθορισμού ακτίνων Χ ολικής ανάκλασης TXRF S2 Picofox™ (Bruker, Germany), το οποίο διαθέτει

ένα ψυχόμενο με αέρα σωλήνα ακτίνων Χ χαμηλής ισχύος και χρησιμοποιεί πηγή μολυβδαινίου (Mo) για την παραγωγή της κύριας δέσμης ακτίνων Χ. Η ανίχνευση των παραγόμενων ακτίνων Χ πραγματοποιείται από ανιχνευτή ημιαγωγού με διάχυση πυριτίου (Si) (Silicon Drift Detector) ψυχόμενο με θερμοηλεκτρικά στοιχεία (Peltier).

Η ποσοτική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση εσωτερικού προτύπου (internal standard). Στη συγκεκριμένη περίπτωση επιλέχθηκε το γάλλιο (Ga) ως εσωτερικό πρότυπο επειδή δεν απαντάται συχνά στο συγκεκριμένο είδος δειγμάτων. Η επεξεργασία των φασμάτων TXRF για την ταυτοποίηση των στοιχείων και την ποσοτική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του λογισμικού S2 Picofox™ της εταιρείας Bruker.

2.1 Διαλύματα

Χρησιμοποιήθηκε πρότυπο διάλυμα γαλλίου της εταιρείας Fluka® με συγκέντρωση 1000 mg/L σε 5% w/w HNO_3 και υπερκάθαρο νερό από σύστημα Millipore Milli-Q (18 MΩ·cm). Υγρά αναπλήρωσης ηλεκτρονικών τσιγάρων διαφόρων εταιρειών που ήταν διαθέσιμα στην ελεύθερη αγορά της Ευρώπης και άλλων χωρών επιλέχθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν στη συγκεκριμένη εργασία χωρίς να υποστούν επεξεργασία. Προπυλενογλυκόλη, φυτική γλυκερίνη, νικοτίνη (Alchem, India) και 8 διαφορετικά είδη αρωμάτων μας δόθηκαν από έναν εγχώριο παραγωγό υγρών για ηλεκτρονικά τσιγάρα.

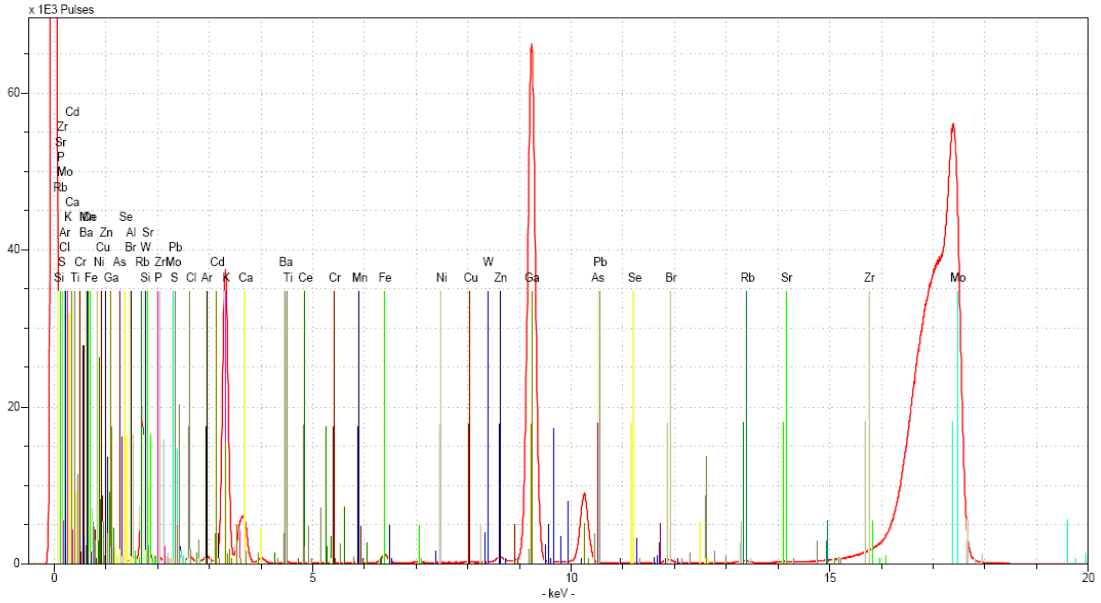
Για τον έλεγχο των ατμοποιητών, χρησιμοποιήθηκε ένα υγρό πλήρωσης που παρασκευάστηκε με μίγμα προπυλενογλυκόλης-φυτικής γλυκερίνης σε αναλογία όγκων 80:20 και νικοτίνη, ενώ δεν περιείχε κάποιο άρωμα. Η άτμιση του υγρού προκλήθηκε με χρήση 29 διαφορετικών ατμοποιητών ευρείας χρήσης που είναι διαθέσιμοι στην ελεύθερη αγορά και τα αερολύματα συλλέχθηκαν, μετά από επαναυγροποίησή τους σε νιτρικό οξύ, με τη βοήθεια κατάλληλης διάταξης. Για λόγους σύγκρισης, αναλύθηκε το υγρό αναπλήρωσης πριν την άτμιση, καθώς και δείγμα αέρα χωρίς υγρό, το οποίο υγροποιήθηκε και συλλέχθηκε με τον ίδιο ακριβώς τρόπο.

2.2 Προετοιμασία δειγμάτων - Μετρήσεις TXRF

Αρχικά, τα πλακίδια-δειγματοφορείς TXRF καθαρίστηκαν και ελέγχθηκε η καθαρότητά τους με μέτρηση στο φασματοφωτόμετρο TXRF των πλακιδίων χωρίς δείγμα. Όπως ήταν αναμενόμενο, οι μόνες κορυφές που εμφανίστηκαν ήταν από το πυρίτιο (Si), αργό (Ar) και μολυβδαίνιο (Mo). Η προετοιμασία των δειγμάτων περιελάμβανε την ανάμιξη 1 mL από κάθε υγρό δείγμα με 10 μL πρότυπου διαλύματος γαλλίου συγκέντρωσης 1000 mg/L (εσωτερικό πρότυπο) και έντονη ανάδευση σε συσκευή vortex για ομογενοποίηση. Με τη βοήθεια αυτόματης πιπέττας, συλλέχθηκαν 10 μL από το μίγμα και εναποτέθηκαν στο κέντρο του δειγματοφορέα, το οποίο τοποθετήθηκε μετά σε πυριαντήριο στους 120°C και αφέθηκε για εξάτμιση της σταγόνας κατά τη διάρκεια της νύχτας. Στην περίπτωση των υγροποιημένων αερολυμάτων, το πλακίδιο τοποθετήθηκε στο πυριαντήριο στους 80°C για 30 min προκειμένου να εξατμιστεί η σταγόνα.

3. Αποτελέσματα

Στο σχήμα 1 παρουσιάζεται ένα χαρακτηριστικό φάσμα TXRF μετά από επεξεργασία, στο οποίο φαίνονται οι κορυφές που αντιστοιχούν στη γραμμή κάθε στοιχείου που υπάρχει στο μελετώμενο υλικό. Στοιχεία που ταυτοποιήθηκαν στα εξεταζόμενα υγρά αναπλήρωσης ηλεκτρονικών τσιγάρων ήταν: αλουμίνιο (Al), αρσενικό (As), ασβέστιο (Ca), βάριο (Ba), βολφράμιο (W), βρώμιο (Br), γάλλιο (Ga) (εσωτερικό πρότυπο), δημήτριο (Ce), ζιρκόνιο (Zr), θείο (S), κάδμιο (Cd), κάλιο (K), μαγγάνιο (Mn), μόλυβδος (Pb), νικέλιο (Ni), ρουβίδιο (Rb), σελήνιο (Se), σίδηρος (Fe), στρόντιο (Sr), τιτάνιο (Ti), φώσφορος (P), χαλκός (Cu), χλώριο (Cl), χρώμιο (Cr) και ψευδάργυρος (Zn).



Σχήμα 1. Χαρακτηριστικό φάσμα TXRF από υγρά αναπλήρωσης ηλεκτρονικού τσιγάρου (Δείγμα No 1).

Η μελέτη επικεντρώθηκε σε μέταλλα που θεωρούνται δυνητικά επικίνδυνα και μπορεί να προκαλέσουν επιβλαβείς επιπτώσεις στον ανθρώπινο οργανισμό, στα οποία συμπεριλαμβάνονται το κάδμιο (Cd), ο μόλυβδος (Pb), το νικέλιο (Ni), ο χαλκός (Cu) και το χρώμιο (Cr). Οι τιμές των μέσων συγκεντρώσεων, καθώς και η τυπική απόκλιση μεταξύ των επαναλαμβανόμενων μετρήσεων, για τα εξεταζόμενα στοιχεία σε όλα τα δείγματα που μελετήθηκαν, παρουσιάζονται συνοπτικά σε πίνακες που ακολουθούν.

Α. Μελέτη υγρών αναπλήρωσης ηλεκτρονικών τσιγάρων και συστατικών τους

Στον πίνακα 1 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της στοιχειακής μελέτης υγρών άτμισης που μας δόθηκαν από παραγωγό, ο οποίος μας παρείχε και τα μεμονωμένα συστατικά που συνιστούν τα διαλύματα αυτά.

Πίνακας 1. Μέση συγκέντρωση (Μέση C) και τυπική απόκλιση (SD) των στοιχείων που προσδιορίστηκαν σε υγρά αναπλήρωσης ηλεκτρονικού τσιγάρου από εγχώριο παραγωγό. Τα στοιχεία παρουσιάζονται κατά αύξοντα ατομικό αριθμό.

Δείγμα	**Στοιχεία**									
	Cr		**Ni**		**Cu**		**Cd**		**Pb**	
	Μέση C (ppm)	**SD**	**Μέση C (ppm)**	**SD**	**Μέση C (ppm)**	**SD**	**Μέση C (ppm)**	**SD**	**Μέση C (ppm)**	**SD**
No 1	0,009	0,007	0,009	0,007	0,025	0,017	0,655	0,670	0,004	0,003
No 2	0,016	0,013	0,004	0,003	0,008	0,002	ND	ND	0,001	0,001
No 3	0,012	0,005	0,004	0,002	0,004	0,002	ND	ND	0,003	0,002
No 4	0,015	0,010	0,003	0,001	0,007	0,002	ND	ND	0,002	0,001
No 5	0,007	0,005	0,002	0,001	0,006	0,005	ND	ND	0,002	0,001
No 6	0,003	0,001	0,003	0,001	0,013	0,008	ND	ND	0,001	0,001

Μέση C: μέση συγκέντρωση

SD: τυπική απόκλιση

ND: μη ανιχνεύσιμο (non detected)

Σε όλα τα δείγματα υγρών άτμισης (δείγματα με τις σημάνσεις 1-6) προσδιορίστηκε νικέλιο (Ni), χαλκός (Cu), μόλυβδος (Pb), καθώς και χρώμιο (Cr), όπως φαίνεται στον πίνακα 1. Κάδμιο προσδιορίστηκε μόνο στο δείγμα με τη σήμανση No 1. Το συγκεκριμένο δείγμα ήταν το μοναδικό που φυλασσόταν σε δοχείο λευκοσιδήρου και πιθανώς η παρουσία του καδμίου σε αυτό να σχετίζεται με αυτό το γεγονός. Οι τιμές συγκεντρώσεων των παραπάνω στοιχείων βρίσκονται εντός των επιτρεπτών ορίων που ορίζονται από τους αρμόδιους φορείς για τα εισπνεόμενα φάρμακα, τα οποία είναι 0.15 mg/g για το κάδμιο (Cd), 0.50 mg/g για το μόλυβδο (Pb), 0.15 mg/g για το νικέλιο (Ni), 10.00 mg/g για τον χαλκό (Cu) και 2.50 mg/g για το χρώμιο (Cr) για μέγιστη ημερήσια δόση του φαρμάκου ≤ 10 g/ημέρα (EMA, 2008).

Ακολούθησε η στοιχειακή ανάλυση προπυλενογλυκόλης, φυτικής γλυκερίνης, νικοτίνης και 8 διαφορετικών ειδών αρωμάτων που χρησιμοποιούνται στην παρασκευή των διαλυμάτων που πληρώνουν τις συσκευές ηλεκτρονικών τσιγάρων. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 2. Ανιχνεύθηκαν τα ίδια στοιχεία και στα μεμονωμένα συστατικά από τα οποία αποτελούνται τα διαλύματα αναπλήρωσης που μελετήθηκαν (πίνακας 1). Πιο συγκεκριμένα, σύμφωνα με τον πίνακα 2, μόλυβδος (Pb), νικέλιο (Ni) και χαλκός (Cu) ταυτοποιήθηκαν σε προπυλενογλυκόλη (δείγμα με τη σήμανση PG), φυτική γλυκερίνη (δείγμα με τη σήμανση VG), νικοτίνη (δείγμα με τη σήμανση Nicotine), καθώς και στα 8 διαφορετικά είδη αρωμάτων (δείγματα με τις σημάνσεις A-H). Σε όλα τα παραπάνω υπήρχε επίσης και χρώμιο (Cr), εκτός από ένα είδος αρώματος (δείγμα με τη σήμανση H). Κάδμιο (Cd) προσδιορίστηκε στη νικοτίνη και σε μερικά είδη αρωμάτων (δείγματα με τις σημάνσεις A, B, C, E και F). Οι συγκεντρώσεις των συγκεκριμένων στοιχείων ήταν σχετικά χαμηλές και δεν υπερέβαιναν τα θεσπισμένα όρια.

Πίνακας 2. Μέση συγκέντρωση (Μέση C) και τυπική απόκλιση (SD) των στοιχείων που προσδιορίστηκαν σε συστατικά που χρησιμοποιούνται στην παρασκευή των υγρών αναπλήρωσης ηλεκτρονικών τσιγάρων. Τα στοιχεία παρουσιάζονται κατά αύξοντα ατομικό αριθμό.

Δείγμα	**Στοιχεία**									
	Cr		**Ni**		**Cu**		**Cd**		**Pb**	
	Μέση C (ppm)	**SD**	**Μέση C (ppm)**	**SD**	**Μέση C (ppm)**	**SD**	**Μέση C (ppm)**	**SD**	**Μέση C (ppm)**	**SD**
PG	0,003	-	0,002	0,000	0,006	0,004	ND	ND	0,002	0,000
VG	0,017	-	0,010	0,006	0,016	0,004	ND	ND	0,002	-
Nicotine	0,023	0,025	0,013	0,010	0,007	0,004	0,082	0,035	0,002	0,001
A	0,032	0,014	0,092	0,126	0,055	0,027	1,413	0,086	0,005	0,004
B	0,004	0,002	0,004	0,002	0,019	0,001	0,079	0,016	0,001	0,001
C	0,006	0,002	0,004	0,001	0,013	0,001	0,175	0,035	0,003	0,002
D	0,004	0,001	0,002	0,000	0,010	0,003	ND	ND	0,002	0,000
E	0,005	0,002	0,008	0,006	0,014	0,007	0,048	0,034	0,002	0,001
F	0,004	0,001	0,005	0,001	0,046	0,004	0,064	0,011	0,003	0,001
G	0,017	0,021	0,013	0,004	0,017	0,003	ND	ND	0,011	0,001
H	ND	ND	0,004	0,001	0,007	0,002	ND	ND	0,007	-

Μέση C: μέση συγκέντρωση

SD: τυπική απόκλιση

ND: μη ανιχνεύσιμο (non detected)

PG: προπυλενογλυκόλη

VG: φυτική γλυκερίνη

Nicotine: νικοτίνη

A, B, C, D, E, F, G, H: διάφορα είδη αρωμάτων

Το πρώτο μέρος της εργασίας ολοκληρώθηκε με τη στοιχειακή μελέτη υγρών άτμισης διαφόρων εταιρειών που ήταν διαθέσιμα στην ελεύθερη αγορά Ευρωπαϊκών και άλλων χωρών, της οποίας τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα. Έτσι, με βάση τον πίνακα 3, στα συγκεκριμένα διαλύματα αναπλήρωσης (δείγματα με τις σημάνσεις 1-16) προσδιορίστηκε νικέλιο (Ni), χαλκός (Cu), μόλυβδος (Pb), καθώς και χρώμιο (Cr) (με εξαίρεση το δείγμα με τη σήμανση Νο 5 στο οποίο δεν ανιχνεύθηκε χρώμιο). Σε κανένα από τα παραπάνω δείγματα δεν ανιχνεύθηκε κάδμιο (Cd). Και σε αυτήν την περίπτωση, οι συγκεντρώσεις των εξεταζόμενων στοιχείων ήταν σχετικά χαμηλές και δεν υπερέβαιναν τις τιμές που έχουν θεσπιστεί από τους αρμόδιους ρυθμιστικούς φορείς.

Πίνακας 3. Μέση συγκέντρωση (Μέση C) και τυπική απόκλιση (SD) των στοιχείων που προσδιορίστηκαν σε υγρά αναπλήρωσης ηλεκτρονικού τσιγάρου διαθέσιμα στην ελεύθερη αγορά Ευρωπαϊκών και άλλων χωρών. Τα στοιχεία παρουσιάζονται κατά αύξοντα ατομικό αριθμό.

Δείγμα	**Στοιχεία**									
	Cr		**Ni**		**Cu**		**Cd**		**Pb**	
	Μέση C (ppm)	**SD**	**Μέση C (ppm)**	**SD**	**Μέση C (ppm)**	**SD**	**Μέση C (ppm)**	**SD**	**Μέση C (ppm)**	**SD**
No 1	0,005	0,002	0,003	0,001	0,015	0,016	ND	ND	0,005	0,003
No 2	0,005	0,003	0,003	0,002	0,007	0,005	ND	ND	0,003	0,002
No 3	0,009	0,005	0,004	0,001	0,008	0,005	ND	ND	0,004	0,002
No 4	0,003	0,001	0,003	0,001	0,007	0,003	ND	ND	0,001	0,001
No 5	ND	ND	0,004	0,002	0,012	0,019	ND	ND	0,002	0,002
No 6	0,005	0,004	0,003	0,001	0,010	0,006	ND	ND	0,001	0,001
No 7	0,007	0,003	0,005	0,005	0,008	0,008	ND	ND	0,001	0,001
No 8	0,004	0,002	0,006	0,007	0,016	0,018	ND	ND	0,004	0,003
No 9	0,007	0,001	0,003	0,001	0,007	0,002	ND	ND	0,002	0,001
No 10	0,036	0,050	0,007	0,003	0,020	0,018	ND	ND	0,002	0,001
No 11	0,005	0,002	0,002	0,001	0,005	0,004	ND	ND	0,002	0,001
No 12	0,008	0,002	0,003	0,001	0,007	0,003	ND	ND	0,001	0,001
No 13	0,012	0,007	0,017	0,023	0,018	0,017	ND	ND	0,003	0,002
No 14	0,004	0,001	0,009	0,003	0,012	0,008	ND	ND	0,002	0,002
No 15	0,005	0,004	0,003	0,001	0,007	0,003	ND	ND	0,002	0,002
No 16	0,006	0,004	0,003	0,001	0,006	0,003	ND	ND	0,001	0,001

Μέση C: μέση συγκέντρωση

SD: τυπική απόκλιση

ND: μη ανιχνεύσιμο (non detected)

B. Έλεγχος ατμοποιητών

Η ίδια μεθοδολογία εφαρμόστηκε στη μελέτη και τον προσδιορισμό στοιχείων σε υγροποιημένους ατμούς ενός διαλύματος αναπλήρωσης σε μια προσπάθεια αποτίμησης της καταλληλότητας των ατμοποιητών. Τα αποτελέσματα της στοιχειακής ανάλυσης των υγροποιημένων αερολυμάτων που παράχθηκαν κατά την άτμιση ενός υγρού αναπλήρωσης από 29 διαφορετικά είδη ατμοποιητών (δείγματα με τις σημάνσεις 1-29) παρουσιάζονται στον πίνακα 4 και είναι κανονικοποιημένα ανά 100 mg δείγματος.

Πίνακας 4. Μέση συγκέντρωση (Μέση C) και τυπική απόκλιση (SD) των στοιχείων που προσδιορίστηκαν σε υγροποιημένους ατμούς ενός υγρού αναπλήρωσης που παράχθηκαν από διάφορα είδη ατμοποιητών. Τα στοιχεία παρουσιάζονται κατά αύξοντα ατομικό αριθμό.

Δείγμα	**Στοιχεία**									
	Cr		**Ni**		**Cu**		**Cd**		**Pb**	
	Μέση C (ppm)	**SD**	**Μέση C (ppm)**	**SD**	**Μέση C (ppm)**	**SD**	**Μέση C (ppm)**	**SD**	**Μέση C (ppm)**	**SD**
Control	0.003	0.000	0.003	0.001	0.005	0.001	ND	ND	0.004	0.001
Test	0.002	-	0.000	0.000	0.001	0.000	ND	ND	0.001	0.000
No 1	0.002	-	0.002	0.001	0.002	0.001	ND	ND	0.001	0.000
No 2	0.009	0.010	0.001	0.000	0.002	0.000	ND	ND	0.017	0.025
No 3	0.001	-	0.001	0.000	0.001	0.000	ND	ND	0.002	0.001
No 4	ND	ND	0.000	0.000	0.001	0.000	ND	ND	0.001	0.000
No 5	ND	ND	0.001	0.001	0.001	0.001	ND	ND	0.001	0.001
No 6	ND	ND	0.003	0.002	0.002	0.000	ND	ND	0.001	0.000
No 7	0.008	-	ND	ND	0.001	-	ND	ND	0.001	0.000
No 8	ND	ND	0.001	0.000	0.001	0.000	ND	ND	0.001	0.000
No 9	0.005	-	0.001	0.001	0.006	0.006	ND	ND	0.002	0.001
No 10	0.001	0.001	0.002	0.001	0.002	0.001	ND	ND	0.001	0.000
No 11	ND	ND	0.001	0.001	0.002	0.001	ND	ND	0.002	0.001
No 12	ND	ND	0.001	0.001	0.003	0.001	ND	ND	0.003	0.001
No 13	0.005	0.005	0.003	0.003	0.005	0.005	ND	ND	0.001	0.001
No 14	ND	ND	0.002	0.001	0.002	0.001	ND	ND	0.002	0.000
No 15	0.009	0.012	0.004	0.000	0.003	0.000	ND	ND	0.002	0.001
No 16	ND	ND	0.002	0.001	0.005	0.000	ND	ND	0.003	0.001
No 17	ND	ND	0.001	-	0.001	0.000	ND	ND	0.000	0.000
No 18	ND	ND	0.000	-	0.000	0.000	ND	ND	0.001	0.000
No 19	ND	ND	0.001	0.000	0.000	0.000	ND	ND	0.001	0.000
No 20	ND	ND	0.002	0.000	0.000	0.000	ND	ND	0.001	0.000
No 21	0.002	0.002	0.002	0.000	0.000	0.000	ND	ND	0.000	0.000
No 22	0.008	0.007	0.007	0.004	0.007	0.003	ND	ND	0.003	0.002
No 23	ND	ND	0.002	0.001	0.006	0.001	ND	ND	0.001	0.001
No 24	ND	ND	0.001	0.000	0.002	0.000	ND	ND	0.001	0.000
No 25	0.002	-	0.003	0.002	0.004	0.002	ND	ND	0.005	0.003
No 26	ND	ND	0.001	0.000	0.001	0.000	ND	ND	0.001	0.000
No 27	ND	ND	0.001	0.000	0.001	0.000	ND	ND	0.002	0.000
No 28	0.034	0.017	0.041	0.017	0.048	0.017	ND	ND	0.046	0.009
No 29	0.109	0.027	0.043	0.045	0.037	0.039	ND	ND	0.013	0.004

Μέση C: μέση συγκέντρωση

SD: τυπική απόκλιση

ND: μη ανιχνεύσιμο (non detected)

Control: δείγμα αέρα μετά από άτμιση και υγροποίηση

Test: υγρό αναπλήρωσης πριν την άτμιση

Από τα εξεταζόμενα στοιχεία, όπως φαίνεται στον πίνακα 4, όλα τα δείγματα υγροποιημένων αερολυμάτων περιέχουν μόλυβδο (Pb), χαλκό (Cu) και νικέλιο (Ni), εκτός από το δείγμα με τη σήμανση No7 στο οποίο δεν προσδιορίστηκε νικέλιο. Κάδμιο (Cd) δεν περιεχόταν σε κανένα από τα μελετώμενα αερολύματα, ενώ δεν υπήρχε ούτε στο υγρό αναπλήρωσης ή στο δείγμα αέρα (control). Αξιοσημείωτο είναι το ότι παρ' όλο που είχε προσδιοριστεί χρώμιο (Cr) τόσο στο control δείγμα, όσο και στο χρησιμοποιούμενο υγρό αναπλήρωσης, δεν ανιχνεύθηκε σε όλα τα δείγματα υγροποιημένων αερολυμάτων, αλλά σε εκείνα με τις σημάνσεις No 1, 2, 3, 7, 9, 10, 13, 15, 21, 22, 25, 28, 29. Οι παρατηρούμενες τιμές συγκεντρώσεων των εν λόγω στοιχείων κυμαίνονται σε χαμηλά επίπεδα και δεν υπερέβαιναν τα όρια που έχουν οριστεί από τους ρυθμιστικούς φορείς.

4. Συμπεράσματα

Συνοψίζοντας, η τεχνική της Φασματοσκοπίας Φθορισμού Ακτίνων-Χ Ολικής Ανάκλασης (TXRF) εφαρμόστηκε επιτυχώς στην ποιοτική και ποσοτική στοιχειακή ανάλυση διαλυμάτων που χρησιμοποιούνται για την πλήρωση συσκευών ηλεκτρονικών τσιγάρων. Ανάμεσα στα στοιχεία που προσδιορίστηκαν τόσο σε δείγματα υγρών αναπλήρωσης διαφορετικών εταιρειών όσο και σε υγροποιημένους ατμούς τους, υπήρχαν ορισμένα μέταλλα, συγκεκριμένα κάδμιο (Cd), μόλυβδος (Pb), νικέλιο (Ni), χαλκός (Cu) και χρώμιο (Cr), τα οποία θεωρούνται επιβλαβή για την ανθρώπινη υγεία, αλλά σε αρκετά χαμηλά επίπεδα συγκεντρώσεων. Δεδομένου ότι, μέχρι στιγμής, δεν υπάρχει κάποια κανονιστική διάταξη στην Ευρωπαϊκή Νομοθεσία που να υπαγορεύει μια μέθοδο ελέγχου των υγρών πλήρωσης των ηλεκτρονικών τσιγάρων, καθώς και των ατμοποιητών, η προτεινόμενη μεθοδολογία μπορεί να αποτελέσει σημαντικό εργαλείο στην ανίχνευση των επιπέδων των βαρέων μετάλλων πριν και μετά την άτμιση με στόχο την προστασία της υγείας του καταναλωτή.

5. Βιβλιογραφία

Antosz F.J., Xiang Y.Q., Diaz A.R. and Jensen A.J., "*The use of total reflectance X-ray fluorescence (TXRF) for the determination of metals in the pharmaceutical industry*", Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 62, p.p. 17-22, 2012, USA.

Goniewicz M.L., Knysak J., Gawron M., Kosmider L., Sobczak A., Kurek J., Prokopowicz A., Jablonska-Czapla M., Rosik-Dulewska C., Havel C., Jacob P. And Benowitz N., "*Levels of selectes carcinogens and toxicants in vapor from electronic cigarettes*", Tobacco Control, 2, p.p. 133-139, 2014, USA.

Grana R., Benowitz N. and Glantz S.A., "*E-Cigarettes: A Scientific Review*", Circulation, 19, p.p. 1972-1986, 2014, San Fransisco.

Jarup L., "*Hazards of heavy metal contamination*", British Medical Bulletin, 68, p.p. 167-182, 2003, London.

Tchounwou P.B., Yedjou C.G., Patlolla A.K. and Sutton D.J., "*Heavy Metals Toxicity and the Environment*", EXS, 101, p.p. 133-164, 2012, USA.

Williams M., Villarreal A., Bozhilov K., Lin S. and Talbot P., "*Metal and Silicate Particles Including Nanoparticles Are Present in Electronic Cigarette Cartomizer Fluid and Aerosol*", Plos One, 3, p.p. 1-11, 2013, USA.